

## **Atividade Mutagênica em *Allium cepa* da Água de Irrigação de hortaliças na região de Itapecerica da Serra-SP.**

Priscila M. de Maio Lacerda  
CEETEPS – São Paulo – Brasil  
pri2234@yahoo.com.br

Cláudia Santos Souza  
FATEC - SO – São Paulo – Brasil  
claudiass89@yahoo.com.br

Sílvia Pierre Irazusta  
CEETEPS – São Paulo – Brasil  
silvia.pierre@hotmail.com

**Resumo** – Sabe-se que em quase todas as regiões do mundo, a agricultura irrigada é o setor que requer maior demanda por água. Entretanto, no uso da água para fins agrícolas, além dos aspectos quantitativos, deve-se considerar os qualitativos. No que diz respeito à irrigação de hortaliças, é preciso tomar cuidado com a qualidade da água empregada, pois águas superficiais utilizadas para este propósito, principalmente nos cinturões verdes dos grandes centros urbanos, apresentam-se muitas vezes, contaminadas por efluentes domésticos e/ou industriais não tratados. Este trabalho teve como objetivo avaliar a mutagenicidade de águas de irrigação de hortaliças, numa região de Mananciais da Grande São Paulo. Para isso foram feitos bioensaios utilizando raízes de *Allium cepa* para avaliar os índices de aberrações cromossômicas (IAC) e o Índice de Micronúcleos (IMN) em células do meristema e da porção de F1 das raízes .

Palavras-chave: Mutagenicidade, Água de irrigação, *Allium cepa*.

## Introdução

As hortaliças são parte integrante da dieta da população mundial [1]. A preocupação com a saúde e o conhecimento de que muitas espécies são excelentes fontes de vitaminas, sais minerais e substâncias antioxidantes, tornam o consumo destes alimentos crescente em nosso meio [2].

Sabe-se que em quase todas as regiões do mundo, a agricultura irrigada é o setor que requer maior demanda por água. Entretanto, no uso da água para fins agrícolas, além dos aspectos quantitativos, deve-se considerar os qualitativos. No que diz respeito à irrigação de hortaliças, é preciso tomar cuidado com a qualidade da água empregada, pois águas superficiais utilizadas para este propósito, principalmente nos cinturões verdes dos grandes centros urbanos, apresentam-se muitas vezes, contaminadas por efluentes domésticos e/ou industriais não tratados [3].

A necessidade cada vez maior de se obter água na quantidade e qualidade desejadas para os seus diversos usos leva à necessidade de se planejar e coordenar sua utilização, considerando e analisando suas características físico-químicas, biológicas, bem como as ecotoxicológicas. Essas análises são extremamente importantes, pois são indicadoras de contaminação antrópica proveniente de esgoto doméstico, fertilizantes, defensivos agrícolas ou resíduos industriais.

A utilização de ensaios de caráter ecotoxicológico, que venham a dar informações quanto ao efeito tóxico causado em ecossistemas por substâncias químicas nele presentes, torna-se cada dia mais importante nas avaliações de impacto ambiental [4]. Deste modo, a realização de ensaios de toxicidade tem sido incluída em programas de monitoramento, constituindo uma das análises indispensáveis no controle de fontes de poluição [5].

Os vegetais superiores apresentam características que os tornam excelentes modelos genéticos para avaliação de poluente ambientais, por isso têm sido utilizados com muita frequência em estudos de monitoramento. Contudo, este destaque não se deve, apenas, à sensibilidade de detecção de mutágenos em diferentes ambientes, mas também à possibilidade de utilização de diferentes células e órgãos como biomarcadores genéticos, capazes de detectar desde mutações pontuais até as aberrações cromossômicas [6].

A análise de micronúcleos serve como teste de mutagenicidade e é um dos poucos métodos diretos para mensurar danos em sistemas expostos a agentes mutagênicos ou carcinogênicos potenciais e o teste de *Allium cepa* tem sido amplamente empregado com esse propósito [7]. O índice mitótico e o índice de replicação são usados como indicadores de proliferação adequada das células [8], o que pode ser medido através deste sistema.

O método de avaliação de alterações cromossômicas em raízes de *Allium cepa* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS,OMS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias ambientais [9].

Este trabalho teve como objetivo avaliar a mutagenicidade de águas de irrigação de hortaliças, de três propriedades agrícolas de pequeno porte na região de Itapecerica da Serra - SP.

## **Metodologia**

### **1. Coletas**

As amostras de água foram coletadas em três pontos de onde são captadas para irrigação de hortaliças em uma região de Mananciais da Grande São Paulo. Foram feitas duas coletas (março e abril/2011), das quais fazem parte de uma série de quatro campanhas de amostragem desenhadas para este projeto. No local foram medidos o pH e a temperatura, sendo as demais características físico-químicas, analisadas no Laboratório de Química e Saneamento da Fatec – SP. Outra porção das mesmas amostras foi enviada para o Laboratório de Ecotoxicologia da Fatec Sorocaba.

### **2. Análises Físico-Químicas**

A metodologia utilizada para a realização das análises é a descrita no Standart Methods For The Examination of Water and Wastewater [10], adotada pela CETESB em suas normas técnicas. As variáveis de qualidade da água foram analisadas frente aos padrões de qualidade estabelecidos na Resolução CONAMA N°. 357 de 2005 [11]. Os parâmetros analisados foram temperatura, pH, alcalinidade, condutividade, oxigênio dissolvido, turbidez, cor e ferro.

### **3. Testes de Mutagenicidade com *Allium cepa***

Estes testes foram feitos de acordo com o Protocolo proposto por Ma et al. 1995 com modificações [12]. Resumidamente seguem as seguintes etapas:

- Germinação do bulbo
- Coleta da raiz
- Fixação em Carnoy
- Hidrólise das raízes em HCl 1N, 15´ a 60°C
- Repouso na solução de Base de Schiff
- Fixação em Carnoy
- Montagem da região meristemática e da região F1 da raiz em lâmina com Carmim e leitura das lâminas em Microscópio óptico

## **Resultados**

Os resultados das análises realizadas nas duas primeiras campanhas são descritos:

A amostragem da primeira campanha no ponto 2 foi inadequada para este ensaio e portanto, os resultados obtidos não foram conclusivos. Os dados obtidos da segunda campanha para os três pontos selecionados são mostrados nas figuras 1 e 2.

O Índice de Aberrações Cromossômicas (IAC) ou a atividade genotóxica das amostras não foi estatisticamente diferente do controle negativo (Figura 1), realizado com água destilada ou da torneira. Já quando se considerou a atividade mutagênica, representada pelo Índice de Micronúcleo (IMN), observou-se atividade significativamente diferente do controle negativo nas amostras dos pontos 2, em todas as diluições e no ponto 3, nas diluições de

100 e 50 %, mas não 25%.(Figura 2).

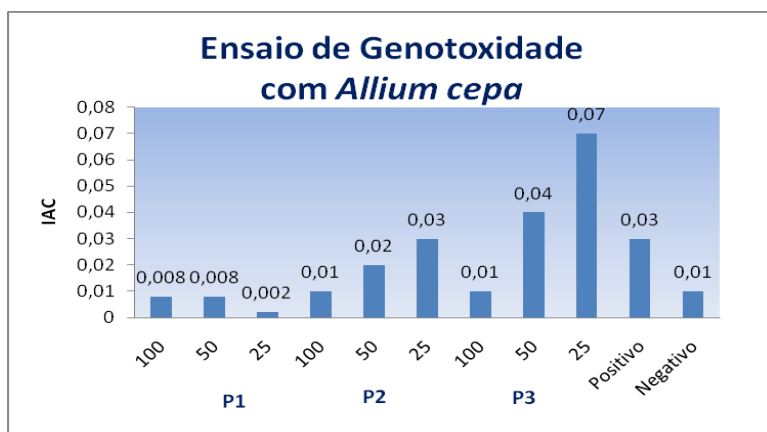


Figura 1 – Índice de Aberrações cromossômicas (IAC) em *Allium cepa*

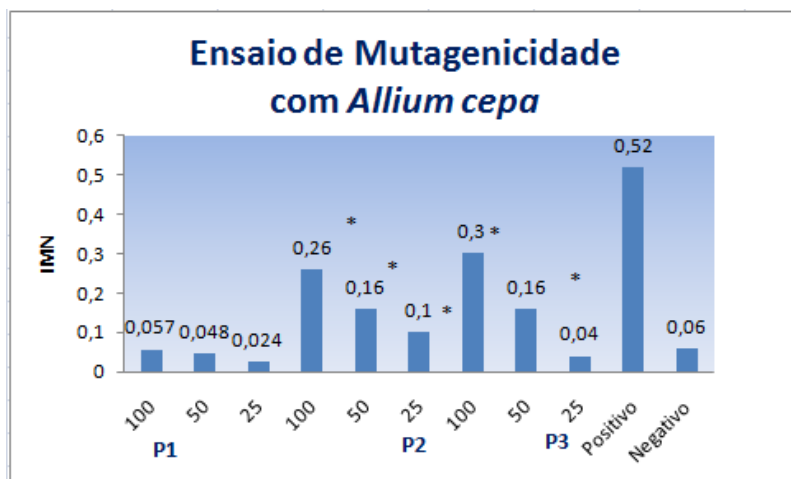


Figura 2 – Índice de Micronúcleo (IMN) em *Allium cepa*  
\* $p < 0,05$

## Discussão

As freqüências de AC observadas nas células meristemáticas de *Allium cepa*, após exposição nas águas coletadas, em geral, não se mostraram superiores às encontradas para o controle negativo. Porém, se considerarmos P2 nas concentrações de 25% e P3 (50 e 25%), os resultados ultrapassaram ligeiramente ao controle negativo, entretanto não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

Já em relação aos testes de mutagenicidade, em P2 nas concentrações (100, 50 e 25%) e P3 (100 e 50%) podemos verificar diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle negativo, indicando portanto, que a água nestes pontos apresenta atividade mutagênica.

Quando analisadas as freqüências de MN das células meristemáticas expostas às amostras de água coletadas, em dois dos três pontos amostrados,

foram observados valores significativamente maiores do que o obtido para o controle negativo. As frequências de MN observadas em P2 apresentaram um comportamento dose/resposta, isto é a frequência de MN foi proporcional às concentrações. Em P3, as concentrações de 100% (amostra bruta) e 50%, apresentaram valores significativamente maiores que o controle, enquanto que a diluição adicional (25%) atenuou o efeito.

Esses resultados indicam a provável presença de poluentes de natureza química nestas águas, já que não foram observadas alterações nos parâmetros físico-químicos (dados não apresentados) analisados. Segundo os trabalhos de Leme e Morales [13] os testes com *A. cepa* tem sido usados para detectar uma grande variedade de poluentes ambientais tais como metais pesados, agrotóxicos, derivados de petróleo, corantes têxteis, misturas complexas, entre outros agentes.

Utilizando esta mesma metodologia, em um estudo anterior El-Shahaby et.al. [14], analisaram uma área de Sandub, distrito de Mansoura, Paquistão, amostrando quatro sítios ao longo de 6 quilômetros do rio receptor de efluentes industriais, em sítios a montante e a jusante das descargas. Seus resultados apresentaram provas de que as amostras de água eram altamente mutagênicas, correlacionando-se parcialmente com as determinações de metais pesados nestas amostras.

Nossos dados preliminares nos conduzem a novas campanhas de amostragem e a redirecionar o estudo para pesquisa de compostos químicos, por exemplo, metais pesados, que são reconhecidamente relacionados a mutagenicidade em efluentes e águas superficiais. Em um estudo realizado por Silva et al. [15], foi observada significativa redução da atividade mutagênica do efluente industrial de uma indústria metalúrgica, após tratamento com EDTA, conforme recomendação do procedimento TIE (*Toxicity Identity Evaluation/USEPA*). Este resultado permite concluir que a atividade mutagênica do efluente industrial era decorrente, pelo menos em parte, à presença de metais pesados.

## **Conclusão**

Os pontos 2 e 3 nas maiores concentrações apresentaram altos valores de IMN quando comparados ao controle. Para o ponto 2 observou-se que a atividade obedeceu uma relação dose-resposta.

Tendo em vista que os parâmetros físico-químicos não apresentaram discrepâncias em relação aos valores de referência, os dados preliminares sugerem a presença de contaminantes químicos desconhecidos que, nestes pontos, podem estar contribuindo para estes efeitos. Desta forma, o estudo deve prosseguir, continuando-se as coletas e focando as análises na pesquisa destes contaminantes, começando pelos metais pesados.

## Referências

- [1] FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2007. <http://faostat.fao.org./default.aspx>. Acesso em: 09 mar. 2010.
- [2] Kader, A. 2001. Importance of Fruits, Nuts and Vegetables in Human Nutrition and Health. Department of Pomology. Disponível em: <http://www.ars.usda.gov>. Acesso em: 15 mar. 2010.
- [3] Marouelli, W.A; Silva, H. R . Aspectos sanitários da água para fins de irrigação. In: Comunicado Técnico, nº. 5. Brasília - DF: Embrapa, 1998.
- [4] Raya-Rodriguez, M. T. O uso de bioindicadores para avaliação da qualidade do ar de Porto Alegre. In: Zurita, M. L. L.; Tolfo, A. M. (Org.). A qualidade do ar em Porto Alegre. Porto Alegre: Secretaria Municipal de Meio Ambiente, 2000. p. 68-76.
- [5] CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Considerações preliminares sobre toxicidade aos organismos aquáticos. São Paulo: CETESB, 1990. 11 p.
- [6] Grant, W.F. The present status of higher plant bioassays for detection of environmental mutagens. *Mutation Research*, v. 310, p. 175-185, 1994.
- [7] Silva J, Erdtmann B, Henriques JAP 2003. Genética toxicológica. Porto Alegre, Alcance, 422p.
- [8] Gadano A, Gurni A, López P, Ferraro G, Carballo M 2002. In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides*.L. *J Ethnopharmacol* 81: 11-16.
- [9] Cabrera GL, Rodriguez DMG 1999. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. *Mutat Res* 426: 211-214.
- [10] Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA, AWWA, WEF 20<sup>a</sup> ed., Washington, 1998.
- [11] BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357, de 17 de Março de 2005.
- [12] Ma, T. H.; Xu, Z.; Xu, C; McConnel, H.; Rabago, E. V.; Arreola, G.A.; Zhang, H. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleous assay for clastogenicity of environmental pollutants. *Mutation Research*, v. 334, p. 185-195, 1995.
- [13] LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* Test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 682, p. 71-81, 2009.

[14] EI-SHAHABY, A.O.; ABDEL M.H.M.; SOLIMAN, M.I; MASHALY, I.A. Genotoxicity screenig of industrial wastewater using the Allium cepa chromosome aberration assay. Pakistan Journal of Biological Sciences, v. 6, p. 23-28, 2003.

[15] SILVA, L. F., BREGAGNOLO, L., SOUZA, C.C.; IRAZUSTA, S.P. Mutagenicidade do efluente de uma indústria metalúrgica – Sorocaba – Aplicação do TIE (Fase 1). XI Simpósio de Iniciação Científica da Faculdade de Tecnologia de São Paulo (FATEC), São Paulo, 2009.