

Avaliação Citogenotóxica de Solos Agrícolas em Bioensaio com *Allium Cepa***Citogenotóxic Evaluation of Agricultural Soils of dry Restoration City - Rs
in Bioensaia With *Allium Cepa***

DOI:10.34117/bjdv6n7-450

Recebimento dos originais: 03/06/2020

Aceitação para publicação: 17/07/2020

Cyntia Beatriz Magalhães Farias

Bióloga Mestranda em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade do Estado de Mato

Grosso Carlos Alberto Reys Maldonado

Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reys Maldonado -UNEMAT

Endereço: Rod. MT 208, KM 147 – Jardim Tropical, Alta Floresta – MT, Brasil

E-mail: cyntia_bmf@hotmail.com

Altacis Júnior de Oliveira

Agrônomo Mestrando em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade do Estado de

Mato Grosso Carlos Alberto Reys Maldonado

Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reys Maldonado -UNEMAT

Endereço: Av. Santos Dumont, s/n, Cáceres - MT, Brasil

E-mail: altacismarquesfig@hotmail.com

Erika Loraine da Silva

Mestranda em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade do Estado de Mato Grosso

Carlos Alberto Reys Maldonado

Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reys Maldonado -UNEMAT

Endereço: Av. Santos Dumont, s/n, Cáceres - MT, Brasil

E-mail: erika.loraine3@gmail.com

Leila Pereira Neves Ramos

Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade do Estado de Mato Grosso

Carlos Alberto Reys Maldonado

Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reys Maldonado -UNEMAT

Endereço: Rod. MT 208, KM 147 – Jardim Tropical, Alta Floresta – MT, Brasil

E-mail: leila_pereiramos@hotmail.com

Douglas Machado Leite

Engenheiro Florestal Doutorando em Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Lavras -

UFLA

Instituição: Universidade Federal de Lavras - UFLA

Endereço: Praça Prof. Edmir Sá Santos, s/n - Campus Universitário, Lavras – MG

E-mail: douglasmachado_95@hotmail.com

Isane Vera Karsbug

Doutora em Genética e Melhoramento pela Universidade Federal de Viçosa, Coordenadora do

Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas

Instituição: Faculdade Dom Luiz de Orleans e Bragança

Endereço: Rod. MT 208, KM 147 – Jardim Tropical, Alta Floresta – MT, Brasil
E-mail: isane9@gmail.com

RESUMO

A utilização de produtos químicos denominados de agrotóxicos tem causado uma quantidade considerável de problemas referente a poluição do ambiente, contaminando solos, fontes de água, alimentos entre outros. Visto que há varias problemáticas do uso destas substâncias em larga escala, a averiguação de sua toxicidade em diferentes ambientes é necessária e uma vez que pode afetar diferentes organismos do ambiente. O presente trabalho busca avaliar a citogenotoxicidade por meio do Índice Mitótico (IM), Porcentagem de Células Anormais (PCA), Porcentagem de Células em Interfase (PCI) e comprimento da raiz de *Allium cepa* obtido de solução de solo agrícolas em diferentes tratamentos, coletados na região de Restinga Seca – RS. Os resultados mostraram que nos tratamentos solo 2 e solo 1, apresentaram um maior IM, solo 1 foi o que exibiu maior porcentagem de células anormais comparado com o controle negativo e positivo. De acordo com os resultados obtidos neste trabalho pode-se confirmar por meio do teste com o *Allium cepa*, que o solo 2 apresentou maior índice de células em interfase e anormais, isso podendo ter sido causado por contaminação de produtos agrícolas tóxicos. Porém mais pesquisas devem ser realizadas uma vez que este trabalho ainda é um estudo preliminar.

Palavras-chave: Agrotóxicos, Células Anormais, Índice mitótico.

ABSTRACT

The use of chemicals called agrochemicals has caused a considerable amount of problems concerning environmental pollution, contaminating soils, water sources, food, among others. Since there are several problems with the use of these substances in large scale, the investigation of their toxicity in different environments is necessary and since it can affect different organisms of the environment. The objective of this work was to evaluate the cytotoxicity by Mitotic Index (IM), Percentage of Abnormal Cells (PCA), Percentage of Cells in Interphase (ICP) and root length of *Allium cepa* obtained from soil solution in different treatments, collections in the region of Restinga Seca - RS. The results showed that in the treatments soil contaminated 1 and soil garden, presented a higher MI, soil garden was the one that exhibited higher percentage of abnormal cells compared to the negative and positive control. According to the results obtained in this work it can be confirmed by means of the *Allium cepa* test that contaminated soil 1 presented a higher index of interphase and abnormal cells, which may have been caused by contamination of toxic agricultural products. However more research should be done since this work is still a preliminary study.

Keywords: Agrochemicals, Abnormal Cells, Mitotic index.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos o Brasil vem passando por uma grande expansão agrícola, como uma série de mudanças tecnológicas nos processos de produção, intensificando o uso de insumos, como máquinas, fertilizantes e agrotóxicos, atingindo praticamente todos os biomas, sendo responsável diretamente pelas alterações ocorridas nesses (BRASIL, 1989).

Os agrotóxicos têm sido largamente utilizados com a finalidade de melhorar e aumentar a produção agrícola. Apesar dos perigos de toxidez em diversos organismos e ao homem, o uso dos agroquímicos é necessária para manter os níveis de produtividade ideais (DELCOUR et al.; 2015).

Conforme a natureza química e concentração dos agrotóxicos utilizados no ambiente, podem causar danos diretos e diversos na natureza, e em chance de tornar-se cumulativo no meio e nos organismos que entram em contato direto ou indireto, vindo a causar problemas agudos de identificação imediata ou degradação lenta e crônica acarretando alterações fisiológicas e genéticas em diversos organismos (ANDRÉA, 2010).

Estudos sobre agentes ambientais mutagênicos e genotóxicos que causam prejuízos à saúde, estão sendo incentivados com maior frequência nos últimos 30 anos (DA SILVA & FONSECA, 2003). Este interesse aumentou com o constante crescimento da população e o aumento da indústria que usa os recursos naturais muitas vezes de forma deliberada (RIBEIRO & MARQUES, 2003).

Alguns materiais químicos tornam-se prejudiciais as células de diversos organismos vivos provocando alterações cromossômicas entre outras, essas células com mutações podem ser eliminadas pelo organismo ou na maioria das vezes ser replicada e transferida para as células filhas. (PILOT & DRAGAN, 1996; MÍDIO & MARTINS, 2000).

Sabe-se que o contato com agentes genotóxicos e mutagênicos oportuniza o aumento de mutações no organismo o que causa grande preocupação, esses efeitos devem ser estudados a fim de se diminuir as altas taxas de contaminação do ambiente (RIBEIRO & MARQUES, 2003).

Existem atualmente vários estudos importantes, feitos com organismos testes para se verificar o potencialidade de contaminação de determinados agentes ou ambientes (HOUK, 1992).

A espécie *Allium cepa* (cebola) consiste em um excelente organismo teste para avaliações de mutações cromossômicas, genotóxicas, devido ao seu baixo custo e confiabilidade, sendo que a mesma apresenta poucos cromossomos e em contato com determinadas substâncias de forma direta ou indireta simula o que pode ocorrer em outros organismos (GRANT, 1982; CABRERA & RODRIGUEZ, 1999; LEME ET AL. 2008).

Os agroquímicos são substâncias aplicadas no ambiente com o propósito de controlar espécies vegetais indesejáveis, sendo estes biologicamente ativos, os agrotóxicos são diferentes de outras substâncias químicas pois são aplicados no ambiente com o objetivo de controlar as espécies indesejadas, assim sendo biologicamente ativos e por este motivo são caracterizados por diferentes graus de toxicidade. A utilização dos agrotóxicos pode apresentar riscos para a saúde humana, à sobrevivência de espécies não alvo e ao meio ambiente (COLOSIO & MORETTO, 2008).

Diante das problemáticas do uso destas substâncias em larga escala, a averiguação de sua toxicidade em diferentes ambientes é necessária e criteriosa uma vez que pode afetar diferentes organismos do ambiente. Com isso o presente trabalho busca avaliar a citogenotoxicidade por meio do Índice Mitótico (IM), Porcentagem de Células Anormais (PCA), Porcentagem de Células em Interfase (PCI) e comprimento da raiz de *Allium cepa* obtido de solução de solo agrícolas em diferentes tratamentos, coletos na região de Restinga Seca – RS.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido na Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado – Campus de Alta Floresta, no centro de análises de Citogenética.

Para a elaboração do experimento utilizou-se três amostras de solo de lavoura agrícola da cidade de Restinga Seca – RS. O solo foi coletado e classificado como solo mais contaminado (solo 1), solo menos contaminado (solo 2) e solo de horta (solo 3).

A amostra de solo 1 foi retirada de uma área com plantio consecutivo de arroz durante 5 anos e soja no último ano de cultivo. A de solo 2 foi retirada de uma área onde existia uma construção, sendo o primeiro ano de cultivo de soja no local e a última amostra foi coletada em uma horta, montada em solo onde foi cultivado arroz por vários anos consecutivos.

Para o preparo das amostras utilizou-se 100 gr de solo para 100 ml de água destilada, a solução foi homogeneizada e peneirada para que houvesse a retirada de grânulos não dissolvidos, aferiu-se o pH de cada tratamento, que foi distribuída em copos plásticos descartáveis de café onde constituía-se um tratamento.

Foram realizados três tratamentos, cinco repetições e dez amostras por tratamento além do controle positivo e negativo (Figura 1). Foram utilizados bulbos de cebola (*Allium cepa*) como indivíduo teste a qual foi alocada em cada repetição em contato direto com a solução aquosa do solo por um período de 120 horas, sendo coletadas as raízes com comprimento superior a 0,5mm, essas foram medidas com paquímetro digital, lavadas em água destilada e armazenadas em solução fixadora de etanol-ácido acético (3:1) e armazenadas em geladeira para uso posterior.

A avaliação citogenética foi realizada conforme Guerra & Souza (2002) hidrolisadas em HCl 5N por 10 minutos a 28°C, em seguida foram lavadas em água destilada por 15 minutos cada lavagem e coradas com orceína acética 2%.

Os resultados apurados do índice mitótico (IM) pelo método direto foram submetidos a análise de variância com as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

pelo programa R, versão 3.3.2 (R CORE TEAM, 2016), com o auxílio do pacote ExpDes, versão 1.1.2 (FERREIRA ET al., 2013).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Células da parte apical das raízes de cebola são indicadores adequado para a identificação de quebras de cromossomos causados por agentes poluentes do meio, principalmente no acompanhamento de contaminantes do solo e da água (MA et al., 1995).

Desse modo podemos observar na tabela 1, que no tratamento solo horta, o IM foi maior que os outros solos e controles. Assim como a porcentagem de células anormais encontrada no tratamento solo horta exibiu uma porcentagem muito elevada não diferindo estatisticamente do solo 1, isso pode ser explicado pelo fato do solo 1 ter sido acrescentado no solo da horta, no momento de preparação dos canteiros, acreditando que o mesmo poderia apresentar mais fertilidade.

Silva, 2018, avaliou os produtos bioestimulantes Ácido indolbutírico (AIB), Forth® e Aminon® quanto aos potenciais tóxico e citogenotóxico utilizando o teste *Allium cepa*. O produto Forth® reduziu significativamente o IM em todas as concentrações, diferentemente do AIB que induziu um aumento significativo do IM em todas as concentrações, assim como para Aminon®. Já a genotoxicidade, não foram encontradas alterações cromossômicas significativas em células meristemáticas de *A. cepa*, seus resultados comprovaram que os efeitos toxicogênicos desses produtos, comumente usados em produções agrícolas, colocando em risco ao utilizar tais produtos.

Dallegrave et al. (2006), relata que a toxicidade e o caráter da ação dos defensivos agrícolas nos organismos vivos variam largamente, estando diretamente relacionados com sua estrutura química e concentração.

Tabela 1- Resultados do Índice Mitótico (IM), Porcentagem de Células Anormais (PCA), Porcentagem de Células em Interfase (PCI) e Comprimento da Raiz de *Allium cepa* obtido de solução de solo em diferentes tratamentos, Alta Floresta – MT

TRATAMENTOS	IM	PCA	PI	COMP. RAIZ
SOLO 1	12,16 a	2,16 a	85,66 c	22.78 b
SOLO 2	2.09 b	3.06 a	94.40 b	34.69 a
SOLO 3	0,33 bc	0,06 b	99,60 a	13.43 c
C. POSITIVO	0,00 c	0,20 b	99,80 a	-
C. NEGATIVO	6,46 b	0,66 b	92,86 b	30.41 a
CV (%)	89.41	75.84	7,64	14.30

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente a Tukey 5% de probabilidade

Allium cepa caracterizando-se claramente como distúrbio nota-se na tabela 1 que a porcentagem de células anormais encontrada no tratamento solo 1, apresentou maior porcentagem comparado com os controles e demais solos.

De acordo com as análises de porcentagem de células em interfase o solo 1 (Tabela 1), estatisticamente observa-se semelhança com o controle positivo, entretanto todos os resultados foram elevados para todos os tratamentos, indicando uma elevada inibição de divisão celular da *A. cepa*.

No solo 1 e 2 foram encontradas algumas anomalias como interfase com micronúcleo, interfase binucleada (Figura 1A), prófase com micronúcleo, telófase com cromossomo atrasado e isolado (Figura 1H), anáfase com ponte de cromatina e cromossomo isolado (Figura 1E), metáfase com cromossomo isolado e retardo de cromatina na anáfase.

Krüger, 2009, ao avaliar a toxicidade e a genotoxicidade das formulações comerciais de agrotóxico, utilizou a cebola (*Allium cepa*) como bioindicador, podendo detectar frequências de micronúcleos, anormalidades da anáfase-telófase, fragmentos cromossômicos, pontes, cromossomos retardatários.

Leme e Marin-Morales (2009), relata que a principal anormalidade cromossômica indicadora de citogenotoxicidade é o micronúcleo, indicando que esse parâmetro é de suma importância para a avaliação de contaminantes no solo. Então como visto nos resultados observados o tratamento solo horta apresenta citogenotoxicidade para células meristemáticas de *Allium cepa*.

Conforme Grover & Kaur (1999), os micronúcleos em células mitóticas é o resultado da quebra dos cromossomos, observadas em células de organismo teste mitótico.

O solo 3 (Tabela 1) apresentou significativamente grande quantidade de células em interfase, além de aberrações cromossômicas como prófase com cromossomo isolado, telófase com cromossomo atrasado, anáfase em blocos (Figura 1F), metáfase irregular e em blocos (Figura 1C e D).

Pode-se determinar que o solo 1, que foi retirada de uma área agrícola é um solo que pode ser tóxico a determinadas cultivares e até pode a longo prazo acarretar riscos à saúde humana, pois verificou-se que houve presença de anomalias e baixo índice mitótico causando uma baixa divisão celular. Como este solo é originado de uma área com plantio consecutivo de arroz durante os anos de 2012 a 2017 e soja no ano de cultivo de 2018, pode ser que ele esteja infectado com defensivos agrícolas em grandes quantidades, sendo necessário maiores estudos sobre este solo, visto os prejuízos que podem se trazer.

O uso de defensivos agrícolas compõe uma das principais ações que resultam na contaminação do solo e da água. A contaminação do solo ocorre após a infiltração de substâncias químicas com potencial nocivo, causando alterações na sua fertilidade e composição (OLIVEIRA et al., 2018).

Os adubos usados para fornecer micronutrientes podem apresentar metais pesados tóxicos em sua composição que podem proporcionar efeitos adversos ao meio ambiente. Plantas cultivadas na presença de determinadas concentrações de elementos tóxicos podem oferecer risco de contaminação, pois os acumulam em seus tecidos (NAVA et al., 2011).

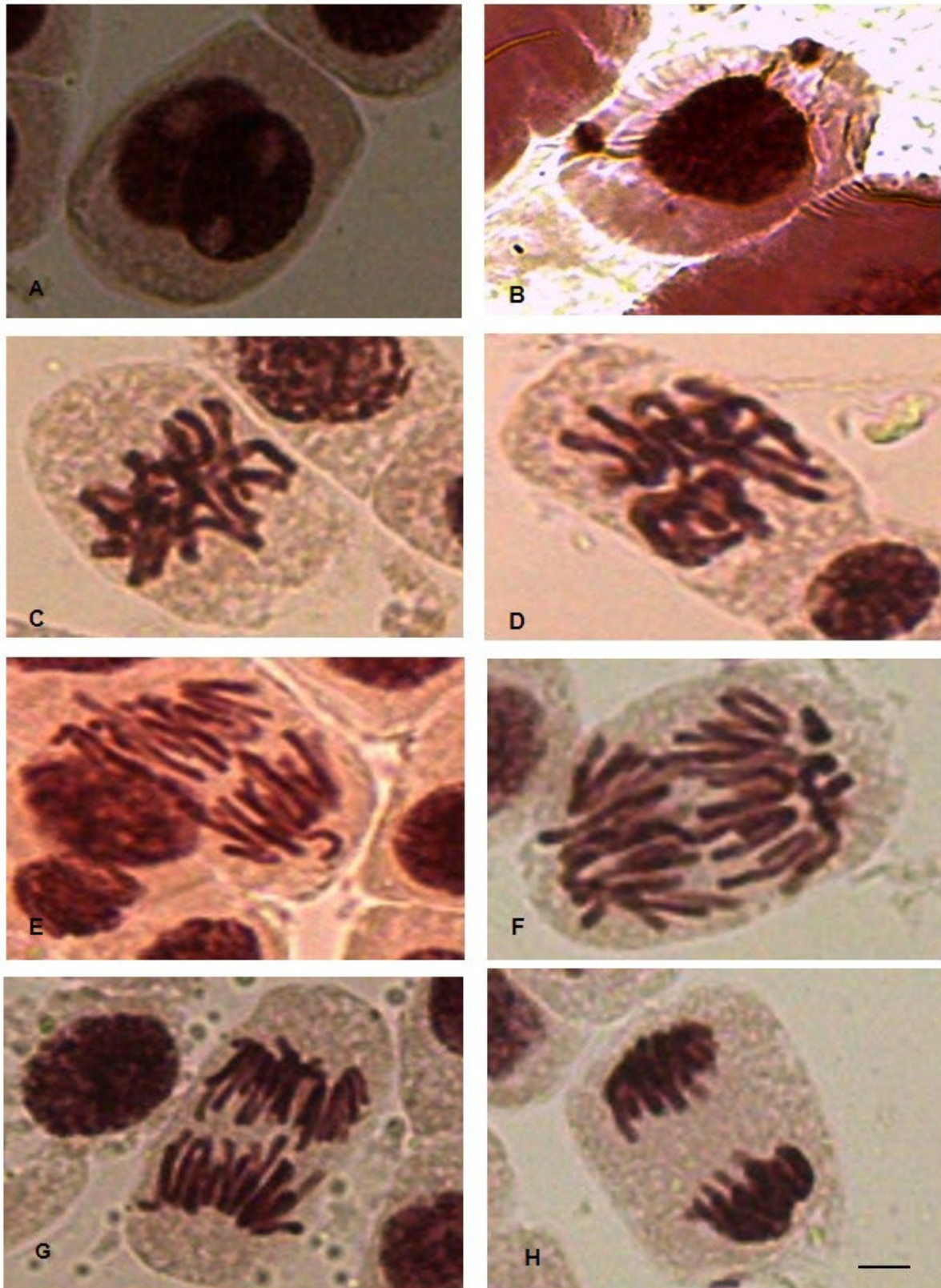


Figura 1: Células de *Allium cepa* submetidos aos diferentes tratamentos de solo contaminado. A) Interfase binucleada. B) Interfase com micronúcleo. C) Metáfase irregular. D) Metáfase em blocos. E) Anáfase com cromossomo isolado e ponte de cromatina. F) Anáfase irregular em blocos. G) Telófase com formação de 3 blocos de cromátides. H) Telófase com cromossomo atrasado. Barra de 10 μm .

4 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho pode-se confirmar por meio do teste com o *Allium cepa*, que o solo 1 apresentou maior índice de células em interfase e anormais, isso podendo ter sido causado por contaminação de produtos agrícolas tóxicos. Porém mais pesquisas devem ser realizadas uma vez que este trabalho ainda é um estudo preliminar.

AGRADECIMENTOS

À Universidade do estado de Mato Grosso, Campus Alta Floresta – MT, à equipe do Laboratório de citogenética/Campus Alta Floresta – MT e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior-Brasil (CAPES) – Cod de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

ANDRÉA, M. M. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. *Acta Zoológica Mexicana*, n. 2, p. 95-107, 2010. Disponível em: doi: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57515556007>.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em <http://www.planalto.gov.br>. Acesso em 19/03/2019.

CABRERA, G. L.; RODRIGUEZ, D. M. G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. *Mutat Res* 426: 211-214. 1999.

COLOSIO, C.; MORETTO, A. Pesticides. In: HEGGENHOUGEN, K.; QUAH, S. R. *International Encyclopedia of Public Health*, San Diego, CA, USA: Academic Press, p. 59- 66, 2008.

DA SILVA, J.; FONSECA, M.B. Estudos toxicológicos no ambiente e na saúde humana. In: DA SILVA, J.; ERDTMAN, B.; HENRIQUES, J.A.P. (Org.). *Genética Toxicológica*, Porto Alegre: Alcance, p. 71-84, 2003.

DALLEGRAVE, E. *Toxicologia Clínica: Aspectos Teórico-Práticos*. Porto Alegre: UFRGS, 2006. p. 44 – 61.

DELCOUR, I.; SPANOGHE, P.; UYTENDAELE, M. Literature review: Impact of climate change on pesticide use. *Food Research International*, v. 68, 7-15, 2015.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes: Experimental Designs package. R package version 1.1.2. 2013. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/ExpDes.pt/ExpDes.pt.pdf>

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. de. *Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana*. Ribeirão Preto: FUNPEC, p. 201, 2002.

GRANT, W. F. Chromosome aberration assays in *Allium*. *Mutation Research*, 99, 273-291. 1982.

GROVER I. S., KAUR S. Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected micronucleus assays. *Mutat Res* 426: 183-188. 1999.

KRÜGER, R. A. Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa*. 2009. 43 p. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental) - Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2009.

LEME, D. M., ANGELIS, D. F., MARIN-MORALES, M. A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. *Aquatic Toxicology*, 88, 214-219. 2008.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. Mutation Research- Reviews in Mutation Research, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009.

MA T. H., XU Z., XU C, MCCONNELL H., RABAGO E. V., ARREOLA G. A., ZHANG H. The improved Allium/Vicia root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. Mutat Res 334: 185-195. 1995.

MARTINS, H.; CAMPOS-PEREIRA, F. D. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS DO AGROQUÍMICO TORDON® SOBRE OS ORGANISMOS TESTE Lactuca sativa E Allium cepa. Visão Acadêmica. Curitiba:UFPR, 2018, v.19 n.2.

MÍDIO, A. F.; MARTINS, D. I. Toxicologia de Alimentos. São Paulo: Varela. 295 p. 2000.

NATARAJAN, A.T. Chromosome aberration: past, present and future. Mutation Research, v.504, p.3-16, 2002.

NAVA, I. A.; JUNIOR, A. C. G.; NACKE, H.; GUERINI, V. L.; SCHWANTE, D. Disponibilidade dos metais pesados tóxicos cádmio, chumbo e cromo no solo e tecido foliar da soja adubada com diferentes fontes de NPK+ Zn. Ciência e Agrotecnologia, v. 35, n. 5, p. 884-892, 2011.

OBE, G. et al. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. Mutation Research, v.504, p.17-36, 2002.

OLIVEIRA, J. L dos S.; LIMA, A. C. B de.; MININI, D.; Silva, E da. Usos, efeitos e potencial tóxico dos agrotóxicos na qualidade do solo. Agrarian Academy, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.5, n.9; p. 454, 2018. Disponível em: < DOI: 10.18677/Agrarian_Academy_2018a45>.

PILOT, H. C.; DRAGAN, Y. P. Chemical carcinogenesis. In: KLAASEN, C. D. (Ed.). Casarett and Doull's Toxicology: the basic science of poisons. 5 ed. New York: McGraw Hill. 201-267p. 1996.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.Rproject.org/>. 2016.

RIBEIRO, L. R.; MARQUES, E. K. A importância da mutagenese ambiental na carcinogênese humana. In: RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. (Org.). Mutagenese Ambiental. Canoas: Editora da Ulbra, 2003, p. 21-26.

SILVA, T. S. Avaliação tóxica e citogenotóxica de bioestimulantes vegetais em Allium cepa L. e Artemia salina L. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento), UFPI, Teresina, 2018.