

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO DE CÁDMIO E CHUMBO POR MEIO DO BIOENSAIO COM *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* Boom

EVALUATION OF THE GENOTOXIC POTENTIAL OF
CADMIUM AND LEAD USING THE *Tradescantia pallida*
(Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* Boom BIOASSAY

Marcos Takeshi Miyabe *miyabetakeshi@gmail.com*

Graduando em Ciências Biológicas na Universidade Feevale/Brasil).
Bolsista de Iniciação Científica FAPERGS/PROBIC.

Annette Droste *annette@feevale.br*

Doutora em Genética e Biologia Molecular pela Universidade
Federal do Rio Grande do Sul (Porto Alegre/Brasil).
Professora na Universidade Feevale (Novo Hamburgo/Brasil).

RESUMO

O potencial genotóxico dos elementos-traço cádmio (Cd) e chumbo (Pb) nas concentrações máximas permitidas no Brasil pelas Resoluções CONAMA n° 357/2005 (classificação de corpos d'água, água doce de classe I) e CONSEMA n° 355/2017 (emissão de efluentes líquidos em águas superficiais no Rio Grande do Sul) foi avaliado por meio do teste de micronúcleos (MCN) com o uso de *Tradescantia pallida* var. *purpurea*. Após 24 h de adaptação em água destilada, 20 ramos com botões florais foram expostos por 8 h em 2 L em água destilada com diferentes concentrações de Cd (0,001 e 0,1 mg L⁻¹) e Pb (0,01 e 0,2 mg L⁻¹), seguido da recuperação por 24 h em água destilada para finalizar o ciclo da meiose. Simultaneamente, foi realizado controle negativo com exposição dos ramos apenas em água destilada. Após, as inflorescências foram fixadas em etanol/ácido acético (3:1 v:v) por 24 h e armazenadas em etanol 70% sob refrigeração. As frequências de MCN nos botões florais expostos às concentrações de 0,001 mg L⁻¹ e 0,1 mg L⁻¹ de Cd não diferiram significativamente entre si (2,90 e 3,43 MCN, respectivamente), mas diferiram significativamente da frequência do controle (1,93 MCN) (p=0,006). Para Pb, as frequências de MCN nos botões florais expostos às concentrações 0,01 mg L⁻¹ e 0,2 mg L⁻¹ diferiram significativamente entre si (3,76 e 5,03 MCN, respectivamente) e do controle (1,93 MCN) (p<0,001). Os resultados indicam que as concentrações máximas de Cd e Pb permitidas pelas Resoluções CONAMA n° 357/2005 e CONSEMA n° 355/2017 são potencialmente genotóxicas.

Palavras-chave: Genotoxicidade. Elemento-traço. Trad-MCN.

ABSTRACT

The genotoxic potential of the trace elements cadmium (Cd) and lead (Pb) at the maximum concentrations allowed by CONAMA n° 357/2005 (classification of watersheds, class 1 freshwater) and CONSEMA n° 355/2017 resolutions (emission of effluents in superficial waters in Rio Grande do Sul) were evaluated using the micronuclei (MCN) test with the use of *Tradescantia pallida* var. *purpurea*. After 24 h of adaptation in distilled water, 20 cuttings with floral buds were exposed for 8 h in 2 L in distilled water with different concentrations of Cd (0.001 and 0.1 mg L⁻¹) and Pb (0.01 and 0.2 mg L⁻¹), followed by recovery for 24 h in distilled water to finish the meiosis cycle. Simultaneously, negative control was performed with exposure of the cuttings only in distilled water. After the inflorescences were fixed in ethanol/acetic acid (3:1 v:v) for 24 h and stored in ethanol 70% under refrigeration. MCN frequencies in flower buds exposed to concentrations of 0.001 mg L⁻¹ and 0.1 mg L⁻¹ of Cd did not differ significantly from each other (2.90 and 3.43 MCN, respectively), but differed significantly from the control (1.93) (p=0.006). For Pb, the MCN frequency in flower buds exposed to concentrations of 0.01 mg L⁻¹ and 0.2 mg L⁻¹ differed significantly from each other (3.76 and 5.03, respectively) and from the control (1.93) (p<0.001). The results indicate that the maximum concentrations of Cd and Pb permitted by CONAMA n° 357/2005 and CONSEMA n° 355/2017 resolutions are potentially genotoxic.

Keywords: Genotoxicity. Trace element. Trad-MCN.

1 INTRODUÇÃO

O uso da água é indispensável a um largo espectro das atividades humanas, nos quais se destacam o abastecimento público e industrial, a irrigação agrícola, a produção de energia elétrica e as atividades de lazer e recreação (ALVES *et al.*, 2008).

Devido ao aumento da demanda pela água, ampliando a descarga de esgotos domésticos e industriais nos corpos hídricos, ocasionados principalmente pela urbanização, industrialização e pelo uso de defensivos agrícolas, a qualidade da água vem sendo negativamente impactada (ALVES *et al.*, 2008; TUNDISI, 2008).

Apesar da crescente variedade de componentes químicos que podem comprometer a qualidade da água, tornando mais difícil a análise sistemática desses componentes (MERLO *et al.*, 2011), é importante entender os seus efeitos isolados e combinados em espécies bioindicadoras, buscando aprimorar o entendimento dos efeitos que poderão ocorrer sobre a biota aquática e sobre os seres que necessitam direta ou indiretamente de recursos do ecossistema aquático (BUSS *et al.* 2003).

Dentre os poluentes de ambientes aquáticos, podemos citar os elementos-traço, provindos principalmente de atividades antrópicas. Mesmo que estejam em conformidade com a legislação vigente, nos organismos os elementos-traço podem apresentar concentrações superiores àquelas detectadas no ambiente, pois tendem a acumular-se e a persistir na biota aquática uma vez que não podem ser degradados ou destruídos (SENGAR *et al.* 2008), sendo capazes de ocasionar efeitos adversos potencialmente tóxicos e genotóxicos (ALKORTA *et al.*, 2004; PINHO; LADEIRO, 2012; WANI *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2014).

No Brasil, os rios são geralmente monitorados por meio de testes físicos, químicos e bacteriológicos para determinar a qualidade da água para uso humano (RODRIGUES; CASTRO, 2008), seguindo os parâmetros definidos na Resolução CONAMA nº 375/2005 (BRASIL, 2005). No entanto, esses parâmetros, quando analisados individualmente, podem subestimar a magnitude real dos danos causados aos ambientes de água (KARR; CHU, 1999; KIELING-RUBIO *et al.*, 2015). Assim, devido à importância em se preservar os recursos naturais, fazem-se necessários estudos de monitoramento com organismos bioindicadores para a avaliação da qualidade da água (OLIVEIRA *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2014; KIELING-RUBIO *et al.*, 2015).

Tradescantia pallida (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* Boom é utilizada em estudos de biomonitoramento, pois apresenta alta sensibilidade a agentes genotóxicos presentes em corpos hídricos e águas residuais provenientes de esgotos domésticos e industriais (UMBUZEIRO *et al.*, 2007; MIELLI *et al.*, 2009; THEWES *et al.*, 2011; COSTA *et al.*, 2014), por meio do teste de micronúcleos (MCN), Trad-MCN (MA *et al.*, 1978), que

consiste na estimativa da frequência de micronúcleos em células-mãe de grãos de pólen, sendo o número de MCN proporcional à concentração de poluentes (MA *et al.*, 1981; ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2008).

Embora *Tradescantia* seja citada por vezes como sensível a elementos-traço, não se sabe se no monitoramento ativo, em que as plantas são expostas apenas por algumas horas aos agentes potencialmente genotóxicos, esta sensibilidade se confirma. Em estudo sobre biomonitoramento ativo e passivo da qualidade do ar, Costa *et al.* (2016), apesar de terem identificado altas concentrações de elementos-traço em folhas e botões florais de *T. pallidavar. purpurea*, não encontraram relação significativa entre a frequência de MCN e a presença destes elementos.

Dentre os elementos-traço tóxicos, destacam-se o cádmio (Cd) e o chumbo (Pb), os quais estão incluídos na lista de substâncias orgânicas e inorgânicas consideradas perigosas, baseada na combinação de sua frequência, toxicidade e potencial de exposição humana, pela Agência para Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças (ATSDR, 2007, 2012).

Devido às suas propriedades específicas, incluindo excelente resistência à corrosão, baixa temperatura de fusão, alta maleabilidade, alta condutividade elétrica e térmica (ATSDR, 2012), Cd é um elemento-traço que possui bastante aplicação industrial. No entanto, sua alta toxicidade aos organismos vivos pode causar efeitos agudos e crônicos à saúde e ao ambiente. Uma vez liberado para o ambiente, esse elemento-traço não se degrada naturalmente e, portanto, permanece em circulação (NORDIC COUNCIL OF MINISTER, 2003). As principais fontes antrópicas de Cd incluem mineração e fundição de zinco, combustão de combustíveis fósseis, incineração de resíduos sólidos, liberação de rejeitos de pilha ou aterros sanitários (UNEP, 2008; ATSDR, 2012), além do uso de fertilizantes fosfatados, efluentes urbanos e industriais, e da precipitação atmosférica (CETESB, 2012a). Por ser um subproduto do zinco, a produção de Cd está mais dependente da refinação de zinco do que da demanda do mercado (NORDIC COUNCIL OF MINISTER, 2003). Em âmbito nacional, o limite máximo de concentração de Cd permitido é de 0,001 mg L⁻¹ para águas doces de classe 1 (BRASIL, 2005). No Estado do Rio Grande do Sul, o limite máximo de concentração de Cd permitido para o lançamento em águas superficiais por efluentes líquidos é de 0,1 mg L⁻¹ (RIO GRANDE DO SUL, 2017).

O Pb também apresenta uso muito difundido e tem causado contaminação ambiental e problemas de saúde em toda parte do mundo (WHO, 2010), devido a sua persistência (IPCS, 1995; SENGAR *et al.*, 2008). De cor cinza-azulado, este elemento-traço é encontrado em pequenas quantidades na crosta terrestre, geralmente associado a minérios, principalmente aos que contêm zinco, sendo o sulfeto de chumbo (galena) a mais importante fonte primária de Pb e a principal fonte comercial (IARC, 2006; CETESB, 2012b). A presença do elemento-traço na água ocorre por deposição atmosférica ou lixiviação do solo. Contudo, a maior presença de Pb no ambiente é resultado da ação antrópica, como mineração, fundição,

refinaria e reciclagem informal de Pb. Este elemento-traço foi largamente utilizado como antidetonante e lubrificante em combustíveis fósseis, o que acarretou fortes contaminações por via atmosférica, até sua proibição. Entretanto, ainda é utilizado em baterias elétricas, soldas, materiais de revestimento, materiais de borracha, dentre outros, portanto, associado às indústrias químicas e de construção civil (WHO, 2011; CETESB, 2012b). Os óxidos de Pb são usados em placas de baterias elétricas e acumuladores, vitrificados, esmaltes, vidros e componentes para borracha. Os sais de Pb formam a base de tintas e pigmentos (CETESB, 2012b). Em âmbito nacional, o limite máximo de concentração de Pb permitido é de 0,01 mg L⁻¹ para águas doces de classe 1 (BRASIL, 2005). No Estado do Rio Grande do Sul, o limite máximo de concentração de Pb permitido para o lançamento em águas superficiais por efluentes líquidos é de 0,2 mg L⁻¹ (RIO GRANDE DO SUL, 2017).

Devido a essas questões, o objetivo do estudo foi avaliar o potencial genotóxico de Cd e Pb nas concentrações máximas permitidas pelas Resoluções CONAMA n° 357/2005 (água doce de classe 1) e CONSEMA n° 355/2017, por meio do teste de micronúcleos Trad-MCN.

2 METODOLOGIA

2.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Conhecida popularmente no Brasil como trapoerabão, trapoeraba-roxa ou coração-roxo, *T. pallida* var. *purpurea* pertence a Commelinaceae, família botânica que consiste em cerca de 42 gêneros e 650 espécies (PANIGO *et al.*, 2011). É uma espécie herbácea de pequeno porte com folhas lanceoladas e suculentas e de fácil adaptabilidade ao clima tropical. As folhas apresentam uma larga bainha e a inflorescência é protegida por duas grandes brácteas em forma de canoa. Sua floração ocorre durante todo o ano e sua propagação pode ser realizada por meio da estaquia dos ramos (SOUZA; LORENZI, 2012).

Ramos de *T. pallida* var. *purpurea* utilizados para o bioensaio foram retirados de plantas da coleção viva da Universidade Feevale, as quais estão cultivadas em vasos plásticos (37 cm x 20 cm x 20 cm), contendo 4 kg de solo comercial. Essas plantas permanecem em estufa do campus da universidade e com irrigação automatizada.

2.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES DE CÁDMIO E CHUMBO

A obtenção de Cd se deu a partir do preparo de solução-estoque do composto Cd(NO₃)₂ · 4H₂O (nitrato de cádmio). A obtenção de Pb foi feita a partir de solução-estoque do composto Pb(NO₃)₂ (nitrato de chumbo).

Essas concentrações foram determinadas a partir do limite máximo estabelecido pelas Resoluções CONAMA n° 357/2005 (BRASIL, 2005), que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, e CONSEMA n° 355/2017 (RIO GRANDE DO SUL, 2017), a qual dispõe sobre padrões de emissão de efluentes líquidos lançados em águas superficiais do Estado do Rio Grande do Sul.

2.3 BIOENSAIO COM *T. pallida* var. *purpurea* (TRAD-MCN)

Os procedimentos do bioensaio Trad-MCN foram realizados conforme método descrito por Cassanego *et al.* (2014). Por bioensaio, foram coletados 20 ramos com inflorescências jovens de *T. pallida* var. *purpurea* e imersos parcialmente em recipientes contendo 2 L de água destilada por 24 h para a adaptação das inflorescências. Após esse período, os ramos foram expostos às soluções dos elementos-traço previamente preparadas (2 L) por 8 h e, posteriormente, recuperados por mais 24 h em recipiente contendo 2 L de água destilada.

Simultaneamente, foi realizado o controle negativo, seguindo o mesmo processo metodológico descrito acima, com exceção do fato de os ramos serem expostos à água destilada ao invés da solução com elemento-traço. Todo o processo foi realizado na sala climatizada do Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade Feevale, sob temperatura controlada a 26 ± 1 °C e luz natural.

2.4 FIXAÇÃO DAS INFLORESCÊNCIAS, PREPARO DAS LÂMINAS E OBSERVAÇÃO DE MICRONÚCLEOS (MCN)

Após o período de recuperação, as inflorescências foram fixadas em etanol absoluto/ácido acético (3:1 v:v) por 24 horas, sendo posteriormente transferidas para um frasco de vidro contendo etanol 70% e mantidas sob refrigeração a 4 °C. O preparo de lâminas se deu a partir da dissecação dos botões florais fixados, nos quais as anteras foram maceradas com corante carmim acético a 1%, e retirados os fragmentos. Para cada amostra, foram contabilizadas 300 tétrades por lâmina em um total de dez lâminas por amostra, em microscópio óptico em aumento de 400x, sendo calculada a frequência MCN expressa em MCN/100 tétrades (THEWES *et al.*, 2011).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para testar a sua normalidade. Após, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Duncan, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram executadas utilizando o programa SPSS 20.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As frequências de MCN nos botões florais expostos às concentrações de 0,001 mg L⁻¹ (2,90 MCN) e 0,1 mg L⁻¹ (3,43 MCN) de Cd não diferiram significativamente entre si, mas diferiram significativamente da frequência de MCN nos botões florais do controle negativo (1,93 MCN) (p=0,006) (Tabela 1). Já para o Pb, as frequências de MCN nos botões florais expostos às concentrações 0,01 mg L⁻¹ (3,76 MCN) e 0,2 mg L⁻¹ (5,03 MCN) diferiram significativamente entre si, bem como da frequência do controle negativo (1,93 MCN) (p<0,001) (Tabela 1).

A frequência de MCN nos botões florais do controle negativo manteve-se abaixo de 2,00 MCN, valor considerado como resultante de mutações espontâneas que podem ocorrer na espécie também quando as plantas são mantidas em ambiente não poluído (PEREIRA *et al.*, 2013).

Tabela 1 - Frequência de micronúcleos em botões florais de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* expostos às amostras de água contendo cádmio, chumbo e do controle negativo

Concentração de Cd	Frequência de MCN (média ± desvio padrão)	Concentração de Pb	Frequência de MCN (média ± desvio padrão)
0,001 mg L ⁻¹ CONAMA 357/2005	2,90 ± 0,99 b	0,01 mg L ⁻¹ CONAMA 357/2005	3,76 ± 1,58 b
0,1 mg L ⁻¹ CONSEMA 355/2017	3,43 ± 1,14 b	0,2 mg L ⁻¹ CONSEMA 355/2017	5,03 ± 1,31 c
Controle Negativo	1,93 ± 0,71 a	Controle Negativo	1,93 ± 0,71 a
F	6,167	F	15,349
p	0,006	p	< 0,001

Valores seguidos de letras diferentes na coluna indicam diferença significativa entre tratamentos pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade

Fonte: elaborado pelos autores

Estudos de monitoramento da água com uso do teste de micronúcleos com *T. pallida* var. *purpurea* e com parâmetros físico-químicos foram realizados, identificando, dentre outros elementos-traço, Cd e Pb. Costa *et al.* (2014) avaliaram a qualidade da água do arroio Schmidt e de um trecho do Rio dos Sinos no município de Campo Bom, Rio Grande do Sul, por meio do bioensaio Trad-MCN e por meio de parâmetros físico-químicos. As maiores frequências de MCN foram observadas, em sua grande maioria, na presença de Cd e Pb em concentrações superiores ao padrão estabelecido pela legislação nacional

vigente CONAMA 357/2005, principalmente na coleta de verão, em que foi observada a presença de Pb em concentração três vezes superior ao padrão da legislação vigente em todos os pontos amostrais. Petry *et al.* (2016) avaliaram a qualidade da água do arroio Luiz Rau, em Novo Hamburgo, Rio Grande do Sul, por meio do teste Trad-MCN e parâmetros físico-químicos, no qual foram observadas frequências de MCN significativamente superiores ao controle negativo, e presença de Pb em concentrações até quatro vezes superiores ao permitido pela legislação CONAMA 357/2005. Zimmermann *et al.* (2016) avaliaram por meio do bioensaio com células do meristema apical radicular de *Allium cepa* L. e parâmetros físico-químicos a qualidade da água do rio da Ilha, um dos principais afluentes do Rio dos Sinos, no Rio Grande do Sul. No período do inverno, houve uma redução significativa do índice mitótico das células expostas às águas dos sítios amostrais quando comparado às células expostas ao controle negativo, ao mesmo tempo em que foram observadas as maiores concentrações de Pb pela análise química da água, sendo cerca de quatro vezes acima do limite máximo permitido pela Resolução CONAMA nº 357/2003, para água doce classe I.

No bioensaio com os ramos de *T. pallida* var. *purpurea* expostos à água contendo Cd, não houve diferença significativa entre as frequências de MCN nas duas concentrações das legislações testadas, embora o limite legal da Resolução CONSEMA 355/2017 seja 100 vezes superior ao limite legal estipulado na Resolução CONAMA 357/2005. Tal fato indicou que danos genéticos do tipo MCN causados por Cd não são dose-dependentes. Estudos sobre o potencial genotóxico de Cd, utilizando organismos vegetais como bioindicadores, apontam que esse elemento causa diversos danos genéticos. Unyayar *et al.* (2006) expuseram células do meristema apical radicular de *Allium sativum* L. e *Vicia faba* L. em concentrações de Cd que variaram de 0,11 mg L⁻¹ a 22,48 mg L⁻¹, nas quais observaram que os danos genéticos não são dose-dependentes de Cd e que a baixa frequência de MCN pode estar relacionada com a diminuição do índice mitótico observado. Fusconi *et al.* (2007) relataram a diminuição da atividade mitótica a partir da exposição a 0,28 mg L⁻¹ Cd em células de raiz de *Pisum sativum* L. Seth *et al.* (2008) relataram a indução de MCN em células do meristema radicular de *A. cepa* expostas a 2,24 e 4,50 mg L⁻¹ de Cd. Pizzaia (2013), apesar de não ter observado a presença de MCN, observou em células do meristema apical radicular de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) expostas a 0,018 mg L⁻¹ de Cd uma diminuição do índice mitótico em três vezes em comparação ao controle negativo.

No presente estudo, as frequências de MCN observadas nas tétrades dos botões florais de *T. pallida* var. *purpurea* expostos à solução contendo Pb foram maiores quando expostas em maiores concentrações, indicando um efeito de dose-dependência. Patra *et al.* (2004) reportaram que os efeitos do Pb são dependentes da concentração e do tempo de exposição, sendo que, em baixas concentrações, o Pb afeta principalmente as atividades enzimáticas de células vegetais.

Em ramos de *T. pallida* var. *purpurea* expostos à concentração de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ de Pb foram observados danos genéticos significativos no presente estudo. Mukherji e Maitra (1976) e Ochoa *et al.* (1992) reportaram a diminuição da atividade mitótica em células do meristema apical radicular de *A. cepa* quando expostas às concentrações de 3 mg L^{-1} de Pb e 5 mg L^{-1} de Pb, respectivamente, sendo as concentrações 30 e 50 vezes maiores que a aplicada no presente estudo.

Silva *et al.* (2017) expuseram células de ápice radicular de *Lactuca sativa* L. a cinco concentrações de nitrato de chumbo que variaram de $0,05$ a 20 mg L^{-1} , e observaram que apenas na maior concentração testada houve uma diferença significativa na frequência de MCN. A variação de concentração da substância testada e seu respectivo efeito sobre o DNA pode estar relacionada ao fato de os cromossomos meióticos serem mais sensíveis à quebra por agentes genotóxicos do que cromossomos mitóticos, especialmente na prófase I, além de os cromossomos em divisão serem ao menos dez vezes mais suscetíveis que aqueles em repouso, o que aumenta a sensibilidade do organismo e a eficiência do teste (SAX; EDMONDS, 1933; MA *et al.* 1978).

Os efeitos do Cd e do Pb também foram reportados por Steinkellner *et al.* (1998), cujo estudo testou os efeitos genotóxicos nos bioensaios Trad-MCN, teste com *A. cepa* e teste com *V. faba*. O bioensaio Trad-MCN mostrou-se ao menos dez vezes mais sensível que os testes com *A. cepa* e *V. faba*, o que indica que células meióticas em plantas são mais suscetíveis aos danos no DNA do que as células meristemáticas somáticas (MA *et al.*, 1978; STEINKELLNER *et al.*, 1998).

Danos genéticos ocasionados pela exposição de Cd e Pb em modelos vegetais, também podem vir a ser potencialmente genotóxicos em modelos animais, uma vez que as plantas apresentam estágio de desenvolvimento e ciclo reprodutivo mais rápido que os animais, sendo, portanto, capazes de responder às condições ambientais em um curto período de tempo (ALVES *et al.*, 2001). O aumento da frequência de MCN por exposição ao Pb também são relatados em bioensaio com uso de modelos animais.

Cavas *et al.* (2005) verificaram o potencial genotóxico do Cd sobre eritrócitos, células epiteliais e hepatócitos de três espécies animais (*Cyprinus carpio* L., *Carassus gibelio* B. e *Corydoras paleatus* L.) expostos a $0,005$ e $0,1 \text{ mg L}^{-1}$, e reportaram aumento significativo da frequência de MCN na maior dose testada nas três espécies estudadas. As exposições de células de hamster chinês V79 a cloreto de chumbo de $0,00278 \text{ mg L}^{-1}$ a $2,78 \text{ mg L}^{-1}$ por 18 h apresentaram aumento de MCN conforme o aumento da concentração do composto (THIER *et al.*, 2003; BONACKER *et al.*, 2005). Em eritrócitos e células epiteliais de *Carassius auratus auratus* L., observou-se o aumento da frequência de MCN quando expostos às concentrações de $0,01$, $0,05$ e $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de acetato de chumbo (CAVAS, 2008).

Em humanos, Minozzo *et al.* (2004) observaram células sanguíneas de trabalhadores de reciclagem de baterias de automóveis, no município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, e reportaram um nível de

Pb significativo no sangue e aumento da frequência de MCN quando comparados ao grupo controle. Shaik e Jamil (2009) realizaram um estudo semelhante, no qual analisaram as células do sangue de trabalhadores de fábrica de baterias, no município de Hyderabad, na Índia, observando o aumento da frequência de MCN nas células. Na Polônia, verificou-se que crianças que vivem em regiões onde são extraídos e processados minérios não ferrosos, tal como Pb, há relatos de aumento na frequência de MCN (KAPKA *et al.*, 2007).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É importante que sejam considerados diferentes níveis de ensaios ecotoxicológicos para se determinar os valores limites dos elementos avaliados no presente estudo, bem como dos outros elementos mencionados nas legislações vigentes. As concentrações dos elementos testados baseados no limite máximo permitido pelas legislações nacional e estadual indicaram genotoxicidade por meio do bioensaio ativo de Trad-MCN. Pb e Cd são elementos-traço com potencial genotóxico em células vegetais e animais mesmo em baixas concentrações. O bioensaio Trad-MCN apresenta-se como uma ferramenta complementar aos métodos físico-químicos, devido principalmente a sua sensibilidade a baixas concentrações dos elementos a serem analisados.

REFERÊNCIAS

ALKORTA, I.; HERNÁNDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J. M.; AMEZAGA, I.; ALBIZU, I.; GARBISU, C. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 3, p. 71-90, 2004.

ALVES, E. S.; GIUSTI, P. M.; DOMINGOS, M.; SALDIVA, P. H. N.; GUIMARÃES, E. T.; LOBO, D. J. A. Estudo anatômico foliar do clone híbrido 4430 de *Tradescantia*: alterações decorrentes da poluição aérea urbana. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 4, p. 567-576, 2001.

ALVES, E.C.; SILVA, C. F.; COSSICH, E. S.; TAVARES, C. R. G.; SOUZA FILHO, E.E.; CARNIEL, A. Avaliação da qualidade da água da bacia do rio Pirapó – Maringá, Estado do Paraná, por meio de parâmetros físicos, químicos e microbiológicos. **Acta Scientiarum Technology**, v. 30, n. 1, p. 39-48, 2008.

ATSDR - AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for cadmium.** Atlanta, 2012. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf>>. Acesso em: 30 mai. 2017.

BONACKER, D.; STOIBER, T.; BOHM, K.J.; PROTS, I.; WANG, M.; UNGER, E.; THIER, R.; BOLT, H.M.; DEGEN, G.H. Genotoxicity of inorganic lead salts and disturbance of microtubule function. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 45, p. 346-353, 2005.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2005. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União, Brasília**, 18 mar. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 15 mai. 2017.

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, p. 465-473, 2003.

CASSANEGO, M. B. B.; COSTA, G.M.; SASAMORI, M.H.; ENDRES JÚNIOR, D.; PETRY, C.T.; DROSTE, A. The *Tradescantia pallida* var. *purpurea* active bioassay for water monitoring: evaluating and comparing methodological conditions. **Revista Ambiente & Água**, v. 9, n. 3, p. 424-433, 2014.

CAVAS, T. *In vivo* genotoxicity of mercury chloride and lead acetate: micronucleus test on acridine orange stained fish cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 352-358, 2008.

CAVAS, T.; GARANKO, N. N.; ARKHIPCHUK, V.V. Induction of micronuclei and binuclei in blood, gill and liver cells of fishes subchronically exposed to cadmium chloride and copper sulfate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 569-574, 2005.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Cádmiio e seus compostos. **Ficha de Informação Toxicológica. Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental**, 2012a. Disponível em: <<http://laboratorios.cetesb.sp.gov.br/wpcontent/uploads/sites/47/2013/11/C%C3%A1dmio.pdf>>. Acesso em: 15 mai. 2017.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Chumbo e seus compostos. Ficha de Informação Toxicológica. Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental**, 2012b. Disponível em: <<http://laboratorios.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/47/2013/11/Chumbo-1.pdf>>. Acesso em: 15 mai. 2017.

COSTA, G. M.; PETRY, C. T.; DROSTE, A. Active versus passive biomonitoring of air quality: genetic damage and bioaccumulation of trace elements in flower buds of *Tradescantia pallida* var. *purpurea*. **Water, Air, & Soil Pollution**, p. 1-12, 2016.

COSTA, G. M.; CASSANEGO, M. B. B.; PETRY, C. T.; BENVENUTI, T.; KIELING-RUBIO, M. A.; RODRIGUES, M. A. S.; DROSTE, A. Monitoramento químico e do potencial genotóxico para o diagnóstico da qualidade de corpos hídricos. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, n. 32, 2014.

IARC. Inorganic and organic lead compounds. **Lyon**, v. 87, 2006. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/iarc/vol87/volume87.pdf>>. Acesso em: 17 mai. 2017.

IPCS. **Inorganic lead**. Geneva, 1995. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc165.htm>>. Acesso em: 17 mai. 2017.

KAPKA, L.; BAUMGARTNER, A.; SIWIŃSKA, E.; KNUDSEN, L.E.; ANDERSON, D.; MIELZYŃSKA, D. Environmental lead exposures increases micronuclei in children. **Mutagenesis**, v. 22, p. 201-207, 2007.

KARR, J.; CHU, E W. **Restoring life in running waters**: better biological monitoring. Washington: Inland Press, 1999. 220 p.

KIELING-RUBIO, M. A.; BENVENUTI, T.; COSTA, G. M.; PETRY, C. T.; RODRIGUES, M. A. S.; SCHMITT, J. L.; DROSTE, A. Integrated environmental assessment of streams in the Sinos River basin in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 73, n. 2, supl., p. 105-113, 2015.

MA, T. H.; SPARROW, A. H.; SCHAIRER, L. A.; NAUMAN, A. F. Effect of 1,2-dibromoethane (DBE) on meiotic chromosomes of pollen mother cells of *Tradescantia* to X-rays. **Mutation Research**, v. 58, p. 251-258, 1978.

MERLO, C.; ABRIL, A.; AMÉ, M. V.; ARGÜELLO, G. A.; CARRERAS, H. A.; CHIAPPERO, M. S.; HUED, A. C.; WANNAZ, E.; GALANTI, L. N.; MONFERRÁN, M. V.; GONZÁLEZ, C. M.; SOLÍS, V. M. Integral assessment of pollution in the Suquia River (Córdoba, Argentina) as a contribution to lotic ecosystem restoration programs. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 5034-5045, 2011.

MIELLI, A. C.; MATTA, M. E.; NERSESYAN, A.; SLADIVA, P. H.; UMBUZEIRO, G. A. Evaluation of the genotoxicity of treated urban sludge in the *Tradescantia* micronucleus assay. **Mutation Research**, v. 672, p. 51-54, 2009.

MINOZZO, R.; DEIMLING, L.; GIGANTE, L. P.; SANTOS-MELLO, R. Micronuclei in peripheral blood lymphocytes of workers exposed to lead. **Mutation Research**, v. 565, p. 53-60, 2004.

MUKHERJI, S.; MAITRA, P. Toxic effects of lead on growth and metabolism of germinating rice (*Oryza sativa* L.) seeds and on mitosis of onion (*Allium cepa* L.) root tip cells. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.14, p. 519-521, 1976.

NORDIC COUNCIL OF MINISTERS. **Cadmium Review**. 2003. Disponível em: <http://www.who.int/ifcs/documents/forums/forum5/nmr_cadmium.pdf>. Acesso em: 15 mai. 2017.

OCHOA, M.; LAURA, L. M.; CECILIA, S. P.; JORGE, P. B. Effect of lead on onion (*Allium cepa* L.) root growth. **Agricultural Technologies**, Chile, v. 52, p. 312-319, 1992.

OLIVEIRA, J. P. W.; SANTOS, R. N.; PIBERNAT, C. C.; BOEIRA, J. M. Genotoxicity and physical chemistry analysis of waters from Sinos River (RS) using *Allium cepa* and *Eichhornia crassipes* as bioindicators. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 1, n. 1, p. 15-22, 2012.

PANIGO, E.; RAMOS, J.; LUCERO, L. E.; VEGETTI, A. The inflorescence in Commelinaceae. **Flora**, v. 206, p. 294-299, 2011.

PATRA, M.; BHOWMIK, N.; BANDOPADHYA, B.; SHARMA, A. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 52, p. 199-223, 2004.

PEREIRA, B. B.; CAMPOS-JÚNIOR, E. O.; MORELLI, S. *In situ* biomonitoring of the genotoxic effects of vehicular pollution in Uberlândia, Brazil, using a *Tradescantia* micronucleus assay. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 87, p. 17-22, 2013.

PETRY, C. T.; COSTA, G. M.; BENVENUTI, T.; RODRIGUES, M. A. S.; DROSTE, A. Avaliação integrada da qualidade química e da genotoxicidade da água do arroio Luiz Rau, no trecho inferior da Bacia do Rio dos Sinos, no Sul do Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 11, n. 4, p. 867- 877, 2016.

PINHO, S.; LADEIRO, B. Phytotoxicity by Lead as Heavy Focus on Oxidative Stress. **Journal of Botany**, p. 1-10, 2012.

PIZZAIA, D. **Genotoxicidade do cádmio em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.)**. 2013. 97 p. Dissertação (Doutor em Ciências) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, São Paulo, 2013.

RIO GRANDE DO SUL. Conselho Estadual do Meio Ambiente – CONSEMA. Resolução nº 355 de 13 de julho de 2017. Dispõe sobre os critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos para as fontes geradoras que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. **Diário Oficial do Estado, Rio Grande do Sul**, 19 jul. Disponível em: <https://www.univates.br/unianalises/media/imagens/Anexo_IV_61957_3.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2017.

RODRIGUES, A. S. L.; CASTRO, P. T. A. Protocolos de avaliação rápida: instrumentos complementares no monitoramento dos recursos hídricos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 13, n. 1, p. 161-170, 2008.

SAX, K.; EDMONDS, H. W. Development of the male gametophyte in *Tradescantia*. **Botanical Gazette**, v. 95, p. 156-163, 1933.

SENGAR, R. S.; GAUTAM, M.; SENGAR, R. S.; GARG, S. K.; SENGAR, K.; CHAUDHARY, R. Lead Stress Effects on Physiobiocemical Activities of Higher Plants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 196, p. 73-93, 2008.

SETH, C. S. *et al.* Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of *Allium cepa*: cytogenetic and Comet assay approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, p. 711-716, 2008.

SHAIK, A. P.; JAMIL, K. Individual susceptibility and genotoxicity in workers exposed to hazardous materials like lead. **Journal of Hazardous Materials**, v. 168, p. 918-924, 2009.

SILVA, S.; SILVA, P.; OLIVEIRA, H.; GAIVÃO, I.; MATOS, M.; PINTO-CARNIDE, O.; SANTOS, C. Pb low doses induced genotoxicity in *Lactuca sativa* plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 112, p. 109-116, 2017.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012.

STEINKELLNER, H.; MUN-SIK, K.; HELMA, C.; ECKER, S.; MA, T.H.; HORAK, O.; KUNDI, M.; KNASMULLER, S. Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 31, p. 183-191, 1998.

THEWES, M. R.; ENDRES JUNIOR, D.; DROSTE, A. Genotoxicity biomonitoring of sewage in two municipal wastewater treatment plants using the *Tradescantia pallida* var. *purpurea* bioassay. **Genetics and Molecular Biology**, v. 34, n. 4, p. 689-693, 2011.

THIER, R.; BONACKER, D.; STOIBER, T.; BOHM, K. J.; WANG, M.; UNGER, E. *et al.* Interaction of metal salts with cytoskeletal motor protein systems. **Toxicology Letters**, p. 75-81, 2003.

TUNDISI, J G. Recursos hídricos no futuro: problemas e soluções. **Estudos avançados**, v. 22, p. 7-13, 2008.

UMBUZEIRO, G. A.; COIMBRÃO, C. A.; KUMMROW, F.; LOBO, D. J. A.; SALDIVA, P. H. N. Mutagenic activity assessment of Cristais River, São Paulo, Brazil, using the blue rayon/*Salmonella* microsome and the *Tradescantia pallida* micronuclei assays. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 2, p. 163-171, 2007.

UNEP. 2010. **Final review of scientific information on cadmium**. 2010. Disponível em: <http://drustage.unep.org/chemicalsandwaste/sites/unep.org.chemicalsandwaste/files/publications/GAELP_PUB_UNEP_GC26_INF_11_Add_2_Final_UNEP_Cadmium_review_and_appendix_Dec_2010.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2017.

UNYAYAR, S.; CELIK, A.; CEKIÇ, F. O.; GÖZEL, A. Cadmium-induced genotoxicity, cytotoxicity and lipid peroxidation in *Allium sativum* and *Vicia faba*. **Mutagenesis**, v. 21, n. 1, p. 77-81, 2006.

WANI, S. H. Phytoremediation: Curing soil problems with crops. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, p. 3991-4002, 2012.

WHO. World Health Organization. **Guidelines for drinking-water quality**, Geneva, v. 4, 2011. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44584/1/9789241548151_eng.pdf>. Acesso em: 23 ago. 2017.

ZIMMERMANN, P. R. G.; DALZUCHIO, 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.