

BIOMONITORAMENTO COM *TRADESCANTIA PALLIDA* E FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X NO VALE DO PARAÍBA-SP.***Victória Tertuliana de Araújo Bellaparte Zanato,^{1,2} Rauda Lúcia Mariani^{1,3} - orientadora***

1- INPE/CPTEC, Av. dos Astronautas 1.758 Jd. Da Granja CEP : 12227 - 010,

2- Aluna de graduação em Engenharia Ambiental na UNIVAP-SP.

3 - Deptº Geoquímica - Universidade Federal Fluminense, Outeiro de São João Batista s/n,
Campus do Valonguinho, Centro, Niterói, RJ,

Resumo. O Biomonitoramento com *Tradescantia pallida*, é uma técnica alternativa para avaliação da qualidade do ar de uma região e vem sendo utilizada com sucesso desde 2007 em São José dos Campos. O objetivo deste trabalho é estender a utilização do biomonitoramento para 6 (seis) Municípios do Vale do Paraíba, incluindo uma nova técnica analítica, com amostragem de novembro de 2009 a abril de 2010. Nesse projeto, além da contagem de micronúcleo (MCN), também foi utilizada a determinação da composição química do material acumulado nas folhas do biomonitor. A determinação da composição elementar das amostras de folhas foi feita pelo método de espectrometria de fluorescência de raios-X por dispersão de energia (FRX-DE), após 3 meses de exposição. Foram identificados 23 elementos: V, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Hg, Pb, Ba, Na, Mg, Al, P, S, Cl, K e Ca. Os valores médios mensais de MCN, apresentam-se próximos aos valores do background de MCN, entre 2,0 e 2,3%, até o mês de janeiro, apresentando acréscimos a partir desse mês em todos os pontos.

Palavras-chave: Biomonitoramento, qualidade do ar, *Tradescantia pallida*, micronúcleos e fluorescência de raios X.

Área do Conhecimento : Engenharias**Introdução**

A qualidade do ar sempre foi monitorada através de aparelhos, que são de alto custo financeiro e de difícil manutenção, o que muitas vezes inviabiliza as operações. O biomonitoramento é uma metodologia alternativa para a medição da qualidade do ar, que vem sendo bastante utilizado. (Klump et al 2004 & Mariani et al, 2009). O biomonitoramento utiliza organismos vivos que respondem à poluição ambiental, alterando suas funções, acumulando toxinas ou sofrendo mutações genéticas. Este trabalho utiliza um organismo vegetal, a planta *Tradescantia pallida*, popularmente conhecido como coração roxo. Essa técnica é muito vantajosa, pois além de ser acessível têm um baixo custo operacional, permitindo utilização em grandes áreas. Em São José dos Campos essa metodologia é utilizada desde 2004 (Mariani et al, 2008, Zanato 2007), porém neste trabalho o projeto foi ampliado para o Vale introduzindo-se também, uma nova metodologia analítica para determinação de elementos traço acumulados nas folhas da *Tradescantia pallida*.

Em 2009, foi aprovado o projeto "Caracterização do risco ambiental no Vale do Paraíba – SP, submetido através do Instituto Nacional de Análise Integrada do Risco Ambiental (INAIRA), no Edital Nº 15/2008 – MCT/CNPq, sob coordenação do prof Paulo Hilário Saldiva, da Faculdade de Medicina da USP. O Inpe entrou como Instituição parceira responsável pelos trabalhos desenvolvidos no Vale do Paraíba, e um dos objetivos nesse projeto foi a expansão do biomonitoramento para mais cinco Municípios no Vale, sendo inicialmente selecionados os seguintes Municípios: Jacareí, São José dos Campos, Taubaté, Guaratinguetá, Lorena e Cachoeira Paulista.

A avaliação da qualidade do ar no Vale do Paraíba é importante pois é uma região com uma população de 2.221.420 habitantes no ano de 2006, SEADE (2010); situada entre os dois maiores pólos industriais do País e situação geográfica com tendências a fracos movimentos de dispersão atmosférica. Apesar disso, a avaliação da qualidade do ar é feita por uma única estação de monitoramento localizada em São José dos Campos. Essa estação disponibiliza dados contínuos de concentração

de dióxido de enxofre (SO₂), material particulado (PM₁₀) e ozônio (O₃). Os dados revelam constantes ultrapassagens dos padrões de qualidade do ar estabelecidos para o ozônio e níveis crônicos de exposição desse poluente (elevada frequência de dias com concentrações de ozônio superiores a 120 µg.m⁻³), que é sabidamente prejudicial à saúde humana e ao ambiente

Metodologia

Consideramos um ponto de biomonitoramento como a exposição de 3 floreiras contendo a espécie *Tradescantia pallida*. A figura 1 mostra a distribuição dos pontos de biomonitoramento no Vale do Paraíba

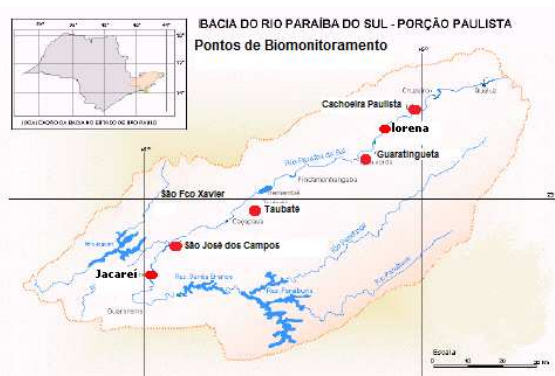
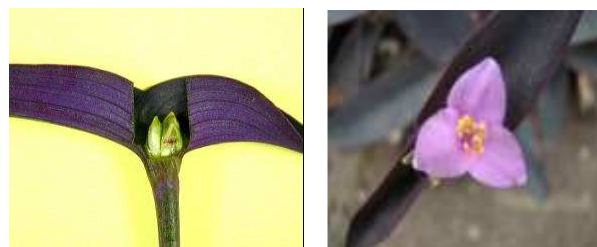


Figura 1 - Mapa de localização dos pontos de biomonitoramento no Vale do Paraíba.

Este trabalho foi desenvolvido durante os meses de novembro de 2009 a abril de 2010, caracterizando o período chuvoso. Foram utilizadas duas técnicas distintas: a quantificação de micronúcleos (MCN) e a fluorescência de Raios X.

Para a quantificação dos MCN, foram coletadas todas inflorescências possíveis de cada uma das floreiras expostas em cada um pontos. Uma inflorescência é a fase de pré-floração da planta, isto é um botão antes de florir. A coleta das inflorescências teve início após um período de aclimação de duas semanas. As coletas foram realizadas semanalmente, sendo as amostras, armazenadas em solução de álcool e ácido acético (3:1) em um coletor universal, por um período mínimo de 24 horas, até o momento da análise. A quantidade de inflorescências coletadas em cada ponto, depende do número de visitas ao ponto. Há um momento ideal de coleta, isto é o botão não pode ser muito pequeno, pois ainda não será possível encontrar a fase de tétrades e nem pode estar florido, pois a

fase ideal para contagem de MCN já passou. A Figura 2 mostra em (a) o botão no momento correto para coleta e (b) a fase pós-floração. Para não haver perdas de amostras, os pontos são visitados pelo menos 3 vezes na semana e todas as inflorescências são reunidas num só pote semanal. A quantidade de inflorescências recolhidas depende também da sazonalidade: no período das chuvas a produção é maior e no período seco, observa-se uma espécie de hibernação da planta e acentuada queda na produção de inflorescências.



(a)

(b)

Figura 2 - Detalhes do botão da *Tradescantia pallida* em (a) botão no momento correto de coleta e (b) fase pós floração.

A determinação do % de MCN, em cada uma das inflorescências é feita após preparação da lâmina. A inflorescência é retirada do coletor universal com o auxílio de uma pinça cirúrgica e colocada sobre um papel toalha para retirar o excesso de conservante. O próximo passo é a separação dos gomos, com sonda exploradora. Cada gomo apresenta em média 3 botões. Para preparar a lâmina, para contagem de MCN, o grão a ser escolhido deve ser o maior entre os médios, pois nesse grão provavelmente encontraremos a fase específica celular de tétrade, onde serão encontrados os MCN. Depois de levado à lâmina, o grão selecionado deve ser aberto e seu material interno retirado, aplica-se o corante carmin, para a coloração das células, e o material é macerado com a ajuda das sondas exploradoras e levado ao microscópio. Caso confirmada a identificação da fase celular de tétrade, retira-se o debris deixado apenas o líquido e, em seguida, encerra-se o preparo da lâmina com a sobreposição da lamínula. O excesso de líquido deve ser retirado com a ajuda de um pequeno pedaço de papel toalha, a lâmina deve ser levada até a espreiteira, onde será aquecida, para que ocorra a fixação do corante carmin, conseguindo assim uma melhor visualização das tétrades presentes. Depois da lâmina pronta para a análise, deve-se fazer a quantificação de MCN considerando 300 tétrades. Após contagem em 300 tétrades converte-se o valor pra %de MCN. A figura 3 mostra o preparo

da lâmina em (a), a leitura ao microscópio em (b) e um detalhe do micronúcleo em (c).

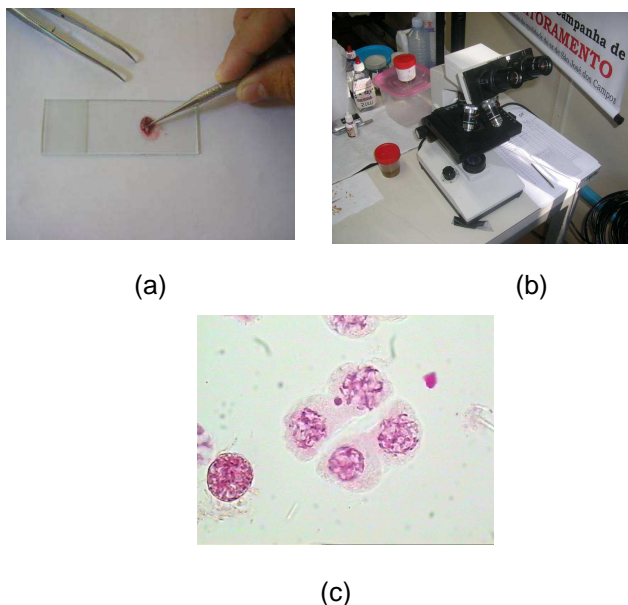


Figura 3 – (a) Ilustração do preparo da lâmina; (b) da leitura ao microscópio e (c) detalhe do micronúcleo (MCN).

A metodologia de coleta para determinação da concentração foliar por fluorescência de Raios-X consiste na retirada de aproximadamente 30 folhas da *Tradescantia pallida*, distribuídas igualmente entre as floreiras. A coleta foi feita após quatro meses de exposição, período considerado suficiente para acumulação de metais pela planta (SAVOIA, 2007). As folhas são então armazenadas em um envelope de papel e levadas ao laboratório para procedimentos de preparo e análise das amostras. Essa metodologia utiliza a espectrometria de fluorescência de raios-X por dispersão de energia (EDR-FRX) que possibilita a determinação tanto de macro elementos como cálcio e potássio como elementos traços como cobre e chumbo e elementos não metais como enxofre, numa mesma análise com preparo rápido e simplificado de amostras vegetais.

A primeira coleta das folhas para determinação da composição foliar por EDX foi feita entre os dias 10 e 11 de março de 2010, nos 6 pontos de biomonitoramento.

Para a determinação da composição elementar da *Tradescantia pallida*, as folhas foram lavadas individualmente em água destilada e deionizada, colocadas sobre papel toalha para absorver o excesso de água e levadas a uma estufa a 45° C por 48 hs para desidratação.

Depois que o processo de secagem na estufa é finalizado, as folhas são trituradas em um recipiente de ágata (gral e pistilo), até formação de um pó bem fino, seguido de peneiração para homogeneidade no tamanho das partículas.

Para preparar as pastilhas para análise de EDX, utiliza-se um cilindro de 20 mm de diâmetro, onde são acrescentados de 0,5 a 0,6 g da amostra triturada e peneirada, e acrescentados 1 g de ácido bórico (H_3BO_3 pa) e levado à prensa por 60 segundos com força de 1 ton. ou 20 mPA (Prensa modelo PCA4 da Teclago tecnologia em Máquinas Metalúrgicas, São Paulo). A figura 4 mostra uma pastilha já pronta para análise.

As análises ao EDX 700-HS (Figura 5) foram realizadas em atmosfera à vácuo, para aumentar a sensibilidade da detecção da energia dos raios X dispersas nas amostras por um período de 220 segundos para elementos de alta energia (Ti-U) e de 400 segundos para os elementos de baixa energia (Na-Sc). O carbono, em forma de celulose, foi utilizado como balanço de massa. Os resultados quantitativos foram obtidos com a calibração dos parâmetros fundamentais, ajustes da sensibilidade de detecção do equipamento, usando a amostra padrão certificada NIST SEM 1547-Peach Leaves (National Institute of Standards, 158, Gaithersburg, MD, USA). Todas as amostras foram analisadas desta forma por cinco vezes. Os resultados são apresentados em em $\mu g\ g^{-1}$.



Figura 4 - Pastilha confeccionada com folhas secas e trituradas da *Tradescantia pallida* e ácido bórico.



Figura 5 - Fotografia do equipamento EDX 700 HS da Shimadzu

Resultados

A tabela 2 apresenta os valores médios mensais de % de MCN para os 6 Municípios do Vale do Paraíba até o mês de março de 2010.

Tabela 2 – Valores médios mensais de % de MCN para os 6 Municípios do Vale do Paraíba – SP, referentes ao período de coleta.

Municípios	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar
Jacareí		1,92	1,72	6,44	
São José dos Campos	1,47	2,5	3,7	3,83	3,05
Taubaté	1,46	1,78	1,31	2,02	1,88
Guaratinguetá	3,30	1,10	4,72	9,03	10,50
Lorena		2,63	2,93	6,97	1,78
Cachoeira Paulista	0,48	0,57	0,74	13,17	

Através da fluorescência de Raios X, foram determinadas as concentrações de 23 elementos: vanádio (V), manganês (Mn), ferro (Fe), níquel (Ni), cobre (Cu), zinco (Zn), arsênio (As), selênio (Se), rubídio (Rb), estrôncio (Sr), molibdênio (Mo), cádmio (Cd), mercúrio (Hg), chumbo (Pb), bário (Ba), sódio (Na), magnésio (Mg), alumínio (Al), fósforo (P), enxofre (S), cloro (Cl), potássio (K) e cálcio (Ca).

Dentre os 23 elementos analisados, o V, Ni, As, Mo, Cd, Se, Hg e Pb mostraram valores próximos ao limite de detecção do método e, não serão incluídos na discussão dos resultados. Os demais apresentaram valores médios de 1652,68 ± 1104 para o Mn; 238,31 ± 91 para o Fe; 5,54 ± 0,80 para o Cu; 165,29 ± 37 para o Zn; 138,85 ± 60 para o Rb; 262,45 ± 49 para o Sr; 54,90 ± 31 para o Ba; 17,12 ± 4 para o Na; 21706,00 ± 3534 para o Mg; 208,11 ± 60,50 para o Al; 2671,00 ± 629 para o P; 2578,00 ± 505 para o S; 5042,39 ± 2857 para o Cl; 22130 ± 5826 para o K e 33464 ± 6999 para o Ca.

Discussões

Os valores médios mensais de MCN, na maioria das vezes, apresentam-se abaixo dos valores do background de MCN, entre 2,0 e 2,3% (SANT'ANNA, 2003), para os meses de novembro, dezembro e janeiro, com exceção de Guaratinguetá e São José dos Campos. A partir de janeiro há uma tendência de aumento do número de MCN. Esse aumento pode estar correlacionado com a redução da pluviosidade, quando então os efeitos das fontes de poluentes locais podem se manifesta com maior intensidade. Em Cachoeira Paulista, e Guaratinguetá, para o mês de fevereiro, há uma alteração muito brusca, diferente do comportamento dos outros pontos, que sugere uma contaminação local bem diferenciada, que ainda não foi possível identificar.

A influência da pluviosidade apesar de não analisada para todos os Municípios neste momento, já se torna evidente com a observação da quantidade de inflorescências disponíveis para a coleta. A Figura 6 mostra, como exemplo, o caso de São José dos Campos, onde se observa a redução no número de inflorescências coletadas a partir de abril, quando houve uma diminuição da pluviosidade na região.

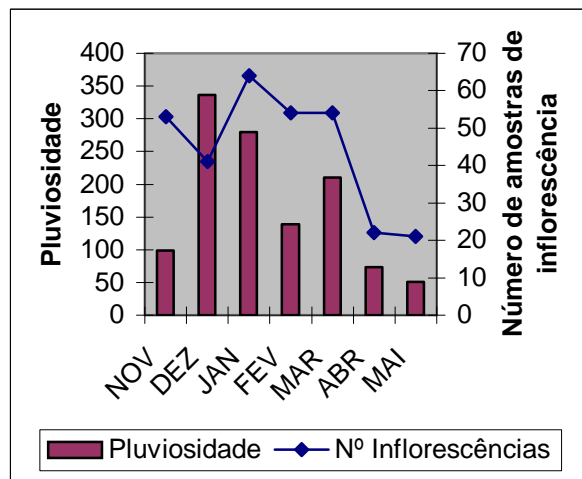


Figura 6: Relação entre pluviosidade e quantidade de amostras coletadas em São José dos Campos entre novembro de 2009 e junho de 2010.

O Município de São José dos Campos apresentou valores entre 3,05 ± 2 e 3,83 ± 2 a partir do mês de janeiro de 2010. Esses valores são superiores ao valor médio obtido em 2008 e 2009, 1,56 ± 0,57 (ZANATO et al, 2008) e 1,71 ± 0,47, respectivamente (ZANATO et al 2009).

A variação espacial da concentração foliar por fluorescência de Raios-X, determinada nos 6 Municípios propostos, é mostrada na Figura 7,

para o Mn, Fe, Zn, Ba e Cu. O ponto de biomonitoramento instalado em Guaratinguetá apresenta os maiores valores para Mn, Fe, Cu, Zn, Sr, Ca, P, S e Ba.

Ao aplicar os testes de variância ANOVA, fator único, para os 15 elementos em discussão, considerando nível de significância de 0,05, não foi possível aceitar a hipótese nula, isto é os valores médios para os Municípios analisados podem ser considerados estatisticamente diferentes, para pelo menos um dos Municípios em questão (LAPONI, 1997). A única exceção foi apresentada pelo sódio, onde a hipótese nula não pôde ser rejeitada, o que indica que esse elemento pode ser considerado característico da *Tradescantia pallida*,

com média igual a $17,1 \pm 4 \text{ mg.g}^{-1}$ e, não apresenta fonte específica de contaminação, pois não mostra variações quanto o local de exposição. Os elementos minerais presentes em um vegetal podem ser classificados em macro (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (B, Cu, Cl, Fe, Mn, Mo e Zn). Essa relação é diferente para cada espécie, sendo também importante a questão da concentração desse elemento. O zinco por exemplo, quando em concentrações superiores a 100 mg.kg^{-1} é considerado tóxico, porém a ausência de zinco pode ser responsável por uma redução no tamanho da planta. Assim, é importante a caracterização da composição foliar, sem influência da poluição, e, também a capacidade de retenção de elementos tóxicos para a espécie em questão. A concentração média desses elementos na folhas da *Tradescantia pallida*, em local que pode ser considerado de referência (background), ainda não está disponível. Porém em SAVÓIA (2007), encontra-se referência á concentrações de ferro numa faixa de 100 a 500 $\mu\text{g.g}^{-1}$; de zinco faixa de 100 a 300 $\mu\text{g.g}^{-1}$; de bário 30 a 120 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e Ca e K na faixa entre 4 e 3% em massa, respectivamente. Esses resultados foram obtidos após exposição da *Tradescantia pallida* em 5 pontos do Município de Santo André, sendo dois deles instalados no centro da cidade, com forte influência veicular; outros dois próximos ao pólo petroquímico e outro ponto considerado de referência, num Parque natural, numa área de preservação ambiental.

Os valores de concentração média para os elementos, ferro, zinco, bário, cálcio e potássio são compatíveis com os descritos por SAVÓIA (2007).

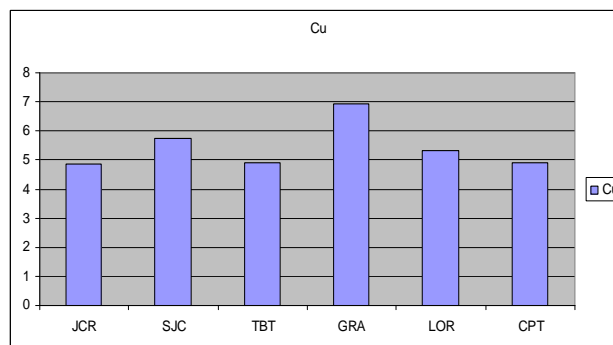
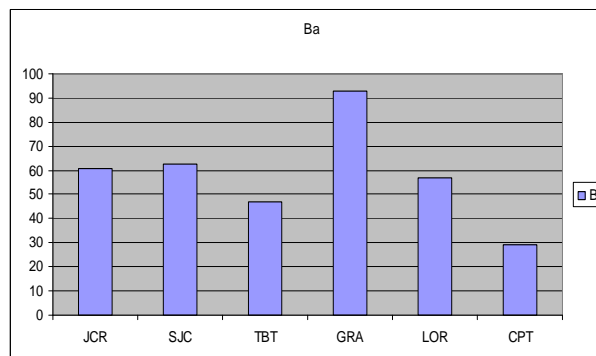
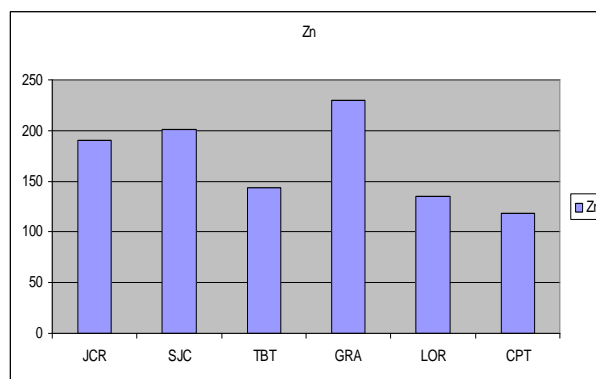
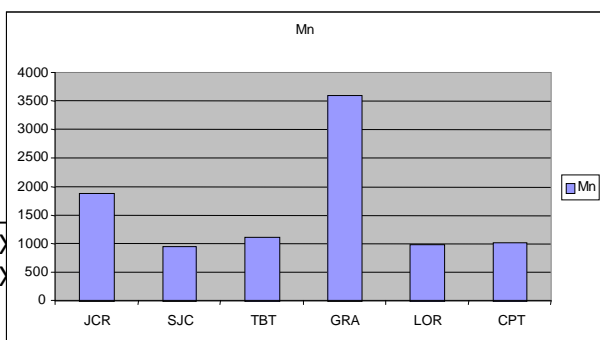


Figura 4 - Valores médios de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), de Mn, Fe, Zn, Ba e Cu para os 6 Municípios do Vale do Paraíba.

Conclusões

Os resultados analisados nesse relatório referem-se ao período de exposição compreendido entre novembro de 2009 a março de 2010, que pode ser considerado o período de maior índice pluviométrico. Assim sendo, os valores médios mensais de MCN, na maioria das vezes, apresentam-se abaixo aos valores do background de MCN, entre 2,0 e 2,3%, para os meses de novembro e dezembro. A partir de janeiro há uma tendência de aumento do número de MCN. Esse aumento pode estar correlacionado com a redução da pluviosidade, quando então os efeitos das fontes de poluentes se manifestam. O Município de São José dos Campos apresentou valores superiores às médias anuais obtidas em 2008 e 2009 (ZANATO et al 2008 e ZANATO et al, 2009), indicando a necessidade de continuidade do biomonitoramento.

Os resultados decorrentes da composição foliar para os 6 pontos de biomonitoramento mostram Guaratinguetá como o Município que apresenta maiores valores para Mn, Fe, Cu, Zn, Sr, Ca, P, S e Ba. Porém, a influência dos valores altos em Guaratinguetá não chega a ser observada nem em Lorena (a leste de Guará) nem em Taubaté (oeste de Guaratinguetá), mostrando com esses resultados uma influência bem localizada das fontes que contribuem para a variação espacial observada.

Referências

-KLUMPP A., ANSEL, W., KLUMPP, G., **European Network for the Assessment of Air Quality by the Use of Bioindicator Plants**. Final Report. University of Hohenheim, Germany, 168 pp., 2004.

- MARIANI, R. L. ; JORGE M. P. M. ; PEREIRA S. S. Caracterização da qualidade do ar em São José dos Campos – SP, utilizando *Tradescantia pallida* (TRAD-MCN) . **Geochimica Brasiliensis**, 22 (1) pp027-030, 2008.

- MARIANI, R. L. ; JORGE M. P. M. ; PEREIRA S. S.; MELIONE L. P. ; OLIVEIRA R. C. ; MA T. H. ; SALDIVA P. H. N. .Association between micronuclei frequency in pollen mother cells of

Tradescantia and mortality due cancer and cardiovascular diseases: A preliminary study in São José dos Campos, Brazil. **Environmental Pollution** Vol157(6), pp 1767-1770, June 2009.

- SAVÓIA, E. J. L. Potencial de *Tradescantia pallida* CV. Purpúrea para biomonitoramento da poluição aérea de Santo André – São Paulo – por meio do bioensaio Trad – MCN e do acúmulo foliar de elementos tóxicos . Tese de Mestrado ,2007.

- ZANATO, V. T. A. B.; JORGE, M. P. M. P.; CAPELO, A.; BARBOSA, E.; PEREIRA, L. Biomonitoramento no município de São José dos Campos, utilizando *Tradescantia Pallida* - Campanha 2007 -. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO INPE (SICINPE), 2008, São José dos Campos. (ANAIS...) São José dos Campos: INPE, 2008.

- ZANATO, V. T. A. B.; MARTINS, M. P. P.; MARIANI, R. L.; ROSÁRIO, F. V. Biomonitoramento no município de São José dos Campos, utilizando *Tradescantia Pallida* - Campanha 2008. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO INPE (SICINPE), 2009, São José dos Campos. Resumos... São José dos Campos: INPE, p. 49, 2009.