

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CITOGENOTÓXICOS DE SOLO CONTAMINADO COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ATRAZINA

Maria Nilza Corrêa Martins¹, Augusto César Santos Oliveira¹, Thalita Sousa Silva¹, Tatiana da Silva Souza¹.

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, S/N, Guararema, 29500-000, Alegre-ES, Brasil, nilzamartins02@gmail.com, augusto.acso@gmail.com, talitassilva72@hotmail.com, tatianas.souza@hotmail.com

Resumo

A atrazina é um herbicida amplamente utilizado na agricultura, que causa danos oxidativos e genotóxicos em células vegetais. O objetivo do estudo foi identificar o efeito citogenotóxico de solo contaminado com diferentes concentrações de atrazina, utilizando o bioensaio com *Allium cepa*. Foram testadas as concentrações de 2, 4, 8, 16 e 32 mg/kg, de modo a simular o uso indiscriminado do herbicida. Os parâmetros analisados foram o índice mitótico e de anormalidades cromossômicas. Os dados foram comparados mediante ANOVA com posterior teste de Dunnet ($p<0,05$) ou por meio do teste de Kruskal-Wallis com posterior teste de Dunn ($p<0,05$) quando os pressupostos paramétricos não foram alcançados. Os resultados mostraram que a atrazina a 8 mg/kg reduziu o índice mitótico enquanto 2, 4, 8 e 16 mg/kg aumentaram a frequência de células aberrantes. Concluímos que o uso contínuo e desregulado da atrazina pode ter consequências adversas para organismos não-alvo.

Palavras-chave: *Allium cepa*. agrotóxico. mutagênese

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas (sub-área Biologia Geral)

Introdução

Os agrotóxicos são produtos sintéticos empregados para controlar doenças provocadas por vetores e regular o crescimento vegetal, possuindo ampla utilização tanto em ambientes rurais quanto urbanos (INCA, 2021), sendo a atrazina (2-cloro4-etylamino-6-isopropilamino-s-triazina) um dos agrotóxicos mais utilizados na agricultura (Rashid *et al.*, 2022). Esse herbicida tem ação pré e pós emergente e se destaca por sua eficácia no controle de plantas daninhas em várias culturas, como milho, cana-de-açúcar e sorgo (Piratoba, 2019).

Como efeito adverso, a mobilidade da atrazina nos solos é maior do que a de vários outros herbicidas (Fouad *et al.*, 2023), possuindo um alto risco de contaminação da água devido à sua dessorção gradual (Urseler *et al.*, 2022). Ainda, a atrazina pode causar danos oxidativos e genotóxicos em plantas não-alvo, afetando componentes essenciais como proteínas e ácidos nucleicos, além de suprimir o crescimento celular (Rashid *et al.*, 2022). No entanto, seus efeitos adversos vão além dos alvos originais, comprometendo o crescimento, a fotossíntese e processos enzimáticos em plantas superiores, além de causar fitointoxicação em culturas subsequentes (Novais *et al.*, 2019; Srivastava; Mishra, 2009).

A planta-modelo *Allium cepa* (cebola) tem sido amplamente utilizada para avaliar a citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de contaminantes ambientais, mesmo quando estes estão em baixas concentrações (Lustosa *et al.*, 2022; Rank; Nielsen, 1994; Camilo-Cotrim *et al.*, 2022). Diante deste contexto, o presente trabalho contribuiu para identificar os efeitos citogenotóxicos de diferentes concentrações de atrazina no solo, por meio do bioensaio com *A. cepa*, analisando o índice mitótico e de anormalidades mitóticas e cromossômicas.

Metodologia

O herbicida comercial Herbitrin 500 BR, ADAMA, contendo 500 g/L (50,0% m/v) de atrazina (6-chloro-N2-ethyl-N4-isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) e 598,80 g/L (59,8% m/v) de outros ingredientes, foi utilizado.

Foram coletadas amostras de solo Latossolo Vermelho-Amarelo do horizonte A, em profundidade de 0-20 cm, no Sítio Jaqueira Agroecologia, localizado no município de Alegre – ES (Latitude 20°45'49" S e Longitude 41°31'57" O). O solo coletado foi homogeneizado, peneirado em malha de 2 mm e armazenado em temperatura ambiente. As seguintes propriedades físicas e químicas do solo foram determinadas: pH (relação sol-água 1:2.5; P (extrator Mehlich-1 e determinação colorimétrica); K e Na (extrator Mehlich-1 e determinação por fotometria de chama); Ca e Mg (extrator KCl 1 mol/L e determinação por espectrometria de absorção atômica; Al (extrator KCl 1 mol/L e determinação por titulometria; H + Al (extrator acetado de cálcio 0.5 mol L⁻¹ pH 7 e determinação por titulometria), soma de bases trocáveis, capacidade de troca catiônica efetiva, capacidade de troca catiônica, índice de saturação de bases; índice de saturação por alumínio, Fe, Cu, Zn e Mn (extrator Mehlich-1 e determinação por espectrometria de absorção atômica), matéria orgânica (oxidação de carbono por via úmida com dicromato de potássio e meio ácido H₂O₄), Fósforo remanescente (solução de CaCl₂ 0,01 mol/L contendo 60 mg/L de P) e granulometria (agitação a 50 rpm por 16 horas com agitador tipo Wagner, dispersante químico NaOH 0.1 mol/L e determinação das frações silte e argila por pipetagem) (Teixeira et al., 2017).

As concentrações testadas foram 2, 4, 8, 16 e 32 mg/kg. Para determinar o volume de atrazina a ser aplicado no solo, foi calculada a capacidade de retenção de água (CRA), seguindo Niva e Brown (2019). Brevemente, 5 g de solo foram saturados em água, drenados e secos a 105 °C por 24 horas. Posteriormente, a seguinte fórmula foi aplicada:

$$CRA (\%) = \frac{\text{peso úmido} - \text{peso seco}}{\text{peso seco}} \times 100$$

Vinte sementes de *A. cepa*, não tratadas com agrotóxicos, adquiridas da empresa ISLA® foram expostas a 40 g de solo contaminado. Radículas, com cerca de 15 mm de comprimento foram coletadas e fixadas em etanol e ácido acético (3:1, v/v), sendo posteriormente armazenadas em refrigerador. Após lavagem em água destilada para remoção do excesso de fixador, as radículas foram submetidas à hidrólise em HCl 5N por 20 minutos à temperatura ambiente, seguida por nova lavagem em água destilada. Em seguida, a região meristemática das raízes foi seccionada, corada com orceína acética a 2% por 10 minutos, coberta com lamínula e macerada.

Foram analisadas 10 lâminas em cada tratamento, totalizando a análise de 5000 células por tratamento (500 células/lâmina), com observação sob microscópio óptico a 400x de aumento. Os parâmetros investigados incluíram o índice mitótico e a indução de células aberrantes (Souza et al., 2021; Miranda et al., 2023), de acordo com as fórmulas:

$$IM (\%) = \frac{\text{número de células em divisão}}{\text{total de células observadas}} \times 100$$

$$CA (\%) = \frac{\text{número de células com anormalidades mitóticas e cromossômicas}}{\text{total de células observadas}} \times 100$$

Os dados foram submetidos à análise de variância e as comparações entre as amostras e controle, foram realizadas por meio do teste de Dunnett ($p < 0,05$). Quando os pressupostos para a análise paramétrica não foram alcançados, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) foi aplicado.

Resultados

Os resultados obtidos por meio da análise do solo estão demonstrados na Tabela 1. O solo apresentou classificação textural média, com uma combinação equilibrada de areia, silte e argila, proporcionando uma boa capacidade de retenção de água e nutrientes, além de uma drenagem adequada. A caracterização química indicou que o solo é levemente ácido, condição considerada ideal para a maioria das culturas. No entanto, os níveis de Fósforo (P) e Boro (B) foram classificados como baixos. Apesar dessas deficiências, o solo apresentou uma moderada Capacidade de Troca Catiônica (CTC), sugerindo uma boa capacidade de retenção de nutrientes. A análise de Saturação de Bases (V) confirmou que mais da metade dos sítios de troca catiônica estão ocupados por nutrientes essenciais, o que é favorável para a fertilidade do solo.

A matéria orgânica (MO) apresentou valor de 26,89 g/kg, que é benéfico para a capacidade de adsorção de substâncias químicas. De acordo com Dick *et al.* (2010), o principal sorvente da atrazina em solos e em água é a matéria orgânica e, em geral, solos com maior teor de matéria orgânica apresentam maior sorção de atrazina.

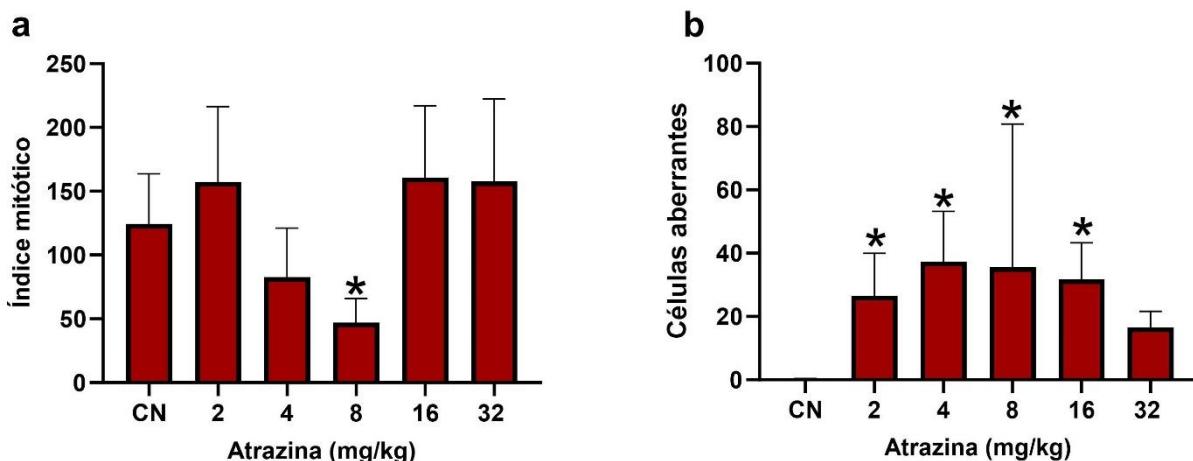
Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do solo agrícola.

	Unidade	Resultado
Areia Grossa	%	52,53
Areia Fina	%	7,48
Silte	%	8,25
Argila	%	31,74
Classificação Textural	-	Textura Média
pH (H₂O)	-	5,46
P	mg/dm ³	3,40
Na	mg/dm ³	1,50
K	mg/dm ³	79,20
Ca	cmolc/dm ³	2,91
Mg	cmolc/dm ³	1,09
Al	cmolc/dm ³	0,12
H + Al	cmolc/dm ³	3,58
Soma de bases	cmolc/dm ³	4,21
Capacidade de troca catiônica efetiva	cmolc/dm ³	4,33
CTC a pH 7,0	cmolc/dm ³	7,79
Índice de saturação de bases	%	54,05
Índice de saturação por alumínio	%	2,77
Fe	mg/dm ³	106,20
Cu	mg/dm ³	2,40
Zn	mg/dm ³	7,70
Mn	mg/dm ³	67,10
B	mg/dm ³	0,27
Matéria Orgânica	g/kg	26,89
Fósforo remanescente	mg/L	52,20

Fonte: Laboratório de Análise de Solo- UFES.

O resultado do índice mitótico (IM) é apresentado na Figura 1a. A concentração 8 mg/kg reduziu a proporção de células em divisão com relação ao controle negativo, o que demonstra o efeito citotóxico do herbicida nas células meristemáticas de *A. cepa*. Já a frequência de células aberrantes aumentou após exposição a 2, 4, 8 e 16 mg/Kg do herbicida atrazina (Figura 1b). A concentração de 32 mg/kg foi a que apresentou menor índice de células aberrantes, não apresentando resposta significativa em relação ao controle.

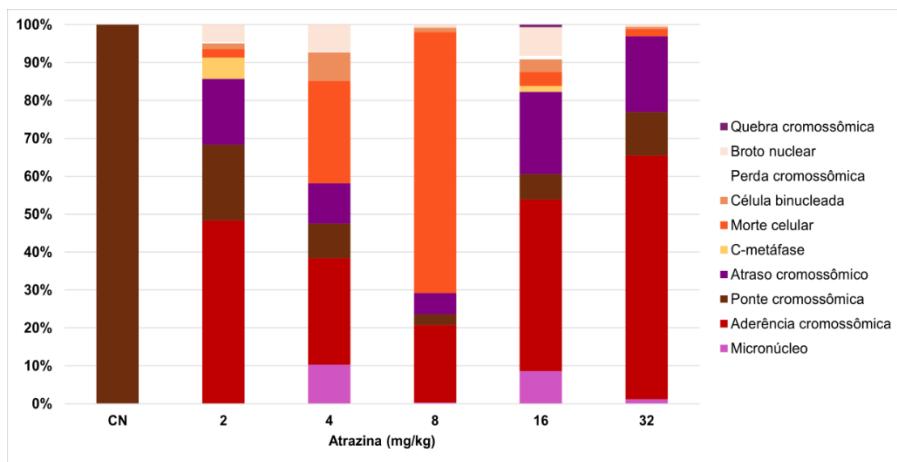
Figura 1. a) Índice mitótico de células do meristema radicular de *A. cepa*. b) Frequência de células aberrantes após exposição a solo contaminado em diferentes concentrações de atrazina. *Denota diferença estatística em relação ao controle (CN = 0 mg/kg), $p < 0,05$.



Fonte: Elaborado pelos autores (2024)

O solo contaminado com atrazina induziu um aumento de aderência cromossômica em todas as concentrações avaliadas (Figura 2). Notavelmente, a concentração de 8 mg/kg destacou-se por apresentar a maior taxa de morte celular (Figura 2), acompanhada por uma redução significativa no índice mitótico. Esses resultados reforçam o efeito citotóxico da atrazina sobre as células meristemáticas de *A. cepa*.

Figura 2. Frequência (%) de alterações cromossômicas específicas observadas em células de *A. cepa* expostas a solo contaminado em diferentes concentrações de atrazina.



Fonte: Elaborado pelos autores (2024)

Discussão

De acordo com os dados observados na análise do solo utilizado no experimento, a mobilidade da atrazina está relacionada ao conteúdo de matéria orgânica do solo o qual, por sua vez, também está envolvido na metabolização deste herbicida (Prata, 2002). A disponibilidade da atrazina e de seus metabólitos para os corpos hídricos, plantas e micro-organismos está diretamente relacionada à sua

sorção. Esse fenômeno controla a atividade das moléculas de pesticidas em solução sendo determinante nos processos de degradação, persistência, transporte e lixiviação e eficiência agronômica (Dick *et al.*, 2010). Porém, com referido trabalho foi possível observar que é necessário ter outros mecanismos, além das propriedades físico-químicas do solo, para impedir a passagem desse herbicida para o ambiente e organismos não-alvo.

O resultado do índice mitótico mostrou que a concentração intermediária de 8 mg/kg causou uma redução significativa na divisão celular em comparação ao controle negativo, indicando toxicidade severa. Segundo Silva *et al.* (2020), essa redução é um indicador confiável de citotoxicidade, pois a diminuição do índice mitótico reflete uma inibição da divisão celular, o que pode levar a danos graves aos tecidos. Ventura-Camargo e Marin-Morales (2016) corroboram esses resultados, relatando redução progressiva nos índices mitóticos e germinativos em células de *A. cepa* expostas à atrazina (em solução), além de alterações significativas no material genético das plantas, confirmando seu potencial xenobiótico.

Os resultados obtidos na frequência de células aberrantes reforçam a ideia de que a atrazina tem potencial genotóxico, capaz de induzir uma variedade de alterações celulares e cromossômicas, como aderência cromossônica que foi observada em todas as concentrações testadas. Esse herbicida interfere na migração dos cromossomos e paralisa a divisão celular, resultando em condensação contínua e aderências cromossômicas (Ventura, 2004). Essas aderências são causadas pela ligação de substâncias tóxicas ao DNA ou pela formação de ligações inter e intracromatídicas, como confirmado no estudo (Vasconcelos, 2020).

Conclusão

Os resultados deste estudo demonstram que a exposição ao solo contaminado com atrazina induz significativos efeitos citotóxicos e genotóxicos em *A. cepa*, evidenciados pela redução do índice mitótico e aumento na frequência de aberrações cromossômicas. Esses achados ressaltam os potenciais riscos do uso contínuo e desregulado desse herbicida, reforçando a necessidade de práticas agrícolas mais seguras para mitigar impactos adversos nos ecossistemas e na saúde humana.

Referências

- CAMILO-COTRIM, C. F.; BAILÃO, E. F. L. C.; ONDEI, L. S.; CARNEIRO, F. M.; ALMEIDA, L. M. What can the Allium cepa test say about pesticide safety? A review. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 29, n. 32, p. 48088–48104, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20695-z>.
- DICK, D. P.; MARTINAZZO, R.; KNICKER, H.; ALMEIDA, P. S. G. Matéria orgânica em quatro tipos de solos brasileiros: composição química e sorção de atrazina. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 14-19, 2010.
- FOUAD, M. R.; SHAMSAN, A. Q. S.; ABDEL-RAHEEM, S. A. A. Toxicity of atrazine and metribuzin herbicides on earthworms (*Aporrectodea caliginosa*) by filter paper contact and soil mixing techniques. **Current Chemistry Letters**, v. 12, p. 185–192, 2023.
- INCA- Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Ambiente, Trabalho e câncer: **aspectos epidemiológicos, toxicológicos e regulatórios**. Rio de Janeiro: INCA, 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros>. Acesso em: 05 fev. 2024.
- LUSTOSA, E. A.; DE OLIVEIRA, T. L.; DE SOUSA, M. A. N. Avaliação do potencial genotóxico de agrotóxicos utilizando Allium cepa como organismo modelo. In: **Anais do VII CONAPESC**. Campina Grande: Realize Editora, 2022.
- MIRANDA, L. A.; SOUZA, V. V.; CAMPOS, R. A.; CAMPOS, J. M. S.; SOUZA, T. S. Phytotoxicity and cytogenotoxicity of pesticide mixtures: analysis of the effects of environmentally relevant

concentrations on the aquatic environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, 2023, p. 112117–112131. DOI: 10.1007/s11356-023-30100-y.

NIVA, C.C; BROWN, G.G. Ecotoxicologia Terrestre Métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas. Brasília, DF: **Embrapa**, 2019.

NOVAIS, J.; MENDES, K. F.; INOUE, M. H.; MACIEL, C. D.; HELVIG, E. O.; STANIESKI, C. M.. Use of sunflower and soybean as bioindicators to detect atrazine residues in soils. **Planta Daninha**, v. 37, 2019. DOI: 10.1590/S0100-83582019370100153.

PIRATOBA, A. R.. **Comportamento do atrazine em horizontes de um Latossolo Vermelho-Amarelo**. 2019. Tese (Doutorado Agroquímica) Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.2019.

RANK, J.; NIELSEN, M.H. Evaluation of the Allium anaphase-telo phase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. **Mutat Res/Environ Mutagen Relat Sub**, v. 754, p. 17–24, 1994. DOI: 10.1016/0165-1161(94)90004-3.

SILVA, T. S; *et al.*. Avaliação tóxica e citogenotóxica de bioestimulantes vegetais em Allium cepa L. e Artemia salina Leach. **Stellata Editora**, 2020.

SOUZA, T. S. 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. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.145193.

SRIVASTAVA, K., MISHRA, K. K.. Cytogenetic effects of commercially formulated atrazine on the somatic cells of Allium cepa and Vicia faba. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 93, 8–12. 2009. DOI: 10.1016/j.pestbp.2008.08.001.

URSELER, N.; BACHETTI, R.; MORGANTE, V.; AGOSTINI, E.; MORGANTE, C. Atrazine behavior in an agricultural soil: adsorption–desorption, leaching, and bioaugmentation with *Arthrobacter* sp. strain AAC22. **Journal of Soils and Sediments**, v. 22, p. 93–108, 2022.

VASCONCELOS, Loren Cristina. **Efeito alelopático de *Myrcia vittoriana* Kiaersk. (MYRTACEAE)**. 2020. 72 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES, 2020.

VENTURA, B. de C. **Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do herbicida atrazine, utilizando Allium cepa e Oreochromis niloticus como sistemas-teste**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Área de Concentração: Biologia Celular e Molecular) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, SP, 2004.

VENTURA-CAMARGO, B. de C.; MARIN-MORALES, M. A. Micronuclei and chromosome aberrations derived from the action of Atrazine herbicide in Allium cepa meristematic cells. **SDRP Journal of Earth Sciences & Environmental Studies**, 2016.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.