

Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico do ribeirão da Lage de Rio Verde- GO utilizando bioensaios com *Allium cepa*.¹

Lazaro Reyner de Carvalho Silva², Maria de Fátima Rodrigues da Silva³

¹Artigo apresentado à Faculdade de Engenharia Ambiental como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheiro Ambiental, Faculdade de Engenharia Ambiental, Universidade de Rio Verde, 2013.

²Graduando da Faculdade de Engenharia Ambiental, Universidade de Rio Verde, 2013. E-mail: lazaro.reyner@gmail.com.

³Orientador, Professor, Doutor da Faculdade de Biologia, Universidade de Rio Verde, 2013. E-mail: fatimars@hotmail.com

Resumo: O cerrado é um dos domínios mais importantes pois abriga três das maiores hidrográficas. Com a crescente demanda por água e alimentos tem trazido consequências ruins, como o excesso de utilização de agrotóxicos e o desmatamento, é importante levar em conta também os despejos de esgoto de agroindústrias que por vezes não são tratados de maneira correta. Ao realizar o presente trabalho teve-se como objetivo avaliar a citogenotoxicidade do ribeirão da Lage, fonte de água para a cidade de Rio Verde- GO por meio do sistema teste *Allium cepa* (cebola comum) como bioindicador. Realizou-se testes de análise de crescimento de raízes e índice mitótico (IM) em células meristemáticas radiculares tratadas com águas do ponto de captação da empresa fornecedora de água e água destilada como controle. As coletas foram realizadas no mês de setembro. O IM do controle foi 17,6 e do córrego foi 13,3 sem variação significativa entre as amostras. Com isso pode-se identificar que os níveis de citotoxicidade para este determinado trecho são baixos.

Palavras-Chave: bioindicadores, divisão celular, poluição.

Abstract: The cerrado is one of the most important biomes for houses six of eight river basins. With the increasing demand for water and food has brought bad consequences, for example, excess use of pesticides and deforestation, it is important to take into account also dumps sewage sugar and alcohol industries that are sometimes not treated correctly. When performing this work had as objective to evaluate the citogenotoxicidade the stream Lages, water source for the city of Rio Verde GO - through test system *Allium cepa* (common onion) as bioindicators. We conducted analysis of root growth and mitotic index (MI) in root meristematic cells treated with the waters of the pickup point of the supplier of water and distilled water as control tests. The collections were made in september. The IM control was 17.6 and 13.3 of the stream was no significant difference between samples. Thus one can identify the levels of cytotoxicity for this particular section are low.

Keywords: bioindicators, cellular division, pollution.

1 INTRODUÇÃO

A água é de grande importância para a vida, é um recurso natural indispensável ao ser humano e aos demais seres vivos, também é parte crucial para a continuidade de um ecossistema (SOUZA, 2000). Hoje, sabe-se da importância de se tratar a água destinada ao consumo humano, pois é capaz de veicular grande quantidade de contaminantes físico-químicos e/ou biológicos (TORRES, et al., 2000) cujo consumo tem sido associado a diversos problemas de saúde. Algumas epidemias de doenças gastrointestinais, por exemplo, têm como via de transmissão a água contaminada (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD, 2002).

A qualidade necessária à água distribuída para consumo humano é a potabilidade, ou seja, deve ser tratada, limpa e estar livre de qualquer contaminação, seja de origem microbiológica, química, física ou radioativa, não devendo, em hipótese alguma, oferecer riscos à saúde humana (BRASIL, 2004).

Nos últimos anos, o aumento da demanda por água, normalmente ocasionado pelo crescimento populacional acentuado e desordenado nos centros urbanos e pelo aumento do consumo por habitante, tem imposto a adoção de programas para conservar a água (MAY, 2004; TUCCI, 2008).

O cerrado é um dos domínios mais importantes pois abriga três das maiores bacias hidrográficas. Com a crescente demanda por água e alimentos tem trazido consequências ruins, por exemplo, o excesso de utilização de agrotóxicos e o desmatamento, é importante levar em conta também os despejos de esgoto de indústrias sucro-alcooleiras que por vezes não são tratados de maneira correta (OMETTO, A.R. 2000).

Os bioindicadores podem ser grupos, espécies ou comunidades biológicas, que são utilizados para verificar a qualidade de um meio, obtendo assim informações sobre os níveis de impactos ambientais (CALLISTO; GONÇALVES, 2002). A utilização destes organismos proporciona um estudo amplo, onde é possível abranger vários resultados como os tipos diferentes de poluição. Uma vez que a utilização de bioindicadores proporciona resultados mais sólidos e eficientes do que os métodos de avaliação por parâmetros físico/químico que dão resultados instantaneamente.

Na escolha de um determinado organismo como biondicador é importante levar em conta qual a característica da poluição a ser analisada, por que existem diversos seres bioindicadores que podem fornecer resultados específicos. Existem dois tipos mais usuais que são aqueles que se alteram através de fenômenos naturais e outros que alteram através da atividade antrópica, poluição difusa ou pontual (CALLISTO,2013).

Os bioensaios que utilizam espécies de plantas são em geral mais sensíveis e mais simples, uma vez que comparamos os bioensaios feitos utilizando espécies animais (FERNANDES et al., 2007).

É possível analisar que alterações tóxicas em diferentes sistemas vegetais, como utilizado neste trabalho, a cebola (*Allium Cepa* L.) é mais sensível ao ambiente para identificar os efeitos negativos quanto à poluição do ambiente (BASSANI, 2001; CARITÁ e MARIN-MORALES, 2008).

Com o desenvolvimento de indústrias e o crescimento da população, pesquisas que utilizam vegetais para verificar a qualidade da água de corpos hídricos são cada vez mais aplicados para monitorar a qualidade da água que é oferecida à população (CUCHIARA, 2007).

Esta técnica de avaliar alterações cromossômicas em raízes de *Allium Cepa* é certificado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e o programa ambiental das nações unidas (UNEP) como teste eficaz de análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substancias ambientais (CABRERA e RODRIGUEZ, 1999)

Estes organismos vegetais vêm sendo utilizados também em pesquisas sobre efeitos de extrato vegetal com o objetivo de identificar a genotoxicidade do meio (TEIXEIRA et al., 2003; FACHINETTO et al., 2007).

Ao realizar o presente trabalho teve-se como objetivo avaliar a citogenotoxicidade do ribeirão Lage, fonte de água para a cidade de Rio Verde- GO por meio do sistema teste *Allium cepa*.

2- MATERIAL E METODOS

2.1 Local de coleta

Rio Verde está localizada na bacia do Rio Paranaíba, o ribeirão da Lage é um córrego utilizado para suprir parte do abastecimento de água do município, sendo

responsável por cerca de 30% do abastecimento total, com uma vazão de 110 l/s. A coleta de água para o estudo foi feita no local de captação (FIGURA 1A).



FIGURA 1 – Local de coleta das amostras. A: Fachada da ETA LAGE; B: Momento de coleta de água na ETA LAGE. Fonte: Arquivo pessoal, 2013.

Obtenção das amostras de água

A coleta do material foi realizada na estação de captação de água da SANEAGO, junto à tomada de água. (FIGURA 1B).

A ETA LAGE (Estação de Tratamento de Água) está localizada a 10 km no município de Rio Verde. (FIGURA 2).

Foram utilizados dois recipientes de vidro com tampa de alumínio com capacidade de 500 ml cada. As amostras foram transportadas em caixas térmicas até o local da análise.



FIGURA 2- Imagem de satélite da região da ETA LAGE em Rio Verde-GO. Fonte: Adaptado do Google earth (2013).

2.3- Bioensaios com *Allium cepa*

O delineamento experimental foi casualizado. Foram utilizados seis bulbos de *A. cepa* para cada amostra coletada e para o controle negativo (testemunha). Como controle negativo utilizou-se água destilada, para o crescimento das raízes de *A. cepa* e observação das células da mesma.

Os bulbos foram inicialmente preparados e colocados em água destilada durante 48 horas a temperatura ambiente, para estimular o desenvolvimento do meristema radicular. Após este período, os bulbos foram colocados no material a ser testado por um período de 48 horas.

Após o período de exposição, o bulbo com menor desenvolvimento radicular em cada tratamento e no controle negativo foram descartados. Abaixo demonstra-se *Allium cepa* sobre crescimento no controle e nas amostras de água (Figura 3).



FIGURA 3- Ensaio biológico com *A. cepa* nos tratamentos de água. Fonte: Arquivo pessoal (2013).

2.4- Coleta e fixação das raízes

Após o período de exposição, foram coletados dos bulbos as raízes e após isso foram fixadas em Carnoy etanol: ácido acético glacial (3:1) por aproximadamente 6 horas e armazenadas em etanol 70% a 4°C para posterior preparação e observação de lâminas.

Preparo das lâminas

Para o preparo das lâminas, as raízes foram retiradas do etanol 70%, lavadas em água destilada, e após foram submetidas à hidrólise ácida com HCl 1N durante 8 minutos em temperatura ambiente, lavadas novamente em água destilada, coradas com orceína-acética 2 % e então, preparadas em lâmina de citologia através de esmagamento manual.

Para cada bulbo foram preparadas pelo menos duas lâminas, contendo uma raiz cada uma. Para cada bulbo, foi estimado o número de micronúcleos em aproximadamente 1.000 células o número de anormalidades (cromossomos retardatários, pontes cromossômicas e fragmentos) em 100 anáfases-telófases.

Avaliação da citotoxicidade

Para a avaliação de efeitos citotóxicos foi utilizado o índice mitótico (IM). Para determinar o IM foi utilizada a seguinte equação: $IM = NCM/NTC \times 100$, em que NCM corresponde ao número de células em mitose e NTC ao número total de células analisadas.

Análise da Genotoxicidade

A análise da atividade genotóxica foi feita por meio da investigação de anormalidades cromossômicas (AC) nas células de raízes de *A. cepa*. Para a avaliação da citotoxicidade, foram analisadas aproximadamente 6000 células por tratamento,

sendo para cada tratamento dez lâminas e 100 células por lâmina.

Análise estatística

A comparação entre o controle e amostra foi feita por meio do test T com significância de 0,05%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas as raízes dos grupos, dando um total 833 no grupo controle e 1007 células no grupo experimental distribuídas conforme exposto na tabela 1. O índice mitótico do controle foi de 17,6% e o das águas do Lages foi de 13,3%, com $p = 0,08$, não apresentando, portanto, índice estatisticamente significativo (TABELA 1).

Não foram encontradas células com aberrações do tipo micronúcleos e ponte cromossômicas em ambos os grupos. Dessa forma, os resultados sugerem que no momento analisado, as águas não apresentaram capacidade citotóxica.

O modelo econômico do município é o agronegócio e como consequência, a cada ano aumenta a área desmatada e são utilizados anualmente toneladas de agrotóxicos que podem estar contaminando os mananciais de água da região (BARRETO e RIBEIRO, 2008). Em decorrência disso, verificou-se o potencial genotóxico das águas do córrego Lage.

A toxicidade de agrotóxicos em ensaios laboratoriais foram demonstradas para as formulações comerciais dos agrotóxicos cujos ingredientes ativos são o glifosato, o mancozeb, o fention e a beta-ciflutrina, finopril. Estes aumentaram significativamente a frequência de fragmentos cromossômicos e outras anormalidades indicando ação genotóxica (KRÜGER, 2009; PEDRO, 2008).

TABELA 1- Número de células nas diferentes fases do ciclo celular de células meristemáticas radiculares de *Allium cepae* índice mitótico do controle e do córrego Lages, no mês de setembro de 2013

Grupos	N. Células em divisão	N.Células em intérfase	Total de Células	Índice mitótico %
Controle	147	686	833	17,64
Experimento	134	873	1007	13,30*

Valor de $p=0,08$. Sem diferença estatística quando comparado ao controle ($p<0,05$) pelo teste T d Student

4- CONCLUSÃO

As águas do córrego Lages representam um recurso hídrico importante para o município e além das análises rotineira da qualidade da água é necessário realizar o monitoramento também por meio de bioindicadores ao longo do ano para verificar a influência do calendário agrícola quanto aos períodos de aplicação dos agrotóxicos e a possível contaminação das águas por agrotóxico. No presente trabalho não houve alterações significativas na divisão celular, e isso indica que no período de coleta e exposição da *Allium cepa* ao material analisado, podemos verificar que a água não oferece riscos de citotoxicidade ou genotoxicidade.

REFERÊNCIAS

BARRETO, Clarissa de Araújo; RIBEIRO, Helena. Agricultura e meio ambiente em Rio Verde (GO). INTERFACEHS – **Revista de Gestão Integrada em Saúde do Trabalho e Meio Ambiente**.v.3, n.1, Artigo 5, jan./ abril. 2008. Disponível em: http://www.interfacehs.sp.senac.br/BR/artigos.asp?ed=6&cod_artigo=110

BASSANI, M. A. **Fatores psicológicos da percepção da qualidade ambiental**. In: BASSANI, M. A; BOLLMANN, H. A; MAIA, N. B.; MARTOS, H. L.; BARRELA, W. (Ed.). **Indicadores ambientais: conceitos e aplicações**. São Paulo: EDUC/ COMPED/ INEP, p. 47-57, 2001.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Saúde da família no Brasil – Uma análise de indicadores selecionados**. Departamento de atenção básica; Apostila da Saúde da família no Brasil, 2004. Disponível em: http://189.28.128.100/dab/docs/publicacoes/geral/saude_familia_brasil.pdf

CABRERA, G. L.; RODRIGUEZ, D. M. G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **MutatRes**v.426, p. 211-214. 1999.

CALLISTO, M.; GONÇALVES, J.F.Jr. A vida nas águas das montanhas. **Ciência Hoje** v.31, n.182, p. 68-71. 2002.

CUCHIARA, C. C. **Biomonitoramento de Cursos D'água de importância econômica e social: estudo de caso do Arroio Padre Doutor, Capão do Leão, RS, Brasil.** Pelotas, 2007, 59f. Monografia do conclusão de curso (Bacharelado em ciências biológicas) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pelotas, 2007.

FACHINETTO, J. M.; BAGATINI, M. D.; DURIGON, J.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Efeito anti-proliferativo das infusões da *Achyroclinesatureioides DC* (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista brasileira de farmacologia**. v,17. p.49-54. 2007.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.88, n.3, p.252-259, 2007.

GONÇALVES, C. W. P. **Os (des) caminhos do meio ambiente.** São Paulo: Contexto, 10º ed, 2002.

KRÜGER, Rosangela Angelise. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Alliumcepa*.** Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental), 58f. – Feevale, Novo Hamburgo-RS”. Orientador: Prof. Dr.Luciano Basso da Silva” – 2009.

MAY, S. **Estudo da Viabilidade do Aproveitamento de Água de Chuva para Consumo Não Potável em Edificações.** Dissertação (Mestrado em Engenharia da Construção Civil) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 189, 2004.

OLIVEIRA, L. M.; VOLTOLINI, J. C.; BARBÉRIO, A. Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste *Allium cepa*. **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 6, n. 1, p. 90-103, 2011. www.ambi-agua.net/seer/index.php/ambi-agua/article/.../476/828

OMETTO, A. P. **Discussão sobre os fatores ambientais impactados pelos setor sucroalcooleiro e a certificação socioambiental São Carlos.** Dissertação – Escola de engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo, p.255, 2000.

PEDRO, Janaína. **Detecção da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade do inseticida fipronil no organismo teste *Allium cepa***. Rio Claro : [s.n.], 2008 104 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro Orientador: Maria Aparecida Marin Morales.

SALUD. O. P. **Organización Mundial de la Salud. Funciones esenciales de salud pública**. En: La Salud Pública en las Américas: conceptos, desempeño y bases para la acción. Washington D.C.: OPS/OMS; 2002. p.59-71.

SOUZA, D. A. **Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de multiresíduos de pesticidas em águas de abastecimento de São Carlos – SP, p. 109, 2000**. Dissertação (doutorado em ciências da engenharia ambiental). Escola de engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

TEIXEIRA, R. O.; CAMPAROTO, M. L.; VICENTINI, V. E. P. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L. *in vivo* assays. **Genet Mol Biol**, v,26. p.551-555. 200

TORRES, D. A. G. V. et al. Giardíase em creches mantidas pela prefeitura do município de São Paulo, 1982/1983. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 33, p. 137- 141, 2000.

TUCCI, C.E.M. **Águas urbanas. Estudos Avançados**, v. 22, n. 63, p. 97-112, 2008.