

## **SISTEMA TESTE *Allium cepa* E WETLANDS CONSTRUÍDOS: UMA ABORDAGEM INTEGRADA PARA AVALIAÇÃO E REMEDIAÇÃO DE ÁGUA CONTAMINADA COM METFORMINA.**

Felipe Hideki Ossada (PIBIC), Andressa Domingos Polli, Eliane Papa Ambrosio Albuquerque (Co-orientadora), Luciana Andreia Borin de Carvalho (Orientadora). E-mail: labcarvalho@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Maringá, PR

**Área e subárea do conhecimento:** Ciências Biológicas/Genética

**Palavras-chave:** citotoxicidade; genotoxicidade; poluição.

### **RESUMO**

A presença crescente de contaminantes emergentes como a metformina em ambientes naturais tem levantado preocupações ecológicas. Este estudo investigou a toxicidade da metformina utilizando o teste *Allium cepa* e avaliou o potencial de sistemas de wetlands construídos de fluxo vertical (WCFV) para tratar águas contaminadas com metformina. O índice mitótico não mostrou diferenças significativas ou alterações cromossômicas. No entanto, houve uma redução no comprimento das raízes, sugerindo que a metformina pode afetar o crescimento radicular por mecanismos complexos. Em WCFVs, a combinação de *Typha domingensis* com bactérias demonstrou potencial para biorremediação.

### **INTRODUÇÃO**

A intensificação das atividades humanas tem levado a um aumento significativo na poluição ambiental, com os ecossistemas aquáticos sendo particularmente afetados. A presença de resíduos farmacêuticos em corpos d'água, como a metformina, tem se tornado uma preocupação crescente. Esses micropoluentes persistem no ambiente devido a falta de eliminação pelos métodos convencionais de tratamento de água. A exposição contínua a esses contaminantes pode causar efeitos adversos, como resistência antimicrobiana, disfunção hormonal e vários outros danos à fauna e flora aquática (Ambrosio-Albuquerque, *et al.*, 2021). Apesar da crescente conscientização sobre esses riscos, atualmente no Brasil, não há legislação específica regulando a presença de contaminantes farmacêuticos em matrizes ambientais. Esse contexto destaca a necessidade urgente de aprimorar os processos de tratamento de águas residuais e desenvolver regulamentações eficazes para o manejo adequado desses contaminantes, protegendo assim a saúde dos ecossistemas aquáticos e a biodiversidade.

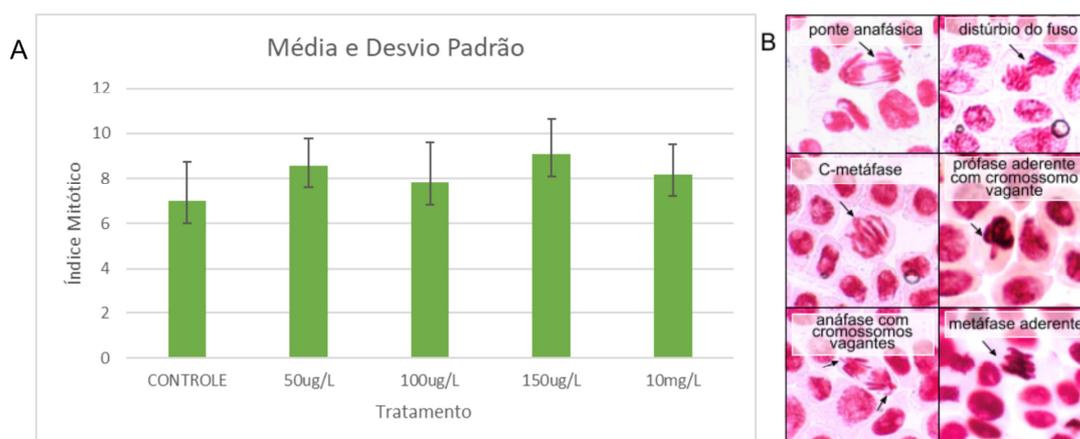
### **MATERIAIS E MÉTODOS**

### Ensaio de toxicidade e Wetlands construídos de fluxo vertical (WCFV)

O bioensaio *Allium cepa* foi utilizado para avaliar a toxicidade da metformina em raízes de cebola, nas concentrações de 50 µg/L, 100 µg/L, 150 µg/L e 10 mg/L. Dez raízes de cada bulbo foram medidas, fixadas, coradas e analisadas microscopicamente. O índice mitótico (IM) foi calculado a partir da contagem de 3.000 células por amostra. Os dados de crescimento radicular e IM foram analisados estatisticamente por ANOVA simples e pós-teste de Tukey, com significância de 5%, usando o software Jamovi. Para avaliar a eficácia dos sistemas WCFV na remediação da metformina, foram construídos quatro sistemas em bombonas de 45 litros, com camadas de brita e areia. Os sistemas incluíram um controle sem organismos (Sistema 1), um consórcio de plantas (Sistema 2), apenas *T. domingensis* (Sistema 3), e *T. domingensis* com a bactéria endofítica PV108 (Sistema 4). Os sistemas foram alimentados com soluções de metformina (50, 100 e 150 µg/L) por 7 dias. A área foliar de *T. domingensis* foi medida para comparação.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

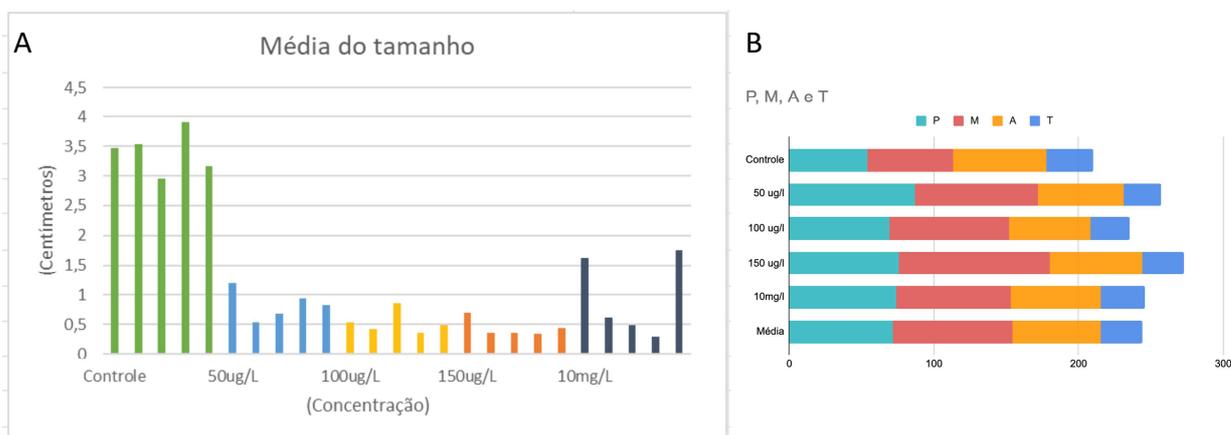
As médias do índice mitótico em cebolas expostas a diferentes concentrações de metformina foram semelhantes, com valores próximos a 7,5. Houve um leve aumento no índice mitótico nas raízes tratadas com metformina, mas sem significância (Fig. 1A). Alterações cromossômicas como pontes, quebras e fragmentos foram raras, e micronúcleos não foram encontrados. Devido à baixa incidência, apenas a identificação qualitativa foi realizada (Fig. 1B). A falta de diferenças significativas no índice mitótico e a ausência de alterações cromossômicas expressivas sugerem que a metformina, nas concentrações testadas, não apresenta efeito genotóxico relevante.



**Figura 1** - A- Média e desvio padrão do índice mitótico em cebolas expostas a diferentes concentrações de metformina. B: Alterações mitóticas observadas nos bulbos tratados.

Apesar da ausência de diferenças significativas no índice mitótico, observou-se uma redução perceptível no comprimento das raízes expostas a diferentes concentrações

de metformina (Fig. 2A). Essa redução sugere que a metformina pode impactar o crescimento radicular por mecanismos além da divisão celular, como o alongamento celular. Observou-se também um leve aumento no número de células em prófase e metáfase nas raízes expostas à metformina (Fig. 2B), indicando uma possível interferência da metformina na progressão do ciclo celular. Esse efeito pode ser uma resposta ao estresse induzido pela metformina (Bao, *et al.*, 2024), alterando o metabolismo energético e forçando as células a passarem mais tempo nas fases do ciclo celular para garantir condições adequadas para a divisão. A metformina é conhecida por reduzir os níveis de ATP e ativar a AMPK, o que pode desacelerar o ciclo celular, especialmente na transição entre as fases G2 e M (Rocha, *et al.*, 2011). O encurtamento das raízes pode sugerir problemas nos processos fisiológicos fundamentais, como o alongamento e a divisão celular. Embora a metformina não tenha mostrado toxicidade celular direta, seus efeitos subletais podem impactar o crescimento e desenvolvimento das plantas, necessitando de estudos mais aprofundados para entender os mecanismos subjacentes.



**Figura 2** - A- Média do tamanho das raízes dos bulbos tratados em diferentes concentrações de metformina. B- Média das fases mitóticas encontradas em cada concentração.

A metformina pode impactar o crescimento das plantas, como já relatado por Eggen *et al.* (2011). No experimento com *T. domingensis*, observou-se variação significativa na área foliar média entre os sistemas (Tab. 1). O Sistema 4, que combinou *T. domingensis* com a bactéria endofítica PV108, apresentou o maior crescimento, indicando uma sinergia benéfica. Em contraste, o Sistema 2, com um consórcio de plantas, mostrou menor crescimento, possivelmente devido à competição intraespecífica. O Sistema 3, com *T. domingensis* isolada, apresentou crescimento intermediário, sem influências externas. A bactéria endofítica PV108, conhecida por sua tolerância e capacidade de redução de metformina em meio aquoso, conforme Pilloneto (2022), reforça seu potencial para biorremediação quando associada a *T. domingensis*. Esses resultados destacam a eficácia do consórcio no Sistema 4 e sugerem que a combinação de plantas e microrganismos específicos pode otimizar a remediação de água contaminada, apresentando uma estratégia promissora para o tratamento de águas residuais.

**Tabela 1** - Área foliar média de *T. domingensis* nos diferentes WCFV testados

	Área foliar média de <i>T. domingensis</i> em cm <sup>2</sup>
Sistema 2 (consórcio de três espécies)	7,23
Sistema 3 ( <i>T. domingensis</i> isolada)	19,21
Sistema 4 ( <i>T. domingensis</i> + PV108)	101,75

## CONCLUSÕES

A metformina não apresentou toxicidade significativa nas raízes de cebola, mas reduziu seu crescimento, possivelmente por mecanismos complexos. A combinação de *T. domingensis* com a bactéria endofítica PV108 em sistemas WCFV mostrou potencial para remediação de águas contaminadas. Estudos futuros são essenciais para entender os mecanismos envolvidos e aprimorar a biorremediação.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária, que financiou o projeto por meio de bolsas. À UEM (Universidade Estadual de Maringá) pelo apoio na execução da pesquisa.

## REFERÊNCIAS

AMBROSIO-ALBUQUERQUE, Eliane Papa *et al.* Metformin environmental exposure: A systematic review. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 83, p.103588, 2021.

BAO, Yazhou *et al.* Metformin blocks BIK1-mediated CPK28 phosphorylation and enhances plant immunity. **Journal of Advanced Research**, 2024.

EGGEN, Trine *et al.* Uptake and translocation of metformin, ciprofloxacin and narasin in forage-and crop plants. **Chemosphere**, v.8, n. 1, p. 26-33, 2011.

PILONETTO, A. **Biorremediação da metformina por bactérias endofíticas**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso ( Bacharelado em Bioquímica) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 2022.

ROCHA, Guilherme Z. *et al.* Metformin amplifies chemotherapy-induced AMPK activation and antitumoral growth. **Clinical cancer research**, v. 17, n. 12, p. 3993-4005, 2011.