

O uso do teste Allium Cepa no biomonitoramento de águas de nascentes em Bragança Paulista, SP

Autores: Lohayne Muriel Batista Bueno, Ana Cristina Gobbo César (orientadora) - IFSP Campus Bragança Paulista - E-mail para contato: lohaynemuriel123@gmail.com

- [Slide 01](#)
- [Slide 02](#)
- [Slide 03](#)
- [Slide 04](#)

- Slide 05
- Slide 06
- Slide 07
- Slide 08
- Slide 09
- Slide 10
- Slide 11
- Slide 12
- Slide 13
- Slide 14
- Slide 15
- Slide 16

Slide 01



O USO DO TESTE *ALLIUM CEPA* NO BIOMONITORAMENTO DE ÁGUAS DE NASCENTES EM BRAGANÇA PAULISTA, SP

Lohayne Muriel Batista Bueno¹, Ana Cristina Gobbo César²

Slide 02

Introdução

Figura 1 – Formação das bacias hidrográficas.



Fonte: Adaptado de História e Geografia, (2018)

- Resíduos industriais, urbanos e agrícolas são lançados indiscriminadamente nos cursos d'água acrescentando contaminantes às águas e sedimentos (EGITO *et al.*, 2007).
- Esses poluentes podem causar efeitos diretos à saúde e efeitos tóxicos ou mutagênicos indiretos e, ao longo do tempo, acarretar em doenças como infertilidade, câncer, arteriosclerose, doenças cardiovasculares e outras (GROVER, KAUR, 1999).
- O foco deste estudo são as nascentes (Figura 1), por serem pontos imprescindíveis no ciclo hidrológico e bases para uma melhor qualidade da água dos rios, lagos e águas subterrâneas (DUARTE, 2016).
- Afim de avaliar o potencial citotóxico das águas foi aplicado o teste *Allium cepa*, por ser mais sensível na detecção destes efeitos (BARBÉRIO, 2013; SALLES *et al.*, 2016; KASPER *et al.*, 2018). Os resultados obtidos a partir deste teste podem ser correlacionados com outros sistemas biológicos, como o de mamíferos, segundo Leme e Marin-Morales (2008).

Slide 03

Material e Métodos – Local de Estudo

- O estudo foi realizado no município de Bragança Paulista, SP (Figura 2), distante 88 km da capital paulista. Seu território abrange 512.621 Km² e abriga uma população estimada de 170.553 habitantes em 2020 (IBGE, 2020).
- O município apresenta 87,1% de domicílios com esgotamento sanitário adequado (IBGE, 2020).
- Apresenta indústrias de grande porte, como a fábrica Santher e a indústria alimentícia Arcos, além de indústria que fabricam componentes eletrônicos e metalúrgicos (PMSB, 2010).

Figura 2 – Localização do município.



Fonte: Alice Hunter [CC BY-SA 4.0 <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>] Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/Ficheiro:Região%20imediata_de_Bragança Paulista,_SP%20-%20Paulista.svg. Acesso em: 05 out. 2019

Slide 04

Material e Métodos – Pontos de Coleta

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 (Figura 3). No local (Figura 4), há presença de espécies invasoras e fatores de degradação (BRAGANÇA PAULISTA, 2019).

Figura 3 – Vista aérea do local da nascente Vale das águas.



Fonte: Nascente Vale das Águas. Disponível em: <https://earth.google.com/web/@-22.9865294,-48.5472598,865.61179037a,1894.50330449d,35y,0h,0l,0rdata=MichUQaQIEz0aOIU292a1ybUFFZFZ9qzhPTE,Nb3ZLeE9OQTNRjQ>. Acesso em: 26 out. 2020.

Figura 4 – Foto da nascente Vale das águas.



Fonte: Próprio autor.

Slide 05

Material e Métodos – Pontos de Coleta

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 (Figura 5). No local (Figura 6), não há presença de espécies invasoras e fatores de degradação (BRAGANÇA PAULISTA, 2019).

Figura 5 – Vista aérea do local da nascente Euroville II.



Fonte: Nascente Euroville II. Disponível em: <https://earth.google.com/web/@-22.98465294,-48.54725996,865.61179037a,1694.59330449d,35y,0h,0l,0data=MidUJagCEa20dOLQ2929t1ysUFFZF2QzhPTEJv132LwE9OQTh0RjQ>. Acesso em: 26 out. 2020.

Figura 6 – Foto da nascente Euroville II.



Fonte: Próprio autor.

Slide 06

Material e Métodos – Pontos de Coleta

Nascente Fraternidade – Ponto C

- Encontra-se em área urbana e residencial, sua localização geográfica UTM é 341372.96 m E, 7464400.75 Km S (Figura 7). No local (Figura 8), há presença de espécies invasoras e fatores de degradação (BRAGANÇA PAULISTA, 2019).

Figura 7 – Vista aérea do local da nascente Fraternidade.



Figura 8 – Foto da nascente Fraternidade.



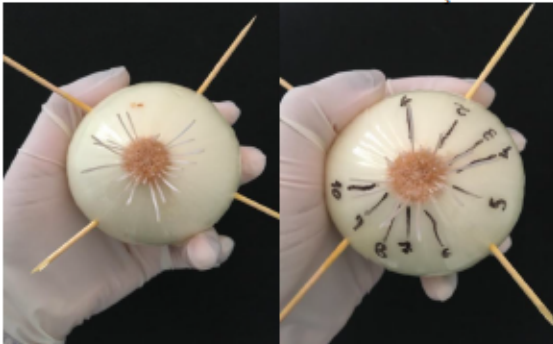
Fonte: Próprio autor.

Slide 07

Material e Métodos – Sistema teste *Allium cepa*

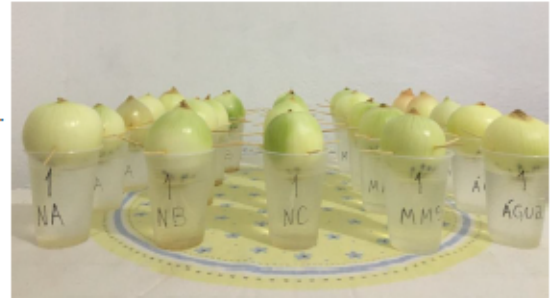
- Para realização do experimento foram utilizados:
 - ✓ Controle positivo (15µg/L metil metanossulfonato – MMS)
 - ✓ Controle negativo (água de torneira sem cloro)
 - ✓ Amostras de águas coletadas em três nascentes
 - ✓ Cinco bulbos foram expostos para cada tratamento (Figura 9).

Figura 10 – Foto de bulbos sem e com marcação das raízes.



Fonte: Próprio autor.

Figura 9 – Foto do experimento.



Fonte: Próprio autor.

- Após 72 horas de exposição foram escolhidas aleatoriamente 10 raízes por bulbo (Figura 10).
- Estas foram marcadas e seu crescimento mensurado também, após 120 e 168 horas do início da exposição.

Slide 08

Material e Métodos – Análise estatística

- Para cada dia de medição do crescimento radicular foi calculado a média e o desvio-padrão entre os bulbos expostos para cada tratamento.
- Para comparar a variação dos valores de crescimento radicular entre cada tipo de tratamento foi aplicado o teste ANOVA *one-way* e o pós-teste de comparação de Tukey para $p < 0,0001$, disponíveis no *software free* GraphPad Prisma 8.

Slide 09

Resultados

- A análise estatística permitiu observar variações no comprimento das raízes expostas as amostras de água dos pontos A (Nascente Vale das Águas), B (Nascente Euroville II) e C (Nascente Fraternidade) e aos controles positivo (MMS) e negativo (água sem cloro), conforme mostrado 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	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

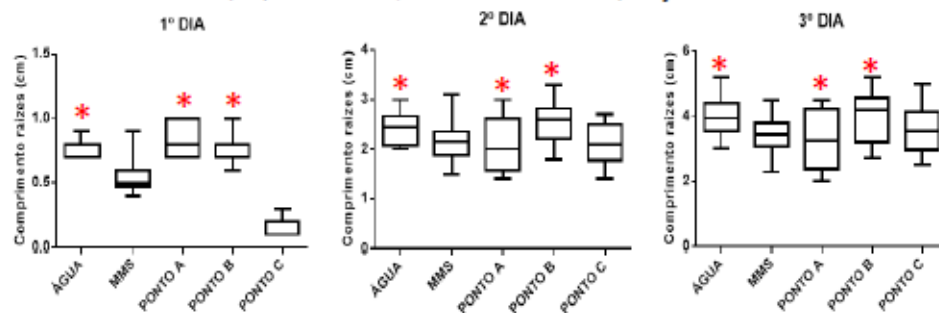
Fonte: Próprio autor.

Slide 10

Resultados

- A comparação dos pontos A e B com o controle negativo (Figura 11, pontos marcados com asteriscos) permitiu observar a ausência de diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$), demonstrando a similaridade no crescimento radicular nos três tratamentos.

Figura 11 - 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.



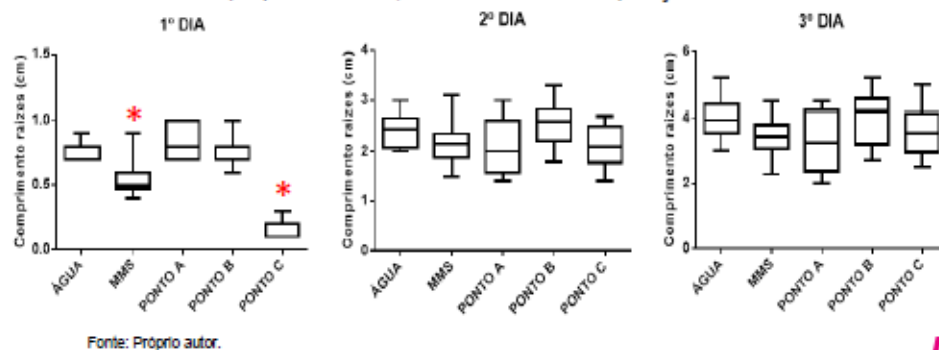
Fonte: Próprio autor.

Slide 11

Resultados

- Entretanto, a comparação da média do crescimento radicular entre o ponto C e o controle positivo apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), após 72 horas do início da exposição (Figura 12, pontos marcados com asteriscos), demonstrando que as raízes expostas as águas coletadas nesse ponto, cresceram menos do que as raízes expostas a solução de MMS, que inibe o crescimento radicular.

Figura 12 - 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.



Fonte: Próprio autor.

Slide 12

Discussão

- 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).
- 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).

Slide 13

Conclusões

- Os pontos A e B não demonstraram a presença de substâncias químicas naturais ou introduzidas pelo homem, que pudessem interferir no crescimento radicular provocando o aumento exacerbado ou citotoxicidade nas raízes dos bulbos expostos.
- Já o ponto C demonstrou a ação citotóxica 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, essa pesquisa 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.

Slide 14

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.

Slide 15

Referências Bibliográficas

- 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.
- 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.
- DUARTE, J. P. P. *Importância e função das nascentes nas propriedades rurais*. Importância e função das nascentes nas propriedades rurais: uma análise conceitual dos cinco passos para sua proteção, p. 1-388-416, 2016.
- EGITO, L. C. M.; MEDEIROS, M. G.; DE MEDEIROS, S. R. B.; AGNEZ-LIMA, L. F. Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 30, n. 2, p. 435-441, 2007.
- 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.
- GROVER, I. S.; KAUR, S. Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the Allium root anaphase aberration and micronucleus assays. *Mutation Research*, Leiden, v. 426, n. 2, p. 183-188, 1999.

Slide 16

Referências Bibliográficas

- GUPTA, A. K.; AHMAD, I.; AHMAD, M. Genotoxicity of refinery waste assessed by some DNA damage tests. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, v. 114, p. 250-6, 2015.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). População. Cidades@. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/braganca-paulista/panorama>. Acesso em: 11 abr. 2020.
- 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. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water: a case study. *Mutation Research*, Leiden, v. 650, n. 1, p. 80-86, 2008.
- PMSB (Plano Municipal de Saneamento Básico de Bragança Paulista – SP). Sistema de Abastecimento de Água e Esgotamento Sanitário. Bragança Paulista, nov. 2010. 145 p.
- 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.