

USO DO SISTEMA TESTE *ALLIUM CEPA* PARA AVALIAR A QUALIDADE DAS ÁGUAS DE NASCENTES EM BRAGANÇA PAULISTA (SP)

LOHAYNE MURIEL BATISTA BUENO¹, ANA CRISTINA GOBBO CÉSAR²

¹ Discente do Curso Técnico em Informática Integrado ao Ensino Médio, Bolsista PIBIFSP, IFSP, Câmpus Bragança Paulista, lohayne.muriel@aluno.ifsp.edu.br.

² Professor EBT, IFSP, Câmpus Bragança Paulista, anagobbo@ifsp.edu.br

Área de conhecimento (Tabela CNPq): 2.02.06.00-3 Mutagênese

RESUMO: Conforme o aumento do consumo de água, os recursos hídricos se tornam cada vez mais escassos devido aos processos de uso e de poluição. O teste *Allium cepa* é utilizado no biomonitoramento, pois o crescimento radicular da cebola é um método sensível na detecção dos efeitos citotóxicos promovidos por poluentes industriais e residenciais. Assim, o objetivo foi avaliar a qualidade de nascentes localizadas em Bragança Paulista, SP, colaborando com a sua conservação. Foram coletadas amostras das nascentes Vale das Águas (Ponto A), Euroville II (Ponto B) e Fraternidade (Ponto C), as quais foram expostas a cinco cebolas por ponto. Outros cinco bulbos foram colocados em água sem cloro (controle negativo) e mais cinco, em solução de 15µg/L metil metanossulfonato (MMS), usada como controle positivo por inibir o crescimento radicular. Dez raízes foram escolhidas aleatoriamente por bulbo e, estas tiveram seu crescimento mensurado, após 72, 120 e 168 horas de exposição. Para análise estatística foi aplicado o teste ANOVA *one-way* e pós teste de Tukey (programa GraphPad Prisma 8). Os pontos A e B apresentaram qualidade da água semelhante ao controle negativo e o ponto C demonstrou ação citotóxica inibindo o crescimento radicular, provavelmente causada por substância(s) química(s) contaminando a nascente.

PALAVRAS-CHAVE: nascentes; citotoxicidade; preservação dos recursos naturais.

USE OF THE *ALLIUM CEPA* TEST SYSTEM TO EVALUATE THE QUALITY OF WATERS FROM SOURCES IN BRAGANÇA PAULISTA (SP)

ABSTRACT: According the increase in water consumption, water resources become increasingly scarce due to the processes of use and consumption. The *Allium cepa* test is used in biomonitoring, since the root growth of the onion is a sensitive method in detecting the cytotoxic effects promoted by industrial and residential pollutants. Thus, the objective was to assess the quality of springs located in Bragança Paulista, SP, collaborating with their conservation. Samples were collected from the springs Vale das Águas (Point A), Euroville II (Point B) and Fraternidade (Point C), which were exposed to five onions per point. Another five bulbs were placed in water without chlorine (negative control) and five more, in a 15µg / L methyl methanesulfonate (MMS) solution, used as a positive control for inhibiting root growth. Ten roots were chosen randomly per bulb and their growth was measured after 72, 120 and 168 hours of exposure. For statistical analysis, the *one-way* ANOVA test and the Tukey post-test (GraphPad Prisma 8 program) were applied. The points A and B showed water quality similar to the negative control and point C demonstrated cytotoxic action inhibiting root growth, probably caused by chemical substance(s) contaminating the spring.

KEYWORDS: springs; cytotoxicity; preservation of natural resources.

INTRODUÇÃO

As águas superficiais são frequentemente expostas a contaminantes domésticos, industriais e agrícolas (LEMOS *et al.*, 2012), como pesticidas, metais pesados e produtos de limpeza doméstica que contribuem para a toxicidade (PEREIRA *et al.*, 2007; VARGAS *et al.*, 2008). Alguns desses contaminantes liberados no ambiente aquático, são capazes de inibir a atividade celular ou alterar o material genético podendo comprometer a fisiologia e sobrevivência de organismos aquáticos, transmitindo esta contaminação aos níveis tróficos superiores, incluindo o ser humano (BIANCHI *et al.*, 2011).

Desse modo, uma das plantas mais usadas como bioindicadora na detecção do potencial tóxico dos poluentes presentes nas águas superficiais é a cebola (*Allium cepa*), por meio do chamado sistema teste *Allium cepa* (NILUFER *et al.*, 2008), por ser muito sensível na detecção dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos promovidos por estes contaminantes (BARBÉRIO, 2013; SALLES *et al.*, 2016; KASPER *et al.*, 2018).

Desde 2018, os gestores municipais de Bragança Paulista (SP) e a Agência das Bacias PCJ (Piracicaba-Capivari-Jacareí) têm desenvolvido ações para a recuperação e preservação de nascentes, principalmente daquelas que são usadas no abastecimento público. Diante disso, com o intuito de contribuir com a conservação dos recursos hídricos da região, este trabalho se propôs a avaliar a qualidade das nascentes localizadas em Bragança Paulista, SP, usando o sistema teste *Allium cepa*.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no município de Bragança Paulista, SP, distante 88 km da capital paulista. Seu território abrange 512.621 Km² e abriga uma população estimada de 168.668 habitantes em 2019 (IBGE, 2019).

1. PONTOS DE COLETAS

Nascente Vale das Águas – Ponto A

Encontra-se em área urbana e residencial, sua localização geográfica UTM é 339485.19 m E, 7459792.42 m S. No local, há presença de espécies invasoras e fatores de degradação (BRAGANÇA PAULISTA, 2019).

Nascente Euroville II – Ponto B

Encontra-se em área urbana e residencial, sua localização geográfica UTM é 341033.94 m E, 7457291.95 Km S. No local, não há presença de espécies invasoras e fatores de degradação (BRAGANÇA PAULISTA, 2019).

Nascente Fraternidade – Ponto C

Encontra-se em área urbana e residencial, sua localização geográfica UTM é 341372.96 m E, 7464400.75 Km S. No local, há presença de espécies invasoras e fatores de degradação (BRAGANÇA PAULISTA, 2019).

2. SISTEMA TESTE *ALLIUM CEPA*

As amostras de água foram expostas a cinco cebolas, para cada ponto de coleta. Outros cinco bulbos foram colocados em água sem cloro (controle negativo) e mais cinco, em solução de 15µg/L metil metanossulfonato (MMS), usada como controle positivo por inibir o crescimento radicular (Figura 1).



FIGURA 1. Cebolas exposta aos tratamentos. Fonte: Próprio autor.

Dez raízes foram escolhidas aleatoriamente por bulbo e, estas tiveram seu crescimento mensurado, após 72, 120 e 168 horas de exposição.

3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para comparar a variação dos valores de crescimento radicular entre cada tipo de tratamento foi empregado o teste ANOVA *one-way* e o teste de comparação de Tukey, com intervalo de confiança 95% e valor de $p < 0,005$, usando o programa GraphPad Prisma 8.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos foram usados para cálculo da média e desvio-padrão do crescimento radicular nos diferentes tratamentos, conforme apresentado na tabela 1.

TABELA 1. Valores (cm) obtidos por meio da medição das raízes (média $\pm$ desvio-padrão) após a exposição dos bulbos aos tratamentos em 72, 120 e 168 horas.

Tratamentos	Tempo de exposição (h)		
	72	120	168
Água sem cloro	0,96 $\pm$ 0,07	2,44 $\pm$ 0,35	4,04 $\pm$ 0,65
MMS	0,78 $\pm$ 0,31	2,15 $\pm$ 0,43	3,44 $\pm$ 0,57
Nascente Vale das Águas (A)	0,85 $\pm$ 0,13	2,11 $\pm$ 0,57	3,25 $\pm$ 0,92
Nascente Euroville II (B)	0,88 $\pm$ 0,11	2,56 $\pm$ 0,49	3,97 $\pm$ 0,84
Nascente Fraternidade (C)	0,58 $\pm$ 0,15	2,11 $\pm$ 0,39	3,62 $\pm$ 0,81

Fonte: Próprio autor.

A comparação do crescimento radicular entre os tratamentos após 72, 120 e 168 horas de exposição, demonstrou valor estatisticamente significativo apenas para o primeiro dia de medição, apresentando respectivamente os valores $F=63,03$; ($p < 0,0001$), $F=0,99$ ($p=0,4182$) e $F=0,69$ ($p=0,6050$), obtidos através da aplicação do teste ANOVA *one-way*.

No quadro 1 pode-se observar os resultados do pós-teste de comparação de Tukey que permitiram identificar valores estatisticamente significativos do crescimento radicular entre os diferentes tratamentos.

QUADRO 1. Valores das diferenças entre as médias do crescimento radicular e q obtidos a partir do teste de comparação de Tukey para após 72, 120 e 168 horas de exposição aos tratamentos.

Tratamentos		Diferenças entre as médias; q			
		Água	MMS	Ponto A Vale das Águas	Ponto B Euroville II
MMS	72h	0,59;17,51 ****			
	120h	-0,17;0,73 ns			
	168h	0,13;0,41 ns			
Ponto A Vale das Águas	72h	-0,07;2,07 ns	-0,66;19,59 ****		
	120h	0,31;1,32 ns	0,48;2,05 ns		
	168h	0,46;1,45 ns	0,33;1,04 ns		
Ponto B Euroville II	72h	0,02;0,59 ns	-0,57;16,91 ****	0,09;2,67 ns	
	120h	-0,12;0,51 ns	0,05;0,21 ns	-0,43;1,84 ns	
	168h	-0,27;0,85 ns	-0,40;1,26 ns	-0,73;2,30 ns	
Ponto C Fraternidade	72h	0,22;6,53 ***	-0,37;10,98 ****	0,29;8,60 ****	0,20;5,93 **
	120h	0,32;1,37 ns	0,49;2,09 ns	0,01;0,04 ns	0,44;1,88 ns
	168h	0,09;0,28 ns	-0,04;0,13 ns	-0,37;1,17 ns	0,36;1,14 ns

q= valor do teste de comparação de Tukey; **** $p < 0,0001$; ns = não significativo.

A comparação entre a média de crescimento radicular dos bulbos expostos ao controle negativo (água sem cloro) e ao controle positivo (MMS) permitiu observar valores estatisticamente significativos ($p < 0,001$), apenas 72 horas após o início da exposição, demonstrando que o crescimento das raízes expostas ao controle negativo foi superior ao observado no controle positivo (Quadro 1). Entretanto, independentemente deste resultado observado, o experimento foi eficiente, pois permitiu a comparação entre os diferentes tratamentos.

No primeiro dia de medição, pode-se observar que a comparação da média de crescimento radicular entre os pontos A e B não mostrou diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$), demonstrando que ambos os tratamentos interferiram de forma semelhante no crescimento radicular (Tabela 1, Quadro 1). Ainda, a comparação da média do crescimento radicular destes dois pontos com o controle negativo permitiu também observar a ausência de diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$), evidenciando a similaridade no crescimento radicular nos três tratamentos (Figura 2). Dessa forma, pode-se inferir que em ambos os pontos não apresentaram a presença de substância(s) química(s) natural(is) ou introduzida(s) pelo homem, que pudesse(m) interferir no crescimento radicular provocando o aumento exacerbado ou citotoxicidade nas raízes dos bulbos expostos.

Segundo Leme e Marin-Morales (2008), as respostas obtidas no sistema teste *Allium cepa* podem ser facilmente correlacionadas com outros sistemas biológicos, como o de mamíferos. Assim, qualquer alteração no material genético (DNA) da espécie indicadora (cebola), infere-se que poderá ocorrer de forma similar em outras espécies, inclusive a humana.

Entretanto, a média do crescimento radicular do ponto C foi inferior em comparação ao controle positivo, demonstrando que as raízes expostas às águas coletadas nesse ponto, cresceram menos do que as raízes expostas a solução de MMS (Tabela 1, Quadro 1). Isso pode ser evidenciado, na comparação da média do crescimento radicular entre o ponto C e o controle positivo que apresentou diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$), após 72 horas do início da exposição (Figura 2). Permitindo inferir sobre a possibilidade de o ponto C apresentar substância(s) química(s) natural(is) ou introduzida(s) no ambiente, como resíduo(s) de origem industrial, que possa(m) ter tido um efeito citotóxico sobre as raízes. Assim, no caso da nascente do ponto C sugere-se a realização da análise físico-química de suas águas para uma possível identificação da(s) substância(s) química(s) presente(s) no local e, desta forma, orientar ações para manutenção da nascente e da qualidade de suas águas.

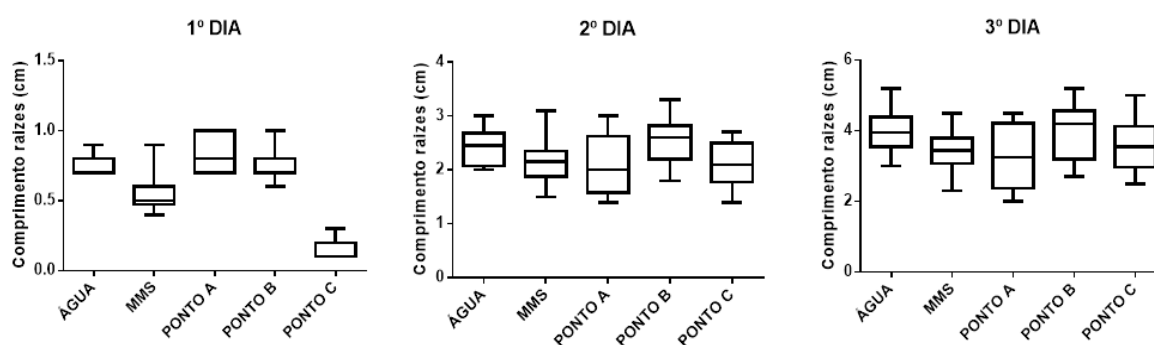


FIGURA 2. O crescimento médio, desvio padrão e valores máximos e mínimos das raízes de *Allium cepa* para o 1º dia, 2º dia e 3º dia de exposição aos tratamentos.

A contaminação dos ecossistemas aquáticos é um problema crescente proveniente de ações antrópicas, em consequência de atividades inadequadas por liberação de efluentes domésticos, industriais ou agrícolas sem tratamento adequado, uso indiscriminado de substâncias químicas, lixo urbano e descarte indevido de materiais e resíduos (GUPTA, AHMAD, AHMAD, 2015).

No segundo e terceiro dia de medição, respectivamente, após 120 e 168 horas de exposição aos tratamentos, observou-se que a comparação da média do crescimento radicular entre os tratamentos, não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$), demonstrando que a média do crescimento das raízes expostas a qualquer um dos tratamentos foi semelhante (Tabela 1, Quadro 1). Esta situação inusitada pode ter sido decorrente da influência de variáveis não passíveis de serem identificadas durante a realização do experimento.

É importante ressaltar que o sistema teste *Allium cepa* permite a verificação da inibição ou estímulo do crescimento radicular, porém, não permite detectar qual a substância presente nas águas, necessitando de outras análises complementares. O sistema teste *Allium cepa* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química e pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (GRIPPA *et al.*, 2010), sendo caracterizado como padrão ouro para avaliação de anormalidades cromossômicas, índice mitótico, formação de micronúcleos e anormalidades nucleares na detecção de contaminantes, além de permitir a avaliação da ação de um agente e seus efeitos clastogênicos ou aneugênicos sobre o material genético (AIUB, FELZENSZWALB, 2011).

CONCLUSÕES

O experimento permitiu concluir que os pontos A e B apresentaram qualidade de água semelhante ao controle negativo, permitindo descartar a presença de substância(s) química(s) natural(is) ou introduzida(s) pela ação antropogênica que pudesse(m) interferir na qualidade das águas e prejudicar a saúde humana. Entretanto, já o ponto C demonstrou o efeito citotóxico sobre as raízes, provavelmente causada por substância(s) química(s), que independentemente da sua origem, inibiu(ram) o crescimento radicular, ressaltando a necessidade da realização de ações que possam garantir a manutenção da nascente e a qualidade de suas águas.

Assim, o sistema teste *Allium cepa* utilizado poderá ajudar na tomada de decisão por parte dos gestores públicos do município de Bragança Paulista (SP), norteando ações de controle da qualidade das águas das nascentes municipais, usadas pela população para fins diversos.

AGRADECIMENTOS

A autora Lohayne Muriel Batista Bueno agradece ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo pela bolsa de iniciação científica. Os autores agradecem a Secretaria do Meio Ambiente da Prefeitura Municipal de Bragança Paulista, em especial ao Gestor Ambiental Luís Rafael Bento Alves e a Eng. Ambiental Carla Correa Pazin pela ajuda durante a coleta das amostras de água.

REFERÊNCIAS

AIUB, C.A.F.; FELZENSWALB, I. O uso de *Allium cepa* como modelo experimental para investigar genotoxicidade de substâncias usadas em conservantes alimentares. **Revista Genética na Escola**, v. 6, n. 1, p. 12-15, 2011.

BARBÉRIO, A. **Bioassays with plants in the monitoring of water quality**. In: Elshorbagy, W.; Chowdhury, R.K. Water treatment. Croatia: Rijeka, 2013. p. 317-334, 2013.

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E. L. G.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 74, n. 4, p. 826-833, 2011.

BRAGANÇA PAULISTA (SP). Secretaria Municipal do Meio Ambiente. **Gestão das Águas (GA): GA6 – Ação Recuperação de nascentes**. Bragança Paulista: Secretaria Municipal do Meio Ambiente, 2019. 74 p.

GRIPPA, G.A.; MOROZESK, M.; NATI, N.; MATSUMOTO, S. T. Estudo genotóxico do surfactante Tween 80 em *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 23, n. 1-2, p. 11-16, 2010.

GUPTA, A. K.; AHMAD, I.; AHMAD, M. Genotoxicity of refinery waste assessed by some DNA damage tests. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v.114, april, p.250-256, 2015.

IBGE. População. Cidades@. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/braganca-paulista/panorama>. Acesso em: 05 out. 2019.

KASPER, N.; BARCELOS, R. P.; MATTOS, M.; BARONI, S. Impact of anthropic activities on eukaryotic cells in cytotoxic test. **Revista Ambiente & Água**, v. 13, n. 3, p. 1-10, 2018.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research**, v.682, p.71-81, 2008.

LEMOS, A.T.; CORONAS, M.V.; ROCHA, J.A.V.; VARGAS, V.M.F. Mutagenicity of particulate matter fractions in areas under the impact of urban and industrial activities. **Chemosphere**, v. 89, n. 9, p. 1126-1134, 2012.

NILÜFER, A.; SERAP, C.; SENAY, S.; DILEK, Y.; ÖZELM, O. Evaluation of clastogenicity of 4,6-Dinitro-o-cresol (DNOC) in *Allium* root tip test. **Journal of Biological Environment SCL**, v. 59, p.59-63, 2008.

PEREIRA, T.S.; ROCHA, J.A.V.; DUCCATTI, A.; SILVEIRA, G.A.; PASTORIZA, T.F.; BRINGUENTI, L.; VARGAS, V.M. Evaluation of mutagenic activity in supply water at three sites in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Mutation Research**, v. 629, n. 2, p. 71-80, 2007.

SALLES, F. J.; DE TOLEDO, M. C.; CÉSAR, A. C. G.; FERREIRA, G. M.; BARBÉRIO, A. Cytotoxic and genotoxic assessment of surface water from São Paulo State, Brazil, during the rainy and dry seasons. **Ecotoxicology**, v. 25, n.4, p.633-645, 2016.

VARGAS, V.M.F.; MIGLIAVACCA, S.B.; HORN, R.C.; TERRA, N.R. Comparative temporal ecotoxicological study in a river basin influenced by petrochemical industries. **The Science of the Total Environment**, v. 392, n. 1, p. 79-92, 2008.