

QUALIDADE AMBIENTAL DAS ÁGUAS SUPERFICIAIS ATRAVÉS DE CRITÉRIOS ECOTOXICOLÓGICOS NA REGIÃO SUDOESTE DO PARANÁ
ALINE STEFFENS BENINI^{1, 2*}, JUNIOR JULIANI³, IZABELA CAROLINA SOUZA FRANCO³, GILZA MARIA DE SOUZA-FRANCO^{2,4}, IZABEL APARECIDA SOARES^{2, 6}

1 Introdução

As águas de superfície são aquelas que não se infiltram no solo, em vez disso, fluem sobre a sua superfície, formando nascentes, riachos e rios. Estas águas superficiais são empregadas para uma ampla variedade de fins em diversos setores da economia, abrangendo desde a produção de bens e serviços, passando pelo comércio, indústria, geração de energia e até mesmo no agronegócio (ALMEIDA *et al.*, 2021). Neste contexto, a região sudoeste no Paraná se constrói como uma área onde as atividades agrícolas são executadas em larga escala, com uso intensivo de agrotóxicos nas lavouras da região (VIEIRA *et al.*, 2017). Compondo tal cenário, diversos estudos têm revelado potencial efeito citotóxico, genotóxico e mutagênico dos agrotóxicos (PARVAN *et al.*, 2020; LUSTOSA *et al.*, 2023). Ainda, tais substâncias dispersam-se no ambiente, de modo a contaminar a água, os alimentos e o solo, persistindo de forma perigosa nas cadeias tróficas (KRÜGER, 2009).

Para uma compreensão mais precisa dos efeitos tóxicos de certos compostos, é essencial recorrer a experimentos realizados em laboratório, chamados de bioensaios (ALMEIDA *et al.*, 2021). Diversos organismos podem ser empregados em bioensaios para a avaliação de poluentes ambientais, incluindo crustáceos, peixes e plantas (NAKAGOME, NOLDIN, RESGALLA, 2007; COSTA *et al.*, 2008; ARRAES; LONGHIN, 2012). No caso das plantas, a utilização de *Allium cepa* merece destaque, principalmente devido às suas características cromossômicas favoráveis, como cromossomos de tamanho considerável e quantidade reduzida ($2n=16$) (LEME; MARIN-MORALES, 2009). Essas características permitem a investigação de uma variedade de resultados genéticos, abrangendo mutações e anomalias cromossômicas. Além disso, essa espécie demonstra uma elevada sensibilidade na identificação de substâncias

¹Bolsista PIBIC Fundação Araucária e graduanda em Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Realeza*, contato: aline.steffens@estudante.uffs.edu.br.

²Grupo de Pesquisa: Toxicologia Comparada - Mutagênese e ecotoxicologia ambiental.

³Graduando em Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Realeza*.

⁴Doutora, professora na Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Realeza*.

⁵Doutora, professora na Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Realeza*, **Orientador(a)**.

químicas presentes no meio ambiente (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

2 Objetivos

Analisar a citogenotoxicidade das águas de poços artesanais rurais, urbanos e nascentes no município de Realeza, Paraná, por meio da utilização do sistema *A. cepa*.

3 Metodologia

Foram coletadas amostras de água de poços superficiais no município de Realeza, sudoeste do Paraná, no mês de março de 2023. Com base na listagem fornecida pela prefeitura do município em questão, foram selecionados aleatoriamente três pontos localizados em comunidades da Zona Rural: Alto Sarandi (P1), Alto da Boa Vista (P2) e Linha Capanema (P3). Foi utilizado como indicador biológico a espécie *Allium cepa*, adquirida no comércio local. Os bulbos de *A. cepa* foram expostos às amostras de água coletadas, controle negativo (CO⁻) em água destilada, controle positivo (CO⁺) em sulfato de cobre (CuSO₄), na concentração de 0,0006 mg.L⁻¹, por 24 horas e em seguida, foram retiradas as raízes com a coifa, com um tamanho de aproximadamente 2,0 cm de comprimento, acondicionados em microtubos contendo fixador Carnoy por 24 horas.

Para o ensaio citogenético, fez-se uso da metodologia adaptada de Krüger (2009). Para tal, raízes foram lavadas em água destilada e armazenadas em álcool 70% sob refrigeração até a confecção das lâminas. As pontas das raízes foram seccionadas para a extração das suas regiões meristemáticas, aquecidas sob imersão em orceína acética 2% e esmagadas manualmente com a lamínula. As lâminas foram observadas em microscopia óptica para a contagem das células em divisão mitótica e avaliação de danos cromossômicos. Foram realizadas três repetições para cada tratamento ou ponto de coleta e foram analisadas 1000 células por bulbo, totalizando 3000 células por ponto. A análise mutagênica constou da determinação do índice mitótico (IM), obtido dividindo-se o número de células em divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase) pelo número total de células, multiplicando-se por 100. Foram contadas também as anomalias no ciclo mitótico e a presença de micronúcleos em 3000 células. O IM foi definido como o número de mitoses em 1000 células contadas, sendo analisada a presença de metástases, anáfase e telófases.

Após a obtenção dos resultados foi realizada a análise estatística pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis ($p < 0,01$ e $p < 0,05$), por meio do programa Statistica 8.0 (STATSOFT, 2007).

4 Resultados e Discussão

Nos pontos de coleta foi observado presença de vegetação como área de proteção não tendo caráter de mata densa ou com árvores de grande porte, mas sim composta por vegetação rasteira, como gramíneas, arbustos e ervas. Ainda, nos pontos analisados não observou-se a presença de lavouras de monoculturas no entorno.

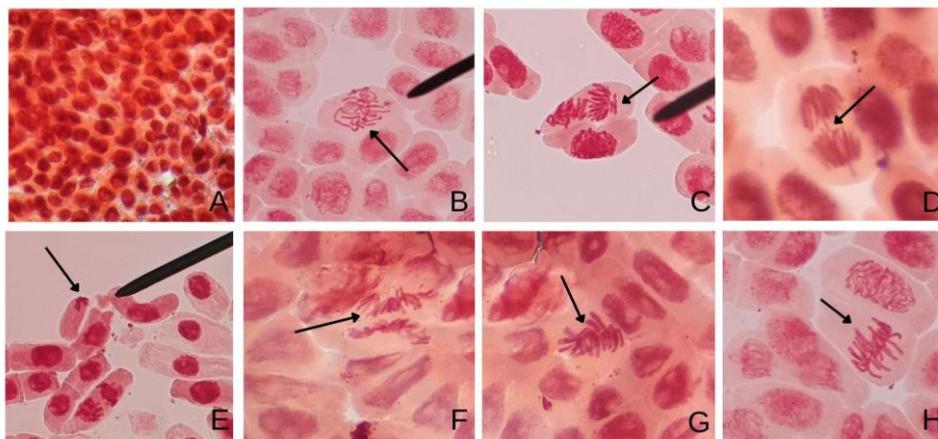
No estudo realizado, os efeitos nas células de *A. cepa* foram examinados em diferentes aspectos. Primeiramente, o efeito citotóxico foi avaliado usando o Índice Mitótico (IM) e o potencial genotóxico foi analisado pelo Índice de Alterações Cromossômicas (IAC). Os dados referentes às porcentagens IM indicam valores inferiores em comparação com o controle negativo, P1 (8,16%), P2 (10,6%) e P3 (10,5%), enquanto o controle negativo apresentou 12%. Conforme mencionado por Smaka-Kincl *et al.* (1996), a redução no IM constitui um método confiável para identificar substâncias citotóxicas. Almeida *et al.* (2021) ressalta que os resultados do IM podem variar em relação ao controle negativo (CO-), podendo indicar efeitos citotóxicos quando maiores ou menores que o CO-. Quando o IM é menor do que o IM do CO-, é possível inferir a presença de alterações citotóxicas que inibem a divisão celular. Por outro lado, se o IM for maior que o do CO-, isso sugere a possibilidade de que alguma substância esteja agindo na divisão celular. Essa ação pode levar a modificações na estrutura celular, especialmente quando a divisão ocorre de forma desordenada e acompanhada por falhas no processo de organização cromossômica. Para o IM, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos e o controle negativo. A análise de aberrações cromossômicas registrou a presença de baixa frequência de células com anormalidades cromossômicas na região meristemática de *A. cepa*.

Com relação ao controle positivo (CO+) para os testes de citotoxicidade, o sulfato de cobre foi utilizado em concentração de 0,0006 mg/L, resultando na inibição de 100% do IM, tornando impossível a identificação de células em divisão celular, comprovando o efeito do composto como causador de danos no ciclo celular (Figura 1A). Estudos anteriores, conduzidos por Fiskesjö (1985), abordaram os efeitos de compostos, incluindo o cobre, sobre *A. cepa*, e demonstraram que em altas concentrações, houve uma redução significativa no IM. Além disso, Costa (2016) relatou que o acúmulo lento de contaminantes nos tecidos ao longo do tempo pode levar ao desenvolvimento de características de toxicidade subletal até atingir níveis que causam danos ao organismo. Dessa forma, a inibição total na divisão das células constatadas nesse

estudo comprova o efeito citotóxico do sulfato de cobre quando presente na água o que o torna eficiente como controle positivo.

Na análise das lâminas foram identificadas células com a presença de danos cromossômicos quando comparadas com células normais em mitose. Os danos mais frequentes identificados foram a perda dos fusos, cromossomos vagantes e anormalidades nas fases mitóticas (Figura 1). Entretanto, não revelou potencial citogenotóxico, uma vez que o quantitativo de alterações cromossômicas não foi significativo entre os pontos quando comparados ao controle negativo.

Figura 1: Células meristemáticas de *A. cepa* em análise microscópica.



A: inibição mitótica do controle positivo. **B:** perda dos fusos mitóticos. **C:** cromossomos vagantes. **D:** ponte anafásica. **E:** alteração não identificada. **F:** anáfase anormal. **G:** metáfase anormal. **H:** metáfase.

5 Conclusão

Diante dos resultados obtidos através das análises das amostras de água coletadas em poços e nascentes no município de Realeza, podemos concluir que, nos diferentes pontos, as águas não apresentaram diferença estatística quanto ao potencial genotóxico, citotóxico e mutagênico para células eucarióticas. Esses eventos sugerem fortes indícios da importância da preservação observada e ações de manejo e proteção praticada nos pontos de coleta.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, L. M. *et al.* Conservação e monitoramento ambiental utilizando *Allium cepa* como indicadora de poluição das águas superficiais: uma revisão narrativa. **Águas e Florestas: desafios para conservação e utilização**, p. 174-191, 2021. <http://dx.doi.org/10.37885/210303792>.
- ARRAES, A.; LONGHIN, S. R. Otimização de ensaio de toxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* como organismo teste. **Enciclopédia biosfera**, v. 8, n. 14, 2012. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/4014>. Acesso em: 12 ago. 2023.

COSTA, C. R. *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422008000700038>.

COSTA, M. H. P.; SILVA, P. C. C.; ROCHA, C. A. M. Efeitos do cromo hexavalente sobre o crescimento de raízes e ciclo celular no meristema da ponta da raiz de *Allium cepa*. 2016. **Biota Amazônia**. Macapá, v. 6, n. 3. p. 40-44, 2016. <https://doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v6n3p40-44>.

FISKEŠJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99-112, 14 fev. 1985. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>.

KRÜGER, R. A. **Análise de toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa***. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental, Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2009. Disponível em: <https://aplicweb.feevale.br/site/files/documentos/pdf/29080.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2023.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research/Reviews In Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71-81, jul. 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>.

LUSTOSA, E. A. *et al.* Toxicidade e genotoxicidade do inseticida ciromazina em bioensaio com *Allium cepa*. **Research, Society And Development**, v. 12, n. 1, 3 jan. 2023. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v12i1.39261>.

NAKAGOME, F. K.; NOLDIN, J. A.; RESGALLA, C. Toxicidade aguda de alguns herbicidas e inseticidas utilizados em lavouras de arroz irrigado sobre o peixe *Danio rerio*. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 117-122, 2007. <http://dx.doi.org/10.5380/pes.v17i0.9186>.

PARVAN, L. G. *et al.* Bioensaio com *Allium cepa* revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 11, p. 1-10, set. 2020. <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232020000544>.

SMAKA-KINCL, V. *et al.* The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 368, n. 3-4, p. 171-179, jul. 1996. [http://dx.doi.org/10.1016/s0165-1218\(96\)90059-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0165-1218(96)90059-2).

STATSOFT, Inc. STATISTICA (data analysis software system), version 8.0, 2007. www.statsoft.com.

VIEIRA, M. G. *et al.* Avaliação da Contaminação por Agrotóxicos em Mananciais de Municípios da Região Sudoeste do Paraná. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 5, ago. 2017. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/MarcosNoPrelo.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2023.

Palavras-chave: biomonitoramento; mutagênese ambiental; Sistema *Allium cepa*.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2022-0472

Financiamento: Fundação Araucária