

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA**

Kewen Ubirajara Dias Silva

**O uso do ensaio *Allium cepa* para análise ecotoxicológica de corpos d'água continentais
do Rio Grande do Sul**

Porto Alegre

2021

Kewen Ubirajara Dias Silva

**O uso do ensaio *Allium cepa* para análise ecotoxicológica de corpos d'água continentais
do Rio Grande do Sul**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial para a obtenção do título
de Bacharel em Ciências Biológicas na
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profa. Dra. Luciane Oliveira
Crossetti

Coorientadora: Dra Clarice Torres de Lemos

Porto Alegre

2021

Kewen Ubirajara Dias Silva

**O uso do ensaio *Allium cepa* para análise ecotoxicológica de corpos d'água continentais
do Rio Grande do Sul**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial para a obtenção do título
de Bacharel em Ciências Biológicas na
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Luciane Oliveira Crossetti

Dra. Clarice Torres de Lemos

Dra. Kelly Cristina Tagliari de Brito

Profa. Dra. Lúcia Rodrigues

AGRADECIMENTOS

Começo agradecendo à minha mãe, Tatiane. Obrigado por todo esforço que fez na minha criação. Agradeço por todo incentivo e suporte que me deu durante toda minha trajetória nos estudos. Agradeço à minha avó, Maria, por todo cuidado que sempre teve comigo. Agradeço também às minhas tias Graciele e Ellen, por todo apoio que sempre me deram.

Agradeço minhas orientadoras. À Dra. Luciane Oliveira Crossetti, obrigado pela orientação. Agradeço também pelas aulas maravilhosas e por todas palavras de incentivo que você sempre deu a mim e aos meus colegas. À Dra. Clarice Torres de Lemos agradeço pela orientação em toda minha trajetória acadêmica. Obrigado por me ensinar seus conhecimentos. Sou grato por ter tido a oportunidade de aprender com você.

Agradeço aos meus amigos de infância, e aqueles que chegaram depois, Amanda, Bruna, Grazi, Juan, Léo e Thiane obrigado por sempre me incentivarem e vibrarem com as minhas conquistas.

Por fim, agradeço aos meus amigos de curso, que tornaram essa caminhada um pouco mais tranquila, seja para comemorar o final de um semestre ou virar a noite estudando para uma prova. Bruna, Francielly, Júnior e Luane, obrigado!

O seguinte manuscrito foi formatado seguindo as regras de submissão da Revista Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science (AMBIAGUA).

O uso do ensaio *Allium cepa* para análise ecotoxicológica de corpos d'água continentais do Rio Grande do Sul

Kewen Ubirajara Dias Silva¹, Luciane Oliveira Crosseti², Clarice Torres de Lemos³

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

²Laboratório de Limnologia, Departamento de Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

³Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luis Roessler (FEPAM), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

O uso do ensaio *Allium cepa* para análise ecotoxicológica de corpos d'água continentais do Rio Grande do Sul

RESUMO: O ensaio de *Allium cepa* é um eficiente sistema de teste para avaliação genotóxica ambiental, pois possui número reduzido de cromossomos ($2n=16$), é de baixo custo e possui boa correlação nos sistemas com animais. São analisadas alterações no índice germinativo, índice mitótico, indução de aberrações cromossômicas e formação de micronúcleos, que constituem os *endpoints* para avaliar danos causados por contaminantes. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão do uso recente (10 anos) do ensaio *Allium cepa* em águas continentais do Rio Grande do Sul, visando avaliar a utilização do teste e sua capacidade de detectar diferentes tipos de contaminantes no estado. A revisão bibliográfica foi realizada nos bancos de dados eletrônicos Web of Science e Scholar Google. A busca foi feita nas plataformas virtuais através da combinação de palavras-chave, resultando em 13 trabalhos. Cinco publicações avaliaram a influência da descarga de efluentes urbanos não tratados em recursos hídricos, duas analisaram o impacto de atividades agrícolas sobre corpos d'água, dois artigos investigaram o impacto de uma área contaminada em um rio, dois verificaram o efeito de efluentes industriais não tratados sobre um rio. Um estudo apresentou os efeitos tóxicos da mineração de carvão e um trabalho avaliou o efeito citogenotóxico de um reservatório. Todos os autores obtiveram sucesso na verificação dos *endpoints* do ensaio de *Allium cepa*. Nossos resultados demonstram que nos últimos 10 anos, o teste de *Allium cepa* foi sensível em avaliar águas continentais impactadas pela maioria dos contaminantes urbanos, industriais, agrícolas e de atividades de mineração.

Palavras-chave: aberrações cromossômicas, genotoxicidade, micronúcleos

The use of the *Allium cepa* assay for ecotoxicological analysis of continental water bodies in Rio Grande do Sul

ABSTRACT: The *Allium cepa* assay is an efficient system of tests for environmental genotoxic assessment, as it has a reduced number of chromosomes ($2n=16$), is low-cost and has good correlation in animal systems. It analyzes changes in the germinal index, mitotic index, induction of chromosomal aberrations and micronucleus formation, which constitute the endpoints to assess damage caused by contaminants. The objective of this work was to review the recent (10 years) use of the *Allium cepa* test in continental waters of Rio Grande do Sul, aiming to evaluate the use of the test and its ability to detect different types of contaminants in the state. The literature review was carried out in the Web of Science and Scholar Google electronic databases. The search was carried out on the virtual platforms through the combination of keywords, resulting in 13 papers. Five publications evaluated the influence of the discharge of untreated urban effluents on water resources, two analyzed the impact of agricultural activities on water bodies, two articles investigated the impact of a contaminated area in a river, two verified the effect of untreated industrial effluent on a river. One study presented the toxic effects of coal mining and one work evaluated the cytogenotoxic effect of a reservoir. All authors were successful in verifying the endpoints of the *Allium cepa* trial. Our results demonstrate that over the past 10 years, the *Allium cepa* test has been sensitive in evaluating inland waters impacted by most urban, industrial, agricultural and mining contaminants.

Keywords: chromosomal aberrations, genotoxicity, micronuclei

1 INTRODUÇÃO

Os avanços das atividades econômicas têm intensificado os impactos nos ambientes terrestres e aquáticos. A demanda por recursos naturais não acompanha a velocidade que os ecossistemas necessitam para recuperar-se e, por isso, é indispensável o conhecimento das causas e efeitos das ações antrópicas nos ambientes. Dentre os ecossistemas suscetíveis a estes impactos, os ambientes aquáticos estão entre os mais vulneráveis, por integrarem processos oriundos de outros compartimentos ambientais, e ainda de sistemas agrícolas, domésticos e industriais. Agrotóxicos, efluentes industriais e domésticos são considerados agentes poluidores de grande preocupação, pois liberam altas quantidades de cargas químicas nos corpos d'água, onde causam alterações nos organismos que fazem uso de tal recurso (Batista et al., 2016).

Ecossistemas aquáticos são complexos e dinâmicos. Isso porque integram ciclos biogeoquímicos e interagem continuamente com processos que ocorrem em outros compartimentos ambientais, tais como a atmosfera, solo e sedimentos. Nos sedimentos, por exemplo, ocorrem processos que influenciam todo metabolismo do sistema, pois possui capacidade de acumular compostos do ambiente e liberá-los na coluna d'água mediante a perturbações físicas e químicas (Esteves, 2011).

A complexa interação entre os fatores físicos, químicos e biológicos dos sistemas hídricos, torna necessária a maior compreensão da sua resposta a um contaminante (Lemos et al., 2007). Logo os danos biológicos podem ser originados por efeitos combinados ou sinérgicos de compostos químicos lançados ao meio (Lemos e Erdtmann, 2000). Organismos que vivem em regiões de descargas químicas podem sofrer graves danos no DNA, resultando no declínio das populações (Geist, 2011). Além dos impactos nos ecossistemas, os poluentes lançados aos corpos hídricos trazem preocupações para a saúde da população dependente de tal recurso pois, mesmo após o tratamento, podem apresentar potencial genotóxico (Feretti et al., 2020; Wu et al., 2008). Pesticidas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), metais e produtos farmacêuticos integram os contaminantes de maiores preocupações, devido seus conhecidos efeitos mutagênicos (Bayen, 2012; Wijewardene et al., 2021).

Recomenda-se a inclusão de testes toxicogenéticos nos ambientes aquáticos para melhor qualificá-los. Diversos bioensaios são utilizados com a finalidade de avaliar e monitorar efluentes com alta carga química no ambiente. As plantas superiores são consideradas ótimos modelos genéticos (Leme e Marin-Morales, 2009). Inúmeros vegetais têm sido empregados em testes citogenéticos, como *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, *Vicia faba* e *Zea may* (Biruk et al.,

2017; Bonciu et al., 2018; Bosio e Laughinghouse IV, 2012; Pereira et al., 2009). *Allium cepa* (cebola comum) é considerado um eficiente sistema de teste para avaliação genotóxica de contaminantes químicos no ambiente, pois possui número reduzido de cromossomos ($2n=16$), sendo eles de grande tamanho, de simples cultivo e de fácil acesso, além de possuir boa correlação nos sistemas com animais (Chauhan et al., 1999).

O teste de *Allium cepa* foi proposto pela primeira vez por Levan (1938), quando buscava investigar os mecanismos citológicos da indução da duplicação de cromossomos pela colchicina, um alcalóide altamente tóxico extraído da planta *Colchicum autumnale*. As raízes do bulbo de *Allium cepa* foram colocadas em água pura para iniciar o crescimento e posteriormente foram transferidas para solução de colchicina. O autor encontrou alterações nos fusos mitóticos das células em presença da substância. Fiskesjö (1979) propôs as primeiras alterações do ensaio sugerindo deixar as raízes em contato com as amostras desde o início do crescimento. Ele conseguiu verificar o efeito de soluções solúveis, insolúveis e misturas complexas em água, que permitiu padronizar a espécie como um bioindicador para análises de qualidade aquática (Fiskesjö, 1985). Rank e Nielsen (1993) uniformizaram a análise das aberrações cromossômicas (AC), tornando o sistema mais eficiente em detectar agentes genotóxicos. Ma et al. (1995) incluiu a verificação de micronúcleos (MN) na F1 e considerou tal dado um efetivo indicador de mutagenicidade, pois MN são resultados de erros na divisão celular não corrigidos nas células-filhas.

Atualmente, o teste é executado a partir da exposição das raízes do bulbo ou sementes de *Allium cepa* nas amostras a serem avaliadas e nos controles positivos e negativos. O ensaio propõe a verificação do índice germinativo, índice mitótico, aberrações cromossômicas, e micronúcleos (Barbério et al., 2011; Bonciu et al., 2018; Leme e Marin-Morales, 2009). Estes parâmetros são considerados *endpoints* para classificar o efeito que o contaminante está exercendo no sistema. O índice germinativo (IG) é o único parâmetro macroscópico do ensaio, pois avalia a toxicidade através da germinação das sementes e crescimento das raízes. Muitos autores consideram a amostra tóxica quando ela provoca queda de 70% na germinação em relação ao controle negativo. A análise do índice mitótico (IM) fornece dados de citotoxicidade. É verificado pelo número de células em divisão celular em 1000 células analisadas. Amostras com o IM significativamente menores que o IM do controle negativo indicam alterações no crescimento causadas pelo contaminante. Por outro lado, aumentos significativamente maiores no IM das amostras podem formar uma multiplicação desordenada das células resultando em tecidos tumorais. As aberrações cromossômicas (AC) são caracterizadas por mudanças nas estruturas dos cromossomos e fornecem dados de genotoxicidade. Estas mudanças podem ser

derivadas da inibição da síntese de DNA, aneuploidias ou poliploidias resultantes de agentes genotóxicos nas amostras. O número e a frequência de micronúcleos (MN) é um indicativo de genotoxicidade e mutagenicidade. Os micronúcleos são estruturas similares ao núcleo, porém de tamanho reduzido e são derivados das aberrações cromossômicas. Tais medidas fornecem os dados necessários para o diagnóstico no sistema.

A possibilidade de usar amostras *in natura* no teste de *Allium cepa* é uma vantagem em relação a outros bioensaios que buscam avaliar a genotoxicidade. As células das raízes de *Allium cepa* possuem um complexo de enzimas oxidase para metabolizar hidrocarbonetos policíclicos, capacitando a espécie para ativar processos mutagênicos sem a necessidade de um sistema metabólico exógeno para avaliar esta classe de contaminantes (Fiskesjö, 1985). Os testes com *Allium cepa* são utilizados para detectar diversas classes de poluentes, como HPAs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), metais, pesticidas, produtos para desinfecção da água, resíduos de mineração, efluentes industriais e urbanos (Leme e Marin-Morales, 2009). Por outro lado, a alta sensibilidade do teste pode ser um obstáculo para identificar a classe de poluente que o ambiente está submetido.

Estudos de semelhança e correlação com outros testes são de grande importância pois servem para validar e especificar o sistema. Vários autores demonstram que o experimento com *Allium cepa* fornece resultados semelhantes a outros testes. Fiskesjö (1985) demonstrou que a espécie tem sensibilidade parecida com crustáceos e algas unicelulares na detecção de contaminantes por efluentes industriais. Chauhan et al. (1999) mostrou boa correlação entre os testes de *Allium cepa* e de linfócitos humanos para avaliar o efeito genotóxico de pesticidas. Rank e Nielsen (1994) demonstraram correspondência de 82% entre o ensaio com *Allium cepa* e experimentos com roedores para detectar carcinogênicos. Entretanto, os mesmos autores também manifestaram certas restrições para utilização da espécie na avaliação de possíveis agentes carcinogênicos, pois plantas superiores não possuem todos os complexos metabólicos de ativação genotóxica. O teste de *Allium cepa* segue sendo utilizado para avaliação de contaminantes, fornecendo importantes informações sobre a qualidade ambiental dos ecossistemas aquáticos.

Dessa forma, assumindo a ampla utilização e reconhecimento do ensaio de *Allium cepa* na determinação da genotoxicidade em ecossistemas aquáticos, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão do uso recente (10 anos) do ensaio de *Allium cepa* em águas continentais do Rio Grande do Sul, visando avaliar a utilização do teste e sua capacidade de detectar diferentes tipos de contaminantes no estado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo teve foco em trabalhos cujo objetivo principal foi a avaliação ecotoxicológica de recursos hídricos por meio do uso do sistema *Allium cepa*. A revisão bibliográfica foi realizada em dois bancos de dados eletrônicos, sendo eles Web of Science e Scholar Google.

A busca foi feita nas plataformas virtuais através da combinação das palavras “*Allium cepa*” com as principais palavras-chave de estudos em ambientes aquáticos. As seguintes combinações foram utilizadas: “Brazil AND *Allium cepa* AND toxicity OR ecotoxicity AND freshwater OR water OR river OR stream OR lake OR pond OR reservoir OR wetland OR sediment NOT marine”. Foram impostos como filtros de resultados trabalhos de pesquisa, estudos realizados em instituições do Rio Grande do Sul e com publicações no período de 2011 a 2021. O período de dez anos foi escolhido por contemplar trabalhos avaliando a maioria dos contaminantes e seus impactos nos recursos hídricos em período mais atual. A pesquisa foi realizada entre os meses de agosto e outubro de 2021 e a combinação das palavras resultou em 8871 trabalhos.

Uma triagem preliminar foi realizada através da leitura do título e dos resumos, pois a pesquisa resultou em todos os trabalhos dos bancos de dados eletrônicos que continham alguma das palavra-chave da busca. Foram selecionados trabalhos cujo foco central foi a avaliação dos parâmetros ecotoxicológicos de águas continentais por meio do teste de *Allium cepa*, o que resultou em 13 trabalhos.

Para organização e síntese dos resultados, foi criada uma tabela contendo as principais informações das publicações, conteúdo e resultados. A tabela auxiliou na análise de dados fornecidos pela literatura.

3 RESULTADOS

A amostra final resultou em 13 trabalhos para compor a revisão, sendo 12 artigos de pesquisa e uma dissertação de mestrado. No ano de 2020 foram publicados três artigos, representando o intervalo com maior número de publicações. Os períodos de 2018, 2016 e 2011 tiveram duas publicações em cada ano. Em 2021, 2017, 2014 e 2012 só foram publicados um trabalho em cada intervalo. Nos anos de 2019, 2015 e 2013 não houve publicações de trabalhos de pesquisa com *Allium cepa* realizados no Rio Grande do Sul. Na Tabela 1 estão resumidas as principais informações das publicações selecionadas para esta revisão.

Tabela 1 - Síntese dos artigos e dissertação realizados com o ensaio de *Allium cepa* em ecossistemas aquáticos continentais no Rio Grande do Sul, de 2011 a 2021.

Referência	Ano	Influência	Sistema	Compar- timento	Método	Endpoint	Resultado
(Martins et al., 2022)	2021	Descarga efluentes urbanos	Rio	Água	Semente	MN e AC	Genotoxicidade
(Rodrigues et al., 2020)	2020	Descarga efluentes urbanos	Arroio	Água	Semente	IM, AC e MN	Citotoxicidade e Genotoxicidade
(Viscardi et al., 2020)	2020	Indústria de cur-tume	Arroio	Água	Semente	IG e MN	Toxicidade e Genotoxicidade
(Gameiro et al., 2020)	2020	Contami-nação por substân-cias químicas	Rio	Sedime-nto	Semente	MN	Genotoxicidade
(Kasper et al., 2018)	2018	Ativida-des rurais	Arroio	Água	Bulbo	IM e AC	Citotoxicidade
(Artico et al., 2018)	2018	Mínера-ção de carvão	Arroio	Água	Semente	IM e MN	Citotoxicidade e Mutagenicidade
(Rambo et al., 2017)	2017	Reserva-tório de energia elétrica	Reserva-tório	Sedime-nto	Semente	AC e MN	Genotoxicidade
(Rodrigues et al., 2016)	2016	Ativida-des rurais	Rio	Água	Bulbo	IM	Citotoxicidade
(Kindler, 2016)	2016	Descarga efluentes urbanos	Arroio	Água	Semente	MN	Genotoxicidade
(Athanasio et al., 2014)	2014	Descarga efluentes urbanos	Arroio	Água	Semente	IM, AC	Citotoxicidade e Genotoxicidade
(Oliveira et al., 2012)	2012	Descarga efluentes urbanos	Rio	Água	Bulbo	IM, MN	Citotoxicidade e Genotoxicidade

(Costa et al., 2012)	2011	Contaminação por substâncias químicas	Rio	Água	Semente	IM, AC e MN	Citotoxicidade, Genotoxicidade e Mutagenicidade
(Nunes et al., 2011)	2011	Influência industrial	Rio	Água	Bulbo	IG e MN	Toxicidade

Entre os treze resultados, cinco publicações avaliaram a influência da descarga de efluentes urbanos não tratados em recursos hídricos, dois trabalhos analisaram o impacto de atividades rurais sob os corpos d'água, dois artigos investigaram o impacto de uma área contaminada sobre um rio. Um estudo examinou um arroio que recebe efluentes de indústria de curtume, uma publicação apresentou os efeitos tóxicos da mineração de carvão em arroios próximos, um investigou o efeito citogenotóxico das águas de um reservatório e um trabalho avaliou a influência industrial em um rio. Considerando os ecossistemas estudados, seis trabalhos foram realizados em rios, outros seis foram executados em arroios e somente um estudo foi feito em reservatório utilizado para geração de energia elétrica. Onze trabalhos foram efetuados com águas superficiais e dois com sedimento. Quanto às metodologias empregadas, nove foram desempenhadas utilizando sementes e quatro usando bulbos de *Allium cepa*. Todos os trabalhos obtiveram sucesso na verificação de *endpoints* para gerar um diagnóstico.

4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesta revisão indicam que o uso do teste de *Allium cepa* em ecossistemas aquáticos do Rio Grande do Sul tem sido empregado com eficácia para a determinação da genotoxicidade oriundas de diversos tipos de contaminantes.

A descarga de efluentes urbanos não tratados foi um dos tipos de impactos aos quais o ensaio de *Allium cepa* foi sensível em estudos no estado. Martins et al. (2022) objetivou no seu trabalho avaliar as características citogenotóxicas de um dos principais efluentes do Rio Gravataí (RS), o Arroio Demétrio. A bacia do Rio Gravataí é uma das mais poluídas do Brasil e é impactada diretamente pelos diversos impactos urbanos, como, resíduos sólidos, drenagem urbana, poluição atmosférica, resíduos rurais e, principalmente, despejos de esgoto industrial e doméstico sem tratamento prévio. Os autores encontraram respostas positivas para genotoxicidade e mutagenicidade em locais do Arroio Demétrio onde havia maior concentração

urbana e conseqüentemente maiores descargas de efluentes não tratados. Rodrigues et al. (2020) também monitoraram a qualidade de um arroio impactado por efluentes urbanos no município de Novo Hamburgo (RS), através de *Allium cepa*. O córrego é caracterizado pela má qualidade aquática resultante do despejo de efluentes domésticos e industriais. As autoras analisaram semanalmente amostras do arroio, em diferentes concentrações. Foram observados aumentos e diminuições significativas no índice mitótico quando comparados ao controle negativo. Também foram encontradas respostas positivas para genotoxicidade e mutagenicidade através da verificação de aberrações cromossômicas e micronúcleos. Kindler (2016) fez análises do potencial citogenotóxico de águas superficiais do arroio Aracá, localizado no município de Canoas (RS). O recurso hídrico vem sendo usado como destino de esgoto sem tratamento, carregando consigo grandes quantidades de agentes poluidores. A autora detectou mutagenicidade, através da indução positiva de micronúcleos, em amostras dos pontos de coleta mais urbanizados. Athanásio et al. (2014) investigou o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico em três córregos no município de Santa Cruz do Sul (RS). As amostras dos três arroios foram diagnosticadas como genotóxicas, através da frequência de aberrações cromossômicas, tendo um local que também apresentou citotoxicidade e mutagenicidade. O estudo de Oliveira et al. (2012) teve como objetivo analisar os efeitos tóxicos e genotóxicos das águas do Rio dos Sinos (RS). O rio está submetido ao impacto de descargas urbanas e industriais. As amostras foram coletadas nas cidades de Novo Hamburgo (RS) e São Leopoldo (RS) nas estações de verão e outono. Houve aumento significativo de micronúcleos em ambas estações, caracterizando as amostras positivas para genotoxicidade. A diminuição do índice mitótico foi observada somente no outono na amostra de Novo Hamburgo e no verão na amostra de São Leopoldo.

Efluentes urbanos não tratados têm por característica a formação de misturas complexas com conhecido potencial mutagênico (Bonciu et al., 2018). Inúmeros estudos mostram o efeito deste sistema de contaminação ao redor do mundo, validando os trabalhos feitos com *Allium cepa* no Rio Grande do Sul. Rank e Nielsen (1998) diagnosticaram potencial mutagênico em lodo de estação de tratamento influenciada por esgoto urbano. Batista et al. (2016) identificou toxicidade e mutagenicidade em águas de um rio impactado por descarga de esgoto urbano sem tratamento, através do teste com *Allium cepa*, no estado do Piauí, Brasil. O estudo de Tabet et al. (2015) avaliou o potencial mutagênico e genotóxico de um rio na Argélia, através de *Allium cepa* e teste de Ames. Foram diagnosticadas indução positiva de toxicidade e genotoxicidade.

A presente revisão também apontou o uso do ensaio de *Allium cepa* na avaliação de recursos hídricos em áreas rurais. Kasper et al. (2018) investigou o impacto de atividades

agrícolas e urbanas no Arroio Clarimundo, Cerro Largo (RS). Três locais foram amostrados nas quatro estações do ano. Os resultados indicam a diminuição do índice mitótico nos locais avaliados. Rodrigues et al. (2016) avaliou o potencial citotóxico e genotóxico em dois pontos do Rio da Ilha, no município de Taquara (RS), sendo um dos principais afluentes do Rio dos Sinos. A área é caracterizada por pequenas propriedades rurais e baixa densidade populacional. As amostras não apresentaram resultados positivos para genotoxicidade, entretanto a citotoxicidade foi detectada pela diminuição significativa do índice mitótico. Este resultado influi na genotoxicidade, pois se não ocorrer divisões celulares não há como verificar os efeitos nos estágios de pós-divisão (Fernandes et al., 2007).

Apesar de não ter sido verificado nos dois trabalhos avaliados, sabe-se que áreas rurais possuem capacidade de gerar impactos mutagênicos no sistema de *Allium cepa*, devido ao uso de pesticidas e perda da cobertura original do solo (Bonciu et al., 2018; Hollas et al., 2019).

A contaminação por substâncias químicas foi outro tipo de impacto avaliado pelo teste de *Allium cepa* no Rio Grande do Sul. O estudo de Costa et al. (2012) avaliou o potencial mutagênico da água intersticial de locais do rio Taquari, que estão expostos a um sítio contaminado por químicos para preservação de madeira. As amostras apresentaram resultados positivos para citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade. Dados da avaliação química identificaram HPAs e metais pesados nos locais amostrados. Gameiro et al. (2020) também analisou o potencial genotóxico nos mesmos locais do estudo anterior, mas avaliando o sedimento, e detectou resultados significativamente positivos para genotoxicidade utilizando *Allium cepa*. As análises químicas indicaram que o local ainda estava sob influência de HPAs e metais pesados.

A contaminação por agentes químicos é um dos fatores de maior risco para gerar efeitos tóxicos nos organismos. Produtos para preservação de madeira possuem alta carga química e a contaminação em ambientes aquáticos gera grande preocupação. Os componentes de preservantes de madeira têm a capacidade de reagir com outros contaminantes e formar misturas complexas ainda mais tóxicas (Adam et al., 2009).

O ensaio de *Allium cepa* foi sensível também na identificação de impacto oriundo da mineração de carvão no estado. Artico et al. (2018) analisou a água superficial de córregos nos arredores de locais de mineração de carvão em Candiota (RS). As amostras induziram efeitos citotóxicos e mutagênicos em *Allium cepa*, evidenciando a seriedade deste tipo de impacto e a eficiência do teste. Atividades de mineração liberam no ambiente inúmeros contaminantes que resultam em danos nos ecossistemas e na saúde das pessoas expostas. A economia do município de Candiota é muito dependente da mineração de carvão, por isso é extremamente necessário o

conhecimento dos impactos desta prática. Freitas et al. (2017) avaliou parâmetros da qualidade de uma lagoa sob a influência da extração de carvão, em Santa Catarina, e detectou indução de mutagenicidade nas células de *Allium cepa*.

A avaliação genotoxicológica oriunda de efluentes industriais no estado também foi realizada com o ensaio de *Allium cepa*. O estudo de Viscardi et al. (2020) investigou os impactos de efluentes resultantes das atividades da indústria de curtume, no arroio Estância Velha (RS), que integra a Bacia do Rio dos Sinos. Os autores identificaram ação tóxica e genotóxica em *Allium cepa* nas amostras do ensaio. A maioria dos efluentes industriais lançados no arroio Estância Velha não apresenta pré-tratamento, logo as substâncias com potencial genotóxico são disponibilizadas no recurso hídrico. Nunes et al. (2011) avaliou os dados de toxicidade e genotoxicidade da água do Rio dos Sinos, que é impactado por diversas atividades industriais. Os autores detectaram toxicidade nos locais estudados através do teste de *Allium cepa*. O impacto causado pela descarga de efluentes industriais em recursos hídricos é bastante variado, pois depende do tipo de indústria e das atividades realizadas. Caritá e Marin-Morales (2008) constataram mutagenicidade em sementes de *Allium cepa* em amostras de água contaminadas por efluentes de indústria têxtil. Radic et al. (2010) avaliou o potencial citogenotóxico de descargas de esgoto industrial no rio Sava, na Croácia. Os autores identificaram que as amostras tinham potencial de causar inibição do crescimento das raízes, diminuição do índice mitótico e aumento significativo de aberrações cromossômicas.

Os estudos com *Allium cepa* no estado também obtiveram sucesso na avaliação do teste em sistema de reservatórios de energia elétrica (Rambo et al., 2017). Os autores detectaram indução positiva de aberrações cromossômicas nas amostras do sedimento do reservatório. A geração de energia por meio de reservatórios de usinas hidroelétricas resulta em enormes perturbações ecológicas, pois ocorre a diminuição do fluxo de água, levando ao acúmulo de substâncias tóxicas no ambiente (Von Sperling, 2012).

Nossos resultados demonstram que, nos últimos 10 anos, o teste de *Allium cepa* foi sensível em avaliar recursos hídricos continentais impactados pela maioria dos agentes contaminantes urbanos, industriais, agrícolas e de atividades de mineração. O sistema é mundialmente utilizado para caracterização dos recursos hídricos. O emprego de *Allium cepa* em distintos locais ao redor do mundo valida os resultados encontrados no Estado.

A avaliação da citogenotoxicidade de ambientes aquáticos, em conjunto com análises físico-químicas e microbiológicas, fornece medidas para caracterização dos ecossistemas. A maioria dos artigos da revisão de literatura científica, emprega os experimentos com *Allium cepa* em água superficial ou intersticial dos sistemas avaliados. Entretanto, o sedimento também

deveria ser um compartimento mais regular de estudo, pois ele apresenta o histórico de contaminantes que foram expostos na bacia hidrográfica (Esteves, 2011).

O teste de *Allium cepa* também pode ser executado em outros ambientes aquáticos que não foram contemplados no período determinado para revisão da literatura científica. Estudos em lagoas costeiras do estado seriam de grande relevância, pois com o crescimento urbano litorâneo estão cada vez mais suscetíveis a contaminações.

Apesar do bom desempenho verificado pelo ensaio de *Allium cepa*, outros sistemas de avaliação da citogenotoxicidade devem ser executados para uma melhor caracterização da qualidade aquática.

5 CONCLUSÃO

Avaliar os parâmetros de toxicidade da água é fundamental para evitar danos nos ecossistemas e na saúde da população. Todos os autores revisados na literatura científica corroboram com a eficácia do teste de *Allium cepa* em detectar poluentes ambientais. Recomendamos a inclusão de testes toxicogenéticos na avaliação da qualidade aquática, para assim aliados a testes químicos e microbiológicos fornecer uma melhor caracterização dos recursos hídricos.

6 REFERÊNCIAS

- ADAM, O. et al. Mixture toxicity assessment of wood preservative pesticides in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 2, p. 441–449, 2009.
- ARTICO, L. L. et al. Toxicological Effects of Surface Water Exposed to Coal Contamination on the Test System *Allium cepa*. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 229, n. 8, 2018.
- ATHANÁSIO, C. G.; PRÁ, D.; RIEGER, A. Water quality of urban streams: The *Allium cepa* seeds/seedlings test as a tool for surface water monitoring. **Scientific World Journal**, v. 2014, 10 dez. 2014.
- BARBÉRIO, A.; VOLTOLINI, J. C.; MELLO, M. L. S. Standardization of bulb and root sample sizes for the *Allium cepa* test. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 4, p. 927–935, 2011.
- BATISTA, N. J. C. et al. Genotoxic and mutagenic evaluation of water samples from a river under the influence of different anthropogenic activities. **Chemosphere**, v. 164, p. 134–141, 2016.

- BAYEN, S. Occurrence, bioavailability and toxic effects of trace metals and organic contaminants in mangrove ecosystems: A review. *Environment International*, v. 48, p. 84–101, 2012.
- BIRUK, L. N. et al. Toxicity and genotoxicity assessment in sediments from the Matanza-Riachuelo river basin (Argentina) under the influence of heavy metals and organic contaminants. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, v. 135, n. August 2016, p. 302–311, 2017.
- BONCIU, E. et al. An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. ***Caryologia***, v. 71, n. 3, p. 191–209, 2018.
- BOSIO, S.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. ***Environmental Contamination***, 2012.
- CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. ***Chemosphere***, v. 72, n. 5, p. 722–725, 2008.
- CHAUHAN, L. K. S.; SAXENA, P. N.; GUPTA, S. K. Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. ***Environmental and Experimental Botany***, v. 42, n. 3, p. 181–189, 1999.
- DA COSTA, T. C. et al. Runoff of genotoxic compounds in river basin sediment under the influence of contaminated soils. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, v. 75, n. 1, p. 63–72, 2012.
- ESTEVES, F. DE A. ***Fundamentos de limnologia***. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.
- FERETTI, D. et al. Genotoxicity of source, treated and distributed water from four drinking water treatment plants supplied by surface water in Sardinia, Italy. ***Environmental Research***, v. 185, n. December 2019, p. 109385, 2020.
- FISKESJÖ, G. Mercury and selenium in a modified *Allium* test. *Hereditas*, v. 91, n. 2, p. 169–178, 1979.
- FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. ***Hereditas***, v. 102, n. 1, p. 99–112, 1985.
- FREITAS, L. et al. Coal extraction causes sediment toxicity in aquatic environments in Santa Catarina, Brazil. ***Revista Ambiente e Água***, v. 12, n. 4, 2017.
- GAMEIRO, P. H. et al. Evaluation of effect of hazardous contaminants in areas for the abstraction of drinking water. ***Environmental Research***, v. 188, 2020.
- GEIST, J. Integrative freshwater ecology and biodiversity conservation. ***Ecological Indicators***, v. 11, n. 6, p. 1507–1516, 2011.

- GRANT, W. F. Chromosome aberration assays in *Allium*. **Mutation Research**, v. 99, p. 273–291, 1982.
- HOLLAS, C. E. et al. Water quality for rural home supplying in the south of Brazil. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 41, n. 1, 2019.
- KASPER, N. et al. Impact of anthropic activities on eukaryotic cells in cytotoxic test. **Ambiente & Água**, v. 13, n. 3, 2018.
- KINDLER, F. A. **Avaliação da citogenotoxicidade das águas do Arroio Araçá (Canoas – RS – Brasil) através do sistema *Allium cepa***. 2016. Dissertação (Mestrado em Avaliação de Impactos Ambientais) – Centro Universitário La Salle, Canoas, 2016.
- 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, 2009.
- LEMOS, C. T. et al. River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 66, n. 3, p. 391–401, mar. 2007.
- LEMOS, C. T.; ERDTMANN, B. Cytogenetic evaluation of aquatic genotoxicity in human cultured lymphocytes. **Mutation Research**, v. 467, n. 1, p. 1–9, 2000.
- LEVAN, Albert. The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. **Hereditas**, v. 24, n. 4, p. 471–486, 1938.
- MA, T. et al. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 334, n. 2, p. 185–195, 1995.
- MARTINS, L. P. et al. Water quality assessment of the Demetrio stream: An affluent of the Gravataí River in the South of Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. 1–10, 2022.
- NUNES, E. A. et al. Genotoxic assessment on river water using different biological systems. **Chemosphere**, v. 84, n. 1, p. 47–53, 2011.
- OLIVEIRA, J. P. W.; SANTOS, R. N. DOS; BOEIRA, J. M. Genotoxicidade e Análises Físico-Químicas das águas do Rio dos Sinos (RS) usando *Allium cepa* e *Eichhornia crassipes* como bioindicadores. **BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 1, n. 1, p. 15–22, 2012.
- PEREIRA, R. et al. Phytotoxicity and genotoxicity of soils from an abandoned uranium mine area. **Applied Soil Ecology**, v. 42, n. 3, p. 209–220, 2009.
- RADIĆ, S. et al. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 5, p. 1228–1233, 2010.

- RAMBO, C. L. et al. Hydropower reservoirs: cytotoxic and genotoxic assessment using the *Allium cepa* root model. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 9, p. 8759–8768, 2017.
- RANK, J.; NIELSEN, M. H. A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. **Hereditas**, v. 118, p. 49–53, 1993.
- RANK, J.; NIELSEN, M. H. Evaluation of the *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 312, n. 1, p. 17–24, 1994.
- RANK, J.; NIELSEN, M. H. Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 418, n. 2–3, p. 113–119, 1998.
- RODRIGUES, G. Z. P. et al. Environmental assessment of Luiz Rau Stream (Brazil) utilizing *Allium cepa* test. **Ciência e Natura**, v. 42, p. 76, 2020.
- RODRIGUES, G. Z. P. Uso do bioensaio com *Allium cepa* L. e análises físico-químicas e microbiológicas para avaliação da qualidade do Rio da Ilha, RS, Brasil. **Acta toxicológica argentina**, v. 24, n. 2, 2016.
- TABET, M. et al. Mutagenic and genotoxic effects of Guelma's urban wastewater, Algeria. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 2, p. 1–13, 2015.
- VISCARDI, M. H. et al. Environmental Quality and Cytogenotoxic Impact of the Waters of a Stream Receiving Effluents from Tannery Industry. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 231, n. 6, 2020.
- VON SPERLING, E. Hydropower in Brazil: Overview of positive and negative environmental aspects. **Energy Procedia**, v. 18, p. 110–118, 2012.
- WIJEWARDENE, L. et al. Influences of pesticides, nutrients, and local environmental variables on phytoplankton communities in lentic small water bodies in a German lowland agricultural area. **Science of the Total Environment**, v. 780, p. 146481, 2021.
- WU, Y. et al. Genotoxicity evaluation of drinking water sources in human peripheral blood lymphocytes using the comet assay. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 4, p. 487–491, 2008.