

USO DO SISTEMA TESTE DE *Allium cepa* COMO BIOINDICADOR DE CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE SEDIMENTOS PROVENIENTES DA FAIXA COSTEIRA DA PRAIA DO CASSINO EM RIO GRANDE- RS

JÉSSICA DA ROCHA ALENCAR BEZERRA DE HOLANDA¹; JÉSSICA TORRES DOS SANTOS²; THALES CASTILHOS DE FREITAS²; GUILHERME PEREIRA SCHOELER²; ANA LUIZA BERTANI DALL'AGNOL²; MAURIZIO SILVEIRA QUADRO³

¹Universidade Federal de Pelotas - Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais – jessica.rocha@ifpi.edu.br

²Universidade Federal de Pelotas- Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais

³Universidade Federal de Pelotas – Centro de Engenharias- Ceng- mausq@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os sedimentos encontrados na faixa costeira da praia do Cassino em Rio Grande- RS constituem-se como fonte de contaminação e promovem prejuízos à população da região, uma vez que ocorre a supressão de utilização do ambiente da praia para lazer, práticas esportivas e o exercício de atividades econômicas.

Cogita-se que estes sedimentos podem ser provenientes das atividades de dragagem portuária realizada no Porto de Rio Grande. Em decorrência da grande monta de sedimentos dragados gerados a cada ano e as diversas limitações relacionadas ao seu gerenciamento, o descarte oceânico acaba sendo a principal destinação para estes materiais. (CHEN et al., 2019).

Os procedimentos de dragagem não são executados de forma sustentável tendo em vista a dispersão de sedimentos, ressuspensão de material contaminado, alterações na linha de costa, redução da transparência da coluna de água, alterações na batimetria do solo marinho e nos parâmetros físico-químicos de qualidade da água, comprometendo a disponibilidade dos recursos naturais para as gerações futuras. (BASTOS, 2012).

Sabe-se que os sedimentos dragados possuem o potencial de absorver e acumular espontaneamente substâncias químicas perigosas, como metais pesados, o despejo deste tipo de material nos oceanos pode favorecer a propagação e a concentração de substâncias potencialmente poluidoras, impactando negativamente os locais onde a disposição é realizada e até a saúde humana através das cadeias alimentares (CHEN et al., 2019).

Complexos de substâncias são passíveis de caracterização química, entretanto seus efeitos ecotoxicológicos são mais difíceis de previsão (CHARLES et al., 2011). O ensaio de *Allium cepa* é reconhecido internacionalmente como um sistema teste padrão para a avaliação da genotoxicidade e mutagenicidade, constituindo-se como uma ferramenta de monitoramento ambiental de baixo custo, praticidade e de fácil replicação. Introduzido por Levan em 1938, o referido ensaio permite o conhecimento de resultados a nível macroscópico e microscópicos. Como as plantas fazem parte da alimentação humana, o conhecimento dos efeitos dos diversos poluentes químicos sobre as mesmas torna-se pertinente (FISKESJO, 1989).

Diante do contexto exposto, o presente trabalho objetiva realizar uma avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade utilizando-se o bioteste de *Allium cepa* de sedimentos provenientes da praia do Cassino -RS, apontados como fonte de contaminação do referido ponto turístico da cidade de Rio Grande- RS.

2. METODOLOGIA

2.1 Caracterização da Amostra

Os sedimentos provenientes da faixa costeira da praia do Cassino foram coletados em um ponto de amostragem, armazenados em isopor e encaminhados ao laboratório de análises de águas e efluentes, localizados no Centro de Engenharias, campus Cotada- UFPEL, onde estão acondicionados devidamente para a determinação de seus parâmetros físico-químicos, com adaptações de TEDESCO et al. (1995). Serão determinados o pH, a matéria orgânica, Demanda química de Oxigênio -DQO e determinação de metais pesados.

2.2 Citotoxicidade e Genotoxicidade em *Allium cepa*

Serão adquiridos 12 bulbos de *A. cepa* de tamanho padronizado (priorizando-se os de menor diâmetro) para a análise de cada tipo de tratamento com sedimento diluído (sob diferentes concentrações) e controle, logo, como as concentrações serão definidas posteriormente, a quantidade de bulbos necessários será estabelecida após a definição da quantidade de tratamentos utilizados.

Inicialmente, para os bulbos de *A. cepa* serão removidos os catáfilos externos e a placa de fundo marrom, também conhecida como prato, porém o anel da raiz primordial será deixado intacto. Os bulbos serão submetidos a crescimento suspendendo-os em tubos de ensaio com água mineral (procedimento de limpeza) de modo a proteger os primórdios de raízes do ressecamento e favorecer o seu brotamento, este procedimento possui duração de 24 h. Os dois bulbos que apresentarem menor crescimento serão eliminados e os testes serão conduzidos com os dez restantes de cada grupo.

Depois disto, as cebolas serão submetidas a algumas diluições das amostras de sedimentos. Para o controle será utilizada água mineral. Os líquidos amostrais e controle serão trocados diariamente, este procedimento será realizado por 4 dias.

As lâminas para estudo microscópico serão confeccionadas ao segundo dia de exposição das raízes às amostras, sendo escolhidas cinco pontas de raízes de bulbos aleatórios para cada tratamento. As raízes serão retiradas, colocadas em frascos com capacidade de 10 ml, fixadas em Carnoy por um período de 24 h à temperatura ambiente, sendo após refrigeradas para posterior análise (CUCHIARA et al., 2012). Para a realização da análise citogenética será aplicada a técnica de esmagamento, seguido de hidrólise em HCl a 5N por 15 minutos em temperatura ambiente, corando-as em seguida com orceína acética a 2% (CUCHIARA et al., 2012). Será utilizado um microscópio óptico com câmera acoplada para a observação. Após a observação será aferido o índice Mitótico (dado através do número de células em divisão a cada 1000 observadas) (FISKESJO, 1987).

Ao quarto dia serão medidas as raízes com auxílio de um paquímetro, também serão verificadas sua morfologia e comprimento radicular (CUCHIARA et al., 2012). Os principais parâmetros macroscópicos observados serão: comprimento radicular, forma da raiz, presença de torções e presença de tumores. Todo o referido experimento será realizado à temperatura ambiente constante de 20º C e longe da incidência de luz solar direta (FISKESJO, 1987).

Os resultados serão avaliados através de análise de variância e teste de Duncan para a comparação de médias, utilizando-se o programa estatístico Sanest (CUCHIARA *et al.*, 2012).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sedimentos provenientes da faixa costeira da praia do Cassino foram coletados e os próximos procedimentos metodológicos de análise de parâmetros físico-químicos e quanto ao bioteste de *A. cepa* serão realizados conforme o previsto.

A consistência de resultados, o baixo custo de implantação e simplicidade de realização do procedimento mostram que o teste de *Allium cepa* constitui-se um método para a realização de monitoramento ambiental, frizando a utilidade entre a combinação de análise físico-química para melhor entendimento da toxicidade dos compostos químicos e sua influência na saúde (RADIC, 2010).

4. CONCLUSÕES

O conhecimento do potencial citotóxico e genotóxico dos sedimentos provenientes da faixa costeira da Praia do Cassino permite uma melhor avaliação de seus possíveis efeitos em outros organismos, uma vez que o bioteste de *A. cepa* apresenta boa correspondência com outros biotestes realizados com mamíferos, por possuírem cromossomos em pequeno número e relativamente grandes. Além disto, pelo fato de o organismo teste ser um eucarionte, entende-se que a resposta biológica produzida seja melhor para aferir comparações com outros eucariontes em relação a biotestes realizados com procariontes. As plantas constituem-se fontes alimentares humanas e conhecer o efeito produzido pelos sedimentos que contaminam a praia do Cassino nestes organismos pode ser o primeiro passo para traçar medidas de mitigação e controle da contaminação deste ambiente.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASTOS, B.C. **A questão da expansão portuária como solução para o desenvolvimento econômico: o caso das dragagens e os impactos ambientais na baía de Sepetiba.** IX Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia. 2012.

CHARLES, J.; SANCEY, B.; MORIN-CRINI, N.; BADOT, P.M.; DEGIORGI, F.; TRUNFIO, G.; CRINI, G. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Vol. 74. p. 2057-2064. 2011. Disponível em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651311002120>> . Acesso em: 28. Jul. 2019.

CHEN, Chih-Feng; JU, Yun-Ru; CHEN, Chiu-Wen; DONG, Cheng-Di. Changes in the total content and speciation patterns of metals in the dredged sediments after ocean dumping: Taiwan continental slope. **Ocean & Coastal Management**. 2019. Disponível em:<

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964569118310421>. > Acesso em: 31. Jul. 2019.

CUCHIARA, C. C.; BORGES, C. S.; BOBROWSKY, V.L. Sistema teste de Allium cepa como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d' água. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.6, n.1, p.33-38, mar. 2012. Disponível em: <file:///C:/Users/cliente/Downloads/artigo.pdf> Acesso em: 27. Jul. 2019.

FISKESJO, G. The Allium test -- an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions Institute of Genetics, University of Lund. Mutation Research. Vol. 197. 1987. Elsevier. Disponível em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0027510788900966?via%3Dihub>>. Acesso em: 20. Jun. 2019.

RADIC, S.; STIPANIČEV, D.; VUJČIĆ, V. , RAJČIĆ, M. M.; ŠIRAC, S. ; PEVALEK-KOZLINA, B. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the Allium cepa test. **Science of The Total Environment**. Vol. 408, p. 1228-1233. Elsevier.2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.11.055>. Acesso em: 02. Set. 2019.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. Análise de solo, plantas e outros materiais. Boletim Técnico nº 5. 2^a Edição revisada e ampliada. Departamento de Solos. Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1995.