ALLIUM CEPA COMO BIOINDICADOR AMBIENTAL DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE SEDIMENTOS DO RIO PARAÍBA DO SUL

Kayslane Myrella Galina[1], Victor Ventura de Souza[2], Tatiana da Silva Souza[2] e Diego Lacerda[1]

[1]Universidade Estadual do Norte Fluminense/Laboratório de Ciências, Avenida Alberto Lamego, 2000 - 28013602 – Campos dos Goytacazes - RJ, Brasil, kayslanegalina@gmail.com, diegolacerda@uenf.br
[2]Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, S/N, Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, victor.ventura@ufpe.br, tatiana.s.souza@ufes.br

Resumo
O Rio Paraíba do Sul apresenta grande importância ambiental e socioeconômica, mas sofre diferentes pressões antrópicas ao longo de sua bacia. Este estudo teve como objetivo avaliar a condição ambiental de diferentes trechos do rio por meio do bioensaio com Allium cepa, utilizando o índice mitótico, a frequência de micronúcleos e as ocorrências citogenéticas totais. Foram analisadas amostras de sedimento coletadas desde regiões próximas à nascente até o estuário, incluindo diferentes trechos e reservatórios. As sementes de *A. cepa* foram expostas aos extratos das amostras e as células das raízes foram avaliadas quanto à presença de alterações citogenéticas. Os resultados mostraram variação entre os pontos, sem um padrão contínuo de alterações ao longo do rio. As maiores respostas foram observadas em locais situados a 37 e 425 km da nascente, em diferentes parâmetros. A análise conjunta dos biomarcadores evidenciou diferenças nas respostas celulares entre os trechos avaliados. Conclui-se que o bioensaio com *A. cepa* foi útil para identificar diferenças na condição ambiental ao longo do Rio Paraíba do Sul.

Palavras-chave: Contaminação ambiental. Alterações cromossômicas. Biomonitoramento.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas - Ecologia.

Introdução

O Rio Paraíba do Sul (RPS), localizado na região Sudeste do Brasil, constitui uma das mais importantes bacias hidrográficas do país em termos sociais, econômicos e ambientais. Abrangendo os estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, seu território drena uma área de aproximadamente 61.500 km² (CEIVAP, 2021) e abastece direta e indiretamente mais de 14 milhões de habitantes, incluindo grandes centros urbanos e polos industriais estratégicos para o desenvolvimento nacional. Para além do abastecimento humano, o rio desempenha papel fundamental na manutenção de atividades como irrigação, geração de energia hidrelétrica, pesca e suporte à biodiversidade regional, destacando sua relevância ecológica e socioeconômica (Barbério et al. 2009). Apesar de sua importância, o RPS enfrenta intensa pressão antrópica associada à urbanização desordenada, expansão industrial, mineração e intensificação agrícola nas últimas décadas (Gomes et al. 2023). Estima-se que cerca de 80% dos efluentes domésticos gerados em municípios ao longo de seu curso são lançados diretamente nos corpos hídricos sem tratamento adequado, contribuindo para cargas elevadas de matéria orgânica, nutrientes, micro-organismos patogênicos e compostos emergentes. Em paralelo, despejos de resíduos industriais, muitas vezes contendo substâncias perigosas como solventes, pesticidas e metais tóxicos, configuram um cenário crônico de contaminação e alto risco ambiental (AGEVAP, 2020).

A esse contexto soma-se um histórico de acidentes ambientais de grande magnitude, incluindo derramamentos de rejeitos químicos e episódios de contaminação por metais pesados, que resultaram em impactos significativos para a biota aquática e para populações humanas dependentes do rio (Barbério et al. 2009). A degradação da vegetação nativa e o uso intensivo do solo para fins agrícolas intensificam tais efeitos, contribuindo para erosão, assoreamento e transporte contínuo de agrotóxicos e fertilizantes, agravando a vulnerabilidade ambiental da bacia (Da Silva Souza; Tavares; De Souza, 2024). Diante desse complexo cenário, a avaliação da qualidade ambiental do Rio Paraíba do Sul torna-se um desafio que exige

ferramentas sensíveis, integradas e capazes de fornecer respostas biológicas concretas aos diversos tipos de poluição presentes.

Diante disso, métodos bioindicadores ganham destaque, sendo o bioensaio com *A. cepa* reconhecido como uma ferramenta eficaz, de baixo custo e com alta sensibilidade para detecção de efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos em matrizes ambientais (Fernandes et al. 2007; Caritá e Marin-Morales 2008). O teste permite a avaliação de parâmetros como índice mitótico, inibição do crescimento radicular, presença de micronúcleos e aberrações cromossômicas, tornando-se fundamental para revelar danos celulares que análises químicas isoladas não captam. Assim, este estudo aplicou o teste de A. cepa em amostras de sedimento coletadas ao longo dos trechos alto, médio e baixo do Rio Paraíba do Sul, com o objetivo de avaliar possíveis variações espaciais nas respostas citotóxicas e genotóxicas. O sedimento constitui um importante compartimento de acumulação e retenção de substâncias potencialmente tóxicas, podendo refletir diferentes pressões ambientais ao longo da bacia hidrográfica.

Metodologia

As amostras de sedimento utilizadas neste estudo foram previamente coletadas e armazenadas sob refrigeração a −20 °C, em condições controladas no Laboratório de Ciências Ambientais (LCA/UENF). O conjunto amostral abrange o curso principal do Rio Paraíba do Sul, desde seu afluente formador, o Rio Paraibuna (Paraibuna – SP), até a foz, no município de São Francisco de Itabapoana (RJ), incluindo os principais reservatórios artificiais da bacia: Paraibuna, Santa Branca, Funil, Ilha dos Pombos e Anta. Esse conjunto de pontos representa a variação longitudinal das condições ambientais ao longo do sistema fluvial.

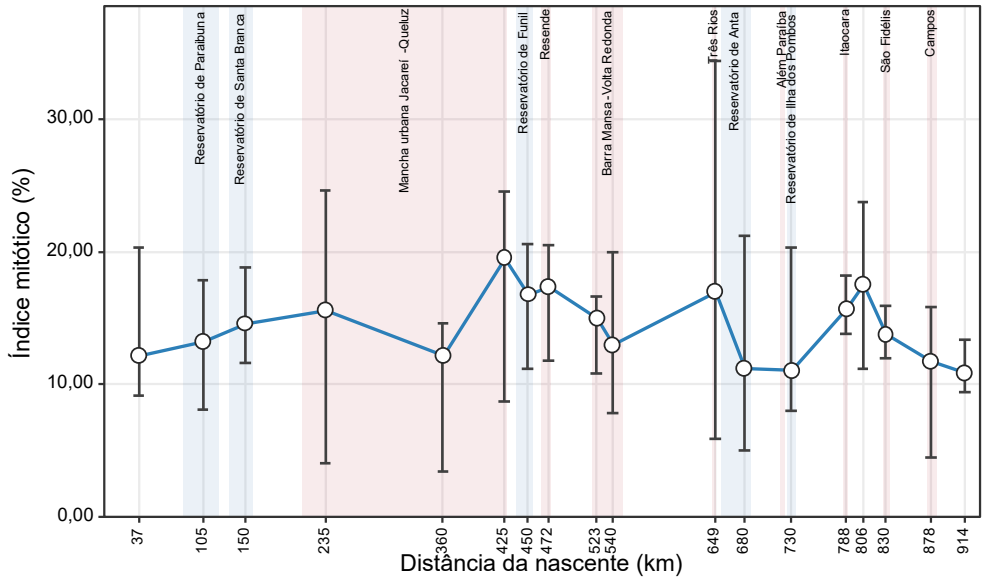
O bioensaio foi conduzido com sementes de *A. cepa* variedade Baia Periforme, seguindo protocolo padronizado para avaliação de citotoxicidade e genotoxicidade em sedimentos. As sementes foram dispostas em placas de Petri forradas com papel-filtro umedecido com sedimento (fração <2 mm), e mantidas em câmara de germinação a 24 °C por 72 h, sob ausência de luz. Após o período de exposição, as raízes com aproximadamente 1,5 cm de comprimento foram coletadas, fixadas em solução de Carnoy (etanol:ácido acético, 3:1, v/v) e armazenadas sob refrigeração a −20 °C até o preparo das lâminas (Da Silva Souza et al., 2021a). Para a análise citogenética, as amostras foram submetidas à coloração com orceína acética a 2% e analisadas em microscópio de luz.

A partir disso, foram observadas entre 500 e 1.500 células em cinco raízes por ponto de amostragem. Os índices de citogenotoxicidade foram determinados a partir do cálculo do índice mitótico (IM), da frequência de aberrações cromossômicas (AC) e da frequência de micronúcleos (FMN), conforme metodologia previamente estabelecida (Leme; Marin-Morales, 2009). Os dados foram organizados em planilhas e sumarizados por meio da mediana e do intervalo de confiança. Para a avaliação dos padrões espaciais ao longo do Rio Paraíba do Sul, os parâmetros citogenéticos foram representados graficamente em função da distância da nascente, expressa em quilômetros. As variações entre os pontos de amostragem foram interpretadas de forma comparativa, considerando as características ambientais associadas aos diferentes trechos da bacia.

Resultados

Os resultados foram avaliados considerando diferentes distâncias da nascente, distribuídas nos trechos Alto, Médio, Baixo e Foz/Estuário. A partir disso, foram analisados o índice mitótico, frequência de células com micronúcleos e alterações citogenéticas. O índice mitótico variou entre os pontos amostrados ao longo da bacia, sem evidenciar uma tendência contínua de aumento ou redução com a distância da nascente (Figura 1). A maior mediana foi observada no ponto 425 km, seguida pelos pontos 806 e 649 km. Em contraste, os menores valores foram registrados nos pontos 914, 730 e 680 km.

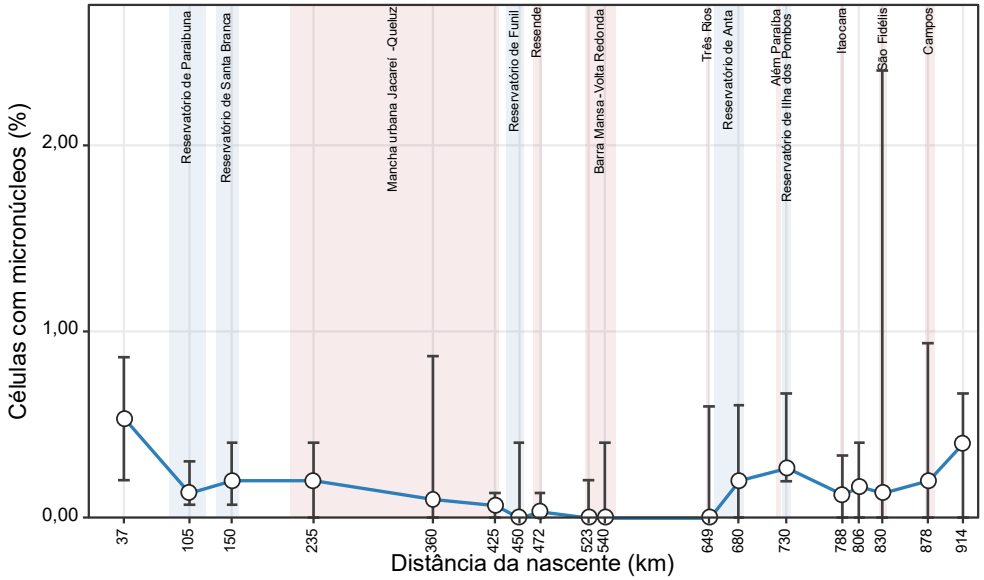
Figura 1- Índice mitótico (%) de A. cepa nas diferentes distâncias da nascente ao longo da bacia do Rio Paraíba do Sul. Os pontos representam as medianas entre as raízes analisadas e as barras correspondem aos intervalos de confiança de 95%. As faixas azuis indicam reservatórios e as faixas vermelhas, áreas urbanas.



Fonte: Os autores.

A frequência de células com micronúcleos também variou ao longo da bacia, sem evidenciar necessariamente um aumento contínuo da nascente à foz (Figura 2). Alguns pontos, como o 37 e 914, apresentaram maior ocorrência relativa, enquanto outros permaneceram próximos de zero, como o 450, 472, 523, 540 e 649 km (Figura 2).

Figura 2 - Frequência de células com micronúcleos nas diferentes distâncias amostradas ao longo da bacia do rio Paraíba do Sul. Os pontos representam as medianas entre as raízes analisadas e as barras correspondem aos intervalos de confiança de 95%. As faixas azuis indicam reservatórios e as faixas vermelhas, áreas urbanas.

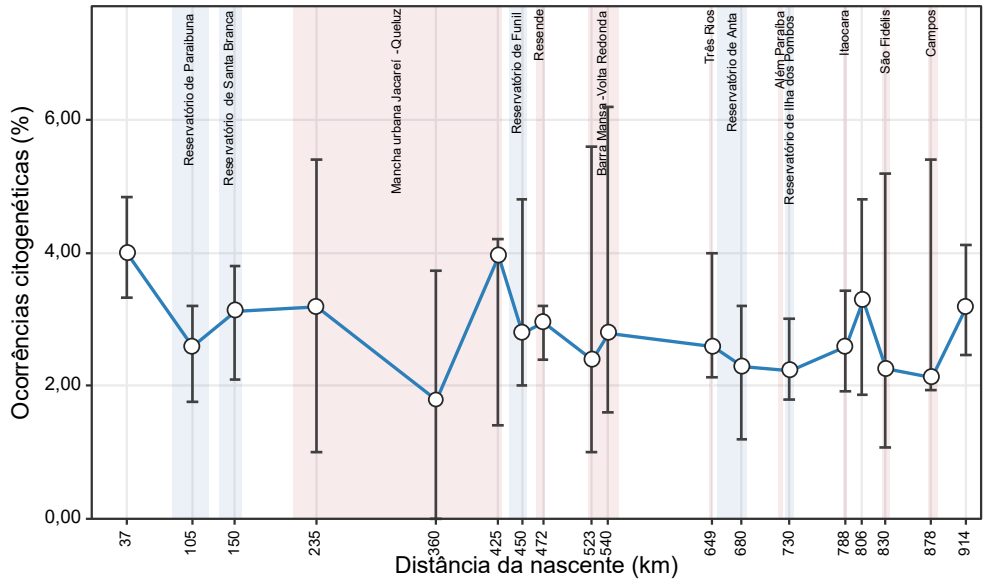


Fonte: Os autores.

As ocorrências citogenéticas totais variaram entre os pontos amostrados ao longo do Rio Paraíba do Sul, sem evidenciar uma tendência contínua em função da distância da nascente (Figura 3). As maiores

medianas foram observadas nos pontos 37 e 425 km, ambas próximas de 4%, enquanto os menores valores ocorreram nos pontos 360 e 878 km, em torno de 2%. A maior parte dos demais pontos apresentou valores intermediários, aproximadamente entre 2 e 3,5%, indicando relativa heterogeneidade espacial ao longo da bacia. Alguns pontos, como 235, 425, 523, 540, 806, 830 e 878 km, apresentaram intervalos de confiança mais amplos, indicando maior incerteza nas estimativas das medianas.

Figura 3 - Ocorrência de alterações citogenéticas totais nas diferentes distâncias amostradas ao longo da bacia do rio Paraíba do Sul. Os pontos representam as medianas entre as raízes analisadas e as barras correspondem aos intervalos de confiança de 95%. As faixas azuis indicam reservatórios e as faixas vermelhas, áreas urbanas.



Fonte: Os autores

Discussão

A avaliação conjunta dos parâmetros citogenotóxicos mostrou que as respostas de *A. cepa* variaram ao longo do Rio Paraíba do Sul, sem apresentar um padrão contínuo entre a nascente e o estuário. Essa heterogeneidade reforça a importância da avaliação integrada de diferentes biomarcadores, uma vez que índice mitótico, micronúcleos e alterações cromossômicas representam respostas celulares distintas à exposição ambiental (Leme e Marin-Morales 2009). Alterações no índice mitótico podem indicar interferências na dinâmica do ciclo celular, sendo sua redução frequentemente associada à citotoxicidade (Hoshina e Marin-Morales 2009; Athanásio *et al*. 2014), embora aumentos da atividade mitótica também possam ocorrer em determinadas condições de exposição (Caritá e Marin-Morales 2008; Liman *et al*. 2015).

Para o índice mitótico, o maior valor foi registrado a 425 km da nascente, seguido pelos locais situados a 806 e 649 km. O ponto de 425 km corresponde à região de Queluz, localizada no trecho final da extensa mancha urbana do Vale do Paraíba, após o rio atravessar importantes centros urbanos, como Jacareí, São José dos Campos e Taubaté. Essa posição torna o local particularmente relevante, pois o sedimento pode integrar contribuições provenientes de diferentes áreas urbanizadas e industrializadas situadas a montante. Assim, o maior índice mitótico observado nesse trecho pode refletir a influência combinada das condições ambientais e da composição dos sedimentos, embora os dados disponíveis não permitam atribuir essa resposta a contaminantes ou processos específicos. Processos associados à urbanização e à eutrofização podem modificar as condições ambientais do rio e influenciar as respostas biológicas observadas (Pamplona-Silva *et al*. 2018).

Em contraste, valores menores de índice mitótico foram observados em 680 e 730 km, associados aos reservatórios de Anta e Ilha dos Pombos. Ambientes represados apresentam menor velocidade de fluxo e maior retenção de partículas, favorecendo a deposição de sedimentos e de substâncias a eles associadas (Julien 2010). Estudos no próprio Rio Paraíba do Sul demonstram que os sedimentos podem atuar como compartimentos de acumulação de elementos potencialmente tóxicos (Gomes *et al*. 2023).

A frequência de micronúcleos também apresentou forte variação espacial, com maiores valores a 37 e 914 km da nascente. Os micronúcleos resultam de alterações cromossômicas decorrentes da perda de cromossomos ou de fragmentos que não são incorporados aos núcleos durante a divisão celular, sendo utilizados como indicadores de danos genotóxicos (Fernandes *et al*. 2007). O maior valor observado próximo à nascente demonstra que respostas citogenéticas não estão necessariamente restritas aos trechos mais urbanizados da bacia. Regiões de cabeceira também podem estar sujeitas a alterações no uso do solo, atividades agrícolas e outras fontes locais de contaminação (Ferreira Marmontel *et al*. 2018).

No extremo oposto da bacia, o ponto localizado a 914 km, na região estuarina, também apresentou elevada frequência de micronúcleos. Estuários constituem ambientes de elevada complexidade geoquímica, nos quais variações de salinidade, matéria orgânica, pH e deposição de partículas influenciam o transporte e a disponibilidade de contaminantes (Chapman e Wang 2001). No baixo Rio Paraíba do Sul, a distribuição de elementos potencialmente tóxicos entre água, material particulado e sedimento também é condicionada por características geoquímicas locais (Meneguelli-Souza *et al*. 2021). A sensibilidade do teste de *A. cepa* a diferentes contaminantes ambientais reforça sua aplicação na detecção de respostas citotóxicas e genotóxicas em sistemas complexos (Tavarekere Venkataravanappa *et al*. 2025).

As ocorrências citogenéticas totais apresentaram padrão igualmente heterogêneo, com maiores valores a 37 e 425 km. A coincidência de valores elevados de diferentes parâmetros nesses locais sugere maior ocorrência de respostas celulares, mas não permite identificar sua causa específica. Em sistemas fluviais, contaminantes podem ser introduzidos em diferentes trechos, transportados, diluídos, associados a partículas ou acumulados nos sedimentos, produzindo padrões espaciais não lineares (Chapman e Wang 2001; Meneguelli-Souza *et al*. 2021). Por isso, a interpretação conjunta dos biomarcadores é mais informativa do que a avaliação isolada de cada parâmetro (Leme e Marin-Morales 2009; Tavarekere Venkataravanappa *et al*. 2025).

Essa ausência de respostas coincidentes entre todos os parâmetros também já foi observada no próprio Rio Paraíba do Sul. Barbério et al. (2009) encontraram redução do índice mitótico em *A. cepa* exposta à água de Tremembé e Aparecida, enquanto a frequência de micronúcleos não apresentou alterações nos mesmos locais. Em conjunto, os resultados do presente estudo indicam que as respostas citogenéticas variam espacialmente e parecem refletir condições locais mais do que um gradiente simples de aumento de impacto da nascente para a foz. Os pontos situados a 37 e 425 km se destacaram em diferentes parâmetros, reforçando a necessidade de considerar simultaneamente a posição na bacia, o uso do solo e as características ambientais locais na interpretação dos efeitos observados.

Conclusão

Os resultados evidenciaram variação espacial nas respostas citogenéticas de *A. cepa* ao longo do Rio Paraíba do Sul, sem um padrão contínuo da nascente ao estuário. Os locais situados a 37 e 425 km da nascente se destacaram por apresentarem maiores respostas em diferentes parâmetros, mostrando que alterações celulares não estão necessariamente restritas aos trechos mais urbanizados ou próximos à foz.

A avaliação conjunta do índice mitótico, da frequência de micronúcleos e das ocorrências citogenéticas totais mostrou que esses parâmetros respondem de forma distinta entre os locais. Nesse sentido, o bioensaio com *A. cepa* mostrou-se uma ferramenta útil para complementar a avaliação da condição ambiental da bacia e identificar trechos com maior ocorrência de alterações citogenéticas. Os resultados reforçam a importância do monitoramento integrado de diferentes setores do Rio Paraíba do Sul, considerando a heterogeneidade espacial e as distintas pressões ambientais ao longo da bacia.

Referências

AGEVAP – ASSOCIAÇÃO PRÓ-GESTÃO DAS ÁGUAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PARAÍBA DO SUL. *Relatório de Situação: Bacia do Rio Paraíba do Sul 2020*. Resende: AGEVAP, 2020. 171 p.

ATHANÁSIO, C. G.; PRÁ, D.; RIEGER, A. Water quality of urban streams: the *Allium cepa* seeds/seedlings test as a tool for surface water monitoring. **The Scientific World Journal**, v. 2014, n. 1, p. 391367, 2014.

BARBÉRIO, A.; BARROS, L.; VOLTOLINI, J. C.; MELLO, M. L. S. Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 3, p. 837-842, 2009. DOI: 10.1590/S1519-69842009000400010.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, n. 5, p. 722-725, 2008. CEIVAP – COMITÊ DE INTEGRAÇÃO DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PARAÍBA DO SUL. *Rio que te quero vivo: conheça mais sobre a Bacia do Rio Paraíba do Sul*. Resende: CEIVAP, 2021.

CHAPMAN, P. M.; WANG, Feiyue. Assessing sediment contamination in estuaries. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 1, p. 3-22, 2001.

DA SILVA SOUZA, T.; TAVARES, G. B.; DE SOUZA, V. V. Cytogenotoxicity of 2, 4-D and glyphosate herbicides: effects of isolated and combined environmental concentrations on onion root tips (*Allium cepa*). **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 235, n. 8, p. 523, 2024.

DA SILVA SOUZA, T. *et al*. Cytogenotoxicity of the water and sediment of the Paraopeba River immediately after the iron ore mining dam disaster (Brumadinho, Minas Gerais, Brazil). **Science of the Total Environment**, v. 775, p. 145193, 2021.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidizated cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252-259, 2007.

MARMONTEL, C. V. F. *et al*. Effects of land use and sampling distance on water quality in tropical headwater springs (Pimenta creek, São Paulo State, Brazil). **Science of the Total Environment**, v. 622, p. 690-701, 2018.

GOMES, P. R. *et al*. The Paraíba do Sul River Basin and its coastal area as a study model of the mercury cycle: A meta-analytical review of three decades of research. **Journal of Hazardous Materials**, v. 460, p. 132442, 2023.

HOSHINA, M. M.; MARIN-MORALES, M. A. Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 8, p. 2090-2095, 2009.

JULIEN, P. Y. ***Erosion and sedimentation***. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2010.

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.

LIMAN, R.; CIĞERCI, İ. H.; ÖZTÜRK, N. S. Determination of genotoxic effects of Imazethapyr herbicide in *Allium cepa* root cells by mitotic activity, chromosome aberration, and comet assay. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 118, p. 38-42, 2015.

MENEGUELLI-SOUZA, A. C. *et al*. Arsenic in the lower drainage basin of the Paraíba do Sul River (Southeast Brazil): dynamics between the water column and sediment. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 193, n. 2, p. 57, 2021.

PAMPLONA-SILVA, M. T.; GONÇALVES, L. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genetic toxicity of water contaminated by microcystins collected during a cyanobacteria bloom. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 166, p. 223-230, 2018.

VENKATARAVANAPPA, J. T. *et al*. *Allium cepa* L. as a bioindicator: A comprehensive review of genotoxicity and cytotoxicity assessment methods. **Toxicon**, p. 108586, 2025.