



**QUALIDADE DA ÁGUA DE NASCENTES EM MEIO ESSENCIALMENTE
AGRÍCOLA UTILIZANDO O BIOENSAIO *ALLIUM CEPA*¹**

**QUALITY OF SPRING WATER IN ESSENTIALLY AGRICULTURAL ENVIRONMENT USING THE
ALLIUM CEPA BIOASSAY**

**Márcia Sostmeyer Jung², Camila Morizzo Copetti³, Rafael Schneider Costa⁴, Natiane
Carolina Ferrari Basso⁵, Cibele Luisa Peter⁶, José Antonio Gonzalez da Silva⁷**

¹Projeto de pesquisa desenvolvido na UNIJUÍ – IJUÍ, RS;

² Engenheira Química, Mestranda em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade, bolsista PROFAP – UNIJUÍ;

³ Estudante do curso de Ciências Biológicas, bolsista PROFAP – UNIJUÍ;

⁴ Estudante do curso de Ciências Biológicas, bolsista do programa de educação tutorial - UNIJUÍ;

⁵ Bolsista PROSUC/CAPES, mestranda em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade;

⁶ Bolsista PROSUC/CAPES, doutoranda em Modelagem Matemática e Computacional – UNIJUÍ;

⁷ Engenheiro Agrônomo, Professor do Mestrado em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade – UNIJUÍ.

INTRODUÇÃO

As nascentes de água são responsáveis por formar e manter córregos, rios e lagos, e fornecem água para as atividades humanas e manutenção da biodiversidade (ROMERO, 2017). Em ambientes rurais, a ocupação das áreas de recarga e de preservação permanente por atividades agropecuárias e práticas inadequadas no uso da terra, ocasionam processos erosivos responsáveis pelo assoreamento e obstrução do afloramento, e comprometem a qualidade da água carreando fertilizantes, agrotóxicos e outros contaminantes (GALVAN et al., 2020).

O monitoramento da qualidade da água de nascentes precisa ir além das ferramentas tradicionais de análises, a ponto de avaliar possíveis danos que as substâncias contaminantes na água podem causar aos seres vivos. Nesta perspectiva, o teste *Allium cepa* vem sendo cada vez mais buscado, seja pela sua elevada sensibilidade e/ou baixo custo, manuseio e rapidez (MAZZEO; FERNANDES; MARIN-MORALES, 2011).

O objetivo deste trabalho foi avaliar as divisões do ciclo mitótico e as alterações celulares da água de nascentes localizadas em área essencialmente agrícola utilizando o bioensaio *Allium cepa*, buscando estratégias de qualificação dos procedimentos de avaliação da qualidade da água em programas de monitoramento ambiental.

METODOLOGIA



O estudo foi desenvolvido nos municípios de Ijuí e Bozano, junto à bacia hidrográfica do rio Ijuí, região noroeste do RS. Foram analisadas 3 nascentes de água, sendo uma em área de cultivo agrícola, uma em mata nativa com proteção por drenagem e, uma em área com pecuária de leite. As amostras de água de nascentes foram coletadas nas quatro estações do ano, entre outubro de 2020 e julho de 2021. Foram armazenadas em garrafas plásticas, de primeiro uso e sem adição de conservantes, e transferidas para o Laboratório de Biologia da UNIJUÍ.

Para o bioensaio, foram colocadas para germinar aproximadamente 100 sementes de *Allium cepa* (cultivar Cebolleta), conforme método validado (SILVEIRA et al. 2018). Quando as raízes atingiram em torno de 0,5 cm de comprimento, a água destilada foi substituída pela água das nascentes, permanecendo por 24 horas, sendo que um gerbox, representando o grupo controle, permaneceu em água destilada. As raízes foram coletadas e fixadas em solução Carnoy 3: 1 por 24 h e acondicionadas em frascos de vidro com tampa, a temperatura ambiente. Foram retiradas do fixador e armazenadas em etanol 70% sob refrigeração. A preparação das lâminas seguiu a técnica de esmagamento (GUERRA; SOUZA, 2002).

As células foram analisadas com microscópio óptico com sistema fotográfico (Olympus BX40) em objetiva 40X. Para cada ponto amostral, foram utilizadas oito radículas com análise aleatória de quatro pontos por lâmina, analisando 4 mil células. Foram observadas e contabilizadas o ciclo celular e as alterações cromossômicas (MALAKAHMAD et al., 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentadas as informações o número de divisões, ciclo celular e alterações cromossômicas em células de *Allium cepa* em água de nascentes.

TABELA 1 - Número de células nas diferentes fases do ciclo celular das células *Allium cepa* expostas na água das nascentes e o número total de alterações cromossômicas

Divisão Celular	Controle	Nascentes de água			Média	Desvio Padrão
		N1	N3	N4		
Interfase	11715	12481	11899	12259	12213	294
Células em divisão	4285	3519	4101	3741	3787	294
Prófase	3971	3258	3830	3483	3524	288
Metáfase	139	102	117	112	110	8
Anáfase	71	46	72	55	58	13
Telófase	104	113	82	91	95	16
Número de alterações cromossômicas	339	498	551	363	471	97

Fonte: os autores.



Na Tabela 1, se observa que na interfase e no número de células em divisão a nascente N3 mostrou maior similaridade nos valores absolutos com o grupo controle. No entanto, para compreender a efetividade das condições das nascentes em relação à qualidade da água foi analisado o número de alterações cromossômicas. Neste cenário, se observa que a nascente N4 mostra maior similaridade com o grupo controle. Ao analisar o número de alterações cromossômicas, foi observado que nenhuma nascente apresentou valores acima da média mais um desvio padrão. Por outro lado, foi confirmado que o grupo controle e a nascente N4 apresentaram similaridade, estando ambas com menor número de alterações cromossômicas pela média menos um desvio padrão. Os resultados mostram que embora a nascente de água N4 esteja em área de criação bovina, e ausência de vegetação no entorno, o cuidado pela proteção por tubos de concreto no afloramento foi efetivo para manter melhores condições que as nascentes localizadas em mata nativa e área de cultivo agrícola.

Na Tabela 2 é apresentada uma descrição minuciosa dos tipos de alterações cromossômicas identificadas nas células *Allium cepa*.

TABELA 2 – Detalhamento das alterações cromossômicas encontradas em células *Allium Cepa*

Tipos de alterações cromossômicas	Controle	Nascentes de água			Média	Desvio Padrão
		N1	N3	N4		
Micronúcleo	1	1	1	1	1	0
Apoptose	269	438	483	298	406	96
Ponte cromossômica	17	18	26	16	20	5
Aderência cromossômica	10	11	11	9	10	1
Despolarização				1	1	0
Fragmentação Cromossômica	3	4	8	1	4	4
Botão nuclear	8	3		1	2	1
Cromossomo retardatário	13	15	14	20	16	3
c-metáfases	1		6	5	6	1
Ponte cromossômica e cromossomo retardatário	6	5	1	8	5	4
Ponte cromossômica e cromossomo adiantado	2		1		1	0
Cromossomo retardatário e quebra cromossômica		1		1	1	0
Ponte cromossômica, cromossomos retardatários e quebra cromossômica				1	1	0
Célula Binucleada	8	2		1	2	1

Fonte: os autores.

O conjunto dos tipos de alterações apresentadas (Tabela 2) indicam que o maior número de alterações apresentado foi células em apoptose. Das três nascentes de água, a nascente N4 apresentou número de células em apoptose mais próximo ao grupo controle. Por outro lado, a nascente N3 apresentou o maior número de células deste tipo de alteração. A



apoptose é um processo que resulta na morte celular que pode ser consequência da lesão das células por produtos químicos que provocam uma sequência complexa de eventos. As alterações cromossômicas são causadas por agentes genotóxicos que causam deformidades nos cromossomos (FISKESJÖ, 1985), levando a alterações no DNA (DE OLIVEIRA *et al.*, 2011), e se os eventos de reparo forem malsucedidos, os erros são irreversíveis, levando à apoptose (KAIUOMOVA; SÜSAL; OPELZ, 2001; MAJER *et al.*, 2005).

As alterações cromossômicas são consideradas um marcador de genotoxicidade, pois representam danos ao material genético da célula, ou seja, ao DNA (ALBERTINI *et al.* 2000; RODRIGUES *et al.*, 2020). Os danos celulares podem ser causados pela contaminação da água por agrotóxicos, poluentes atmosféricos e materiais orgânicos e inorgânicos, originários, basicamente, do escoamento superficial das águas pluviais (CIAPPINA *et al.*, 2017; JACOBOSKI; FACHINETTO, 2021).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação das divisões do ciclo mitótico e das alterações cromossômicas em células de *Allium cepa* expostas em água de nascentes, localizadas em área essencialmente agrícola, mostra que dentre as nascentes de água estudadas, a nascente N3 apresentou número de células em interfase e divisão similar ao grupo controle. A nascente N4 se destacou pela similaridade com relação ao grupo controle quanto ao número de alterações cromossômicas e a ocorrência de células em apoptose. As demais nascentes de água apresentaram alterações nestes indicadores, quando comparadas ao grupo controle. Os resultados mostram que o teste *Allium cepa* é uma excelente ferramenta para analisar as condições ambientais de nascentes e os reflexos na qualidade da água.

Palavras-chave: Meio rural. Recursos Hídricos. Sustentabilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTINI R. J. *et al.* IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. **Mutation Research**. v. 463, n. 2, p. 111-172, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(00\)00049-1](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(00)00049-1). Acesso em: 15 ago. 2022.
- CIAPPINA, A. *et al.* Oxicity of *Jatropha Curcas* L. Latex in *Allium cepa* test. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 5, p. 1295 – 1304, 2017.



DE OLIVEIRA, L. M. *et al.* Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste *Allium cepa*. **Revista Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 6, n. 1, p. 90-103, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.176>. Acesso em: 15 ago. 2022.

FISKESJÖ, G. Allium test II: Assessment of a chemical's genotoxic potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa*. **Environmental Toxicology and Water Quality**, v. 9, n. 3, p. 235-241, 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/tox.2530090311>. Acesso em: 15 ago. 2022.

GALVAN, K. A. *et al.* Análise ambiental macroscópica e a qualidade da água de nascentes na bacia do Rio São Domingos/SC, Brasil. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 1, p. 165-176, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.001.0016>. Acesso em: 12 ago. 2022.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto: Ed. FUNPEC. 131 p., 2002.

JACOBOSKI, B. K.; FACHINETTO, J. Avaliação da qualidade da água do Arroio Matadouro, Ijuí, Rio Grande do Sul, por parâmetros físico-químicos e pelo teste de *Allium cepa*. **Eng. Sanit Ambient**, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-415220200388>. Acesso em: 15 ago. 2022.

KAIUOMOVA, D.; SÜSAL, C.; OPELZ, G. Induction of apoptosis in human lymphocytes by the herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. **Human Immunology**, v. 62, n. 1, p. 64-74, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0198-8859\(00\)00229-9](https://doi.org/10.1016/S0198-8859(00)00229-9). Acesso em: 15 ago. 2022.

MAJER, B. J. *et al.* Use of Plant Bioassays for the Detection of Genotoxins in the Aquatic Environment. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica** v. 33, n. 1, p. 45-55, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/aheh.200300557>. Acesso em: 15 ago. 2022.

MALAKAHMAD, A., MANAN, T. S. B. A., SIVAPALAN, S. KHAN, T. Genotoxicity assessment of raw and treated water samples using *Allium cepa* assay: evidence from Perak River, Malaysia. **Environ Sci Pollut Res**. v. 25, p. 5421-5436, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0721-8>. Acesso em: 15 ago. 2022.

MAZZEO, D. E. C., FERNANDES, T. C. C., MARIN-MORALES, M. A. Cellular damages in the *Allium cepa* test system, caused by BTEX mixture prior and after biodegradation process. **Chemosphere**, v. 85, p. 13-18, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.056>. Acesso em: 12 ago. 2022.

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. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/2179460X41818>. Acesso em: 15 ago. 2022.

ROMERO, J. V. S. Nascentes: Recuperação, Adequação e Conservação. **Rev. Técnico Científica do CREA-PR**, 2017. Disponível em: <https://creaprw16.crea-pr.org.br/revista/Sistema/index.php/revista/article/view/81/116>. Acesso em: 12 ago. 2022.

SILVEIRA, M. A. D. *et al.* Direct and indirect anthropogenic contamination in water sources: evaluation of chromosomal stability and cytotoxicity using the *Allium cepa* Test. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 100, n. 2, p. 216-220, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-017-2232-1>. Acesso em: 15 ago. 2022.