



# **Rita Alves Silva**

## ***Cladonia verticillaris* (LÍQUEN), COMO BIOMONITOR PADRÃO DA QUALIDADE DO AR NO DISTRITO DE JABOATÃO - PE**

RECIFE

Estado de Pernambuco-Brasil

-2002-

# **RITA ALVES SILVA**

## ***Cladonia verticillaris* (LÍQUEN) COMO BIOMONITOR PADRÃO DA QUALIDADE DO AR NO DISTRITO DE JABOATÃO - PE**

Dissertação apresentada ao – Programa de Pós-Graduação em Gestão e Políticas Ambientais – Curso de Mestrado, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Gestão e Políticas Ambientais.

Comissão de orientação:

**Prof<sup>a</sup>. DSc. Eugênia C. Pereira**

Orientadora

**Prof<sup>o</sup> DSc. Nicácio Henrique da Silva**

Co-orientador

**Prof<sup>o</sup> MSc Fernando de Oliveira Mota**

**Filho**

Co-orientador

**RECIFE**

**ESTADO DE PERNAMBUCO – BRASIL**

**-2002-**

### Ficha Catalográfica

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central da UFPE

P 000p

Silva, Rita Alves.

***Cladonia verticillaris* (líquen) como biomonitor padrão da qualidade do ar no Distrito de Jaboatão - PE / Rita Alves Silva; Eugênia C. Pereira. – Recife: A Autora, 2002**

148p. : il.

Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Pernambuco. Gestão e Políticas Ambientais. (Área de concentração; Gestão Ambiental; Inovação e Tecnologia Ambiental), 2002.

**CDD**

**CDU**

1. *Cladonia verticillaris*;
2. Líquen
3. biomonitor
4. Poluição do ar
5. Jaboatão dos Guararapes – PE
6. metais pesados
7. elementos traço
- I. Título

## FICHA DE APROVAÇÃO

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora

**Orientadora:**

Dra. Eugênia C. Pereira

---

(Universidade Federal de Pernambuco)

**Examinadores:**

1º Examinador:

Profº Dr. Lauro Xavier Filho

---

2º Examinador:

Profª Dra. Laise de Holanda Cavalcanti Andrade

---

3º Examinador:

Profª Dra. Angela Maria Isidro de Farias

---

Data da Aprovação: 02 / 04 / 2002

“Somos o que repetidamente fazemos.  
A excelência, portanto não é um feito, mas um hábito.”  
**Aristóteles**

Aos meus Pais, Ernande e Alaíde, razão da minha existência, o meu mais terno amor e profunda saudade, cujos retratos de vida serviram-me de exemplo para desfrutar da graça da vida com coragem, dignidade, perseverança, sabedoria, paciência e humildade.

### **OFEREÇO**

À minha família, em especial às minhas irmãs: Irene, Ivanete, Ivaneusa, Ivanusa, Isaurina e Ivone, laços de amor eternos, mulheres firmes, abençoadas pela doce e cruel realidade de uma vida marcada pela dignidade, a minha profunda gratidão e desculpas pela minha corrente ausência, imposta pelos caminhos na vida escolhidos.

### **DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

A realização de um projeto se traduz numa gama de esforços para sua concepção, planejamento, estruturação e viabilização. Este trabalho não existiria sem o esforço, contribuição, dedicação e participação de muitas pessoas e Instituições.

Em primeiro lugar eu gostaria de expressar os meus mais sinceros agradecimentos a Companhia Pernambucana de Meio Ambiente – CPRH, aos amigos, colegas e dirigentes dessa, que foi uma escola rica e especial da minha vida profissional durante os 11 anos de trabalho, em seu favor por mim dedicados; por viabilizarem minha participação no curso de Mestrado, minha gratidão com menção especial a: Eng<sup>a</sup> Berenice Vilanova - Diretora de Planejamento e Integração; Eng<sup>a</sup> Angela Pontes - Gerente de Licenciamento Ambiental; à Eng<sup>a</sup> Maria Cândida Portela - Gerente de Laboratório que, com conhecimento, amizade e respeito sempre me apoiaram na realização deste trabalho; a Quí. Mayelbe Brandão e sua equipe e a Arquiteta Márcia Gondim, pelo trabalho, dedicação, apoio e auxílio na execução das análises laboratoriais, coleta de campo e registros cartográficos, o que tenho certeza, em diversos momentos, demandou esforços muito superiores às exigências de suas funções. Aos amigos, caros na realização de um trabalho cujo objetivo é nobre e tenho certeza, sempre torceram por mim de forma especial: Gilson Lima, Ricardo Pessoa, Nilson Moura, Carlos Tavares, Roberto Batista, Lucinha, Aguinaldo Batista, Alíria, Ruy Cláudio, Solange Marina, Selma, Neuzinha, Vilalba, Nerleine, Sueli Ferreira, Joana Aureliano, Fátima Braga, Valter Ferreira, Waldecy, Regina Cely, dentre muitos outros.

À Universidade Federal de Pernambuco, com menção a todos os que fazem o Programa de Pós-Graduação em Gestão e Políticas Ambientais – Curso de Mestrado. Aos Coordenadores e Mestres, e em especial ao Prof<sup>o</sup> Dr. Joaquim Corrêa de Andrade, pela austeridade, competência e dedicação na concretização de um curso, cuja finalidade se esmera na consciência da certeza de contribuição para a discussão de questões ambientais relevantes, no Estado de Pernambuco.

Ao Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco por disponibilizar a infra-estrutura do Laboratório de Produtos Naturais, para a realização de parte dos experimentos desta Dissertação, deixo aqui registrada minha especial gratidão a Nadejda de Azevedo Nóbrega (mestranda), a Renata Almeida Santos (bolsista IC/CNPQ) e a João Virgínio (técnico do laboratório) pela colaboração, dedicação e apoio na execução das tarefas de desenvolvimento dos experimentos e análises efetuadas.

Ao Departamento de Geologia da Universidade Federal de Pernambuco, em especial aos Professores Dr. Paulo Roberto Bastos Leite e Dr. Edmilson Santos de Lima, pela presteza e colaboração, e por disponibilizar a infra estrutura de laboratório para a realização nas análises para determinação de íons metálicos via ICP/AES.

Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, à Diretoria de Unidade de Conservação – DEUC, pela licença concedida para coleta de material liquênico com menção especial ao Biólogo Marcelo Marcelino de Oliveira, Gerente da Reserva Biológica Guaribas – Mamanguape/PB e sua equipe, pela gentileza no apoio à realização deste trabalho e colaboração na identificação das áreas de coleta de espécies líquênicas.

Ao Departamento de Patologia e Biologia Celular do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães / Fundação Osvaldo Cruz, por facultar a infra-estrutura de seus laboratórios para a realização da avaliação em microscopia eletrônica de varredura, como parte dos experimentos desta dissertação, em especial à D<sup>ra</sup>. Regina Célia Bressan Queiróz de Figueiredo e à D<sup>ra</sup>. Christina Peixoto.

Aos meus orientadores, Prof<sup>o</sup> Dr. Nicácio Henrique da Silva, pela compreensão, companheirismo e atenção sempre dispensada no desenvolvimento deste trabalho; ao Prof<sup>o</sup> Fernando de Oliveira Mota Filho, pela consideração e incentivo constantes; a Prof<sup>a</sup>. Dra. Eugênia C. Pereira a minha mais profunda gratidão por sua infinita gentileza, generosidade, inspiração, inestimável conhecimento e competência na condução da orientação desta dissertação, reconhecendo que em muitos momentos o seu faro incontestável de mãe não me abandonou, sua mão especial e acolhedora, me conduziu com apoio, auxílio, consideração, amizade e confiança à finalização deste trabalho.



Aos meus colegas de Pós-Graduação: Paulo, Virgínia, Marcelo, Joana, Margareth, José Mário, Carlos, Renata, Manoel, Milton, Leonardo e Adeilson, pelas discussões, cuja troca, enriqueceram em muito o meu conhecimento, pela amizade evidenciada em muitos momentos, pelo apoio constante e pelo companheirismo, marcado pela individualidade temática de cada um, deixo aqui registrada a minha gratidão e amizade.

À Banca Examinadora pela honrosa, participação, contribuição crítica e sugestões valiosas aos trabalhos aqui apresentados, no momento da defesa, meu agradecimento especial.

Para concluir minha profunda gratidão, estendo ainda os meus sinceros agradecimentos a muitos outros.

A todos os meus professores, mestres queridos que me ensinaram a conquista da liberdade por meio do saber.

Aos meus amigos que sempre me fizeram uma pessoa especial, enriqueceram a minha vida, muito mais do que eu poderia registrar: Eliana Márcia, José Alberto, Eryka Serur, Mércia Ferreira, Elaine, Cândida Portela, Márcia Gondim, Regina Coeli, Adelaide Nardocci, Sandra Cecília, Derlei Lopes, Ana Elizabeth e Margarida Azevedo, e a muitos outros que posso ter deixado de mencionar aqui pelo nome, mas que sempre trago no meu coração com respeito, gratidão e amizade.

A Deus, por me conceder merecimento e saúde para desfrutar dos amores, das alegrias, das conquistas, das amizades, do trabalho e da dádiva da vida.

<b>SUMÁRIO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b>	<b>6</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>11</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>18</b>
<b>RESUMO</b>	<b>19</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>22</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>25</b>
2.1 Os líquens e o biomonitoramento ambiental	26
2.2 Os líquens e seu funcionamento	28
2.3 A produção e função das substâncias liquênicas	29
2.4 Os líquens e a qualidade do ar	30
2.5 Relação dos líquens com contaminantes atmosféricos	34
2.6 Hipóteses que nortearam este trabalho	36
<b>3. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E QUÍMICA DE <i>Cladonia verticillaris</i> (Radi) Fr. E METODOLOGIAS ANALÍTICAS EMPREGADAS</b>	<b>39</b>
3.1 Morfo-ecologia	40
3.2 Química	41
3.3 Metodologias analíticas	43
<b>4. CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO E DE COLETA</b>	<b>46</b>
4.1 Jaboatão dos Guararapes- PE	47
4.1.1 <i>Localização e aspectos históricos</i>	47
4.1.2 <i>Características climáticas</i>	48

Silva et al.: <i>Cladonia verticillaris</i> (líquen) como biomonitor padrão.....	10
4.1.3 <i>Geologia e Geomorfologia</i>	49
4.1.4 <i>Formação vegetal</i>	50
4.2 Qualidade do ar	50
4.3 Características das áreas de coleta	54
4.3.1 <i>Reserva Biológica Guaribas</i>	55
<b>5. TRABALHOS A SEREM SUBMETIDOS A PUBLICAÇÃO</b>	57
5.1 METAIS PESADOS ASSOCIADOS A POEIRA TOTAL EM SUSPENSÃO – PTS, EM ÁREA URBANA INDUSTRIAL	58
5.2 <i>Cladonia verticillaris</i> (RADDI) FR. BIOMONITOR DA CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS EM ÁREA SOB A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE EMISSÃO DE POLUENTES ATMOSFÉRICOS	73
5.3 EFEITO DO ACETATO DE CHUMBO SOBRE O LÍQUEN <i>Cladonia verticillaris</i> (RADDI) FR. EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.	86
5.4 AVALIAÇÃO DE <i>Cladonia verticillaris</i> (RADDI) FR. (LÍQUEN), EXPOSTA A POLUENTES ATMOSFÉRICOS EM ÁREA URBANA INDUSTRIAL	102
<b>6. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES GERAIS</b>	122
6.1 Discussão geral	123
6.2 Dados conclusivos	131
<b>7. ABSTRACT</b>	133
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	136
<b>9. ANEXOS</b>	147

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>PÁGINA</b>
3. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E QUÍMICA DE <i>Cladonia verticillaris</i> (Radi) Fr. E METODOLOGIAS ANALÍTICAS EMPREGADAS	
<b>Figura 1</b> <i>Cladonia verticillaris</i> (Raddi) Fr.	41

<b>Figura 2</b>	<i>Cladonia verticillaris</i> . Modelo estrutural das substâncias líquênicas. Àcido Fumarprotocetrárico. Àcido Protocetrárico	<b>42</b>
<b>Figura 3</b>	<i>Cladonia verticillaris</i> . Modelo estrutural das substâncias líquênicas. Atranorina	<b>43</b>
<b>4.</b>	<b>CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO E DE COLETA</b>	
<b>Figura 1</b>	Mapa de localização do município de Jaboatão dos Guararapes na Mesorregião Metropolitana do Recife.	<b>47</b>
<b>Figura 2</b>	Direção predominante dos ventos na costa pernambucana. Instituto Nacional de Meteorologia – INMET / 3º DISME/PE. Estação Curado – Recife (Lat. 8° 3' S Log. 34°55' WGrW alt. 6,9 m)	<b>49</b>
<b>Figura 3</b>	Estimativa de emissões de poluentes atmosféricos em Jaboatão dos Guararapes (CPRH,1994)	<b>51</b>
<b>Figura 4</b>	Localização das estações de amostragem Metrô e CHESF em Jaboatão – PE.	<b>52</b>
<b>Figura 5</b>	Jaboatão – PE. Fotografia aérea. FIDEM CT 17/96 PROPESC 1/6.000 – 13/06/97 E W. Estação Metrô.	<b>53</b>
<b>Figura 6</b>	Jaboatão – PE. Fotografia aérea. FIDEM CT 17/96 PROPESC 1/6.000 – 13/06/97 E W. Estação CHESF.	<b>54</b>
<b>Figura 7</b>	Mapa político da Paraíba, com indicação das áreas de coleta de <i>Cladonia verticillaris</i> . (Raddi)Fr.	<b>55</b>
<b>Figura 8</b>	Mapa da Reserva Biológica de Guaribas, Mamanguape-PB, com localização dos pontos de coleta de <i>C. verticillaris</i> . Fonte IBAMA, 2001	<b>56</b>
<b>5.0</b>	<b>TRABALHOS A SEREM SUMETIDOS A PUBLICAÇÃO</b>	
<b>5.1</b>	<b>METAIS PESADOS ASSOCIADOS A POEIRA TOTAL EM SUSPENSÃO – PTS, EM ÁREA URBANA INDUSTRIAL</b>	
<b>Figura 1</b>	Mesorregião Metropolitana do Recife (Andrade)	<b>61</b>

<b>Figura 2</b>	Localização das estações de amostragem Metrô e CHESF em Jaboatão – PE.	<b>62</b>
<b>Figura 3</b>	Localização do ponto de amostragem no centro de Jaboatão – PE. Estação Metrô.	<b>62</b>
<b>Figura 4</b>	Localização do ponto de amostragem na periferia de Jaboatão – PE. Estação CHESF.	<b>62</b>
<b>Figura 5</b>	Concentração de máximas mensais de PTS determinadas no Centro de Jaboatão – PE, no período de março/2000 a setembro/2001. Estação Metrô e Estação CHESF.	<b>67</b>
<b>Figura 6</b>	Concentrações de ferro (Fe) determinadas em PTS, no período de março/2000 a setembro/2001. Estação Metrô e Estação CHESF.	<b>69</b>
<b>Figura 7</b>	Concentrações de cobre (Cu) determinadas em PTS, no período de março/2000 a setembro/2001. Estação Metrô e Estação CHESF.	<b>70</b>
<b>Figura 8</b>	Concentrações de manganês (Mn) determinadas em PTS, no período de março/2000 a setembro/2001. Estação Metrô e Estação CHESF.	<b>70</b>
<b>Figura 9</b>	Concentrações de zinco (Zn) determinadas em PTS, no período de março/2000 a setembro/2001. Estação Metrô e Estação CHESF.	<b>70</b>
<b>5.2</b>	<i>Cladonia verticillaris</i> (Raddi) Fr. BIOMONITOR DA CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS EM ÁREA SOB A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE EMISSÃO DE POLUENTES ATMOSFÉRICOS	
<b>Figura 1</b>	Mesorregião Metropolitana do Recife (Andrade,1999)	<b>76</b>
<b>Figura 2</b>	Localização das estações de amostragem Metrô e CHESF em Jaboatão – PE.	<b>77</b>
<b>Figura 3</b>	<i>Cladonia verticillaris</i> (Raddi) Fr. Escala 1:2	<b>78</b>
<b>Figura 4</b>	Localização das áreas de coletas da espécie <i>Cladonia verticillaris</i> na Reserva Biológica Guaribas em Mamanguape	<b>78</b>

(PB).

<b>Figura 5</b>	Concentração de Poeira Total em Suspensão – PTS, determinada na cidade de Jaboatão/PE, no período de março/2000 a setembro/2001. Fonte: CPRH, dados não publicados	<b>79</b>
<b>Figura 6</b>	Concentrações de ferro (Fe) determinadas em amostras de <i>Cladonia verticillaris</i> , expostas em Jaboatão-PE. Estação Metrô e Estação CHESF	<b>82</b>
<b>Figura 7</b>	Concentrações de cobre (Cu) determinadas em amostras de <i>Cladonia verticillaris</i> , expostas em Jaboatão-PE. Estação Metrô e Estação CHESF.	<b>82</b>
<b>Figura 8</b>	Concentrações de manganês (Mn) determinadas amostras de <i>Cladonia verticillaris</i> , expostas em Jaboatão-PE. Estação Metrô e Estação CHESF	<b>82</b>
<b>Figura 9</b>	Concentrações de níquel (Ni) determinadas em amostras de <i>Cladonia verticillaris</i> , expostas em Jaboatão-PE. Estação Metrô e Estação CHESF	<b>82</b>
<b>Figura 10</b>	Concentrações de zinco (Zn) determinadas em amostras de <i>Cladonia verticillaris</i> , expostas em Jaboatão-PE. Estação Metrô e Estação CHESF	<b>83</b>
<b>Figura 11</b>	Concentrações de cálcio (Ca) determinadas em amostras de <i>Cladonia verticillaris</i> , expostas em Jaboatão-PE. Estação Metrô e Estação CHESF	<b>83</b>
<b>Figura 12</b>	Concentrações de chumbo (Pb) determinadas em amostras de <i>Cladonia verticillaris</i> , expostas em Jaboatão-PE. Estação Metrô e Estação CHESF	<b>83</b>
<b>Figura 13</b>	Concentrações de cromo (Cr) determinadas em amostras de <i>Cladonia verticillaris</i> , expostas em Jaboatão-PE. Estação Metrô e Estação CHESF	<b>83</b>
<b>5.3</b>	<b>EFEITO DO ACETATO DE CHUMBO SOBRE O LÍQUEN <i>Cladonia verticillaris</i> (RADDI) FR. EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO</b>	
<b>Figura 1</b>	<i>Cladonia verticillaris</i> (Raddi) Fr. Vista geral do tufo liquênico	<b>88</b>

sobre o substrato natural - solo

- Figura 2** Aplicação do acetato de chumbo em *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. em condições de laboratório. Esquema do experimento. **89**
- Figura 3** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos, obtidos das amostras controle de *Cladonia verticillaris*, coletada em Alhandra, Estado da Paraíba e submetida a ação de água deionizada (CRTL;24h, 48h, 5dias e 10 dias). **93**
- Figura 4** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos, obtidos das amostras de *Cladonia verticillaris*, coletada em Alhandra, Estado da Paraíba e submetida a ação de água acetato de chumbo a 0,1% (CRTL;24h, 48h, 5dias e 10 dias). **94**
- Figura 5** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos, obtidos das amostras de *Cladonia verticillaris*, coletada em Alhandra, Estado da Paraíba e submetida a ação de água acetato de chumbo a 1,0% (CRTL;24h, 48h, 5dias e 10 dias). **94**
- Figura 6** Cromatograma em Camada Delgada de extratos acetônicos de *Cladonia verticillaris* procedente de Alhandra/PB, submetida a água deionizada e à concentrações variadas de acetato de chumbo, no período de 10dias, sob condições controladas. **95**
- Figura 7** Micrografia de varredura de amostras de *Cladonia verticillaris* procedente de Alhandra/PB, submetida a água deionizada e à concentrações de soluções a 1,0% de acetato de chumbo de chumbo, no período de 10 dias, sob condições controladas **96**
- Figura 8** Concentrações de ferro (Fe), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de soluções de acetato de chumbo (1% e 0,1%). **97**

- Figura 9** Concentrações de zinco (Zn), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de soluções de acetato de chumbo (1% e 0,1%). **97**
- Figura 10** Concentrações de manganês (Mn), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de soluções de acetato de chumbo (1% e 0,1%). **97**
- Figura 11** Concentrações de cádmio (Cd), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de soluções de acetato de chumbo (1% e 0,1%). **98**
- Figura 12** Concentrações de chumbo (Pb), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de soluções de acetato de chumbo (1% e 0,1%). **98**
- Figura 13** Concentrações de cobre (Cu), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de soluções de acetato de chumbo (1% e 0,1%). **98**
- Figura 14** Concentrações de cromo (Cr), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de soluções de acetato de chumbo (1% e 0,1%). **99**
- Figura 15** Concentrações de níquel (Ni), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e **99**



diferentes concentrações de soluções de acetato de chumbo (1% e 0,1%).

- Figura 16** Concentrações de cálcio (Ca), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de soluções de acetato de chumbo (1% e 0,1%). **99**

#### **5.4** AVALIAÇÃO DE *Cladonia verticillaris* (RADDI) FR. (LÍQUEN), EXPOSTA A POLUENTES ATMOSFÉRICOS EM ÁREA URBANA INDUSTRIAL

- Figura 1** Mesorregião Metropolitana do Recife (Andrade,1999) **105**
- Figura 2** Localização da estações de amostragem Metrô e CHESF em Jaboatão – PE. **106**
- Figura 3** *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. Vista do tufo liquênico sobre o substrato (solo) **106**
- Figura 4** Localização das áreas de coletas da espécie *Cladonia verticillaris* na Reserva Biológica Guaribas em Mamanguape (PB). **106**
- Figura 5** Cromatograma em Camada Delgada (CCD) de extratos orgânicos obtidos de *C. verticillaris* submetida a poluição ambiental em Jaboatão (PE), no período de março de 2000 a setembro de 2001. **109**
- Figura 6** Concentrações de Poeira Total em Suspensão –PTS, determinadas na cidade de Jaboatão/PE, no período de março/2000 a setembro/2001. **110**
- Figura 7** Amostras de *Cladonia verticillaris* coletadas após exposição em Jaboatão – PE. **111**
- Figura 8** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos, obtidos de *Cladonia verticillaris*, coletada em Mamanguape (PB), REBIO II, exposta na estação Metrô em Jaboatão-PE. Março/2001 e setembro/2001. **113**
- Figura 9** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos **114**

orgânicos, obtidos de *Cladonia verticillaris*, coletada em Mamanguape (PB), REBIO I, exposta na estação Metrô em Jaboatão-PE. Março/2001 e setembro/2001.

- Figura 10** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos, obtidos de *Cladonia verticillaris*, coletada em Alhandra (PB), exposta na estação Metrô em Jaboatão-PE. Março/2001 e setembro/2001. **114**
- Figura 11** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos, obtidos de *Cladonia verticillaris*, coletada em Mamanguape (PB), REBIO II, exposta na estação CHESF em Jaboatão-PE. Março/2001 e setembro/2001. **115**
- Figura 12** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos, obtidos de *Cladonia verticillaris*, coletada em Mamanguape (PB), REBIO I, exposta na estação CHESF em Jaboatão-PE. Março/2001 e setembro/2001. **115**
- Figura 13** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos, obtidos de *Cladonia verticillaris*, coletada em Alhandra (PB), exposta na estação CHESF em Jaboatão-PE. Março/2001 e setembro/2001. **116**
- Figura 14** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos, obtidos nas amostras controle de *Cladonia verticillaris*, coletada em março/2000, nos tabuleiros costeiros arenosos, no Estado da Paraíba, e padrões de substâncias líquênicas puras. (CRTL: Rebio I, Rebio II, ALH, Atranorina e Ácido Fumarprotocetrárico. **117**
- Figura 15** Micrografia de varredura de *Cladonia verticillaris*. Amostras submetidas ao ambiente na Estação Metrô. Jaboatão-PE. Período de doze meses (A,B), dezoito meses (C,D) e amostras controle (E,F), início do experimento, março 2000. **118**
- Figura 16** Micrografia de varredura de *Cladonia verticillaris*. Amostras submetidas ao ambiente na Estação CHESF. Jaboatão-PE. Período de 12 meses (A,B), 18 meses (C,D) amostras controle (E,F), início do experimento, março 2000. **119**

LISTA DE TABELAS	PÁGINA
<b>5.0</b>	<b>TRABALHOS A SEREM SUMETIDOS A PUBLICAÇÃO</b>
<b>5.1</b>	<b>METAIS PESADOS ASSOCIADOS A POEIRA TOTAL EM SUSPENSÃO – PTS, EM ÁREA URBANA INDUSTRIAL</b>
<b>Tabela 1</b>	Monitoramento da qualidade do ar. Parâmetros de medição e avaliação. <b>63</b>
<b>Tabela 2</b>	Parâmetros de comprimento de onda ( $\lambda$ ), limites de detecção (L.D.) e largura de fenda para medição de metais pesados em Espectrofotometria de Absorção Atômica - EAA. <b>64</b>
<b>Tabela 3</b>	Concentrações de Poeira Total em Suspensão -PTS determinadas na Estação Metrô em Jaboatão – PE e dados meteorológicos. <b>66</b>
<b>Tabela 4</b>	Concentrações de Poeira Total em Suspensão - PTS determinadas na Estação CHESF em Jaboatão – PE e dados meteorológicos. <b>67</b>
<b>5.2</b>	<b><i>Cladonia verticillaris</i> (Raddi) Fr. BIOMONITOR DA CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS EM ÁREA SOB A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE EMISSÃO DE POLUENTES ATMOSFÉRICOS</b>
<b>Tabela 1</b>	Parâmetros de comprimento de onda ( $\lambda$ ), limites de detecção (L.D.) para quantificação de elementos em Espectrômetro de Emissão Atômica por Plasma Indutivamente Aplicado – ICP/AES. <b>79</b>
<b>5.3</b>	<b>EFEITO DO ACETATO DE CHUMBO SOBRE O LÍQUEN <i>Cladonia verticillaris</i> (RADDI) FR. EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.</b>
<b>Tabela 1</b>	Parâmetros de comprimento de onda ( $\lambda$ ), limites de detecção (L.D.) para quantificação de metais em ICP-AES. <b>90</b>

## RESUMO

Os líquens são reconhecidos como bioindicadores de ambientes e biomonitores da qualidade do ar atmosférico. Neste trabalho selecionou-se o Distrito de Jaboatão, situado na Mesoregião Metropolitana do Recife (RMR), Pernambuco, Brasil, para avaliar a qualidade do ar naquela área, correlacionando os dados fornecidos pelos monitores biológicos – líquens, com os resultados obtidos das estações de monitoramento mecânico instaladas pela Companhia Pernambucana de Meio Ambiente (CPRH). Líquen da espécie *Cladonia verticillaris* (Raddi.) Fr. foi o biomonitor utilizado. A espécie foi coletada sobre solos arenosos de tabuleiros costeiros (cerrado) da Paraíba, nas seguintes localidades: Mamanguape, na Reserva Biológica de Guaribas, e em Alhandra, às margens da BR 101 (PB). Os biomonitores ativos foram coletados e acondicionados em recipientes plásticos, bem como o solo de área de ocorrência. Experimentos de transplante do material líquênico foram montados junto às estações de medição da CPRH localizadas na Estação do Metrô (ponto 1) e da CHESF (ponto 2) no referido distrito. As amostras de ambas as localidades foram coletadas em março de 2000, e imediatamente expostas ao ambiente nos pontos de experimento. Após 12 e 18 meses de exposição aos poluentes amostras foram retiradas e analisadas, química e fisiologicamente. Foram quantificados por Espectrômetro de Emissão Atômica por Plasma Indutivamente Aplicado (ICP/AES) os teores de Pb, Cd, Fe, Cu, Mn, Zn, Cr, Ni e Ca. Parte das mesmas amostras foram extraídas por sistema de esgotamento a frio com acetona, e analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para identificação e quantificação dos fenóis líquênicos nas amostras. Filtros dos amostradores de grandes volumes (Hi-vol) da CPRH foram analisados, e neles quantificados Pb, Cd, Fe, Cu, Mn, Cr, Zn e Ni. Para este experimento foram consideradas as amostras representativas para as maiores concentrações mensais de Poeira Total em Suspensão (PTS), cujos filtros foram recolhidos no mesmo período em que os biomonitores. Os metais pesados supra referidos foram determinados via Espectrofotometria de Absorção Atômica por Chama (EAA). Para averiguação do comportamento de *C. verticillaris*, sob condições laboratoriais, foram montados experimentos onde amostras do líquen foram diariamente borrifadas com soluções de acetato de chumbo de chumbo a 1%, 0,1%, e água deionizada como controle. Foram coletadas amostras a 24h, 48h, 5dias e 10 dias, sendo

posteriormente analisadas, segundo os mesmos parâmetros já referidos para o material exposto às condições ambientais. Ao final, as amostras mais preservadas e as em maior estado de deterioração, tanto as de experimento em campo, como as de laboratório, foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura. Os resultados demonstraram que todas elas tiveram prejuízo na síntese de fenóis comuns da espécie. Análises em CCD e CLAE comprovaram a ocorrência de substâncias distintas das detectadas nas amostras padrão. Nos ensaios em CLAE ficou comprovado que os poluentes prejudicaram a síntese de fenóis tanto no aspecto qualitativo (substâncias intermediárias das vias metabólicas), mas também no teor das substâncias produzidas no total. Foi evidenciada a produção do ácido protocetrárico, além do hipoprotocetrárico e seu aldeído, como compostos intermediários. Sugeriu-se que o baixo teor de substâncias, e/ou a produção de metabólitos intermediários das rotas metabólicas tenha sido causado por um prejuízo na fotossíntese do fotobionte, por acidificação da célula pelos poluentes, o bloqueio de reações enzimáticas pelos elementos que contaminaram o líquen, ou a associação desses fatores. Em relação à quantificação dos contaminantes, houve o predomínio do Pb, Fe, Ca, Mn, Zn e Cr nas amostras de líquen. Nos filtros recolhidos das estações de monitoramento mecânico, detectou-se em maior concentração o Fe, Cu, Mn e Zn. No material submetido ao acetato de chumbo de chumbo foi verificado que o número de dias de exposição (10) foi suficiente para prejudicar o líquen no aspecto fisiológico. Análises por microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelaram uma total desordem na superfície do talo liquênico, após exposição aos poluentes. As células do fotobionte, não visualizadas nas amostras controle, foram facilmente expostas, tornando-se desprotegidas em meio com alto nível de contaminantes. Dados semelhantes foram obtidos para os experimentos em laboratório. A superfície de *C. verticillaris* iniciou um processo de esfoliação resultando na sua destruição. Foi possível concluir que a zona central da cidade, onde encontra-se a estação do Metrô, é a mais poluída, e que *C. verticillaris*, como biomonitor, demonstrou capacidade de registrar os mais ínfimos níveis de contaminantes, inclusive quanto a bioacumulação de elementos iônicos, nutrientes e tóxicos e, diante desse contexto, válida a sua utilização como mais um parâmetro para avaliação da qualidade ambiental, em especial do ar atmosférico.

**Palavras-chave:** *Cladonia verticillaris*, líquen, biomonitor, poluição do ar, monitoramento do ar, acetato de chumbo de chumbo, Jaboatão -PE.

# **1. INTRODUÇÃO**

Os seres vivos são indicadores de qualquer modificação natural ou antrópica causada aos ambientes. Alguns são sensíveis, outros mais resistentes, conferindo uma escala de sensibilidade às variações que estes fatores extrínsecos podem causar. No entanto, nem todos os indicadores biológicos – bioindicadores – são eficientes nos ensaios de biomonitoramento. Para isto, os seres avaliados devem fornecer respostas mensuráveis, e dentro de um certo nível de confiabilidade, para que sejam estabelecidos parâmetros de avaliação.

Os líquens são reconhecidos como indicadores biológicos de ambientes e, por excelência, também biomonitoradores da qualidade do ar. Por isso, é possível, através do seu uso, o estabelecimento de escalas quantitativas e qualitativas para avaliação dos índices de contaminação de áreas com as mais diversas características de poluição atmosférica.

Técnicas e pesquisas de investigação acerca do biomonitoramento da qualidade do ar são empregadas há mais de cem anos na Europa. No nordeste do Brasil, os estudos foram iniciados há menos de uma década, na busca de se otimizar e adequar metodologias apropriadas para ambientes de clima temperado, sobretudo no Estado de Pernambuco.

A validação dos métodos desenvolvidos para o biomonitoramento é auxiliada pelo cruzamento de dados obtidos dos líquens (biomonitoradores) com os fornecidos pelos monitores mecânicos. Estes, que são reconhecidamente precisos, necessitam de alto custo para aquisição e manutenção, restringindo dessa forma o número de estações de monitoramento e a amplitude de informações.

O acompanhamento da qualidade do ar com biomonitoradores possibilita um maior número de pontos de avaliação, aumentando o nível das informações, que podem ser complementadas com os instrumentos de medição.

Ensaio desta natureza – biomonitoramento com líquens *versus* monitoramento mecânico – produziram resultados satisfatórios na cidade do Recife. Por isso, este trabalho demonstra avaliações dentro da mesma ótica, na cidade de Jaboatão, Pernambuco.

Neste trabalho, foi selecionada como área de estudo o Distrito de Jaboatão, situado na Mesorregião Metropolitana do Recife (MMR), onde a poluição atmosférica é um fato. Por isso, a qualidade do ar vem sendo acompanhada sistematicamente pela Companhia Pernambucana do Meio Ambiente (CPRH) por meio da operação de duas

estações localizadas na região central (Estação do Metrô) e periferia (Estação CHESF) do Distrito.

O presente trabalho visa apresentar uma análise correlata da resposta de *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr., enquanto bioindicador, às condições ambientais na área de estudo, comparando a situação de qualidade do ar em função do Parâmetro PTS, e a variação da bioacumulação de elementos iônicos, degradação de substâncias líquênicas e danos à superfície do talo, associadas a influência da sazonalidade, em função da ação de poluentes atmosféricos ao longo do período de exposição, março de 2000 a setembro de 2001.

Face à comprovada eficácia do uso de *Cladonia verticillaris* (Raddi.) Fr. como biomonitor na região nordeste, adequação das técnicas de avaliação, baixo custo para montagem dos experimentos e disponibilidade da espécie para transplantes, o biomonitoramento demonstra ser uma técnica relevante na gestão do ambiente urbano, sobretudo para áreas sob forte influência dos poluentes atmosféricos.



## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## 2.1 Os líquens e o biomonitoramento ambiental

Segundo Hawksworth (1992) são considerados como bioindicadores organismos que expressam sintomas particulares ou respostas que indiquem mudanças em alguma influência ambiental, geralmente de forma qualitativa. Biomonitoradores são os organismos, cuja distribuição e populações são estudados durante um certo espaço de tempo, e comparados com um modelo, onde os desvios do esperado são avaliados. Organismos com íntimas relações ecofisiológicas com a atmosfera, ao invés de com o seu substrato, são particularmente candidatos promissores para a bioindicação e, conseqüentemente, biomonitoramento da poluição do ar (Cáceres, 1996).

A diferença entre bioindicadores e biomonitoradores se dá unicamente pelo tipo de respostas que eles podem fornecer enquanto os bioindicadores provêm informações sobre a qualidade do ambiente, ou de suas modificações. As "respostas" dos biomonitoradores possibilitam quantificar tais modificações (Wolterbeek *et al.*, 1995), e a sua aplicação depende das condições do ambiente e/ou do problema a ser conhecido. Em caso de existência de instrumentos com capacidade de medir os poluentes na área de estudo, e isto não implique em custos muito altos, por vezes é preferível adotar tais equipamentos, pois calibrá-los é mais fácil do que aferir sistemas vivos. Por outro lado, não é possível delinear o comportamento de um organismo sob influência de agentes extrínsecos ao meio. Nos casos de inúmeras medições em diversos pontos, ou de zoneamento, são recomendáveis os biomonitoradores que ocorrem na área de estudo, e em etapa seguinte avaliar amostras transplantadas (Markert, 1993).

A vantagem do biomonitoramento se dá pela estreita relação que existe entre o biomonitor e o ecossistema estudado, pois o primeiro pode fazer parte dele e interage com os poluentes que ciclam no ambiente. Em contrapartida, as medições físicas, apesar de precisas, necessitam ser interpretadas sob um complexo de fatores que atuam sobre o ambiente. Normalmente são interpretadas à luz de experimentos sob condições controladas de laboratório, onde se avalia a relação dose-reposta. Isto raramente pode extrapolar-se a condições de campo, já que o efeito de um poluente sobre um organismo varia enormemente em função dos elementos ambientais, que podem provocar efeitos sinérgicos, aditivos ou antagônicos (Markert, 1993).

A pureza do ar atmosférico é um fator crucial à sobrevivência dos líquens, visto sua enorme capacidade de fixar e acumular os elementos nele dispersos, notadamente o

nitrogênio. Estes seres absorvem e retêm elementos radioativos, íons metálicos, dentre outros poluentes, o que possibilita sua utilização como indicadores biológicos de poluição atmosférica (Nieboer, 1972; Seaward, 1977), funcionando como filtros altamente desenvolvidos no monitoramento do ar e também da chuva (Hawksworth, 1990).

Os líquens, como organismos simbióticos excepcionais, são encontrados em todas as regiões do mundo e, geralmente, em áreas submetidas a condições climáticas severas. Mesmo com a capacidade de sobreviverem nos mais diferentes ambientes eles são muito sensíveis à poluição do ar atmosférico (Seaward, 1993), tendo sido utilizados como bioindicadores porque diferentemente dos vegetais superiores, não dependem de um sistema radicular para absorção de nutrientes, e por possuírem cutícula reduzida ou, em geral ausente, incorporam com facilidade altos níveis de poluentes (Pilegaard, 1978)

Considera-se o biomonitoramento como uma das técnicas mais atuais dentro da química ambiental. A possibilidade de medir elementos sejam eles metais pesados, ou outro tipo de poluente, usando organismos vivos é assunto muito discutido, pois não foi ainda possível se estabelecer uma definição clara sobre estes aspectos. Isto pode ser considerado pelo fato de que se discute serem os bioindicadores que têm alta capacidade de acúmulo usados para o biomonitoramento, visto que o acúmulo de um poluente inicia a baixos níveis e aumenta exponencialmente, e mantém-se estável após nível de saturação. Portanto, os biomonitores têm que ser empregados com cautela, verificando-se sua capacidade de resposta às condições/variações ambientais e obedecendo a certos requisitos quanto ao seu uso como: estar presente em quantidades suficientes para ensaios biológicos e químicos, facilmente identificáveis, e estarem amplamente distribuídos por outras áreas que possam ser consideradas para comparação (Markert, 1993).

O monitoramento da qualidade do ar é realizado atualmente por captadores que medem poucos parâmetros físico-químicos. Portanto, eles não podem avaliar combinações imprevistas, nem a interação dos efeitos dos poluentes. Em contrapartida, o uso de bioindicadores pode responder a tais problemas. Árvores, líquens e musgos são bioindicadores passivos que são usados para determinar a distribuição e nivelar os efeitos dos poluentes a longo prazo em zonas vastas e, possivelmente, as concentrações de poluentes aos quais eles estavam expostos (Falla et al., 2000).

Em referência ao termo **passivo**, os biomonitores e/ou bioindicadores assim referidos são aqueles já encontrados na área de estudo, e retratam a situação do ar em longo período de exposição; os denominados **ativos** são aqueles que foram submetidos a transplante de uma região distinta daquela onde se realiza o estudo de biomonitoramento (Le Blanc & Rao, 1975).

A exemplo desta forma de utilização da micota liquenizada, Vokou *et al.* (1999) analisaram líquens epifíticos em 20 localidades ao redor da Tessália (Macedônia, norte da Grécia), no ano de 1987. Passados 10 anos, os autores constataram um empobrecimento geral da população liquênica, e atribuíram o fato às mudanças na taxa de poluição do ar.

## 2.2 Os líquens e seu funcionamento

A simbiose exclusiva e característica dos líquens, propicia vida harmônica entre seres distintos: alga e fungo. O contato entre o fotobionte e o micobionte confere proteção mútua e transferência de substâncias vitais, como nutrientes e produtos da fotossíntese. O fungo requer altos teores de açúcares, elaborados fotossinteticamente pela alga, para derivar biotroficamente seus carboidratos (Hale-Jr., 1983; Nash, 1996).

O metabolismo primário nos líquens consiste na produção específica de um único carboidrato pela alga, a partir da fotossíntese, cuja transferência ao micobionte é rápida, e em quantidade substancial para transformação e acúmulo. Nele, o processamento da molécula gera manitol, transformado a partir de um poliol produzido pela alga, cujo tipo depende do ficobionte constituinte do líquen; os do gênero *Trebouxia*, por exemplo, geram ribitol, *Hyalococcus*, sorbitol e *Trentepohlia* o eritritol. As cianobactérias produzem glicose. O fungo, por sua vez, é capaz de quebrar moléculas grandes, face à sua enorme capacidade enzimática. A transferência de açúcar é tão característica na relação alga/fungo que o efluxo rápido e massificado deste produto cessa imediatamente após isolamento da alga do talo liquênico (MacFarlane & Kershaw, 1984); também foi comprovado que a parede celular do fotobionte é muito mais permeável para perda de carboidratos, quando em comparação com a da alga em estado de vida livre, ou seja, não liquenizada (Hale-Jr., 1983; Nash, 1996).

Nos líquens, a fixação de nitrogênio é restrita às espécies que possuem cianobactérias como único fotobionte, ou mesmo quando este tipo de simbionte se encontra associado com mais duas, três, ou quatro outras algas. Por este processo, o

fotobionte supre grandes teores de carbono requeridos para o acúmulo de polióis e crescimento do micobionte. Este açúcar facilita a reidratação do talo, após longo período de ressecamento (Nash, 1996). MacFarlane & Kershaw (1984) referem ainda a glicose como importante componente no equilíbrio de carboidratos, e no processo de transferência de produtos entre alga e fungo. Subseqüentemente ela é convertida em manitol, dentro da hifa, que é então estocado. Hill (1972) sugere um segundo composto, a glucana, que é hidrolizada extracelularmente para formar a glicose. Visto este postulado, e a especificidade alga/poliol, como anteriormente referido, o conceito de transferência de carboidratos a partir de um único açúcar necessita ser revisto. Por outro lado, a investigação prossegue com pesquisas mais avançadas, onde se procura elucidar melhor os processos metabólicos entre os simbioses líquênicos, inclusive com utilização de marcadores radioativos. Estas técnicas auxiliam na identificação do material translocado de um simbiote para o outro. Ainda que contando com tais avanços tecnológicos, o estudo fisiológico dos líquens deixa lacuna de esclarecimento quanto a algumas etapas deste processo.

### 2.3 A produção e a função das substâncias líquênicas

Os produtos do metabolismo primário são processados, e em metabolismo secundário, são produzidas as substâncias líquênicas, únicas neste taxon (Culbertson *et al.*, 1977; Nash, 1996).

Cerca de 550 produtos naturais são reportados para os líquens, dos quais 350 são metabólitos secundários. As substâncias líquênicas, antes designadas como “ácidos líquênicos”, são na maioria compostos fenólicos, dentre eles os ácidos alifáticos, para e meta depsídeos, depsídonas, benzil ésteres, dibenzofuranos, ácidos úsnicos, xantonas, antraquinonas, terpenóides, e derivados do ácido pulvínico. No interior do talo, tomam forma cristalina e são extra-celulares, depositados sobre as hifas do micobionte. Tal fato confere ao líquen grande capacidade de adaptação às adversidades, visto esses cristais funcionarem como fotorreceptores e/ou fotoindutores, selecionando o tipo de radiação que a eles seja conveniente. Os fenóis líquênicos, acumulados sobre as hifas do córtex superior, participam do mecanismo adaptativo de diversas espécies (Lawrey, 1986). O ácido úsnico, um dos mais freqüentes compostos de líquens, protege o fotobionte da radiação de baixo comprimento de onda (Rundel, 1987), sendo considerado, inclusive, como recurso energético em casos de estresse nutricional (Vicente et al., 1980).

A produção das substâncias liquênicas se dá por três principais vias biossintéticas: a do acetato polimalonato, a do ácido chiquímico e a do ácido mevalônico. Delas são originados os grandes grupos de compostos. Na primeira são formados os ácidos graxos, depsídeos, depsidonas e quinonas, na segunda os pigmentos amarelos, na terceira os terpenóides e esteróis. São ainda relatadas as vias dos aminoácidos e a dos carboidratos verificando-se, nesta última, a biossíntese dos sacarídeos e polióis. Por outro lado, a maioria dos metabólitos secundários têm origem biossintética via ácido chiquímico e acetato polimalonato, e perfazem cerca de 10% do peso do talo seco (Hale-Jr.; 1983; Xavier-Filho, 1989; Nash, 1996).

As substâncias liquênicas têm local específico no interior do líquen para sua produção. Algumas são de origem medular, outras corticais. A localização pode ser ainda mais restrita, como apotécios, sorédios ou himênio. Isto depende sobremaneira da natureza do fotobionte (Hale-Jr., 1983; Nash, 1996), e provavelmente está relacionado a fatores de co-adaptação às peculiaridades do ambiente (Reyes *et al.* 1994 ).

Além dos compostos hidrófobos, são também produzidas substâncias hidrossolúveis, como polissacarídeos líquênicos, além de vários outros produtos também encontrados em organismos vivos, como animais e plantas superiores (Culberson, 1970; Culberson *et al.*, 1977).

## 2.4 Os líquens e a qualidade do ar

Os métodos para se estudarem os efeitos da poluição atmosférica em líquens têm sido, principalmente, fitossociológicos e ecofisiológicos. Por estes métodos é possível relacionar a presença ou ausência de espécies de líquens, seu número, frequência de cobertura, danos externos e internos, com o grau de poluição da área em estudo (Le Blanc & Rao, 1975).

Em 1866, Nylander notou que alguns líquens encontrados em certas espécies de árvores nos arredores de Paris não eram encontrados nos mesmos tipos de forófitas que estavam no centro da cidade; ele concluiu, então, que estes líquens haviam existido anteriormente na área urbana porém haviam sido mortos pela ação de poluentes presentes na atmosfera (Denison, 1973). Este liquenologista escandinavo foi quem primeiro sugeriu a utilização de líquens como bioindicadores da qualidade do ar (Seaward, 1993).

O transplante de espécies liquênicas de áreas rurais não poluídas para regiões onde haja um nível de poluição mais elevado é um método ecofisiológico de estudo de campo sobre a ação de poluentes presentes na atmosfera, que serve ainda como confirmação das experiências realizadas em laboratório, com a mesma finalidade (Le Blanc & Rao, 1975). Embora este método tenha sido empregado pela primeira vez em Munique por Arnold, no fim do século passado (Barkman, 1958 apud Seaward, 1993), foi Brodo, com sua técnica de transplantar discos de casca de árvores contendo líquens, que fundamentou os importantes trabalhos sobre monitoramento ativo de poluição do ar atmosférico que se seguiram (Brodo, 1961; Brodo, 1967 apud Seaward, 1993).

Outras técnicas de transplante de líquens foram desenvolvidas em conexão com estudos sobre poluição atmosférica, utilizando também espécies terrícolas de líquens. Estas técnicas consistem em se transplantar os líquens envoltos em malhas de nylon para o local onde será realizado o biomonitoramento da qualidade do ar (Seaward, 1993).

Carreras et al. (1998) transplantaram amostras de *Usnea* sp. para cinco diferentes zonas de controle na cidade de Córdoba (Argentina) com distintos níveis de poluição industrial e por automotores. Analisando teores de pigmentos os autores constataram que os teores de clorofilas foram afetados pelos poluentes. Por isso, é possível considerar, como o faz Pereira (2000), que o valor dos líquens no monitoramento da poluição atmosférica é incontestável por duas razões: sua grande sensibilidade aos poluentes pode ser mensurada através de seu desempenho fisiológico; análises do talo liquênico refletem precisamente a carga de poluição a que estiveram submetidos.

A relevância do biomonitoramento com líquens se dá pelo maior conhecimento da qualidade do ar, pela utilização de recursos naturais (sem sua depredação) e pelos ensaios técnico-científicos de baixo custo. Cerca de 90% dos trabalhos que tratam do líquen como bioindicador de poluição ambiental demonstram: a correlação da distribuição das espécies com as fontes poluidoras; a importância da biomonitoração da distribuição e violência das emissões de poluentes (Seaward, 1976).

O Conselho Ambiental da Europa, em 1967, definiu oficialmente a poluição do ar da seguinte forma: “Existe poluição do ar quando a presença de uma substância estranha ou a variação significativa na proporção dos seus constituintes é suscetível de

provocar efeitos prejudiciais ou originar doenças, tendo em conta o estado dos conhecimentos científicos do momento (Branco & Murgel, 1995).

Krapivin & Phillips (2001), a partir de um modelo de simulação, estudaram a cinética dos poluentes na bacia Ártica e observaram haver uma forte interação entre o ecossistema ártico e o sistema água – clima – biosfera. Com isso foi possível estimar os possíveis impactos da atividade antrópica no continente eurasiático sobre o ecossistema ártico. A Antártica não foge a regra. Atividades humanas também podem se refletir sobre o continente austral. A partir do conhecimento da emissão de poluentes que são transportados pelas correntes aéreas e marinhas é possível avaliar a presença de metais pesados e outros poluentes nos ecossistemas antárticos.

No Nordeste do Brasil, estudos também foram realizados neste intuito. Legaz et al. (1986) relatam que *Cladonia verticillaris*, quando exposta a distintas intensidades de radiação solar, possui teores diferenciados de pigmentos e fenóis líquênicos. Esta influência é marcante também a nível macroclimático. Pereira (1989) detectou maiores teores de compostos biologicamente ativos durante o verão (estação seca) em amostras de líquens de tabuleiros arenosos da Paraíba.

Estudos preliminares foram realizados nas cidades do Recife, Poção, Garanhuns, e no Campus da UFPE, utilizando biomonitores passivos (que já ocorrem na área de estudo) da poluição do ar atmosférico, no qual foram extraídos e analisados os teores de pigmentos destes organismos. Para o caso do Recife, foi analisado o comportamento de biomonitores passivos (líquens e plantas ocorrentes nas áreas), através da quantificação de pigmentos. Este procedimento possibilitou uma detecção precoce de efeitos de poluentes sobre a micota líquenizada, enquanto os danos mais perceptíveis (necrose, desaparecimento das espécies mais sensíveis, etc.) não são ainda evidentes (Pereira et al., 1994).

Para otimização da técnica, e aprimoramento da interpretação de dados a partir do comportamento fisiológico dos líquens frente a contaminantes atmosféricos, em condições ambientais diferentes das que predominam nos países de origem dos métodos empregados, e também pela ocorrência de espécies distintas, foi iniciado um levantamento no Campus da UFPE. A partir de dados preliminares, foi possível constatar que líquens localizados em áreas do Campus, onde anteriormente o tráfego de automóveis era insignificante mas, nos últimos dois anos, passaram a ser linhas de trânsito das mais intensas dentro da Universidade. Neste caso, os danos macroscópicos



ainda não eram revelados, ao passo que a desordem fisiológica já era fato evidente (Cáceres et al., 1995; Chen et al., 1995; Losada et al., 1995a).

Dando continuidade ao estudo, Losada et al. (1995b) avaliaram qualitativa e quantitativamente os fenóis corticais e medulares de *Leptogium sp* e *Parmotrema praesorediosum* da UFPE, no sentido de comparar os resultados em função da localização das amostras, ou seja em pontos com distintos níveis de ataque dos poluentes.

Prosseguindo na adequação da metodologia de avaliação da ação de poluentes atmosféricos sobre líquens, foram selecionados biomonitores ativos, que resultam do transplante de amostras de áreas com baixo ou nenhum índice de poluentes para os sítios de estudo. Após seis meses de avaliação, a espécie *Cladonia verticillaris* foi a que respondeu de maneira mais adequada ao experimento. Por isso, foi utilizada na etapa seguinte do trabalho, que consistiu no transplante desse líquen para os pontos de monitoramento mecânico da Companhia Pernambucana do Meio Ambiente - CPRH, localizados na parte central do Recife, e pontos de sua Região Metropolitana. Ao final de seis meses, foi possível correlacionar as variações metabólicas do líquen com picos de determinados poluentes, e reestabelecimento de suas funções mediante melhora da qualidade do ar e/ou chuvas ocasionais que proporcionavam lavagem superficial de seu talo, e conseqüente retirada de poluentes (Cáceres et al., 1996).

Em Garanhuns, na área urbana, os líquens demonstraram alta desordem fisiológica, através do desequilíbrio entre teores de clorofilas e feofitinas. No ponto mais afastado do centro da cidade, em cota de maior altitude, foi detectado um nível de feofitinas além do esperado. Tal fato foi atribuído à área ser de romaria, com inúmeras velas permanentemente acesas e transporte de fumaça, através dos ventos, provenientes das queimadas praticadas por agricultores (Vieira et al., 1995).

Em Poção, apesar dos dados serem preliminares, foi possível considerar o mesmo parâmetro de influência de Garanhuns, ou seja, área de romaria. No ponto onde localiza-se a nascente do Rio Capibaribe, livre de tráfego de automóveis, as espécies demonstraram diferença quanto à sua localização no substrato. As saxícolas, próximas à lavoura, sofreram influência da volatilização de compostos nitrogenados provenientes de adubo orgânico; já as corticícolas apresentaram comportamento padrão (Mota-Filho et al., 1995).

Em estudos iniciais por Região Político-Administrativa do Recife, com objetivo de se obter um zoneamento da qualidade do ar, usando biomonitores passivos,

Pontes (2001) estudou o Bairro da Várzea, situado na porção oeste do município. O autor identificou pontos mais críticos, bem como os menos afetados, construindo mapas temáticos com os dados obtidos. O ar daquela localidade foi considerado de boa qualidade, sobretudo nas áreas com maior densidade arbórea.

## 2.5 Relação dos líquens com contaminantes atmosféricos

No mundo a freqüente reincidência de desastres e acidentes ecológicos, os constantes problemas com chuva ácida e mudanças climáticas, têm contribuído para os crescentes níveis de poluição nas grandes cidades, aumentando a demanda pela necessidade de maiores informações sobre a situação de contaminação do ar, sendo estas, reveladas por meio do monitoramento do ambiente em que vivemos (Galun & Ronen, 1988).

Seaward (1977) reporta a interação dos líquens com a umidade atmosférica, de onde tomam seus nutrientes para sobrevivência, sendo alguns fotobiontes capazes de fixar nitrogênio do ar. Por isso, são considerados seres poiquilohídricos e o teor de contaminantes no ar regula a sua existência.

A qualidade do ar e o padrão de deposição dos elementos investigados foram avaliados em Siena (Itália Central), usando-se líquens epífitos. Dentre os elementos considerados (Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb, S, Zn) o Pb era o mais difundido, indicando que este metal ainda é muito emitido pelo trânsito (Monaci et al., 1997). Estudos neste mesmo direcionamento foram realizados por Gaio-Oliveira et al. (1999) e Loppi et al. (2000). Os primeiros usaram *Xanthoria parietina* como biomonitor de poeiras em região de moinho de cimento em Setubal, Portugal; os últimos mediram concentrações de metais pesados em *Parmelia caperata* em Poggibonsi, Itália Central. Em ambos os trabalhos os autores correlacionaram as maiores concentrações de contaminantes com a distância dos emitentes, bem como o tipo de material por eles lançados nas respostas dadas pelos biomonitores utilizados.

Scerbo et al. (1999) realizaram um biomonitoramento do ar em Livorno, Itália, quantificando metais pesados. Os impactos antrópicos foram evidenciados pelos líquens usados, bem como as concentrações dos poluentes existentes.

Estudos realizados em três estações de monitoramento em Maryland e na Virginia (EUA), indicaram concentrações de enxofre, nitrogênio e sete elementos de metal no líquen *Flavoparmelia baltimorensis*. Outros ensaios posteriores, revelaram reduções de todos os nove elementos, exceto o alumínio em todas as três estações, ainda que limitado, porém indicando melhoras na qualidade do ar (Lawrey, 1993).

Estudos realizados na Louisiana meridional (EUA) com amostras de epifítica *Tillandsia usneoides* L. (Bromeliaceae) e o líquen *Parmotrema praesorediosum* (Nyl.) indicaram acumulação de metais pesados e enxofre advindos da atmosfera (Pyatt et al., 1999).

Loppi & Bonini (2000) avaliam os níveis de Al, As, B, Cd, Cu, Fe, Hg, Mo, Pb, S, Sb e Zn em ambientes próximos a fumarolas vulcânicas, usando líquens como biomonitores, que denominam de bioacumuladores. Acúmulo de Hg, S e Al foi detectado quando comparado a dados de áreas não poluídas.

Van Dobben et al. (2001) também consideram líquens como bioacumuladores, afirmando que este grupo é adequado para estudos de poluição, pois a concentração de elementos no talo líquênico reflete a situação atmosférica.

Como os demais poluentes, os radionuclídeos são extremamente danosos aos organismos vivos. Os líquens têm sido reportados por acumular não apenas elementos estáveis, mas também os radioativos. Estudos sobre as concentrações desses elementos artificiais e naturais em líquens em vários locais da Áustria revelaram que os líquens retiveram quantidades significantes de radionuclídeos artificiais de vida curta (Eckl et al., 1984).

A acumulação de radionuclídeos em líquens de vários grupos taxonômicos de ecossistemas florestais é comprovada. Os líquens acumulam radionuclídeos em um ou dois níveis mais que plantas vasculares (Naurotska et al., 1999).

Chiarenzelli et al. (2001) sugerem que líquens são acumuladores não específicos de metais após testar espécies ocorrentes no norte do Canadá. Testes similares foram também desenvolvidos com terras raras, visto que eles podem ser úteis como elementos de referência em estudos ambientais, sobretudo na fase particulada, cuja deposição poderá futuramente ser útil na avaliação de atividades humanas. A baixa solubilidade das terras raras leva a uma absorção diferenciada entre vegetais superiores e criptógamos, visto que isto dificulta o transporte via raízes.

## 2.6 Hipóteses que nortearam este trabalho

Os estudos ambientais têm demonstrado que as condições para os diversos ecossistemas, variam de acordo com as qualidades: biológica, física e química. Tais qualidades podem ser quantificadas através de medidas, indicadores e índices físicos, químicos e biológicos, que normalmente são usados para descrever, retratar e controlar as condições do meio ambiente através da adoção e aplicação de padrões de qualidade para o ar, água, solo, qualidade visual e auditiva (Martos & Maia,1997).

Considerando que os padrões e indicadores ambientais são adotados de forma qualitativa e/ou quantitativa para avaliação de parâmetros preestabelecidos e, de forma geral, indicam metas que se desejam para alcançar e manter uma situação de ‘pureza ambiental’ no sentido de proteger uma população definida, ou eliminar situações adversas, é necessário também entender que estes padrões de qualidade ambiental devem variar entre áreas urbanas e rurais (cidade e o campo), entre cidades de diferentes países, entre cidades de um mesmo país, e entre áreas de uma mesma cidade.

Os poluentes atmosféricos podem ser determinados também por aparelhos mecânicos sensíveis de alta tecnologia (método físicos e químicos), bem como pelos métodos, hoje, alternativos de **bioacumulação**, que serve à quantificação da distribuição de cargas atmosféricas, utilizando-se de “Organismos naturais para a acumulação de substâncias do meio em estudo”, e de **bioindicação** utilizando-se de “organismos através de cujos quadros de degradação pode deduzir-se o grau de carga atmosférica” (Gutberlet,1996).

As principais vantagens dos testes utilizando o auxílio dos organismos vivos (Fellenberg, 1980; Gutberlet,1996), residem no fato de que é possível:

1. verificar a atividade fisiológica de substâncias nocivas;
2. observar intoxicações crônicas decorrentes de exposições prolongadas;
3. determinar a ação de um determinado poluente em função da poluição total do ar;

4. realizar pesquisas em grandes áreas, pois os objetos (plantas) dos testes, apresentam custos relativamente mais baixos que os mecânicos, podendo ser empregados em grande escala;
5. a exposição independe de fonte de energia elétrica;
6. os resultados obtidos são comparáveis aos resultados medidos por equipamentos manuais ou automáticos.

Em especial, as plantas apresentam uma grande vantagem sobre os grupos de animais, devido ao fato de que na fase vegetativa não podem afastar-se das condições adversas, podendo variar sua sensibilidade em função quantitativa e qualitativa do meio em que se encontram (Duffus, 1983).

Considerando ainda as dificuldades referentes a infraestrutura necessária para implantação de estações de medição, bem como ao alto custo para manutenção e ampliação de uma rede de monitoramento mecânico, devido principalmente à restrição de áreas, acessos e segurança das estações de medição, a proposta deste trabalho é a de obter informações que, de maneira direta, possam indicar *C. verticillaris* como biomonitor padrão da qualidade do ar aliado à flexibilidade de planejamento para a atividade de campo, cujas hipóteses previstas estão a seguir relacionadas.

**Hipótese 1:** Partindo do conhecimento da eficácia dos líquens como biomonitores de poluição atmosférica, espera-se que exemplares da espécie transplantadas para o Distrito de Jaboatão forneçam dados que permitam avaliar os níveis de contaminação nas localidades avaliadas.

**Hipótese 2:** O uso de *Cladonia verticillaris* transplantadas para os pontos críticos, onde há monitores mecânicos da CPRH, possibilitará a avaliação do comportamento dos biomonitores em período de tempo determinado, partindo do momento zero.

**Hipótese 3:** A correlação dos dados entre biomonitores ativos, monitores mecânicos e dados climáticos (pluviosidade e umidade relativa do ar) permitirão avaliar a eficácia da

espécie liquênica avaliada, e a influência da sazonalidade no acúmulo e/ou dispersão dos contaminantes atmosféricos na área de estudo.

**Hipótese 4:** A padronização de procedimentos considerando os biomonitores da qualidade do ar auxiliará na implementação de planos e programas de gestão ambiental de zonas urbanas.

**3. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E QUÍMICA DE *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr., E METODOLOGIAS ANALÍTICAS EMPREGADAS.**

### 3.1 Morfo-ecologia

Os líquens cladoniformes pertencem à classe dos Discomycetes e são denominados de cladoniformes. Têm hábito terrícola, e produzem talo dimórfico ou fruticoso a folhoso. A composição química do grupo é homogênea, pois cada seção, família ou gênero tem compostos majoritários, idênticos. A família Cladoniaceae é a mais representativa dentre as incluídas nos líquens cladoniformes. (Ahti, 1982)

A família Cladoniaceae pertence à ordem Lecanorales, e é posicionada dentro da classe dos Ascomycetes. Suas espécies possuem como fotobionte algas verdes unicelulares.

A formação inicial de seu talo se dá com a formação de esquamulos de onde os talos emergem. Neste caso são também designados como podécios. Estes podem ser de forma e cores variadas, dos caliciformes aos claviformes (Nash III, 1996).

As Cladoniaceae dependem do clima, obedecendo a um período sazonal para reprodução; em alguns casos com rápida maturação e sempre encontradas na forma fértil. Podem também sofrer limitações como as ocorrentes em áreas boreais (Ahti, 1977; Ahti, 1982; Kershaw, 1977).

No gênero *Cladonia* o micobionte está sempre em associação com clorofíceas do gênero *Trebouxia*, ordem Chlorococcales, e em menor proporção com *Pseudotrebouxia*, da ordem Chlorosarcinales. A associação é considerada tão específica que nenhuma outra alga realiza a liquenização, mesmo em condições laboratoriais (Ahmadjian & Jacobs, 1981).

O talo primário, de maneira geral, é esquamuloso a folhoso. Os apotécios encontrados no gênero *Cladonia* são divididos em seis grupos, de acordo com sua forma. São eles: cornuto, clavado, escifoso, verticilado, tubular e furcado (Ahti, 1982; Ahti, 1984).

*C. verticillaris* foi considerada por Ahti *et al.* (1993) como espécie endêmica da costa leste do Brasil, encontrada do Rio Grande do Sul à Paraíba.

Caracterizada por possuir verticilos ao longo de seu talo, tem cor branco-acinzentada quando submetida a pouca umidade, ou amarronzada quando exposta diretamente ao sol; em período chuvoso seu talo torna-se mesclado de verde e branco. Tem, usualmente, 7cm a 12cm de altura.

As amostras de *C. verticillaris* utilizadas neste trabalho foram coletadas sobre solos arenosos de tabuleiros (cerrado) dos municípios de Alhandra e Mamanguape, Paraíba (Figura 1).





**Figura 1:** *Cladonia verticillaris* (Raddi)Fr. Vista do tufo liquênico sobre seu substrato natural - solo. Mamanguape-PB.

**Escala:** 1: 1:2

### 3.2 Química

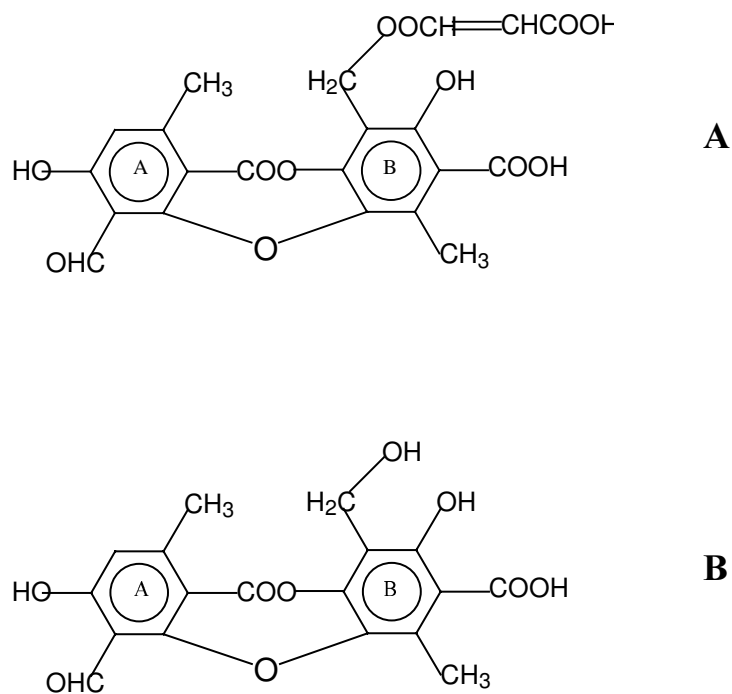
A filogenia e taxonomia dos líquens podem ser elucidadas com estudos de constituição química. Estes nortearam aspectos filogenéticos das Cladoniaceae, bem como de outras famílias, e auxiliaram na quimiotaxonomia (Culberson, 1986; Culberson & Culberson, 1970).

Segundo Nash III (1996), as raças químicas têm relação com o habitat, fornecem bases para os estudos genéticos, morfológicos, e de padrões biogeográficos de distribuição, conseqüentemente subsidiando a taxonomia.

Os líquens cladoniformes seguem o padrão do gênero *Cladonia*, no qual prevalecem substâncias da série do  $\beta$ -orcinol, além de compostos específicos de alguns gêneros ou espécies. É também possível a separação de gêneros através da química. Depsídeos da série

do  $\beta$ -orcinol, exceto atranorina, não são encontrados em espécies de *Cladonia*; já em *Cladina*, estes compostos são freqüentes (AHTI, 1982; 1984)

*C. verticillaris* apresenta o ácido fumarprotocetrárico, além do ácido protocetrárico e a atranorina (Ahti et al., 1993). A única diferença entre estas duas substâncias se dá no anel B, que na sua posição meta, em relação ao grupo carboxílico, há uma hidroxila diretamente ligada ao grupo  $\text{CH}_2$ , no caso do ácido protocetrárico, enquanto que, na mesma posição, está o ácido fumárico para a primeira substância referida (Figura 2).



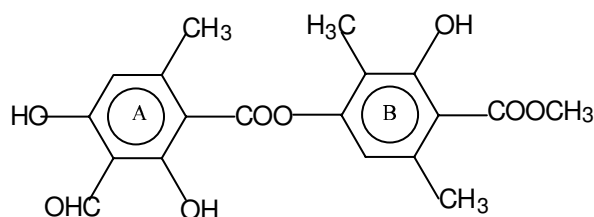
**Figura 2:** Modelo estrutural das substâncias liquênicas, ocorrente em *Cladonia verticillaris*

**Legenda** A - Ácido Fumarprotocetrárico

B – Ácido Protocetrárico

Ambas as substâncias são depsídonas formadas por duas unidades aromáticas substituídas. Seus cristais são também semelhantes, em forma de pequenas agulhas, com ponto de fusão em torno de 250°C (Asahina & Shibata, 1954).

A atranorina, que é um para depsídeo, é formada de duas unidades aromáticas substituídas. A substância contém, no anel A, duas hidroxilas fenólicas, um grupo metila, e uma função aldeídica; no anel B possui dois grupos metila, uma hidroxila fenólica e uma função éster (Figura 3). Seus cristais prismáticos são incolores e têm ponto de fusão em torno de 196°C (Asahina & Shibata, 1954).



**Figura 3:** Modelo estrutural da substância liquênica Atranorina ocorrente em *Cladonia verticillaris*

### 3.3 Metodologias analíticas

No presente trabalho, objetivando avaliar a resposta de *C. verticillaris*, utilizando a técnica do monitoramento ativo, foram transportados tufo liquênicos de tabuleiros costeiros arenosos, situados em Mamanguape e Alhandra, Estado da Paraíba, e expostos no período total de 18 meses, frente a condições de qualidade do ar, no Distrito de Jaboatão, Estado de Pernambuco, em dois pontos sob influência de fontes de emissão distintas, sob monitoramento sistemático da qualidade do ar pela Companhia Pernambucana de Meio Ambiente – CPRH.

Visando a indicação do líquen como monitor biológico da qualidade do ar na área de estudo, amostras do líquen, coletadas no tempo zero, após 12 e 18 meses de exposição foram submetidas a diversos ensaios analíticos.

Para a análise dos efeitos dos contaminantes sobre a produção de metabólitos de *C. verticillaris* (Raddi) Fr., utilizando o método de ensaio de Cromatografia em Camada

Delgada (CCD), amostras de extratos orgânicos foram extraídas a frio com acetona, evaporados à temperatura ambiente ( $28 \pm 3$  °C) e aplicados em cromatoplasas de sílica gel juntamente com padrões da atranorina (ATR) e do ácido fumarprotocetrárico (FUM), e desenvolvidas posteriormente em sistema unidimensional de solventes A (tolueno: dioxano: ácido acético, 180:45: 5, v/v), conforme Culberson (1972). Após evaporação dos solventes, a placa foi revelada sob luz UV curta e longa, posteriormente pulverizada com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 10%, e aquecida a 100 °C por 1h, para reação de coloração de bandas.

Dando continuidade, utilizando a técnica de ensaio em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), os mesmos extratos e padrões utilizados para os ensaios de CCD foram dissolvidos em éter, e soluções com concentrações de 1mg/mL e 0,1mg/mL, foram injetados em cromatógrafo líquido, acoplado a detector de ultravioleta a 254nm. Os cromatogramas foram interpretados segundo tempo de retenção das substâncias na coluna ou seus produtos de degradação, em função da área do pico que determinou a concentração no extrato de cada substância líquênica, e comparação com os padrões de ATR e FUM.

Para a análise da estrutura externa de *C. verticillaris*, amostras do líquen foram montadas em suporte metálico, com o auxílio de fita adesiva dupla face revestida por carbono e submetidos à metalização durante 1min em atmosfera de argônio, 0,1 mbar. O material resultante, recoberto por uma camada de ouro de cerca de 20nm, foi observado em microscópio eletrônico de varredura.

Para a determinação de elementos metálicos (Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Pb, Cr, Cd e Ca), amostras foram desidratadas em mufla por 2 (duas) horas a 135°C e utilizando o método da digestão ácida de matéria orgânica, via Digestor de Amostras por Microondas, cerca de 0,2g homogeneizadas de cada amostra em duplicata, foram depositados em tubo de teflon, adicionados 4,0 ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado e 0,5 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%) e levados à digestão por 10min/400W. A solução resultante após a digestão e filtração foi diluída até 25 ml com água destilada purificada no sistema MilliQ/Millipore ( $0,35 \mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$ ). A determinação das concentrações dos elementos traço foi analisada via Espectrômetro de Emissão Atômica por Plasma Indutivamente Aplicada (ICP-AES).

Foi ainda realizada em *C. verticillaris* a análise do efeito do Acetato de Chumbo (0,1% e 1,0%) e de água deionizada (parâmetro de controle do experimento) sob condições controladas em laboratório. Amostras coletadas após 24h, 48h, 5 dias e 10 dias, tiveram

seus extratos orgânicos submetidos a técnicas de ensaios de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), de Cromatografia de Camada Delgada (CCD), análise da Estrutura Externa por Microscopia Eletrônica de Varredura e determinação de elementos metálicos (Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Pb, Cr, Cd e Ca) via ICP/AES.

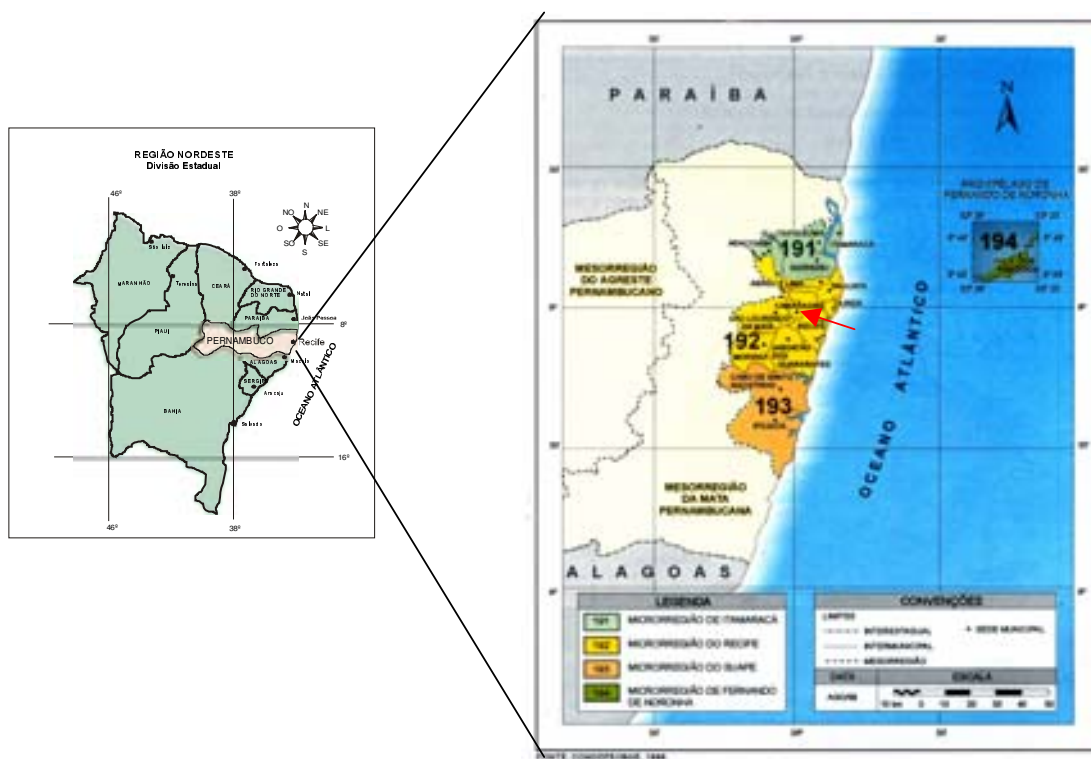
Visando ainda, comparar os resultados obtidos para determinação de elementos metálicos (Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Pb e Cr) em *C. verticillaris* foram quantificados em Poeira Total em Suspensão (PTS) os mesmos parâmetros de metais. Os filtros coletados nos monitores mecânicos em campo, utilizando o método Hi-vol para PTS, para um padrão de mancha de poeira de 18x23cm, considerando as maiores concentrações mensais, foram subdivididos em 12 partes, das quais foi utilizado 1/6, adicionados 30 ml de HNO<sub>3</sub> 3M e levado à digestão em chapa aquecida a uma temperatura média de 135°C, por 1h. A solução resultante foi filtrada e diluída até 50 ml com água destilada e analisada em Espectrofotômetro de Absorção Atômica (EAA) por Chama.

#### **4. CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO E DE COLETA.**

#### 4.1 Jaboatão dos Guararapes - PE

##### 4.1.1. Localização e aspectos históricos

A Mesorregião Metropolitana de Recife localiza-se geograficamente na fachada oriental do Nordeste do Brasil. Delimitada *grossa modo* pelos paralelos 34° 50' e 35° 15' S e os meridianos 7° 40' e 8° 55' WGr, apresenta altitudes que variam entre 2 e 400 metros. É a menor das mesorregiões do Estado com uma área de 2.989 km<sup>2</sup> que corresponde a praticamente 3% da área estadual (Figura 1). Abrange os municípios do Recife, Cabo e Santo Agostinho, Moreno, São Lourenço da Mata, Olinda, Paulista, Araçoiaba, Igarassu, Itapissuma, Itamaracá, Abreu e Lima, Camaragibe, Jaboatão dos Guararapes e Ipojuca, com áreas que variam de 29 km<sup>2</sup> a 507 km<sup>2</sup>. Limita-se ao norte com os municípios de Tracunhaém, Paudalho, Chã de Alegria e Vitória de Santo Antão; ao sul com Escada e Sirinhaém e, a leste possui cerca de 100 quilômetros de litoral (Figura 1).



**Figura. 1:** Mapa de localização do município de Jaboatão dos Guararapes na Mesorregião Metropolitana do Recife.

**Fonte:** ANDRADE, 1999.

O Município do Jaboatão dos Guararapes está situado na porção centro-leste da Mesorregião Metropolitana de Recife – MMR (Figura 1). Sua origem data de 1556, quando Duarte Coelho Pereira fez doação de uma légua de terra na ribeira do Jaboatão. A fundação do povoado se deu a partir de 1593. Sua vila sede foi elevada à categoria de cidade em 27 de junho de 1884, alcançando autonomia em 1892, através de Lei Orgânica. O município, com área de 249 km<sup>2</sup>, é constituído por três distritos – Jaboatão, Cavaleiro e Muribeca dos Guararapes. Limita-se ao norte com São Lourenço da Mata e Recife, ao sul com o Município do Cabo de Santo Agostinho, ao leste com o Oceano Atlântico e a oeste com o Município de Moreno. Sua sede municipal dista cerca de 20 km do Recife, capital do Estado de Pernambuco (Assunção, 1997).

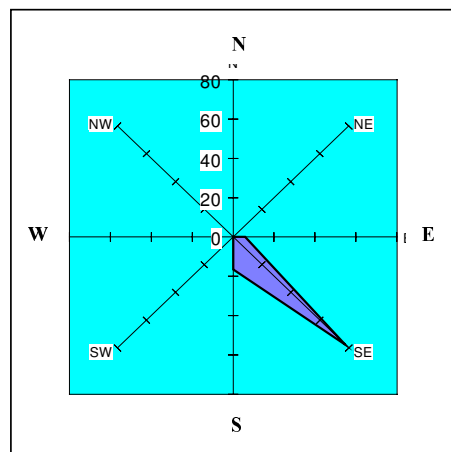
#### 4.1.2. *Características climáticas*

Devido a sua localização geográfica o clima, segundo a classificação de Köppen (1948), é do tipo As', quente e úmido. Os ventos, de origem oceânica, com velocidade média de 3m/s, apresentam direção geral sudeste – noroeste, e deflexão predominante para leste (Figura 2), a temperatura média anual é da ordem de 26°C; a umidade relativa média é de 78,3%; precipitações pluviométricas em torno de 2.170 mm; pressão atmosférica 1.016,6 milibares; nebulosidade de 6,1 décimos. As precipitações mais intensas ocorrem entre os meses de abril e julho (Andrade & Lins, 1984).

No município predomina o regime de chuvas de outono – inverno, resultante do efeito das ‘descargas’ da Frente Polar Atlântica (FPA) nos alísios de SE – E que prevalecem durante todo o ano na faixa costeira oriental nordestina. É esse regime de chuvas que permite identificar o clima As', “pseudotropical”. A denominação “pseudotropical” resulta da condição ‘anormal’ do período chuvoso que, nos climas tropicais típicos, ocorre no verão (Andrade & Lins, 1984).

Além da FPA domina a atmosfera regional a massa de ar Tépidia Kalaariana, oriunda das regiões de alta pressão subtropical. Esta massa está associada aos alísios de sudeste (Andrade & Lins, 1984).





**Figura 2:** Direção predominante dos ventos na costa pernambucana.  
Instituto Nacional de Meteorologia - INMET/ 3º DISME/PE. 1991-2001  
Estação Curado – Recife (Lat. 8°3' S Long. 34°55' W GrW Alt. 6,9m)

#### 4.1.3 *Geologia e Geomorfologia*

A base geológica do município é constituída por granitos, gnaisses e migmatitos do complexo cristalino, compreendendo os litótipos do Maciço Pernambuco – Alagoas (Brito-Neves, 1975). Esse terreno pré-cambriano aflora na porção oeste do município e em diversos trechos de sua porção sul.

Nas imediações do rio Jaboatão afloram sedimentos cretáceos da Bacia Pernambuco, representado por depósitos da Formação Cabo. Trata-se de material não consolidado, conglomerático, com seixos, calhaus e matacões de tamanho variado, moderadamente rolados. Os blocos abrangem os tipos de rochas existentes no embasamento cristalino (Lima-Filho, 2001).

Recobrimdo o substrato rochoso, em geral na porção nordeste do território, ocorre uma seqüência de idade Plio – Pleistocênica, afossilífera, de coloração variegada, onde predominam arenitos sílticos argilosos, argilas areno – siltosas e leitos conglomeráticos. Esses sedimentos, nomeados de Grupo Barreiras por Bigarella & Andrade (1964), são normalmente mal selecionados.

Na porção leste aparecem bem delimitados dois níveis de terraços arenosos com fisionomia tipicamente marinha. Os terraços mais antigos, com cotas que variam entre 7 e 11 metros acima do nível atual do mar, apresentam vestígios de antigas restingas, como a que ocorre entre a Lagoa Olho d'Água e Boa Viagem. Observa-se também a presença de sedimentos síltico – argilosos de mangues e depósitos aluviais. O segundo conjunto de terraços apresenta altitudes entre 1 e 5 metros e, são vistos ao longo da

linha de costa. Além desses sedimentos ocorrem depósitos marinhos e de mangues e terraços fluviais (Assunção, 1997).

Quanto à geomorfologia, observam-se no município três unidades geomorfológicas:

**Mar de morros** – constituído por colinas em forma de meia laranja, elaborado em terrenos do Pré–Cambriano Indiviso.

**Tabuleiros** – elaborados em cima dos terrenos sedimentares do Grupo Barreiras.

**Planície costeira** – complexo morfológico formado por terraços marinhos pleistocênicos e holocênicos, mangues, várzeas, terraços fluviais, dunas, praias e restingas.

#### 4.1.4. *Formação vegetal*

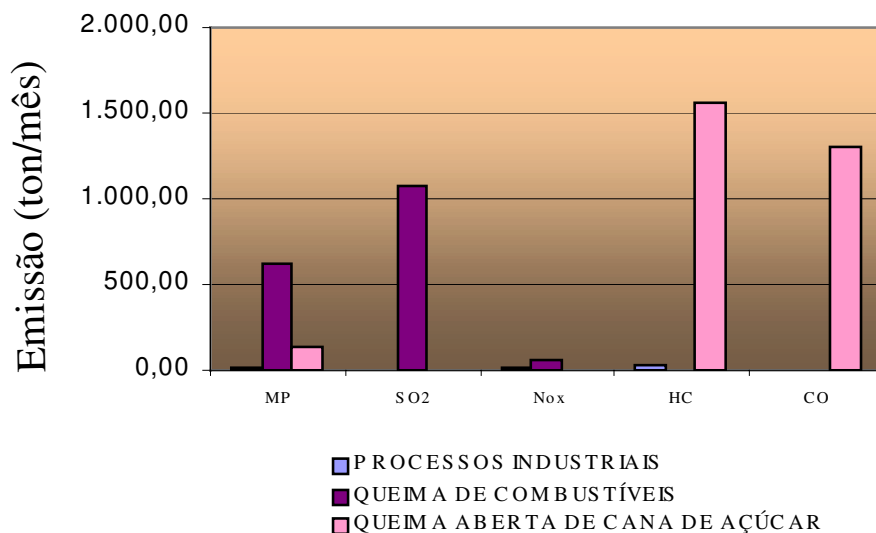
Conforme o Mapa de Cobertura Vegetal (FIDEM, 1988), restam somente fragmentos da floresta primitiva que recobria a Zona da Mata, tornando evidente a escassez de áreas verdes, destacando-se no entorno dos núcleos urbanos, o cultivo da cana-de-açúcar considerando a vocação da classe do solo predominante no município, além de culturas de subsistência pouco significativas.

#### 4.2 Qualidade do ar

O município de Jaboatão dos Guararapes, devido às características de ocupação do seu entorno ao longo dos anos, apresenta cenários de crescimento com conseqüente agravamento dos problemas decorrentes da deterioração da qualidade ambiental, tais como poluição dos cursos hídricos, comprometimento da pureza do ar, uso e ocupação do solo indisciplinados, dentre outros. Estes fatores são pertinentes, na atualidade, aos núcleos urbanos de médio e grande porte.

Foram identificados, no Distrito de Jaboatão, diversos problemas relacionados à poluição atmosférica ao longo dos anos em decorrência da contribuição de diversas fontes de emissão. São considerados como agentes de contaminação as atividades da indústria, comércio, tráfego veicular, queima-aberta de cana-de-açúcar em período sazonal, dentre outras (Figura 3). Por isso, a constante reclamação da população na luta pela garantia de qualidade de vida domiciliar, foi motivo de preocupação constante do Governo, requerendo a adoção de medidas e implementação de ações cujos resultados

pudessem vir a ser refletidos em benefícios expressos no conforto e na melhoria da saúde daquela população, ao longo dos anos.

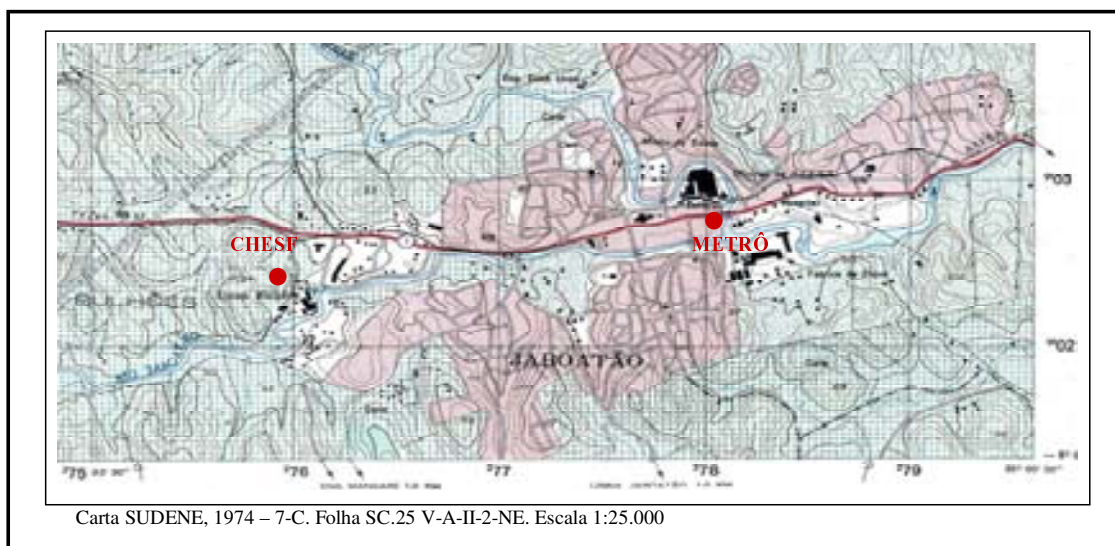


**Figura 3:** Estimativa de Emissões de Poluentes Atmosféricos em Jaboatão dos Guararapes-PE. (CPRH, 1994)

**Legenda:** MP – Material Particulado; SO<sub>2</sub> – Dióxido de Enxofre; NO<sub>2</sub> – Dióxido de Nitrogênio; HC – Hidrocarbonetos; CO- Monóxido de Carbono

Tendo em vista a distribuição espacial das fontes industriais, para a região de influência, é potencial a contribuição das emissões atmosféricas relativas as atividades de queima de combustíveis industriais e da queima aberta de cana-de-açúcar na área de estudo, estimadas especialmente em cerca de 754 toneladas/mês de material particulado, além das contribuições potenciais de hidrocarbonetos em período sazonal (CPRH,1994). Diante do contexto a área foi considerada pela Companhia Pernambucana de Meio Ambiente – CPRH, como significativa para o acompanhamento da tendência de deterioração e/ou melhoramento da qualidade do ar.

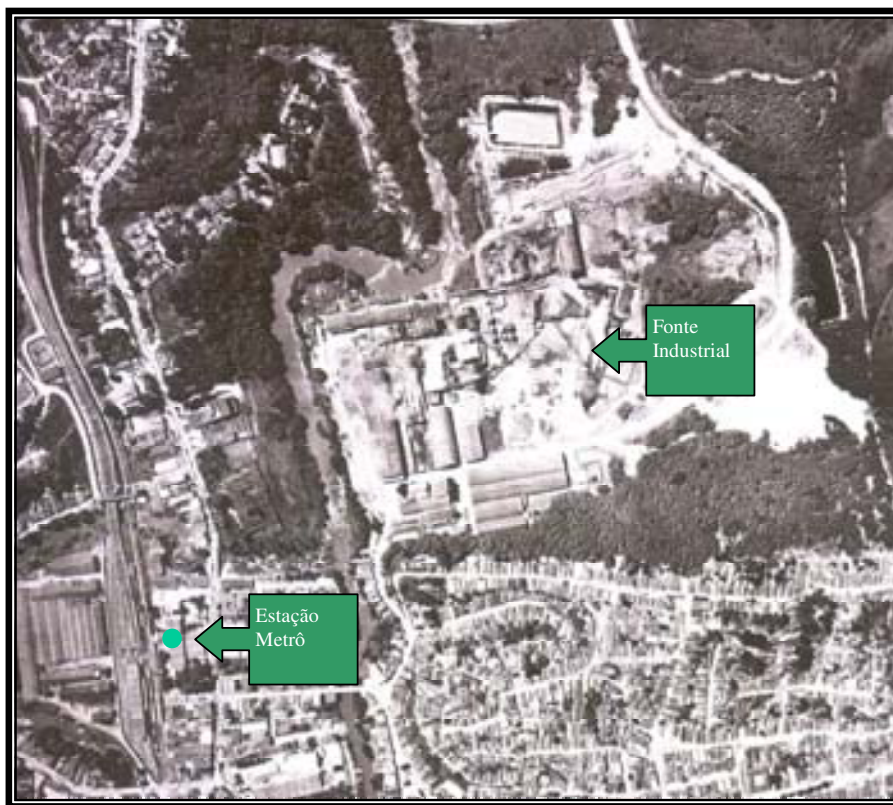
A estratégia para o monitoramento da qualidade do ar na região de estudo (Figura 4), obedeceu ao critério de medição em áreas parciais objetivando a representatividade total da região sob análise, de acordo com normas Internacionais: regulamentos Alemães / *Vierte Allgemeine Verwaltungsvorschrift zum Bundes-Immissionsschutzgesetz (Ermittlung von Immissionen in Untersuchungsgebieten – 4.BlmSchVwV)* vom 26. November 1993 (GMBL.S.827), e; recomendações da Organização Mundial de Saúde – OMS / *Air Monitoring Programme Design for Urban and Industrial Areas. WHO Offset Publication N° 33. Genf,1977* (CPRH,1999).



**Figura 4:** Localização das estações de amostragem Metrô e Chesf em Jabotão-PE.

A seleção dos pontos de localização das estações priorizou a avaliação de áreas sob a influência de fontes industriais e do tráfego veicular, considerando para a instalação dos pontos de medição os critérios de: concentração de tráfego; estrutura espacial da região e uso do solo (indústrias, comércio, residências); distância entre arruamentos e edificações; condições de dispersão local em função do número de edificações, direção predominante do vento e características das vias de acesso; distribuição espacial e influência das fontes de contaminação, comparativas a localização do ponto de medição (CPRH, 1995).

A operação da rede manual de monitoramento, em conformidade com as recomendações da Organização Mundial de Saúde – OMS, adota a coleta em campo a cada 6 dias – 24h. Os resultados finais são avaliados comparativamente aos padrões de qualidade do ar estabelecidos pela Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, nº 03/90, para os parâmetros: Partículas Totais em Suspensão (PTS); Dióxido de Enxofre ( $\text{SO}_2$ ) e Dióxido de Nitrogênio ( $\text{NO}_2$ ). Foram utilizadas as metodologias analíticas de Amostrador de Grandes Volumes (Hi-Vol), Peróxido de Hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), e do Arsenito de Sódio ( $\text{NaAsO}_2$ ), respectivamente (CPRH, 1999). A Estação Metrô (Figura 5), localizada em área sob influência de emissões oriundas de fontes industriais na direção predominante do vento, e do intenso tráfego automotivo, está situada na Estação Terminal do Metrô do Recife – METROREC, na região central do Distrito de Jabotão-PE.

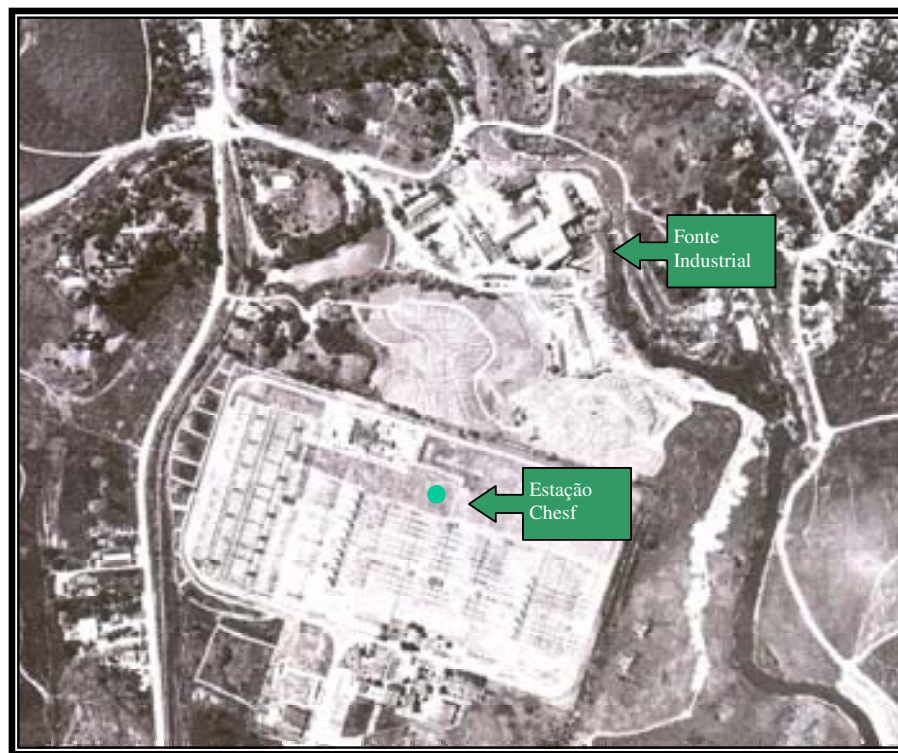


**Figura 5 :** Jabotão – PE. Fotografia Aérea. Fonte: FIDEM CT 17/96 PROPESC 1/6.000 – 13/06/97 E W .

**Legenda:** ● Estação Metrô

Para o período de março de 2000 a setembro de 2001, a análise dos dados do monitoramento efetuado pela CPRH, indicaram concentrações de Poeira Total em Suspensão (PTS) com valores para 24h em média, acima de  $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  e máxima de  $200,84 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , o que confirma a situação crônica de contaminação da área de influência no ponto de monitoramento ( $500\text{m } \phi$ ), uma vez que o padrão primário anual de qualidade do ar ( $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) é ultrapassado.

A Estação CHESF (Figura 6), localizada em área sob influência de emissões oriundas de fonte industrial na direção predominante do vento, está instalada na parte interna da Sub-Estação de energia da Companhia Hidrelétrica do São Francisco – CHESF, situada na periferia do Distrito de Jabotão-PE.



**Figura 6 :** Jaboatão – PE. Fotografia Aérea. Fonte: FIDEM CT 017/96 PROPESC 1/6.000 13/06/97 EW

**Legenda:** ● Estação CHESF

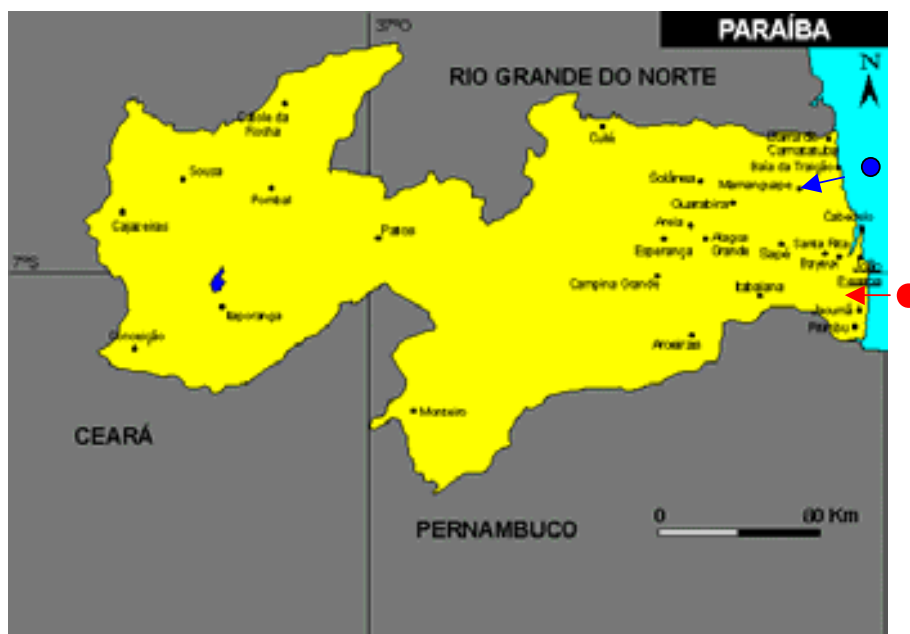
Para o período de março de 2000 a setembro de 2001, a análise dos dados do monitoramento efetuado pela CPRH, indicaram concentrações de Poeira Total em Suspensão (PTS), com valores para 24h, em média, abaixo de  $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$  e máxima de  $136,59 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , indicando que a influência sazonal da fonte industrial não contribui em média para a ultrapassagem do padrão primário anual de qualidade do ar ( $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) na área de influência no ponto de monitoramento (500m  $\phi$ ).

#### 4.3. Características das áreas de coleta

Considerando que o objetivo do presente trabalho destacou a realização de experimentos utilizando a metodologia de implementação de monitoramento ativo de exemplares da espécie líquênica, transplantadas para o Distrito de Jaboatão, Pernambuco, para análise do comportamento de sua fisiologia associada à poluição ambiental, foram selecionadas as regiões de tabuleiros arenosos costeiros no Estado da Paraíba devido a maior ocorrência da espécie *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr.



A primeira área de coleta localiza-se no município de Alhandra a cerca de 20 km da fronteira entre os estados de Pernambuco e Paraíba, na margem direita da BR – 101, sentido Recife – João Pessoa; a segunda encontra-se na Reserva Biológica Guaribas, município de Mamanguape, na margem esquerda da BR – 101, sentido João Pessoa – Natal, distando 55 km da capital do Estado (Figura 7). Ambas regiões encontram-se sobre sedimentos do Grupo Barreiras (TQb) e depósitos arenosos da Formação Beberibe (Kb).



**Figura 7:** Mapa político da Paraíba, com indicação das áreas de coleta de *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr.

**Fonte:** CEDIC Multimídia – Geografia

**Legenda:** Mamanguape; ● Alhandra. ●

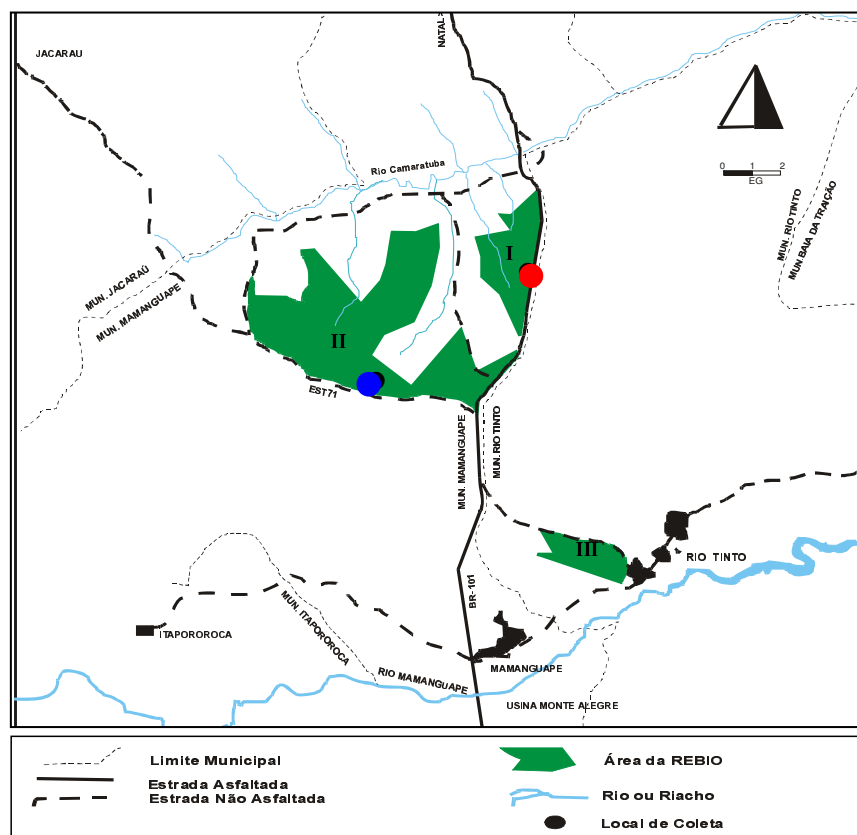
O clima é As' segundo a classificação de Köppen. Os parâmetros climáticos são os mesmos da área de pesquisa, com exceção da precipitação que diminui à medida que se dirige para o norte. Na região de Alhandra ela é da ordem de 1500 mm anuais, diminuindo para cerca de 1400mm no município de Mamanguape, segundo dados da Sudene.

#### 4.3.1 Reserva Biológica Guaribas

A Reserva Biológica Guaribas é uma Unidade de Conservação Federal (Decreto nº 98.884, 1990), criada pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos

Naturais Renováveis – IBAMA, para o objetivo específico de proteger amostras representativas dos ecossistemas na Mata Atlântica do Nordeste do Brasil, conciliado com usos para fins de educação e pesquisa científica. Está situada no litoral setentrional a 75 km de João Pessoa capital do Estado da Paraíba, ocupando parte dos municípios de Mamanguape e de Rio Tinto. Possui uma extensão de 4.321,6 ha dividida em três áreas distintas (Figura 8), cuja cobertura vegetal apresenta maior ocorrência de tabuleiros costeiro e de Floresta Estacional Semidecidual.

Para a realização do presente trabalho tufo da espécie liquênica nos experimentos – *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. - foram coletados, nas áreas I e II da Reserva Biológica Guaribas (Figura 8).



**Figura 8 :** Mapa da Reserva Ecológica Guaribas, Mamanguape, PB, com localização dos pontos de coleta de *Cladonia verticillaris*

**Fonte:** IBAMA, 2001

**Legenda:** Ponto I ● Ponto II. ●



## **5. TRABALHOS A SEREM SUBMETIDOS A PUBLICAÇÃO**

## **5.1 METAIS PESADOS ASSOCIADOS A POEIRA TOTAL EM SUSPENSÃO – PTS, EM ÁREA URBANA INDUSTRIAL DE JABOATÃO DOS GUARARAPES-PE**

**Rita Alves Silva, Eugênia C. Pereira, Nicácio Henrique da Silva,  
Fernando de Oliveira Mota Filho**

**QUÍMICA NOVA, 00(0) (2002)**

## ARTIGO

**METAIS PESADOS ASSOCIADOS A POEIRA TOTAL EM SUSPENSÃO – PTS, EM ÁREA URBANA INDUSTRIAL DE JABOATÃO DOS GUARARAPES - PE****Rita Alves Silva<sup>1</sup>, Eugênia C. Pereira<sup>2</sup>, Fernando de Oliveira Mota-Filho<sup>2</sup>, Nicácio Henrique da Silva<sup>3</sup>**

Mestrado em Gestão e Políticas Ambientais / Pró-Reitoria de Pós-graduação e Pesquisa – PROPESQ<sup>1</sup>; Departamento de Ciências Geográficas- CFCH<sup>2</sup>; Departamento de Bioquímica – CCB<sup>3</sup>. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n, 6º andar, Cidade Universitária, 50.740-530, Recife - PE, Brasil.

e-mail: [silva\\_rita@hotmail.com](mailto:silva_rita@hotmail.com), [arruda@hotlink.com.br](mailto:arruda@hotlink.com.br)

**HEAVY METALS ASSOCIATED TO TOTAL SUSPENDED PARTICLES – TSP, IN INDUSTRIAL URBAN AREA.** This work presents the determination of heavy metals (Pb, Cd, Fe, Cu, Mn, Zn and Ni) associated to the concentrations of total suspended particles – TSP, in two different monitoring stations of Jaboatão, NE of Brazil. The material was collected by high volume samplers (Hi-vol), and submitted to metallic ions analysis through Atomic Absorption Spectrophotometer. The results indicated that the concentrations of TSP obtained in the subway station overtook the primary standard of air quality. In opposite, the registered data for the highest concentrations of heavy metals were obtained in the CHESF station. The meteorological data showed a remarkable influence on distribution and concentration of pollutants (TSP and heavy metals) in the environment, in Jaboatão– PE.

**Key words – air quality; heavy metal; total suspended particles**

**INTRODUÇÃO**

A poluição atmosférica é assunto de ampla discussão na atualidade, pois suas conseqüências são das mais diversas, sobretudo no que se refere à saúde humana. Os poluentes encontrados na atmosfera estão normalmente sob forma de material particulado. Este é constituído por qualquer substância, à exceção de água pura, que existe como líquido ou sólido em suspensão. Tem dimensões microscópicas ou submicroscópicas, porém maiores que as dimensões moleculares, apresentando classificação variada (fino -  $\phi < 2,5\mu$ ; grosso -  $\phi > 2,5\mu$ ) conforme Lora<sup>1</sup>. Seus efeitos podem vir a causar danos à saúde e ao meio ambiente, desde irritação nos olhos e garganta,

redução da resistência às infecções adversas, até a ocorrência de doenças respiratórias crônicas, etc. (CPRH, 1999)<sup>2</sup>. Segundo Zakrzewski<sup>3</sup> o maior perigo das partículas suspensas no ar se dá pelas de menor tamanho, sobretudo as menores que  $2\mu$ m, pois podem penetrar no sistema sanguíneo do Homem. Pirela<sup>4</sup> refere que os metais traço são os que produzem os maiores efeitos tóxicos à saúde. Alguns elementos exercem influência positiva ou negativa sobre plantas, animais e o Homem. No ambiente, a atmosfera é o meio de propagação dos poluentes emitidos e são os movimentos atmosféricos que determinam a frequência, a duração e a

concentração dos poluentes a que estão expostos os receptores.

As partículas em suspensão concentram em sua composição uma variada classe de poluentes constituídos de poeiras, fumaças e todo o tipo de material sólido e líquido. Possuem fontes de emissão das mais variadas, indo desde as incômodas fuligens emitidas pelo tráfego de veículos até as fumaças das chaminés industriais, passando também pela poeira depositada nas ruas oriundas da circulação dos ventos, etc. Devido ao tamanho e natureza variada das pequenas partículas que se mantêm suspensas na atmosfera, destacam-se os metais pesados, cuja contaminação do ar ocorre principalmente a partir de emissões de gases e partículas derivadas de processos industriais e de combustão de carburantes fósseis (carvão e derivados de petróleo). Os mais comuns são arsênio (As), cádmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), mercúrio (Hg) e o chumbo (Pb) (Cunha & Guerra)<sup>5</sup>.

Os centros urbanos são ambientes passíveis de contaminação por gases e metais, e a literatura especializada relata inúmeros problemas de saúde decorrentes da poluição atmosférica nessas áreas, sobretudo aqueles localizados próximos a pólos de desenvolvimento industrial, sendo evidentes o maior número de

ocorrências de problemas respiratórios, e outras doenças correlacionadas à poluição, bem como danos e desgastes de materiais, o que acarreta em alto custo de manutenção e prejuízos aos serviços públicos e de saúde. Por isso, uma avaliação de contaminantes presentes no ar subsidia o planejamento e a execução de ações, de forma a minimizar os problemas sócio-ambientais e suas conseqüências. Assim sendo, este trabalho objetiva a determinação das concentrações de metais pesados (Pb, Cd, Fe, Cu, Mn, Zn, Cr, Ni, e Zn) associados às maiores concentrações mensais de Poeira Total em Suspensão (PTS) para um período de 18 meses, no Distrito de Jaboatão – PE, como parâmetro de avaliação da qualidade do ar em área urbana, sob influência de emissões veiculares e industriais.

## MATERIAL E MÉTODOS

### • Seleção da área de estudo

O Município do Jaboatão dos Guararapes está situado na porção centro-leste da Mesorregião Metropolitana do Recife – RMR (Figura 1). Possui área de 249 km<sup>2</sup>.

Seu território é constituído por três distritos: Jaboatão, Cavaleiro e Muribeca dos Guararapes. Limita-se ao norte com São Lourenço da Mata e Recife, ao sul com o Município do Cabo de Santo

Agostinho, ao leste com o Oceano Atlântico e a oeste com o Município de Moreno. Sua sede municipal dista cerca de 20 km do Recife, capital do Estado de Pernambuco (Assunção)<sup>6</sup>.

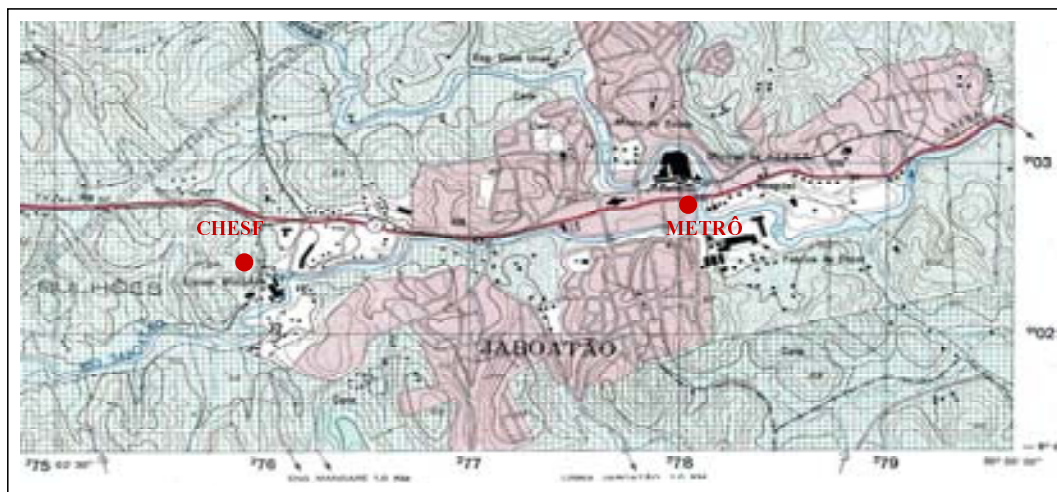
O município está situado numa região de clima As', segundo a classificação de Köppen. O período das chuvas ocorre entre os meses de março (140mm), agosto (270mm) com médias anuais superiores 1500mm. A temperatura média situa-se em torno de 26 °C, com mínima de 18°C e máxima de 32°C. (Assunção)<sup>6</sup>.



**Figura 1:** Mesorregião Metropolitana do Recife, com indicação do Município de Jaboatão dos Guararapes (Andrade)<sup>7</sup>

O Distrito de Jaboatão, área objeto deste estudo (Figura 2), devido às características de ocupação do seu entorno ao longo dos anos, apresentou cenários de crescimento urbano associado ao conseqüente agravamento dos problemas decorrentes da deterioração da qualidade ambiental, tais como poluição dos cursos hídricos, comprometimento da qualidade do ar, uso e ocupação do solo indisciplinados, etc. Estes fatores são pertinentes, na atualidade, aos núcleos urbanos de médio e grande porte. Por isso, a área foi considerada pela Companhia Pernambucana de Meio Ambiente - CPRH, como significativa para o acompanhamento da tendência de deterioração e/ou melhoramento da qualidade do ar.

Resultados de valores para os parâmetros poeira total em suspensão (PTS), dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2$ ) e dióxido de enxofre ( $\text{SO}_2$ ) são obtidos a partir da operação de duas estações de monitoramento assim localizadas: estação Ponto Terminal do Metrô, no Centro da cidade (Figura 3), e área interna da Subestação de energia elétrica da Companhia Hidrelétrica do São Francisco – CHESF, situada na periferia da cidade (Figura 4).



**Figura 2:** Localização das estações de amostragem Metrô e CHESF em Jaboatão-PE. Carta SUDENE, 1974 – 7-C. Folha SC.25 V-A-II-2-NE. Escala 1:25.000



**Figura 3** Localização do ponto de amostragem no centro de Jaboatão-PE.

**Legenda:** ● Estação Metrô



**Figura 4:** Localização do ponto de amostragem na periferia de Jaboatão-PE.

**Legenda:** ● Estação CHESF.

### • Coleta e medição da Poeira Total em Suspensão (PTS)

Para todas as etapas do trabalho foram utilizados os filtros coletados nas

estações de monitoramento da qualidade do ar, localizadas em Jaboatão. Para a execução deste trabalho foram consideradas as maiores concentrações mensais para o período de março do ano

2000 a setembro do ano 2001. Os valores obtidos a partir da operação a cada 6 dias – 24 horas são analisados pela CPRH, comparativamente aos padrões de qualidade do ar estabelecidos pela Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA<sup>8</sup>, nº 03/90, conforme parâmetros e metodologia de

medição apresentados na tabela 1 (CPRH/GTZ)<sup>9</sup>.

Os filtros contendo PTS ficam acondicionados à temperatura ambiente ( $28 \pm 3$  °C) em sacos de papel, para contraprova ou utilização posterior.

**Tabela 1:** Monitoramento da qualidade do ar. Parâmetros de medição e avaliação

Parâmetro	Metodologia de análise	Padrões de Qualidade do Ar (Resolução CONAMA nº 03/90)	
		Primários	Secundários
Poeira Total em Suspensão - PTS	Amostrador de grandes volumes	24 h – 240 µg/m <sup>3</sup> MGA – 80 µg/m <sup>3</sup>	24 h – 150 µg/m <sup>3</sup> MGA – 60 µg/m <sup>3</sup>
Dióxido de Enxofre (SO <sub>2</sub> )	Peróxido de Hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	24 h – 365 µg/m <sup>3</sup> MAA – 80 µg/m <sup>3</sup>	24 h – 100 µg/m <sup>3</sup> MAA – 40 µg/m <sup>3</sup>
Dióxido de Nitrogênio (NO <sub>2</sub> )	Arsenito de Sódio (NaAsO <sub>2</sub> )	1 h – 320 µg/m <sup>3</sup> MAA – 100 µg/m <sup>3</sup>	1 h – 190 µg/m <sup>3</sup> MAA – 100 µg/m <sup>3</sup>

MGA – média geométrica anual; MAA – média aritmética anual

#### • Determinação de Poeira Total em Suspensão - PTS

Para coleta dos dados empregou-se o método de coleta de amostrador de grandes volumes (ABNT- NBR 9547), cujo equipamento (HI-VOL) tem como princípio de funcionamento a sucção do ar ambiente, fazendo-o passar por um filtro. O ar ambiente, succionado através de um motor-aspirador, passa por um filtro de fibra de vidro 8”x 10”, a uma vazão padrão de 1,1 a 1,7 m<sup>3</sup>/min por um período de 24 horas corridas. O material particulado ( $\phi$  entre 0,1 e 100µ) é retido no filtro, e um medidor de vazão registra

a quantidade de ar succionada. A concentração de partículas em suspensão no ar ambiente (µg/m<sup>3</sup>) é então gravimetricamente determinada, relacionando-se a massa retida no filtro e o volume de ar succionado.

#### • Determinação de metais pesados

As análises em PTS foram baseadas no método de digestão ácida, utilizando ácido nítrico, e a determinação de metais realizada via Espectrofotometria de Absorção Atômica - EAA, e complementos segundo Bataglia *et al.*<sup>10</sup>.

Devido a possibilidade de utilização do material coletado como contraprova e/ou realização de diversos trabalhos de avaliação ambiental, sem qualquer prejuízo aos resultados finais deste trabalho, os filtros utilizados, para um padrão de mancha de 18 x 23cm foram subdivididos em 12 partes, das quais utilizaram-se 1/6 delas. O material foi adicionado de 30 mL de HNO<sub>3</sub> 3M, e levado à digestão em chapa aquecida a uma temperatura média de 135°C, por 1h. A solução resultante foi filtrada e diluída até 50 mL com água destilada purificada no sistema MilliQ/Millipore (0,35 µS.cm<sup>-1</sup>). As amostras foram analisadas em Espectrofotômetro de Absorção Atômica (EAA) por Chama, marca VARIAN,

modelo AA-250 Plus, com queimador ar-acetileno, e fluxo da amostra entre 6-7 mL/min. Os parâmetros de comprimento de onda, limites de detecção e largura da fenda do EAA, utilizados na determinação dos metais pesados (ferro, cádmio, chumbo, cobre, cromo, manganês, níquel e zinco) são apresentados na tabela 2. A concentração final dos elementos foi calculada em base seca, e expressa em µg.g<sup>-1</sup> (ppm). Os valores correspondentes às maiores concentrações registradas foram expressos nos resultados finais, sendo que para as medições detectadas abaixo dos limites de detecção do equipamento, foi considerado o valor correspondente a zero para cada amostra.

**Tabela 2.** Parâmetros de comprimentos de onda ( $\lambda$ ), limites de detecção (L.D.) e largura de fenda para medição de metais pesados em Espectrofotômetro de Absorção Atômica - EAA.

Elementos	$\lambda$ (nm)	L.D (µg mL <sup>-1</sup> )	Largura de fenda
Ferro (Fe)	248,3	2	0,2
Cádmio (Cd)	228,8	0,05	0,5
Chumbo (Pb)	217,0	0,1	1,0
Cobre (Cu)	324,8	0,05	0,5
Cromo (Cr)	357,9	0,1	0,2
Manganês (Mn)	279,5	0,05	0,2
Níquel (Ni)	232,0	0,1	0,2
Zinco (Zn)	213,9	0,05	1,0

#### • Dados meteorológicos

Os dados meteorológicos foram fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia – INMET. O conjunto de

informações foi representado por precipitação pluviométrica, direção e velocidade dos ventos, além da umidade relativa do ar, cujos registros foram



tomados na Estação Curado, em Recife-PE, situada a cerca de 12 km da área de estudo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas 3 e 4 apresentam os dados obtidos nas estações de monitoramento da CPRH relacionados com os parâmetros meteorológicos. Observando os resultados de concentração para PTS pode-se constatar que somente nos meses de maio, julho, setembro e dezembro de 2000, ambas estações de monitoramento indicaram as máximas de concentração para a mesma data. Os dados sugerem, em média, na estação metrô (tabela 3), concentrações de poluentes acima do padrão primário anual (MGA  $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ), além da ultrapassagem do padrão secundário (24h -  $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) em cinco, dos dezoito meses avaliados (mai/00; jun/00, abr/01, ago/01 e dez/01).

Para a estação CHESF a avaliação dos dados indica que, apesar das maiores concentrações do poluente, os padrões legalmente estabelecidos não foram ultrapassados. Relacionando os resultados obtidos com as variáveis meteorológicas, verifica-se a predominância de ventos de sudeste e, em geral, a falta de chuvas sempre compensada pela elevação da velocidade média do vento. Esta situação de

diminuição ou ausência de chuvas, associada às maiores concentrações de PTS registradas valida o incremento de partículas suspensas na atmosfera, em decorrência de ventos com velocidades constantes mantendo, praticamente durante todo o ano, uma direção predominante de SE. Estas condições desfavorecem a ocorrência de episódios agudos de poluição na região. Carvalho *et al.*<sup>11</sup> analisaram metais pesados contidos em PTS em dois diferentes municípios do Rio Grande do Sul. Os autores atribuem uma forte influência das condições meteorológicas e associação das fontes antropogênicas na dispersão de PTS. Consideram períodos de pouca ou nenhuma pluviosidade como os mais propícios para suspensão dessas partículas. Apesar de na Mata Pernambucana não ocorrerem ventos tão fortes quanto os reportados para o Rio Grande do Sul, e a região costeira do Estado não apresentar características de aridez, é possível utilizar-se de tal premissa para avaliar o comportamento de dispersão e transporte de PTS, e os metais pesados nelas contidos.

Os resultados obtidos para as maiores concentrações mensais representam variações diferenciadas de concentrações de PTS no período de maio/2000 a setembro/2001 (Figura 5), e demonstram que as quantidades de

poluentes são muito superiores na estação metrô (Figura 5A) às registradas na estação CHESF (Figura 5B). Estas ocorrências podem ser explicadas se consideradas as características das áreas de medições relacionadas às influências das principais fontes de emissões para poluentes atmosféricos, em especial, a emissão de particulados. Cabe ainda

observar que, devido a sazonalidade de operação da usina de açúcar na proximidade da estação CHESF, esta apresenta suas mais elevadas concentrações no período de novembro a março que, por sua vez, corresponde ao período mais seco.

**Tabela 3.** Concentrações de PTS determinadas na Estação Metrô em Jaboatão - PE e dados meteorológicos

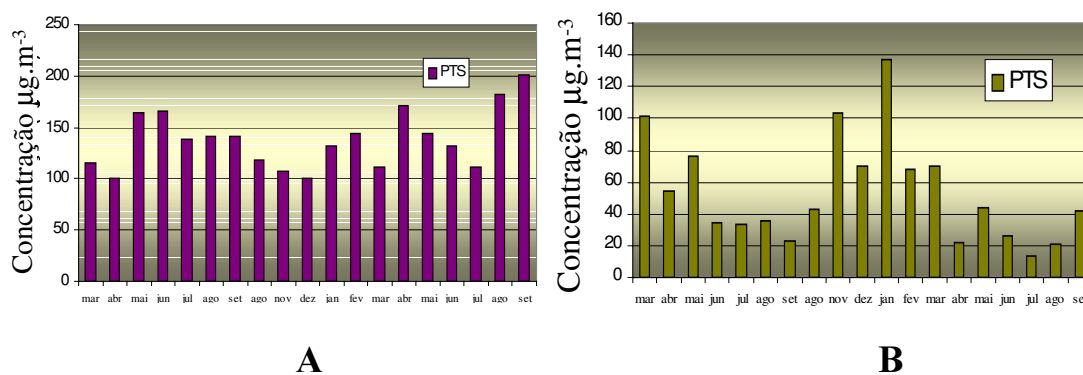
Data de coleta	Concentração PTS ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Precipitação pluviométrica (mm)	Direção do vento	Velocidade do Vento (m/s)	Umidade relativa (%)
28/03/00	115,19	33,3	S	3	83
03/04/00	101,19	3	S	6	77
21/05/00	164,49	1	SE	4	71
30/06/00	165,71	52,1	SE	4	94
18/07/00	138,23	0	SE	3	80
23/08/00	141,39	0,1	S	3	64
16/09/00	141,65	13	S	4	73
16/10/00	118,55	1,2	SE	6	69
16/11/00	107,02	0,2	S	3	67
10/12/00	100,03	0	SE	3	63
18/01/01	131,98	1	SE	4	70
23/02/01	144,65	0	SE	6	67
05/03/01	111,81	1	SE	3	64
10/04/01	171,50	0	SE	5	63
04/05/01	144,04	30	S	3	88
03/06/01	131,48	33	E	3	91
15/07/01	111,95	7	SE	2	86
20/08/01	181,48	12	SE	6	70
19/09/01	200,84	3	SE	7	69

Fonte: Companhia Pernambucana de Meio Ambiente – CPRH; Instituto Nacional de Meteorologia – INMET, Estação Curado (Lat 8° 3' S Long. 34° 55' W Gr, Alt 6,9m)

**Tabela 4.** Concentrações de PTS determinadas na Estação CHESF em Jaboatão – PE e dados meteorológicos

Data de coleta	Concentração PTS ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Precipitação pluviométrica (mm)	Direção do vento	Velocidade do Vento (m/s)	Umidade relativa (%)
17/03/00	101,61	5,6	SE	5	63
03/04/00	54,52	3	S	6	77
21/05/00	76,12	1	SE	4	71
02/06/00	34,43	52	S	4	74
18/07/00	32,98	0	SE	3	80
29/08/00	35,95	0	SE	4	72
16/09/00	22,72	13	S	4	73
22/10/00	45,52	0	SE	5	67
22/11/00	103,67	0	SE	5	66
10/12/00	70,19	0	SE	3	63
12/01/01	136,59	36	SE	5	73
11/02/01	67,59				
17/03/01	70,36	0	SE	3	62
10/04/01	22,04	7	SE	4	73
04/05/01	44,03	0	SE	2	72
09/06/01	26,39	10	W	2	86
03/07/01	13,39	12	S	3	85
01/08/01	20,44	0	SE	6	73
13/09/01	41,68	2	S	3	73

Fonte: Companhia Pernambucana de Meio Ambiente – CPRH; Instituto Nacional de Meteorologia – INMET, Estação Curado (Lat 8° 3' S Long. 34° 55' W Gr, Alt 6,9m)

**Figura 5:** Concentrações de máximas mensais de Poeira Total em Suspensão - PTS determinadas no Centro de Jaboatão – PE, no período de março/2000 a setembro/2001.

**Legenda:** A – Estação Metrô B – Estação CHESF

Para os dados de metais associados a PTS foram realizadas análises laboratoriais para os elementos Pb, Cd, Fe, Cu, Mn, Zn, Cr e Ni, não tendo sido registradas quaisquer concentrações para Cd, Cr, Ni e Pb.

Dentre os metais estudados o Fe (Figura 6) e o Cu (Figura 7) foram os elementos que apresentaram concentrações mais elevadas no ambiente em todas as amostras analisadas. Para o elemento Fe, foram detectados níveis acima de  $14.000 \mu\text{g.g}^{-1}$ , na estação metrô (Figura 6A) em todo o período, enquanto que a estação CHESF (Figura 6B) apresentou variações inferiores, porém bem significativas para os meses de mai/00, set/00 jun/01, jul/01 e ago/01. Para os demais meses do período de estudo, os índices permaneceram acima de  $15.000\mu\text{g.g}^{-1}$ .

Para o elemento Cu as concentrações detectadas representam uma situação inversa, pois as maiores concentrações foram detectadas na estação CHESF (Figura 7B), em especial no período de mar/01 a ago/01, quando as concentrações apresentaram resultados bem superiores ( $>10.000 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) aos demais quantificados. A situação não apresenta associação direta com as máximas concentrações de PTS, pois o período representa a entressafra de

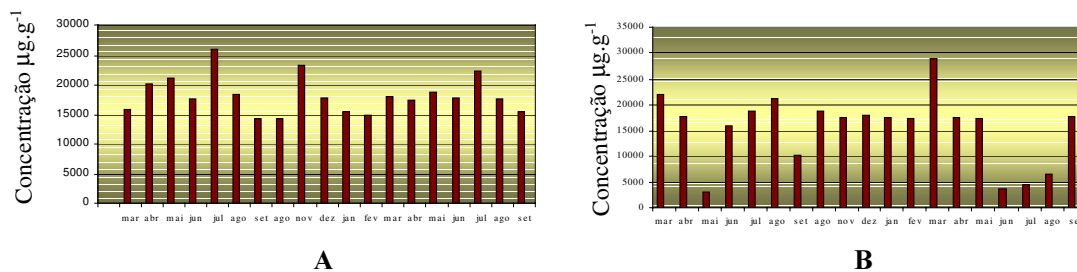
produção do açúcar na região além de caracterizar o período chuvoso na área, no entanto a emissão em potencial deste elemento está associada a operação do sistema de fornecimento de energia elétrica da estação CHESF, devido à maioria dos equipamentos conter cobre. Assim sendo, o regime forçado de sucção do ar pelo equipamento de medição (Hi-Vol) associado às baixas velocidades do vento no período, provavelmente favoreceram a captura partículas de Cu. É possível haver interferência de parâmetros ambientais na dispersão e/ou concentração de poluentes. Morillo *et al.*<sup>12</sup> mediram a concentração de Pb, V, C, Ni e Ca em cidades da Venezuela e constataram que Pb e V são registrados em maior teor na seca, enquanto Ni e C são mais frequentes no período chuvoso.

O elemento Mn igualmente apresentou resultados significativos e elevados, tendo sido detectadas as maiores concentrações na estação CHESF (Figura 8B), apesar dos dados apresentarem uma variação mais proporcional na estação metrô (Figura 8A). Pode-se observar uma variação decrescente do metal no período de jun/01 a ago/01 na estação metrô (figura 8A), e a inexistência do elemento no material analisado para a estação CHESF (Figura 8B).

Para o elemento Zn foram detectadas concentrações muito elevadas na estação CHESF (Figura 9B), no entanto somente para períodos bem determinados, agosto/00 a dezembro/00 e de fevereiro/01 a maio/01. Na estação metrô (Figura 9A) foi registrada uma única concentração do metal no mês de março/01.

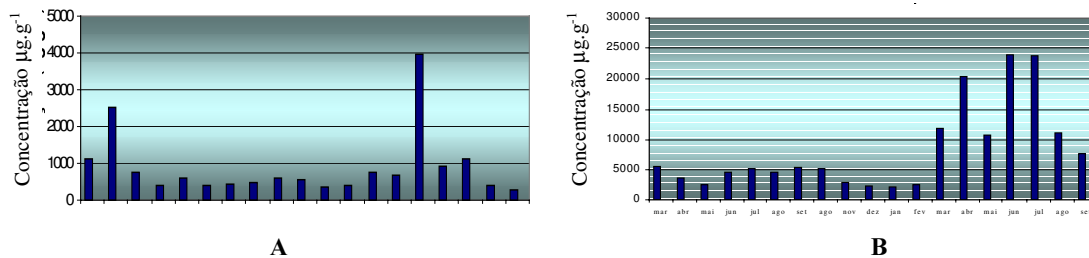
Steven *et al.*<sup>13</sup> referem que muitos elementos, inclusive o Fe, fazem parte da composição natural da gasolina. Por outro lado, outros são incluídos como aditivos dela e do óleo do motor, pois previnem a oxidação das peças. Dessa forma são liberados para a atmosfera. A

partir da mensuração dos metais nos diferentes pontos de avaliação, as maiores contaminações detectadas levam a sugerir que os elementos são provenientes dos trilhos do metrô, dos equipamentos da subestação, da queima da cana de açúcar e funcionamento das usinas, e da indústria de papel das proximidades. Os resultados para metais pesados não apresentaram associação direta com as maiores concentrações de PTS e sim com os emitentes.



**Figura 6:** Concentrações de ferro (Fe) determinadas em Poeira Total em Suspensão - PTS , Jaboatão – PE, no período de março/2000 a setembro/2001.

**Legenda:** A – Estação Metrô B – Estação CHESF



## CONCLUSÃO

Com referência aos resultados obtidos para PTS, os mesmos permitem concluir que as duas estações de medição apresentam teores significativos de metais pesados, porém diferenciados em função da sazonalidade e concentrações determinadas, principalmente na estação metrô, cujos dados obtidos sugerem a ultrapassagem do padrão primário de qualidade do ar, estabelecido na Resolução CONAMA nº 03/90. Os resultados obtidos permitem também validar a associação com os parâmetros meteorológicos, em especial a predominância dos ventos de sudeste, que propiciam uma menor influência das emissões geradas na área direta da estação CHESF, sobre a área central da cidade de Jaboatão, e ainda que a ausência ou diminuição da ocorrência de chuvas associada à velocidade e constância direcional dos ventos promove a ocorrência das maiores concentrações de PTS na área de estudo. Por outro lado, desfavorecem a ocorrência de um episódio agudo de poluição na região.

Quanto aos metais foi verificada a ausência dos metais Cd, Cr, Ni e Pb associada às maiores concentrações de PTS no período de estudo. Foram verificadas concentrações elevadas de Fe, Cu, Mn e Zn, especialmente na estação CHESF. A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que a influência das principais

fontes de emissão para poluentes na região de estudo, bem como, as características das áreas de medição no entorno direto, e a ocorrência de baixas velocidades de vento associados à direção predominante (SE), além da ausência de chuvas permitiram o registro das maiores concentrações de metais pesados na estação CHESF, situada na periferia de Jaboatão-PE.

## AGRADECIMENTOS

À Companhia Pernambucana de Meio Ambiente – CPRH, por disponibilizar a sua infra-estrutura de laboratório e gentileza dos filtros coletados, para a realização deste trabalho. Os autores agradecem especialmente a Gerência de Laboratório – GLB, com menção a Eng. Maria Cândida Portela e a Quim. Mayelbe Brandão e sua equipe, pelo apoio na execução das análises laboratoriais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lora, E.S.; *Prevenção e controle da poluição nos setores energético, industrial e de transporte*; ANEEL; Brasília, DF; 2000.
2. Companhia Pernambucana de Controle da Poluição Ambiental e de Administração dos Recursos Hídricos. Qualidade do ar na Região Metropolitana do Recife – 1998. Recife: CPRH/GTZ, 1999.110p.

3. Zakrzewski, S. F. *Principles of environmental toxicology*. Am. Chem. Society. Washington, D. C.
4. Pirela, D. *Composición elemental de las partículas suspendidas en la atmósfera de la región occidental de la cuenca del Lago de Maracaibo*. Monografía de Bacharelado en Química, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.
5. Cunha, S.; Guerra A. J. T. 1999. *Avaliação e Perícia Ambiental*. Rio de Janeiro; Bertrand Brasil. 266p. 1999. 266p.
6. Assunção, P. R. *Atlas do meio físico do Município do Jaboatão dos Guararapes. Estado de Pernambuco*. Recife: CPRM/FIDEM. 1997, 26p.
6. Andrade, M. C. (Coord.) *Atlas Escolar de Pernambuco Espaço Geo-histórico e cultural*; Ed. Grafset, João Pessoa, 1999, 112p.
7. CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. *Resoluções Conama*.
8. Companhia Pernambucana de Controle da Poluição Ambiental e de Administração dos Recursos Hídricos. Manual de Procedimento, monitoramento da qualidade do ar: CPRH/GTZ, 1995.
9. Bataglia, O. C.; Furlani, A. M. C.; Teixeira, J. P. F.; Furlani, P. R.; Gallo, J. R. *Bol. Técnico do Inst. Agrônomo de Campinas*, **1983**, **78**.
10. Carvalho, F. G.; Jablonski; Teixeira, E. *C. Química Nova*. **2000**, *23*(5), 614.
11. Morillo, A. Albornoz, A. Socorro, E. 1997. Niveles de plomo, vanadio, níquel, calcio y carbon en partículas totales suspendidas en la atmósfera de los municipios Maracaibo y San Francisco, Estado Zulia, Venezuela (1996). In: **Proceedings of IV Interamerican Conference on Environmental Issues**, vol. I. Ed. Roger J. Carrillo. Editora Universidad Simón Bolívar, p. 81 – 91.
12. Steven, H. C.; Mulawa, P. A. Balli, J. Donase, C.; Weibel, A.; Sagebiel, J. C. *Environ. Sci. Technol.* **1997**, *31*, 3405



**5.2 *Cladonia verticillaris* (Raddi.) Fr., COMO BIOMONITOR DA  
CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS EM ÁREA SOB A  
INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE EMISSÃO DE  
POLUENTES ATMOSFÉRICOS**

**Rita Alves Silva, Eugênia C. Pereira, Nicácio Henrique da Silva,  
Fernando de Oliveira Mota Filho**

***Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. COMO BIOMONITOR DA CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS EM ÁREA SOB A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FONTES DE EMISSÃO DE POLUENTES ATMOSFÉRICOS<sup>1</sup>**

Rita Alves Silva<sup>2</sup>

Eugênia C. Pereira<sup>3</sup>

Fernando de Oliveira Mota-Filho<sup>3</sup>

Nicácio Henrique da Silva<sup>4</sup>

**RESUMO** – (*Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. como biomonitor da concentração de metais pesados em área sob a influência de diferentes fontes de emissão de poluentes atmosféricos). Concentrações de Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Pb, Cr, Cd e Ca foram determinadas no líquen *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. Os exemplares da espécie transplantada de tabuleiros arenosos costeiros localizado no município de Mamanguape, Paraíba, Nordeste do Brasil, foram utilizados para biomonitoramento ativo em dois pontos distintos do Distrito de Jaboatão, Mesorregião Metropolitana do Recife, Pernambuco. Amostras foram analisadas no início do experimento e após 12 e 18 meses de exposição ao ambiente. O material foi submetido a análise para determinação de elementos traço (metais pesados) via ICP-AES. Os resultados obtidos demonstraram altas concentrações de Ca, Fe e Zn, sobretudo na Estação Metrô, área de grande influência de tráfego de automotores. Os demais elementos apresentaram menores teores, no entanto significativos. A Estação CHESF, mais afastada do centro da cidade, apresentou baixos teores de elementos, exceto o Zn. Os registros deste elemento para tal ponto foram atribuídos às usinas de açúcar e indústria de papel da vizinhança. Em nenhum dos pontos avaliados o Cd foi detectado. As concentrações de elementos traço obtidas ao longo do período de exposição, apresentam características bem definidas em relação à área de abrangência dos pontos de medição, indicando a região central de Jaboatão-PE como área de maior agressividade de ação para poluentes atmosféricos, configurando a eficácia de resposta da espécie como bioparâmetro de análise para o diagnóstico de toxicidade do ambiente.

**Palavras-chaves** – *Cladonia verticillaris*, líquen, bioindicadores, biomonitores, poluição atmosférica, metais pesados.

**ABSTRACT** – (*Cladonia verticillaris* as biomonitor of heavy metal in area submitted to different sources of atmospheric pollutants). Concentrations of Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Pb, Cr, Cd e Ca were determined in the lichen *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. The species was transplanted from sandy soils on low land, Savannah like vegetation (tabuleiros), in Mamanguape County, Paraíba, Northeastern of Brazil, and used for active biomonitoring of two distinct areas of Jaboatão, Metropolitan Region of Recife, Pernambuco, Brazil. The samples were analyzed at the start, 12 and 18 months of experiment. The material was submitted to determination of trace elements (heavy metals) through ICP-AES. The results showed high concentrations of Ca, Fe and Zn, mainly in the subway station, where the automobile traffic is very intense. The other elements showed lowest contents, however significant. The CHESF station, far from the downtown, presented low amount of elements, except for Zn. The registers of this element in this place were attributed to the sugar cane and paper industries in the neighbors. None of the evaluated areas showed any occurrence of Cd. The concentration of trace elements during the time course of exposition, presented well defined characteristics in relation to the covering area in the local of measuring. This indicated that the central part of Jaboatão is exposed to highest action of pollutants, and confirms the efficacy of the species for diagnosis of environmental toxicity.

**Key words** – *Cladonia verticillaris*, lichen, bioindicators, biomonitors, air pollution, heavy metals.

<sup>1</sup>Parte de dissertação de Mestrado do primeiro autor

<sup>2</sup>Curso de Mestrado em Gestão e Políticas Ambientais, Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Geográficas, CFCH, UFPE

<sup>4</sup>Departamento de Bioquímica, CCB, UFPE

Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n, 6º andar, Cidade Universitária, 50.740-530, Recife - PE, Brasil.

e-mail: [silva\\_rita@hotmail.com](mailto:silva_rita@hotmail.com), [arruda@hotlink.com.br](mailto:arruda@hotlink.com.br)

## INTRODUÇÃO

Os líquens, como organismos simbióticos excepcionais, são encontrados em todas as regiões do mundo e, geralmente, em áreas submetidas a condições climáticas severas. Mesmo com a capacidade de sobreviverem nos mais diferentes ambientes eles são muito sensíveis à poluição do ar atmosférico (Seaward 1993). São utilizados como biondicadores porque, diferentemente dos vegetais superiores, não dependem de um sistema radicular para absorção de nutrientes, possuem cutícula reduzida ou, em geral, ausente, e incorporam com facilidade altos níveis de poluentes (Pilegaard 1978).

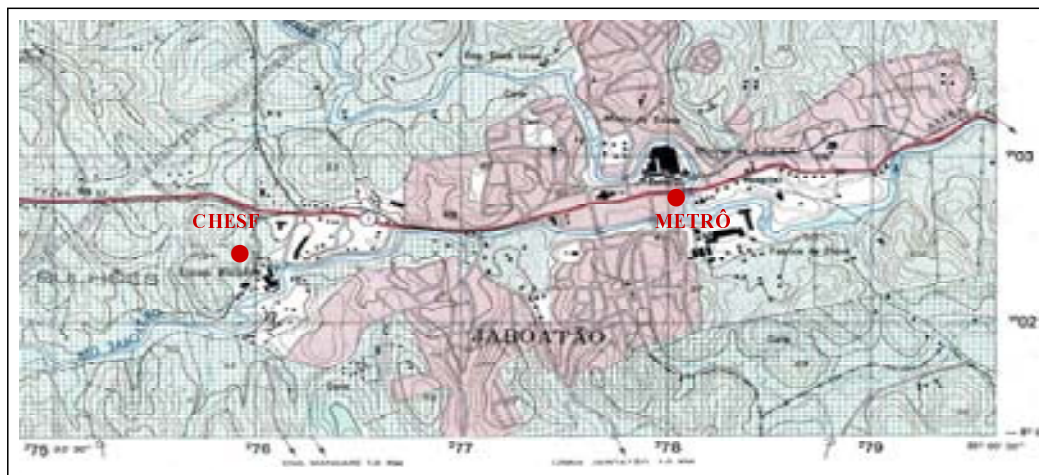
A pureza do ar atmosférico é fator crucial à sobrevivência dos líquens, já que estes se alimentam higroscopicamente, fixando elementos nele presentes, inclusive íons metálicos e elementos radioativos. Por isso, são utilizados como indicadores biológicos de poluição atmosférica (Nieboer *et al.* 1972; Seaward 1977), funcionando como filtros altamente desenvolvidos no monitoramento do ar e também da chuva (Hawksworth 1990).

A contaminação do ar por metais pesados, como arsênio (As), cádmio (Cd), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn) mercúrio (Hg) e chumbo (Pb), dentre

outros, ocorre a partir de emissões de gases e partículas derivadas de processos de combustão de carburantes fósseis (carvão e derivados de petróleo) usados pela indústria ou veículos automotores, bem como dos processo de mineração, refino, fundição de metais, galvanoplastias, metalúrgicas, etc., onde são utilizadas altas temperaturas. Considerando que possuem baixa pressão de vapor, e sendo os elementos pouco voláteis, esses processos elevam consideravelmente a emissão desses contaminantes na atmosfera (Teixeira & Guerra 1999).

Considerando a diversidade de ocorrência de fontes de emissões atmosféricas, por meio de fluxos veiculares, processos de urbanização, instalação de distritos industriais, etc., os centros urbanos são ambientes passíveis de contaminação por metais. Neste sentido este trabalho objetiva a análise das concentrações de metais pesados a partir da exposição de *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr., transplantada para dois pontos de monitoramento mecânico (Estação Metrô e Estação CHESF), no distrito de Jaboatão, localizada na Mesorregião Metropolitana do Recife – PE, para avaliação da eficiência da espécie como monitor biológico da qualidade do ar.





**Figura 2:** Localização das estações de amostragem Metrô e CHESF em Jabotão-PE. Carta SUDENE, 1974 – 7-C. Folha SC.25 V-A-II-2-NE. Escala 1:25.000

### **Coleta e armazenamento dos biomonitores**

Para todas as etapas do trabalho foram utilizados exemplares *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. (Figura 3), ocorrente sobre solos arenosos de tabuleiros (cerrados), coletada na Reserva Biológica Guaribas (REBIO), Unidade de Conservação (UC) situada no município de Mamanguape, Estado da Paraíba, Brasil, criada pelo Governo Federal (Decreto nº 98.884-25/01/1990). Em atendimento aos objetivos de sua criação, nesta UC não é permitido o acesso, sem prévia autorização ou qualquer intervenção antropogênica, não sendo observadas fontes potenciais de emissão de poluentes em seu entorno. Esta situação de ausência de fontes potenciais para poluentes atmosféricos garante, ao máximo, as condições naturais para o desenvolvimento das espécies líquênicas.

Para a montagem dos experimentos em campo, foi coletado o solo que estava abaixo dos tufos líquênicos.

O material foi acondicionado à temperatura ambiente ( $28 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ), em sacos de papel, até o momento de sua utilização.

### **Montagem dos experimentos de biomonitoramento**

*Exemplares de Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr., coletada juntamente com o substrato (solo) foi transplantada em recipientes para as estações de monitoramento da qualidade do ar da cidade de Jabotão dos Guararapes, considerando amostras de líquens coletados na área II da Rebio Guaribas com coordenadas  $06^{\circ}44'26''\text{S}$   $35^{\circ}08'17''\text{W}$  (Fig 4), ponto com ausência de fontes de poluição em sua proximidade. Para a avaliação da situação de comprometimento do líquen pela ação



**Tabela 1:** Parâmetros de comprimentos de onda ( $\lambda$ ) e limites de detecção (L.D.) para quantificação de elementos em Espectrômetro de Emissão Atômica por Plasma Indutivamente Aplicado –ICP/AES.

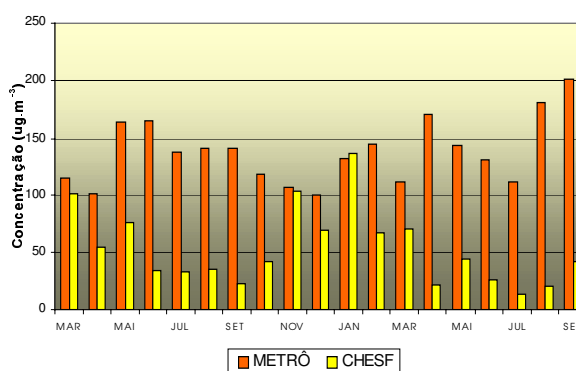
Elementos	$\lambda$ (nm)	L.D ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )
Ferro (Fe)	259,94	0,0042
Cádmio (Cd)	227,00	0,0021
Chumbo (Pb)	220,35	0,0096
Cobre (Cu)	324,75	0,0177
Cromo (Cr)	267,72	0,0021
Manganês (Mn)	259,40	0,0018
Níquel (Ni)	232,00	0,0012
Zinco (Zn)	213,90	0,0036
Cálcio (Ca)	317,90	0,0555

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que as duas áreas de exposição, Estação Metrô e Estação CHESF, apresentaram concentrações diferenciadas para todos os metais quantificados em *C. verticillaris*. Validando os dados obtidos, verificou-se que a Estação Metrô apresenta maior ação dos poluentes atmosféricos, tanto no que se refere ao teor de Poeira Total em Suspensão (PTS), como nos dados relativos às maiores concentrações mensais, obtidos nas medições realizadas nos pontos implementados pela CPRH (Figura 5), onde estão contidos poluentes como metais,  $\text{SO}_2$  e  $\text{NO}_x$ .

Atribui-se tal resultado ao fato de que este ponto de amostragem está localizado numa região central de Jaboatão/PE, sob a influência potencial direta de emissões de poluentes provenientes do tráfego intenso de fontes

veiculares e indústrias. Por isso, apresenta concentrações muito superiores às registradas na Estação CHESF, localizada em área com emitente, cuja característica operacional sazonal (novembro a março), favorece, no período de paralisação, o registro de valores de PTS



significativamente inferiores.

**Figura 5:** Concentrações de Poeira Total em Suspensão – PTS, determinada na cidade de Jaboatão/PE, no período de Março/2000 a setembro/2001. Fonte: CPRH, dados não publicados

Dentre os elementos analisados neste estudo o Fe, Mn, Ni, Ca, Pb e Cr



apresentaram concentrações elevadas e de forma crescente na Estação Metrô, sugerindo uma retenção progressiva ao longo do período. Enquanto isso, na Estação CHESF, ocorre um maior acúmulo no primeiro ano de exposição, seguido de redução significativa, sugerindo perda potencial do elemento pelo biomonitor. Destaque-se que o ferro, na Estação CHESF, na última amostra coletada de *C. verticillaris*, apresentou valores inferiores aos dos níveis iniciais. A referência inicial para os dois pontos de amostragem foi março/2000.

No que concerne ao cobre (Cu), mesmo apresentando concentrações mais elevadas, a Estação Metrô apresentou a mesma tendência de diminuição, após o primeiro ano, da observada na Estação CHESF. Esta redução na bioacumulação de cobre pode ser explicada por este integrar os mecanismos fisiológicos da *C. verticillaris*.

Quando o elemento de referência é o zinco, observa-se que, na Estação Metrô este elemento apresenta um comportamento de acrescência no primeiro ano, e de redução na amostra do décimo oitavo mês, embora os dados se apresentem acima dos valores de referência de março/2000.

Dos elementos quantificados o Zn foi o único que apresentou características diferenciadas do ponto de vista de

bioacumulação por *C. verticillaris*, considerando que os resultados obtidos na Estação Metrô apresentaram concentrações bem mais baixas, além de redução gradativa após 18 meses de exposição, comparativamente aos resultados detectados para o mesmo metal na Estação CHESF.

Os resultados apresentados podem ser justificados em função da localização de cada ponto de exposição, associada ainda às influências diretas de emissões de poluentes industriais em período sazonal. É possível também sugerir que os elementos quantificados sejam provenientes das emissões resultantes da operação do metrô de superfície e do forte trânsito veicular. Isto comprova a maior agressividade da área central de Jaboatão –PE, comparativamente à região periférica, corroborando esta avaliação aos dados registrados no monitoramento efetuado pela CPRH na região.

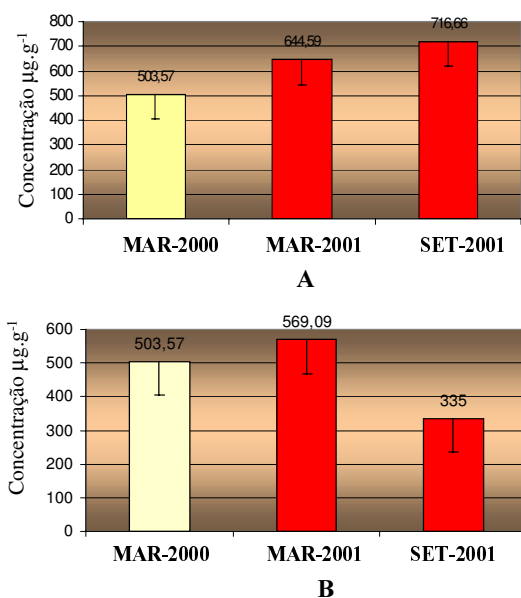
Pirela (1994) apud Morilo *et al.* (1997) cita que o Pb na atmosfera é gerado, na maioria das vezes, por combustão de derivados de petróleo; já o Ni é procedente dos óleos pesados, o Ca das rochas calcárias, ou dos materiais de construção. Outros metais são associados às atividades industriais. Os postulados do autor enquadram-se com a situação das áreas de estudo, sobretudo na parte mais central do distrito de Jaboatão, onde



localiza-se a Estação Metrô, e o tráfego de automotores é bastante intenso. Os resultados estão também de acordo com Fernandez & Ramirez (1997), que estudaram elementos dispersos na atmosfera, tomando como referência para análise o ar de túneis e vales da cidade de Caracas, Venezuela. Os autores consideraram que elementos como Ca, Mg, Al, Na, K, Fe e Ni eram procedentes de rochas da área de estudo, enquanto o Pb, Zn e Cu eram de origem antrópica, sobretudo por queima de combustíveis. Vale salientar que a presença de Pb em PTS, sobretudo em zonas urbanas, é fato preocupante. Molto *et al.* (1995) referem que este elemento em cidades tende a aumentar sua concentração de 10 a 100 mil vezes, do que quando encontrado em condições naturais.

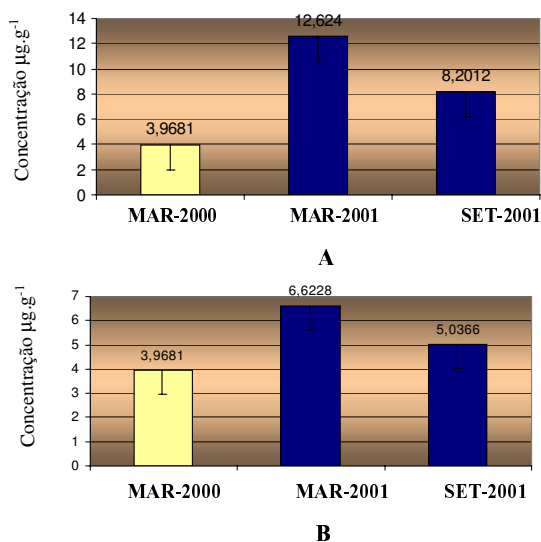
Em relação ao acúmulo de metais no líquen, este é reconhecido como bioacumulador de elementos dispersos na

atmosfera, inclusive radionuclídeos (Seaward 1977). Por outro lado, considerando que elementos inorgânicos participam das rotas metabólicas dos seres vivos, é possível que parte dos elementos analisados tenham sido utilizados por *C. verticillaris* na biossíntese de seus metabólitos, já que a sobrevivência dos líquens depende muito mais dos elementos contidos no ar atmosférico (são poiquilohídricos), que os nutrientes encontrados em seu substrato. A explicação da bioacumulação pode ser dada em função dos altos teores de PTS e metais associados que são registrados na Estação Metrô, onde mesmo parte dos elementos sendo utilizados, eles estão em teores suficientes para acúmulo, além de um menor requerimento específico do líquen por alguns dos elementos analisados.



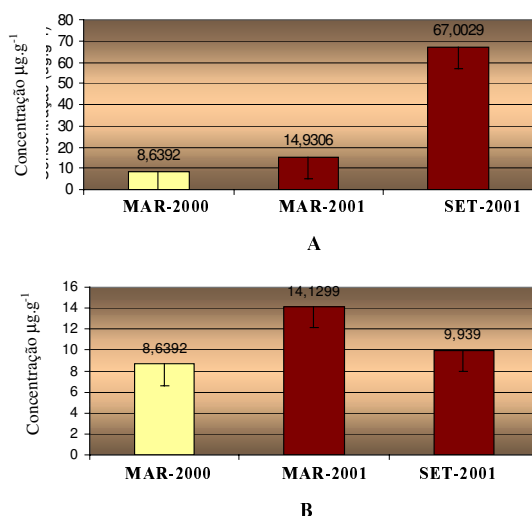
**Figura 6:** Concentrações de Ferro (Fe) determinadas em amostras de *C. verticillaris*, expostas em Jaboatão-PE

**Legenda:** A - Estação Metrô; B - Estação CHESF



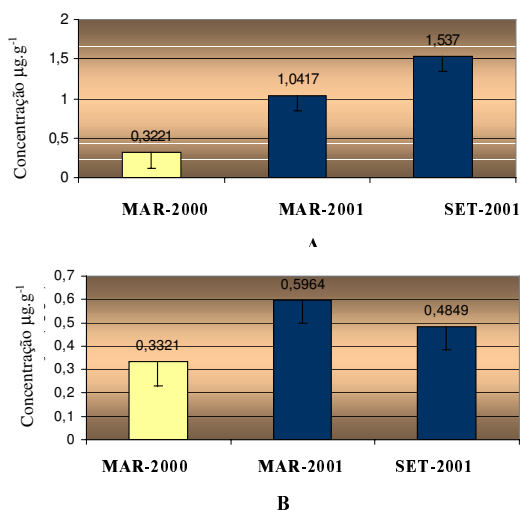
**Figura 7:** Concentrações de Cobre (Cu) determinadas em amostras de *C. verticillaris*, expostas em Jaboatão-PE

**Legenda:** A - Estação Metrô; B - Estação CHESF



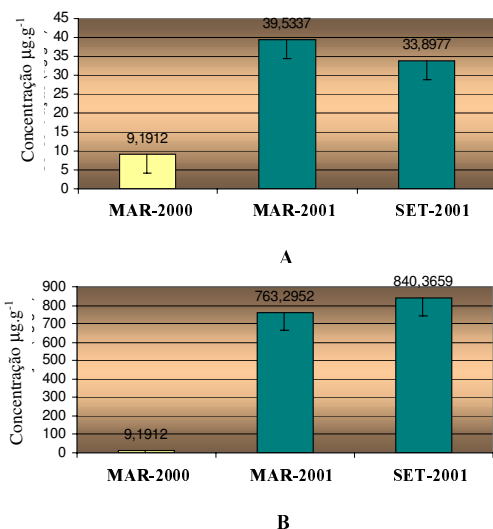
**Figura 8:** Concentrações de Manganês (Mn) determinadas em amostras de *C. verticillaris*, expostas em Jaboatão-PE

**Legenda:** A - Estação Metrô; B - Estação CHESF



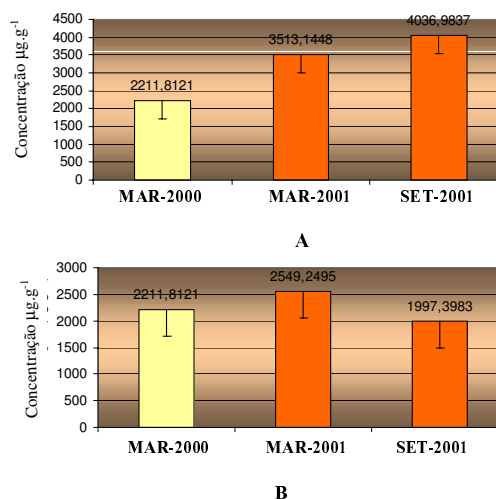
**Figura 9:** Concentrações de Níquel (Ni) determinadas em amostras de *C. verticillaris*, expostas em Jaboatão-PE

**Legenda:** A - Estação Metrô; B - Estação CHESF



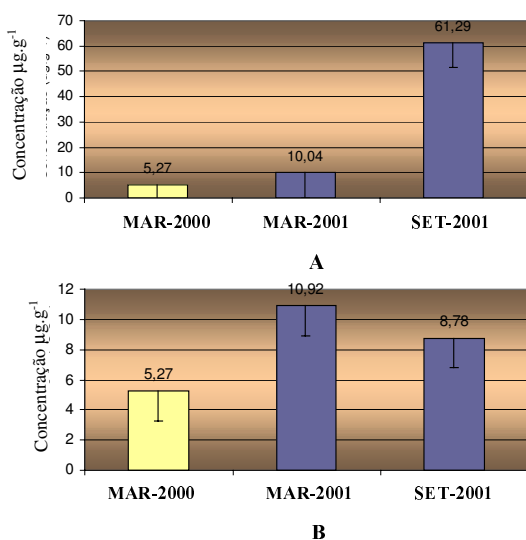
**Figura 10:** Concentrações de Zinco (Zn) determinadas em amostras de *C. verticillaris*, expostas em Jaboatão-PE

**Legenda:** A - Estação Metrô; B - Estação CHESF

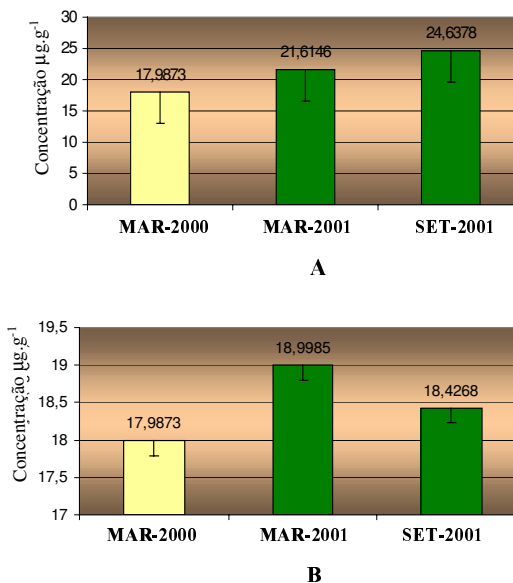


**Figura 11:** Concentrações de Cálcio (Ca) determinadas em amostras de *C. verticillaris*, expostas em Jaboatão-PE

**Legenda:** A - Estação Metrô; B - Estação CHESF



**Figura 12:** Concentrações de Chumbo (Pb) determinadas em amostras de *C. verticillaris*, expostas em Jaboatão-PE



**Figura 13:** Concentrações de Cromo (Cr) determinadas em amostras de *C. verticillaris*, expostas em Jaboatão-PE **Legenda** A - Estação Metrô; B - Estação CHESF

## CONCLUSÃO

A partir da análise dos resultados obtidos, pode-se concluir que *C. verticillaris*, utilizada como biomonitor em Jaboatão – PE, apresentou bioacúmulo dos elementos analisados na Estação Metrô, confirmando dados de monitoramento mecânico executado pela CPRH.

Quanto aos elementos analisados foi identificada total ausência de Cd e concentrações elevadas de Ca, Fe e Zn no ambiente, principalmente na Estação Metrô, sugerindo a influência direta das emissões oriundas do tráfego (veículos automotores e metrô de superfície) além das emissões da indústria de papel e papelão, comparadas à Estação CHESF que apresenta influência sazonal para emissões industriais em função da operação da usina de açúcar, com pouca influência de outras emissões atmosféricas. Os demais elementos Mn, Ni, Cr, Pb e Cu, apresentaram concentrações inferiores, porém significativas, com variações características para as áreas de exposição, indicando a região central de Jaboatão - PE como área de maior ação de poluentes tóxicos.

O Zn foi o único elemento bioacumulado na Estação CHESF, demonstrando comportamento inverso dos demais elementos detectados na Estação

Metrô. Isto foi justificado pelo baixo teor desses poluentes na CHESF, e uma provável utilização desses elementos em rotas metabólicas de *C. verticillaris*.

É provável que as variações de pluviosidade não tenham influenciado de forma determinante na dispersão e bioacúmulo de metais pesados no líquen avaliado.

## AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. Reserva Biológica Guaribas – Mamanguape / PB. A Companhia Pernambucana de Meio Ambiente – CPRH. Gerência de Laboratório. A Companhia Pernambucana de Saneamento e Abastecimento de Água – COMPESA. Gerência de Controle de Qualidade. A Universidade Federal de Pernambuco. Departamento de Geologia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, M.C. (Coord.). 1999. **Atlas Escolar. Pernambuco Espaço Geohistórico e cultural**. Ed. Grafset, João Pessoa. 112p.
- Assunção, P. R. 1997.. **Atlas do meio físico do Município do Jaboatão dos**

**Guararapes. Estado de Pernambuco.**  
Recife: CPRM / FIDEM. 26p.il.

Barkman, J.J. 1958. Phytosociology and ecology of cryptogamic epiphytes. apud Seaward, M.R.D. (1993) Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies. **Environ. Rev** 1:73-91.

Companhia Pernambucana de Controle da Poluição Ambiental E De Administração dos Recursos Hídricos. **Manual de Procedimento, monitoramento da qualidade do ar** : CPRH/GTZ, 1995.

Cunha, S.; Guerra A. J. T. 1999. **Avaliação e Perícia Ambiental**. Rio de Janeiro; Bertrand Brasil. 266p.

Molto, J.; Viana, E.; Font, G. 1995. The effect of urban pollution on lead levels in air of the city of Valencia (Spain). **The Science of the Total Environment**, 162: 111 – 117.

Morillo, A. Albornoz, A. Socorro, E. 1997. Niveles de plomo, vanadio, níquel, calcio y carbon en particulas totales suspendidas en la atmósfera de los municipios Maracaibo y San Francisco, Estado Zulia, Venezuela (1996). In: **Proceedings of IV Interamerican Conference on Environmental Issues**,

vol. I. Ed. Roger J. Carrillo. Editora Universidad Simón Bolívar, p. 81 – 91.

Nieboer, E.; Ahmed, H.M.; Puckett, K. J.; Richardson, D.H.S. 1972. The heavy metal content of lichens in relation to distance from a nickel smelter in Sudbury, Ontario. **Lichenologist**, 5: 292-304.

Pilegaard, K. 1978. Airborne metals and SO<sub>2</sub> monitored by epiphytic lichens in an industrial area. **Environ. Pollut.** 17:81-91.

Pirela, D. 1994. **Composición elemental delas particulas suspendidas en la atmósferade la región occidental de la cuenca del Lago de Maracaibo**. Monografia de Bacharelado en Química, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Seaward, M.R.D. 1977. **Lichen Ecology**. Academic Press, Inc. London. 550p.

Seaward, M.R.D. 1993. Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies. **Environ.Rev.** 1:73-91.

### **5.3 EFEITO DO ACETATO DE CHUMBO SOBRE O LÍQUEN *Cladonia verticillaris* (Raddi.) Fr. ANALISADO EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO**

**Rita Alves Silva, Eugênia C. Pereira, Nicácio Henrique da Silva,  
Fernando de Oliveira Mota Filho**

### **5.3 EFEITO DO ACETATO DE CHUMBO SOBRE O LÍQUEN *Cladonia verticillaris* (Raddi.) Fr. ANALISADO EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO**

**Rita Alves Silva, Eugênia C. Pereira, Nicácio Henrique da Silva,  
Fernando de Oliveira Mota Filho**

### **5.3 EFEITO DO ACETATO DE CHUMBO SOBRE O LÍQUEN *Cladonia verticillaris* (Raddi.) Fr. ANALISADO EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO**

**Rita Alves Silva, Eugênia C. Pereira, Nicácio Henrique da Silva,  
Fernando de Oliveira Mota Filho**



### **5.3 EFEITO DO ACETATO DE CHUMBO SOBRE O LÍQUEN *Cladonia verticillaris* (Raddi.) Fr. ANALISADO EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO**

**Rita Alves Silva, Eugênia C. Pereira, Nicácio Henrique da Silva,  
Fernando de Oliveira Mota Filho**

## EFEITO DO ACETATO DE CHUMBO SOBRE O LÍQUEN *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr., ANALISADO EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO<sup>1</sup>

Rita Alves Silva<sup>2</sup>

Eugênia C. Pereira<sup>3,5</sup>

Nicácio Henrique da Silva<sup>4</sup>

Fernando de Oliveira Mota-Filho<sup>3</sup>

**RESUMO** - *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. coletada em solos arenosos de tabuleiros costeiros (cerrados) no município de Alhandra, Estado da Paraíba, foi submetida a exposição, sob condições de laboratório, a borrifagem diária com soluções de acetato de chumbo (0,1% e 1,0%), ou de água deionizada como parâmetro de controle do experimento. Amostras coletadas após 24h, 48h, 5 dias e 10 dias, tiveram seus extratos orgânicos submetidos a ensaios de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Cromatografia de Camada Delgada (CCD) e análise da estrutura externa por Microscopia Eletrônica de Varredura. As mesmas amostras foram analisadas quanto à concentração de íons para os elementos Fe, Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Zn e Ca, via ICP/AES. Os resultados obtidos, correlacionados à produção de substâncias fenólicas, evidenciaram a produção do ácido protocetrárico, e existência de substâncias intermediárias da biossíntese do ácido fumarprotocetrárico, com prejuízo da sua produção e da atranorina. A análise de superfície demonstrou, ao final de 10 dias, danos à estrutura externa do líquen, e exposição das hifas corticais. A quantificação dos íons demonstrou uma variação de concentrações para todos os elementos estudados, em especial uma bioacumulação progressiva para chumbo (2,0 - 21.860 µg.g<sup>-1</sup>). Isto ratifica os dados obtidos em ambiente natural, que indicam a eficiência de *C. verticillaris* como biomonitor da poluição atmosférica.

**Palavras-chave** – *Cladonia verticillaris*, líquen, biomonitores, poluição atmosférica, acetato de chumbo

**ABSTRACT** – (Effect of lead acetate on the lichen *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr analysed under laboratoril conditions) *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. collected in sandy soils of savannahs (cerrado) of Alhandra County, State of Paraíba, Brazil, was submitted, under laboratorial conditions, to dayli sprays of lead acetate solutions (0,1% and 1,0%), or deionized water, as parameter of experiment control. Samples collected after 24h, 48h, 5 and 10 days, were submitted to organic extraction, and analysed by High Performace Liquid Chromatography (HPLC), Thin Layer Chromatography (TLC), and Scanning Electron Microscopy (SEM). The same samples were analyzed in relation to the ions concentration for the elements Fe, Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Zn and Ca, through ICP/AES. The obtained results, in correlation to the production of phenolic substances, evidenced the production of the protocetraric acid and existence of some intermediary substances of fumarprotocetraric acid biosynthesis with damage of its production, as well as atranorin. The analysis of external surface of the species demonstrated, at the end of 10 days, damages in the structure, and exhibition of the cortical hiphae. The quantitative ions analysis demonstrated a variation of concentrations for all the studied elements, especially, a progressive bioaccumulation of lead (2,0 - 21.860 mg.g<sup>-1</sup>). These results ratifies the data obtained in the environment that indicates the efficiency of *C. verticillaris* as biomonitor of air pollution.

**Key words** – *Cladonia verticillaris*, lichen, biomonitors, air pollution, lead acetate.

<sup>1</sup>Parte de dissertação de Mestrado em Gestão e Políticas Ambientais, Universidade Federal de Pernambuco.UFPE

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Geográficas, CFCH, UFPE

<sup>3</sup>Departamento de Bioquímica, CCB, UFPE

<sup>5</sup>Bolsista de Pesquisa do CNPq

e-mail : silva\_rita@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

Os líquens, organismos simbióticos, são compostos por um fungo (micobionte) e uma ou mais algas (fotobionte), que resultam em um talo de estrutura estável (Nash, 1996).

Os ácidos liquênicos apresentam grupos polares, a exemplo de: OH, COOH, e CHO, que favorecem a complexação de cátions (Syers, 1969). Estes são necessários ao metabolismo do líquen, e podem ser extraídos tanto do substrato de crescimento, como do ar atmosférico (higroscopicamente), ou de precipitações pluviométricas.

Esta capacidade de complexação com íons inorgânicos e o acúmulo de elementos atmosféricos, inclusive de poluentes, habilita os líquens como biomonitores da qualidade do ar (Seaward 1977).

Experimentos dessa natureza vêm sendo conduzidos a partir da avaliação de biomonitores passivos (que existem na área de estudos), ou os considerados ativos (transplantados de pontos com baixa ou nenhuma incidência de poluentes). Via de regra, experimentos complementares são também conduzidos sob condições controladas em laboratório, para que se conheça o mecanismo de ação e a dimensão dos danos que o contaminante exerce sobre o biomonitor. Esses tipos de experimentos são importantes, pois os dados obtidos no ambiente recebem influência de seus fatores bióticos e abióticos.

Face a capacidade dos líquens em acumular elementos em níveis superiores às suas necessidades metabólicas, o trabalho apresentado objetiva a análise fisiológica e a quantificação de metais pesados em *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr., usando solução de acetato de chumbo como material contaminante.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### • Coleta e armazenamento dos biomonitores e solo

Para todas as etapas do trabalho foi utilizada *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr., (figura 1) ocorrente sobre solos arenosos de tabuleiros costeiros (cerrados) do município de Alhandra, Estado da Paraíba, na proximidade da BR 101, cuja localização não apresenta fontes potenciais de poluentes atmosféricos.



**Figura 1:** *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. (Raddi) Fr. Vista geral do tufo liquênico sobre substrato natural - solo

Foi também coletado o solo sob os tufos de líquens para utilização na montagem dos experimentos. O material foi acondicionado à temperatura ambiente, em sacos de papel, até o momento de sua utilização.

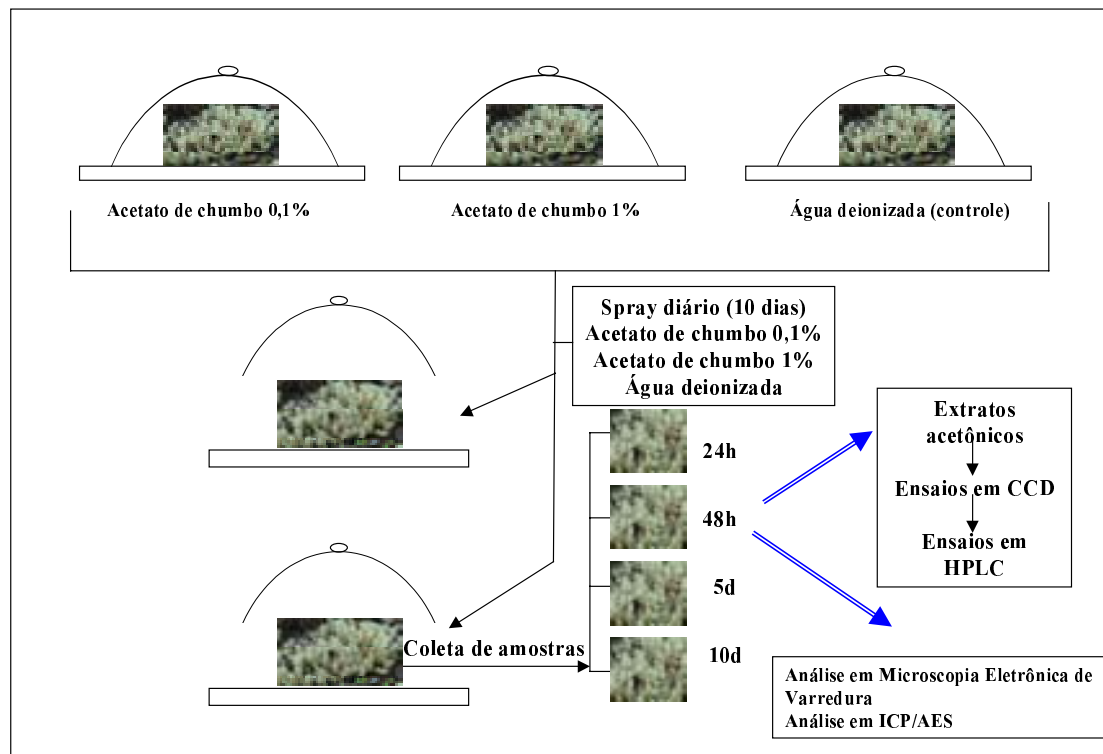
### • Montagem dos experimentos em laboratório

Tufos com cerca de 10g de *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr., foram dispostos sobre 320 g do seu substrato (solo) e acondicionados em recipientes com cúpula transparente, localizados sob condições naturais de luminosidade, ou seja, próximo a janela de vidro fechada em posição leste-nascente com 12h aproximadas de luz e

escuro, alternadamente. O material, em três recipientes distintos, no período de 10 dias, foram borrifados diariamente a 20 cm de altura com 4 ml de soluções de acetato de chumbo (PbOAc), ou de água deionizada como controle. Amostras para análise foram retiradas após 24h, 48h, 5 dias e de 10 dias de exposição ao PbOAc, sempre coletadas

em três pontos diferenciados nos recipientes, alternando entre as laterais e centro (Figura 2).

O material coletado foi acondicionado em envelopes de papel e mantidos à temperatura ambiente ( $28 \pm 3^\circ\text{C}$ ) até o momento das análises.



**Figura 2:** Aplicação do acetato de chumbo em *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr sob, em condições laboratoriais. Esquema do experimento

#### • Determinação de metais

O material coletado foi seco em mufla por 2 (duas) horas à  $135^\circ\text{C}$ . A preparação da amostra foi baseada no método da digestão ácida de matéria orgânica, utilizando o Digestor de Amostras por Microondas, Marca Provecto Analítica, Modelo DGT100 Plus. Amostras homogeneizadas (0,2g), em duplicata, foram depositadas em tubo de teflon, adicionados 4,0 ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado e 0,5 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a

30% e levadas a digestão por 10min/400WA. A solução digerida foi filtrada e diluída a 25 ml com água destilada purificada no sistema MilliQ/Millipore ( $0,35 \mu\text{S cm}^{-1}$ ). A determinação das concentrações dos elementos traços foi realizada via Espectrômetro de Emissão Atômica por Plasma Indutivamente Aplicada (ICP-AES) da marca TJA, modelo IRIS/AP, sistema óptico tipo Echelle e potência de 1.150 KW, cujas amostras

introduzidas em plasma de argônio, permitiu a determinação, simultânea, da concentração de diversos metais-traço, na ordem de ppb, em curto espaço de tempo. Os parâmetros de comprimento de onda e limites de detecção do ICP-AES utilizados na determinação dos metais-traço (ferro, cádmio, chumbo, cobre, cromo, manganês, níquel, zinco e cálcio) em *Cladonia verticillaris* são apresentados na tabela 1. A

concentração final dos elementos foi calculada em base seca e expressa em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  (ppm). Os valores correspondentes às maiores concentrações registradas foram expressos nos resultados finais, e para os resultados abaixo dos limites de detecção, foi considerado o valor correspondente a zero, para cada amostra.

**Tabela 1:** Parâmetros de comprimentos de onda ( $\lambda$ ) e limites de detecção (L.D.) para quantificação de elementos em Espectrômetro de Emissão Atômica por Plasma Indutivamente Aplicado –ICP/AES.

Elementos	$\lambda$ (nm)	L.D ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )
Ferro (Fe)	259,94	0,0042
Cádmio (Cd)	227,00	0,0021
Chumbo (Pb)	220,35	0,0096
Cobre (Cu)	324,75	0,0177
Cromo (Cr)	267,72	0,0021
Manganês (Mn)	259,40	0,0018
Níquel (Ni)	232,00	0,0012
Zinco (Zn)	213,90	0,0036
Cálcio (Ca)	317,90	0,0555

#### • Ensaio de Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Extratos orgânicos de amostras de *C. verticillaris* expostas ao acetato de chumbo (0,1% e 1,0%), e do material controle, foram extraídas a frio com acetona. Os extratos foram evaporados à temperatura ambiente ( $28 \pm 3^\circ\text{C}$ ), e aplicados em cromatoplaças de sílica gel Merck F<sub>245</sub> + 366, juntamente com padrões de atranorina (ATR) e ácido fumarprotocetrárico (FUM), principais constituintes de *C. verticillaris*.

As placas foram desenvolvidas em sistema unidimensional de solventes A (tolueno: dioxano: ácido acético, 180:45: 5, v/v), conforme Culberson (1972).

Após evaporação dos solventes, a placa foi revelada sob luz UV curta e longa, posteriormente pulverizada com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 10%, e aquecida a 100 °C por 1h, para reação de coloração das bandas.

- **Ensaio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

Os mesmos extratos e padrões utilizados para os ensaios de CCD foram dissolvidos em éter a 1mg/mL para os primeiros e 0,1mg/mL para os segundos, e injetados em cromatógrafo líquido Hitachi, acoplado a um detector de ultravioleta a 254nm.

Foram utilizados como parâmetros de análise, coluna de fase reversa C18, fase móvel, metanol/ água/ ácido acético (80: 19,5: 0,5, v/v), fluxo 1,0 mL.min<sup>-1</sup>, pressão 84 atm, atenuação 6, temperatura ambiente (28 ± 3°C), conforme metodologia de Legaz & Vicente (1983).

Foram utilizados padrões de substâncias puras (ATR; FUM) e interpretados segundo tempo de retenção das substâncias na coluna, analisando a área do pico, que determina a concentração de cada uma no extrato orgânico obtido.

- **Análise da estrutura externa de *C. verticillaris***

Amostras do material exposto ao acetato de chumbo e controle foram montadas em suporte metálico, com o auxílio de fita adesiva dupla face revestida por carbono. Em seguida foram submetidas à metalização durante 1min em atmosfera de argônio, 0,1 mbar, no aparelho de “sputtering” (Balzers Union). O material resultante recoberto por uma camada de ouro de cerca de 20nm, foi observado em microscópio eletrônico de varredura (Marca Jeol, 5600-LV).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Em cromatograma (Figura 6) é possível assegurar que as amostras controle produziram o ácido fumarprotocetrárico e traços de atranorina, dados que confirmam o referido por Ahti *et al.* (1993). A CCD é

uma técnica qualitativa que permite tecer considerações sobre a composição química do líquen, com apoio das substâncias padrão e da reação de coloração das bandas. As amostras submetidas ao acetato de chumbo produziram como principal componente o ácido fumarprotocetrárico, no entanto as bandas a ele correspondentes foram mal evidenciadas, o que sugere uma falha na biossíntese destas substâncias. Pereira (1998) descreve a síntese da atranorina por células imobilizadas de *C. verticillaris* ao invés da produção do ácido fumarprotocetrárico, seu principal composto. Neste mesmo trabalho o autor cita a produção de substâncias intermediárias da biossíntese do referido composto (FUM), a citar, o ácido hipoprotocetrárico e seu aldeído. Tal fato justifica-se em função da dificuldade de contato entre os simbiontes, no momento do isolamento da célula liquênica. Isto dificulta o transporte de enzimas e cofatores entre os simbiontes, prejudicando a biossíntese completa, podendo vir a diminuir drasticamente o teor de fenóis da espécie. Isto pode ser constatado nas Fig. 3, 4 e 5. No caso da adição de um contaminante, é possível que ele tenha bloqueado a ação dessas enzimas, ou alguma etapa da via metabólica do acetato polimalonato, visto que o contaminante é à base de acetato, e a maioria das substâncias liquênicas são sintetizadas por esta via (Nash, 1996).

É possível também que a assimilação do acetato de chumbo tenha se dado de maneira correlata, visto que ao penetrarem na célula possam ter destruído as clorofilas e/ou os cloroplastos, prejudicando a fotossíntese, etapa inicial onde são elaborados os carboidratos pelo fotobionte que são repassados ao micobionte para a biossíntese das substâncias liquênicas.

O prejuízo na produção dos compostos fenólicos implica na desproteção do líquen contra as intempéries, e sugere um deslocamento de fenóis que estão na medula para o córtex, como mecanismo de defesa contra a ação de contaminantes.

As amostras controle (Figura 3), submetidas a água deionizada apresentam após 24 h picos de produção de substâncias liquênicas aos 5,5 min, que pode ser do ácido fumarprotocetrárico, e picos próximos ao padrão da atranorina, ou seja 31,92 min. Para o mesmo período nas amostras sob ação do acetato de chumbo (0,1% e 1,0%), detectaram-se picos de substâncias aos 3,56 min e 3,05 min respectivamente, sugerindo uma produção do ácido hipoprotocetrárico, e/ou de seu aldeído. Durante o experimento pode-se constatar uma redução drástica na produção de substâncias fenólicas e a total ausência de picos referentes ao ácido fumarprotocetrárico e atranorina. Isto ratifica a hipótese da biossíntese dos principais produtos de *C. verticillaris* prejudicada pela ação de agentes contaminantes, seja pelo impedimento de parte da fotossíntese, ou por inibição de alguma reação das etapas metabólicas. Para que o ácido fumarprotocetrárico seja elaborado, há necessidade do acoplamento de uma porção fumarato ao ácido protocetrárico, que depende da reação de condensação oxidativa. A continuidade da exposição levou à perda de produtividade do talo liquênico, visto que o teor de substâncias detectadas em função da concentração do acetato de chumbo (1,0%) foi muito reduzido, desde o primeiro dia do experimento (Figura 5).

A degradação gradual do ácido fumarprotocetrárico foi observada nos experimentos de CCD demonstrado na figura 6, sobretudo quando comparadas

as amostras controle às submetidas ao PbOAc.

As análises da estrutura superficial do líquen, quando submetido a condições severas de contaminação atmosféricas são mais perceptíveis, pois os danos podem ser observados sob vista desarmada, no entanto, por um período curto de experimentação, danos macroscópicos não são evidentes, e a observação sob microscopia eletrônica de varredura auxilia na avaliação dos danos causados por contaminantes, e de quanto curto espaço de tempo eles necessitam para ação. É possível observar tal fato (Figura 7 A e B) a partir da vista geral do talo de *C. verticillaris* tratado com água deionizada por 10 dias. Sua estrutura externa (Fig. 7, A) e o corte transversal com exposição das hifas (Fig. 7, B) demonstram a preservação do material biológico sob condições experimentais controladas. Isto é ratificado com a foto em maior aproximação, enfatizando sua superfície externa (Fig. 7, C e D). Por outro lado, ao final do experimento (10 dias), as amostras submetidas ao acetato de chumbo a 1% já demonstraram superfície altamente danificada (Fig. 7, G e H), no entanto os danos não eram observados em menor aumento (Fig. 7, E e F).

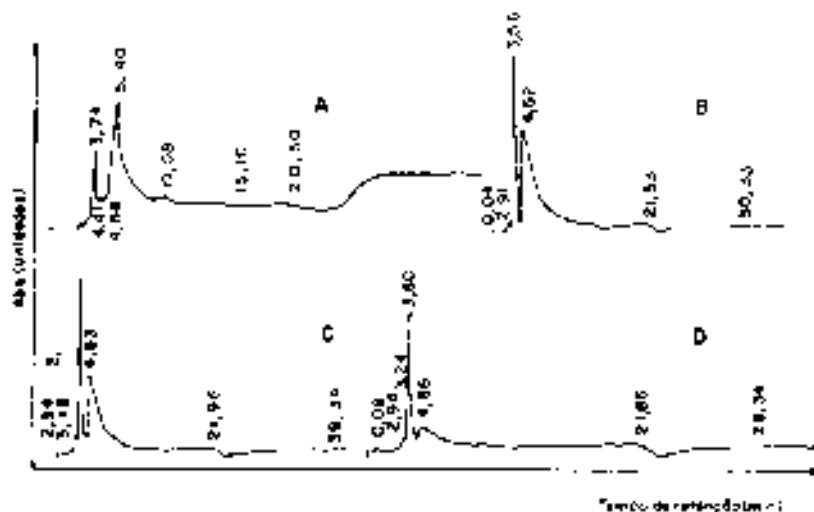
As figuras 8 a 16 referem-se à quantificação de elementos das amostras submetidas ou não ao PbOAc. Dos quantitativos observados, vale salientar que todos, à exceção do Ca e do Pb, mantiveram-se em níveis bastante baixos. Isto pode ser explicado face à dificuldade do líquen interagir com o ar ambiente, pois o recipiente onde era acondicionado ficava aberto apenas no momento da borrifagem. O acúmulo progressivo do Pb justifica-se pelo suprimento exógeno deste elemento, contido nas soluções de acetato. Isto também indica a vocação de *C. verticillaris* para bioacumulação

de metais pesados, conforme já amplamente referido na literatura para os líquens, em geral.

Quanto aos demais elementos, à exceção do Ca (Figura 16) e do Fe (Figura 8), que apresentaram variações e concentrações também significativas ao longo do experimento, os demais elementos apresentaram concentrações abaixo de  $25 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Para o Zn (Figura 9) os resultados demonstraram configuração diferenciada dos demais. Observou-se uma acumulação

progressiva na amostra controle, submetida a água deionizada, e uma perda gradativa na amostra submetida ao acetato de chumbo (1%).

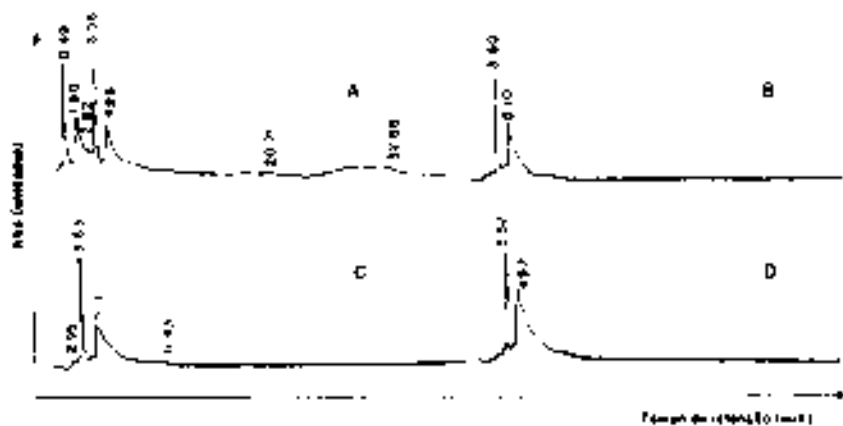
O alto teor de Ca, e Fe nas amostras submetidas ao PbOAc, e o Zn da amostra controle são ainda dados para investigações futuras, pois a provável mobilidade desses elementos, que podem estar contidos no substrato, ou seja o solo.



**Figura 3:** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) de extratos orgânicos obtidos das amostras controle de *Cladonia verticillaris*, coletada em Alhandra, Estado da Paraíba e submetido a ação da água deionizada.

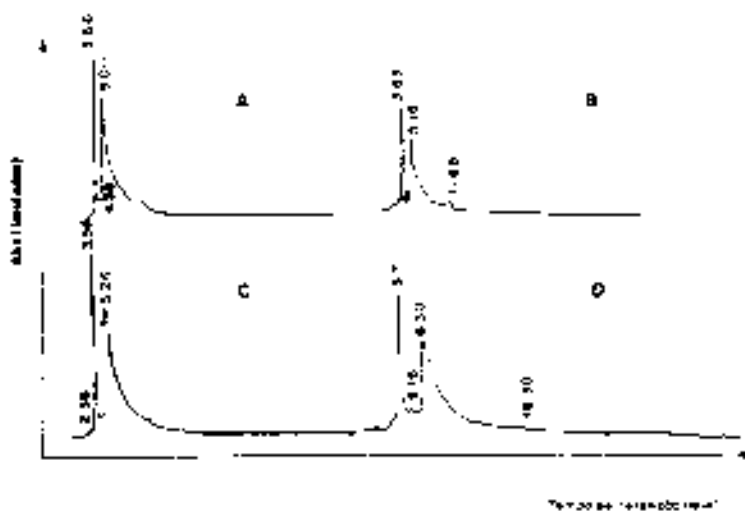
**Legenda:** A – CTRL 24 h  
B – CTRL 48 h  
C – CTRL 5 dias  
D – CTRL 10 dias





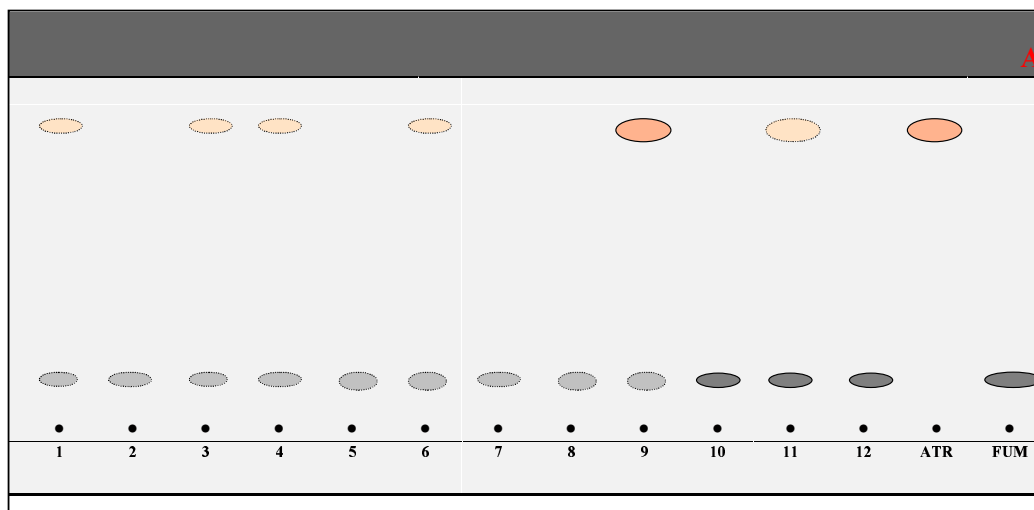
**Figura 4:** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) de extratos orgânicos obtidos das amostras de *Cladonia verticillaris* coletada em Alhandra, Estado da Paraíba e submetida a ação do Acetato de chumbo a 0,1%.

**Legenda:** A – CTRL 24 h  
B – CTRL 48 h  
C – CRTL 5 dias  
D – CRTL 10 dias



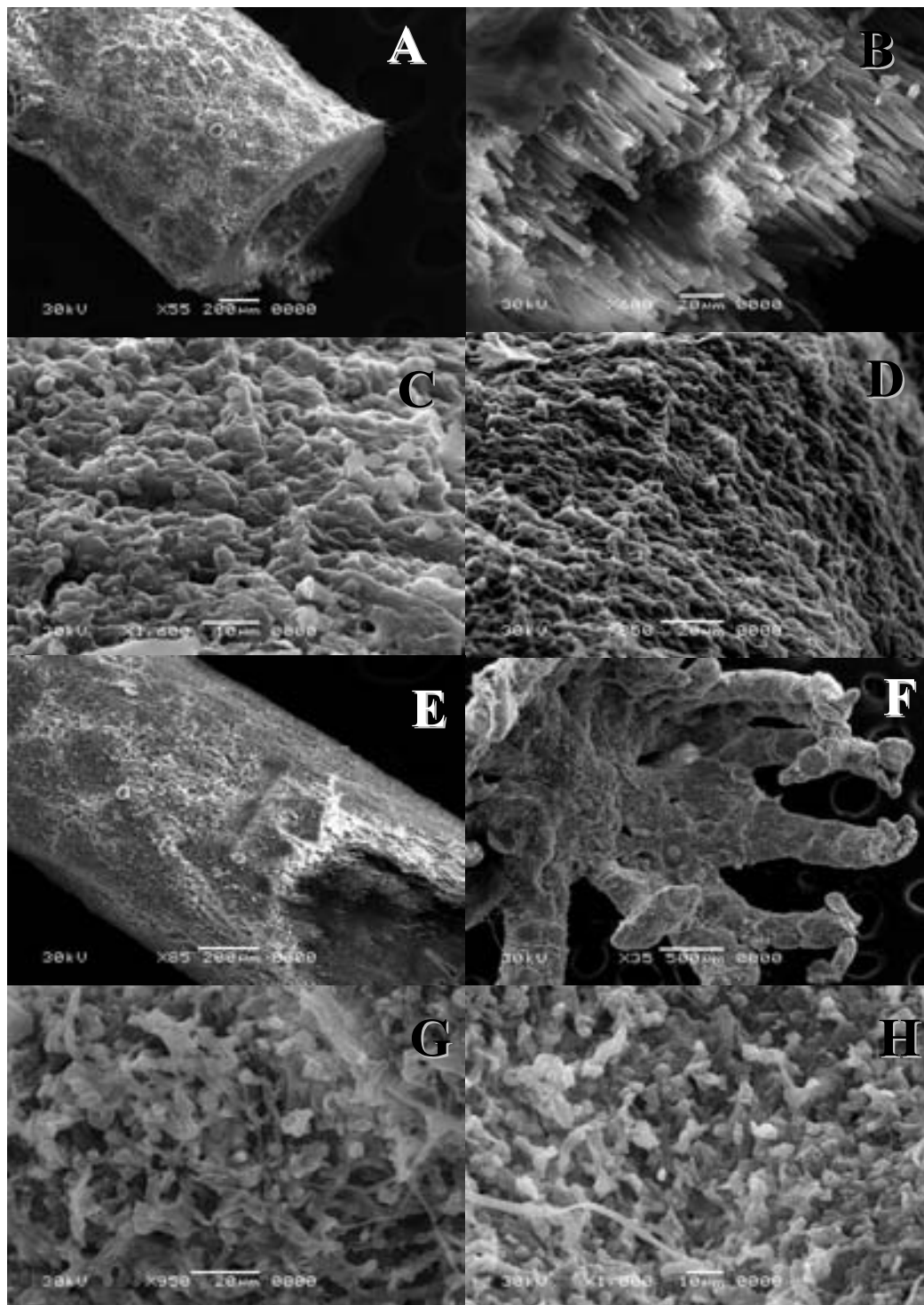
**Figura 5:** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) de extratos orgânicos obtidos das amostras de *Cladonia verticillaris* coletada em Alhandra, Estado da Paraíba e submetida a ação do acetato de chumbo a 1%.

**Legenda:** A – CTRL 24 h  
B – CTRL 48 h  
C – CRTL 5 dias  
D – CRTL 10 dias



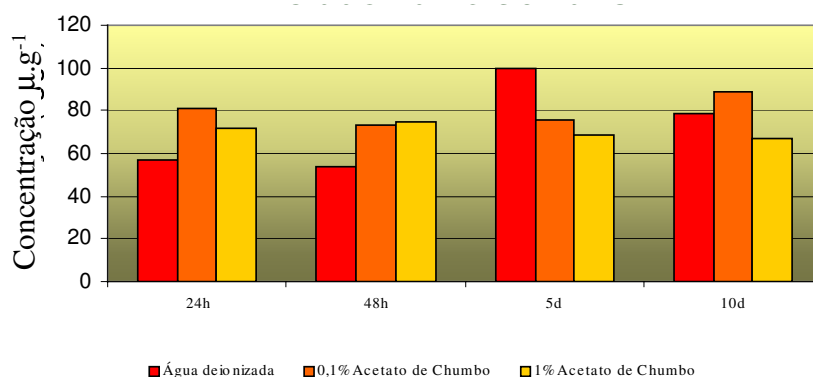
**Figura 6:** Cromatograma em Camada Delgada de extratos acetônicos obtidos de *Cladonia verticillaris* procedente de Alhandra/PB, submetida a água deionizada e a concentrações variadas de acetato de chumbo, no período de 10 dias, sob condições de laboratório.

**Legenda:** **Acetato de chumbo a 0,1%;** 1 – amostra de 24h; 2 – amostra de 48h; 3 – amostra de 5 dias; 4 – amostra de 10 dias. **Acetato de chumbo a 1,0%** 5 – amostra de 24h; 6 – amostra de 48h; 7 – amostra de 5 dias; 8 – amostra de 10 dias. **Água deionizada – CTRL** 9 – amostra de 24h; 10 – amostra de 48h; 11 – amostra de 5 dias; 12 – amostra de 10 dias. **ATR** – Atranorina, **FUM** – Ácido fumarprotocetrárico.

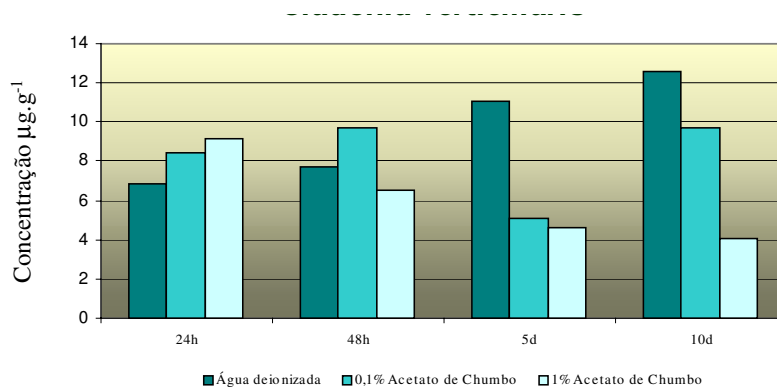


**Figura 7:** Micrografia de varredura de amostras de *Cladonia verticillaris* procedente de Alhandra/PB, submetida a água deionizada e à concentrações de solução a 1,0% de Acetato de chumbo, no período de 10 dias, sob condições de laboratório.

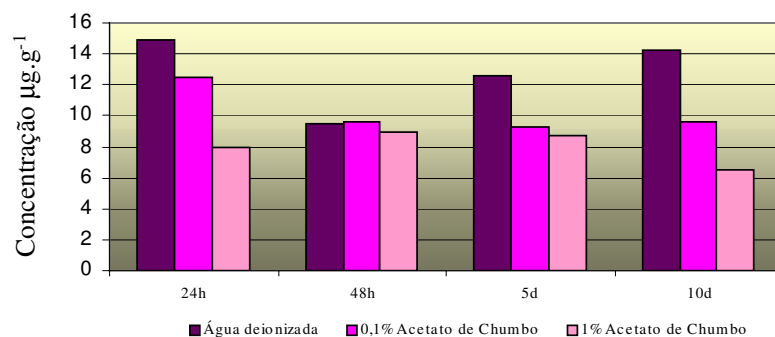
**Legenda:** Água deionizada – CTRL (10 dias – A e B),  
 Água deionizada – CTRL -vista aproximada da superfície do talo (C e D)  
 Acetato de chumbo a 1,0% (10 dias – E e F)  
 Acetato de chumbo a 1,0% - vista aproximada da superfície do talo (G e H)



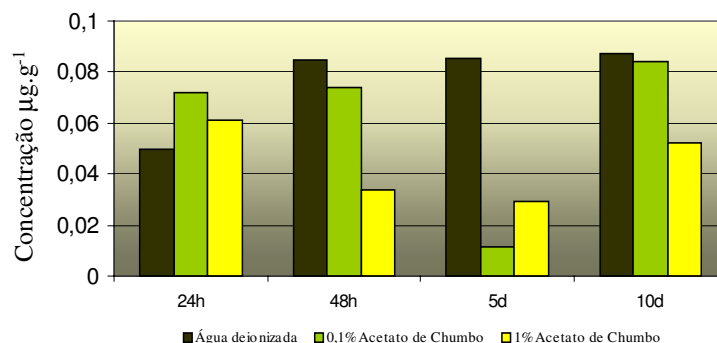
**Figura 8 :** Concentrações de ferro (Fe), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de solução de acetato de chumbo ( 1% e 0,1%).



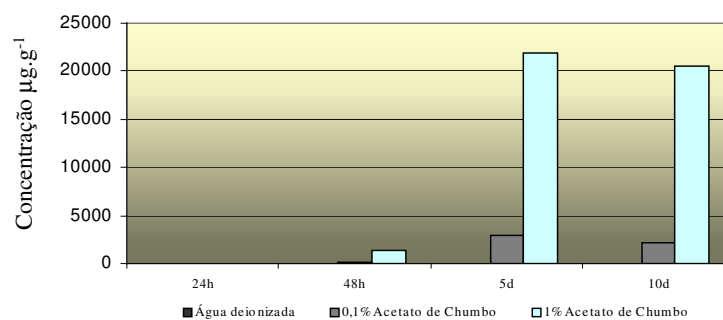
**Figura 9 :** Concentrações de Zinco (Zn), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de solução de acetato de chumbo ( 1% e 0,1%).



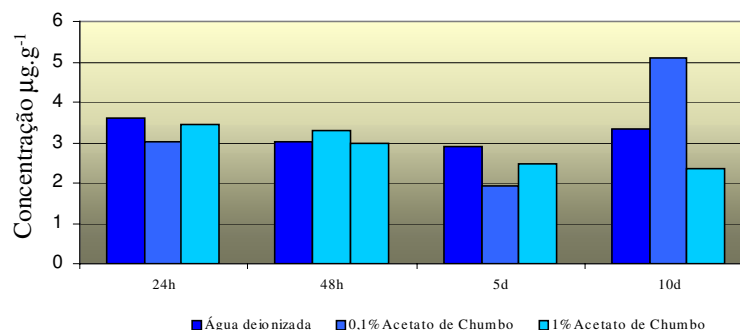
**Figura 10 :** Concentrações de Manganês (Mn), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de solução de acetato de chumbo ( 1% e 0,1%).



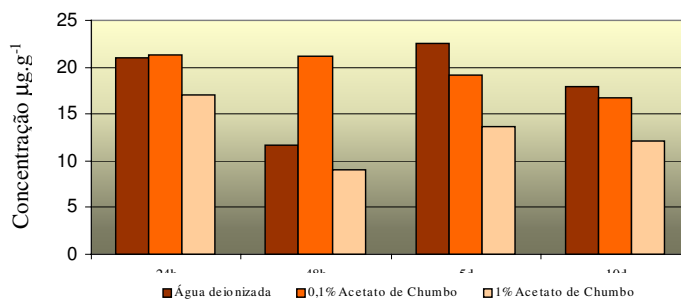
**Figura 11:** Concentrações de Cádmio (Cd), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de solução de acetato de chumbo ( 1% e 0,1%).



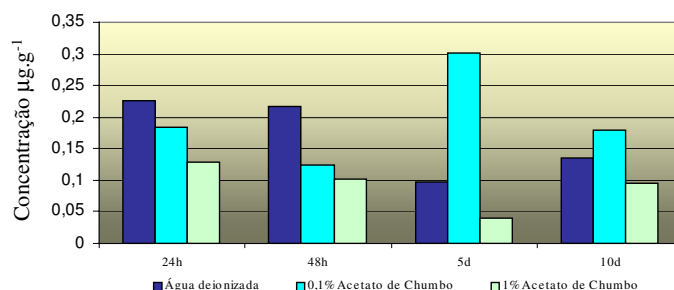
**Figura 12:** Concentrações de Chumbo (Pb), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de solução de acetato de chumbo ( 1% e 0,1%).



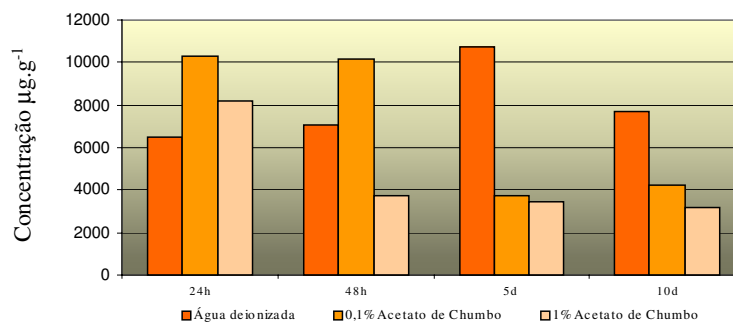
**Figura 13:** Concentrações de Cobre (Cu), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de solução de acetato de chumbo ( 1% e 0,1%).



**Figura 14:** Concentrações de Cromo (Cr), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de solução de acetato de chumbo ( 1% e 0,1%).



**Figura 15 :** Concentrações de Níquel (Ni), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de solução de acetato de chumbo ( 1% e 0,1%).



**Figura 16:** Concentrações de Cálcio (Ca), determinadas sob condições controladas em laboratório, em amostras de *Cladonia verticillaris* expostas no período de 10 dias a água deionizada e diferentes concentrações de solução de acetato de chumbo ( 1% e 0,1%).

## CONCLUSÃO

*Cladonia verticillaris* submetida a ação de soluções (0,1% e 1,0%) de acetato de chumbo, comparativamente as condições padrões estabelecidas, apresentou respostas bem evidenciadas do ponto de vista de degradação das substâncias liquênicas, danificação da estrutura superficial no talo, e bioacumulação de alguns elementos, em especial o Pb contido na solução contaminante.

Os danos e reações apresentados pelo líquen indicam a sua eficácia na avaliação dos parâmetros ecofisiológicos e, sobretudo a bioacumulação de elementos iônicos nutrientes e tóxicos.

Devido à sensibilidade da espécie, a mesma apresenta condições para a sua utilização como mais um parâmetro de avaliação para identificação de alterações ambientais a que possa vir a ser submetida, bem como para o acompanhamento sistemático da qualidade ambiental em especial do ar atmosférico.

## AGRADECIMENTOS

A Companhia Pernambucana de Meio Ambiente – CPRH, por facultar a infra-estrutura de laboratório para a preparação do material liquênico.

Ao Departamento de Patologia e Biologia Celular do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães / Fundação Osvaldo Cruz, por facultar a infra-estrutura de laboratório para a realização da avaliação em microscopia eletrônica.

Ao Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco pôr disponibilizar a infra-estrutura do Laboratório de Produtos Naturais.

A Companhia Pernambucana de Saneamento e Abastecimento de Água –

COMPESA/ Gerência de Controle de Qualidade.

A Universidade Federal de Pernambuco. Departamento de Geologia por facultar a infra-estrutura de laboratório para a realização das análises em ICP/AES.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahti, T. Stenroos, S.; Xavier-Filho, L. 1993. The lichen family Cladoniaceae in Paraíba, Pernambuco and Sergipe, northeast Brazil. **Tropical Biology**, v. 7, p. 55-70.

Culberson, C. F. 1972. Improved conditions and new data for the identification of lichen products by standardized thin layer-chromatographic method. **J. Chromatog.**, 72:113-125.

Legaz, M. E.; Vicente, C. 1983. Endogenous inactivators of arginase decarboxylase and agmatine amidinohydrolase in *Evernia prunastri* thallus. **Plant Physiology**, 71 : 300 - 302.

Nash, T. H. 1996. **Lichen Biology**. Cambridge University Press, Cambridge. 303p.

Pereira, E. C. 1998. **Produção de metabólitos por espécies de Cladoniaceae (líquen), a partir de imobilização celular**. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 240p.

Seaward, M. R. D. 1977. **Lichen Ecology**. Academic Press, Inc. London. 550p.

Seaward, M. R. D. 1993. Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies. **Environ.Rev.** **1**:73-91.

Syers, J. K. 1969. Chelating ability of fumarprotocetraric acid and *Parmelia conspersa*. **Plant and Soil**, **31**: 205-208.



**5.4 AVALIAÇÃO DE *Cladonia verticillaris* (Raddi.) Fr.(LÍQUEN), EXPOSTA A  
POLUENTES ATMOSFÉRICOS EM ÁREA URBANA INDUSTRIAL**

**Rita Alves Silva, Eugênia C. Pereira, Nicácio Henrique da Silva,  
Fernando de Oliveira Mota Filho**

**Acta bot.bras. 00 (0): 0 – 0,2002**

## AVALIAÇÃO DE *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. (LÍQUEN), EXPOSTA A POLUENTES ATMOSFÉRICOS EM ÁREA URBANA INDUSTRIAL<sup>1</sup>

Rita Alves Silva<sup>2</sup>

Eugênia C. Pereira<sup>3,5</sup>

Nicácio Henrique da Silva<sup>4</sup>

Fernando de Oliveira Mota-Filho<sup>3</sup>

**RESUMO** - Líquens são referidos na literatura como bioindicadores e biomonitores já padronizados em diversos países da Europa. Este trabalho teve como objetivo a avaliação de *Cladonia verticillaris* (Raddi), Fr., como biomonitor da qualidade do ar. Exemplares da espécie foi transportada de tabuleiros costeiros arenosos em Mamanguape e Alhandra, Paraíba, no NE do Brasil, e exposta ao ambiente em Jaboatão, Mesorregião Metropolitana do Recife, Pernambuco, no período de março/2000 a setembro/2001. Os extratos orgânicos foram submetidos a testes de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Cromatografia de Camada Delgada (CCD) e a análise da superfície externa via Microscopia Eletrônica de Varredura. Os resultados obtidos, correlacionados a produção de substâncias fenólicas, evidenciaram a existência de substâncias intermediárias na biossíntese dos ácidos liquênicos com prejuízo à produção da atranorina e do ácido fumarprotocetrárico, além da produção do ácido protocetrárico. A análise de superfície demonstrou perfurações, exposição do fotobionte, das hifas corticais e provável migração de cristais do córtex ou medula. Foi comprovada a evidencia de maiores danos às amostras expostas na região central de maior agressividade e concentração de poluentes, em Jaboatão-PE.

**Palavras-chaves** – *Cladonia verticillaris*, líquen, biomonitores, poluição atmosférica, metais pesados.

**ABSTRACT** - Lichens are reported in the literature as remarkable bioindicators and biomonitor used as standard in several countries of Europe. This paper had the purpose of evaluating of *Cladonia verticillaris* (Raddi), Fr. as biomonitor of air quality. The species was transported from Savannah vegetation with sandy soil (tabuleiros costeiros) of Mamanguape and Alhandra, Paraíba, NE of Brazil. The species was exposed to the environment in Jaboatão, Pernambuco, up march/2000 to september/2001. Organic extracts of lichen material were submitted to assays of High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Thin Layer Chromatography (TLC) and analysis of lichen external surface by Scanning Electron Microscopy (SEM). The results showed the production of intermediary substances of lichen acids biosynthesis, with low or none production of atranorin and fumarprotocetraric and protocetraric acids. The analysis of lichen surface demonstrated perforations, exposition of photobiont, the cortical hyphae and a probable migration of crystals from the cortex or medulla. There were evidenced the largest damages to the exposed samples in the area of highest concentration of air pollutants, in Jaboatão-PE region.

**Key words** – *Cladonia verticillaris*, lichen, biomonitors, bioindicators, air pollution.

<sup>1</sup>Parte de dissertação de Mestrado da primeira autora

<sup>2</sup>Curso de Mestrado em Gestão e Políticas Ambientais, Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Geográficas, CFCH, UFPE

<sup>4</sup>Departamento de Bioquímica, CCB, UFPE

<sup>5</sup>Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq

e-mail : [silva\\_rita@hotmail.com](mailto:silva_rita@hotmail.com)/ [arruda@hotlink.com.br](mailto:arruda@hotlink.com.br)

## INTRODUÇÃO

Os líquens são organismos simbióticos, encontrados em todas as regiões do mundo sob as mais diversas condições climáticas. Produzem substâncias que resultam de seu metabolismo secundário, que são, na sua maioria, compostos fenólicos, dentre eles: os ácidos alifáticos, para e meta depsídeos, depsídonas, benzil ésteres, dibenzofuranos, ácidos úsnicos, xantonas, antraquinonas, terpenóides, e derivados do ácido pulvínico (Nash 1996).

No interior do talo, as substâncias liquênicas tomam forma cristalina, são extracelulares, depositando-se sobre as hifas do micobionte. Tal fato confere ao líquen grande capacidade de adaptação às adversidades, visto esses cristais funcionem como fotorreceptores e/ou fotoindutores, selecionando o tipo de radiação que a eles seja conveniente. Os fenóis liquênicos, acumulados sobre as hifas do córtex superior, participam do mecanismo adaptativo de diversas espécies e funcionam como pigmentos acessórios da fotossíntese (Seaward, 1977; Rundel, 1987; Lawrey, 1986).

Apesar da comprovada capacidade de sobreviverem nos mais diferentes ambientes, os líquens são muito sensíveis à poluição do ar atmosférico (Seaward, 1993), sendo utilizados como bioindicadores, pois diferentemente dos vegetais superiores, não dependem de um sistema radicular para absorção de nutrientes, e por possuírem cutícula reduzida ou, em geral, ausente, incorpora e retém com facilidade altos níveis de poluentes (Pilegaard, 1978; Seaward, 1977).

A pureza do ar atmosférico é fator crucial à sobrevivência dos líquens, já que estes se alimentam higroscópicamente, fixando elementos nele presentes, notadamente o nitrogênio. Além disso, absorvem e retém elementos radioativos, íons metálicos, dentre outros poluentes, e isto faz com que sejam

utilizados como indicadores biológicos de poluição atmosférica (Nieboer *et al.* 1972; Seaward, 1977; Nash, 1996). Os métodos aplicados para estudo dos efeitos da poluição atmosférica em líquens têm sido, principalmente, fitossociológicos e ecofisiológicos. Com eles é possível relacionar a presença ou ausência de espécies, frequência de ocorrência, percentual de cobertura, sintomas de danos externos e internos, que variam com o grau de poluição da área em estudo (Leblanc & Rao, 1975). O transplante de espécies liquênicas de áreas rurais despoluídas para regiões onde haja um nível de poluição mais elevado é um método ecofisiológico de estudo de campo sobre a ação de poluentes presentes na atmosfera, que serve ainda como confirmação de experimentos realizados em laboratório, com a mesma finalidade (Leblanc & Rao, 1975).

O biomonitoramento ativo, que consta do acompanhamento de material transplantado, vem sendo utilizado em diversos países e no NE do Brasil. Neste caso, *C. verticillaris* é considerada uma espécie que responde de forma satisfatória a vários tipos de ensaios (Cáceres *et al.* 1996).

Considerando os diversos trabalhos produzidos na referida região, e sendo o monitoramento ativo de poluentes atmosféricos uma técnica já fundamentada, o objetivo deste trabalho foi à análise do efeito desses contaminantes atmosféricos sobre a produção de metabólitos de *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr., transplantada para dois pontos de monitoramento (mecânico), no distrito de Jaboatão-PE, como um parâmetro de indicação deste líquen, como monitor biológico da qualidade do ar.

## MATERIAL E MÉTODOS

### • Seleção da área de estudo

O Município do Jaboatão dos Guararapes está situado na porção centro-leste da Mesorregião Metropolitana do Recife – MMR (Figura 1), possui área de 249,0 km<sup>2</sup>, e é constituído por três distritos – Jaboatão, Cavaleiro e Muribeca dos Guararapes. Limita-se ao

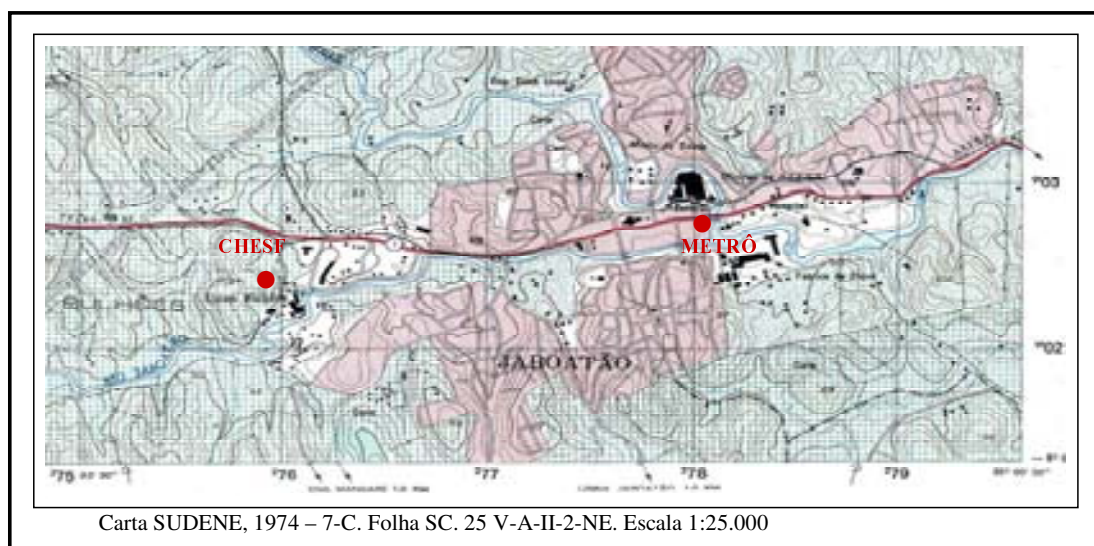
norte com São Lourenço da Mata e Recife, ao sul com o Município do Cabo de Santo Agostinho, ao leste com o Oceano Atlântico e a oeste com o Município de Moreno. Sua sede municipal, o distrito de Jaboatão, área objeto deste trabalho, dista cerca de 20 km do Recife, capital do Estado de Pernambuco (Assunção, 1997).



**Figura 1:** Mesorregião Metropolitana do Recife (Andrade, 1999).

Devido as suas características de ocupação e influências diretas de poluentes atmosférico de variadas contribuições de emissões (veiculares, industriais, queima aberta de cana-de-açúcar, etc) foi considerada pela Companhia Pernambucana de Meio Ambiente – CPRH (CPRH, 1995), como significativa para o monitoramento da qualidade do ar, considerando para acompanhamento, os parâmetros Poeira

Total em Suspensão (PTS), Dióxido de Enxofre (SO<sub>2</sub>) e Dióxido de Nitrogênio (NO<sub>2</sub>). Na área foram implementadas duas estações de monitoramento localizadas na estação Ponto Terminal do Metrô, no Centro da cidade e na área interna da Subestação de energia elétrica da Companhia Hidrelétrica do São Francisco – CHESF, situada na periferia da Cidade (Figura 2).



**Figura 2:** Localização das estações de amostragem Metrô e CHESF em Jaboatão-PE.

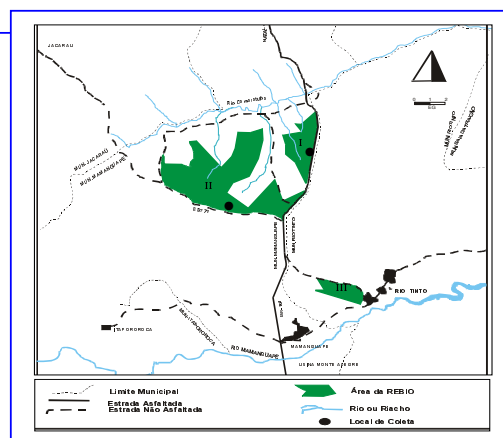
#### • Coleta e armazenamento dos biomonitores

Para todas as etapas do trabalho foram utilizados exemplares *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. (Figura 3) ocorrente sobre solos arenosos de tabuleiros (cerrados) coletados parte na área I e na área II da Reserva Biológica Guaribas, Unidade de Conservação sob a administração do Governo Federal, criada

com o objetivo específico de proteger amostras representativas dos ecossistemas da Mata Atlântica do Nordeste, conciliando seu uso para fins de educação e pesquisa científica. Situa-se no litoral norte do Estado da Paraíba – Brasil, município de Mamanguape, (Figura 4).



**Figura 3** *Cladonia verticillaris* (Raddi), Fr. Vista do tufo liquênico sobre o substrato (solo)  
Foto: Rita Silva



**Figura 4:** Localização das áreas de coletas da espécie *Cladonia verticillaris* na Reserva Biológica Guaribas em Mamanguape (PB)

Neste trabalho as amostras procedentes dessa área serão designadas como Rebio I e Rebio II, respectivamente. A mesma espécie foi também coletada em tabuleiro arenoso, BR 101, no município de Alhandra (amostra ALH), Estado da Paraíba, localização onde não se observam fontes potenciais de emissão de poluentes. Em ambas localidades, solo subjacente aos tufois líquênicos foram coletados para amostragem dos experimentos de campo.

O material foi acondicionado à temperatura ambiente, em sacos de papel, até o momento de sua utilização.

#### • Montagem dos experimentos de biomonitoramento

*Exemplares de Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr., coletada juntamente com o substrato foi transplantada em recipientes plásticos para as estações de monitoramento da qualidade do ar, implementadas pela CPRH, considerando amostras de líquens coletados nas seguintes localizações: Rebio I; Rebio II, e; ALH. Para a avaliação dos efeitos da degradação de substâncias líquênicas pela ação dos poluentes, foram coletadas amostras para análise no momento da exposição (março 2000), posteriormente com um ano (março 2001), e finalmente, com um ano e seis meses (setembro 2001).

#### • Ensaio de Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Amostras de extratos orgânicos de *C. verticillaris* (Raddi), Fr., foram extraídas a frio com acetona, a partir das amostras (Rebio I, Rebio II e ALH) expostas às condições ambientais em Jaboaão em períodos proporcionais a doze e dezoito meses, juntamente com as amostras tomadas como referência de condições naturais, ou seja, amostra de coleta direta nas áreas de Mamanguape e Alhandra no tempo inicial do experimento. Os extratos foram

evaporados à temperatura ambiente ( $28 \pm 3$  °C) e aplicados em cromatoplasas de sílica gel Merck F<sub>245</sub> + 366, juntamente com padrões da atranorina (ATR) e do ácido fumarprotocetrárico (FUM), principais constituintes de *C. verticillaris*.

As placas foram desenvolvidas em sistema unidimensional de solventes A (tolueno: dioxano: ácido acético, 180:45: 5, v/v), conforme Culbertson (1972).

Após evaporação dos solventes, a placa foi revelada sob luz UV curta e longa, posteriormente pulverizada com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 10%, e aquecida a 100 °C por 1h, para reação de coloração das bandas.

#### • Ensaio em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os mesmos extratos e padrões utilizados para os ensaios de CCD foram dissolvidos em éter. Posteriormente, em soluções com concentrações de 1mg/mL para os primeiros e 0,1mg/mL para os segundos, foram injetados em cromatógrafo líquido Hitachi, acoplado a detector de ultra-violeta a 254nm.

Foram utilizados como parâmetros de análise, coluna de fase reversa C18, fase móvel, metanol/ água/ ácido acético (80: 19,5: 0,5, v/v), fluxo 1,0 mL.min<sup>-1</sup>, pressão 84 atm, atenuação 6, temperatura ambiente ( $28 \pm 3$  °C), conforme metodologia de Legaz & Vicente (1983).

Os cromatogramas foram interpretados segundo tempo de retenção das substâncias na coluna ou seus produtos de degradação. A área do pico determinou a concentração no extrato de cada substância líquênica, e comparação com os padrões de ATR e FUM

#### • Análise da estrutura externa de *C. verticillaris*

Amostras do material exposto à ação de poluentes e controle, foram montados em suporte metálico, com o auxílio de fita adesiva dupla face

revestida por carbono. Em seguida, os suportes metálicos foram submetidos a metalização durante 1min em atmosfera de argônio, 0,1 mbar, no aparelho de “sputtering” (Balzers Union). O material resultante, recoberto por uma camada de ouro de cerca de 20nm, foi observado em microscópio eletrônico de varredura (Marca Jeol, 5600-LV).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O município de Jaboatão dos Guararapes, devido às características de ocupação do seu entorno ao longo dos anos, apresenta cenários de crescimento com conseqüente agravamento dos problemas decorrentes da deterioração da qualidade ambiental, tais como: poluição dos cursos hídricos; comprometimento da qualidade do ar; uso e ocupação dos solos indisciplinados; etc, pertinentes, na atualidade, aos núcleos urbanos de médio e grande porte, daí parte a necessidade do acompanhamento da tendência de deterioração e/ou melhoramento da qualidade do ar.

O monitoramento realizado a partir da medição sistemática de parâmetros físico-químicos adotados ou estabelecidos legalmente, a partir do uso de equipamentos em operação manual ou automática é imprescindível, sobretudo em áreas sob forte influência de fontes derivadas da ação antropogênica, cujo resultado se converte em problemas consequentes relacionados a poluição atmosférica, geralmente graves. No entanto, o alto custo para aquisição e manutenção desses equipamentos limita sobremaneira a sua instalação em pontos diversificados, haja vista as dificuldades dentre outras, considerando a necessidade de ambientes e localização com infraestrutura apropriada (energia, segurança, acesso, etc). Por isso a avaliação de áreas poluídas com o uso de biomonitores, auxilia e complementa os dados obtidos a partir da operação de estações fixas de monitoramento.

Os biomonitores passivos (espécies que já ocorrem na área de estudo) retratam o nível de poluição, inclusive fornecendo dados precoces de deterioração da qualidade ambiental, quando os efeitos não são ainda evidentes. Por outro, o transplante de espécies (biomonitoramento ativo) possibilita o acompanhamento dos danos estruturais, morfológicos e fisiológico que os contaminantes causam aos organismos (Vicente *et al.* 1994).

Embora, este método tenha sido empregado pela primeira vez em Munique por Arnold, no fim do século passado (Barkman, 1958 apud Seaward, 1993), foi Brodo, com sua técnica de transplantar discos de casca de árvores contendo líquens, que fundamentou os importantes trabalhos sobre monitoramento ativo de poluição do ar atmosférico que se seguiram (Brodo 1961; Brodo 1967 apud Seaward 1993).

Outras técnicas de transplante de líquens foram desenvolvidas em conexão com estudos sobre poluição atmosférica, utilizando também espécies terrícolas de líquens. Estas técnicas consistem em se transplantar os líquens envoltos em malhas de nylon para o local onde será realizado o biomonitoramento da qualidade do ar (Seaward, 1993).

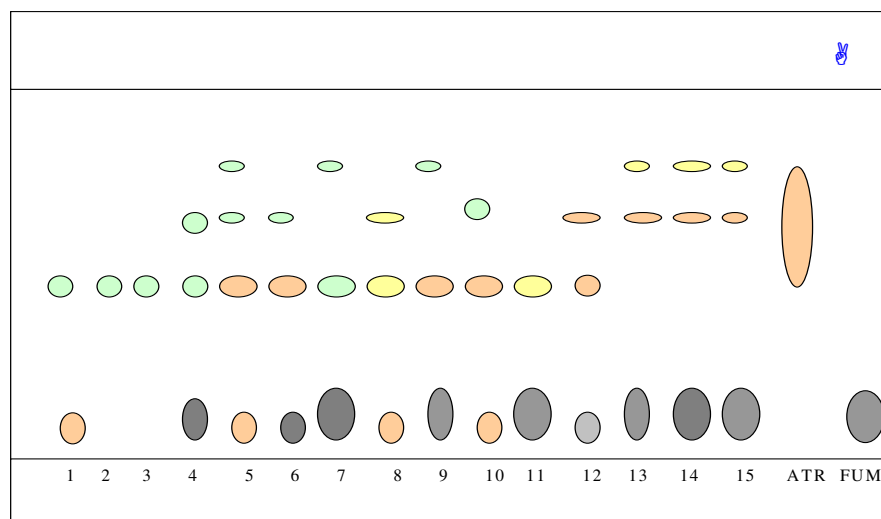
No Nordeste do Brasil, estudos também foram realizados neste intuito. Líquens foram avaliados, após transplante, sob o ponto de vista da degradação das suas clorofilas causada pela ação de poluentes. Estes acidificam a célula e retiram o íon magnésio (Mg) localizado no centro da estrutura deste pigmento transformando-o em feofitina (Cáceres, et al, 1996). Outro parâmetro de avaliação é a interferência na produção de fenóis da espécie, visto que o prejuízo na fotossíntese impede a biossíntese, provocando a produção de metabólitos intermediários, produto da degradação de suas substâncias.

Os experimentos de transplantes com *C. verticillaris* na cidade de



Jaboatão-PE, demonstraram dados condicentes aos referenciados pela literatura, quando observa-se o cromatograma da figura 5 é notada a produção de substâncias intermediárias das vias metabólicas, ou a existência de produtos de degradação nas amostras expostas ao ambiente poluído. Pereira (1989) demonstra que células imobilizadas de *C. verticillaris* produzem o ácido hipoprotocetrárico e seu aldeído, além da atranorina, e não o ácido fumaprotocetrárico seu principal constituinte. Os autores sugerem a produção desses compostos, que são intermediários na biossíntese deste ácido,

pela dificuldade de contato entre os simbiontes, no momento do isolamento da célula liquênica. Isto dificulta o transporte de NAD e FMN entre os simbiontes, prejudicando a biossíntese completa de seus fenóis. É possível também que a ação dos poluentes se dê tal maneira correlata visto que ao penetrarem na célula, os poluentes destroem as clorofilas e/ou os cloroplastos, prejudicando a fotossíntese, etapa inicial onde são elaborados os carboidratos pelo fotobionte, que são repassados ao micobionte para a biossíntese das substâncias liquênicas.



**Figura 5:** Cromatograma em Camada Delgada (CCD) de extratos orgânicos obtidos de *Cladonia verticillaris* submetida a poluição ambiental em Jaboatão (PE). No período de março de 2000 a setembro de 2001

**Legenda:** **ESTAÇÃO METRÔ:** 1 -Rebio II. março 2001; 2- Rebio II. setembro 2001; 3-. Rebio I. março 2001; 4 - Rebio I. setembro 2001; 5-ALH. março 2001; 6 – ALH. setembro 2001; **ESTAÇÃO CHESF:** 7- Rebio II - março 2001; 8-Rebio II. setembro 2001; 9 -. Rebio I. março 2001; 10 - Rebio I - setembro 2001; 11 –ALH. março 2001; 12 ALH. setembro 2001; **CRTL** 13. CTRL Rebio II – março 2000; 14. CTRL Rebio I – março 2000; 15. CTRL ALH – março 2000; **PADRÕES DE SUBSTÂNCIAS LIQUÊNICAS** ATR - Atranorina, FUM – Ácido fumarprotocetrárico.

O prejuízo na produção dos compostos fenólicos implica na desproteção do líquen contra as intempéries, e sugere um deslocamento de fenóis que estão na medula para o córtex, como mecanismo de defesa contra os agentes externos (poluentes). Pereira

*et al.* (1994) demonstram, mediante análise comparativa de fenóis medulares e corticais de *Parmotrema praesorediosum* que amostras procedentes de áreas poluídas tinham muito menor teor de fenóis corticais,

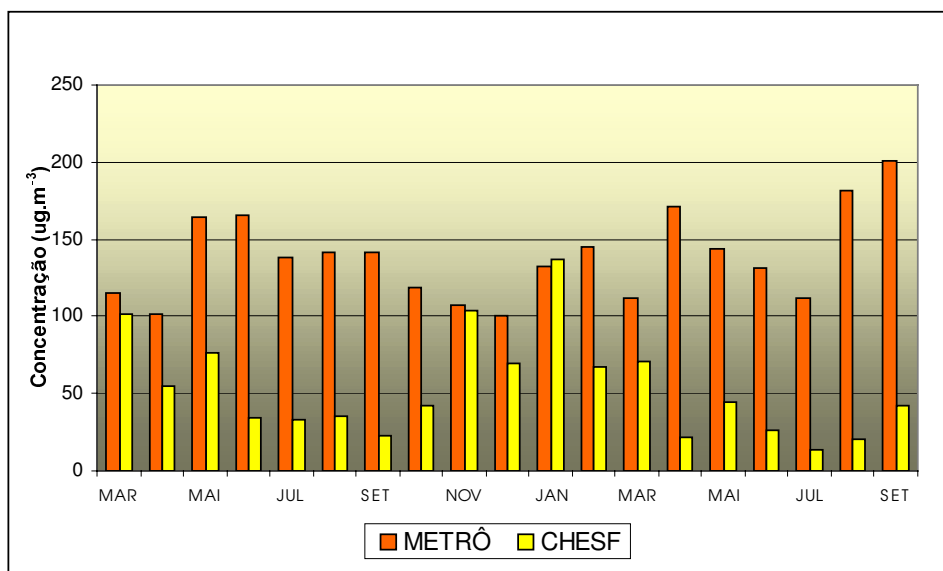


quando comparadas às coletadas em áreas menos afetadas.

É possível também que elementos inorgânicos presentes no ar impeçam ou dificultem alguma etapa do metabolismo liquênico, produzindo no final, o mesmo efeito, ou seja, síntese de substâncias intermediárias, produtos de degradação, ou mesmo a diminuição drástica no teor dos fenóis da espécie. Isto pode ser constatado nas Figura 8, 9 e 10, os líquens expostos na Estação Metrô tiveram o seu funcionamento extremamente prejudicado (Figura 8 A ), a amostra com um ano de exposição produziu baixo teor da substância, cujo pico se deu aos 4,9 min, próximo ao detectado para o FUM, ou seja, padrão que foi 5,15 min (Figura 14). Por outro lado, houve uma maior produção de um composto detectado aos 3,61 min, que pode ser o ácido protocetrárico (Figura 14). Isto ratifica a hipótese da biossíntese prejudicada pelos poluentes, seja pelo impedimento de parte da fotossíntese ou por inibição de alguma reação das etapas metabólicas. Para que o ácido fumaprotocetrárico seja elaborado,

há necessidade do acoplamento de uma porção fumarato ao ácido protocetrárico, que depende da reação de condensação oxidativa (Pereira et al, 1999). A continuidade da exposição levou à perda de produtividade do talo liquênico, visto que o teor de substâncias detectados foi muito reduzido (Figura 8 B). Isto pode ser constatado também para as amostras de *C. verticillaris* procedentes de REBIO I (Figura 9) e de ALH (Figura 10). Em adição é possível também observar uma produção de diversos compostos adicionais não identificados, quando se comparam os cromatogramas das referidas figuras aos constantes na Figura 14 (A,B,C), resultantes nas amostras de controle.

Em avaliação geral, observa-se que na Estação Metrô a concentração de poluentes é bastante elevada, o que pode ser comprovado, a exemplo, com os dados do parâmetro Poeira Total em Suspensão (PTS), obtidos no monitoramento executado pela CPRH, para o período de março do ano 2000 a setembro de 2001 (figura 6) .



**Figura 6:** Concentrações de Poeira Total em Suspensão – PTS, determinadas na cidade de Jaboatão/PE, no período de Março/2000 a setembro/2001.

Por outro lado, *C. verticillaris* quando exposta na Estação CHESF teve seu funcionamento muito menos afetado pela ação dos poluentes. As amostras procedentes da Mamanguape, REBIO I e II, bem como de Alhandra, ALH, produziram quantidades maiores do ácido protocetrárico (PRO), como as expostas na Estação Metrô, entretanto as substâncias adicionais (produtos de degradação ou intermediárias) estão em menor quantidade, além de não haver uma redução drástica do teor de fenóis (Figura 11, 12 e 13). É provável que esta maior produção, se deva a uma dificuldade da inclusão porção fumarato ao PRO, para a formação do FUM. Isto mais uma vez ratifica o prejuízo da biossíntese de substâncias típicas da espécie, causado pela ação dos poluentes.

Em nenhum dos casos a atranorina (ATR) foi detectada, apesar de ser uma substância que ocorre em menor teor no talo da *C. verticillaris* (Ahti *et al.* 1993), entretanto é sempre detectada nas amostras analisadas. Nas amostras controle, o pico detectado por volta dos 10 min, trata-se provavelmente desta substância. No entanto, quando isolada e purificada seu tempo de retenção muda, avançando para os 30 min. Falcão *et al.* (2002) comprovam tal premissa quando analisam por CLAE extratos brutos de

*Heterodermia leucomela*. Análises físico-químicas do extrato bruto da espécie e da atranorina purificada ratificaram os dados cromatográficos, após análise de todos os espectros em infravermelho, cromatografia gasosa e ressonância nuclear magnética, estes eram compatíveis com tal substância. Os autores sugerem que quando contida no extrato, a atranorina tem polaridade modificada tornando pela afinidade menor com a coluna do cromatógrafo, e maior com a fase móvel utilizada. Quando isolada e purificada tem suas terminações livres de ligações com outras substâncias (liquênicas ou não) unindo-se mais fortemente à fase estacionária, que é bastante apolar.

Ensaio fisiológicos e químicos são importantes ferramentas para um diagnóstico sobre a ação dos poluentes atmosféricos em biomonitor. Eles detectam de forma precoce efeitos que só são evidentes quando o estado de degradação da área já é avançado. Danos macroscópicos apresentados na Figura 7 são mais visualizados após 18 meses de exposição. Por outro lado, mesmo em exame macroscópico, observa-se que as condições ambientais na área da Estação Metrô são mais agressivas do que na estação CHESF, em Jaboatão/PE.

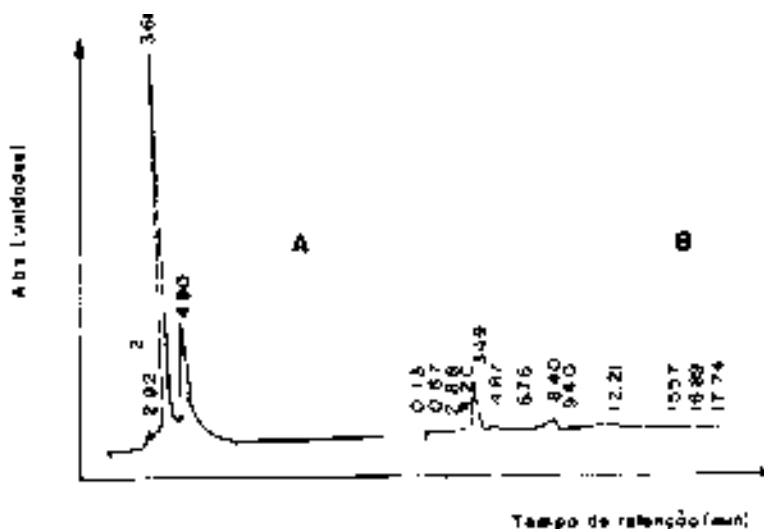


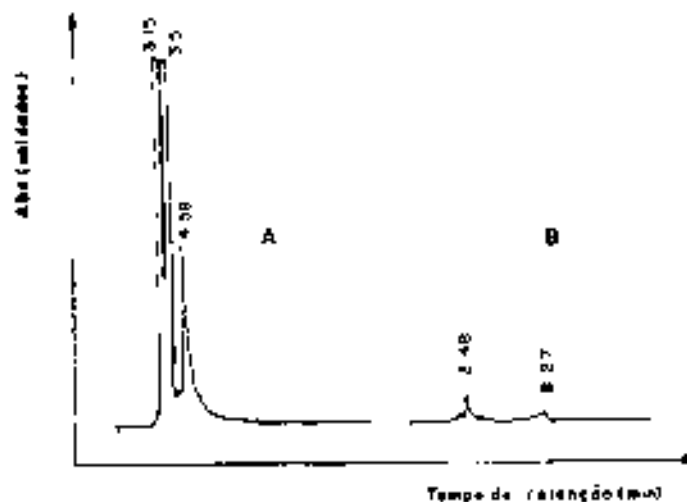
Figura 7: Amostras de *Cladonia verticillaris* coletadas após exposição em Jaboatão – PE.

A análise com o auxílio da microscopia eletrônica já fornecem informações mais seguras de danos à superfície externa do líquen. A Figura 15 demonstra que em março de 2001, 12 meses após exposição às condições ambientais, os danos à estrutura externa de *C. verticillaris* já eram evidentes. É possível observar escamação (ou esfoliação) da superfície, deixando à mostra as hifas do córtex (Figura 15 A). Na mesma amostra é possível observar a exposição do fotobionte (Figura 15, B). Quando expostos por um ano e seis meses (setembro 2001), os danos são ainda mais visíveis com maior exposição da alga (Figura 15, C e D) e esfoliação da superfície externa. Por outro lado, as

amostras controle (E, F) podem ser comparadas, onde se verifica um bom estado de conservação de sua superfície externa e parte da interna de seu talo.

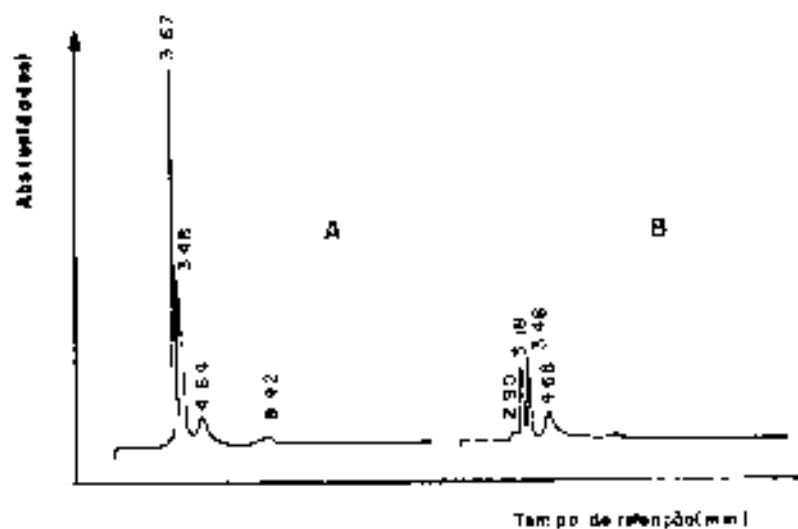
O material exposto na Estação CHESF foi muito menos danificado, mas a micrografia das amostras (Figura.16 demonstra que houve danos, como a exposição das hifas corticais (Figura 16. A ,B e C), perfurações e presença de grãos que podem ser cristais de suas substâncias que migraram do córtex ou medula (Figura 16 D). Isto pode ser facilmente verificado quando comparado com as fotos do material controle, tanto da vista geral de superfície (Figura 16, E), como do corte transversal do talo, com hifas conservadas (Figura 16, F).





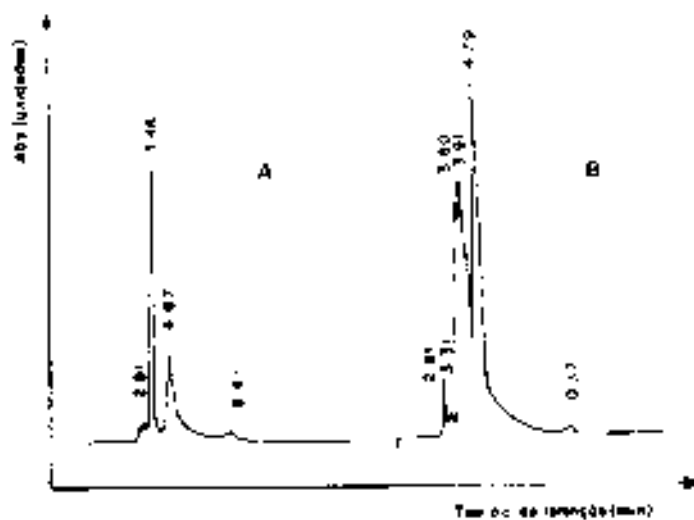
**Figura 9:** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos obtidos de *Cladonia verticillaris*, coletada em Mamanguape (PB), Rebio I, exposta na Estação Metrô em Jaboatão – PE.

**Legenda :** A - março 2001;  
B - setembro 2001



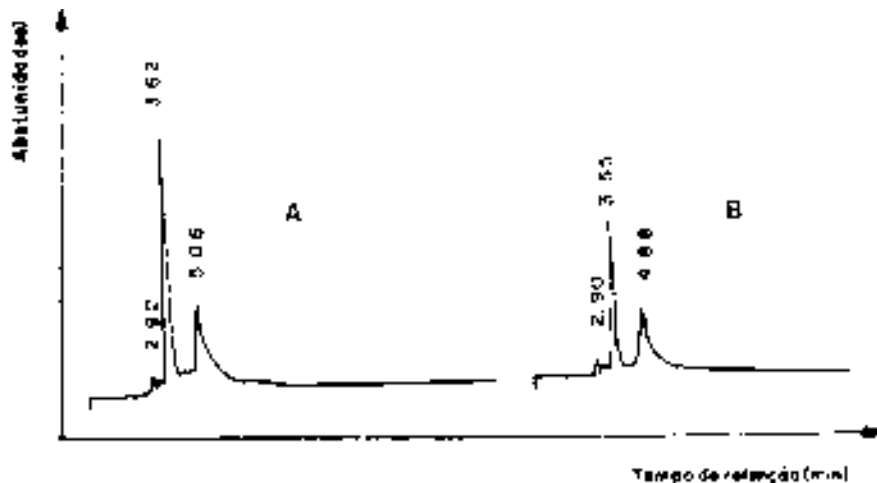
**Figura 10:** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos obtidos de *Cladonia verticillaris*, coletada em Alhandra (PB), exposta na Estação Metrô em Jaboatão – PE.

**Legenda :** A - março 2001;  
B - setembro 2001



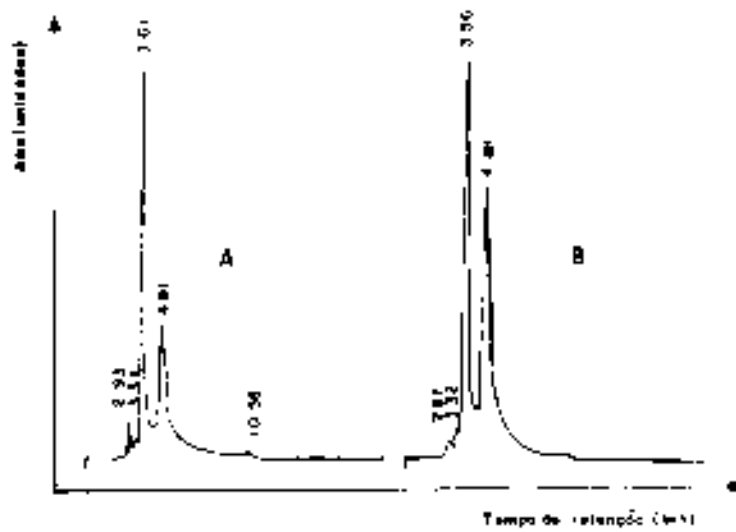
**Figura 11:** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos obtidos de *Cladonia verticillaris*, coletada em Mamanguape (PB), REBIO II, exposta na Estação CHESF em Jaboatão - PE.

**Legenda :** A - março 2001  
B - setembro 2001



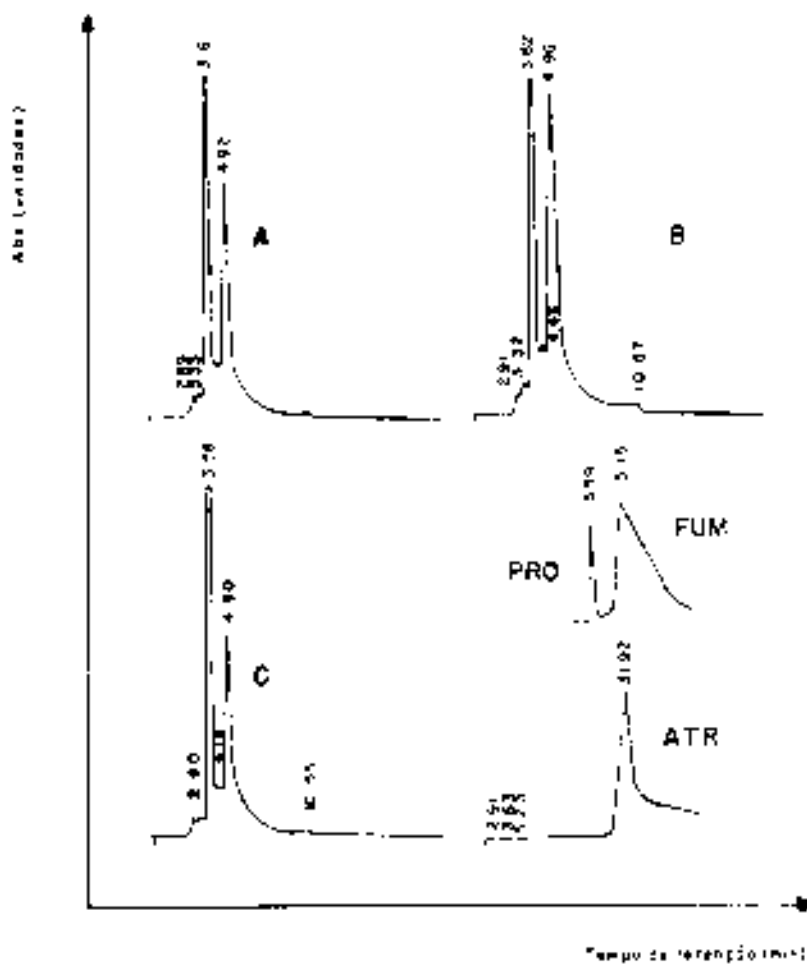
**Figura 12:** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos obtidos de *Cladonia verticillaris*, coletada em Mamanguape (PB), REBIO I, exposta na Estação CHESF em Jaboatão - PE.

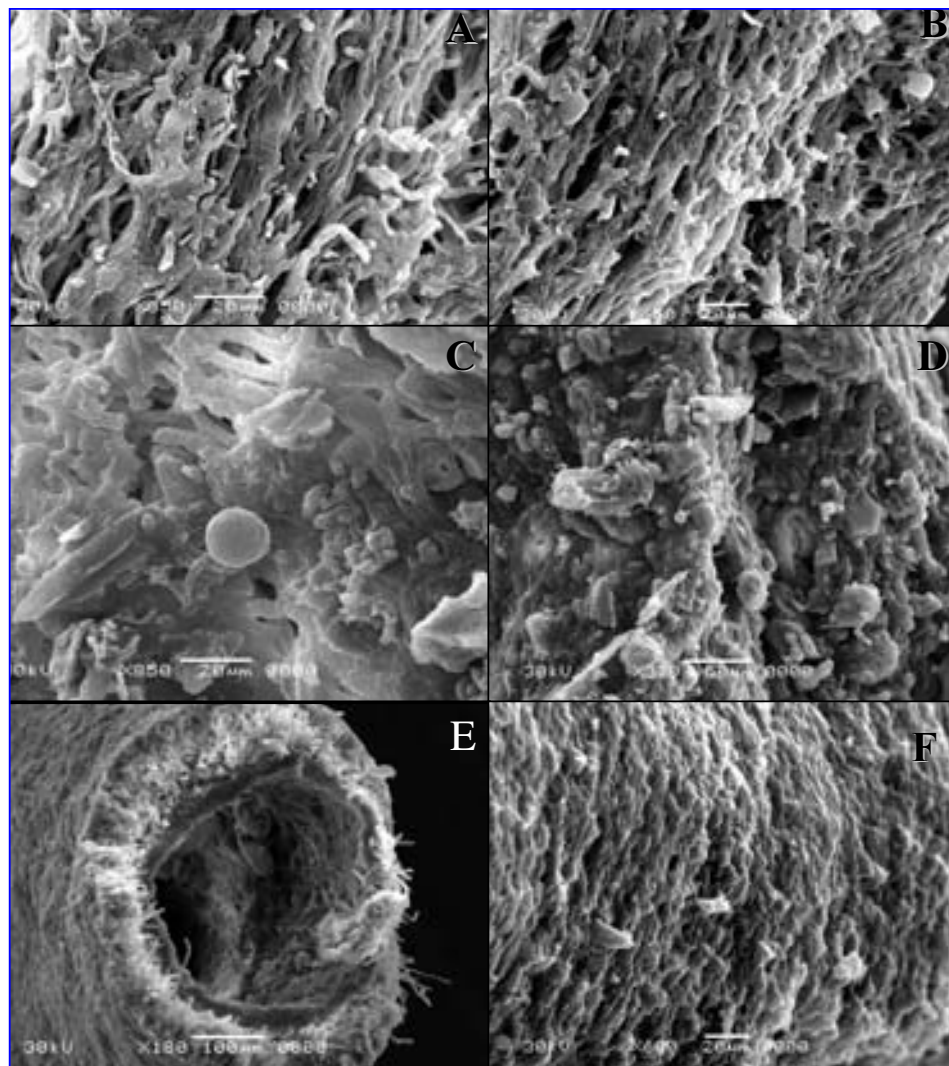
**Legenda :** A - março 2001;  
B - setembro 2001



**Figura 13:** Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de extratos orgânicos obtidos de *Cladonia verticillaris*, coletada na área de Alhandra (PB), exposta na Estação CHESF em Jaboatão – PE.

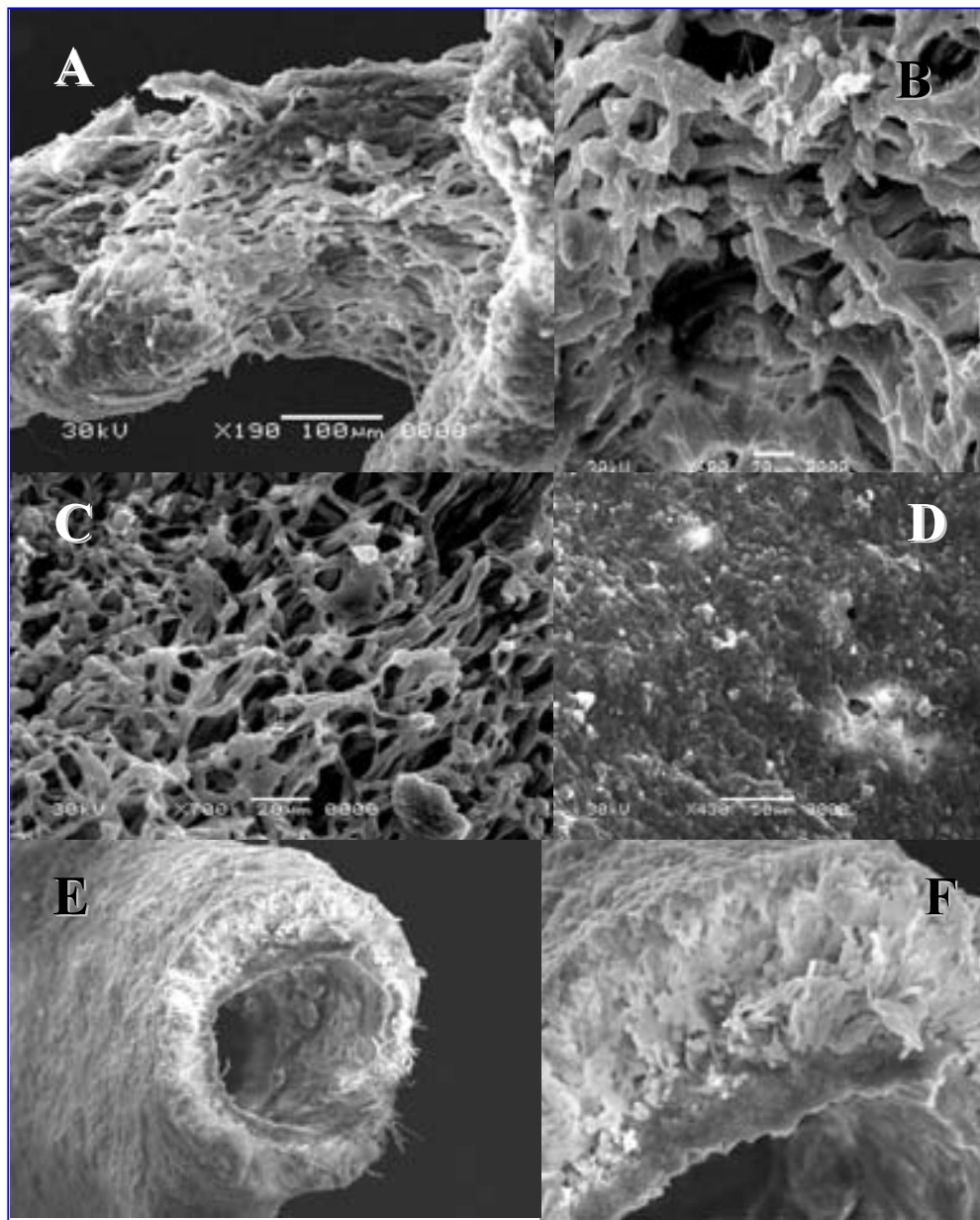
**Legenda :** A - março 2001;  
B - setembro 2001





**Figura 15** Micrografia de varredura de *Cladonia verticillaris*. Amostras submetidas ao ambiente na Estação Metrô, Jaboatão-PE. Período de doze meses (A, B), dezoito meses (C, D), e amostras controle (E, F), início do experimento, março 2000.





**Figura 16** Micrografia de varredura de *Cladonia verticillaris* , amostras submetidas ao ambiente na Estação CHESF. Jaboatão-PE. Período de 12 meses ano (A, B), 18 meses (C, D), amostras controle (E, F), início do experimento, março 2000.

## CONCLUSÕES

*C. verticillaris* empregada como biomonitor da qualidade do ar, respondeu de forma satisfatória a indicação de deterioração da qualidade do ar no período de exposição, em função da variação das emissões de poluentes atmosféricos, confirmando ainda a relação com os dados registrados na área de estudo por monitores mecânicos.

Em Jaboatão-PE, os resultados constatarem a influência da ação dos poluentes comparativamente aos diferentes níveis de concentração nas estações avaliadas, aos danos e reações apresentadas por *C. verticillaris*, comprovando a eficácia dos parâmetros ecofisiológicas de avaliação, sobretudo a análise da produção de fenóis e de danos à superfície do talo liquênico.

Devido a sensibilidade apresentada, a espécie valida o seu uso como mais um importante parâmetro para diagnóstico e avaliação de impactos ambientais decorrentes de atividades antropogênicas em qualquer região, bem como, para o acompanhamento sistemático de tendências de deterioração, ou manutenção da qualidade ambiental, em especial, do ar atmosférico.

## AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães. Fundação Osvaldo Cruz. Departamento de Patologia e Biologia Celular.

A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Departamento de Bioquímica. Laboratório de Produtos Naturais.

Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Reserva Biológica Guaribas – Mamanguape/PB.

A Companhia Pernambucana de Meio Ambiente (CPRH). Diretoria de Controle Ambiental. Gerência de laboratório.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Assunção, P. R. S. 1997. **Atlas do meio físico do Município do Jaboatão dos Guararapes**. Estado de Pernambuco. Recife: CPRM/FIDEM. 26p.

Barkman, J. J. 1958. Phytosociology and ecology of cryptogamic epiphytes. apud Seaward, M. R. D. 1993. Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies. **Environ. Rev** 1:73-91.

Brodo, I.M. 1961. Transplant experiments with corticolous lichens using a new technique. **Ecology**, 42:838-841. apud Seaward, M.R.D. 1993. Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies. **Environ. Rev.** 1:73-91.

Brodo, I.M. 1967. Lichen growth and cities: a study on Long Island, New York. **Briologist**, 69:427-449. pud Seaward, M. R. D. 1993. Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies. **Environ. Rev.** 1:73-91.

Cáceres, M.E.S.; Mota-Filho, F.; Silva, N.H.; Chen, A. R.; Losada, A. P.; Pereira, E. C. 1996. Estudo da ação de poluentes atmosféricos sobre líquens na cidade do Recife. p.370. In: **Anais do XLVII Congresso Nacional de Botânica**. Nova Friburgo-RJ, 1996.

COMPANHIA PERNAMBUCANA DE CONTROLE DA POLUIÇÃO AMBIENTAL E DE ADMINISTRAÇÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS 1995. **Manual de Procedimento, monitoramento da qualidade do ar** : CPRH/GTZ.

Falcão, E. P. S.; Silva, N. H.; Gusmão, N. B.; Ribeiro, S. M. A, Honda, N. K.; Pereira, E. C. (2002) Atividade antimicrobiana de compostos fenólicos do líquen *Heterodermia leucomela* (L.) Poelt. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, 21 (1): 43 - 49

- Lawrey, J. D. 1986. Biological role of lichen substances. **Bryologist**, v. 89, n. 2, p. 268-275.
- Le Blanc, F.; Rao, D. N. 1975. Effects of pollutants on lichens and bryophytes. In: Mudd, J. B.; Kozlowski, T. T. In: **Responses of plants to air pollution**. London, Academic Press, Inc. 11: 237 – 272.
- Nash, T. H. 1996. **Lichen Biology**. Cambridge University Press, Cambridge. 303p.
- Nieboer, E.; Ahmed, H.M.; Puckett, K. J.; Richardson, D.H.S. 1972. The heavy metal content of lichens in relation to distance from a nickel smelter in Sudbury, Ontario. **Lichenologist**, 5: 292-304.
- Pereira, E. C. 1989. **Efeito da sazonalidade na detecção de atividade antimicrobiana em *Cladonia* e *Cladina* (líquen)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 209 pág.
- Pereira, E. C.; Andrade, L. H. C.; Mota-Filho, F. O.; Silva, N. H.; Legaz, M. E.; Vicente, C. 1994. Avaliação da qualidade do ar na cidade do Recife, utilizando líquens como bioindicadores. p. 55. In: **Anais do IV Encontro Regional de Estudos Geográficos**, Garanhuns, PE.
- Pereira, E. C. 1998. Produção de metabólitos por espécies de Cladoniaceae (líquen), a partir de imobilização celular. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 240p.
- Pereira, E. C.; Vicente, C.; Legaz, M. E.; Silva, N. H.; Silva, E. F.; Andrade, L. H. C. 1999. Production of lichen metabolites through cell immobilization by *Cladonia clathrata* Ahti & Xavier-Filho. **Phyton** (Áustria), 39(1):79-89.
- Pilegaard, K. 1978. Airborne metals and SO<sub>2</sub> monitored by epiphytic lichens in an industrial area. **Environ. Pollut.**, 17:81-91.
- Vicente, C.; Legaz, M. E.; Pereira, E. C.; Andrade, L. H. C.; Silva, N. H.; Mota-Filho, F. O. 1994. Análise de clorofilas e feofitinas em líquens e plantas como parâmetro de indicação de poluição atmosférica (dados preliminares). p. 595 (2) In: **Anais do II Congresso de Ecologia do Brasil**, Londrina, PR.
- Rundel, P. W. 1987. The ecological role of secondary lichen metabolites . **Biol. System. Ecol.**, 6:157:170.
- Seaward, M. R. D. 1977. **Lichen Ecology**. Academic Press, Inc. London. 550p.
- Seaward, M. R. D. 1993. Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies. **Environ.Rev.** 1:73-91.

## **6. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES GERAIS**

## 6.1 DISCUSSÃO GERAL

Desde Merrien que, em 1894, utilizava animais vertebrados e plantas como indicadores ecológicos em zonas temperadas (Odum, 1997), até os dias atuais, utilizam-se como parâmetros de indicação de toxidade e poluição os biondicadores e biomonitores, que são organismos que têm a capacidade de fornecer informações sobre a qualidade do seu ambiente. Normalmente espera-se que seres indiquem a taxa de acumulação relativa (bioconcentração) dos poluentes de interesse, ou o impacto na densidade das populações e diversidade das comunidades (Branco, 1986).

O estabelecimento de um padrão de qualidade do ar pressupõe a fixação de concentrações de poluentes em níveis que possibilitem uma margem de segurança adequada, com o objetivo de garantir a proteção da saúde e o conforto da população, comprovado por meio de estudos científicos relativos ao efeito da ação do poluente. Do ponto de vista biológico, a indicação da poluição é percebida quando compostos ou microrganismos indesejáveis penetram em um ambiente, alterando suas propriedades químicas e físicas, colocando em perigo o equilíbrio da composição e distribuição das populações, etc (Cunha & Guerra, 1999). No Brasil foram estabelecidos legalmente padrões de qualidade do ar considerando parâmetros físico-químicos: o Padrão Primário, em função da proteção à saúde da população, e o Padrão Secundário que indica o mínimo efeito de degradação ou alterações no meio ambiente em geral (conforto da população, fauna e flora, materiais, etc).

O município de Jaboatão-PE, área de estudo, devido às características de ocupação do seu entorno ao longo dos anos, apresenta cenários de crescimento com conseqüente agravamento dos problemas decorrentes da deterioração da qualidade ambiental, tais como: poluição dos cursos hídricos; comprometimento da qualidade do ar; uso e ocupação do solo indisciplinado etc, pertinentes, na atualidade, aos núcleos urbanos de médio e grande porte, daí parte a necessidade do acompanhamento da tendência de deterioração e/ou melhoramento da qualidade do ar.

A primeira fase do presente trabalho (item 5.1) tratou da avaliação da concentração de metais pesados associados ao parâmetro Poeira Total em Suspensão (PTS) na área de estudo. A análise dos dados obtidos para as maiores concentrações mensais representam variações significativas e diferenciadas de concentrações de PTS no período de maio/2000 a setembro/2001 que, em média, na estação metrô, apresentou concentrações do poluente acima do padrão primário anual (MGA 80  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ), além da

ultrapassagem do padrão secundário ( $24\text{h} - 150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) em cinco, dos dezoito meses avaliados (mai/00; jun/00, abr/01, ago/01 e dez/01), para a estação CHESF, apesar das maiores concentrações mensais apresentarem resultados superiores a  $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ , os padrões legalmente estabelecidos não foram ultrapassados, demonstrando que as quantidades de poluentes são muito superiores na estação metrô às registradas naquela estação. Estas ocorrências podem ser explicadas se consideradas as características das áreas de medições relacionadas às influências das principais fontes de emissões para poluentes atmosféricos, em especial, a emissão de particulados. Cabe ainda observar que, devido a sazonalidade de operação da usina de açúcar na proximidade direta da estação CHESF, esta apresenta suas mais elevadas concentrações no período de novembro a março, que por sua vez corresponde ao período mais seco.

Relacionando os resultados obtidos com as variáveis meteorológicas, verifica-se a predominância de ventos de sudeste e, em geral, a falta de chuvas sempre compensada pela elevação da velocidade média do vento. Esta situação, de diminuição ou ausência de chuvas, associada às maiores concentrações de PTS registradas validam o incremento de partículas suspensas ou ressuspensas na atmosfera, em decorrência do aumento da velocidade do vento, sendo positivo na região, pois esse evento desfavorece a ocorrência de episódios agudos de poluição na região.

Para os dados de metais associados a PTS foram realizadas análises laboratoriais para os elementos Pb, Cd, Fe, Cu, Mn, Zn, Cr e Ni, não tendo sido registrados quaisquer concentrações para Cd, Cr, Ni e Pb. Os resultados para metais pesados não apresentaram associação direta com as maiores concentrações de PTS. Dentre os metais estudados o Fe e o Cu foram os elementos que apresentaram concentrações mais elevadas no ambiente em todas as amostras analisadas. Para o elemento Fe, foram detectados níveis acima de  $14.000 \mu\text{g.g}^{-1}$  na estação metrô, em todo o período, enquanto que a estação Chesf apresentou variações inferiores, porém bem significativas para os meses de mai/00, set/00 jun/01, jul/01 e ago/01. Para os demais meses do período de estudo os índices permaneceram acima de  $15.000\mu\text{g.g}^{-1}$ . Para o elemento Cu as concentrações detectadas representam uma situação inversa, pois as maiores concentrações foram detectadas na estação CHESF, em especial no período de mar/01 a ago/01 onde as concentrações apresentaram-se bem superiores ( $>10.000 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) aos demais quantificados. A situação não apresenta associação direta com as máximas concentrações de PTS, pois o período representa a entressafra de produção do açúcar na

região além de caracterizar o período chuvoso na área. No entanto, a emissão em potencial deste elemento está associada à operação do sistema de transmissão de energia elétrica da estação CHESF, devido a sua fiação e equipamentos conterem Cu. Assim sendo, o regime forçado de sucção do ar pelo equipamento de medição (Hi-vol), associado às baixas velocidades do vento no período, favoreceram que partículas de Cu fossem capturadas. O elemento Mn igualmente apresentou resultados significativos e elevados, tendo sido detectadas as maiores concentrações na estação CHESF, apesar dos dados apresentarem uma variação mais proporcional na estação metrô. Pode-se observar uma variação decrescente do metal no período de jun/01 a ago/01 na estação metrô, e a inexistência do elemento no material analisado para a estação CHESF. Para o elemento Zn foram detectadas concentrações muito elevadas nesta estação; no entanto, somente para períodos bem determinados, agosto/00 a dezembro/00 e de fevereiro/01 a maio/01. No metrô foi registrada uma única concentração do metal no mês de março/01.

A segunda fase deste trabalho constou da avaliação da concentração de metais em *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. utilizada para biomonitoramento ativo nos pontos de monitoramento da CPRH na área de estudo. As análises para concentrações de Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Pb, Cr, Cd e Ca foram determinadas, sub-capítulo 5.2. Os resultados obtidos demonstraram total ausência de Cd e diferenciadas concentrações em comparação aos elementos de referência às condições naturais da espécie: Ca ( $2.211\mu\text{g.g}^{-1}$ ); Fe ( $504\mu\text{g.g}^{-1}$ ); Zn ( $9\mu\text{g.g}^{-1}$ ); Cu ( $4\mu\text{g.g}^{-1}$ ); Mn ( $9\mu\text{g.g}^{-1}$ ), Ni ( $0,3\mu\text{g.g}^{-1}$ ), Pb ( $5\mu\text{g.g}^{-1}$ ), Cr ( $18\mu\text{g.g}^{-1}$ ). As concentrações obtidas ao longo do período de exposição apresentam características bem definidas em relação à área de abrangência dos pontos de medição, indicando a região central de Jaboatão-PE como área de maior agressividade de ação para poluentes atmosféricos. Quanto aos elementos analisados foram identificados total ausência de Cd e concentrações elevadas de Ca, Fe e Zn no ambiente, principalmente na estação metrô, sugerindo a influência direta das emissões oriundas do tráfego (veículos automotores e metrô de superfície), além das emissões da indústria de papel e papelão, comparadas à estação CHESF, que apresenta influência sazonal para emissões industriais em função da operação da usina de açúcar, com pouca influência de outras emissões atmosféricas. Os demais elementos Mn, Ni, Cr, Pb e Cu, apresentaram concentrações inferiores, porém significativas, com variações características para as áreas de exposição, indicando a região central de Jaboatão - PE como área de maior ação de poluentes tóxicos. À exceção do Zn, o decréscimo gradativo para as concentrações dos elementos Fe, Cu, Mn, Ni, Ca, Pb e Cr, obtidas nas

amostras coletadas na estação, ao final de 18 meses, podem ser justificadas pelas características meteorológicas da região, que apresentam como período mais chuvoso os meses de março a agosto propiciando, dessa forma, a lavagem do talo liquênico. A análise dos resultados indica que *C. verticillaris*, apresentou cumulativamente uma reação característica associada a cada elemento analisado, considerando as diferentes concentrações obtidas, frente às condições ambientais e ação de poluentes potenciais e característicos das áreas de exposição, validando sua reação inclusive, em associação aos dados obtidos no monitoramento executado pela CPRH na área de estudo.

A análise de *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. transportada de tabuleiros costeiros de Alhandra – PB, e submetida à ação de soluções de acetato de chumbo (0,1% e 1,0%) sob condições controladas no período de 10 dias (item 5.3) apresentaram comportamento semelhante ao das amostras submetidas ao ambiente urbano. No cromatograma resultante da análise de CCD foi possível assegurar que as amostras controle produziram o ácido fumarprotocetrárico e traços de atranorina, dados que confirmam o referido por Ahti et al. (1993), no entanto amostras submetidas ao PbOAc revelaram bandas mal evidenciadas dessas substâncias, o que sugere uma falha nesta produtividade. A produção de compostos intermediários na biossíntese do ácido fumarprotocetrárico pode ser justificada em função da dificuldade do transporte de enzimas e cofatores entre os simbiontes (Pereira et al., 1999), o que prejudica a biossíntese completa dos fenóis liquênicos, ou o bloqueio pela ação dos contaminantes de reações enzimáticas, em algumas etapas metabólicas do líquen. É provável que a assimilação do acetato de chumbo tenha se dado de tal maneira correlata que, ao penetrarem na célula, possam ter destruído as clorofilas e/ou os cloroplastos, prejudicando a fotossíntese, etapa inicial onde são elaborados os carboidratos pelo fotobionte que são repassados ao micobionte para a biossíntese das substâncias liquênicas. As amostras controle, submetidas a água deionizada, apresentaram após 24 h picos de produção de substâncias liquênicas aos 5,5 min, que pode ser do ácido fumarprotocetrárico, e picos próximos ao padrão da atranorina, ou seja 31,92 min. Para o mesmo período as amostras sob ação do acetato de chumbo (0,1% e 1,0%), apresentaram picos de substâncias aos 3,56 min e 3,05 min respectivamente, próximos aos teores padrões do ácido protocetrárico, e das substâncias intermediárias da biossíntese do ácido fumarprotocetrárico. Durante o experimento pode-se constatar uma redução drástica na produção de substâncias ausência de picos próximos ao ácido fumarprotocetrárico e atranorina, bem como a redução significativa de outras



substâncias intermediárias, detectadas nas amostras submetidas a água deionizada em todo o período. Isto ratifica a hipótese da biossíntese prejudicada pela ação de agentes contaminantes, seja pelo impedimento de parte da fotossíntese ou por inibição de alguma reação das etapas metabólicas, considerando que para o ácido fumarprotocetrárico ser elaborado, há necessidade do acoplamento de uma porção fumarato ao ácido protocetrárico, que depende da reação de condensação oxidativa. A continuidade da exposição levou à perda de produtividade do talo liquênico, visto que o teor de substâncias detectado, em função da concentração do acetato de chumbo (1,0%), foi muito reduzido desde o primeiro dia do experimento. O prejuízo na produção dos compostos fenólicos implica na desproteção do líquen contra as intempéries, e sugere um deslocamento de fenóis que estão na medula para o córtex, como mecanismo de defesa contra a ação de contaminantes.

Na análise da estrutura superficial, considerando que danos macroscópicos não são evidentes, a observação sob microscopia eletrônica de varredura auxilia na avaliação dos danos causados por contaminantes e neste caso foi possível observar, a partir da vista geral do talo de *C. verticillaris* tratado com água deionizada por 10 dias, que sua estrutura externa e o corte transversal com exposição das hifas demonstram a preservação do material biológico sob condições experimentais controladas. Isto foi ratificado analisando a micrografia com maior aproximação, enfatizando sua superfície externa. Por outro lado, ao final do experimento (10 dias), as amostras submetidas ao acetato de chumbo a 1% já demonstraram superfície altamente danificada, no entanto esses danos não foram observados em menor aumento. A análise de superfície demonstrou no período do experimento danos e exposição das hifas corticais. Dados da literatura são numerosos acerca dos danos estruturais e ultraestruturais que poluentes causam às células liquênicas (Seaward, 1977; Seaward, 1993; Nash, 1996).

Quanto aos elementos iônicos analisados, além do Ca, o Pb apresenta variações e concentrações gradativamente elevadas ao longo do período do experimento. Esta situação sugere uma bioacumulação progressiva de *Cladonia verticillaris* que pode ser justificada considerando a disponibilidade do elemento nas soluções e ação do acetato de chumbo no líquen. Quanto aos demais elementos, à exceção do Ca e do Fe que apresentaram variações e concentrações também significativas ao longo do experimento, os demais elementos apresentaram concentrações abaixo de 25  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Para o zinco os resultados demonstraram configuração diferenciada dos demais, pois observou-se uma acumulação progressiva na amostra controle, submetida a água

deionizada e uma perda gradativa na amostra submetida ao acetato de chumbo (1%). Os resultados de íons obtidos demonstraram uma variação de concentrações para todos os elementos estudados, Fe, Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Zn e Ca, em especial, a bioacumulação progressiva para Pb (2,0 - 21.860  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ).

A análise fisiológica de *Cladonia verticillaris*, transportada de tabuleiros costeiros arenosos em Mamanguape e Alhandra, Estado da Paraíba, para a área de estudo, o método, que embora tenha sido empregado pela primeira vez em Munique por Arnold, no fim do século passado (Barkman, 1958 apud Seaward, 1993), foi Brodo, com sua técnica de transplantar discos de casca de árvores contendo líquens, que fundamentou os importantes trabalhos sobre monitoramento ativo de poluição do ar atmosférico (Brodo, 1961; Brodo, 1967 apud Seaward, 1993). Os resultados correlacionados a produção de substâncias fenólicas, evidenciaram a existência de substâncias intermediárias na biossíntese dos ácidos liquênicos com prejuízo à produção da atranorina e do ácido fumarprotocetrárico, além da produção do ácido protocetrárico, como evidenciado nos experimentos em laboratório. A análise de superfície demonstrou perfurações, exposição do fotobionte, das hifas corticais, e provável migração de cristais de substâncias liquênicas da medula para o córtex. Foi comprovada a evidencia de maiores danos às amostras expostas na região de maior agressividade e concentração de poluentes, estação metrô em Jaboatão-PE (item 5.4). Os resultados demonstraram dados condizentes aos referenciados pela literatura. Quando observado o cromatograma (CCD) é notada a produção de substâncias intermediárias das vias metabólicas, ou a existência de produtos de degradação nas amostras expostas ao ambiente poluído. Pereira (1998) demonstra que células imobilizadas de *C. verticillaris* produzem o ácido hipoprotocetrárico e seu aldeído, além da atranorina, e não o ácido fumarprotocetrárico seu principal constituinte. Isto dificulta o transporte de NAD e FMN entre os simbiontes, prejudicando a biossíntese completa de seus fenóis. É também possível que os poluentes, ao penetrarem na célula, destruam as clorofilas e/ou os cloroplastos, prejudicando a fotossíntese, etapa inicial onde são elaborados os carboidratos pelo fotobionte, para repasse posterior ao micobionte para a biossíntese das substâncias liquênicas. O prejuízo na produção dos compostos fenólicos implica na desproteção do líquen contra as intempéries, e sugere um deslocamento de fenóis que estão na medula para o córtex, como mecanismo de defesa contra os agentes externos (poluentes). Pereira et al. (1994) demonstram, mediante análise comparativa de fenóis medulares e corticais de *Parmotrema praesorediosum*, que amostras procedentes de áreas poluídas

tinham muito menor teor de fenóis medulares, quando comparadas às coletadas em áreas menos afetadas.

É possível também que elementos inorgânicos presentes no ar impeçam ou dificultem alguma etapa do metabolismo liquênico produzindo, no final, o mesmo efeito, ou seja, síntese de substâncias intermediárias, produtos de degradação, ou mesmo a diminuição drástica no teor dos fenóis no talo liquênico da espécie estudada. Isto pode ser constatado nos líquens expostos na Estação Metrô, que tiveram o seu funcionamento extremamente prejudicado. A amostra com um ano de exposição produziu baixo teor da substância, cujo pico se deu aos 4,9 min, próximo ao detectado para o ácido fumarprotocetrárico, e o padrão apresentou tempo de retenção de 5,15 min. Por outro lado, houve uma maior produção de um composto detectado aos 3,61 min, que pode ser o ácido protocetrárico. Isto também ratifica a hipótese da biossíntese prejudicada pelos poluentes, seja pelo impedimento de parte da fotossíntese ou por inibição de alguma reação das etapas metabólicas. Para que o ácido fumaprotocetrárico seja elaborado, há necessidade do acoplamento de uma porção fumarato ao ácido protocetrárico, que depende da reação de condensação oxidativa (Pereira et al, 1999). A continuidade da exposição levou à perda de produtividade do talo liquênico, visto que o teor de substâncias detectado foi muito reduzido. Isto foi também constatado para as amostras de *C. verticillaris* procedentes de REBIO I e de ALH. Em adição, foi possível também observar uma produção de diversos compostos adicionais não identificados, quando se comparam os cromatogramas das amostras teste e controle.

Em avaliação geral, observa-se que na Estação Metrô a concentração de poluentes é bastante elevada, o que pode ser comprovado, a exemplo, com os dados do parâmetro Poeira Total em Suspensão (PTS), obtido no monitoramento executado pela CPRH, para o período de março do ano 2000 a setembro de 2001. Por outro lado, *C. verticillaris* quando exposta na Estação CHESF, teve seu funcionamento muito menos afetado pela ação dos poluentes. As amostras procedentes de Mamanguape (REBIO I e II), bem como de Alhandra (ALH), produziram quantidades maiores do ácido protocetrárico (PRO), como as expostas na Estação Metrô, entretanto as substâncias adicionais (produtos de degradação ou intermediárias) estão em menor quantidade, além de não haver uma redução drástica do teor de fenóis. É provável que esta maior produção se deva aos mesmos fatores recém mencionados em relação à interferência dos contaminantes nas rotas biossintéticas ratificando, mais uma vez, o prejuízo da biossíntese de substâncias típicas da espécie, causado pela ação dos poluentes. Em

nenhum dos casos a atranorina (ATR) foi detectada, apesar de ser uma substância que ocorre em menor teor no talo da *C. verticillaris* (Ahti et al., 1993), entretanto sempre constou nas amostras analisadas. No material controle foi detectado um pico por volta dos 10 min, o qual sugere-se ser tal substância (ATR). No entanto, quando isolada e purificada seu tempo de retenção muda, avançando para os 30 min. Falcão et al. (2002) comprovam tal premissa quando analisam por CLAE extratos brutos de *Heterodeimia leucomela*. Análises físico-químicas do extrato bruto da espécie e da atranorina purificada ratificaram os dados cromatográficos, após análise de espectros em infravermelho, cromatografia gasosa e ressonância nuclear magnética, onde os dados eram compatíveis com os da atranorina. Os autores sugerem que, quando contida no extrato, a atranorina tem polaridade modificada tornando afinidade menor com a coluna do cromatógrafo, e maior com a fase móvel utilizada. Quando isolada e purificada tem suas terminações livres de ligações com outras substâncias (liquênicas ou não) unindo-se mais fortemente à fase estacionária, que é bastante apolar.

Por outro lado, os resultados obtidos a partir da exposição da espécie na Estação CHESF indicam que seu funcionamento foi muito menos afetado pela ação dos poluentes. As amostras procedentes de Mamanguape, bem como de Alhandra produziram quantidades maiores do ácido protocetrário (PRO), como as expostas na Estação Metrô, entretanto as substâncias adicionais (produtos de degradação ou intermediárias) estão em menor quantidade, além de não haver uma redução drástica do teor de fenóis. De uma maneira geral, amostras submetidas ao PbOAc, ou expostas ao ambiente responderam de forma semelhante, e de maneira mais evidente em função da concentração dos contaminantes avaliados. Por isso, ensaios fisiológicos e químicos são importantes ferramentas para um diagnóstico sobre a ação dos poluentes atmosféricos em biomonitores. Eles detectam, de forma precoce, efeitos que só são evidentes quando o estado de degradação da área já é avançado. Danos macroscópicos apresentados na Figura 7 são mais visualizados após 18 meses de exposição. Por outro lado, mesmo em exame macroscópico, observa-se que as condições ambientais na área da Estação Metrô são mais agressivas do que na estação Chesf, em Jaboatão-PE.

## 6.2 DADOS CONCLUSIVOS

É imprescindível o monitoramento dos poluentes atmosféricos realizado a partir da medição sistemática de parâmetros físico-químicos adotados ou estabelecidos legalmente, a partir do uso de equipamentos em operação manual ou automática, sobretudo em áreas sob forte influência de fontes derivadas da ação antropogênica, cujo resultado se converte em problemas, geralmente graves.

Ratificando as hipóteses previstas para execução deste trabalho foi constatada a eficácia do uso como bioindicador da espécie *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. validando, dessa forma, a sua indicação como mais um importante parâmetro de avaliação para o diagnóstico da situação de contaminação e toxicidade do ambiente. As técnicas de avaliação aplicadas atenderam plenamente aos objetivos, considerando que:

1. partindo do conhecimento da eficácia dos líquens como bioindicadores e biomonitores da poluição atmosférica, referidos na literatura e já padronizados em diversos países da Europa, foi possível avaliar a variação dos poluentes em áreas distintas de Jaboatão-PE;
2. o uso da espécie *Cladonia verticillaris* possibilitou detectar ínfimos níveis de contaminantes no período experimental, bem como: analisar o comportamento da espécie frente a produção de substâncias fenólicas, incorrendo em prejuízo da biossíntese de substâncias típicas da espécie; evidenciar a degradação de sua estrutura externa devido a ação dos poluentes e/ou contaminantes; determinar as variações nas concentrações de elementos iônicos (nutrientes e/ou tóxicos) bioacumulados.
3. O cruzamento dos resultados obtidos nos experimentos com monitores biológicos e monitores mecânicos evidenciaram a região central de Jaboatão-PE como de maior agressividade dos poluentes atmosféricos, configurando a eficácia de resposta da espécie como bioparâmetro de análise para o diagnóstico de toxicidade do ambiente, principalmente com referência a identificação de íons metálicos, uma vez que a resposta da espécie foi de maior sensibilidade à indicação dos elementos mensurados.

4. Os resultados obtidos e o conhecimento das respostas fisiológicas da *C. verticillaris* ao ataque de poluentes podem auxiliar em planos de gestão ambiental, sobretudo em áreas propícias, ou impróprias, à instalação de indústrias e/ou outro tipo de atividade poluidora.

## 6.1 DISCUSSÃO GERAL

Desde Merrien que, em 1894, utilizava animais vertebrados e plantas como indicadores ecológicos em zonas temperadas (Odum, 1997), até os dias atuais, utilizam-se como parâmetros de indicação de toxidade e poluição os biondicadores e biomonitores, que são organismos que têm a capacidade de fornecer informações sobre a qualidade do seu ambiente. Normalmente espera-se que seres indiquem a taxa de acumulação relativa (bioconcentração) dos poluentes de interesse, ou o impacto na densidade das populações e diversidade das comunidades (Branco, 1986).

O estabelecimento de um padrão de qualidade do ar pressupõe a fixação de concentrações de poluentes em níveis que possibilitem uma margem de segurança adequada, com o objetivo de garantir a proteção da saúde e o conforto da população, comprovado por meio de estudos científicos relativos ao efeito da ação do poluente. Do ponto de vista biológico, a indicação da poluição é percebida quando compostos ou microrganismos indesejáveis penetram em um ambiente, alterando suas propriedades químicas e físicas, colocando em perigo o equilíbrio da composição e distribuição das populações, etc (Cunha & Guerra, 1999). No Brasil foram estabelecidos legalmente padrões de qualidade do ar considerando parâmetros físico-químicos: o Padrão Primário, em função da proteção à saúde da população, e o Padrão Secundário que indica o mínimo efeito de degradação ou alterações no meio ambiente em geral (conforto da população, fauna e flora, materiais, etc).

O município de Jaboatão-PE, área de estudo, devido às características de ocupação do seu entorno ao longo dos anos, apresenta cenários de crescimento com conseqüente agravamento dos problemas decorrentes da deterioração da qualidade ambiental, tais como: poluição dos cursos hídricos; comprometimento da qualidade do ar; uso e ocupação do solo indisciplinado etc, pertinentes, na atualidade, aos núcleos urbanos de médio e grande porte, daí parte a necessidade do acompanhamento da tendência de deterioração e/ou melhoramento da qualidade do ar.

A primeira fase do presente trabalho (item 5.1) tratou da avaliação da concentração de metais pesados associados ao parâmetro Poeira Total em Suspensão (PTS) na área de estudo. A análise dos dados obtidos para as maiores concentrações mensais representam variações significativas e diferenciadas de concentrações de PTS no período de maio/2000 a setembro/2001 que, em média, na estação metrô, apresentou concentrações do poluente acima do padrão primário anual (MGA 80  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ), além da

ultrapassagem do padrão secundário ( $24\text{h} - 150\text{ }\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) em cinco, dos dezoito meses avaliados (mai/00; jun/00, abr/01, ago/01 e dez/01), para a estação CHESF, apesar das maiores concentrações mensais apresentarem resultados superiores a  $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ , os padrões legalmente estabelecidos não foram ultrapassados, demonstrando que as quantidades de poluentes são muito superiores na estação metrô às registradas naquela estação. Estas ocorrências podem ser explicadas se consideradas as características das áreas de medições relacionadas às influências das principais fontes de emissões para poluentes atmosféricos, em especial, a emissão de particulados. Cabe ainda observar que, devido a sazonalidade de operação da usina de açúcar na proximidade direta da estação CHESF, esta apresenta suas mais elevadas concentrações no período de novembro a março, que por sua vez corresponde ao período mais seco.

Relacionando os resultados obtidos com as variáveis meteorológicas, verifica-se a predominância de ventos de sudeste e, em geral, a falta de chuvas sempre compensada pela elevação da velocidade média do vento. Esta situação, de diminuição ou ausência de chuvas, associada às maiores concentrações de PTS registradas validam o incremento de partículas suspensas ou ressuspensas na atmosfera, em decorrência do aumento da velocidade do vento, sendo positivo na região, pois esse evento desfavorece a ocorrência de episódios agudos de poluição na região.

Para os dados de metais associados a PTS foram realizadas análises laboratoriais para os elementos Pb, Cd, Fe, Cu, Mn, Zn, Cr e Ni, não tendo sido registrados quaisquer concentrações para Cd, Cr, Ni e Pb. Os resultados para metais pesados não apresentaram associação direta com as maiores concentrações de PTS. Dentre os metais estudados o Fe e o Cu foram os elementos que apresentaram concentrações mais elevadas no ambiente em todas as amostras analisadas. Para o elemento Fe, foram detectados níveis acima de  $14.000\text{ }\mu\text{g.g}^{-1}$  na estação metrô, em todo o período, enquanto que a estação Chesf apresentou variações inferiores, porém bem significativas para os meses de mai/00, set/00 jun/01, jul/01 e ago/01. Para os demais meses do período de estudo os índices permaneceram acima de  $15.000\mu\text{g.g}^{-1}$ . Para o elemento Cu as concentrações detectadas representam uma situação inversa, pois as maiores concentrações foram detectadas na estação CHESF, em especial no período de mar/01 a ago/01 onde as concentrações apresentaram-se bem superiores ( $>10.000\text{ }\mu\text{g.g}^{-1}$ ) aos demais quantificados. A situação não apresenta associação direta com as máximas concentrações de PTS, pois o período representa a entressafra de produção do açúcar na



região além de caracterizar o período chuvoso na área. No entanto, a emissão em potencial deste elemento está associada à operação do sistema de transmissão de energia elétrica da estação CHESF, devido a sua fiação e equipamentos conterem Cu. Assim sendo, o regime forçado de sucção do ar pelo equipamento de medição (Hi-vol), associado às baixas velocidades do vento no período, favoreceram que partículas de Cu fossem capturadas. O elemento Mn igualmente apresentou resultados significativos e elevados, tendo sido detectadas as maiores concentrações na estação CHESF, apesar dos dados apresentarem uma variação mais proporcional na estação metrô. Pode-se observar uma variação decrescente do metal no período de jun/01 a ago/01 na estação metrô, e a inexistência do elemento no material analisado para a estação CHESF. Para o elemento Zn foram detectadas concentrações muito elevadas nesta estação; no entanto, somente para períodos bem determinados, agosto/00 a dezembro/00 e de fevereiro/01 a maio/01. No metrô foi registrada uma única concentração do metal no mês de março/01.

A segunda fase deste trabalho constou da avaliação da concentração de metais em *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. utilizada para biomonitoramento ativo nos pontos de monitoramento da CPRH na área de estudo. As análises para concentrações de Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Pb, Cr, Cd e Ca foram determinadas, sub-capítulo 5.2. Os resultados obtidos demonstraram total ausência de Cd e diferenciadas concentrações em comparação aos elementos de referência às condições naturais da espécie: Ca ( $2.211\mu\text{g.g}^{-1}$ ); Fe ( $504\mu\text{g.g}^{-1}$ ); Zn ( $9\mu\text{g.g}^{-1}$ ); Cu ( $4\mu\text{g.g}^{-1}$ ); Mn ( $9\mu\text{g.g}^{-1}$ ), Ni ( $0,3\mu\text{g.g}^{-1}$ ), Pb ( $5\mu\text{g.g}^{-1}$ ), Cr ( $18\mu\text{g.g}^{-1}$ ). As concentrações obtidas ao longo do período de exposição apresentam características bem definidas em relação à área de abrangência dos pontos de medição, indicando a região central de Jaboatão-PE como área de maior agressividade de ação para poluentes atmosféricos. Quanto aos elementos analisados foram identificados total ausência de Cd e concentrações elevadas de Ca, Fe e Zn no ambiente, principalmente na estação metrô, sugerindo a influência direta das emissões oriundas do tráfego (veículos automotores e metrô de superfície), além das emissões da indústria de papel e papelão, comparadas à estação CHESF, que apresenta influência sazonal para emissões industriais em função da operação da usina de açúcar, com pouca influência de outras emissões atmosféricas. Os demais elementos Mn, Ni, Cr, Pb e Cu, apresentaram concentrações inferiores, porém significativas, com variações características para as áreas de exposição, indicando a região central de Jaboatão - PE como área de maior ação de poluentes tóxicos. À exceção do Zn, o decréscimo gradativo para as concentrações dos elementos Fe, Cu, Mn, Ni, Ca, Pb e Cr, obtidas nas

amostras coletadas na estação, ao final de 18 meses, podem ser justificadas pelas características meteorológicas da região, que apresentam como período mais chuvoso os meses de março a agosto propiciando, dessa forma, a lavagem do talo liquênico. A análise dos resultados indica que *C. verticillaris*, apresentou cumulativamente uma reação característica associada a cada elemento analisado, considerando as diferentes concentrações obtidas, frente às condições ambientais e ação de poluentes potenciais e característicos das áreas de exposição, validando sua reação inclusive, em associação aos dados obtidos no monitoramento executado pela CPRH na área de estudo.

A análise de *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. transportada de tabuleiros costeiros de Alhandra – PB, e submetida à ação de soluções de acetato de chumbo (0,1% e 1,0%) sob condições controladas no período de 10 dias (item 5.3) apresentaram comportamento semelhante ao das amostras submetidas ao ambiente urbano. No cromatograma resultante da análise de CCD foi possível assegurar que as amostras controle produziram o ácido fumarprotocetrárico e traços de atranorina, dados que confirmam o referido por Ahti et al. (1993), no entanto amostras submetidas ao PbOAc revelaram bandas mal evidenciadas dessas substâncias, o que sugere uma falha nesta produtividade. A produção de compostos intermediários na biossíntese do ácido fumarprotocetrárico pode ser justificada em função da dificuldade do transporte de enzimas e cofatores entre os simbiontes (Pereira et al., 1999), o que prejudica a biossíntese completa dos fenóis liquênicos, ou o bloqueio pela ação dos contaminantes de reações enzimáticas, em algumas etapas metabólicas do líquen. É provável que a assimilação do acetato de chumbo tenha se dado de tal maneira correlata que, ao penetrarem na célula, possam ter destruído as clorofilas e/ou os cloroplastos, prejudicando a fotossíntese, etapa inicial onde são elaborados os carboidratos pelo fotobionte que são repassados ao micobionte para a biossíntese das substâncias liquênicas. As amostras controle, submetidas a água deionizada, apresentaram após 24 h picos de produção de substâncias liquênicas aos 5,5 min, que pode ser do ácido fumarprotocetrárico, e picos próximos ao padrão da atranorina, ou seja 31,92 min. Para o mesmo período as amostras sob ação do acetato de chumbo (0,1% e 1,0%), apresentaram picos de substâncias aos 3,56 min e 3,05 min respectivamente, próximos aos teores padrões do ácido protocetrárico, e das substâncias intermediárias da biossíntese do ácido fumarprotocetrárico. Durante o experimento pode-se constatar uma redução drástica na produção de substâncias ausência de picos próximos ao ácido fumarprotocetrárico e atranorina, bem como a redução significativa de outras

substâncias intermediárias, detectadas nas amostras submetidas a água deionizada em todo o período. Isto ratifica a hipótese da biossíntese prejudicada pela ação de agentes contaminantes, seja pelo impedimento de parte da fotossíntese ou por inibição de alguma reação das etapas metabólicas, considerando que para o ácido fumarprotocetrárico ser elaborado, há necessidade do acoplamento de uma porção fumarato ao ácido protocetrárico, que depende da reação de condensação oxidativa. A continuidade da exposição levou à perda de produtividade do talo liquênico, visto que o teor de substâncias detectado, em função da concentração do acetato de chumbo (1,0%), foi muito reduzido desde o primeiro dia do experimento. O prejuízo na produção dos compostos fenólicos implica na desproteção do líquen contra as intempéries, e sugere um deslocamento de fenóis que estão na medula para o córtex, como mecanismo de defesa contra a ação de contaminantes.

Na análise da estrutura superficial, considerando que danos macroscópicos não são evidentes, a observação sob microscopia eletrônica de varredura auxilia na avaliação dos danos causados por contaminantes e neste caso foi possível observar, a partir da vista geral do talo de *C. verticillaris* tratado com água deionizada por 10 dias, que sua estrutura externa e o corte transversal com exposição das hifas demonstram a preservação do material biológico sob condições experimentais controladas. Isto foi ratificado analisando a micrografia com maior aproximação, enfatizando sua superfície externa. Por outro lado, ao final do experimento (10 dias), as amostras submetidas ao acetato de chumbo a 1% já demonstraram superfície altamente danificada, no entanto esses danos não foram observados em menor aumento. A análise de superfície demonstrou no período do experimento danos e exposição das hifas corticais. Dados da literatura são numerosos acerca dos danos estruturais e ultraestruturais que poluentes causam às células liquênicas (Seaward, 1977; Seaward, 1993; Nash, 1996).

Quanto aos elementos iônicos analisados, além do Ca, o Pb apresenta variações e concentrações gradativamente elevadas ao longo do período do experimento. Esta situação sugere uma bioacumulação progressiva de *Cladonia verticillaris* que pode ser justificada considerando a disponibilidade do elemento nas soluções e ação do acetato de chumbo no líquen. Quanto aos demais elementos, à exceção do Ca e do Fe que apresentaram variações e concentrações também significativas ao longo do experimento, os demais elementos apresentaram concentrações abaixo de 25  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Para o zinco os resultados demonstraram configuração diferenciada dos demais, pois observou-se uma acumulação progressiva na amostra controle, submetida a água

deionizada e uma perda gradativa na amostra submetida ao acetato de chumbo (1%). Os resultados de íons obtidos demonstraram uma variação de concentrações para todos os elementos estudados, Fe, Cd, Pb, Cu, Cr, Mn, Ni, Zn e Ca, em especial, a bioacumulação progressiva para Pb (2,0 - 21.860  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ).

A análise fisiológica de *Cladonia verticillaris*, transportada de tabuleiros costeiros arenosos em Mamanguape e Alhandra, Estado da Paraíba, para a área de estudo, o método, que embora tenha sido empregado pela primeira vez em Munique por Arnold, no fim do século passado (Barkman, 1958 apud Seaward, 1993), foi Brodo, com sua técnica de transplantar discos de casca de árvores contendo líquens, que fundamentou os importantes trabalhos sobre monitoramento ativo de poluição do ar atmosférico (Brodo, 1961; Brodo, 1967 apud Seaward, 1993). Os resultados correlacionados a produção de substâncias fenólicas, evidenciaram a existência de substâncias intermediárias na biossíntese dos ácidos liquênicos com prejuízo à produção da atranorina e do ácido fumarprotocetrárico, além da produção do ácido protocetrárico, como evidenciado nos experimentos em laboratório. A análise de superfície demonstrou perfurações, exposição do fotobionte, das hifas corticais, e provável migração de cristais de substâncias liquênicas da medula para o córtex. Foi comprovada a evidencia de maiores danos às amostras expostas na região de maior agressividade e concentração de poluentes, estação metrô em Jaboatão-PE (item 5.4). Os resultados demonstraram dados condizentes aos referenciados pela literatura. Quando observado o cromatograma (CCD) é notada a produção de substâncias intermediárias das vias metabólicas, ou a existência de produtos de degradação nas amostras expostas ao ambiente poluído. Pereira (1998) demonstra que células imobilizadas de *C. verticillaris* produzem o ácido hipoprotocetrárico e seu aldeído, além da atranorina, e não o ácido fumarprotocetrárico seu principal constituinte. Isto dificulta o transporte de NAD e FMN entre os simbiontes, prejudicando a biossíntese completa de seus fenóis. É também possível que os poluentes, ao penetrarem na célula, destruam as clorofilas e/ou os cloroplastos, prejudicando a fotossíntese, etapa inicial onde são elaborados os carboidratos pelo fotobionte, para repasse posterior ao micobionte para a biossíntese das substâncias liquênicas. O prejuízo na produção dos compostos fenólicos implica na desproteção do líquen contra as intempéries, e sugere um deslocamento de fenóis que estão na medula para o córtex, como mecanismo de defesa contra os agentes externos (poluentes). Pereira et al. (1994) demonstram, mediante análise comparativa de fenóis medulares e corticais de *Parmotrema praesorediosum*, que amostras procedentes de áreas poluídas

tinham muito menor teor de fenóis medulares, quando comparadas às coletadas em áreas menos afetadas.

É possível também que elementos inorgânicos presentes no ar impeçam ou dificultem alguma etapa do metabolismo liquênico produzindo, no final, o mesmo efeito, ou seja, síntese de substâncias intermediárias, produtos de degradação, ou mesmo a diminuição drástica no teor dos fenóis no talo liquênico da espécie estudada. Isto pode ser constatado nos líquens expostos na Estação Metrô, que tiveram o seu funcionamento extremamente prejudicado. A amostra com um ano de exposição produziu baixo teor da substância, cujo pico se deu aos 4,9 min, próximo ao detectado para o ácido fumarprotocetrárico, e o padrão apresentou tempo de retenção de 5,15 min. Por outro lado, houve uma maior produção de um composto detectado aos 3,61 min, que pode ser o ácido protocetrárico. Isto também ratifica a hipótese da biossíntese prejudicada pelos poluentes, seja pelo impedimento de parte da fotossíntese ou por inibição de alguma reação das etapas metabólicas. Para que o ácido fumaprotocetrárico seja elaborado, há necessidade do acoplamento de uma porção fumarato ao ácido protocetrárico, que depende da reação de condensação oxidativa (Pereira et al, 1999). A continuidade da exposição levou à perda de produtividade do talo liquênico, visto que o teor de substâncias detectado foi muito reduzido. Isto foi também constatado para as amostras de *C. verticillaris* procedentes de REBIO I e de ALH. Em adição, foi possível também observar uma produção de diversos compostos adicionais não identificados, quando se comparam os cromatogramas das amostras teste e controle.

Em avaliação geral, observa-se que na Estação Metrô a concentração de poluentes é bastante elevada, o que pode ser comprovado, a exemplo, com os dados do parâmetro Poeira Total em Suspensão (PTS), obtido no monitoramento executado pela CPRH, para o período de março do ano 2000 a setembro de 2001. Por outro lado, *C. verticillaris* quando exposta na Estação CHESF, teve seu funcionamento muito menos afetado pela ação dos poluentes. As amostras procedentes de Mamanguape (REBIO I e II), bem como de Alhandra (ALH), produziram quantidades maiores do ácido protocetrárico (PRO), como as expostas na Estação Metrô, entretanto as substâncias adicionais (produtos de degradação ou intermediárias) estão em menor quantidade, além de não haver uma redução drástica do teor de fenóis. É provável que esta maior produção se deva aos mesmos fatores recém mencionados em relação à interferência dos contaminantes nas rotas biossintéticas ratificando, mais uma vez, o prejuízo da biossíntese de substâncias típicas da espécie, causado pela ação dos poluentes. Em

nenhum dos casos a atranorina (ATR) foi detectada, apesar de ser uma substância que ocorre em menor teor no talo da *C. verticillaris* (Ahti et al., 1993), entretanto sempre constou nas amostras analisadas. No material controle foi detectado um pico por volta dos 10 min, o qual sugere-se ser tal substância (ATR). No entanto, quando isolada e purificada seu tempo de retenção muda, avançando para os 30 min. Falcão et al. (2002) comprovam tal premissa quando analisam por CLAE extratos brutos de *Heterodeimia leucomela*. Análises físico-químicas do extrato bruto da espécie e da atranorina purificada ratificaram os dados cromatográficos, após análise de espectros em infravermelho, cromatografia gasosa e ressonância nuclear magnética, onde os dados eram compatíveis com os da atranorina. Os autores sugerem que, quando contida no extrato, a atranorina tem polaridade modificada tornando afinidade menor com a coluna do cromatógrafo, e maior com a fase móvel utilizada. Quando isolada e purificada tem suas terminações livres de ligações com outras substâncias (liquênicas ou não) unindo-se mais fortemente à fase estacionária, que é bastante apolar.

Por outro lado, os resultados obtidos a partir da exposição da espécie na Estação CHESF indicam que seu funcionamento foi muito menos afetado pela ação dos poluentes. As amostras procedentes de Mamanguape, bem como de Alhandra produziram quantidades maiores do ácido protocetrário (PRO), como as expostas na Estação Metrô, entretanto as substâncias adicionais (produtos de degradação ou intermediárias) estão em menor quantidade, além de não haver uma redução drástica do teor de fenóis. De uma maneira geral, amostras submetidas ao PbOAc, ou expostas ao ambiente responderam de forma semelhante, e de maneira mais evidente em função da concentração dos contaminantes avaliados. Por isso, ensaios fisiológicos e químicos são importantes ferramentas para um diagnóstico sobre a ação dos poluentes atmosféricos em biomonitores. Eles detectam, de forma precoce, efeitos que só são evidentes quando o estado de degradação da área já é avançado. Danos macroscópicos apresentados na Figura 7 são mais visualizados após 18 meses de exposição. Por outro lado, mesmo em exame macroscópico, observa-se que as condições ambientais na área da Estação Metrô são mais agressivas do que na estação Chesf, em Jaboatão-PE.

## 6.2 DADOS CONCLUSIVOS

É imprescindível o monitoramento dos poluentes atmosféricos realizado a partir da medição sistemática de parâmetros físico-químicos adotados ou estabelecidos legalmente, a partir do uso de equipamentos em operação manual ou automática, sobretudo em áreas sob forte influência de fontes derivadas da ação antropogênica, cujo resultado se converte em problemas, geralmente graves.

Ratificando as hipóteses previstas para execução deste trabalho foi constatada a eficácia do uso como bioindicador da espécie *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. validando, dessa forma, a sua indicação como mais um importante parâmetro de avaliação para o diagnóstico da situação de contaminação e toxicidade do ambiente. As técnicas de avaliação aplicadas atenderam plenamente aos objetivos, considerando que:

1. partindo do conhecimento da eficácia dos líquens como bioindicadores e biomonitores da poluição atmosférica, referidos na literatura e já padronizados em diversos países da Europa, foi possível avaliar a variação dos poluentes em áreas distintas de Jaboatão-PE;
2. o uso da espécie *Cladonia verticillaris* possibilitou detectar ínfimos níveis de contaminantes no período experimental, bem como: analisar o comportamento da espécie frente a produção de substâncias fenólicas, incorrendo em prejuízo da biossíntese de substâncias típicas da espécie; evidenciar a degradação de sua estrutura externa devido a ação dos poluentes e/ou contaminantes; determinar as variações nas concentrações de elementos iônicos (nutrientes e/ou tóxicos) bioacumulados.
3. O cruzamento dos resultados obtidos nos experimentos com monitores biológicos e monitores mecânicos evidenciaram a região central de Jaboatão-PE como de maior agressividade dos poluentes atmosféricos, configurando a eficácia de resposta da espécie como bioparâmetro de análise para o diagnóstico de toxicidade do ambiente, principalmente com referência a identificação de íons metálicos, uma vez que a resposta da espécie foi de maior sensibilidade à indicação dos elementos mensurados.

4. Os resultados obtidos e o conhecimento das respostas fisiológicas da *C. verticillaris* ao ataque de poluentes podem auxiliar em planos de gestão ambiental, sobretudo em áreas propícias, ou impróprias, à instalação de indústrias e/ou outro tipo de atividade poluidora.



## **7. ABSTRACT**

## ABSTRACT

Liquens are recognized as environmental bioindicators and biomonitors of air quality. In this research the District of Jaboatão, Metropolitan Meso-region of Recife (MMR), Pernambuco, Brazil was selected for evaluating the air quality in that area, correlating data obtained from the biological monitors – liquens, with the results obtained in the stations of mechanical monitoring installed by the Environmental Company from Pernambuco State (CPRH). Lichen of the species *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. was the used biomonitor. The species was collected in sandy soils of coastal savannah tipe vegetation (cerrado) of Paraíba State (NE of Brazil), in the following areas: Mamanguape, in the Biological Reservation of Guaribas, and in Alhandra, at the margins of BR 101 road. The active biomonitors were collected in and kept in plastic recipients, as well as the soil of occurrence area, their substratum. Experiments of transplant of the lichen material were kept on the stations of mechanical monitoring of CPRH located in the Subway Station (point 1) and other in the Companhia Hidroelétrica do São Francisco CHESF (point 2) in the studied district. The samples of both occurence areas were collected in March of 2000, and immediately exposed to the atmosphere in the experimental points. After 12 and 18 months exposition to the environmental pollutants, samples were removed and analyzed chemical and physiologically. There were quantified by Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry (ICP/AES) the content of Pb, Cd, Fe, Cu, Mn, Zn, Cr, Ni and Ca. Part of the same samples were extracted with acetone until exhaustion, at room temperature ( $28^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{C}$ ), and analyzed by Thin Layer Chromatography (TLC), and High Performance Liquid Chromatography (HPLC), for identification and quantification of the lichen phenols contained in the samples. Filters of high volume samples (HiI-vol) of CPRH were evaluated and determined the content of Pb, Cd, Fe, Cu, Mn, Cr, Zn and Ni. For this experiment there were considered the representative samples for largest monthly concentrations of Total Suspended Particles (TSP), whose filters were removed in the same period as the biomonitors. The heavy metals above mentioned were determined through Atomic Absorption Spectrometry (AAS). The verification of the behavior exhibited by *C. verticillaris*, under laboratorial conditions, experiments were realized, where samples of the lichen were daily sprayed with lead acetate solutions at 1%, 0,1%, or deionized water as control group. Samples were collected to 24h, 48h 5

and 10 days, being later analyzed, according to the same parameters already referred for the material exposed to the environmental conditions. At the end, the more preserved samples, and the damaged ones, as from the field experiments as the laboratory, were analyzed by Scanning Eletronic Microscopy (SEM). The results demonstrated that all samples had lost the synthesis of phenols common of the species. Analyses in TLC and HPLC, proved the occurrence of different substances detected in the standard samples. HPLC analysis demonstrated that the pollutants harmed the synthesis of phenolics as in qualitative aspect (intermediary substances of the metabolic pathway), as in the total content of produced substances. It was evidenced the productio of protocetraric acid, besides the hypoprotocetraric acid and its aldehyde, as intermediary products. It was suggested tha the low content of compounds, and/or the production of intermediary metabolites have been occured by damage in the photosynsthesis, by cell acidification by pollutants,the blocking of enzymatic reactions by elements that contaminated the lichen, or tha association of these aspects. In relation to the quantification of the pollutants, the prevalence of Pb, Fe, Ca, Mn, Zn and Cr in the lichen samples was detected. In filters removed from mechanical monitoring the Fe, Cu, Mn and Zn were detected in highest amount. In the material submitted to the lead acetate, it was verified that the number of days of exposition (10) was enough for harming the lichen in physiological aspect. Analyses for Scanning Eletronic Microcopy (SEM) revealed a total disorder in the surface of the lichen thallus, after exposition to pollutants. The photobiont cells not visualized in the control samples were easily exposed, becoming unprotected under high level of pollutants influence. Similar data were obtained for the laboratorial experiments. *C. verticillaris* surface began exfoliation process resulting in its destruction. It was possible to conclude that the central zone of the city, near the subway station, is more polluted, and *C. verticillaris*, as biomonitor, had demonstrated capacity of registering the lowest levels of pollutants, including as bioaccumulator of nutrients and toxic ionic elements, and in that context, has validating its use as one more parameter for evaluation of the environmental quality, especially of the atmospheric air.

**Key words:** *Cladonia verticillaris*, lichen, biomonitor, air pollution, air monitoring, lead acetate, Jaboatão-PE.

## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Andrade, M. C. **Atlas Escolar de Pernambuco**/Coordenador Manuel Correia de Oliveira Andrade. – João Pessoa: GRAFSET,©.1999.112p.

Andrade, Gilberto O. E Lins, Rachel Caldas. **Pirapama: um estudo geográfico e histórico**. Editora Massangana, FUNDAJ, Recife, 1984, 221p.

Assunção, P. R. S. Atlas do meio físico do Município do Jaboatão dos Guararapes. Estado de Pernambuco. Recife:CPRM/FIDEM. 1997. 26p.il.

Cunha, S.; Guerra, A. T. Avaliação e Perícia Ambiental. Rio de Janeiro; Bertrand Brasil,1999. 266p.

Ahti, T. Evolutionary trends in cladoniiform lichens. **Journ. Hattori Bot. Lab.**, v. 52, p. 331-341, 1982.

Ahti, T. Lichens from boreal coniferous zone. In: **Lichen Ecology** M. R. D. Seaward (ed.), Academic Press, London, 1977. p. 145-181.

Ahti, T. The status of *Cladina* as a genus segregated from *Cladonia*. **Nova Hedwigia**, v. 79, p. 25-61, 1984.

Ahti, T. Stenroos, S.; Xavier-Filho, L. The lichen family Cladoniaceae in Paraíba, Pernambuco and Sergipe, northeast Brazil. **Tropical Biology**, v. 7, p. 55-70, 1993.

Ahmadjian, V.; Jacobs, J. B. Artificial restablishment of lichens. VI. Comparision between natural and synthetic thalli of *Usnea strigosa*. **Lichenologist**, v. 17, p. 149-166, 1981.

Asahina, Y.; Shibata, S. **Chemistry of lichen substances**. Tokio, Japanese Society for the Promotion of Science, 1954. 240p

Baddeley, M. S., Hawksworth, D.L. **Air Pollution and Lichens**. University of London, 1973. 389p.

Barkman, J.J. Phytosociology and ecology of cryptogamic epiphytes. 1958, apud Seaward, M.R.D. Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies.**Environ. Rev** 1:73-91. 1993.

Bataglia, O. C.; Furlani, A. M. C.; Teixeira, J. P. F.; Furlani, P. R.; Gallo, J. R. *Bol. Técnico do Inst. Agrônômico de Campinas*, **1983**, **78**.

Bellemère, A. Contribution à l'étude du développement de l'apothécie chez les Discomycètes Inorculés. **Bull. Soc. Mycol. France**, v. 83, p. 393-640, 1967.

Bigarella, J. J.; Andrade, G.O.. Considerações sobre a Estratigrafia dos Sedimentos Cenozóicos em Pernambuco. **Bol. Inst. Cien. da Terra**, **2**, 6-8, 1964.

Branco, S. M.; Murgel, **Poluição do ar**. Coleção Polêmica. São Paulo, Ed. Moderna, 1995, 87p.

Brito Neves, B.B. de. **Regionalização geotetônica do Precambiano Nordestino. São Paulo**, 1975.198p. Tese (Doutorado) – Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, 1975.

Brodo, I.M. Transplant experiments with corticolous lichens using a new technique. **Ecology**, **42**:838-841. 1961, apud Seaward, M.R.D. Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies. **Environ. Rev.** **1**:73-91. 1993.

Brodo, I.M. Lichen growth and cities: a study on Long Island, New York. **Briologist**, **69**:427-449, 1967. apud Seaward, M.R.D. Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies. **Environ. Rev.** **1**:73-91. 1993.

Brown D. H.; Hooker T. N. The significance of acidic lichen substances in the estimation of chlorophyll and phaeophytin in lichens. **New Phytol**, **78**, 617-624. 1977.

Cáceres, M.E.S.; Losada, A.P.; Chen, A.R.; Vieira, M.M.; Mota-Filho, F.O.; Silva, N.H.; Pereira, E.C. Biomonitoramento da poluição atmosférica na UFPE, utilizando teores de clorofilas e feofitinas em líquens como parâmetro de avaliação. **III Congresso de Iniciação Científica da UFPE**. Recife-PE. Resumo, p.185. 1995.

Cáceres, M.E.S.; Mota-Filho, F.; Silva, N.H.; Chen, <sup>a</sup>R.; Losada, <sup>a</sup> P.; Pereira, E. C. (1996) Estudo da ação de poluentes atmosféricos sobre líquens na cidade do Recife. **XLVII Congresso Nacional de Botânica. Nova Friburgo-RJ**. Resumo, p.370

Carvalho, F. G.; Jablonski; Teixeira, E. C. *Química Nova*. **2000**, **23**(5), 614.

Chen, A.R.M.N.; Losada, A.P.; Vieira, M.M.; Cáceres, M.E.S.; Pereira, E.C.; Silva, N.H.; Mota-Filho, F.O. Cálculo e mapeamento da qualidade do ar na UFPE, através do Índice de Pureza Atmosférica. **III Congresso de Iniciação Científica da UFPE**. Recife-PE. Resumo, p. 184. 1995.

Companhia Pernambucana do Meio Ambiente – CPRH. **Qualidade do Ar na região Metropolitana do Recife – 1988**. Recife:CPRH/GTZ,1999.110 p.

Companhia Pernambucana de Controle da Poluição Ambiental e de Administração dos Recursos Hídricos. **Emissão de gases poluentes**: Biblioteca Pernambucana do Meio Ambiente.Vol.5.1994.101p.

Companhia Pernambucana de Controle da Poluição Ambiental E de Administração Dos Recursos Hídricos, CPRH. **Manual de Procedimento, monitoramento da qualidade do ar** : CPRH/GTZ, 1995.

CarrazzonI, E. P. **Química de Líquens**. – Recife: FASA – Fundação Antonio dos Santos Abranches, 1983. 37p.

Chen, A.R.M.N.; Losada, A.P.; Vieira, M.M.; Cáceres, M.E.S.; Pereira, E.C.; Silva, N.H.; Mota-Filho, F.O. (1995) Cálculo e mapeamento da qualidade do ar na UFPE, através do Índice de Pureza Atmosférica. **III Congresso de Iniciação Científica da UFPE**. Recife-PE. (resumo p. 184)

Chiarenzelli, J.; Aspler, L.; Dunn, C.; Cousens, B.; Ozarko, D.; Powis, W. Multi-element and rare earth element composition of lichens, mosses, and vascular plants from the Central Barrenlands, Nuwanut, Canada. **Applied Geochemistry**, 16 (2) 245-270, 2001.

Culberson, C.F. Supplement to Chemical and Botanical Guide of Lichen Products. **Bryologist**, v. 73, p. 177 – 377, 1970.

Culberson, C. F.; Culberson, W. L.; Johnson, A. **Second Supplement to Chemical and Botanical Guide of Lichen Products**. St. Louis, The American Bryological and Lichenological Society, Inc., 1977. 400p.

Culberson, C. F. Biogenetic relationships of the lichen substances in the framework of systematics. **Bryologist**, v. 89, p. 91-98, 1986.

Cunha, S.; Guerra A. J. T. 1999. **Avaliação e Perícia Ambiental**. Rio de Janeiro; Bertrand Brasil. 266p.

Denison, W.C. () **A guide to air quality monitoring with lichens**. Lichen Technology, Inc. Corvallis, Oregon. 39 p 1973.

De Sloover, J.; Leblanc, F. Mapping of atmospheric pollution on the basis of lichen sensitivity. 1968, apud Leblanc, F; Rao, D.N. Effects of pollutants on lichens and bryophytes. 1975, In: Mudd, J.B.; Kozłowski, T.T. **Response of plants to air pollution**. London. 11:237-272. 1975.

Duffus, J. H. **Toxicologia Ambiental**. Ediciones Omega, S.A , Barcelona, 1983.

Eckl, P.; Türk, R.; Hoffmann, W. Concentration of natural and artificial radionuclides in lichen in several places of Austria. **Nord. J. Bot.**, 4:521 – 524, 1984.

Falcão, E. P. S.; Silva, N. H.; Gusmão, N. B.; Ribeiro, S. M. A, Honda, N. K.; Pereira, E. C. Atividade antimicrobiana de compostos fenólicos do líquen *Heterodermia leucomela* (L.) Poelt. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, 21 (1): 43 – 49, 2002

Ferreira, Maria E. M. C. Estudo biogeográfico de líquens como indicadores de poluição do ar em Cubatão – SP. **Bol. de Geografia**, UEM – Ano 2, nº 2. 1984.

Fellenberg, G. **Introdução aos problemas da poluição ambiental**. Tradução de Inergen Heinrich Maar; revisão técnica de Cláudio Gilberto Froehlich. – São Paulo. EPU: Springer: Ed. da Universidade de São paulo, 1980.

Fundação de Desenvolvimento da Região Metropolitana do Recife, FIDEM. **Mapa da Região Metropolitana do Recife: cobertura vegetal – Norte e Sul 1984/1988**. Recife, 1988. Escala 1:50.000.

Fields, R.D.; Clair, L.L. (). A comparison of methods for evaluating SO<sub>2</sub> impact on selected lichen species: *Parmelia chlorochroa*, *Collema polycarpon* and *Lecanora muralis*. **Bryologist**, 87, 297-301. 1984.

Galun, M.; Ronen, R. Interaction of lichens and pollutants. In: Galun, M. (ed.) (1988) **Handbook of lichenology**. Boca Raton, Florida. 3:55-72. 1988.



Garty J., Galun M., Fuchs C., Zizapel N. Heavy metals in the lichen *Caloplaca aurantia* from urban, suburban and rural regions in Israel ( a comparative study). **Water, Air Soil Pollut.** **8**, 171-188. 1977.

Garty J., Galun M., Fuchs C., Kessel M. Localization of heavy metals and other elements accumulated in the lichen thallus. **New Phytol.** **82**, 159-168. 1979.

Gilbert, O. L. A biological scale for the estimation of sulphur dioxide pollution. **New Phytol.**, **69**, 629-34. 1970.

Gonzáles, C. M., Pignata, M.L. The influence of air pollution soluble proteins, chlorophyll degradation, MDA, sulphur and heavy metals in a transplanted lichen. **Chem. Ecol.** **9**:105-113. 1994.

Gonzáles, C. M., Casanovas, S. S. Pignata, M.L. Biomonitoring of air pollutants from traffic and industries employing *Ramalina ecklonii* (Spreng) Mey. and Flot in Córdoba, Argentina. **Science**, **91(3)**: 269-277. 1996.

Gutberlet, Jutta. Curitiba: **Desenvolvimento social e degradação ambiental**. Tradução de Kay-Uwe Gutberlet]. EPU:EDUSP. 1996.

Hale-Jr., M. E. **The Biology of Lichens**. 3ed. London. Edward Arnold Pub., 1983, 90p.

Hale, M. E. **The Lichens**. W.M. C. Brown Company Publishers. Dubuque, Iowa, 1969. 226p.

Hawksworth, D. L. The long-term effects of air pollutants on lichen communities in Europe and North America. 1990. In: Woodwell, G.M. (ed.) **Patterns and processes of biotic impoverishment**. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 45-64. 1992.

Hawksworth, D. L. Litmus tests for ecosystem health: the potential of bioindicator in the monitoring of biodiversity. 1992. In: Swaminathan, M.S. & Jana, S. (eds.) **Biodiversity. Implications for global food security**. Madras: Macmillan India 17: 184-204. 1992.

Hill, D. J. The movement of carbohydrate from the alga to fungus in the lichen *P. polydactyla*. **New Phytol.**, **71**, p. 31-39, 1972.

Kershaw, K. Studies on lichen-dominated system. XX. An examination of some aspects of the northern boreal lichen woodlands in Canada. **Can. J. Bot.**, **55**, p. 393-410, 1977.

Köeppen, W. **Climatologia, Con un Estudio de Los Climas de La Tierra**. México-Buenos Aires: Mexico: Fondo de Cultura Economica, 1948.(Versión de Pedro R. Hendricks Pérez).

Lawrey, J. D. Biological role of lichen substances. **Bryologist**, v. 89, n. 2, p. 268-275, 1986.

Lawrey, J.D.;Lichen Allelopathy: A Review: In Allelopathy – organisms, processes and applications: Inderjit T.K.; Dakshini,M.; Einhellig, F.A.A .; ACS Symposium Series 582, August I-5,1993. American Chemical Society 1995. Washington, DC.

Legáz, M. E.; Vicente,C. Endogenous inactivators of arginase, arginine decarboxylase and agmatine amidinohydrolase in *Evernia prunastri* thallus. **Plant Physiol.**,**71**:300-302. 1983.

Legáz , M.E., Vicente, C.,Ascaso, C., Pereira, E.C., Xavier Filho, L. Pigment analysis of sun and shade populations of *Cladonia verticillaris*. **Biochem. System. Ecol.**, **14**, 575-582. 1986.

Le Blanc, F.; Rao, D. N. Effects of pollutants on lichens and bryophytes. In: Mudd, J. B.; Kozlowski, T. T. **Responses of plants to air pollution**. London, Academic Press, Inc. 11: 237 – 272, 1975.

Lima-Filho, M. **Notas de excursão de Campo à Bacia Pernambuco/Paraíba e Sergipe/Alagoas**. 2001

Loppi, S.; Bonini, I. Lichens and mosses as biomonitors of trace elements in areas with thermal springs and fumarole activity (Mt. Amiata, central Italy). **Chemosphere**,**41** (9): 1333-1336, 2000.

Lora, E.S. **Prevenção e controle da poluição nos setores energético, industrial e de transporte** / Electro Silva Lora, - Brasília, DF:ANEEL, 2000.

Losada, A. P. M.; Chen, A. R. M. N.; Vieira, M. M.; Silva, N. H.; Pereira, E. C.; Mota-Filho, F. O. (1995a) Teores de clorofilas e feofitinas em líquens do Campus da UFPE. **In: Anais do XLVI Congresso Nacional de Botânica**, Ribeirão Preto, SP. pág 185 - 186.

Losada, A.P. Chen, A.R.M.N.; Vieira, M.M.; Cáceres, M.E.S.; Pereira, E.C.; Silva, N.H.; Mota-Filho, F.O.(1995b) Análise de fenóis corticais e medulares de líquens como parâmetro de avaliação da ação de poluentes. **In: Anais do XIX Reunião Nordestina de Botânica**. Recife-PE. Resumo, p. 144.

Martos, H. L.; Maia, N. B. [ Coordenação de]. **Indicadores Ambientais**. – Sorocaba/SP: s.n., 1997. 266p.

Markert, B. **Plants as Biomonitors. Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment**. VCH Publishers. New York. 1993.

McFarlane, J. D.; Kershaw, K. A. Some aspects of carbohydrate metabolism in lichens. In: **Lichen Physiology and Cell Biology**. D. H. Brown, Ed., Plenum Press, N. York, 1 – 8, 1984.

Monaci, F.; Bargagli, R.; Gasparo, D. Air pollution monitoring by lichens in a small medieval town of Central Italy. **Acta Botanica Neerlandica**, **46** (4): 403 – 412. 1997.

Morillo, A. Albornoz, A. Socorro, E. 1997. Niveles de plomo, vanadio, níquel, calcio y carbon en particulas totales suspendidas en la atmósfera de los municipios Maracaibo y San Francisco, Estado Zulia, Venezuela (1996). In: **Proceedings of IV Interamerican Conference on Environmental Issues**, vol. I. Ed. Roger J. Carrillo. Editora Universidad Simón Bolívar, p. 81 – 91.

Mota-Filho, F. O.; Chen, A. R. M.N.; Losada, A. P.; Cáceres, M. E. S.; Pereira, E. C.; Silva, N. H. Quantificação de pigmentos de líquens em Poção (PE), como parâmetro de avaliação de poluição atmosférica. **In: Anais do 6º Congresso Nordestino de Ecologia**, João Pessoa, PB, pág. 85. 1995

Nash III, T. H. **Lichen Biology**., Cambridge, USA, Cambridge University Press 1ed., 1996, 303p.

Navrostska, I. L.; Kondratyuk, S. Ya.; Brun, G. O. Role of lichens in radionuclide migration in forest ecosystems. **Us'kyi – Botanichnyi – Zhurnal**, **54** (5): 426 – 431, 1997

Nefussi, N. **Aspectos Gerais do Problema da Poluição do Ar**. Faculdade de Saúde Pública, São Paulo. 1972.

Nieboer, E.; Ahmed, H.M.; Puckett, K. J.; Richardson, D.H.S. The heavy metal content of lichens in relation to distance from a nickel smelter in Sudbury, Ontario. **Lichenologist**, **5**: 292-304. 1972.

Pereira, E. C.; Silva, N. H. Quantificação de pigmentos de líquens em Poção (PE), como parâmetro de avaliação de poluição atmosférica. **In: Anais do 6º Congresso Nordestino de Ecologia**, João Pessoa, PB, pág. 85. 1995.

Pereira, E. C.; Andrade, L. H. C.; Mota-Filho, F. O.; Silva, N. H.; Legaz, M. E.; Vicente, C. Avaliação da qualidade do ar na cidade do Recife, utilizando líquens como bioindicadores. **In: Anais do IV Encontro Regional de Estudos Geográficos**, Garanhuns, PE. pág 55. 1994.

Pereira, E. C. (1989) **Efeito da sazonalidade na detecção de atividade antimicrobiana em *Cladonia* e *Cladina* (líquen)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 209 pág.

Pereira, E. C. **Produção de metabólitos por espécies de Cladoniaceae (líquen), a partir de imobilização celular**. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 240p, 1998a.

Pereira, E. C. Lichens from Brazilian Northeast (NE) - studies and applications. In: **Lichenology in Latin America**. Marcelli, M. P. & Seaward, M. R. D. eds.. Grupo Latino Americano de Lichenólogos (GLAL). International Association for Lichenology (IAL)/CNPq/CETESB. Brasil. pp. 65 – 70, 1998b.

Pereira, E. C.; Andrade, L. H. C.; Silva, N. H.; Vicente, C. Production of metabolites by immobilized cells of *Cladia aggregata* (Sw.) Nyl. at different status of fertility. In: Calvelo, S. Org. Lichenology in Latin America: progress in the 2000. (in press).

Pereira, E. C. **Biologia de Líquens**. Laboratório de Geografia Ambiental, Núcleo de Estudos do Meio Ambiente (NEMA/ UFPE). 2000. (Série Textos Didáticos). 31p.

Pilegaard, K. Airborne metals and SO<sub>2</sub> monitored by epiphytic lichens in an industrial area. **Environ. Pollut.**, **17**:81-91. 1978.

Pirela, D. *Composición elemental delas particulas suspendidas en la atmósferade la región occidental de la cuenca del Lago de Maracaibo*. Monografia de Bacharelado en Química, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Pyatt, F. B.; Grattan, J. P.; Lacy, D.; Pyatt, A. J.; Seaward, M. R. D. Comparative afficiency of *Tillandsia usneioides* and *Parmotrema praesorediosum* as bioindicators of air pollution in Louisiane (EUA). **Water, Air and Soil Pollution**, **111** (1 – 4): 317 – 326, 1999.

Reyes, A.; Molina, M. C.; Vicente, C.; Pereira, E. C. Influência da variação ambiental na composição fenólica de diferentes espécie de líquens. **In: Anais do Congresso de Ecologia do Brasil**, Londrina – PR, v. 1, p.22, 1994.

Rundel, P. W. The ecological role of secondary lichen metabolites . **Biol. System. Ecol.**, **6**:157:170, 1987.

Seaward, M. R. D. Lichens in air-polluted environments: multivariate analysis of the factors involved. In: **Proceedings of the Kuopio Meeting on Plant Damages Caused by Air Pollution**. Kuopio. p:57-63. 1976.

Seaward, M.R.D. **Lichen Ecology**. Academic Press, Inc. London. 550p. (1977)

Seaward, M.R.D. Lichens and sulphur dioxide air pollution: field studies. **Environ.Rev.** **1**:73-91. 1993.

Sim Sim, M. M. Estudo da poluição atmosférica no estuário do tejo. A vegetação epifítica como bioindicadora. **Portug. Acta Biol.**, **14(8)**: 213-244. 1985.

Steven, H. C.; Mulawa, P. A. Balli, J. Donase, C.; Weibel, A.; Sagebiel, J. C. *Environ. Sci. Technol.* **1997**, **31**, 3405

Syers, J. K. Chelating ability of fumarprotocetraric acid and *Parmelia conspersa*. **Plant and Soil**, **31**: 205-208. 1969.

Toennies, G. & Bakay, B. Photonephelometric micro determination of sulphate and organic sulphur. *Anal. Chem.*, **25(1)**, 160-5. 1953.

Van Dobben, H.F.; Worterbeek, H.T.; Wamelink, G.W.W.; Ter Braa, C.J.F. Relationship between epiphytic lichens, trace elements and gaseous atmospheric pollutants. **Environmental Pollution**, **112** (2): 163-169. 2001.

Vicente, C.; Ruiz, J. L.; Estévez, M. P. Mobilization of usnic acid in *Evernia prunastri* under critical conditions of nutrient availability. **Phyton**, **39**, p. 15-20, 1980.

Vicente, C.; Legaz, M. E.; Pereira, E. C.; Andrade, L. H. C.; Silva, N. H.; Mota-Filho, F. O. Análise de clorofilas e feofitinas em líquens e plantas como parâmetro de indicação de poluição atmosférica (dados preliminares). **In: Anais do II Congresso de Ecologia do Brasil**, Londrina, PR. Vol. 2 pág. 595. 1994.

Vieira, M. M.; Chen, A. R. M. N.; Silva, M. E. C.; Silva, N. H.; Mota-Filho, F. O.; Pereira, E. C. Análise de pigmentos em líquens de Garanhuns, PE, como parâmetro de avaliação de poluição ambiental. **In: Anais do XLVI Congresso Nacional de Botânica**, Ribeirão Preto, SP. pág 186. 1995.

Xavier-Filho, L. **Inibição fotooxidativa de  $\beta$  caroteno por cloroatranorina de *Parmelia tinctorum* Nyl.** 91 f. Tese para Professor Titular - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, João Pessoa, Universidade Federal da Paraíba, 1989.

Wolterbeek, H. Th., Kuik, P., Verburg, T. G., Herpin, U., Markert, B.; Thöni, L. Moss interspecies comparisons in trace element concentrations. **Environmental Monitoring and Assessment** **35**: 263-286. 1995.

Zakrzewski, S. F. *Principles of environmental toxicology*. Am. Chem. Society. Washington, D. C.

## **9. ANEXOS**