



## **Aborto polínico em *Tradescantia pallida* var. *purpurea*: uma nova metodologia para biomonitoramento da água superficial**

***Pollen abortion in *Tradescantia pallida* var. *purpurea* flower buds: a novel methodology for surface water biomonitoring***

Luciana Rodrigues Nogueira<sup>1</sup>

 <https://orcid.org/0000-0001-6450-2462>  <http://lattes.cnpq.br/1766144731238366>

Isabela Kirch Stein<sup>2</sup>

 <https://orcid.org/0000-0003-2449-3500>  <http://lattes.cnpq.br/6339059830945792>

Juliana Henrique Duarte<sup>3</sup>

 <https://orcid.org/0009-0004-6708-0591>  <http://lattes.cnpq.br/4987433037644141>

Annette Droste<sup>4</sup>

 <https://orcid.org/0000-0001-8866-1599>  <http://lattes.cnpq.br/5124461451961397>

### RESUMO

Este estudo foi desenvolvido para testar a viabilidade do bioensaio aborto polínico (AP) em botões florais de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* na avaliação de genotoxicidade da água superficial. Uma nova metodologia foi desenvolvida visando o objetivo de avaliar e comparar diferentes períodos de recuperação para o bioensaio de exposição aguda a água, e encontrar o tempo necessário para que a célula em estágio de tétrade se desenvolva e atinja o estágio de grão de pólen. Diferentes períodos de recuperação foram testados e o tempo de 28h foi suficiente para que as células passassem do estágio de tétrades para grão de pólen. As frequências médias de aborto polínico encontradas neste período foram de 5,07 para a água poluída e de 11,0 e 2,90 para os controles positivo e negativo, respectivamente. Houve relação positiva entre as respostas dos biomarcadores frente à água poluída ( $r = 0,480$ ;  $p = 0,028$ ). Os achados deste estudo mostram que o bioensaio de aborto polínico em *Tradescantia pallida* var. *purpurea* (Trad-AP) é sensível e eficiente quando comparado ao bioensaio tradicional de micronúcleos (Trad-MCN), podendo ser empregado com êxito no biomonitoramento da água superficial.

**Palavras-chave:** biomarcador; toxicidade celular; poluição hídrica; exposição aguda.

<sup>1</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense – IFSul, Campus Camaquã/RS – Brasil. E-mail: [luciana.r.nogueira@gmail.com](mailto:luciana.r.nogueira@gmail.com)

<sup>2</sup> E-mail: [isabelakstein@gmail.com](mailto:isabelakstein@gmail.com)

<sup>3</sup> E-mail: [juju.henduarte@gmail.com](mailto:juju.henduarte@gmail.com)

<sup>4</sup> E-mail: [annette@feevale.br](mailto:annette@feevale.br)



## ABSTRACT

This study aimed to test the feasibility of the pollen abortion (PA) bioassay in *Tradescantia pallida* var. *purpurea* flower buds for evaluating the genotoxicity of surface water. A new methodology was developed to assess and compare different recovery periods for the acute water exposure bioassay and determine the time required for cells at the tetrad stage to develop into pollen grains. Various recovery periods were tested, and 28 hours were sufficient for the cells to transition from the tetrad stage to the pollen grain stage. The average pollen abortion frequencies observed during this period were 5.07 for polluted water and 11.0 and 2.90 for the positive and negative controls, respectively. A positive correlation was found between biomarker responses and polluted water ( $r = 0.480$ ;  $p = 0.028$ ). The findings of this study demonstrate that the pollen abortion bioassay in *Tradescantia pallida* var. *purpurea* (Trad-PA) is sensitive and efficient compared to the traditional micronucleus bioassay (Trad-MCN) and can be successfully applied to surface water biomonitoring.

**Keywords:** biomarker; cellular toxicity; water pollution; acute exposure.

## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, as principais fontes de abastecimento de água para a população estão contaminadas com substâncias tóxicas devido a carências no tratamento de esgoto doméstico, além de resíduos de origem agrícola e industrial (Infosanbas, 2023). No entanto, os parâmetros de qualidade da água superficial deste país não consideram a genotoxicidade que um corpo hídrico pode oferecer. O biomonitoramento por meio de ensaios genéticos de curta duração em espécies vegetais tem ganhado reconhecida importância, uma vez que são organismos sensíveis à poluição ambiental e podem fornecer alerta sobre os riscos que a água pode oferecer, com resultados que se estendem à saúde humana (Mišík *et al.*, 2019; Ceglinski *et al.*, 2021; Nogueira; Cassanego; Droste, 2022).

Em ensaios genéticos com diferentes períodos de exposição aguda, Cassanego *et al.* (2014, p. 427) estabeleceram uma metodologia padronizada para biomonitoramento ativo da água utilizando ramos com inflorescências de *Tradescantia pallida* (Rose) D. R. Hung var. *purpurea* Boom (Commelinaceae) por meio do teste de micronúcleos (Trad-MCN). Esta metodologia mostrou-se eficiente para indicar o comprometimento da qualidade de recursos hídricos no Sul do Brasil (Kieling-Rubio *et al.*, 2015; Endres Júnior *et al.*, 2015; Cassanego; Droste, 2017). Desta forma, considerando que a meiose em *T. pallida* var. *purpurea* leva de 24 a 32h para ocorrer, e que o bioensaio ativo Trad-MCN é realizado neste período e identifica os micronúcleos resultantes dos danos genéticos sofridos pelas células sob exposição à água poluída, é possível que também ocorra aborto polínico nestas mesmas inflorescências. Para isso, é preciso determinar o tempo necessário para que as células em estágio de tétrades, quando são visualizados os micronúcleos, se desenvolvam e atinjam o estágio de grão de pólen, onde é visualizado o aborto polínico (AP).

O bioensaio AP é um teste rápido, facilmente aplicável e economicamente viável, que possibilita prever o potencial genotóxico de poluentes medindo os danos causados ao material genético das células afetadas, neste caso os micrósporos, estágio de desenvolvimento celular haploide que antecede o grão de pólen, podem manifestar alterações letais visíveis e que terão como consequência o comprometimento da



fertilidade nas plantas expostas (Murín, 1995; Mičieta; Murín, 1996; Mišík *et al.*, 2006). Estudos utilizando este teste já foram empregados para o biomonitoramento de solos (Uhríková; Mičieta, 1995; Mičieta e Murín, 1996; Calzoni *et al.*, 2007) e na detecção de efeitos da poluição atmosférica (Gregušková; Mičieta, 2013; Pogányova *et al.*, 2019; Campos *et al.*, 2020). Entretanto, estudos de biomonitoramento da água com AP em *Tradescantia pallida* var. *Purpurea* ainda são desconhecidos, assim, é possível que este bioensaio também possa ser aplicado na detecção da genotoxicidade da superficial. Diante disso, o presente estudo apresenta uma nova metodologia por meio da avaliação do aborto polínico em botões florais de *T. pallida* var. *purpurea* (Trad-AP), que teve sua viabilidade comparada com a reconhecida metodologia de quantificação de micronúcleos (Trad-MCN), sob exposição aguda a água superficial.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1. MATERIAL VEGETAL

As inflorescências de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* foram provenientes de uma coleção viva, cujas plantas são derivadas de propagação vegetativa e originadas de uma única população. Para cada tratamento, foram coletados 20 ramos de 10 a 15 cm de comprimento, contendo inflorescências com botões florais em estágio anterior à antese.

### 2.2. COLETAS DE ÁGUA

Os bioensaios para desenvolvimento da metodologia de Trad-AP foram realizados de junho de 2018 a maio de 2019, totalizando cinco amostragens bimensais e abrangendo todas as estações do ano. As amostras de água poluída utilizada como referência neste estudo procederam de um arroio localizado no município de Novo Hamburgo (29°40'59,1" S 51°08'07,5" O) que é um dos afluentes do Rio dos Sinos, principal curso hídrico de sua bacia hidrográfica, e um dos mais importantes rios brasileiros (Infosanbas, 2023). Este curso hídrico foi selecionado por apresentar conhecido grau poluidor, assim como genotóxico (Petry *et al.*, 2016; Rodrigues *et al.*, 2020). As amostras de água foram coletadas na superfície até 15 cm de profundidade (ANA, 2011), e transportadas até o laboratório de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1987) e o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

A metodologia Trad-AP desenvolvida foi aplicada no biomonitoramento no Rio dos Sinos. Os pontos monitorados localizam-se próximos às estações de captação de água de abastecimento público nos municípios de Taquara (29°40'38,9" S e 50°46'48,1" O) e Campo Bom (29°41'29,7" S e 51°02'11,1" O). Sete amostragens mensais foram realizadas, de julho de 2019 a fevereiro de 2020.

### 2.3. DELINEAMENTO AMOSTRAL

O desenho experimental foi montado em duas etapas: a etapa 1 consistiu no desenvolvimento da metodologia de AP em botões florais de *Tradescantia pallida* var.



*purpurea* (Trad-AP) sob exposição aguda a água, e a etapa 2 consistiu na comparação entre os bioensaios Trad-MCN desenvolvido de acordo com Cassanego *et al.* (2014, p. 427) e Trad-AP desenvolvido e será descrito a seguir.

### 2.3.1. Desenvolvimento da metodologia de Trad-AP

Os bioensaios de exposição aguda a água poluída consistem em três fases de acordo com Cassanego *et al.* (2014) e estão ilustrados na figura 1.

**Fase 1:** adaptação, no qual os ramos contendo inflorescências recém colhidos são colocados em água destilada, para minimizar qualquer impacto causado pelo corte ou manuseio e estabilizar a frequência de mutações considerada normal da planta.

**Fase 2:** exposição aguda, onde os ramos contendo inflorescências são colocados em contato com a água poluída, para que ocorram mutações que poderão causar o aborto polínico.

**Fase 3:** período de recuperação em água destilada, para que as células que sofreram a exposição, se desenvolvam, passando do estágio de díades, micrósporos e posteriormente grãos de pólen jovem onde é possível visualizar o aborto polínico (figura 1).

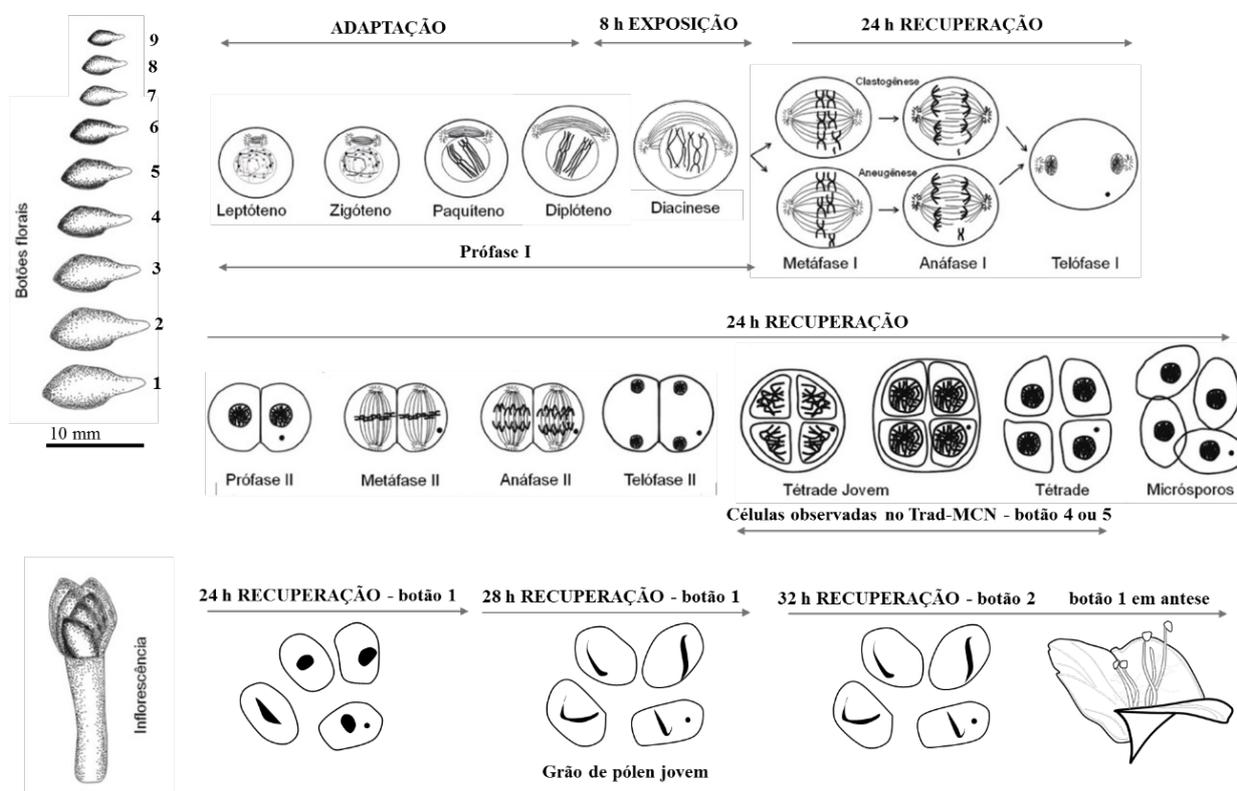
Na fase 1, os ramos de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* com inflorescências foram parcialmente imersos em recipientes com 2L de água destilada, permanecendo por 24h para adaptação. Na fase 2, os ramos foram expostos aos tratamentos (água poluída e controles), por um período de 8h. Para o controle positivo, foram utilizados 5 mg L<sup>-1</sup> de CuSO<sub>4</sub>, e, para o controle negativo, água destilada (Thewes *et al.*, 2011; Cassanego; Droste, 2017; Nogueira; Cassanego; Droste, 2022).

Na fase 3 foram testados os seguintes períodos de recuperação: 24, 28 e 32h e os bioensaios foram conduzidos em sala climatizada, com atmosfera controlada, temperatura de 26±1°C e iluminação natural. Após os distintos períodos de recuperação, os botões florais destas inflorescências foram fixados em etanol absoluto e ácido acético glacial, na proporção de 3:1 (v:v), por um período de 24h. Posteriormente, os botões foram armazenados em etanol 70% e mantidos sob refrigeração a 7 °C até sua análise. Para a preparação das lâminas, os botões florais foram dissecados e as anteras maceradas em carmim acético a 1% de acordo com Thewes *et al.* (2011, p. 690).

Para determinar quais botões florais possuem grãos de pólen nas inflorescências de *T. pallida* submetidas a cada período de recuperação testado, as anteras provindas de botões de diferentes tamanhos foram maceradas e as células reprodutivas foram avaliadas em microscópio óptico (Olympus CX4), em aumento de 200 vezes. O estágio de divisão celular foi registrado, assim como outros aspectos, tais qual a presença ou ausência de núcleo com formato alongado, pois este é um indicativo de que a célula exposta ao tratamento já passou do estágio de micrósporo para grão de pólen (Halbritter *et al.*, 2018). A presença de células com núcleo arredondado é uma característica do estágio de micrósporo e indica a necessidade de um maior tempo de recuperação para ser atingido o estágio de grão de pólen (figuras 1 e 2).



**Figura 1** - Estádios do processo meiótico em *Tradescantia* em relação aos tamanhos dos botões florais e às etapas do processo de adaptação, exposição e recuperação (diferentes períodos).



Fonte: Adaptado de Costa *et al.* (2015).

### 2.3.2. Comparação de Trad-MCN e AP

Para o bioensaio de AP (Trad-AP), os ramos com inflorescências foram mantidos parcialmente imersos em 2L de água destilada por 24h. Após a fase de adaptação, os ramos foram expostos por 8h à água do rio. A fase de exposição foi seguida da fase de recuperação em água destilada por 28h, período que demonstrou na etapa 1 que todas as células se encontravam em estágio de grão de pólen (Figura 2-F).

Simultaneamente, em cada campanha amostral, foi realizado um controle negativo, no qual a água do rio foi substituída por água destilada. Após as inflorescências de cada ramo foram fixadas por 24h em etanol absoluto e ácido acético glacial, na proporção de 3:1 (v:v) e conservadas em etanol 70% sob refrigeração até a análise. Os procedimentos de excisão, coloração e análise foram realizados conforme o protocolo de Thewes *et al.* (2011, p. 690). Para os bioensaios Trad-MCN e Trad-AP, foram examinadas, respectivamente, 300 grãos de pólen e 300 tétrades por lâmina, e 10 lâminas por tratamento (ponto amostral e controle negativo) e repetição (sete repetições), totalizando 420 lâminas e 126.000 células reprodutivas.

### 2.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os conjuntos de dados de AP não mostraram distribuição normal, segundo o teste de Kolmogorov-Smirnov. As frequências médias de AP foram transformadas em logaritmo natural  $[\ln(x + 1)]$  e comparadas por ANOVA seguida do teste de Tukey (etapa 1). A



comparação das frequências de MCN e AP etapa 2) entre a água do rio e o controle negativo foi realizada por meio do teste t de Student para amostras independentes. A relação entre a frequência de MCN e AP foi verificada pelo coeficiente de correlação de Pearson. Os testes foram realizados utilizando o Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 25 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), com nível de significância fixado em 5%.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. FREQUÊNCIA DE ABORTO POLÍNICO SOB DIFERENTES PERÍODOS DE RECUPERAÇÃO

Os períodos de recuperação testados mostraram frequências de AP significativamente diferentes nos respectivos tratamentos (água poluída, controles positivo e negativo) (tabela 1).

**Tabela 1** – Frequências médias de aborto polínico (média  $\pm$  erro padrão) em botões florais de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* expostos à água poluída e controles sob diferentes períodos de recuperação.

Tratamentos	24h	28h	32h	Z	p
Água poluída	6,64 $\pm$ 0,48aA	5,53 $\pm$ 0,32aA	5,07 $\pm$ 0,30aA	2,100	0,127
Controle positivo	11,25 $\pm$ 0,88aB	11,00 $\pm$ 0,91aB	11,88 $\pm$ 0,31aB	0,393	0,679
Controle negativo	3,72 $\pm$ 0,44aC	2,90 $\pm$ 0,20aC	3,48 $\pm$ 0,24aC	1,969	0,145
Z	22,188	54,454	50,461		
p	<0,001	<0,001	<0,001		

Z e p das médias transformadas. Z-score é o número de desvios da média, P representa a probabilidade de a diferença detectada entre os grupos analisados ter ocorrido ao acaso. Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre períodos de recuperação e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa entre tratamentos, a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborado pelas autoras.

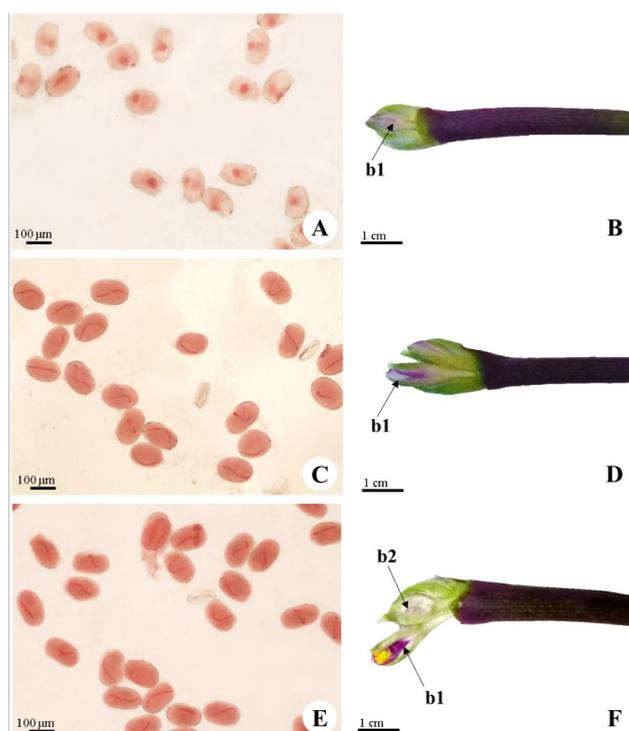
Os botões florais com cerca de 10mm foram aqueles em que as células reprodutivas atingiram o estágio de pólen, desenvolvimento garantido durante o período de recuperação (figura 2). Nos períodos de recuperação de 24 e de 28 horas, os botões maiores (b1; figura 2B-D) sempre foram aqueles utilizados, devido à ocorrência de células em estágio de grão de pólen. No entanto, em 24h de recuperação, muitas células possuíam núcleo arredondado, indicando que o grão de pólen continua em estágio de micrósporo. Já quando o período de recuperação foi de 32 horas, o maior botão por vezes abriu e o utilizado foi o segundo maior botão da inflorescência (b2; figura 2F).

O período de recuperação de 28 horas apresentou diferenças entre os tratamentos com água poluída e controle negativo. As células observadas se encontraram em estágio de grão de pólen. Este período apresenta a vantagem de que após o total de 60h as plantas já podem ser fixadas e as células posteriormente analisadas (figuras 2C e D; tabela 1).



No período de recuperação de 32 horas, verificou-se que a antese pode ocorrer com o ramo ainda em recuperação na água. Desta forma, neste período, o uso do maior botão da inflorescência (b1) foi impossibilitado, e a análise teve de seguir com o uso do segundo maior botão da inflorescência (b2), como pode ser observado na figura 2F. As lâminas preparadas com o uso do botão b2 nem sempre possuíam grãos de pólen, apesar de, quando estes ocorriam, estavam em porcentagem maior que 80%, diferentemente do observado com a recuperação de 24 horas (figuras 2E e 2F). Assim, um maior número de inflorescências de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* devem ser coletadas para que se obtenha o número necessário de células para as análises.

**Figura 2** - Células reprodutivas de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* analisadas no bioensaio de aborto polínico e suas respectivas inflorescências, submetidas a diferentes períodos de recuperação em água: 24h (A, B), 28h (C, D), 32h (E, F). Barra 100 µm.



Fonte: Elaborado pelas autoras.

### 3.2. BIOENSAIO DO ABORTO POLÍNICO EM TRADESCANTIA PALLIDA VAR. PURPUREA SOB EXPOSIÇÃO AGUDA À ÁGUA SUPERFICIAL

As frequências de AP encontradas neste estudo estão de acordo com os achados de Mišík *et al.* (2015) em estudo realizado com *Tradescantia paludosa* E.S. Anderson e Woodson, espécie empregada em testes de genotoxicidade em regiões de clima temperado. Os autores obtiveram frequências de AP que variaram de 6,10 a 20,27 na exposição aguda à água contendo drogas anticâncer, e 2,23 a 3,57 para o controle negativo.

Os períodos de adaptação e recuperação dos ramos de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* nos bioensaios asseguram que o aborto polínico observado esteja ligado aos efeitos de agentes genotóxicos presentes na água durante a exposição, tal como



observado para a formação de micronúcleos em *Tradescantia paludosa* por MA (1983). Inicialmente tínhamos a hipótese de que seria possível estabelecer um período de recuperação que possibilitasse analisar simultaneamente a genotoxicidade a partir da quantificação de micronúcleos e do AP ocorrentes na mesma inflorescência de *T. pallida* var. *purpurea* exposta à água. Os resultados destes bioensaios demonstraram que, sob condições normais de luminosidade e temperatura (25 °C), a hipótese não se confirma, pois, em 24 horas de recuperação, tempo determinado e confirmado na literatura para o bioensaio Trad-MCN (MA, 1983; Cassanego *et al.*, 2014), 73,4% das células observadas estavam em estágio de micrósporo (figura 2A), mesmo quando utilizado o maior botão formado na inflorescência, descrito como b1 na figura 2B (botão com maior grau de desenvolvimento). Desta forma, somente uma porcentagem reduzida das células reprodutivas alcançavam o estágio de grão de pólen, não configurando uma amostra significativa.

Quando aplicados os períodos de recuperação de 28 e 32h, todas as células se encontravam em estágio de grão de pólen (figura 2C-E). Para tal, é fundamental que o período de recuperação seja de, no mínimo, 4 horas suplementares ao período de 24 horas, uma vez que, de acordo com Halbritter *et al.* (2018, p. 24) “após o estágio de tetrade, a célula passa pelo estágio de micrósporo para então chegar a pólen.”

### 3.3. RELAÇÃO ENTRE MCN E AP

O período de recuperação de 28h foi eficiente na aplicação do bioensaio AP realizado no biomonitoramento do Rio dos Sinos. Alterações significativas foram verificadas nas respostas de MCN e AP em botões florais de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* expostos à água do rio e ao controle negativo. A água do rio em Campo Bom causou maior dano genético às células reprodutivas de *T. pallida* var. *purpurea*, com frequências médias de 5,46 para MCN e 7,81 para AP. As frequências médias encontradas foram significativamente superiores em comparação aos controles negativos ( $t=10,63$ ;  $p<0,001$  e  $t=9,084$ ;  $p<0,001$ , respectivamente), que apresentaram médias de 2,06 para MCN e 3,0 para AP. Foram registradas frequências de 4,54 para MCN e de 7,00 para AP nas células reprodutivas das plantas expostas à água do rio em Taquara, que também foram superiores aos controles negativos ( $t=8,450$ ;  $p<0,001$  e  $t=8,409$ ;  $p<0,001$ , respectivamente) (tabela 2).

**Tabela 2** - Frequências de micronúcleos - MCN e de aborto polínico- AP em células reprodutivas de *T. pallida* var. *purpurea* expostas à água do Rio dos Sinos coletadas em Taquara, Campo Bom e no controle negativo.

Tratamentos	MCN			AP		
	Taquara	Campo Bom	Controle Negativo	Taquara	Campo Bom	Controle Negativo
	4,54	5,46	2,06	7,0	7,81	3,0
t	10,63*	9,084*		8,450*	8,409*	
p	<0,001	<0,001		<0,001	<0,001	

\* Indica diferença significativa na comparação da frequência média de cada ponto amostral com o controle negativo pelo teste *t* de Student, a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborado pelas autoras.



Houve relação positiva entre as frequências de MCN e AP ( $r = 0,480$ ;  $p = 0,028$ ) observadas nas células reprodutivas de botões florais de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* cujos ramos foram expostos à água poluída, mostrando existe relação entre a emissão de micronúcleos em tétrades e à formação de grãos de pólen abortivos em *T. pallida* var. *purpurea*. Os achados deste estudo corroboram com os de Campos *et al.* (2020), além de outros estudos que demonstram que a indução de danos genéticos em angiospermas é paralela à formação de grãos de pólen abortivos (Mičičeta; Murín, 1996; Pichler *et al.*, 2014).

As respostas do AP neste estudo também corroboram com os dados anteriores de análise da água do Rio dos Sinos por Trad-MCN em *T. pallida* var. *purpurea*, método reconhecido e consolidado como indicador de genotoxicidade e que já evidenciava um gradiente crescente de poluição para os mesmos pontos monitorados (Nogueira; Cassanego; Droste, 2022). Esse fato confirma a credibilidade da metodologia proposta quando comparada a outros bioensaios mundialmente aceitos. Os cursos hídricos brasileiros que passam em grandes centros urbanos, como o Rio dos Sinos, recebem resíduos orgânicos e inorgânicos de diferentes naturezas, tornando cada vez mais difícil a análise e a determinação de todos os compostos químicos, que comprometem a qualidade da água (Dalla Vecchia *et al.*, 2015; Bianchi *et al.*, 2019). Taquara e Campo Bom, municípios selecionados para compor o estudo, estão localizados nas seções média e inferior da Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos, onde a genotoxicidade e a carga poluidora da água são intensas e maiores à seção superior da bacia.

#### 4. CONCLUSÃO

A metodologia desenvolvida para determinação do aborto polínico em botões florais de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* mostrou-se um parâmetro eficiente para determinação da genotoxicidade em campanhas ativas de biomonitoramento da água. Esta metodologia pode ser reproduzida e implementada como ferramenta para diagnóstico ambiental rápido, seguro e de baixo custo. Estudos como este fornecem informações que contribuem e alertam para a necessidade de ações de manejo ambiental, visando a melhora na qualidade dos recursos hídricos.

#### 5. REFERÊNCIAS

- ANA. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras:** água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. Organizadores: Carlos Jesus Brandão *et al.* São Paulo: Companhia Ambiental do Estado de São Paulo; Brasília: Agência Nacional de Águas, 2011. Disponível em: <https://arquivos.ana.gov.br/institucional/sge/CEDOC/Catalogo/2012/GuiaNacionalDeColeta.pdf>. Acesso em: 5 mai. 2023.
- APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 22. ed. Washington: American Public Health Association, 2012. p. 1360.
- ABNT. **NBR 9898.** Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1987. p. 22.



- BIANCHI, E. *et al.* Water quality monitoring of the Sinos River Basin, Southern Brazil, using physicochemical and microbiological analysis and biomarkers in laboratory-exposed fish. **Ecohydrology & Hydrobiology**, v. 19, p.328-338, 2019.
- CALZONI, G. L. *et al.* Active biomonitoring of heavy metal pollution using *Rosa rugosa* plants. **Environmental Pollution**, v. 149, p. 239-245, 2007.
- CAMPOS, C. F. *et al.* Analysis of genotoxic effects on plants exposed to high traffic volume in urban crossing intersections. **Chemosphere**, v. 259, 2020.
- CASSANEGO, M. B. *et al.* The *Tradescantia pallida* var. *purpurea* active bioassay for water monitoring: evaluating and comparing methodological conditions. **Revista Ambiente Água**, v. 9, p. 424-433, 2014.
- CASSANEGO, M. B. B.; DROSTE, A. Assessing the spatial pattern of a river water quality in southern Brazil by multivariate analysis of biological and chemical indicators. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, p. 118-126, 2017.
- CEGLINSKI, L. V. *et al.* M. R. S. Air Quality Assessment Using the Pollen Abortion Assay in *Tradescantia pallida* in a Mid-sized City in Southern Brazil. **Revista de La Sociedad Científica del Paraguay**, v. 26, n. 1, p. 6-16, 2021.
- COSTA, G. M. Avaliação da influência do tempo de exposição de *Tradescantia pallida* var. *purpurea* para biomonitoramento da genotoxicidade do ar atmosférico. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 4, p. 224-230, 2015.
- DALLA VECCHIA, A. *et al.* Surface water quality in the Sinos River basin, in Southern Brazil: tracking microbiological contamination and correlation with physicochemical parameters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 9899-9911, 2015.
- ENDRES JÚNIOR, D. Biomonitoring of water genotoxicity in a Conservation Unit in the Sinos River Basin, Southern Brazil, using the *Tradescantia* micronucleus bioassay. **Brazilian Journal of Biology**, v. 73, n. 4, p. 91-97, 2015.
- GREGUŠKOVÁ, E.; MIČIETA, K. Phytoindication of the Ecogenotoxic Effects of Vehicle Emissions Using Pollen Abortion Test with Native Flora. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 22, n. 4, p. 1069-1076, 2013.
- HALBRITTER, H. *et al.* **New Delhi**. 2. ed. Vienna: Springer, 2018. p. 24.
- INFOSAMBAS. **Informações contextualizadas sobre saneamento no Brasil**. 2023. Disponível em: <https://infosanbas.org.br/>. Acesso em: 23 mar. 2023.
- KIELING-RUBIO, M. *et al.* Integrated Environmental Assessment of streams in the Sinos River basin in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 2, p. 105- 113, 2015.
- MA, Te-Hsiu. *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) test of environmental clastogens, In: KOLBER, A. R. *et al.* (Eds.). *In vitro* toxicity testing of environmental agents, current and future possibilities. New York: Plenum, 1983. p. 191-214.
- MIČIETA, K.; MURÍN, G. Microspore analysis for genotoxicity of a polluted environment. **Environmental and Experimental Botany**, v. 36, p. 21-27, 1996.



MIŠÍK, M. *et al.* In situ monitoring of clastogenicity of ambient air in Bratislava, Slovakia using the Tradescantia micronucleus assay and pollen abortion assays. **Mutation Research**, v. 605, p. 1-6, 2006.

MIŠÍK, M. *et al.* Impact of common cytostatic drugs on pollen fertility in higher plants. **Environmental Science Pollution Research**, v. 23, p. 14730-14738, 2015.

MIŠÍK, M. *et al.* Micronucleus assay with tetrad cells of Tradescantia. In: DHAWAN, A.; BAJPAYEE, M. (Eds.). Genotoxicity Assessment. Methods in Molecular Biology. **Humana Press**, v. 2031, 2019.

MURÍN, G. Basic criteria for selection of plant bioindicators from the regional flora for monitoring of an environmental pollution. **Biologia (Bratislava)**, v. 50, p. 37-40, 1995.

NOGUEIRA, L. R.; CASSANEGO, M. B. B.; DROSTE, A. Temporal analysis of genotoxicity and environmental factors related to water quality of a watershed in South Brazil. **Ciência e Natura**, v. 44, e40, 2022.

PETRY, C. *et al.* 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.

POGÁNYOVA, A.; MIČIETA, K.; DUŠIČKA, J. Genotoxic assessment of selected native plants to differentially exposed urban ecosystems. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 9055-9064, 2019.

PICHLER, C. Assessment of genotoxicity and acute toxic effect of the imatinib mesylate in plant bioassays. **Chemosphere**, v. 115, p. 54-58, 2014.

RODRIGUES, G. *et al.* Environmental assessment of Luiz Rau stream (Brazil) utilizing *Allium cepa* TEST. **Ciência e Natura**, v. 42, e76, p. 1-15, 2020.

THEWES, M. R.; ENDRES JÚNIOR, 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.

UHRÍKOVÁ, H.; MIČIETA, K. In situ bioindication of genotoxic effect using the species of native flora in the vicinity of the nickel plant. **Biologia (Bratislava)**, v. 50, p. 65-68, 1995.

Submetido em: **01/05/2024**

Aceito em: **20/06/2024**