



## **O Uso de *Tradescantia Pallida* como um Bioindicador da Poluição Atmosférica em Perícia Ambiental – uma Proposta**

### **The Use of *Tradescantia Pallida* as a Bioindicator of Atmospheric Pollution in Environmental Expertise – a Proposal**

Kelvis Longhi<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Núcleo Interdisciplinar de Química Supramolecular e Ambiental (NIQuiSA), Instituto Federal Farroupilha (IFFar) – Campus Júlio de Castilhos, RS, Brasil

<sup>2</sup> Centro Universitário Internacional (UNINTER), Brasil

\* Corresponding author. Address: RS-527, s/n - Distrito de São João do Barro Preto, Júlio de Castilhos, RS, Brasil, CEP 98130-000. Phone: +55 (55) 3271-9500. E-mail: [kelvis.longhi@iffarroupilha.edu.br](mailto:kelvis.longhi@iffarroupilha.edu.br)

Received 13 April 2020

**Resumo.** O trabalho pericial – caracterizado como um dos meios produtores de provas em um processo judicial – apresenta-se como uma abordagem multidisciplinar e complexa, pois envolve diferentes áreas de atuação, diferentes métodos, uso de equipamentos sofisticados e testes custosos. A utilização de organismos bioindicadores como instrumento aplicado aos processos periciais na área ambiental tem sido reportada na literatura. Contudo, ainda não foi demonstrada a importância da espécie *Tradescantia pallida* como uma ferramenta de avaliação dos impactos da ação do homem sobre o meio ambiente juntamente com a sua relação com trabalhos periciais. A revisão bibliográfica foi baseada em 16 trabalhos científicos publicados no período 2014-2019 e demonstrou a utilização da *Tradescantia pallida* em trabalhos envolvendo a degradação da qualidade do ar no Brasil. Sendo assim, este estudo apresenta conceitos sobre o uso dessa espécie bioindicadora e do teste de micronúcleos, bem como sua aplicação no monitoramento da poluição atmosférica. Devido às características e sensibilidade da *Tradescantia pallida*, o teste de micronúcleos pode ser utilizado como uma ferramenta importante para a realização de trabalhos periciais para a constatação do delito ambiental, principalmente nos casos envolvendo poluição atmosférica.

**Palavras-chave:** Biomonitoramento; *Tradescantia pallida*; Trad-MCN; Poluição atmosférica; Perícia ambiental.

**Abstract.** The forensic expert work - characterized as one of the means to produce evidence in a judicial process - presents itself as a multidisciplinary and complex approach. It involves different practice areas, various methods, use of sophisticated equipment, and costly tests. The use of bioindicator organisms as an instrument applied to environmental judicial processes has reported in the literature. However, the importance of the species *Tradescantia pallida* as a tool to evaluate human action's impact on the environment and its relation with forensic expert work has not yet demonstrated. The bibliographic review was based in 16 scientific papers published in the period 2014-2019 and demonstrated the use of *Tradescantia pallida* in works involving the degradation of air quality in Brazil. Thus, this study presents concepts about the use of this bioindicator species and the micronucleus test, as well as their application in monitoring air pollution. Due to the characteristics and sensitivity of the *Tradescantia pallida*, the micronucleus test can be used as an important tool to carry forensic expert work out to verify environmental crimes, mainly involving atmospheric pollution.

**Keywords:** Biomonitoring; *Tradescantia pallida*; Trad-MCN; Atmospheric pollution; Environmental expertise.

## 1. Introdução

O crescimento descontrolado dos grandes centros urbanos tem contribuído para o aumento das emissões de gases poluentes através de fontes estacionárias e móveis, provocando uma deterioração significativa na qualidade do ar e resultando em danos ao meio ambiente e à saúde humana<sup>1,2</sup>. Aliado a isso, a demanda por produtos agrícolas de boa qualidade e a necessidade do aumento de produtividade e redução de custos tem resultado no uso indiscriminado de defensivos agrícolas ao ponto de tornar-se uma séria preocupação ambiental<sup>3,4</sup>. Essas formulações químicas quando aplicadas por via aérea tem seus danos ambientais agravados pela presença de resíduos no solo, na água e no ar. Além disso, os agentes genotóxicos liberados na atmosfera podem combinar com outras substâncias presentes no ar e comprometer a qualidade de vida da população<sup>5</sup>. Ainda tem-se o agravamento da condição ambiental a partir da combustão incompleta de combustíveis fósseis, como por exemplo, o carvão<sup>1,5,6</sup> e a queima de madeira nativa em procedimentos arcaicos na fabricação de cerâmicas<sup>7</sup>. Neste contexto de poluição atmosférica encontram-se os poluentes monóxido de carbono, dióxido de carbono, dióxido de enxofre, dióxido de nitrogênio, material particulado, metais pesados, benzeno e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos – extremamente nocivos à saúde humana e ao meio

ambiente<sup>1,5-7</sup>. Seus efeitos sobre a saúde humana estão associados a várias doenças cardiovasculares e respiratórias crônicas que causam milhões de mortes em todo o mundo e, em relação à biodiversidade, afetam a estabilidade genética e contribuem para o aparecimento de mutações nas espécies<sup>1,5-7</sup>.

A poluição atmosférica e suas consequências sobre o meio ambiente ou à saúde humana provocam vários conflitos envolvendo cidadãos, setores privados e públicos. Tais divergências são postas a acordo em um cenário de processo judicial envolvendo tanto o Direito Ambiental quanto o Direito Civil. Nesse contexto, a perícia ambiental surge como um dos meios produtores de prova na esfera judicial, auxiliando na apuração e elucidação de questões pertinentes ao processo a fim de esclarecer a veracidade dos fatos<sup>8</sup>. Portanto, a perícia ambiental apresenta-se como um elemento essencial de convicção do magistrado, não somente para fixação das indenizações, mas também para se determinar a existência e extensão de um dano ambiental. O caráter multidisciplinar e complexo da perícia ambiental é complementado, muitas vezes, pela necessidade de laboratórios de diferentes áreas de atuação, emprego de diferentes métodos, equipamentos sofisticados e testes custosos. Alternativamente tem-se avaliado a possibilidade de utilização de bioindicadores como instrumento aplicado aos processos de apuração de provas periciais<sup>9</sup>, sendo evidente a inexistência de trabalhos demonstrando a importância da espécie *Tradescantia pallida* nesse cenário.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho é apresentar uma revisão da literatura sobre a utilização da *Tradescantia pallida* como organismo bioindicador na avaliação da degradação da qualidade do ar no Brasil. Com isso, pretende-se demonstrar a aceitabilidade do Teste de Micronúcleo em *Tradescantia pallida* (Trad-MCN) pela comunidade científica, suas características e aplicações, bem como servir de informação para propostas e padronizações de protocolos relacionados a coletas de amostras para a utilização da espécie no campo da perícia ambiental.

## 2. Métodos

O presente estudo, caracterizado como exploratório e descritivo, busca apresentar e preencher uma lacuna existente entre os estudos periciais e científicos na área ambiental utilizando a espécie bioindicadora *Tradescantia pallida* no Brasil.

Nas bases indexadoras disponibilizadas no Portal de Periódicos da CAPES – *Web of Science* (Clarivate Analytics)<sup>10</sup> e *SciFinder web* (CAS Chemical Abstracts

Service)<sup>11</sup> – foi realizado um levantamento bibliográfico de artigos científicos que reportaram o uso da espécie no biomonitoramento e avaliação da degradação da qualidade do ar no Brasil no período 2014-2019. Para isso, os termos “*Tradescantia pallida*”, “Trad-MCN”, “air”, “atmospheric”, “pollution”, “PM” (*particulate matter*), “assessor” (*Law*), “trabalho pericial” e “Brasil” (ou Brazil) foram utilizados em combinação, considerando o título, resumo ou palavras-chave da publicação.

Após a busca nas bases de dados, as publicações foram selecionadas em um primeiro momento através da avaliação dos seus resumos, seguida da análise do conteúdo com a leitura do artigo completo para considerar os que de fato se tratavam do uso da espécie bioindicadora *Tradescantia pallida* na avaliação da degradação da qualidade do ar no Brasil. Como esperado, o termo “trabalho pericial” ainda não esteve associado à *Tradescantia pallida*.

No total, foram selecionados 16 artigos para referenciar o uso da técnica e demonstrar a sua aplicabilidade, sendo que os dados coletados foram organizados quanto ao período de monitoramento, unidade federativa da área monitorada, tipo de biomonitoramento, fontes emissoras da poluição atmosférica e fatores climáticos que podem influenciar os dados.

Por fim, os dados foram relacionados considerando a maneira como a poluição atmosférica afeta a espécie bioindicadora e como esse conhecimento pode ser utilizado para auxiliar os trabalhos periciais.

### **3. Resultados e discussão**

#### **3.1. Bioindicadores utilizados em trabalhos de perícia ambiental**

Bioindicadores são espécies, grupos de espécies ou comunidades biológicas cuja presença, abundância, distribuição e características morfológicas podem ser indicativos biológicos que refletem o conjunto de impactos ambientais ocorridos num ecossistema, diferenciando-os dos seus parâmetros de normalidade<sup>4,9</sup>.

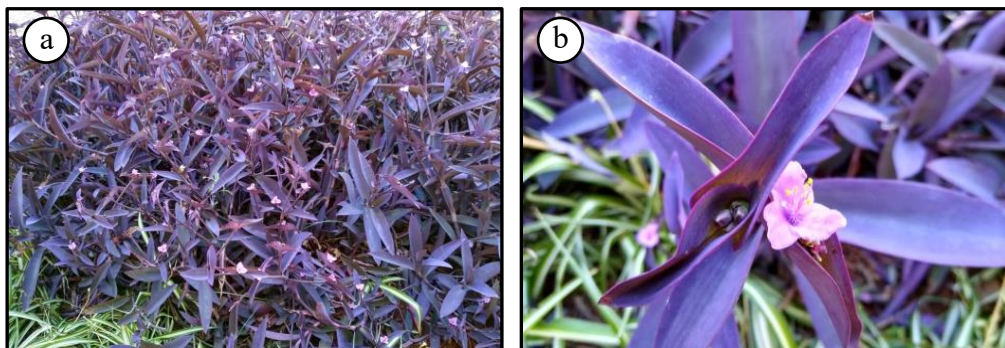
Diversos trabalhos da literatura científica relacionam diferentes espécies bioindicadoras com trabalhos periciais na área ambiental. Dentre estes, Vieira<sup>9</sup> relatou a utilização de protozoários, invertebrados, bactérias, fungos, leveduras, líquens e plantas (*Cordyline terminallis*) como instrumentos de perícias. Passos<sup>12</sup> relacionou a importância de invertebrados bentônicos como bioindicadores na constatação de crimes ambientais de poluição hídrica. Já Botteon<sup>8</sup> demonstrou a importância de insetos bioindicadores como uma perspectiva de aplicabilidade nas

atividades de perícia ambiental. Martinho<sup>13</sup>, sem mencionar espécies específicas de bioindicadores, demonstrou a necessidade da efetivação de uma legislação que determine e normatize o uso de indicadores biológicos aquáticos como ferramenta de prova na perícia ambiental envolvendo contaminação petrolífera em ambientes marinhos.

Portanto, nos trabalhos periciais são utilizadas várias espécies bioindicadoras e a aplicabilidade da espécie vegetal *Tradescantia pallida* – principalmente em relação ao seu potencial como bioindicador de poluição atmosférica – não tem sido explorada.

### 3.2. *Tradescantia pallida* como bioindicador da qualidade do ar

Popularmente conhecida como trapoeraba e coração-roxo, a *Tradescantia pallida* (Figura 1a e 1b) é uma espécie extremamente resistente a parasitas e insetos, apresenta fácil adaptação em qualquer ambiente, brota e cresce facilmente, além de florescer o ano inteiro. Ela está presente em canteiros e jardins de muitas cidades devido a sua fácil adaptação a diferentes condições climáticas<sup>14</sup>.



**Figura 1.** Imagens da espécie vegetal *Tradescantia pallida* em que está evidenciado: (a) arbusto ou pé da planta e (b) inflorescência jovem.

Além de ser utilizada como planta ornamental, a *Tradescantia pallida* tem sido utilizada experimentalmente desde os primeiros estudos que relacionaram atividade genética com a ação de compostos químicos ou agentes mutagênicos<sup>15,16</sup>. Algumas variações do gênero *Tradescantia* são conhecidas como importantes ferramentas em estudo de biomonitoramento nos trabalhos científicos, como a *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt var. *purpurea* Boom e o clone 4430<sup>2,17</sup>. A eficiência do clone 4430 tem contrastado com sua sensibilidade a fatores climáticos extremos, limitando a sua utilização em países tropicais como o Brasil. Isto tem conduzido os

pesquisadores a empregarem com mais frequência a espécie *Tradescantia pallida* var. *purpurea* no biomonitoramento da poluição atmosférica<sup>2,18</sup>. As plantas desse gênero são usadas como indicadoras em dois bioensaios principais: o teste de micronúcleo (Trad-MCN) e o teste da mutação do pelo estaminal de *Tradescantia* (Trad-SHM)<sup>4</sup>. Convém destacar que o teste Trad-MCN é aproximadamente 35 vezes mais sensível do que o Trad-SHM na detecção de efeitos mutagênicos<sup>4</sup>.

A ocorrência e versatilidade do uso da *Tradescantia pallida* no Brasil para monitorar a degradação da qualidade do ar pode ser observada através do levantamento bibliográfico demonstrado na Tabela 1. Dentre as unidades federadas brasileiras, se destacam como base da produção de conhecimento científico relacionado ao biomonitoramento com a espécie os Estados MS, MG, SP, RS, além de RN e MT em menor proporção. Outro aspecto relevante é o interesse dos pesquisadores pela fonte emissora, o que pode ser considerado como um indicativo de problemas de ocorrência local. Todos os estudos realizados em MS envolvem emissões veiculares, enquanto que além destas, em MG são abordadas emissões industriais, em SP o uso de defensivos agrícolas e no RS os efeitos do tabagismo. A queima de biomassa foi abordada em MT e RN (além das emissões industriais neste último).

**Tabela 1.** Publicações brasileiras utilizando o teste Trad-MCN no período 2014-2019.

| <b>Autoria</b>                                    | <b>Período de Monitoramento</b> | <b>Estado</b> | <b>Tipo</b>     | <b>Fonte Emissora</b> | <b>Fatores Climáticos<sup>a</sup></b> |
|---------------------------------------------------|---------------------------------|---------------|-----------------|-----------------------|---------------------------------------|
| Silva <i>et al.</i> , 2019 <sup>7</sup>           | Março a Junho (2012)            | RN            | Passivo         | Indústria             | T, C, UR, VV                          |
| Rocha <i>et al.</i> , 2018 <sup>5</sup>           | Agosto (2015) a Agosto (2016)   | MS            | Passivo         | Veículos              | T, C, UR                              |
| Sposito <i>et al.</i> , 2017 <sup>19</sup>        | Março a Novembro (2014)         | MS            | Passivo         | Veículos              | T, C, UR                              |
| Pereira <i>et al.</i> , 2017 <sup>20</sup>        | Abril (2013) a Junho (2014)     | MG            | Ativo           | Veículos              | -                                     |
| Amato-Lourenco <i>et al.</i> , 2017 <sup>21</sup> | Setembro a Dezembro (2014)      | SP            | Ativo           | Veículos              | T, C, UR                              |
| Fleck <i>et al.</i> , 2016 <sup>22</sup>          | Maio (2013)                     | RS            | Ativo           | Tabagismo             | T, C, UR, VV                          |
| Costa <i>et al.</i> , 2016 <sup>23</sup>          | Maio (2012) a Fevereiro (2014)  | RS            | Passivo e Ativo | Veículos              | T, C, UR                              |
| Campos <i>et al.</i> , 2016 <sup>24</sup>         | Junho a Agosto (2013)           | MG            | Ativo           | Indústria             | T, C, UR, VV                          |
| Rodríguez <i>et al.</i> , 2015 <sup>3</sup>       | - (Laboratório)                 | SP            | Passivo         | Defensivos agrícolas  | -                                     |
| Sposito <i>et al.</i> , 2015 <sup>25</sup>        | Maio (2010) a Agosto (2012)     | MS            | Passivo         | Veículos              | T, UR                                 |
| Santos <i>et al.</i> , 2015 <sup>1</sup>          | Março a Outubro (2011)          | SP            | Ativo           | Veículos              | T, C                                  |
| Cassanego <i>et al.</i> , 2015 <sup>26</sup>      | Maio (2012) a Março (2013)      | RS            | Ativo           | Veículos              | T, C, UR                              |

|                                            |                                 |    |         |                    |             |
|--------------------------------------------|---------------------------------|----|---------|--------------------|-------------|
| Galvão <i>et al.</i> , 2014 <sup>18</sup>  | Agosto (2018) a Setembro (2019) | RN | Ativo   | Queima de biomassa | C           |
| Crispim <i>et al.</i> , 2014 <sup>27</sup> | Abril a Setembro (2011)         | MS | Passivo | Veículos           | -           |
| Alves <i>et al.</i> , 2014 <sup>28</sup>   | Agosto (2018) a Janeiro (2019)  | MT | Ativo   | Queima de biomassa | -           |
| Pereira <i>et al.</i> , 2014 <sup>29</sup> | 17 a 23/Maio (2010)             | MG | Ativo   | Veículos           | T, C, UR, I |

<sup>a</sup> As condições climáticas apresentadas são: T = Temperatura; C = Chuva; UR = Umidade Relativa; VV = Velocidade do vento; I = Insolação

### 3.2.1. Exposição da planta e pontos de coleta

Diferentes sítios de estudo têm sido relatados nos trabalhos relacionados na Tabela 1, tanto em regiões urbanas quanto rurais, em que os pontos de coletas estão situados em locais expostos a diferentes situações poluidoras e diferentes níveis de fluxo de veículos. Além destes, deve ser considerado outro local, isento de poluição, o qual é denominado de 'controle'. A exposição do bioindicador aos poluentes atmosféricos tem sido caracterizada por dois tipos: monitoramento passivo e monitoramento ativo (Tabela 1). O monitoramento passivo aproveita as plantas existentes naturalmente no ponto de coleta da pesquisa, enquanto que no monitoramento ativo elas são introduzidas na área de estudo durante um tempo pré-determinado<sup>2</sup>. Trabalhos utilizando simultaneamente os dois sistemas de monitoramento demonstraram que o ativo é mais sensível do que o passivo<sup>2,23</sup>, contudo ambas as formas de exposição são amplamente utilizadas. Em se tratando de laudo pericial, onde é fundamental a adoção de parâmetros que comprovem as alterações e modificações ocorridas no meio ambiente afetado, o monitoramento ativo é indicado na produção da prova pericial de crime continuado. O monitoramento passivo é recomendado em casos de perícia imediata quando há a existência natural da espécie bioindicadora na região do crime ambiental. Convém salientar que praticamente todos os trabalhos listados na Tabela 1 apresentam representações geográficas para demonstrar a localização dos pontos de exposição, sendo que Sposito<sup>19</sup> e Rocha<sup>5</sup> utilizaram representações topográficas com dados processados a partir do GIS (*Geographic Information System*). A importância do uso de geotecnologias no assessoramento dos processos de Perícia Ambiental já foi anteriormente demonstrada por Nicoletti & Ferreira<sup>30</sup>.

### 3.2.2. Bioensaio Trad-MCN

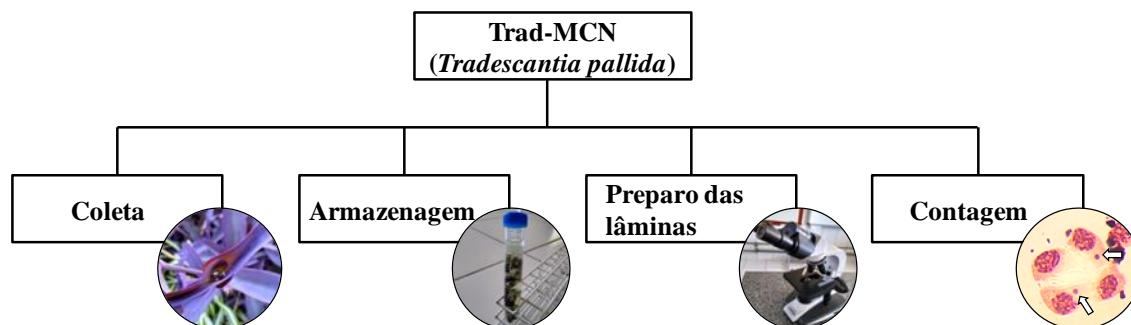
Dentre as espécies vegetais, a *Tradescantia pallida* tem sido amplamente empregada na detecção de danos cromossômicos em células-mãe de grãos de pólen na fase de tétrade<sup>2</sup>. Tais detecções têm sido realizadas através do teste de micronúcleos, inicialmente desenvolvido por Ma<sup>15,16</sup>, e que atualmente representa um conjunto de procedimentos de exposição e análise da planta *Tradescantia* a agentes contaminantes, conhecido como Trad-MCN. Devido a sua alta sensibilidade e eficiência para a detecção de agentes genotóxicos e carcinogênicos, tem se tornado uma ferramenta indispensável em estudos ambientais que visam detectar efeitos da poluição atmosférica e de contaminantes químicos na água e no solo<sup>3,5,24</sup>. E dado o seu valor científico, este teste é um candidato a tornar-se uma excelente ferramenta para materializar o delito ambiental nos processos judiciais.

O princípio do funcionamento do bioensaio Trad-MCN se dá pela exposição da planta *Tradescantia pallida* a agentes genotóxicos e mutagênicos, resultando em uma frequência de micronúcleos proporcional à concentração de poluentes. O dano é indicado com a quebra e perda de cromossomos durante a divisão celular meiótica na formação de grãos de pólen (células reprodutivas), gerando estruturas que permanecem no citoplasma das células interfásicas e formam a sua própria membrana nuclear, originando micronúcleos – os quais se assemelham ao núcleo principal quanto à forma, estrutura e propriedades de coloração, e podem variar quanto ao tamanho<sup>2,3,19,24</sup>. Os trabalhos têm relatado como aceitável a ocorrência natural de uma taxa de mutação espontânea inferior a 2,0% (2,0 MCN/100 tétrades) para os controles negativos (espécies em ambientes livres de poluição)<sup>23,24</sup>.

A técnica Trad-MCN para a identificação de micronúcleos segue o protocolo proposto por Ma<sup>15,16</sup> e os resultados podem ser expressos como percentagens (frequência de micronúcleos em 100 tétrades), conforme a equação proposta por Sisenando<sup>31</sup>. A Figura 2 esquematiza todo esse processo e pode vir a ser utilizada como um protocolo de referência na preparação técnico-científica de amostragens para trabalhos periciais. O protocolo proposto está estruturado em quatro etapas metodológicas a serem aplicadas pelo perito: coleta, armazenagem, preparo das lâminas e contagem (Tabela 2). A execução correta de todos esses procedimentos é necessária para que sejam obtidos resultados confiáveis, além de evitar a perda de materiais amostrais no transcorrer do processo judicial. Cabe salientar que a prova



técnica produzida de maneira objetiva, fundamentada e metodológica irá permitir ao usuário do laudo – o juiz – entender e esclarecer a veracidade dos fatos.



**Figura 2.** Proposta de protocolo de referência para trabalhos periciais, seguindo a preparação citológica e de contagem de micronúcleos do teste Trad-MCN de Ma<sup>15</sup> e Sisenando<sup>31</sup>.

**Tabela 2.** Descrição das quatro etapas dos metodológicas no protocolo dos trabalhos periciais.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>Coleta:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* Selecionar as inflorescências jovens nos locais de monitoramento e no controle;</li> <li>* Realizar as coletas preferencialmente na mesma época.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <p><b>Armazenagem:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* Durante a coleta, colocar em solução de Carnoy (solução 3:1, v/v, de álcool etílico e ácido acético);</li> <li>* Após 24 horas, trocar a solução para álcool etílico 70% (v/v) (podem ser armazenadas até 6 meses).</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <p><b>Preparo das lâminas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* Absorver com papel o excesso de conservante nas inflorescências;</li> <li>* Dissecar a inflorescência retirando o botão com as células-mãe de grãos de pólen;</li> <li>* Na lâmina, abrir o grão selecionado e retirar o material interno;</li> <li>* Aplicar solução de coloração (carmim acético 2%, v/v) e macerar o material;</li> <li>* No microscópio óptico, identificar a presença da fase celular de tétrade;</li> <li>* Retirar todos os <i>débris</i> (fragmentos celulares resultantes da maceração do botão);</li> <li>* Sobrepor a lamínula e deixar o conjunto em chapa aquecedora (70 °C) por alguns segundos;</li> <li>* Preparar de 5 a 10 lâminas para cada ponto amostral e controle.</li> </ul> |
| <p><b>Contagem:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* No microscópio óptico observar 300 tétrades em cada lâmina;</li> <li>* Simultaneamente, contabilizar o número de micronúcleos observados por lâmina;</li> <li>* Expressar a frequência de micronúcleos em 100 tétrades para cada ponto, conforme equação proposta por Sisenando<sup>31</sup>:</li> </ul> $MCN_{TOTAL} = \frac{\sum(M/300)}{n}$ <p>Onde:<br/>M é o número total de micronúcleos contados no ponto<br/>n é o número total de lâminas analisadas no ponto</p>                                                                                                                                                                                                                                                      |

O ensaio Trad-MCN tem sido utilizado em vários estudos científicos e possui várias vantagens sobre os métodos convencionais para a determinação de níveis de contaminantes. Além do baixo custo, metodologia direta de rápida execução, material de amostra de fácil acesso e maior sensibilidade, a resposta dos testes aos

poluentes fornece uma indicação confiável da qualidade e das características do meio ambiente<sup>23-25</sup>. Além disso, o uso dessa metodologia pode fornecer uma melhor compreensão da variabilidade dos poluentes atmosféricos em áreas urbanas juntamente com a informação do risco da exposição por outros organismos, incluindo seres humanos<sup>1</sup>. Tais vantagens vão ao encontro do que foi apontado por Passos<sup>12</sup>. O autor relata que características como a baixa necessidade de recursos e fácil aplicação, além da ampla aceitação pela comunidade científica, credencia as espécies bioindicadoras para serem utilizados em perícias ambientais.

Os estudos envolvendo a *Tradescantia pallida* geralmente são complementados com dados estatísticos utilizando análise de variância associada a um teste não paramétrico para determinar se existem diferenças significativas entre os dados. Também tem sido utilizada análise de regressão linear com a finalidade de associar a frequência de micronúcleos à quantidade de determinadas substâncias presentes no ar (material particulado, elementos traços, outros) ou com determinados fatores climáticos (temperatura, umidade relativa e chuva) do local de monitoramento. Sendo assim, é importante que testes estatísticos sejam utilizados nos trabalhos periciais envolvendo espécies bioindicadoras – o que irá conferir maior confiabilidade nos resultados obtidos e uma notável qualidade do trabalho do perito – mas sem esquecer que o juiz não é um especialista em perícias ambientais e por isso o laudo deve ser redigido em linguagem simples e clara.

### **3.2.3 Relação da frequência de micronúcleos e fontes emissoras**

Nos trabalhos analisados (Tabela 1) a frequência de micronúcleos tem demonstrado relação direta com o nível de poluição. Nestes estudos de biomonitoramento os dados mostram que as amostras expostas a ambientes poluídos apresentam frequências de micronúcleos significativamente maiores do que as observadas nos controles, ou até mesmo quando se comparam os pontos entre si. No entanto, frequências de diferentes pontos devem ser rigorosamente analisadas, pois podem estar associadas integralmente ou parcialmente a uma variedade de substâncias potencialmente genotóxicas presentes no ar atmosférico, à densidade demográfica (população urbana ou rural) e ao impacto antrópico<sup>23,26</sup>. Este último pode se manifestar a partir da atividade de fontes estacionárias (refinarias de petróleo, complexos industriais e siderúrgicas) e do tráfego veicular, em que o fluxo de veículos leves e pesados nas rodovias estaduais e federais é um importante

influenciador na frequência de micronúcleos<sup>26</sup>. Veículos pesados destinados ao transporte de cargas e passageiros utilizam combustíveis derivados de petróleo, como o óleo diesel, e são responsáveis pela maioria das emissões<sup>19</sup>. No entanto, durante uma paralisação do transporte público foram observados maiores níveis de micronúcleos devido ao aumento intenso no fluxo de veículos de menor porte<sup>29</sup>. Deve-se considerar que em cidades com intenso tráfego de veículos automotores ocorre uma maximização e ampliação da área de cobertura dos poluentes na cidade, apresentando com isso, maiores médias de formação de micronúcleos nas tétrades de *Tradescantia pallida*<sup>5</sup>. Também foi relatado que a alta frequência de danos genéticos pode estar associada à presença de dispositivos de controle de tráfego (rotatórias, lombadas e controladores eletrônicos de velocidade) localizados próximos aos locais de coleta das plantas, que provocam um aumento da concentração de poluentes atmosféricos liberados pelos veículos devido à desaceleração/aceleração e consequente aumento do consumo de combustível<sup>19</sup>.

Além das altas taxas de micronúcleos em plantas expostas às emissões da indústria cerâmica<sup>7,24</sup>, a análise dos efeitos genotóxicos da queima de biomassa mostrou que a frequência de micronúcleos do período de queima intensa é significativamente maior em comparação ao período de queima moderada<sup>28</sup>. Maiores frequências também foram encontrados nos locais que realizam torrefação da castanha de caju<sup>18</sup>. A concentração de elementos traços em material particulado (Mn, Fe, Cu, Zn, Rb, S e Al) presentes nas cascas de árvores tem demonstrado uma correlação positiva destes elementos com a ocorrência de micronúcleos em *Tradescantia pallida* expostas nos locais<sup>21</sup>. No mesmo estudo foi relatada uma diminuição na frequência de micronúcleos devido à presença de obstáculos verticais (edifícios ou árvores) que agem como barreiras para a entrada de poluentes para o interior do parque em estudo<sup>21</sup>. Por outro lado é importante considerar que a presença de edificações dificulta a dispersão dos contaminantes resultando em uma elevada concentração dos mesmos nos locais com presença da fonte emissora, aumentando a ocorrência de micronúcleos<sup>1,27</sup>. A aplicabilidade do teste Trad-MCN para a avaliação dos efeitos mutagênicos de defensivos agrícolas foi demonstrado por Rodríguez<sup>3</sup>, onde os resultados envolvendo o inseticida imidacloprida indicaram aumentos significativos das frequências de micronúcleos para plantas expostas às concentrações maiores, revelando um efeito dose-dependente. Outro estudo foi realizado em áreas livres para fumantes e utilizou o teste Trad-MCN para avaliar a

qualidade do ar e os efeitos genotóxicos do fumo ambiental do tabaco na *Tradescantia pallida*<sup>22</sup>.

A variedade de alternativas relacionadas à aplicabilidade da espécie estudada demonstra a correlação existente entre ocorrência de efeitos mutagênicos e inúmeros agentes causadores da degradação da qualidade do ar, proporcionando uma ampla abrangência do método Trad-MCN na abordagem de trabalhos periciais.

### 3.2.4. Relação da frequência de micronúcleos e condições climáticas

Condições climáticas estressantes também podem causar efeitos na formação de micronúcleos em *Tradescantia pallida*, em menor grau do que poluentes atmosféricos. Nestes casos, taxas de mutação espontânea podem ser induzidas e devem ser criteriosamente analisadas juntamente com a avaliação se determinado fator climático permaneceu dentro da faixa histórica média registrada para a região. Para estas interpretações, os pesquisadores têm utilizado dados *online* provenientes de estações meteorológicas ou manualmente por termo-higrômetro. Buriol<sup>32</sup> já validou a coleta dos dados *online*, uma vez que o ponto amostral e o local em que se encontra a estação meteorológica estão sob condições climáticas similares.

Fatores climáticos (temperatura, umidade relativa, velocidade do vento e precipitação) que não se alteram durante o período de exposição da planta não influenciam a ocorrência de micronúcleos<sup>21,23,29</sup>. Entretanto, maiores frequências de micronúcleos estão relacionadas a locais com baixa umidade relativa<sup>5,19,24,25</sup>, uma vez que nessas condições ocorre o fechamento dos estômatos, aumentando a absorção, transporte e acúmulo de substâncias mutagênicas nas células vegetais<sup>33</sup>. Em altos níveis de umidade relativa (precipitação) ocorre a dispersão dos poluentes, reduzindo o número de partículas na atmosfera e, resultando em uma menor formação de micronúcleos<sup>19,25</sup>. Baixas temperaturas podem aumentar a incidência de poluentes atmosféricos<sup>25</sup>, sendo que em locais com essas condições climáticas pode ocorrer a formação de uma camada de ar frio estacionário e causando uma maior concentração de gases poluentes<sup>5</sup>.

Portanto, a alta sensibilidade da técnica frente às condições climáticas confere ao trabalho pericial a necessidade de maior fundamentação e coleta de informações para que a situação estudada possa refletir precisamente o dano ambiental real causado.

#### **4. Conclusões**

Este trabalho é o primeiro movimento no sentido de relacionar a utilização da espécie bioindicadora *Tradescantia pallida* com trabalhos periciais a partir de uma proposta de protocolo de referência para auxiliar na coleta de dados. A revisão da literatura aqui descrita permitiu concluir que a *Tradescantia pallida* pode ser utilizada como uma ferramenta importante para a realização de trabalhos periciais, principalmente envolvendo poluição atmosférica. A planta é altamente sensível e um excelente organismo bioindicador para a detecção e identificação de fatores impactantes ao meio ambiente, além da relação causa e efeito entre os agentes agressores e o ambiente. Os resultados relacionados à análise de micronúcleos através do bioensaio Trad-MCN demonstraram que os poluentes atmosféricos provenientes da emissão veicular, atividade industrial, queima de biomassa, tabagismo e uso de defensivos apresentaram danos genotóxicos na espécie bioindicadora e que, por vezes, pode ser correlacionado à exposição humana. Também foi demonstrado que fatores climáticos extremos podem influenciar a formação de micronúcleos e devem ser considerados na interpretação dos dados.

A perícia ambiental apresenta-se de maneira complexa e exige atuação multidisciplinar e que todos os fatores causadores de danos ao meio ambiente sejam apurados e materializados em um laudo, o qual deverá ser eficaz para a decisão judicial. Com isso, o presente estudo poderá servir de subsídio aos profissionais da área ambiental para tomada de decisões de maneira rápida, evitando com isso, que não haja o desaparecimento de vestígios. Acrescenta-se também a busca por novas ferramentas para que o perito obtenha avaliações mais rápidas, confiáveis e seguras envolvendo a qualidade ambiental.

#### **Agradecimentos**

Este trabalho foi idealizado durante a Pós-Graduação Especialização *Lato Sensu* em Perícia e Auditoria Ambiental no Centro Universitário Internacional (UNINTER). O autor agradece ao professor da instituição, Cássio Michelon Bento, pelas revisões realizadas no trabalho de conclusão de curso.

#### **Referências**

1. Santos APM, Segura-Munoz SI, Nadal M, Schuhmacher M, Domingo JL, Martinez CA, Takayanagui AMM. Traffic-related air pollution biomonitoring with *Tradescantia pallida*

- (Rose) Hunt. cv. purpurea Boom in Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2015;187:1-10. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-4234-3>
2. Sposito JCV, Francisco LFV, Grisolia AB. Efetividade do ensaio Trad-MCN para avaliação de contaminantes atmosféricos em regiões brasileiras. *Revista Ambiente e Água*. 2017; 12:500-12. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2049>
  3. Rodriguez YA, Christofoletti CA, Pedro J, Bueno OC, Malaspina O, Ferreira RAC, Fontanetti CS. Allium cepa and Tradescantia pallida bioassays to evaluate effects of the insecticide imidacloprid. *Chemosphere*. 2015;120:438-42. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.022>
  4. Souza CP, Guedes TA, Fontanetti CS. Evaluation of herbicides action on plant bioindicators by genetic biomarkers: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2016;188:694. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5702-8>
  5. Rocha AND, Candido LS, Pereira JG, Silva CAM, Silva SV, Mussury RM. Evaluation of vehicular pollution using the TRAD-MCN mutagenic bioassay with Tradescantia pallida (Commelinaceae). *Environmental Pollution*. 2018;240:440-7. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.04.091>
  6. Becker DFP, Linden R, Schmitt JL. Richness, coverage and concentration of heavy metals in vascular epiphytes along an urbanization gradient. *Science of the Total Environment*. 2017;584-585:48-54. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.092>
  7. Silva KK, Duarte FT, Matias JNR, Dias SAMM, Duarte ESF, Soares CGCS, Hoelzemann JJ, Galvão MFO. Physico-chemical properties and genotoxic effects of air particulate matter collected from a complex of ceramic industries. *Atmospheric Pollution Research*. 2019;10:597-607. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2018.11.001>
  8. Botteon, VW. Perspectivas de Uso de Insetos Bioindicadores Ambientais em Trabalhos Periciais. *Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics*. 2016;5:383-401. [https://doi.org/10.17063/bjfs5\(4\)y2016383](https://doi.org/10.17063/bjfs5(4)y2016383)
  9. Vieira MSG, Ferreira RL, Olivati FN. A utilização de bioindicadores como instrumento de perícia ambiental. *Caderno Meio Ambiente e Sustentabilidade*. 2014; 5: 36-49. <https://www.uninter.com/cadernosuninter/index.php/meioAmbiente/article/view/460/386>
  10. Base multidisciplinar Web of Science - Coleção Principal (Clarivate Analytics). Link de acesso: <http://www.webofknowledge.com/>
  11. Plataforma de buscas Scifinder web. Link de acesso: <https://scifinder.cas.org/>
  12. Passos GA. Bioindicadores de qualidade da água: uma ferramenta para perícia ambiental criminal. *Acta de Ciências e Saúde*. 2016;1:135-9. <http://www2.ls.edu.br/actacs/index.php/ACTA/article/view/146/136>
  13. Martinho HMG, Ferreira RM, Borges JCS. Indicadores biológicos aquáticos como instrumentos de prova pericial em ambiente marinho por contaminação petrolífera

- utilizando legislação específica. *Revista Direito Mackenzie*. 2017;10:102-10. <http://editorarevistas.mackenzie.br/index.php/rmd/article/view/10274/6314>
14. Chimpan C, Sipos M. Anatomy of the vegetative organs of *Tradescantia pallida purpurea*. *Bihorean Biologist*. 2009;3:1-4. <http://biozoojournals.ro/bihbiol/cont/v3n1/bb.031101.Chimpan.pdf>
  15. Ma TS. *Tradescantia micronucleus* bioassay and pollen tube chromatid aberration test for in situ monitoring and mutagen screening. *Environmental Health Perspectives*. 1981;37:85-90. <https://doi.org/10.1289/ehp.813785>
  16. Ma TH, Cabrera, GL, Chen, R, Gill, BS, Sandhu, SS, Vandenberg, AL, Salamone, MF. *Tradescantia micronucleus* bioassay. *Mutation Research*. 1994;310:221-30. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(94\)90115-5](https://doi.org/10.1016/0027-5107(94)90115-5)
  17. Meireles J, Rocha R, Neto AC, Cerqueira E. Genotoxic effects of vehicle traffic pollution as evaluated by micronuclei test in *tradescantia* (Trad-MCN). *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2009;675:46-50. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2009.02.005>
  18. Galvão MFO, Cabral TM, de André PA, Andrade MF, Miranda RM, Saldiva PHN, Vasconcellos PC, Medeiros SRB. Cashew nut roasting: Chemical characterization of particulate matter and genotoxicity analysis. *Environmental Research*. 2014;131:145-52. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.03.013>
  19. Sposito JCV, Crispim BA, Roman AI, Mussury RM, Pereira JG, Seno LO, Grisolia AB. Evaluation the urban atmospheric conditions in different cities using comet and micronuclei assay in *Tradescantia pallida*. *Chemosphere*. 2017;175:108-13. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.136>
  20. Pereira BB, da Cunha PB, Silva GG, Campos Júnior EO, Morelli S, Filho CA, Lima EAP, Barrozo MAS. Integrated monitoring for environmental health impact assessment related to the genotoxic effects of vehicular pollution in Uberlândia, Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*. 2017;24: 2572-7.
  21. Amato-Lourenco LF, Lobo DJA, Guimarães ET, Moreira TCL, Carvalho-Oliveira R, Saiki M, Saldiva PHN, Mauad T. Biomonitoring of genotoxic effects and elemental accumulation derived from air pollution in community urban gardens. *Science of the Total Environment*. 2017;575:1438-44. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.221>
  22. Fleck AS, Carneiro MFH, Barbosa JF, Thiesen FV, Amantea SL, Rhoden CR. Monitoring an outdoor smoking area by means of PM<sub>2.5</sub> measurement and vegetal biomonitoring. *Environmental Science and Pollution Research*. 2016;23:21187-94. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5878-4>
  23. Costa GM, Petry CT, Droste A. Active Versus Passive Biomonitoring of Air Quality: Genetic Damage and Bioaccumulation of Trace Elements in Flower Buds of

- Tradescantia pallida* var. *purpurea*. *Water Air Soil Pollution*. 2016;227:9. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2923-y>
24. Campos CF, Junior EOC, Souto HN, Sousa EF, Pereira BB. Biomonitoring of the environmental genotoxic potential of emissions from a complex of ceramic industries in Monte Carmelo, Minas Gerais, Brazil, using *Tradescantia pallida*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 2016;79:123-8. <https://doi.org/10.1080/15287394.2015.1118714>
  25. Sposito JCV, Crispim BA, Mussury RM, Grisolia AB. Genetic instability in plants associated with vehicular traffic and climatic variables. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2015; 120: 445-8. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.06.031>
  26. Cassanego MBB, Sasamori MH, Petry CT, Droste A. Biomonitoring the genotoxic potential of the air on *Tradescantia pallida* var. *purpurea* under climatic conditions in the Sinos River basin, Rio Grande do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*. 2015;75:79-87. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.05514>
  27. Crispim BA, Spósito JCV, Mussury RM, Seno LO, Grisolia AB. Effects of atmospheric pollutants on somatic and germ cells of *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. HUNT cv. *purpurea*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2014;86:1899-1906. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201420140338>
  28. Alves NO, Hacon SS, Galvão MFO, Peixoto MS, Artaxo P, Vasconcellos PC, Medeiros SRB. Genetic damage of organic matter in the Brazilian Amazon: A comparative study between intense and moderate biomass burning. *Environmental Research*. 2014;130: 51-8. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2013.12.011>
  29. Pereira BB, Campos Júnior EO, Lima EAP, Barrozo MAS, Morelli S. Biomonitoring air quality during and after a public transportation strike in the center of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil by *Tradescantia micronucleus* bioassay. *Environmental Science and Pollution Research*. 2014;21:3680-5. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2335-0>
  30. Nicoletti EAM, Ferreira RL. Geotecnologia aplicada à perícia ambiental. *Caderno Meio Ambiente e Sustentabilidade*. 2015; 06: 37-53. <https://www.uninter.com/cadernosuninter/index.php/meioAmbiente/article/view/475/395>
  31. Sisenando HÁ, Atistuzzo SEM, Hacon SS. *Tradescantia pallida*: mais do que uma linda flor, um importante bioindicador da qualidade ambiental. *Genética na Escola*. 2009; 4:9-13. [https://docs.wixstatic.com/ugd/b703be\\_baab5c8b92dc4c0db2059af784532f88](https://docs.wixstatic.com/ugd/b703be_baab5c8b92dc4c0db2059af784532f88)
  32. Buriol GA, Estefanel V, Chagas ÁC, Eberhardt D. Clima e vegetação natural do Estado do Rio Grande do Sul segundo o diagrama climático de Walter e Lieth. *Ciência Florestal*. 2007;17:91-100. <https://doi.org/10.5902/198050981940>
  33. Klumpp A, Ansel W, Klumpp G, Calatayu V, Garrec JP, He S, Peñuelas J, Ribas A, Ro-Poulsen H, Rasmussen S, Sanz MJ, Vergne P. *Tradescantia micronucleus* test indicates



genotoxic potential of traffic emissions in European cities. *Environmental Pollution*. 2006;139:515-22. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.05.021>