

## Avaliação da citotoxicidade do Rio Gravataí, RS

Geovana Villanova<sup>1</sup>

Daniela Oliveira Marko<sup>2</sup>

Kathleen Nogueira Fernandes Maestro<sup>3</sup>

Diulliane de Jesus Borba<sup>4</sup>

Günther Gehlen<sup>5</sup>

Gabriela Zimmermann Prado Rodrigues<sup>6</sup>

**Resumo:** A contaminação aquática representa um dos principais problemas envolvendo a qualidade ambiental, afetando diretamente seres humanos através da ingestão de água e peixes contaminados. Além disso, a presença de poluentes na água reflete em danos ao ecossistema inteiro. O Rio Gravataí está entre os recursos hídricos mais contaminados e poluídos do país, ainda assim, poucos estudos avaliam o efeito biológico das suas águas ou de seus poluentes. Objetivamos, no presente estudo, monitorar a qualidade da água do Rio Gravataí através de análises de citotoxicidade em um modelo alternativo ao uso de animais. Para isso, amostras de água foram coletadas em um ponto amostral considerado menos impactado (P1) e em outro ponto com maior densidade populacional (P2). As amostras foram transportadas ao laboratório sob refrigeração. Raízes do modelo *Allium cepa* foram bioestimuladas e posteriormente expostas durante 48 horas às amostras coletadas visando identificar possíveis efeitos macro e microscópicos. As três maiores raízes de cada bulbo foram medidas, e lâminas foram preparadas e observadas em microscopia óptica (ampliação de 400x) registrando o número total de células em divisão a cada 1000 células. Não foram observadas diferenças significativas no tamanho macroscópico das raízes. No entanto, o parâmetro denominado índice mitótico revelou uma proliferação celular exacerbada nas raízes de P2 em relação ao grupo controle e ao P1. A alteração quantitativa na taxa de proliferação celular pode indicar a presença de desreguladores endócrinos, por exemplo, e acarretar problemas hormonais ou até mesmo a formação de tumores. Cabe ressaltar, que mais estudos são necessários visando identificar estes poluentes, por exemplo.

<sup>1</sup> Estudante do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Cesuca. E-mail: geovana.p.s.villanova@gmail.com

<sup>2</sup> Estudante do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Cesuca. E-mail: danimarko@icloud.com

<sup>3</sup> Estudante do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Cesuca. E-mail: kathleen\_fernandes@hotmail.com

<sup>4</sup> Mestre em Qualidade Ambiental, Universidade Feevale. E-mail: diullianebio@gmail.com

<sup>5</sup> Doutor em Neurociências e Docente na Universidade Feevale. E-mail: guntherg@feevale.br

<sup>6</sup> Docente dos Cursos de Biomedicina e Medicina Veterinária do Centro Universitário Cesuca. Doutora em Qualidade Ambiental. E-mail: gabriela.rodrigues@cesuca.edu.br

**Palavras-chave:** Biomonitoramento; *Allium cepa*; Índice Mitótico.

## 1 INTRODUÇÃO

Sabe-se que a água é um elemento essencial para todos os seres vivos, seja de forma biológica, química ou física, portanto há uma grande necessidade de proteção aos recursos hídricos (NELSON, 2017). Atualmente, as três principais fontes de contaminação são o crescimento populacional, e as atividades industriais e agrícolas. Além destes três fatores, as mudanças climáticas também afetam os ecossistemas aquáticos (VINEIS et al., 2011).

A presença de ambientes aquáticos contaminados por diferentes poluentes representa um grande problema ambiental das últimas décadas (DALZUCHIO et al., 2017). Tal problemática provém da atividade antrópica em relação ao meio ambiente e seus recursos. A contaminação aquática deriva por exemplo, das atividades agrícolas que fazem o uso de fertilizantes e pesticidas, que são consideradas substâncias que possuem elementos químicos nocivos para saúde (SANTOS e MOHR, 2013). Além das atividades agrícolas, outras substâncias tóxicas também são comumente encontradas, como metais pesados, descargas industriais, e esgoto urbano, que no geral, é composto por uma mistura complexa de diversas substâncias (SILVA e NASCIMENTO, 2013), incluindo medicamentos, que são emitidos diretamente ao ambiente natural durante sua fabricação, uso e descarte ou excreção (WILKINSON et al., 2022). O descarte destes e outros poluentes de forma indevida, associada ao fato de que as tecnologias para tratamento de água disponíveis em países em desenvolvimento são ineficientes para a remoção destas substâncias da água, resulta no comprometimento de toda biota aquática, incluindo os peixes (MIRANDA, 2012). Considerando a cadeia alimentar, seres humanos também podem ser afetados através da ingestão de animais aquáticos contaminados ou através da ingestão da água contaminada (SILVA e NASCIMENTO, 2013).

Visando conscientizar a população brasileira, a Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES 2011) realizou uma pesquisa em agosto de 2011, onde foram listados os 10 rios mais poluídos de todo o Brasil (IBGE, 2012). O rio Tietê (São Paulo) ocupa a 1º posição, e além da cidade de São Paulo estão inseridas nesse ranking 3 corpos hídricos do estado do Rio Grande do Sul: o Rio Caí, que ocupa o 8º lugar, o Rio Gravataí ocupando o 5º lugar e o Rio dos Sinos que ocupa a 4ª posição. De acordo com o IDS (Indicadores de Desenvolvimento Sustentável) do IBGE, estes rios estão em situações

críticas. Os municípios do Rio Caí possuem uma grande atividade industrial com um alto potencial poluidor, o Rio Gravataí por sua vez possui uma má qualidade devido ao esgoto urbano que é despejado, formando resíduos que acabam não se diluindo, acarretando o aumento da poluição. O Rio dos Sinos, que se encontra no 4º lugar da pesquisa, tem como carga poluente o esgoto e as indústrias que estão situadas ao redor da região (ABES 2011).

Para manter a preservação e a qualidade da água são desenvolvidas metodologias que buscam o diagnóstico ambiental (DINCER et al., 2019). Exemplificando, existem os parâmetros físico-químicos e microbiológicos que são comumente utilizados para avaliar fatores que interferem a qualidade da água, tais como: pH, nitrogênio, amônia e demais substâncias tóxicas, além de detectar a presença de microrganismos patogênicos, como por exemplo, os coliformes totais e termotolerantes (ARAÚJO et al., 2011).

Embora estas ferramentas sirvam para caracterizar e descrever quimicamente a composição da água, o biomonitoramento oferece vantagens e maior sensibilidade (BUSS et al., 2003). Bioindicadores são organismos vivos, como plantas, plânctons, animais, que são utilizados para avaliar a saúde do ecossistema natural no meio ambiente, que refletem a saúde ambiental do ecossistema e as suas respectivas mudanças biogeográficas (PARMAR et al., 2016). Assim, o presente trabalho teve por objetivo caracterizar e monitorar a toxicidade do Rio Gravataí através do modelo alternativo conhecido como *Allium cepa*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste estudo, dois pontos foram selecionados ao longo do Rio Gravataí (Figura 1). A Bacia Hidrográfica do Rio Gravataí está localizada na Região Hidrográfica da Bacia do Guaíba e possui uma área de 2.015 km<sup>2</sup> e uma população estimada de 1.379.259 habitantes (SEMA, 2022). O ponto 1 deste estudo (P1) foi escolhido pela menor incidência populacional e está situado na região interiorana de Viamão, RS (29,96632°S, 50,94992°O). Em contraste, o segundo ponto (P2) caracteriza-se pela alta incidência populacional e conseqüente impacto antrópico, e está situado em Porto Alegre (29,96767°S, 51,17581°O).

**Figura 1** Mapa demonstrando os pontos amostrais. Observar predominância de área rural em torno de P1 e predominância de área urbana em torno de P2.



Fonte: Autores.

Após a coleta, as amostras foram transportadas para o laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Feevale e armazenadas. Para a realização dos ensaios utilizou-se protocolos adaptados do próprio grupo de pesquisa (RODRIGUES et al., 2016; FINKLER et al., 2022). Resumidamente, bulbos de *Allium cepa* ( $n = 30$ ), adquiridos comercialmente, foram imersos em água de osmose reversa para o crescimento radicular durante 48 horas, e posteriormente expostos às amostras de água por mais 48 horas. Um grupo ( $n = 10$ ) foi mantido em água de osmose reversa, sendo considerado o grupo controle. Ao término da exposição, as raízes foram coletadas, fixadas em solução de Carnoy (metanol e ácido acético glacial [3:1]), e armazenadas em etanol 70% até o momento da confecção das lâminas. Foram preparadas 10 lâminas para cada grupo amostral, e para tal, as raízes foram hidrolisadas com ácido clorídrico, digeridas mecanicamente com auxílio de bisturi e então coradas comorceína acética. A análise foi realizada no Laboratório de Habilidades e Práticas em Saúde (Centro Universitário CESUCA) por meio de microscopia óptica (400x), sendo visualizadas 1000 células por lâmina e registrado o número de células em divisão para posterior cálculo do índice mitótico (%) ( $n^{\circ}$  de células em divisão/ $n^{\circ}$  de células avaliadas X 100). As três maiores raízes de cada bulbo também foram medidas, visando identificar possíveis alterações no crescimento radicular.

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o software GraphPad Prism 6, visando identificar diferenças entre os grupos amostrais. A distribuição dos dados foi

realizada através do teste de Shapiro-Wilk, e devido a distribuição paramétrica, os dados foram então submetidos ao teste de Anova seguido do pós teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ).

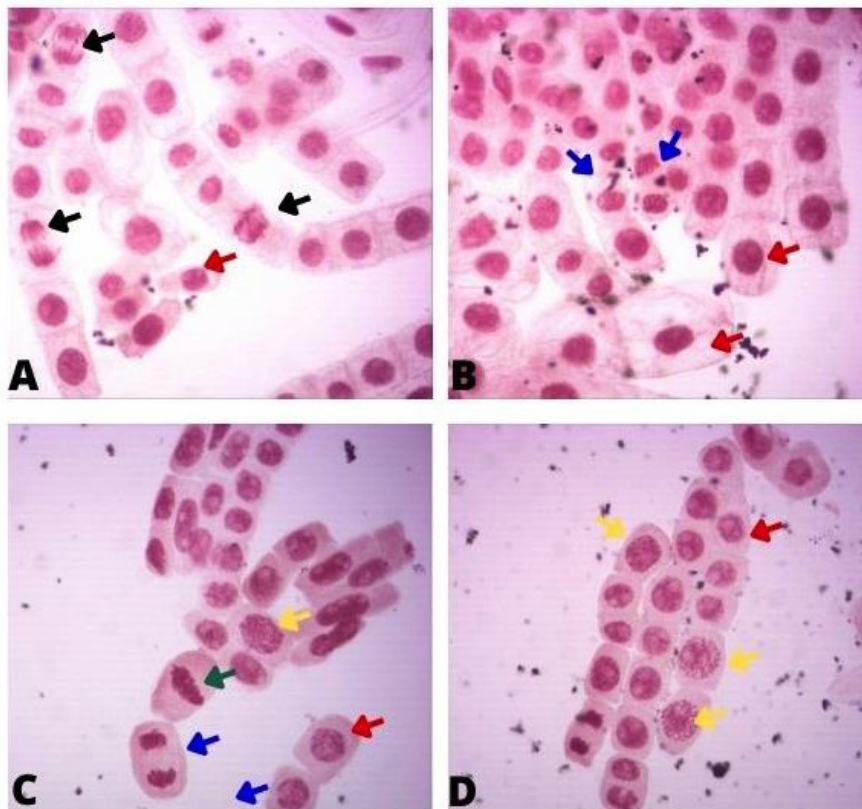
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise microscópica dos cromossomos das células de bulbos de *Allium cepa* permite identificar as diferentes fases da divisão celular mitótica, conforme pode ser observado na Figura 2. Este parâmetro demonstrou um aumento no índice mitótico de células dos bulbos expostos às amostras de água de P2 tanto em relação ao controle ( $p = 0,010$ ) quanto em relação ao P1 ( $p = 0,015$ ) (Figura 3). Outro parâmetro avaliado foi o crescimento radicular, porém não foram identificadas diferenças estatísticas significativas entre os grupos amostrais ( $p = 0,070$ ) (Figura 3).

O bioensaio com *Allium cepa* é um método amplamente utilizado em ensaios de toxicologia e ecotoxicologia devido à alta sensibilidade para a detecção de poluentes (LEME e MARIN-MORALES, 2009) devido ao seu número reduzido de grandes cromossomos (FISKESJO 1985). O nível de citotoxicidade de um agente pode ser determinado por um aumento ou diminuição do índice mitótico, portanto, o maior percentual observado nas raízes expostas ao P2 indica que poluentes presentes na água estejam causando um aumento na taxa de proliferação celular, que pode resultar no encurtamento do ciclo celular e até mesmo resultar na formação de tecidos tumorais (SILVA e NASCIMENTO, 2013; RIBEIRO et al., 2016).

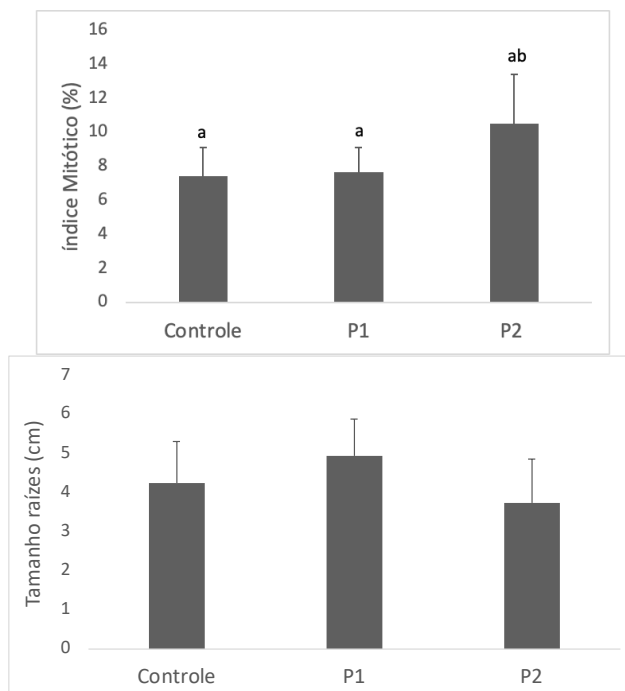
Os resultados observados neste estudo corroboram com dados disponibilizados na literatura em estudos realizados com objetivos similares. Jacoboski e Fachinetto (2022) analisaram a qualidade da água do Arroio Matadouro de Ijuí, no Rio Grande do Sul, através dos testes com *Allium cepa* e observaram um aumento no índice mitótico de todas as amostras coletadas. O mesmo resultado ocorreu no estudo de Maceda et. al (2015) ao avaliarem o Córrego Arara no município de Rio Brilhante, no Mato Grosso do Sul. Sabe-se que alguns contaminantes como os desreguladores endócrinos são capazes de causar esse tipo de efeito (VANDENBERG et al., 2012), logo, em estudos futuros seria estratégico pesquisar e identificar esse tipo de poluente na região estudada.

**Figura 2** Figura representativa dos campos avaliados. Setas vermelhas indicam células que estão se preparando para a divisão celular (interfase), setas amarelas indicam células em prófase, setas verdes indicam células em metáfase, setas pretas indicam células em anáfase e setas azuis indicam células em telófase.



Fonte: Autores.

**Figura 3** Índice mitótico e medida do comprimento das raízes. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).



Fonte: Autores.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Rio Gravataí é uma importante fonte de abastecimento da região metropolitana de Porto Alegre no estado do Rio Grande do Sul. Estudos de monitoramento ambiental instigam maior proteção e podem contribuir para a decisão de medidas de prevenção e redução de impactos. Assim, monitorar e controlar efeitos de poluentes sobre a biota aquática caracterizam-se como ferramentas de saúde única que podem contribuir para a redução de impactos na saúde humana. O presente estudo demonstrou o efeito citotóxico das amostras de água do Rio Gravataí sobre o modelo alternativo *Allium cepa*, abrindo precedentes para novos estudos na região.

### REFERÊNCIAS

ARAÚJO, G.F.R. *et al.* Qualidade físico-química e microbiológica da água para o consumo humano e a relação com a saúde: estudo em uma comunidade rural no estado de São Paulo. **O mundo da Saúde**, v. 35, n. 1, p. 98-104, 2011.

BUSS, D.F.; BAPTISTA, D.F.; NESSIMIAN, J.L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 2, 2003.

DALZOCHIO, T.; *et al.* Water quality parameters, biomarkers and metal bioaccumulation in native fish captured in the Ilha River, southern Brazil. **Chemosphere**, v. 189, p. 609-618, 2017.

DINCER, C.; *et al.* Disposable sensors in diagnostics, food, and environmental monitoring. **Advanced Material**, v. 31, e. 1806739, 2019.

FINKLER, M.; RODRIGUES, G.Z.P.; KAYSER, J.M.; ZIULKOSKI, A.L.; GEHLEN, G. Cytotoxic and genotoxic effects induced by associated commercial glyphosate and 2,4-D formulations using the *Allium cepa* bioassay. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 57, n. 2, 2022.

FISKESJÖ G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p.99-112, 1985.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Indicadores de Desenvolvimento Sustentável**. 2012. Disponível em:  
<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv59908.pdf>. Acesso em 25/02/22.

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*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 27, n. 3, p. 489-497, 2022.

LEME D.M.; MARIN-MORALES, M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research**, v. 628, n. 1, p. 71-81, 2009.

MACEDA, E.B. *et al.* Uso de biomarcadores para monitoramento das águas do Córrego Arara no município de Rio Brillante, MS, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 10, n. 1, p. 117-129, 2015.

MIRANDA, J. Ameaças aos peixes de riachos da Mata Atlântica. **Natureza online**, v. 10, n. 3, p. 136-139, 2012.

NELSON, R.A.R.R. Da importância dos recursos hídricos e a organização administrativa para sua proteção. **Planeta Amazônia: Revista Internacional de Direito Ambiental e Políticas Públicas**, n. 9, p. 71-88, 2017.

PARMAR, T.K.; RAWTANI, D.; AGRAWAL, Y.K. Bioindicator: the natural indicator of environmental pollution. **Frontiers in Life Science**, v. 9, n. 2, p. 110-118, 2016.

RIBEIRO, T.P. *et al.* Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Hancornia speciosa* latex in *Allium cepa* root model. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 1, 2016.

RODRIGUES, G.Z.P.; DALZOCHIO, T.; GEHLEN, G. 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.



---

SANTOS R.S.; MOHR T. Saúde e qualidade da água: análises microbiológicas e físico-químicas em águas subterrâneas. **Revista contexto e saúde**, v. 1, n. 1, p. 26-53, 2013.

SILVA C.C.; NASCIMENTO F.M. Citogenotoxicidade de amostras de água do Rio Tietê em células meristemáticas radiculares de *Allium cepa*. **Atas de saúde ambiental**, v. 1, n. 1, p. 26-35, 2013.

VANDENBERG, L.N. *et al.* Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. **Endocrine Reviews**, v. 33, n. 3, p. 378-455, 2012.

VINEIS, P.; CHAN, Q.; KHAN, A. Climate change impacts on water salinity and health. **Journal of Epidemiology and Global Health**, v. 1, n. 1, p. 5-10, 2011.

WILKINSON, J. *et al.* Pharmaceutical pollution of the world's rivers. **Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)**, v. 199, n. 8, 2022.