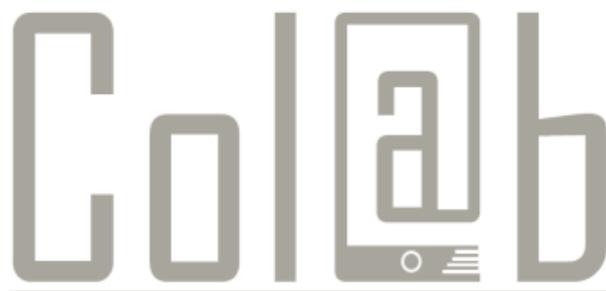




# [Bio] monitoramento de ambientes impactados por poluentes



**[Bio]**monitoreamento  
de ambientes impactados  
por poluentes



BIOMONITORAMENTO DE AMBIENTES IMPACTADOS POR POLUENTES

ISBN 978-65-902241-1-8 (eBook)

Colab | Edições Colaborativas  
[contato@editoracolab.com](mailto:contato@editoracolab.com)  
[www.colab.com.br](http://www.colab.com.br)



**Atribuição - Não Comercial - Sem Derivações 4.0 Internacional**

Direitos reservados aos autores. É permitido download do arquivo (PDF) da obra, bem como seu compartilhamento, desde que sejam atribuídos os devidos créditos aos autores. Não é permitida a edição/alteração de conteúdo, nem sua utilização para fins comerciais.

A responsabilidade pelos direitos autorais do conteúdo (textos, imagens e ilustrações) de cada capítulo é exclusivamente dos autores.

## **Autores:**

Andrei Barbassa Oliveira • Erica Prado Domingues • Lorrany Marins Mota • Boscolli Barbosa Pereira

### **Conselho Editorial e Responsabilidade Técnica**

A Colab possui Conselho Editorial para orientação e revisão das obras, mas garante, ética e respeitosa, a identidade e o direito autoral do material submetido à editora.

## **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

---

**Andrei Barbassa Oliveira; Boscolli Barbosa Pereira; Erica Prado Domingues; Lorrany Marins Mota.**

Biomonitoramento de ambientes impactados por poluentes [livro eletrônico] Vários autores.

Uberlândia, MG : Editora Colab, 2020.

2,0 MB ; PDF

Bibliografia

**ISBN 978-65-902241-1-8**

1. Ambiente – Ciências 2. Educação - Engenharia - Genética 3. Gestão - Indicadores – Poluentes 4. Biomonitoramento –

---

**Índices para catálogo sistemático:** Biomonitoramento de ambientes impactados por poluentes|

**628 : Engenharia sanitária; proteção ambiental**

---

# Apresentação

A Coleção Estudos Ambientais, organizada pela Editora Colab, reúne obras voltadas para a divulgação de resultados de pesquisas científicas relacionadas à temática ambiental, seguindo a perspectiva da interdisciplinaridade e da atuação multiprofissional. Assim, as contribuições recebidas e reunidas em cada volume da Coleção Estudos Ambientais incluem conteúdos voltados para a Legislação, Monitoramento e Gestão Ambiental, de maneira a oferecer informações a diversos grupos de interesse, como estudantes e professores universitários, engenheiros, administradores, gestores, consultores e agentes públicos.

Seguindo esse direcionamento, a Editora Colab, orgulhosamente, apresenta a obra 'BIOMONITORAMENTO DE AMBIENTES IMPACTADOS POR POLUENTES', segundo volume da Coleção Estudos Ambientais. Nesse livro, publicado no formato e-book, os sanitaristas Andrei Barbassa Oliveira, Erica Prado Domingues e Lorrany Marins Mota, juntamente com o biólogo Boscolli Barbosa Pereira divulgam os resultados de pesquisas empíricas em que foram avaliados os impactos da poluição atmosférica proveniente do tráfego veicular sobre indicadores biológicos. Os achados sugerem que o emprego de bioindicadores é viável para o (bio) monitoramento dos efeitos da contaminação ambiental em modelos biológicos, incluindo os próprios seres humanos.

# Sumário

**Apresentação** .....05

**Capítulo 1 | Bioacumulação de enxofre em *Canoparmelia* sp. em diferentes níveis de poluição atmosférica**

Andrei Barbassa Oliveira

Erica Prado Domingues

Lorrany Marins Mota

Boscolli Barbosa Pereira..... 07

**Capítulo 2 | Biomonitoramento de genotoxicidade em área urbana de tráfego intenso: efeitos da exposição à poluição do ar em vendedores de rua**

Erica Prado Domingues

Lorrany Marins Mota

Andrei Barbassa Oliveira

Boscolli Barbosa Pereira..... 21

**Capítulo 3 | Sensibilidade de líquens do gênero *Usnea* à poluição atmosférica em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil**

Lorrany Marins Mota

Andrei Barbassa Oliveira

Erica Prado Domingues

Boscolli Barbosa Pereira..... 38

# Bioacumulação de enxofre em *Canoparmelia sp.* em diferentes níveis de poluição atmosférica

## **Andrei Barbassa Oliveira**

Bacharel em Gestão em Saúde Ambiental  
Universidade Federal de Uberlândia  
[andreibarbassa@gmail.com](mailto:andreibarbassa@gmail.com)

## **Erica Prado Domingues**

Bacharela em Gestão em Saúde Ambiental  
Universidade Federal de Uberlândia  
[ericadomingues9@gmail.com](mailto:ericadomingues9@gmail.com)

## **Lorrany Marins Mota**

Bacharela em Gestão em Saúde Ambiental  
Universidade Federal de Uberlândia  
[lorranymarins96@gmail.com](mailto:lorranymarins96@gmail.com)

## **Boscolli Barbosa Pereira**

Biólogo, Doutor em Genética e Bioquímica  
Universidade Federal de Uberlândia  
[boscolli86@hotmail.com](mailto:boscolli86@hotmail.com)

**RESUMO:** A poluição atmosférica de origem veicular contribui para o desequilíbrio ambiental, diminuindo a biodiversidade e interferindo, conseqüentemente, na saúde humana. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a sensibilidade de líquens da espécie *Canoparmelia sp.* para realização de estudos de monitoramento da qualidade do ar. Trata-se de um estudo tipo caso-controle realizado na cidade de Uberlândia - MG, utilizando 70 árvores para realizar as análises da cobertura líquênica, divididas em três áreas, sendo uma de controle, distante de fontes poluentes (rodovias), e duas de monitoramento, próximas às rodovias e expostas aos poluentes. Foi identificada a tendência de que quanto mais próximas as amostras estiveram das fontes poluentes emissoras de SO<sub>2</sub> e quanto maior o fluxo de veículos movidos à diesel, mais acumularam enxofre em seus tecidos. Além disso, a taxa de cobertura líquênica foi menor nas árvores amostradas nas proximidades das fontes poluidoras.

**Palavras-chaves:** Bioacumulação. Líquens. Qualidade do ar. Dióxido de Enxofre.

## INTRODUÇÃO

As atividades humanas têm impactado severamente sobre o equilíbrio do meio ambiente, o que tem gerado perdas significativas de biodiversidade, principalmente em ecossistemas sensíveis (ROTAP, 2012; DISE et al., 2011).

Com o crescimento populacional e industrial e conseqüente aumento da frota veicular, a poluição atmosférica acentuou-se principalmente em áreas urbanas devido às emissões de compostos poluentes (SAMSUDIN et al., 2012).

Diversos compostos químicos, orgânicos e inorgânicos são responsáveis pela degradação do ar atmosférico (GODINHO et al., 2008; ARYA, 1999; LARSEN et al., 2007). Diversos poluentes tóxicos como ozônio (O<sub>3</sub>), material particulado (MP) e dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) são emitidos no ar a cada ano, sendo que as principais fontes responsáveis são as atividades industriais e o tráfego veicular (VARDAR et al., 2013).

Os veículos pesados, como ônibus, caminhões e algumas caminhonetes são movidos por óleo diesel, um combustível composto por SO<sub>2</sub> em concentração de 1% ou mais no Brasil. Esse poluente é emitido principalmente durante a exaustão veicular, em seu estado gasoso original, podendo, além disso, formar compostos secundários, como sulfatos de metais e ácido sulfúrico, sendo assim, um importante agente danoso do meio ambiente (FAIZ; WEAVER; WALSH, 1996) e potencialmente prejudicial à saúde humana por causar, dentre outros agravos, asma, enfisema e bronquite.

É essencial monitorar a qualidade do ar atmosférico, pois isso interfere diretamente em questões relevantes em nossa sociedade, como qualidade de vida e qualidade ambiental.

Diversos estudos demonstraram a importância de se estabelecer indicadores de monitoramento da qualidade do ar em complemento às variáveis físico-químicas, fazendo uso de agentes biológicos, os chamados biomonitores (KORTE, 2010; FOAN et al., 2010; NALI; FRANCINI; LORENZINI, 2006; VAN HERK, C. M.; MATHIJSEN-SPIEKMAN, E. A. M.; DE ZWART, D., 2003).

As principais pesquisas realizadas têm usado plantas, como *Tradescantia pallida* (Pereira; Júnior e Morelli, 2012) e líquens, como *Pseudevernia furfuracea* (VARDAR et al., 2013) e *Parmelia spp.* (SEED et al., 2013), o que tem contribuído com análises ambientais e possibilitando a preservação ambiental e a minimização de riscos relacionados à saúde humana.

Adicionalmente às informações fornecidas por indicadores físico-químicos de qualidade do ar, o uso de líquens bioindicadores é incentivado devido ao contato com as fontes poluidoras, reduzindo, assim, as incertezas experimentais obtidas apenas com ensaios físico-químicos (NIMIS; PURVIS, 2002; WELLBURN, 1994).

Os efeitos da poluição atmosférica em líquens são registrados desde o século XVIII (Nash, 2008), representando a principal ferramenta para esse segmento de monitoramento ambiental (NIMIS; SCHEIDEGGER e Wolseley, 2002; WELLBURN, 1994; WOLTERBEEK et al., 2003). Tais organismos, segundo Knops; Nash (1996), refletem o acúmulo de substâncias químicas no ar pelo mecanismo de bioacumulação.

Com base no exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a sensibilidade de líquens da espécie *Canoparmelia sp.* para serem utilizados como monitores dos efeitos da poluição atmosférica, quanto aos níveis de SO<sub>2</sub> em Uberlândia-MG, cidade do sudeste brasileiro que tem a segunda maior frota veicular do estado de Minas Gerais, contribuindo para a produção de informações voltadas para a área de Saúde Ambiental.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local de estudo

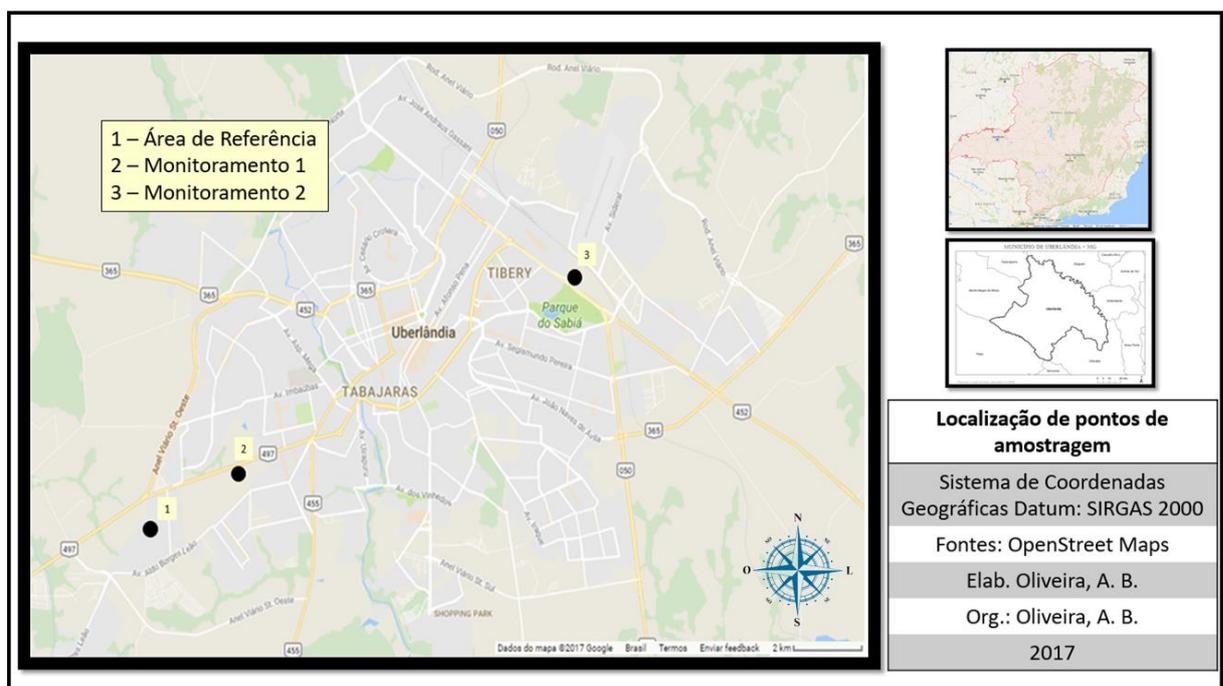
Uberlândia é a segunda cidade mais populosa de Minas Gerais segundo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), com população de aproximadamente 604 mil habitantes (IBGE, 2010). Possui clima tropical de altitude, com temperatura média de 22,3°C, sem sofrer grandes oscilações durante o ano, salvo por variações de umidade abaixo de 20% no inverno (INPE/CPTEC, 2011).

De acordo com o Departamento Nacional de Trânsito (DENATRAN, 2017), Uberlândia tem uma frota veicular total de 444.362, sendo a segunda maior do estado de Minas Gerais. Além da grande frota de veículos da própria cidade, Uberlândia, por ser o maior polo atacadista da América Latina, é rota de tráfego de veículos pesados de todo o país.

A figura 1 mostra às áreas escolhidas para o presente estudo.

Foram escolhidas três áreas, com diferentes níveis de intensidade de tráfego veicular, para realização do estudo na cidade de Uberlândia, sendo que a primeira (Latitude: -18.961709; Longitude: -48.355811) foi denominada área de 'referência', sendo uma área de chácaras distante do fluxo de veículos pesados da rodovia mais próxima (MG-497); a segunda (Latitude: -18.9400372; Longitude: -48.310935), chamada de 'monitoramento 1', que é uma área próxima (menos de 200 metros) da rodovia (MG-497) com fluxo médio de veículos pesados e a terceira (Latitude: -18.90455; Longitude: -48.23268); ainda foi denominada 'monitoramento 2' uma área próxima à outra rodovia (BR-050), com intenso tráfego de veículos pesados e emissores de SO<sub>2</sub>.

**Figura 1.** Pontos de Monitoramento e Referência avaliados no estudo.



## Material biológico

Foram avaliados líquens da espécie *Canoparmelia sp.*, que é cosmopolita, com centro de especiação nas Américas e no continente Africano. Líquens dessa espécie apresentam talo folioso adnato ao substrato, com rizinas simples que chegam até as margens dos lobos ou lacínios; geralmente apresenta cor cinza claro, com lobos maculados, e com face inferior de castanho a negra, sendo líquens menores quando comparados à maioria dos outros gêneros de Parmeliaceae (Elix 1994).

## Desenho do estudo

Foi realizado levantamento de líquens do tipo folhoso, da espécie *Canoparmelia sp.*, presentes em árvores da espécie *Mangifera indica* (mangueira), durante a estação seca, avaliando os parâmetros (i) cobertura de líquens em seções do caule das árvores e (ii) teor de enxofre em amostras de líquens coletados após determinação da cobertura liquênica em trinta árvores do local de referência e vinte árvores de cada área monitorada.

## Cobertura liquênica

A cobertura dos líquens foi medida na superfície do caule das árvores utilizadas no estudo, tanto nas áreas de monitoramento, como na área de referência, utilizando uma rede com 100 quadrantes (5 cm cada) para auxiliar na determinação percentual da cobertura.

As medições foram realizadas à altura de 1.5m do solo, conforme recomendado por Pereira, Júnior e Morelli (2013). Também foi aferida a circunferência das árvores, de modo a garantir que tivessem, no mínimo, 50cm de diâmetro.

### **Determinação do teor de enxofre**

A avaliação do teor de enxofre acumulado foi realizada em amostras de líquens, cujas árvores apresentavam cobertura liquênica superior a 1%. Para determinação da concentração de enxofre nas amostras foi empregado o método proposto por Gonzalez e Pignata (1994), que consiste na adição de 5mL de solução saturada de  $Mg(NO_3)_2$  a 500mg de cada amostra de líquen, seguida de aquecimento em forno por 30 minutos à temperatura de 500°C. Em seguida, foi realizada suspensão das cinzas em HCl 6M filtrado. A solução obtida foi mantida sob fervura por 3 minutos e, em seguida, teve seu volume ajustado para 50mL, adicionando-se água destilada. A quantidade de  $SO_4^{2-}$  na solução foi determinada pelo método de suspensão ácida com cloreto de bário e o teor de enxofre em cada amostra de líquen foi expresso em mg/g de massa seca.

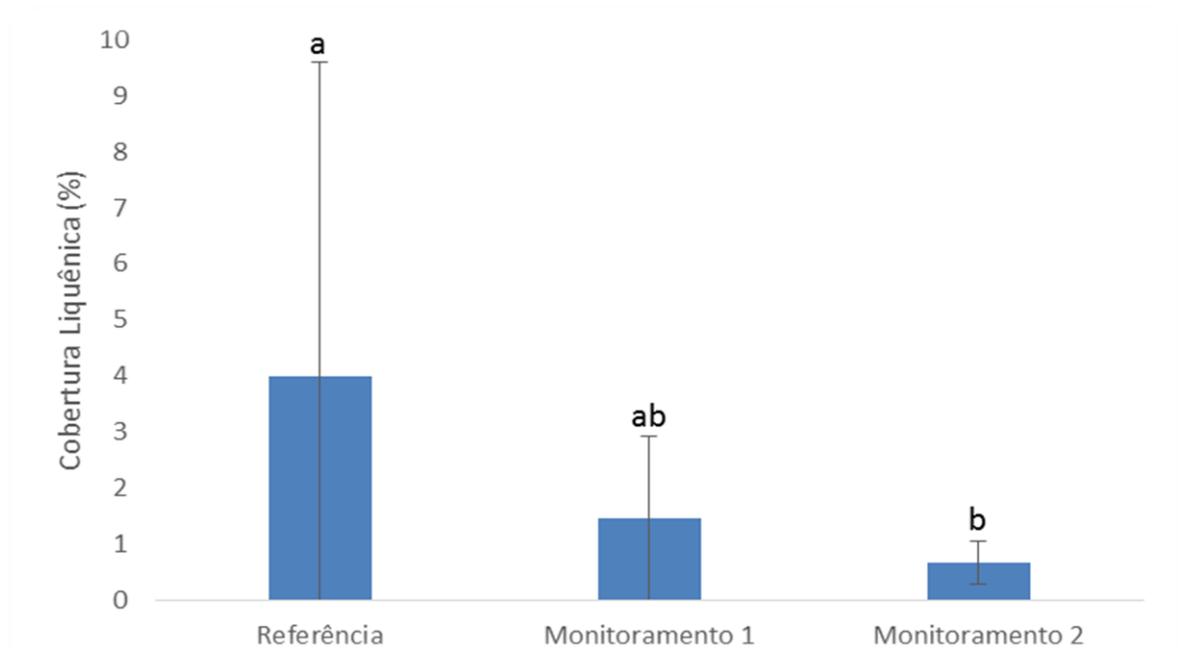
### **Análise estatística**

Para qualificar a sensibilidade da espécie liquênica como potencial biomonitora, os parâmetros avaliados foram comparados entre as áreas avaliadas por meio de Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey ( $p < 0.05$ ), para realização de comparações múltiplas.

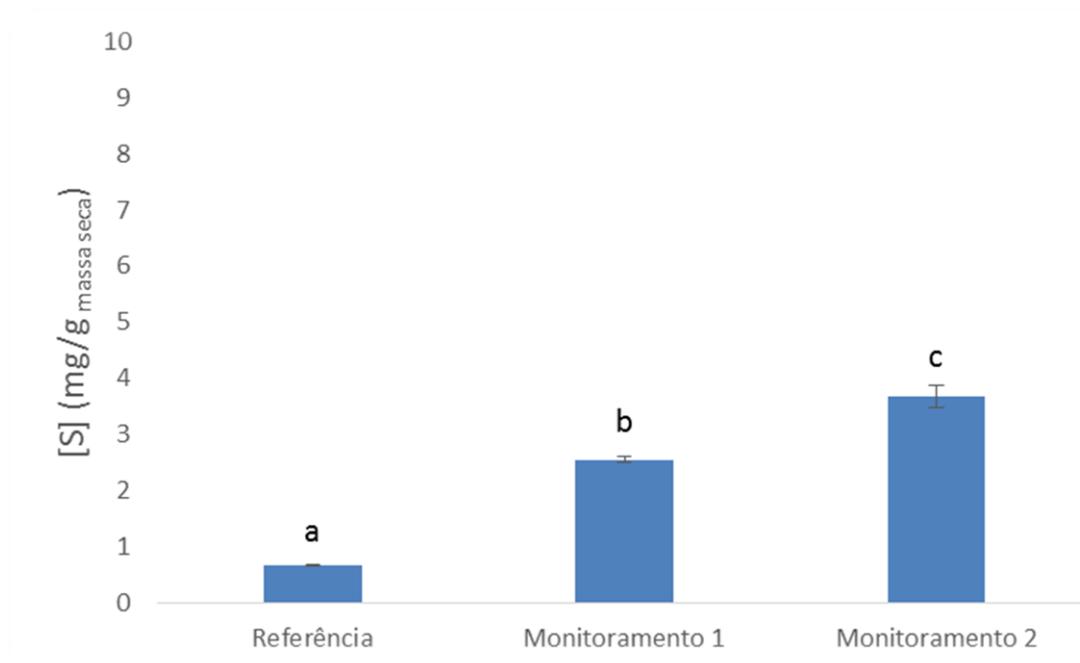
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme pode ser observado na figura 2, a cobertura líquênica variou nominalmente entre os locais de monitoramento e referência. Contudo, considerando os resultados da análise estatística, as árvores avaliadas na área de monitoramento 1 não apresentaram cobertura líquênica significativamente menor que a área de referência. Ainda de acordo com o apresentado na figura 1, a área de monitoramento 2 continha árvores com cobertura líquênica significativamente menor que a área de referência, e as áreas de monitoramento não diferiram estatisticamente entre si quanto à cobertura de líquens em suas árvores.

**Figura 2.** Percentual de cobertura líquênica em secções de caules de *Mangifera indica* por área de biomonitoramento.



Nota. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as áreas (ANOVA,  $F = 5.300$  ;  $p < 0.05$ ).

**Figura 3.** Teor de enxofre em amostras de líquens por área de biomonitoramento.

Nota. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as áreas (ANOVA, Tukey;  $F= 141.95$ ;  $p<0.05$ ).

Os resultados mostrados na figura 3 apontam para duas evidências possíveis, sendo a primeira a tendência de que em locais próximos às rodovias, as árvores apresentam pouca cobertura de líquens e, em locais afastados da influência do tráfego de veículos (área de referência), a cobertura líquênica é maior. A outra evidência é a de que, para uma avaliação mais precisa da sensibilidade da espécie de líquen avaliada, quanto ao parâmetro de cobertura, é necessário realizar outros estudos, aumentando o gradiente de áreas avaliadas, de acordo com a variabilidade do fluxo de veículos, e também aumentando o número de árvores avaliadas em cada área, ampliando, assim, o poder amostral.

Quanto ao parâmetro de determinação do teor de enxofre, a concentração desse poluente nas amostras de líquens coletadas foi estatisticamente diferente entre as áreas de estudo.

Comparando os locais de monitoramento e referência, pudemos observar uma significativa variação em até 1.5mg/g de enxofre por massa seca entre as respectivas amostras, revelando que áreas com menor exposição aos poluentes apresentaram, respectivamente, menor quantidade de enxofre nas amostras coletadas.

Em outros estudos que envolvem biomonitoramento da qualidade do ar atmosférico, líquens são amplamente utilizados, como visto nos estudos de Samsudin et al., 2012 e Seed et al., 2013.

Esses organismos são indicados para a realização de biomonitoramento devido ao seu mecanismo de obtenção de nutrientes, o qual ocorre pela atmosfera, e não por raízes, garantindo que a poluição atmosférica seja a principal via de contaminação.

Líquens possuem a capacidade de absorver substâncias tóxicas como dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) e compostos de nitrogênio (NO<sub>2</sub>), o que tem feito eles serem considerados organismos viáveis para realização de estudos de monitoramento da qualidade do ar (Blett, T.; L. Geiser, E. Porter, 2003).

Ou seja, devido ao sua capacidade de bioacumular substâncias agressivas, têm sido utilizados em estudos como ferramenta de determinação da qualidade ambiental.

## CONCLUSÃO

O trabalho evidenciou que os biomarcadores de acumulação de enxofre em líquens foliosos do gênero *Canoparmelia*, presentes em *Mangifera indica*, são sensíveis aos diferentes níveis de poluição atmosférica nas condições monitoradas. Entretanto, é necessária a continuação do estudo, com maior número amostral, a fim de confirmar ou refutar as evidências obtidas.

## REFERÊNCIAS

ARYA, S. P. **Air pollution meteorology and dispersion**. 1. ed. New York Oxford University Press, 1999. 320 p.

Blett, T.; L. Geiser, E. Porter (2003). Air-pollution-related lichen monitoring in national parks, forests and refuges: **Guidelines for studies intended for regulatory and management purposes**. National Park Service, U.S. Fish and Wildlife Service and U.S. Forest Service.

DENATRAN - Departamento Nacional de Trânsito. **Frota veicular** - Estatística de Dezembro de 2010. Disponível em: <<http://www.denatran.gov.br/frota.htm>>. Acesso em: 02.06.2016.

DISE, N. B.; ASHMORE, M. R.; BELYAZID, S.; BLEEKER, A.; BOBBINK, R.; DE VRIES, W.; ERISMAN, J. W.; SPRANGER, T.; STEVENS, C. J.; VAN DEN BERG, L. Nitrogen as a threat to European terrestrial biodiversity. In: SUTTON, M. A.; HOWARD, C.; ERISMAN, J. W.; BILLEN, G.; BLEEKER, A.; GRENNFELT, P.; VAN GRINSVEN, H.; GRIZZETT, I. B. **The European Nitrogen Assessment**. 1. Ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2011. p. 463-494.

ELIX, J. A. Parmeliaceae. **Flora of Australia**, v.55, p.1-360. 1996.

FAIZ, ASIF; WEAVER, CHRISTOPHER S.; WALSH, MICHAEL P. 1996. **Air pollution from motor vehicles: standards and technologies for controlling emissions.** Washington, D.C.: The World Bank.

<<http://documents.worldbank.org/curated/en/606461468739185298/Air-pollution-from-motor-vehicles-standards-and-technologies-for-controlling-emissions>>.

Acesso em: 18/04/2017

FOAN, L.; SABLAYROLLES, C.; ELUSTONDO, D.; LASHERAS, E.; GONZALEZ, L.; EDERRA, A. Reconstructing historical trends of polycyclic aromatic hydrocarbon deposition in a remote area of Spain using herbarium moss material. **Atmospheric Environment**, v. 44, p. 3207-3214, 2010. doi: 10.1016/j.atmosenv.2010.05.019.

GODINHO, R. M.; WOLTERBEEK, H. TH.; VERBURG, T.; FREITAS, M. C. Bioaccumulation behavior of transplants of the lichen *Flavoparmelia caperata* in relation to total deposition at a polluted location in Portugal. **Environmental Pollution**, v. 151, p. 318-325, 2008. doi: 10.1016/j.envpol.2007.06.034.

GONZALEZ, C. M.; PIGNATA, M. L. The influence of air pollution on soluble proteins, chlorophyll degradation, MDA, sulfur and heavy metals in a transplanted lichen. **Chemistry and Ecology**, v. 9, p. 105-113, 1994. doi: 10.1080/02757549408038568.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico 2010.** Disponível em:

<[http://www.cidades.ibge.gov.br/painel/populacao.php?lang=\\_ES&codmun=317020&search=minas-gerais|uberlandia|info%EF1ficos:-evolu%EF7%E3o-populacional-e-pir%EF2mide-et%EF1ria](http://www.cidades.ibge.gov.br/painel/populacao.php?lang=_ES&codmun=317020&search=minas-gerais|uberlandia|info%EF1ficos:-evolu%EF7%E3o-populacional-e-pir%EF2mide-et%EF1ria)>. Acesso em 10.06.16.

INPE/CPTEC - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais/Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos. Disponível em:

<<http://bancodedados.cptec.inpe.br>>. Acesso em: 18.05.16.

KNOPS, J. M. H.; NASH, T. H. The influence of epiphytic lichens on the nutrient cycling of an oak woodland. **Ecological Monographs**, v. 66, p. 159-179, 1996. doi: 10.2307/2963473.

KORTE, T. Current and substrate preferences of benthic invertebrates in the rivers of the Hindu Kush-Himalayan region as indicators of hydromorphological degradation. **Hydrobiologia**, v. 651, p. 77-91, 2010. doi: 10.1007/s10750-010-0291-y.

LARSEN, R.; BELL, J.N.B.; JAMES, P.; CHIMONIDES, P.; RUMSEY, F.; TREMPER, A. Lichen and bryophyte distribution on oak in London in relation to air pollution and bark acidity. **Environmental Pollution**, v. 146, p. 332-340, 2007. doi: 10.1016/j.envpol.2006.03.033.

NALI, C.; FRANCINI, A.; LORENZINI, G. Biological monitoring of ozone: the twenty-year Italian experience. **Royal Society of Chemistry**, v. 8, p. 25-32, 2006. doi: 10.1039/b510303g.

NASH III, T.H. **Lichen Biology**. 2. ed. New York: Cambridge University Press, 2008. 502 p.

NIMIS, P. L.; PURVIS, O. W. **Monitoring lichens as indicators of pollution**. In: NIMIS, P. L.; SCHEIDEGGER, C.; WOLSELEY, P. A. *Monitoring with Lichens - Monitoring Lichens*. 1. ed. Germany: Kluwer Academic Publishers, 2002. p. 7-10.

NIMIS, P. L., SCHEIDEGGER, C., WOLSELEY, P. A. **Monitoring with lichens e monitoring lichens: an introduction**. In: NIMIS, P.L., SCHEIDEGGER, C., WOLSELEY, P.A. *Monitoring with Lichens - Monitoring Lichens*. 1. ed. Germany: Kluwer Academic Publishers, 2002. p. 1-4.

PEREIRA, B. B.; DE CAMPOS JÚNIOR, E. O.; MORELLI, S. In situ biomonitoring of the genotoxic effects of vehicular pollution in Uberlândia, Brazil, using a *Tradescantia* micronucleus assay. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 87, p. 17-22, 2013. doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.10.003.

ROTAP - Review of Transboundary Air Pollution. A Review of Acidification, Eutrophication, Heavy Metals and Ground-Level Ozone in the UK. Disponível em: <<http://www.rotap.ceh.ac.uk/>>. Acesso em: 12/06/2017

SAMSUDIN M. W.; DIN L.; ZAKARIA Z.; LATIP J.; LIHAN T.; JEMAIN A. A.; SAMSUDIN F. Measuring air quality using lichen mapping at University Kebangsaan (UKM) Campus. **Procedia Social and Behavioral Sciences**, v. 59, p. 653-643, 2012. doi: 10.1016/j.sbspro.2012.09.324.

SEED L.; WOLSELEY P.; GOSLING L.; DAVIES L.; POWER S. A. Modelling relationships between lichen bioindicators, air quality and climate on a national scale: Results from the UK OPAL air survey. **Environmental Pollution**, v. 182, p. 437-447, 2013. doi: 10.1016/j.envpol.2013.07.045.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. Method 3052**. Washington, DC: Office of Solid Waste and Emergency Response, U.S. Government Printing Office. 1996.

VAN HERK, C. M.; MATHIJSEN-SPIEKMAN, E. A. M.; DE ZWART, D. Long distance nitrogen air pollution effects on lichens in Europe. **The Lichenologist**, v. 35, p. 347-359, 2003. doi: 10.1016/S0024-2829(03)00036-7

VARDAR, Ç.; BASARAN, E.; CANSARAN-DUMAN, D.; ARAS, S. Air-quality biomonitoring: assessment of genotoxicity of air pollution in the Province of Kayseri (Central Anatolia) by use of the lichen *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf and amplified fragment-length polymorphism markers. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 759, p. 43-50, 2014. doi: 10.1016/j.mrgentox.2013.09.011.

WELLBURN, A. **Air Pollution and Climate Change the Biological Impact**. 2. ed. New York Longman Scientific and Technical, 1994. 284 p.

WOLTERBEEK, H. T.; GARTY, J.; REIS, M. A.; FREITAS, A. **Biomonitoring in use: lichens and metal air pollution**. In: MARHERT, B.A., BREURE, A.M., ZECHMEISTER, H.G. *Bioindicators and Biomonitoring Principles: Concepts and Applications*. 1. ed. England: Elsevier, 2003. p. 377-420.

# Biomonitoramento de genotoxicidade em área urbana de tráfego intenso: efeitos da exposição à poluição do ar em vendedores de rua

## **Erica Prado Domingues**

Bacharela em Gestão em Saúde Ambiental  
Universidade Federal de Uberlândia  
[ericadomingues9@gmail.com](mailto:ericadomingues9@gmail.com)

## **Lorrany Marins Mota**

Bacharela em Gestão em Saúde Ambiental  
Universidade Federal de Uberlândia  
[lorrymarins96@gmail.com](mailto:lorrymarins96@gmail.com)

## **Andrei Barbassa Oliveira**

Bacharel em Gestão em Saúde Ambiental  
Universidade Federal de Uberlândia  
[andreibarbassa@gmail.com](mailto:andreibarbassa@gmail.com)

## **Boscolli Barbosa Pereira**

Biólogo, Doutor em Genética e Bioquímica  
Universidade Federal de Uberlândia  
[boscolli86@hotmail.com](mailto:boscolli86@hotmail.com)

**RESUMO:** Trabalhadores em diversos ambientes profissionais são expostos aos poluentes. Vendedores de rua (ambulantes) estão expostos a um ambiente urbano de elevado tráfego e aos poluentes atmosféricos, que incluem substâncias genotóxicas emitidas pelos veículos automotores. Estes trabalhadores podem não estar plenamente conscientes da natureza dessa exposição, das concentrações de poluentes a que estão expostos, dos riscos associados e das maneiras para se proteger contra os efeitos desses xenobióticos. O objetivo deste estudo de biomonitoramento destinou-se a determinar os efeitos genotóxicos da exposição à poluição do ar, avaliando a associação entre as frequências de micronúcleos (MN) e células binucleadas (BN) em células da mucosa oral esfoliada de vendedores ambulantes e indivíduos controle na cidade de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil e as condições de exposição, considerando a influência de variáveis individuais. Dados deste estudo mostraram que os vendedores ambulantes exibiram maior frequência de células MN, em comparação com os indivíduos controle. Além disso, uma análise de regressão múltipla revelou que não houve nenhuma relação significativa entre a frequência de MN e variáveis como índice de massa corporal, idade e tabagismo e/ou etilismo. Estes resultados sugeriram que a exposição a altas concentrações de partículas em suspensão por longos períodos diários pode ser uma das causas mais importantes para a genotoxicidade em células orais esfoliadas de vendedores ambulantes.

**Palavras-chaves:** Micronúcleos; Material particulado; Saúde Ambiental.

## INTRODUÇÃO

A exposição humana às áreas urbanas de tráfego intenso, caracterizadas por substâncias genotóxicas emitidas dos motores de combustão interna utilizados em ônibus, caminhões e carros, está correlacionada com a ocorrência de muitos problemas de saúde, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e respiratórias (MARIANI et al., 2009; GARCIA, 2013; CHANG et al., 2015).

Alguns tipos de trabalhadores estão diretamente expostos aos agentes genotóxicos no meio ambiente. Exposições de longo prazo têm sido estudadas para avaliar os riscos genotóxicos das ocupações e trabalhos relacionados ao tráfego intenso, como no comércio de rua (BENBRAHIM-TALLAET al., 2012; HALLARE et al., 2009).

Os métodos de monitoramento que utilizam biomarcadores genéticos têm sido usados para avaliar o impacto da exposição ambiental e ocupacional na saúde de trabalhadores expostos aos poluentes provenientes do tráfego de veículos automotores, principalmente material particulado (VIEGAS et al., 2013).

A fração fina de material particulado (fração em massa de partículas com diâmetro aerodinâmico inferior a 2,5  $\mu\text{m}$ ), que é designada como  $\text{MP}_{2,5}$  tem sido sugerida como indicador ambiental para as avaliações de riscos à saúde humana, uma vez que pode transportar metais, compostos orgânicos e secundários, como nitratos e ácidos orgânicos (MARCONI et al., 2007; RUFO et al., 2015 ,STOJIC et al., 2016).

A avaliação da frequência de células micronucleadas (MN) e binucleadas (BN) é amplamente utilizada como biomarcador de exposição aos poluentes genotóxicos, já que indicam divisão celular anormal. A presença dessas anormalidades em esfregaços de tecidos epiteliais pode indicar a exposição a um ambiente genotóxico e caracterizar risco potencial para o desenvolvimento de câncer (ZHANG et al., 2015).

Neste estudo, buscamos determinar a frequência de MN e BN em células de mucosa oral esfoliadas de vendedores ambulantes e grupos de controle na cidade de Uberlândia, que é considerada como uma das cidades de maior frota do Brasil. Buscamos comparar a sensibilidade desses biomarcadores genéticos e entender a relação entre a frequência de anormalidades nucleares nas células do epitélio oral, condições de exposição e variáveis individuais.

## **METODOLOGIA**

### **Local de estudo**

O local de estudo foi Uberlândia, município localizado na região do Triângulo Mineiro, no estado de Minas Gerais, sendo esse o segundo estado com maior frota de veículos do Brasil, apenas atrás do estado de São Paulo, de acordo com o IBGE (2016). A população estimada da cidade de Uberlândia em 2017 é de 676.613 (IBGE, 2016).

## Indivíduos

A amostra do estudo foi composta por 24 vendedores ambulantes (indivíduos trabalhando por pelo menos um ano em área urbana de tráfego intenso) e 24 indivíduos controle (indivíduos que trabalham e vivem longe da área urbana de tráfego intenso) da cidade de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Todos os voluntários prestaram o seu consentimento e responderam a um questionário estruturado que incluiu questões relacionadas com características demográficas, tabagismo, uso de álcool, ocupação e histórico médico.

Indivíduos menores de 18 anos; indivíduos com lesões na cavidade oral ou alterações da mucosa; indivíduos com *piercing* na língua, lábios ou bochechas, e indivíduos com preenchimento de amálgama foram excluídos do estudo. Também foi certificado que todos os indivíduos não foram expostos à radiação X por 12 meses antes da amostragem, não trabalhou com compostos cancerígenos conhecidos e não usou medidas de proteção em seus trabalhos.

O estudo foi realizado conforme os padrões éticos da Declaração de Helsinki de 1964. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética de pesquisa da FUCAMP sob o número 1.599.783.

## Preparações citológicas

Os indivíduos foram convidados a enxaguar a boca com água e a mucosa oral foi esfoliada suavemente com uma haste flexível de algodão.

As amostras foram preservadas em 5 ml de solução salina (NaCl 0,9%) até o momento das preparações citológicas.

As células das soluções salinas foram submetidas à centrifugação durante cinco minutos a 1500 rpm. A amostra foi espalhada numa lâmina de vidro para microscopia, fixada em solução de metanol: ácido acético (3:1) durante dez minutos e seca ao ar, à temperatura ambiente. As lâminas secas foram coradas com solução Giemsa (4%), diluída em tampão de fosfato (pH 8,0), durante dez minutos. Após a coloração, as lâminas foram enxaguadas em água destilada e secas ao ar livre.

A análise citológica foi feita sob microscopia de luz (aumento de 1.000 x) e a frequência de MN e BN foi investigada em um total de 1.000 células de cada indivíduo, de acordo com os critérios propostos por Tolbert et al. (1992).

### **Amostras de MP<sub>2,5</sub> no ar**

As amostras da fração fina de MP<sub>2,5</sub> encontradas no ar foram medidas por meio de um amostrador portátil de partículas.

Os dados foram coletados nos endereços ocupacionais e residenciais declarados no questionário, de acordo com Wang et al. (2006), para determinar a concentração média de MP<sub>2,5</sub> em 24 horas.

Brevemente, a amostragem foi realizada em oito dias consecutivos (dias de trabalho e finais de semana) durante a estação seca, de 8 a 15 de junho de 2016.

Os filtros de quartzo do amostrador, pré-aquecidos (450 ° C durante 4 h) para remover a potencial contaminação orgânica, foram mantidos em condições controladas

de temperatura (25 ° C) e umidade relativa (50%) para o tempo de monitoramento (24h).

Os filtros não expostos foram utilizados para monitorar a contaminação de fundo.

### **Análise estatística**

As diferenças nas características demográficas entre vendedores ambulantes e o grupo controle foram avaliadas pelo teste t-Student para as variáveis contínuas, tais como idade, Índice de massa corporal (IMC), a duração da exposição à poluição do ar e concentração de MP<sub>2,5</sub>. O teste do qui-quadrado foi usado para avaliar as diferenças nas variáveis categóricas, gênero e consumo de tabaco/álcool.

Diferenças nas frequências de MN e BN na mucosa oral esfoliada dos vendedores ambulantes e os grupos de controle que fumavam e/ou consumiam álcool foram verificadas pelo teste t-Student pareado.

Além disso, uma análise de regressão linear múltipla foi realizada para compreender a relação entre as condições de exposição à poluição do ar, concentração de MP<sub>2,5</sub> e o período diário da exposição à poluição do ar, a frequência de micronúcleos em células da mucosa bucal esfoliada e a influência de possíveis variáveis de confundimento, como índice de massa corporal (IMC), idade e tabagismo e/ou ingestão de álcool em todos os 48 indivíduos.

A equação de regressão foi obtida usando o método Stepwise e, após o ajuste, mostrou apenas os fatores que contribuíram significativamente para as variações na frequência de micronúcleos.

Para toda análise, o nível crítico de P para a rejeição da hipótese nula foi considerado como menor que 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as características da população de estudo mostradas na Tabela 1, o grupo de vendedores ambulantes e o grupo controle não diferiram significativamente em termos de idade e IMC. No entanto, a duração da exposição à poluição atmosférica e o nível de exposição ao MP<sub>2,5</sub> foram maiores para os vendedores ambulantes em comparação com o grupo controle (P <0,001).

Quanto ao consumo de álcool, hábito de fumar e gênero, vendedores ambulantes e grupos de controle foram escolhidos proporcionalmente.

Os desvios médios e padrão para a frequência de MN e BN em células de mucosa oral de ambos os grupos estudados, em diferentes pares por tabagismo e consumo de álcool, são mostrados na tabela 2.

Não houve diferença significativa entre os grupos em relação à ocorrência de células BN, mas a frequência das células MN foi maior entre os vendedores ambulantes do que no grupo controle em todos os pares comparados (P <0,001).

A análise de regressão múltipla revelou que não houve relação significativa entre a frequência de MN e as variáveis, tais como IMC, idade e tabagismo e/ou consumo de álcool.

**Tabela 1.** Características gerais e de exposição dos vendedores ambulantes e do grupo de controle.

<b>Grupos</b>	<b>Controle (n=24)</b>	<b>Vendedores ambulantes (n=24)</b>	<b>Valor P</b>
<b>Idade (idade, média ± DP)</b>	32,55 ± 11,11	32,22 ± 10,41	0,779 <sup>a</sup>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>, média ± DP)</b>	22,77 ± 3,37	22,23 ± 5,13	0,285 <sup>a*</sup>
<b>Tempo de exposição à poluição do ar (horas/dia, média ± DP)</b>	0,55 ± 0,46	9,43 ± 2,11	<0,001 <sup>a*</sup>
<b>MP2,5 ( mg/m<sup>3</sup>)</b>	4,61 ± 1,55	29,22 ± 6,78	<0,001 <sup>a*</sup>
<b>Sexo n (%)</b>			
<b>Masculino</b>	12 (50)	12 (50)	1,0 <sup>b</sup>
<b>Feminino</b>	12 (50)	12 (50)	1,0 <sup>b</sup>
<b>Fumantes n (%)</b>			
<b>Sim</b>	12 (50)	12 (50)	1,0 <sup>b</sup>
<b>Não</b>	12 (50)	12 (50)	1,0 <sup>b</sup>
<b>Uso de Álcool n (%)</b>			
<b>Sim</b>	12 (50)	12 (50)	1,0 <sup>b</sup>
<b>Não</b>	12 (50)	12 (50)	1,0 <sup>b</sup>

**Nota.** Teste de Mann Whitney; Teste <sup>b</sup>χ<sup>2</sup>. \* Significativamente diferente em comparação com o grupo de controle.

A análise de regressão múltipla mostrou que a equação matemática que melhor previu a frequência de micronúcleos (Y) inclui apenas a duração da exposição diária de poluição do ar (X1) e a concentração diária de MP<sub>2,5</sub> (X2) como variáveis. A análise é representada pela seguinte equação:

$$[\log_{10}MN = 1.8078 + 0.2726X1 + 0.1184X2, R^2 = 0.87, F = 48.51, p < 0.0001]$$

Os dados obtidos a partir da análise de regressão múltipla mostraram que as variáveis X1 e X2 foram responsáveis por 84,12% e 2,69% do coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>), respectivamente, enquanto as variáveis X3 (índice de massa corporal), X4 (idade), X5 (cigarro/por dia) e X6 (bebidas/por dia) não foram consideradas na análise da curva de regressão porque representaram apenas 0,19% do coeficiente de determinação e, conseqüentemente, não contribuíram significativamente para a equação.

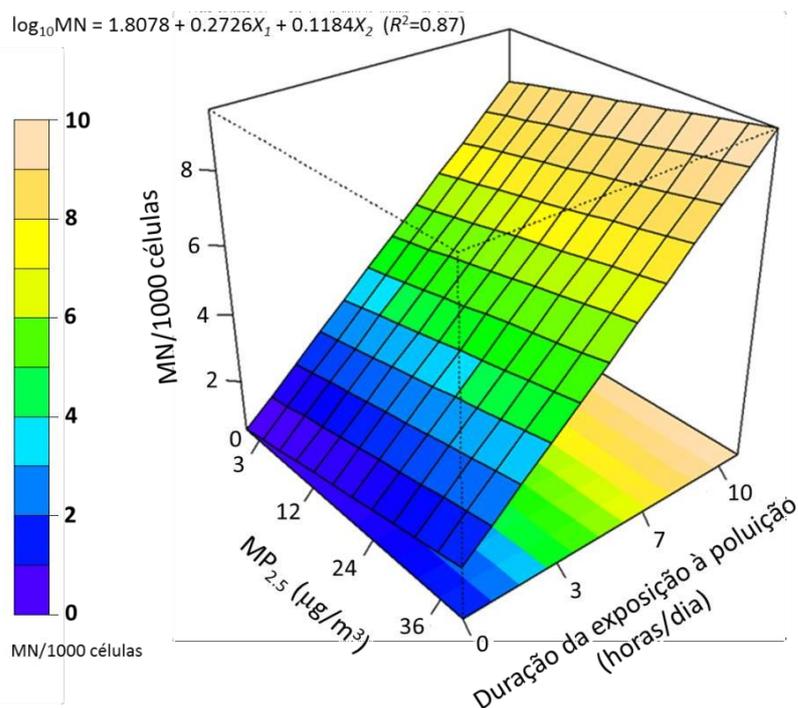
Portanto, 86,81% da frequência observada em células da mucosa oral esfoliada pode ser predita pela combinação linear das duas primeiras variáveis, como mostrado graficamente na Figura 1.

**Tabela 2.** Frequências de MN e BN em células de mucosa oral esfoliadas (por 1.000 células) dos vendedores ambulantes e do grupo controle, pelo tabagismo e consumo de álcool.

Hábitos		Anormalidades nucleares			
		MN (média ± DP/1000 células)		BN (média ± DP/1000 células)	
Fumantes	Etilistas	Controle	Vendedores	Controle	Vendedores
Sim	Sim	2,33 ± 2,08	8,21 ± 3,02*	2,00 ± 1,50	2,33 ± 1,67
Sim	Não	2,06 ± 1,67	7,66 ± 2,34*	2,33 ± 1,67	3,20 ± 2,55
Não	Sim	2,33 ± 1,88	7,34 ± 2,02*	2,51 ± 1,33	2,67 ± 2,34
Não	Não	1,67 ± 0,67	7,11 ± 3,67*	2,33 ± 1,67	2,50 ± 1,34

**Nota.** \* P <0,001, significativamente diferente em relação ao grupo controle, de acordo com o teste T Pareado.

**FIG. 1.** Representação gráfica de superfície da análise de regressão múltipla entre a duração da exposição diária à poluição do ar, a concentração diária de MP<sub>2,5</sub> e a frequência de micronúcleos na mucosa oral esfoliada.



A presente investigação considerou a exposição ambiental e ocupacional e incluiu o IMC, idade, consumo de álcool e tabagismo para avaliar o seu significado em ocorrências de anormalidades nucleares, como células micronucleadas e binucleadas na mucosa oral em vendedores ambulantes e indivíduos não expostos.

Não foram encontradas diferenças significativas em relação à frequência de células BN entre os dois grupos. Embora tenha sido observada alta frequência de células de BN em vários estudos, como os que avaliaram exposição a pesticidas (MINASI et al., 2011; KHAYAT et al., 2013), indicando defeitos de citoquineses, as células binucleadas não representaram um biomarcador sensível à avaliação da genotoxicidade do ar no presente estudo.

Por outro lado, o grupo de vendedores ambulantes avaliados apresentou 3-4 vezes o número de células MN em comparação com o grupo controle. Além disso, os trabalhadores foram expostos a altas concentrações do material particulado por longos períodos diários, em comparação com o grupo controle.

Isto é prova de que os vendedores ambulantes podem estar mais expostos a substâncias clastogênicas e aneugênicas, exauridas de motores de combustão interna usados em carros, caminhões e ônibus que contêm poluentes, tais como metais pesados, nitratos e ácidos orgânicos aderidos a material particulado (Pereira et al., 2014), e que são conhecidos por induzir efeitos genotóxicos (STOJIC et al., 2016).

O teste de micronúcleos pode ser realizado em células da mucosa oral. Esta abordagem foi reconhecida como um biomarcador de genotoxicidade facilmente acessível, de baixo custo, sensível, minimamente invasivo e importante devido à detecção de dano cromossômico. A associação de tais danos com o risco de desenvolvimento de câncer em outros tecidos é considerada, mesmo quando envolvendo o epitélio oral, para representar uma das principais rotas de introdução xenobiótica (MATEUCA et al., 2006).

Neste estudo, a análise de regressão múltipla mostrou que a frequência de MN era sensível aos riscos ambientais e de exposição ocupacional, mas, de acordo com os resultados, não foram encontradas associações significativas entre a frequência de células MN e idade, IMC e gênero.

Embora os homens e as pessoas idosas tenham maior frequência de MN que as mulheres e os jovens, respectivamente, de acordo com alguns estudos (GONSEBATT et al., 1997; PASTOR et al., 2001; GATTAS et al., 2001; OZKUL et al., 1997; PINTO et al., 2000, FENECH; BONASSI, 2011), no presente trabalho, a ausência de associação entre todas essas variáveis pode ser explicada pela proporcionalidade dos indivíduos escolhidos.

Apesar de o cigarro e álcool conterem substâncias genotóxicas confirmadas (KAUSAR et al. 2009; ISHIKAWA et al., 2007; SILVA et al., 2013; GUPTA et al., 2012), as associações entre aumento de MN com o tabagismo e o consumo de álcool não foram significativas devido ao baixo nível de tabagismo e álcool consumido entre os indivíduos participantes.

Segundo Ishikawa et al. (2007) e Haveric et al., (2010), são necessários altos níveis de consumo de álcool e tabagismo por dia para induzir uma elevação detectável da frequência de micronúcleos nas células da mucosa oral.

## **CONCLUSÃO**

Em conclusão, o presente estudo demonstrou que a exposição à poluição do ar em áreas urbanas de tráfego intenso pode induzir um aumento na frequência de MN. Neste contexto, os vendedores ambulantes representam alguns dos muitos trabalhadores expostos à substâncias genotóxicas no ar poluído.

Devemos orientar os trabalhadores sobre o tipo, quantidade e riscos de exposição, bem como acerca das medidas de proteção para reduzir a exposição à poluição atmosférica urbana.

## REFERÊNCIAS

- BENBRAHIM-TALLAA, L.; BAAN, R. A.; GROSSE, Y.; LAUBY-SECRETAN, B.; EL GHISSASSI, F.; BOUVARD, V.; GUHA, N.; LOOMIS, D.; STRAIF, K.; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER MONOGRAPH WORKING GROUP. Carcinogenicity of diesel engine and gasoline-engine exhausts and some nitroarenes. **Lancet Oncology**, v.13, p.663–664, 2012. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70280-2
- CHANG, C.C.; CHIU, H.F.; YANG, C.Y. Fine Particulate Air Pollution and Outpatient Department Visits for Headache in Taipei, Taiwan. **Journal of Toxicology and Environmental Health A**, v. 78, p.506-515, 2015. doi: 10.1080/15287394.2015.1010465.
- FENECH, M.; BONASSI, S. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. **Mutagenesis**, v.261, p.43–49, 2011. doi: 10.1093/mutage/geq050.
- GARCIA, S.M.; DOMINGUES, G.; GOMES, C.; SILVA, A.V.; ALMEIDA, S.M. Impact of Road Traffic Emissions on Ambient Air Quality in an Industrialized Area. **Journal of Toxicology and Environmental Health A**, v. 76, p. 429- 439, 2013. doi:10.1080/15287394.2013.771763
- GATTAS, G.J.; CARDOSO, L. DE A.; MEDRADO-FARIA, M. DE A.; SALDANHA, P.H. Frequency of oral mucosa micronuclei in gas station operators after introducing methanol. **Occupational Medicine**, v.51, p.107–113, 2001. doi: 10.1093/occmed/51.2.107
- GUPTA, S.K.; SAXENA, P.; PANT, V.A.; PANT, A.B. Release and toxicity of dental resin composite. **Toxicology International**, v.19, p. 225–234, 2012. doi:10.4103/0971-6580.103652
- HALLARE, A.V.; GERVASIO, M.K.; GERVASIO, P.L.; ACACIO-CLARO, P.J. Monitoring genotoxicity among gasoline station attendants and traffic enforcers in the City of Manila using the micronucleus assay with exfoliated epithelial cells. **Environmental and Monitoring Assessment**, v.156, p.331-341, 2009. doi: 10.1007/s10661-008-0488-y.
- HAVERIC, A.; HAVERIC, S.; IBRULJ, S. Micronuclei frequencies in peripheral blood and buccal exfoliated cells of young smokers and non-smokers. **Toxicology and Mechanical Methods**, v.20, p.260-266, 2010. doi: 10.3109/15376516.2010.482962.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Cidades@: Estimativa populacional para 2017**. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/>

- ISHIKAWA, H.; ISHIKAWA, T.; YAMAMOTO, H.; FUKAO, A.; YOKOYAMA, K. Genotoxic effects of alcohol in human peripheral lymphocytes modulated by ADH1B and ALDH2 gene polymorphisms. **Mutation Research**, v.615, p.134–142, 2007.doi: 10.1016/j.mrfmmm.2006.11.026
- KAUSAR, A.; GIRI, S.; MAZUMDAR, M.; GIRI, A.; ROY, P.; DHAR, P. Micronucleus and other nuclear abnormalities among betel quid chewers with or without sadagura, a unique smokeless tobacco preparation, in a population from North-East India. **Mutation Research**, v.677, p.72–75, 2009. doi:10.1016/j.mrgentox.2009.05.007
- KHAYAT, C.B.; COSTA, E.O.; GONÇALVES, M.W.; DA CRUZ CUNHA, D.M.; DA CRUZ, A.; DE ARAÚJO MELO, C.O.; BASTOS, R.P.; DA CRUZ, A.; DE MELO SILVA, D. Assessment of DNA damage in Brazilian workers occupationally exposed to pesticides: a study from Central Brazil. **Environmental Science and Pollution Research International**, v.20, p.7334–7340, 2013. doi:10.1007/s11356-013-1747-1
- MARCONI, A.; CATTANI, G.; CUSANO, M.; FERDINANDI, M.; INGLESSIS, M.; VIVIANO, G.; SETTIMO, G.; FORASTIERE, F. Two-years of fine and ultrafine particles measurements in Rome, Italy. **Journal of Toxicology and Environmental Health A**, v.70, p.213–221, 2007.doi: 10.1080/15287390600883174
- MARIANI, R.L.; JORGE, M.P.M.; PEREIRA, S.S.; MELIONE, L.P.; CARVALHO-OLIVEIRA, R.; MA, T.H.; SALDIVA, P.H.N. Association between micronuclei frequency in pollen mother cells of *Tradescantia* and mortality due to cancer and cardiovascular diseases: A preliminary study in São José dos Campos, Brazil. **Environmental Pollution**, v.157, p.1767–1770, 2009. doi: 10.1016/j.envpol.2009.02.023
- MATEUCA, R.; LOMBAERT, N.; AKA, P.V.; DECORDER, I.; KIRSCH-VOLDERS, M. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*, v. 88, p.1515–1531, 2006.doi: 10.1016/j.biochi.2006.07.004
- MINASI, L.B.; COSTA, E.O.; SILVA, D.M.; MELO, C.O.; DE ALMEIDA, J.G.; VIEIRA, T.C.; SILVA JÚNIOR, R.L.; RIBEIRO, C.L.; DA SILVA, C.C.; DA CRUZ, A.D. Cytogenetic damage in the buccal epithelium of Brazilian aviators occupationally exposed to agrochemicals. **Genetics and Molecular Research**, v.104, p.3924–3929, 2011.doi:10.4238/2011
- PASTOR, S.; GUTIERREZ, S.; CREUS, A.; CEBULSKA-WASILEWSKA, A.; MARCOS, R. Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of Polish farmers exposed to pesticides. **Mutation Research**, v. 495, p.147–156, 2001. doi: 10.1016/S1383-5718(01)00206-6
- PEREIRA, B.B.; CAMPOS JUNIOR, E.O.; MORELLI, S. In situ biomonitoring of the genotoxic effects of vehicular pollution in Uberlândia, Brazil, using a *Tradescantia* micronucleus assay. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.87, p.17–22, 2013.doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.10.003

PEREIRA, B.B.; CAMPOS JUNIOR, E.O.; LIMA, E.A.P.; BARROZO, M.A.; 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 International**, v.21, p.3680–3685, 2014. doi: 10.1007/s11356-013-2335-0

RUFO, J.C.; MADUREIRA, J.; PACIÊNCIA, I.; SLEZAKOVA, K.; PEREIRA, M. DO C.; PEREIRA, C.; TEIXEIRA, J.P.; PINTO, M.; MOREIRA, A.; FERNANDES, E. DE O. Exposure of Children to Ultrafine Particles in Primary Schools in Portugal. **Journal of Toxicology and Environmental Health A**, v.78, p.904-914, 2015. doi: 10.1080/15287394.2015.1048866.

STOJIĆ, S.S.; STANIŠIĆ, N.; STOJIĆ, A.; ŠOŠTARIĆ, A. Single and combined effects of air pollutants on circulatory and respiratory system-related mortality in Belgrade, Serbia. **Journal of Toxicology and Environmental Health A**, v.79, p.17-27, 2016. doi: 10.1080/15287394.2015.1101407.

TOLBERT, P.E.; SHY, C.M.; ALLEN, J. W. Micronucleus and other nuclear anomalies in buccal smears: Methods development. **Mutation Research**, v.271, p. 69–77, 1992.

VIEGAS, S.; MATEUS, V.; ALMEIDA-SILVA, M.; CAROLINO, E.; VIEGAS, C. Occupational exposure to particulate matter and respiratory symptoms in Portuguese swine barn workers. **Journal of Toxicology and Environmental Health A**, v.76, p.1007-1014, 2013. doi: 10.1080/15287394.2013.831720.

WANG, X.; BI, X.; SHENG, G.; FU, J. Chemical composition and sources of PM<sub>10</sub> and PM<sub>2.5</sub> aerosols in Guangzhou, China. **Environmental and Monitoring Assessment**, v.119, p.425-439, 2006. doi: 10.1007/s10661-005-9034-3c

ZHANG, X.; DUAN, H.; GAO, F.; LI, Y.; HUANG, C.; NIU, Y.; GAO, W.; YU, S.; ZHENG, Y. Increased micronucleus, nucleoplasmic bridge, and nuclear bud frequencies in the peripheral blood lymphocytes of diesel engine exhaust-exposed workers. **Toxicology Science**, v.1432, p.408-417, 2015. doi: 10.1093/toxsci/kfu239.

# Sensibilidade de líquens do gênero *Usnea* à poluição atmosférica em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil

## **Lorrany Marins Mota**

Bacharela em Gestão em Saúde Ambiental  
Universidade Federal de Uberlândia  
[lorranymarins96@gmail.com](mailto:lorranymarins96@gmail.com)

## **Andrei Barbassa Oliveira**

Bacharel em Gestão em Saúde Ambiental  
Universidade Federal de Uberlândia  
[andreibarbassa@gmail.com](mailto:andreibarbassa@gmail.com)

## **Erica Prado Domingues**

Bacharela em Gestão em Saúde Ambiental  
Universidade Federal de Uberlândia  
[ericadomingues9@gmail.com](mailto:ericadomingues9@gmail.com)

## **Boscolli Barbosa Pereira**

Biólogo, Doutor em Genética e Bioquímica  
Universidade Federal de Uberlândia  
[boscolli86@hotmail.com](mailto:boscolli86@hotmail.com)

**RESUMO:** Elevados níveis de emissões de poluentes atmosféricos pelos automóveis têm sido um grande problema em cidades cujo tráfego de veículos é intenso. Nesse sentido, estudos de biomonitoramento consistem em avaliar os impactos da poluição do ar e analisar uma espécie com potencial de bioindicação e sua resposta ao longo do período de observação. A utilização de líquens nesses estudos demonstra-se viável por apresentar sensibilidade aos poluentes atmosféricos. O objetivo deste estudo foi avaliar o teor de enxofre bioacumulado nos tecidos dos líquens do gênero *Usnea* ao se realizar o transplante de líquens de um local livre de poluentes atmosféricos para regiões com diferentes fluxos de veículos no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. Os resultados mostraram que, devido à sensibilidade do gênero *Usnea*, a concentração de enxofre nos líquens estava correlacionada com a intensidade do fluxo de veículos nos locais onde estiveram expostos durante o período de realização do estudo.

**Palavras-chaves:** Poluição do ar; Biomonitoramento; Veículos.

## INTRODUÇÃO

No que diz respeito à poluição atmosférica, a presença de substâncias nocivas torna o ar prejudicial à saúde, podendo causar danos aos organismos expostos (AMANCIO; NASCIMENTO, 2012). Tais substâncias são, principalmente, provenientes das emissões de veículos, que são um sério problema de contaminação nas cidades (BRAGA et al., 2007).

Os principais poluentes atmosféricos procedentes da queima de combustível nos veículos automotores são o dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>), monóxido de carbono (CO), compostos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>), material particulado e metais pesados (OLIVEIRA; KUMMROW, 2008; VARDAR et al., 2013).

Apesar da qualidade do ar ser monitorada por análises físico-químicas, há necessidade de se estabelecer uma complementação pela utilização de espécies biomonitoras e bioindicadoras, que possam demonstrar, por meio de seu biomonitoramento, quais são as implicações das emissões de poluentes nos seres vivos (VAN HERK; MATHIJSEN-SPIEKMAN; DE ZWART, 2003).

Nesse sentido, estudos de biomonitoramento têm sido empregados para avaliar os impactos da poluição atmosférica na saúde humana, uma vez que efeitos malignos podem ser causados como resultado de sua inalação, em razão da concentração de poluentes resultante das atividades urbanas a qual as pessoas estão expostas regularmente, incluindo os poluentes de origem veicular (GARCIA et al., 2013).

A aplicação de líquens como biomonitores se mostra viável devido à alta absorção de substâncias por sua superfície (MALASPINA et al., 2014) e devido à sua sensibilidade a poluentes atmosféricos (MARTINS KAFFER; LEMOS, 2008), o que permite a realização de análises químicas que possibilitam a identificação dos poluentes para biomonitoramento da qualidade do ar.

A principal técnica utilizada para aplicação de líquens como biomonitores é a transplantação, também conhecida como translocação, determinada pela transferência do líquen de um local doador para um receptor, onde será desenvolvido o estudo pretendido. A transplantação, assim, demonstra-se necessária para a restauração e monitoramento da qualidade dos ecossistemas, voltada para a conservação de espécies (SMITH, 2014).

Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo realizar o biomonitoramento da qualidade do ar com uma espécie de líquen bioacumuladora de enxofre, por meio da técnica de transplantação de uma região de referência, livre de poluentes atmosféricos, para regiões com diferentes intensidades de tráfego de veículos em Uberlândia, MG.

## METODOLOGIA

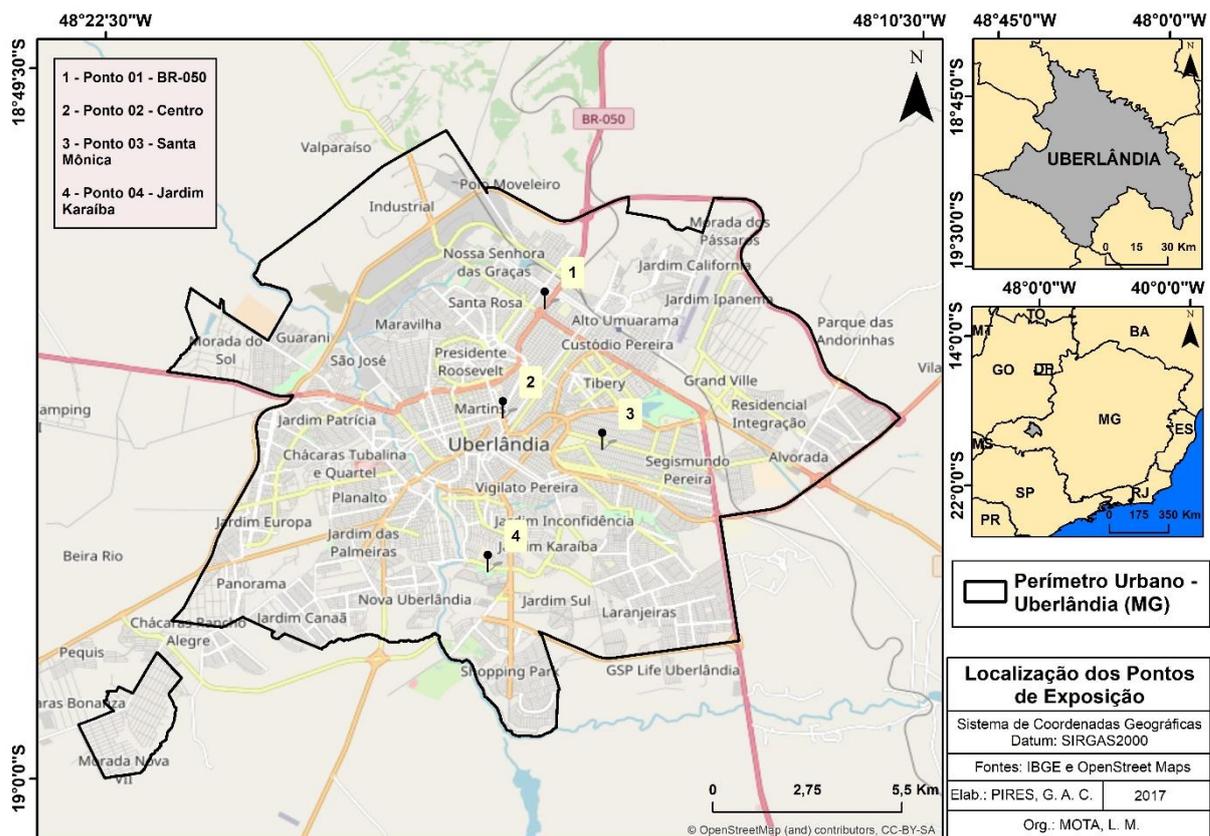
### Local de estudo

O local de estudo foi o município de Uberlândia, localizado na região do Triângulo Mineiro, no estado de Minas Gerais, que apresenta clima local Tropical (Cwa), segundo a classificação climática de Köppen-Geiger (PEEL; FINLAYSON; MCMAHON, 2007), caracterizado por verões chuvosos, ou seja, quentes e úmidos, e invernos com baixa pluviosidade, frios e secos.

A temperatura média anual na cidade é 21.5 °C e a pluviosidade média anual é de 1479 mm, distribuída entre os meses de outubro e março (INPE/CPTEC, 2016).

Os locais de estudo foram quatro pontos com diferentes fluxos de veículos distribuídos pelo município (Figura 1), sendo eles, a BR-050, uma rodovia com grande movimentação diária de veículos (18°52'57.9"S, 48°15'53.2"W), o bairro Centro, numa praça localizada próxima ao Terminal Central, a estação de ônibus central do município (18°54'43.1"S, 48°16'35.6"W), o bairro Santa Mônica, uma área residencial e comercial (18°55'13.4"S, 48°14'58.7"W) e o bairro Jardim Karaíba, numa reserva ambiental (18°57'08.5"S, 48°16'45.0"W) e como referência foi adotado um local livre de fontes poluidoras, nas proximidades do município de Prata, em Minas Gerais (19°08'17.2"S, 48°46'23.9"W).

Devido à sensibilidade dos líquens, especialmente daqueles utilizados nesse estudo, existe uma dificuldade de encontra-los em locais com a presença de fontes poluidoras, por isso sua coleta no município de Uberlândia, MG, foi inviabilizada, tendo em vista que este apresentava 439.689 veículos, em 2016, representando a segunda maior frota veicular do estado de Minas Gerais (DENATRAN, 2017). Deste modo, os líquens foram encontrados dentro das delimitações do município de Prata, numa área reservada e afastada da área urbana, sem a presença de potenciais fontes poluidoras.



**Figura 1.** Localização dos pontos de exposição dos líquens para biomonitoramento da bioacumulação de enxofre no município de Uberlândia, Minas Gerais.

## Material biológico e transplante

Para realização do teste de avaliação de sensibilidade foram utilizados líquens do tipo fruticoso, do gênero *Usnea*, transplantados do local referência, livre de poluição atmosférica no município de Prata, MG, para regiões que apresentavam variados níveis de circulação de veículos do município de Uberlândia, MG.

Os líquens do gênero *Usnea*, morfologicamente, apresentam diversas ramificações, o que garante maior superfície de contato com o ar atmosférico e, conseqüentemente, com os poluentes. Esta característica é responsável por garantir a sensibilidade de líquens desse tipo (SOARES, et al., 2014).

Para o estudo de biomonitoramento, 5 amostras do total de líquens coletados no local referência foram encaminhadas diretamente para o laboratório, onde analisou-se o teor de enxofre presente em seus tecidos, e, dos demais líquens coletados, 5 amostras foram transplantadas para cada um dos seguintes pontos com diferentes fluxos de veículos no município de Uberlândia: BR-050, bairro Santa Mônica e bairro Jardim Karaíba, sendo que no bairro Centro 10 amostras foram transplantadas devido à grande extensão da praça.

Cada amostra de líquen foi fixada em uma cortiça por goma de trigo e, em seguida, foram colocadas em árvores e expostas durante três meses (MALASPINA et al., 2014), período que se iniciou em 17 de novembro de 2016 e finalizou em 19 de fevereiro de 2017.

Posteriormente, as amostras foram submetidas a análises laboratoriais para avaliação do teor de enxofre bioacumulado nos tecidos.

Os dados climatológicos do período mencionado foram obtidos no Laboratório de Climatologia e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

### **Determinação do teor de enxofre bioacumulado**

Após o período de translocação, os líquens foram submetidos a análises químicas para a determinação do teor de enxofre bioacumulado em seus tecidos. Para isso, 5mL de solução saturada de  $Mg(NO_3)_2$  foram adicionados à 500mg de cada amostra de líquen. Subsequentemente, a amostra foi aquecida em forno por 30 min a  $500^\circ C$ . As cinzas foram suspensas em HCl 6M filtrado. A solução obtida foi mantida sob fervura por 3 min e, em seguida, teve seu volume ajustado para 50mL, adicionando-se água destilada. A quantidade de  $SO_4^{2-}$  na solução foi determinada pelo método de suspensão ácida com cloreto de bário, de acordo com o descrito por Gonzalez e Pignata (1994). O teor de enxofre em cada amostra de líquen foi expresso em mg/g de massa seca.

### **Análise estatística**

Para comparar as taxas de bioacumulação nos diferentes locais, foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey para comparação múltipla. Valores de  $p < 0.001$  foram considerados estatisticamente significativos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 representa as condições climáticas em Uberlândia, MG, após o transplante do material biológico para diferentes regiões do município. As características climáticas do município não apresentaram grande variação ao longo dos meses, sendo que a média de temperatura variou entre 23,9°C e 26,1°C, a de umidade entre 59% e 62,5%, a de radiação entre 1.962kJ/m<sup>2</sup> e 2.041kJ/m<sup>2</sup> e a média de precipitação variou entre 12,8mm e 25,6mm.

De acordo com Hazell e Gustafsson (1999), períodos de muita seca podem influenciar negativamente o transplante dos líquens, porém, como visto neste estudo, as condições climáticas não atingiram extremos e se mantiveram médias e constantes ao longo dos 3 meses.

**Tabela 1.** Condições climáticas mensais durante o período de transplante dos líquens em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Meses/Ano	Temperatura (°C)			Umidade (%)			Radiação (kJ/m <sup>2</sup> )			Precipitação (mm)		
	Média	Máx.	Mín.	Média	Máx.	Mín.	Média	Máx.	Mín.	Média	Máx.	Mín.
Nov/2016	23,9	31,7	16,1	59	97	21	2.007	4.018	3,54	12,8	25,6	0
Dez/2016	25,2	32,8	17,6	62,5	97	28	1.962	3.928	3,54	25,6	51,2	0
Jan/2017	26,1	33,8	18,4	62	98	26	2.041	4.085	3,54	15,6	31,2	0
Fev/2017	25	32,1	17,9	62	98	26	1.993	3.990	3,54	23,9	47,8	0

Fonte: Laboratório de Climatologia e Recursos Hídricos/UFU

Os líquens expostos na região do Centro e na margem da BR050 apresentaram os maiores teores de enxofre bioacumulado em seus tecidos, com média de 1,69 mg/g e 2,54 de mg/g de massa seca, respectivamente (Tabela 2). Esses locais apresentam elevado tráfego de veículos pesados, como ônibus, caminhões e caminhonetes de grande porte, o que acarreta em maior concentração de enxofre presente no meio.

Ainda de acordo com os dados apresentados na Tabela 2, no bairro Santa Mônica, o teor de enxofre bioacumulado nos líquens foi de 0,75 mg/g de massa seca, pois, por ser uma área comercial e universitária, com elevado fluxo veicular, serve de trajeto para diversas pessoas ao longo do dia. No bairro Jardim Karaíba, o teor de enxofre é igual àquele encontrado no local referência do estudo, ou seja, 0,32 mg/g de massa seca, uma vez que, por ser um local de preservação ambiental, a presença de vegetação e o reduzido fluxo de veículos nas proximidades da reserva contribuem para a menor concentração de enxofre no meio.

**Tabela 2.** Teor de enxofre bioacumulado nos tecidos dos líquens, por local de transplante, no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Local	Média (mg/g de massa seca) ± DP
Local referência	0,32 ± 0,02a
Jardim Karaíba	0,32 ± 0,02a
Santa Mônica	0,75 ± 0,10b
Centro	1,69 ± 0,20c
BR050	2,54 ± 1,77d

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (ANOVA, um critério, F=363.9; Tukey, p<0.001)

Embora não tenham sido avaliadas as concentrações de SO<sub>2</sub> nos locais monitorados, os resultados do presente estudo evidenciam a presença deste poluente nos locais de intenso tráfego de veículos, uma vez que os líquens expostos a essas áreas apresentaram maiores teores de enxofre bioacumulado.

Como descrito anteriormente, para a realização da técnica de transplantação, os líquens transferidos do local referência para as demais localidades foram fixados na superfície da cortiça utilizando-se goma de trigo como substrato. Essa técnica foi utilizada por ser menos impactante do que retirar a casca da árvore juntamente com os líquens (SMITH, 2014).

É importante ressaltar que líquens do tipo fruticoso, como os do gênero *Usnea*, são mais facilmente retirados das árvores, quando comparados a outros tipos de líquens, como os crostosos e foliosos, que devido à sua morfologia estão mais aderidos e fixados nas superfícies.

Outra vantagem dos líquens do tipo fruticoso consiste no fato de apresentarem maior superfície de contato com o ar e, conseqüentemente, estarem mais expostos aos poluentes presentes na atmosfera, o que contribui para maior sensibilidade e potencial desses organismos à bioacumulação.

Com base nos resultados apresentados, é possível inferir que a bioacumulação de enxofre nos tecidos dos líquens (Tabela 2) confirma a sensibilidade do gênero *Usnea*, uma vez que o teor do poluente bioacumulado está correlacionado com a intensidade do fluxo de veículos de cada local monitorado.

Estudos de biomonitoramento também foram avaliados por Pereira, Campos Júnior e Morelli (2013), que verificaram que diferentes níveis de tráfego podem ser detectados por meio do emprego de organismos sensíveis, e por Soares et al (2014), responsáveis por empregar líquens do gênero *Usnea* para avaliação da absorção de chumbo numa retificadora de baterias no município de Santa Maria, Rio Grande do Sul, sendo confirmada a presença do poluente na atmosfera.

Diante da presença de enxofre na atmosfera confirmada pelo presente estudo de biomonitoramento, a existência de altos níveis deste poluente nas amostras está vinculada ao elevado fluxo de veículos pesados que utilizam diesel como combustível nas regiões central e marginal de rodovia.

Dessa forma, o biomonitoramento da contaminação ambiental por enxofre é de grande importância para a Saúde Ambiental de municípios com elevada frota de veículos, uma vez que o enxofre acarreta agravos de saúde, representados em desfechos como problemas no sistema respiratório e circulatório (AMANCIO; NASCIMENTO, 2012; STOJIC et al., 2016).

## CONCLUSÕES

A utilização de líquens do gênero *Usnea* como biomonitores se mostrou um método sensível ao biomonitoramento da presença de enxofre na atmosfera, uma vez que a variação na concentração desse poluente nos tecidos das amostras esteve correlacionada com a intensidade do fluxo de veículos nos locais onde os líquens estiveram expostos durante o período de realização do estudo.

Estudos de biomonitoramento com o gênero *Usnea* podem ser importantes ferramentas para estratégias de controle da poluição atmosférica, como uma intensa fiscalização das emissões veiculares, com o propósito de investigar e analisar os teores de enxofre nos combustíveis, buscando sua diminuição, bem como para restauração e monitoramento da qualidade dos ecossistemas urbanos.

## REFERÊNCIAS

AMANCIO, C. T.; NASCIMENTO, L. F. C. Asma e poluentes ambientais: um estudo de séries temporais. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, p. 302-307, 2012. doi: 10.1590/S0104-42302012000300009.

BRAGA, A. L.; PEREIRA, L. A. A.; PROCÓPIO, M.; ANDRÉ, P. F.; SALDIVA, P. H. N. Associação entre poluição atmosférica e doenças respiratórias e cardiovasculares na cidade de Itabira, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, p. 570-578, 2007. doi: 10.1590/S0102-311X2007001600017.

DENATRAN - Departamento Nacional de Trânsito. Frota de Veículos - 2016. Disponível em: <<http://www.denatran.gov.br/estatistica/261-frota-2016>>. Acesso em: 28.10.2017

GARCIA, S. M.; DOMINGUES, G.; GOMES, C.; SILVA, A. V.; ALMEIDA, S. M. Impact of Road Traffic Emissions on Ambient Air Quality in an Industrialized Area. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 76, p. 429-439, 2013. doi:10.1080/15287394.2013.771763.

GONZALEZ, C. M.; PIGNATA, M. L. The influence of air pollution on soluble proteins, chlorophyll degradation, MDA, sulfur and heavy metals in a transplanted lichen. **Chemistry and Ecology**, v. 9, p. 105-113, 1994. doi: 10.1080/02757549408038568.

HAZELL, P.; GUSTAFSSON, L. Retention of trees at final harvest: evaluation of a conservation technique using epiphytic bryophyte and lichen transplants. **Biological Conservation**. v. 60, p. 133-142, 1999. doi: 10.1016/S0006-3207(99)00024-5.

INPE/CPTEC - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais/ Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos. Disponível em: <<http://www.cptec.inpe.br/cidades/Meteograma/5517>>. Acesso em: 17.09.2016

MALASPINA, P.; TIXI, S.; BRUNIALTI, G.; FRATI, L.; PAOLI, L.; GIORDANI, P.; MODENESI, P.; LOPPI S. Biomonitoring urban air pollution using transplanted lichens: element concentrations across seasons. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, p. 12836-12842, 2014. doi: 10.1007/s11356-014-3222-z.

MARTINS, S. M. A.; KAFFER, M. I.; LEMOS, A. Líquens como bioindicadores da qualidade do ar numa área de termoelétrica, Rio Grande do Sul, Brasil. **Hoehnea**, v. 35, p. 425-433, 2008. doi: 10.1590/S2236-89062008000300011.

OLIVEIRA, D. P.; KUMMROW, F. **Poluentes da Atmosfera**. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. Fundamentos da Toxicologia. 3. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2008. p. 143-164.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences**, v. 11, p. 1633-1644, 2007. doi: 10.5194/hess-11-1633-2007.

PEREIRA B. B.; CAMPOS JÚNIOR E. O.; MORELLI S. In situ biomonitoring of the genotoxic effects of vehicular pollution in Uberlândia, Brazil, using a Tradescantia micronucleus assay. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 87, p. 17-22, 2013. doi: [10.1016/j.ecoenv.2012.10.003](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.10.003).

SMITH, P. L. Lichen translocation with reference to species conservation and habitat restoration. **Symbiosis**, v. 62, p. 17-28, 2014. doi: 10.1007/s13199-014-0269-z.

SOARES, J. F.; ILHA, R.; ZAZYCKI, M. A.; BERNARDES, R. C. C.; MORTARI, S. R.; VASCONCELHOS, N. J. S. Absorção de chumbo antrópico por populações de líquens do gênero *Usnea* em área industrial. **Revista Monografias Ambientais**, v. 13, p. 3831-3836, 2014. doi: 10.5902/2236130814695.

STOJIĆ, S. S.; STANIŠIĆ, N.; STOJIĆ, A.; ŠOŠTARIĆ, A. Single and combined effects of air pollutants on circulatory and respiratory system-related mortality in Belgrade, Serbia. **Journal of Toxicology and Environmental Health A**, v.79, p.17-27, 2016. doi: 10.1080/15287394.2015.1101407.

VAN HERK, C. M.; MATHIJSSSEN-SPIEKMAN, E. A. M.; DE ZWART, D. Long distance nitrogen air pollution effects on lichens in Europe. **The Lichenologist**, v. 35, p. 347-359, 2003. doi: [10.1016/S0024-2829\(03\)00036-7](https://doi.org/10.1016/S0024-2829(03)00036-7).

VARDAR, Ç.; BASARAN, E.; CANSARAN-DUMAN, D.; ARAS, S. Air-quality biomonitoring: assessment of genotoxicity of air pollution in the Province of Kayseri (Central Anatolia) by use of the lichen *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf and amplified fragment-length polymorphism markers. **Mutation Research**, v. 759, p. 43-50, 2014. doi: 10.1016/j.mrgentox.2013.09.011.