



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

GABRIEL CAESAR CAÚLA ALVES BARROS FONTES

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE EXTRATOS DE
MICRORGANISMOS ISOLADOS DE AMBIENTES NATURAIS EM RAÍZES DE
CEBOLA (*Allium cepa* L.)**

FORTALEZA

2026

GABRIEL CAESAR CAÚLA ALVES BARROS FONTES

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE EXTRATOS DE
MICRORGANISMOS ISOLADOS DE AMBIENTES NATURAIS EM RAÍZES DE
CEBOLA (*Allium cepa* L.)

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial à obtenção
do título de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Erika Freitas
Mota

Co-orientador: Dr. Luiz Carlos Pereira
Almeida Filho.

FORTALEZA

2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F766a Fontes, Gabriel Caesar Caúla Alves Barros.

Avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade de extratos de microrganismos isolados de ambientes naturais em raízes de cebola (*Allium cepa* L.) / Gabriel Caesar Caúla Alves Barros Fontes. – 2026.
45 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Física, Fortaleza, 2026.

Orientação: Profa. Dra. Erika Freitas Mota.

Coorientação: Prof. Dr. Luiz Carlos Pereira Almeida Filho.

1. Ciclo mitótico. 2. Aberrações cromossômicas. 3. Índice mitótico. 4. Índice genotóxico. I. Título.
CDD 530

GABRIEL CAESAR CAÚLA ALVES BARROS FONTES

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE EXTRATOS DE
MICRORGANISMOS ISOLADOS DE AMBIENTES NATURAIS EM RAÍZES DE
CEBOLA (*Allium cepa* L.)

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial à obtenção
do título de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Erika Freitas Mota (Orientadora) - Depto. de Biologia
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Luiz Carlos Pereira Almeida Filho (Co-orientador) - Depto. de Biologia
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Marina Duarte Pinto Lobo - Depto. de Biologia
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Flávia Almeida Santos - Depto. de Fisiologia e Farmacologia
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, que me guiou até aqui, que sempre esteve presente para mim e que me deu forças para continuar.

Aos meus pais, **Caesar Augustus Barros Fontes** e **Maria da Conceição Caúla Alves Barros Fontes**, que sempre me compreenderam e me apoiaram em todas as minhas decisões e que também me dedicaram todo o amor e carinho que um pai e mãe poderiam dedicar a uma filha. Agradeço por estarem presentes em todos os momentos que precisei.

Aos meus irmãos (**Raphael e Valentina**), que, mesmo sem saber, são um dos pilares da minha vida, e que também sempre estiveram dispostos a me ajudar à sua maneira.

À minha família, que jamais deixou de me apoiar e acreditar em mim e sempre me incentivou a atingir o meu melhor.

Aos meus amigos (em especial, **Beatriz da Silva Rodrigues de Souza, Victoria Hellen, Rayça Azevedo, Keven dos Santos, Lucas Cipriano, Flávinny, Joyce Moreira, Miquelvia dos Santos e Tatiane Gomes**) por terem me ajudado na minha caminhada, seja ela profissional ou pessoal, desde que nos conhecemos.

Ao **Bioprospec (Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais)** que auxiliou na minha jornada na Ciência com conhecimento e, acima de tudo, com muito acolhimento e compreensão. A todos os colegas do Bioprospec, com quem cresci junto, ensinei, e aprendi muita coisa, agradeço não só como aluno mas como amigo, pois jamais esquecerei o quanto me ajudaram no meu crescimento pessoal e profissional.

À Professora **Dra. Erika Freitas Mota**, por ter me permitido trabalhar junto a ela neste grupo de pesquisa incrível, por ter sido uma ótima orientadora e por ter sido uma grande mestra para mim.

Ao **Dr. Luiz Carlos Pereira Almeida Filho**, por sempre se fazer presente e disposto a ajudar não só a mim mas todas as pessoas ao nosso redor, por ter sido um co-orientador e amigo incrível e por ser um verdadeiro exemplo para mim.

À Professora **Dra. Marina Duarte Pinto Lobo**, por ter me auxiliado nessa trajetória de todas as formas possíveis.

A todos que fizeram parte da minha trajetória de forma direta ou indireta, que me ajudaram.

RESUMO

Os microrganismos possuem plasticidade genética e fisiológica que lhes confere a capacidade de se adaptarem às mais diversas condições ambientais. Nesse contexto, tem-se a produção de compostos bioativos por esses microrganismos que podem conferir essa plasticidade e, ao mesmo tempo, chama atenção para serem estudados, pois podem apresentar uma variedade de propriedades terapêuticas. Para o estudo de mutagênese, existem plantas que são consideradas ideais, tanto em laboratório quanto em monitoramento *in situ*, atuando assim, como “bioindicadoras”. Assim, diante de uma comunidade bacteriana extremamente ativa e produtiva que vive nos diversos ecossistemas e sob a perspectiva de que microrganismos são importantes fontes de compostos bioativos, este trabalho objetivou estudar a atividade citotóxica e genotóxica de extratos de microrganismos sobre células de cebola, apontando para a produção de moléculas com potencial antineoplásico. No presente trabalho, cebolas (*Allium cepa* L.) foram colocadas para crescimento de raízes por 48 horas em água mineral, seguido de 24 horas em solução de extratos bacteriano ou fúngico (10 ppm), utilizando-se água mineral, como controle negativo e paracetamol (500 ppm) como controle positivo. As pontas das raízes foram analisadas por microscopia óptica, avaliando-se índice mitótico (IM), como indicador de citotoxicidade, e índice genotóxico (IGen). Dentre os tratamentos com extratos fúngicos, apenas um apresentou redução no IM com diferença significativa quando comparado ao controle negativo. Já entre as amostras bacterianas isoladas de Irauçuba, todas apresentaram diferença significativa, com redução do IM. Dos tratamentos com *Pseudomonas*, todos apresentaram citotoxicidade, de modo equivalente ao controle positivo. Em relação ao índice genotóxico, as amostras fúngicas não apresentaram diferenças significativas quando comparadas ao controle negativo, evidenciando baixo IGen. Os extratos bacterianos, entretanto, apresentaram-se quase como equivalentes ao controle positivo, em nível de IGen. Em especial, dos extratos isolados de Irauçuba, três amostras exibiram diferença significativa superior ao tratamento com paracetamol, apontando para IGen maior que o correspondente ao controle positivo. Os tratamentos com *Pseudomonas* apresentaram IGen menor que controle positivo, sem diferença significativa comparada ao controle negativo. Durante a análise das fotomicrografias das lâminas, foi possível a visualização de aberrações cromossômicas, indicando dano ao DNA e interferência no fuso mitótico.

Palavras-chave: Ciclo Mitótico; Aberrações Cromossômicas; Índice Mitótico; Índice Genotóxico

ABSTRACT

Microorganisms possess genetic and physiological plasticity that gives them the ability to adapt to diverse environmental conditions. In this context, the production of bioactive compounds by these microorganisms can confer this plasticity and, at the same time, draws attention to their study, as they may present a variety of therapeutic properties. For the study of mutagenesis, there are plants that are considered ideal, both in the laboratory and in *in situ* monitoring, thus acting as "bioindicators". Therefore, considering an extremely active and productive bacterial community that lives in diverse ecosystems and from the perspective that microorganisms are important sources of bioactive compounds, this work aimed to study the cytotoxic and genotoxic activity of microorganism extracts on onion cells, pointing to the production of molecules with antineoplastic potential. In this study, onions (*Allium cepa* L.) were placed in mineral water for 48 hours to grow roots, followed by 24 hours in a solution of bacterial or fungal extracts (10 ppm), using mineral water as a negative control and paracetamol (500 ppm) as a positive control. The root tips were analyzed by optical microscopy, evaluating the mitotic index (MI) as an indicator of cytotoxicity, and the genotoxic index (GI). Among the treatments with fungal extracts, only one showed a significant reduction in MI compared to the negative control. Among the bacterial samples isolated from Irauçuba, all showed a significant difference, with a reduction in MI. Of the treatments with *Pseudomonas*, all showed cytotoxicity equivalent to the positive control. Regarding the genotoxic index, the fungal samples did not show significant differences when compared to the negative control, indicating a low GI. The bacterial extracts, however, were almost equivalent to the positive control in terms of IGen. In particular, of the extracts isolated from Irauçuba, three samples showed a significant difference superior to the treatment with paracetamol, indicating a higher IGen than that corresponding to the positive control. The treatments with *Pseudomonas* showed a lower IGen than the positive control, with no significant difference compared to the negative control. During the analysis of the photomicrographs of the slides, it was possible to visualize chromosomal aberrations, indicating DNA damage and interference with the mitotic spindle.

Keywords: Mitotic Cycle; Chromosomal Aberrations; Mitotic Index; Genotoxic Index

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Sistema radicular fasciculado	16
Figura 2	Organização do ápice radicular do tipo aberto	18
Figura 3	Modelo esquemático de preparação para crescimento de raízes	22
Figura 4	Fases do ciclo celular em <i>Allium cepa</i> L.	25
Figura 5	Efeito dos extratos sobre o índice mitótico em células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> L.	26
Figura 6	Anomalias cromossômicas encontradas no processo mitótico de células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> L. expostas a diferentes extratos	27
Figura 7	Efeito dos extratos sobre o índice genotóxico em células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> L.	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Nome e identificação dos microrganismos utilizados no estudo.....	21
----------	---	----

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

IARC	Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer
UFC	Universidade Federal do Ceará
LIB	Laboratórios Integrados de Botânica
LAMOF	Laboratório de Morfoanatomia Funcional de Plantas
Lembiotech	Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia
IM	Índice Mitótico
IGen	Índice Genotóxico
ACM	Anomalias do Ciclo Mitótico
AC	Aberrações Cromossômicas
AI	Anomalias Interfásicas
ANOVA	Análise de variância
CN	Controle Negativo
CP	Controle Positivo
DDR	Resposta ao dano ao DNA
BER	Reparo por excisão de base
MMR	Reparo de erros de pareamento
HR	Recombinação Homóloga
NHEJ	Junção de extremidades não homólogas

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
®	Marca Registrada
°C	Graus Celsius
μL	Microlitro
mL	Mililitro
L	Litro
mg	Micrograma
M	Molar
ppm	Partes por milhão
v/v	volume/volume

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1. Diversidade microbiológica no solo.....	13
2.2. Câncer.....	13
2.3. Potencial antineoplásico dos produtos naturais.....	14
2.4. Modelo de teste Allium cepa L.....	15
2.4.1. Cebola.....	15
2.4.1.1. Sistema radicular.....	15
2.4.2. Teste Allium cepa L.....	17
3. OBJETIVOS.....	19
3.1. Objetivo Geral.....	19
3.2. Objetivos Específicos.....	19
4. METODOLOGIA.....	20
4.1. Local de realização do projeto e parcerias.....	20
4.2. Obtenção de amostras de microrganismos.....	20
4.2.1. Ativação de culturas e obtenção das amostras microbiológicas.....	22
4.3. Obtenção de cebolas e crescimento de raízes.....	23
4.4. Ensaios de citogenotoxicidade sobre o ciclo celular de Allium cepa L.....	23
4.5. Preparação e coloração de lâminas contendo pontas de raízes.....	24
4.6. Análise dos efeitos citogenotóxicos sobre o ciclo celular de Allium cepa L.....	24
4.6.1. Análises estatísticas.....	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
6. CONCLUSÃO.....	34
7. REFERÊNCIAS.....	35
APÊNDICE A – ATLAS DE REFERÊNCIA PARA MICROSCOPIA.....	41

1. INTRODUÇÃO

Os solos são um dos ecossistemas mais complexos da Terra, abrigando uma incrível diversidade de vida, incluindo microrganismos como bactérias, fungos, arqueas, protistas e vírus, bem como meso e macrofauna. Esses organismos possuem uma infinidade de características metabólicas, genéticas, fisiológicas e morfológicas. Eles interagem (positiva, negativa e/ou neutramente) entre si e com seus arredores (por exemplo, propriedades físicas e químicas do solo e outras biotas), formando conexões complexas que sustentam uma ampla variedade de vida (Pedrinho *et al.*, 2024).

A biodiversidade do solo é crucial na ciclagem de nutrientes, tornando-a essencial para a manutenção da produtividade dos ecossistemas terrestres. Especificamente, os microrganismos do solo podem decompor a matéria orgânica e liberar nutrientes (por exemplo, nitrogênio, fósforo, potássio, etc.) que plantas e outros organismos podem utilizar (Pedrinho *et al.*, 2024). Esses microrganismos influenciam direta e indiretamente a saúde vegetal, animal, humana e ambiental, contribuindo para o conceito de Saúde Única (Jesus *et al.*, 2024).

Os microrganismos possuem plasticidade genética e fisiológica que lhes confere a capacidade de se adaptarem às mais diversas condições presentes no ambiente. Apesar de sua resiliência inerente, o microbioma do solo é influenciado por inúmeros fatores ambientais e antropogênicos. Propriedades físico-químicas do solo, como pH, textura, teor de matéria orgânica e disponibilidade de nutrientes, e fatores ambientais como sazonalidade da precipitação, tipo de vegetação e temperatura são importantes fatores que alteram o perfil das comunidades microbianas presentes no solo (Procópio; Barreto, 2021).

A diversidade microbiana produz um vasto conjunto de substâncias químicas únicas, que se tornaram uma valiosa fonte para a biotecnologia inovadora. Dos 23.000 compostos ativos conhecidos produzidos por microrganismos, como, antibióticos contra bactérias e fungos, agentes antitumorais, imunossupressores, etc., cerca de 42% são produzidos por fungos e 32% por bactérias filamentosas, os actinomicetos (Demain, 2014).

O câncer é uma das principais causas de mortalidade no mundo e uma das doenças mais frequentes que podem levar à morte (Sung *et al.*, 2021). No Brasil, o INCA estimou cerca de 704 mil novos casos de câncer por ano para o triênio 2023-2025, com destaque para os mais comuns sendo pele não melanoma, mama (feminino), próstata (masculino), colorretal e pulmão, sendo as regiões Sul e Sudeste as mais afetadas, refletindo fatores de envelhecimento e estilo de vida (Santos *et al.*, 2023). Apesar dos avanços em estratégias

anticancerígenas como cirurgia, radioterapia, quimioterapia e imunoterapia, desafios persistem, incluindo supressão do sistema imunológico, altos custos de tratamento e resistência a medicamentos em linhagens de células tumorais, ressaltando a necessidade de abordagens terapêuticas inovadoras (Quintero-Rincón *et al.*, 2025).

Assim, diante de uma comunidade bacteriana extremamente ativa e produtiva que vive nos diversos ecossistemas e sob a perspectiva de que microrganismos são importantes fontes de compostos bioativos, o presente trabalho teve como objetivo estudar a atividade citotóxica e genotóxica de extratos de microrganismos sobre células eucarióticas, apontando para a prospecção de moléculas com potencial antineoplásico.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Diversidade microbiológica no solo

Os microrganismos do solo são atores-chave na formação da biogeoquímica terrestre, impulsionando principalmente a dinâmica da matéria orgânica do solo e a ciclagem de nutrientes (Araujo *et al.*, 2025). O termo “microbioma do solo” refere-se coletivamente a todos os microrganismos que habitam o solo, incluindo comunidades de fungos, bactérias, arqueas, vírus, nematóides e protistas (Chauhan *et al.*, 2023). Esse microbioma diversificado realiza vários processos ecológicos cruciais, como o sequestro de carbono, a decomposição da matéria orgânica do solo e a manutenção da funcionalidade do solo (Coleine *et al.*, 2024)

Os microrganismos são extremamente abundantes nos solos e, depois das plantas, os microrganismos que residem no solo e em camadas superficiais profundas representam a maior fração da biomassa global na Terra. As bactérias são as mais abundantes (15% da biomassa viva total), mas as biomassas de fungos (2%) e arqueas (1%) também são maiores que a de animais (0,3%). Bactérias e fungos são geralmente os microrganismos dominantes no solo, com mais biomassa do que protistas e arqueas (Bar-On *et al.*, 2018).

Os solos também abrigam o microbioma mais diverso e complexo da Terra, frequentemente com mais de 0,5 mg de carbono de biomassa microbiana e mais de 50.000 espécies por grama. Assim, de uma perspectiva de fonte-sumidouro, pode-se considerar o solo como uma importante fonte de microrganismos em ecossistemas terrestres e, portanto, a base da saúde única (Banerjee; van der Heijden, 2023).

2.2. Câncer

Os termos *câncer*, *neoplasia maligna* e *tumor maligno* com frequência são utilizados como sinônimos. Os tumores tanto benignos quanto malignos manifestam uma proliferação descontrolada, porém os malignos se distinguem pela capacidade de *desdiferenciação*, de invasão e de produção de metástases (propagação da doença para outras partes do corpo) (Ritter *et al.*, 2025).

O câncer é um distúrbio genético causado por mutações no DNA. Podem ocorrer mutações patogênicas resultantes de exposição a carcinógenos. Essas mutações podem ser espontâneas, em consequência de processos celulares propensos a erros, ou serem herdadas. Além disso, os cânceres geralmente mostram alterações epigenéticas (p. ex., metilação

alterada do DNA e modificação de histonas). Em conjunto, essas anormalidades genéticas e epigenéticas alteram a expressão ou a função dos genes-chave reguladores de processos celulares fundamentais, como crescimento, sobrevivência e senescência. As alterações genéticas nas células cancerosas são herdáveis e passadas para as células-filhas durante a divisão celular (Kumar *et al.*, 2025).

As alterações genéticas encontradas em cânceres variam de mutações pontuais envolvendo nucleotídeos únicos até anormalidades grandes o suficiente para produzirem alterações na estrutura cromossômica. Em certas neoplasias, as anormalidades genéticas não são aleatórias e são altamente características. Foram identificadas anormalidades cromossômicas específicas em muitas leucemias e linfomas e em um número crescente de neoplasias não hematopoiéticas, enquanto outras neoplasias são caracterizadas por mutações pontuais também específicas. Essas alterações genéticas recorrentes alteram a atividade de um ou mais genes do câncer de tal forma que concede às células afetadas uma vantagem seletiva, presumivelmente contribuindo para uma ou mais das características do câncer (Kumar *et al.*, 2025).

O câncer representa um dos grandes desafios da farmacologia. Houve grandes avanços no tratamento geral do câncer, e alguns tipos da doença apresentaram uma acentuada melhoria na sobrevida como resultado dos avanços farmacológicos. Entretanto, muitos tipos de câncer permanecem obstinadamente intratáveis até o momento (Ritter *et al.*, 2025). Além disso, a mortalidade significativa associada aos tratamentos convencionais ressalta a necessidade de abordagens terapêuticas inovadoras (Quintero-Rincón *et al.*, 2025).

2.3. Potencial antineoplásico dos produtos naturais

Uma das maiores causas de morte em todo o mundo ainda é o câncer, que representa um sério problema para os sistemas de saúde internacionais. Limitações como resistência a medicamentos, efeitos colaterais desfavoráveis e altos custos destacam a necessidade de abordagens alternativas e complementares, mesmo diante de avanços impressionantes em terapias tradicionais como quimioterapia, radioterapia e tratamentos direcionados (Mir; Banik, 2025).

Muitos tratamentos contra o câncer foram inspirados ou derivados diretamente de produtos naturais, que por sua vez são derivados de plantas, micróbios e organismos marinhos. Essas moléculas bioativas têm historicamente desempenhado um papel crucial na descoberta e no desenvolvimento de medicamentos (Mir; Banik, 2025).

Produtos naturais são opções potenciais para prevenção e tratamento do câncer devido à sua diversidade estrutural, singularidade bioquímica e capacidade de atuar em diversas vias celulares. Avanços recentes em biologia sintética, triagem de alto rendimento e biologia molecular também facilitaram a busca e a otimização de novos compostos à base de produtos naturais com qualidades anticancerígenas (Mir; Banik, 2025).

Nos últimos tempos, o papel dos compostos bioativos e dos produtos naturais como fonte de medicamentos anticâncer tem sido destacado em uma abordagem colaborativa, integrada e multidisciplinar (Asma *et al.*, 2022).

2.4. Modelo de teste *Allium cepa* L.

2.4.1. Cebola

A cebola (*Allium cepa* L.), uma monocotiledônea pertencente à família *Amaryllidaceae*, é valorizada como alimento e planta medicinal desde a antiguidade, sendo amplamente cultivada. É uma cultura hortícola de ciclo curto, cultivada em baixas latitudes. A cebola diplóide ($2n = 2x = 16$) possui um genoma enorme, com um tamanho aproximado de 16 Gb/1C (16 Gb distribuídos em 8 cromossomos). O tamanho médio de cada cromossomo da cebola é de cerca de 2 Gb (Pareek *et al.*, 2017; Cho *et al.*, 2025).

2.4.1.1. Sistema radicular

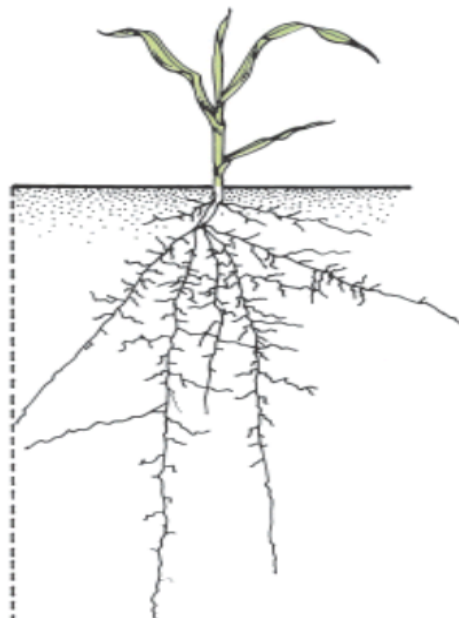
Nas plantas monocotiledôneas, a raiz primária geralmente tem vida curta, o sistema radicular é formado por raízes adventícias, que se formam a partir do caule. Essas raízes de origem caulinar, comumente denominadas *raízes adventícias*, e suas raízes laterais dão origem ao chamado *sistema radicular fasciculado*, no qual nenhuma raiz é mais proeminente que as outras (Evert; Eichhorn, 2014).

O ápice da raiz é recoberto pela *coifa* (Figura 1), um conjunto de células parenquimáticas vivas, semelhante a um dedal, que reveste e protege o meristema apical e ajuda a raiz a penetrar no solo. Tipicamente, a coifa é constituída de uma coluna central de células, a *columela*, e de uma porção lateral, a *coifa lateral*, que circunda a columela. A columela é o local que percebe a gravidade (gravitropismo) e os gradientes potenciais de água (hidrotropismo) (Evert; Eichhorn, 2014).

O *meristema apical* da raiz (região de células em divisão ativa) estende-se por uma considerável distância do ápice até a parte mais velha da raiz (Figura 2). Além da coifa, a característica estrutural mais marcante do ápice da raiz é o arranjo em fileiras longitudinais ou linhagens das células, que se originam no meristema apical. A parte distal (próxima do ápice da raiz) do meristema apical, chamada *promeristema*, é menos diferenciada e constituída pelas *células iniciais* e suas derivadas imediatas. Essas células, relativamente pequenas e multifacetadas, são caracterizadas pela presença de citoplasma denso e núcleo grande (Evert; Eichhorn, 2014).

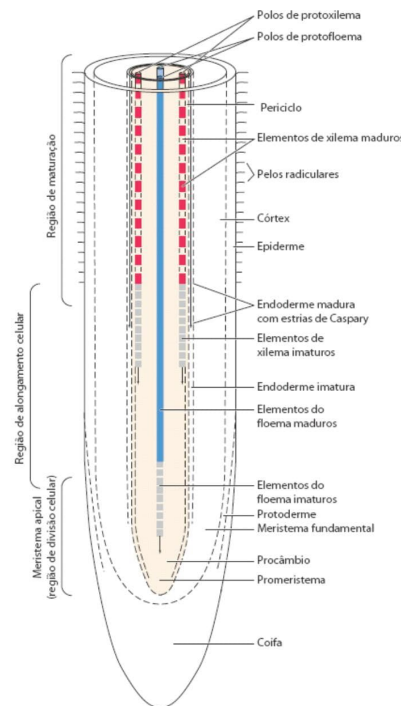
O ápice da raiz apresenta organização do tipo aberto, no qual todas as regiões da raiz ou pelo menos o córtex e a coifa formam-se a partir de um grupo comum de células. Os três meristemas primários (protoderme, meristema fundamental e procâmbio) ficam próximo ao meristema apical (Evert; Eichhorn, 2014). Após a região de divisão celular, mas não muito bem delimitada por esta, está a região de alongamento, que tem, em geral, apenas poucos milímetros de comprimento (Figura 2). O alongamento das células nessa região é o maior responsável pelo crescimento em comprimento da raiz (Evert; Eichhorn, 2014).

Figura 1 – Sistema radicular fasciculado



Fonte: Adaptado de Evert; Eichhorn (2014, p. 559).

Figura 2 – Organização do ápice radicular do tipo aberto.



Fonte: Adaptado de Evert; Eichhorn (2014, p. 563-564). **A.** Nessa seção longitudinal do ápice da raiz de cebola (*Allium cepa* L.), os meristemas primários podem ser visualizados nas proximidades do meristema apical. **B.** Detalhe do meristema apical.

2.4.2. Teste *Allium cepa* L.

Estudos citogenéticos de espécies vegetais relatam possíveis alterações nos cromossomos vegetais devido a substâncias mutagênicas em sua composição ou resultantes de seu metabolismo. O estudo de mutagênicos em núcleos eucarióticos tem sido observado por métodos citológicos e sabe-se que a mutação pode ser decorrente da ação de radiação, fármacos e vírus, bem como da estabilidade intrínseca dos ácidos nucleicos. Portanto, mutágenos podem ser detectados citologicamente por inibição celular; ruptura na metáfase; indução de aberrações cromossômicas, numéricas e estruturais, que vão desde a fragmentação cromossômica até a desorganização do fuso mitótico e, conseqüentemente, de todas as fases mitóticas subsequentes dependentes (Tedesco; Laughinghouse, 2012).

O sistema de teste para alterações cromossômicas em *Allium cepa* L. é amplamente citado na literatura como um bioindicador para a avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade, uma vez que apresenta rápida multiplicação celular, cromossomos grandes e

em pequeno número, permitindo uma melhor análise das alterações estruturais e numéricas (Bonciu *et al.*, 2018).

O índice mitótico e o índice de replicação são utilizados como indicadores de proliferação celular adequada, podendo ser medidos pelo sistema de teste de plantas *A. cepa* L. Testes de citotoxicidade, utilizando sistemas de teste de plantas *in vivo*, como *A. cepa* L., são validados por diversos pesquisadores, que realizaram conjuntamente testes em animais *in vitro* e os resultados obtidos são semelhantes, fornecendo informações valiosas para a saúde humana (Tedesco; Laughinghouse, 2012).

O teste consiste na obtenção de bulbos de cebola cultivados sem a aplicação de herbicidas ou fungicidas. Após a obtenção dos bulbos, estes devem ser raspados na raiz para promover o surgimento de novas raízes. Para a montagem do experimento, todos os bulbos devem ser colocados inicialmente em um pequeno copo de plástico de 30-50 mL (Figura 3), contendo água destilada ou da torneira (desde que potável). O tempo de espera para a coleta das raízes não pode ser padronizado, pois pode depender da temperatura, a menos que sejam utilizadas câmaras de crescimento. No entanto, é possível levar em consideração o comprimento das raízes e, então, coletá-las (1,5–2 cm). Após esse período, os bulbos devem ser transferidos para outros recipientes limpos e secos, contendo os tratamentos (Tedesco; Laughinghouse, 2012; Bonciu *et al.*, 2018).

O teste de *A. cepa* é considerado importante por ser um excelente modelo *in vivo*, em que as raízes crescem em contato direto com a substância de interesse, permitindo prever possíveis danos ao DNA de eucariotos. Portanto, os dados podem ser extrapolados para outras espécies (Tedesco; Laughinghouse, 2012). Além disso, os cromossomos de *A. cepa* L. exibem semelhanças morfológicas com os das células de mamíferos (Bonciu *et al.*, 2018; Firbas; Amon, 2014), o que proporciona uma excelente correlação entre os sistemas de células vegetais e de mamíferos (Alias *et al.*, 2023).

O teste de *A. cepa* é um dos poucos métodos diretos para medir danos em sistemas expostos a agentes mutagênicos ou potencialmente carcinógenos, e permite a avaliação dos efeitos desses danos por meio da observação de alterações cromossômicas. Para isso, é necessário que a amostra permaneça em constante divisão mitótica, buscando identificar os efeitos tóxicos e as alterações ao longo do ciclo celular (Tedesco; Laughinghouse, 2012).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a atividade citotóxica e genotóxica de extratos de microrganismos isolados de diferentes biomas cearenses sobre células meristemáticas de raízes de cebola (*Allium cepa* L.).

3.2. Objetivos Específicos

- Analisar os aspectos celulares após a exposição aos extratos bacterianos;
- Analisar os aspectos celulares após a exposição aos extratos fúngicos;
- Analisar os índices mitótico e genotóxico após a exposição aos extratos microbiológicos.

4. METODOLOGIA

4.1. Local de realização do projeto e parcerias

O projeto foi realizado no Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais, no Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará (UFC). Contou-se com parcerias de diferentes laboratórios também do mesmo departamento, como o laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (Lembiotech), os Laboratórios Integrados de Botânica (LIB) e o Laboratório de Morfoanatomia Funcional de Plantas (LAMOF).

4.2. Obtenção de amostras de microrganismos

As amostras de microrganismos foram obtidas pela parceria com o Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (Lembiotech).

Ao todo foram testadas 21 amostras coletadas a partir do solo de diferentes regiões de Irauçuba (Ceará), como citadas na Tabela 1.

Os morfotipos fúngicos foram previamente isolados e identificados por Costa (2021). As amostras bacterianas isoladas de Irauçuba-CE foram identificadas por Oliveira (2020). Todas as cepas de *Pseudomonas* foram previamente isoladas dos ninhos de espumas de rãs na Reserva Particular do Patrimônio Natural de Monte Alegre (RPPN Monte Alegre – Latitude: 03° 95'S & Longitude: 38° 54'W), serra de Pacatuba-CE, Brasil, por Castro (2019).

Tabela 1 – Nome e identificação dos microrganismos utilizados no estudo.

Isolados	Identificação	Local de coleta
N3	<i>Aspergillus</i> sp.	Vegetação Natural - Irauçuba (CE)
D3	<i>Aspergillus</i> sp.	Desertificação - Irauçuba (CE)
D5	<i>Penicillium</i> sp.	Desertificação - Irauçuba (CE)
D11	<i>Aspergillus</i> sp.	Desertificação - Irauçuba (CE)
BD 10	NI	Desertificação - Irauçuba (CE)
BE 12	<i>Burkholderia</i> sp.	Exclusão de Pastagem - Irauçuba (CE)
BE19	<i>Enterobacter</i> sp.	Exclusão de Pastagem - Irauçuba (CE)
BE 21	<i>Enterobacter</i> sp.	Exclusão de Pastagem - Irauçuba (CE)
BE 29	<i>Enterobacter</i> sp.	Exclusão de Pastagem - Irauçuba (CE)
BN 01	<i>Serratia</i> sp.	Vegetação Natural - Irauçuba (CE)
BN 10	<i>Serratia</i> sp.	Vegetação Natural - Irauçuba (CE)
BN 11	<i>Serratia</i> sp.	Vegetação Natural - Irauçuba (CE)
BN 16	<i>Klebsiella</i> sp.	Vegetação Natural - Irauçuba (CE)
BN 18	<i>Klebsiella</i> sp.	Vegetação Natural - Irauçuba (CE)
BN 25	<i>Burkholderia</i> sp.	Vegetação Natural - Irauçuba (CE)
p31	<i>Pseudomonas</i> sp.	Pacatuba (CE)
p32	<i>Pseudomonas</i> sp.	Pacatuba (CE)
p49	<i>Pseudomonas</i> sp.	Pacatuba (CE)
p119	<i>Pseudomonas</i> sp.	Pacatuba (CE)
p128	<i>Pseudomonas</i> sp.	Pacatuba (CE)
p137	<i>Pseudomonas</i> sp.	Pacatuba (CE)

Fonte: Elaborada pelo autor. **N.** fungo de solos de área natural; **D.** fungos de solos de área de desertificação; **BD.** bactérias de solo de área de desertificação; **BE.** bactérias de solo de área de exclusão de pastagem; **BN.** bactérias de solo de área natural; **p.** *Pseudomonas*.

4.2.1. Ativação de culturas e obtenção das amostras microbiológicas

As cepas pertencentes a coleção microbiológica do Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (Lembiotech) e armazenadas a -80 °C, foram cultivadas em tubos de centrifuga de 50 mL contendo 20 mL de caldo nutritivo a 32 °C por 24 h. Após esse cultivo inicial, para ativação das bactérias, uma alíquota da suspensão bacteriana foi transferida em condições estéreis para 250 mL de caldo nutritivo. Ao final do período de incubação, a suspensão foi centrifugada para a separação sobrenadante-pellet a 10.000 xg por 20 min a 4 °C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi imediatamente filtrado em filtro de 0,45 µm, armazenado, congelado e posteriormente liofilizado. O liofilizado resultante foi armazenado a -20 °C e para ser utilizado nos ensaios posteriores.

Após centrifugação, o pellet foi ressuspenso em 5 mL de PBS e a fim de excluirmos os efeitos de bactérias vivas, essa suspensão foi submetida a três ciclos de congelamento e descongelamento por 5 min cada usando nitrogênio líquido e banho maria aquecido a 50°C. Após esses ciclos, a suspensão foi centrifugada a 10.000 x g por 2 min, o conteúdo foi transferido para microtubos de 1,5 mL, os quais foram submetidos a 3 ciclos de sonicação em lavadora ultrassônica. Posteriormente, foi realizada centrifugação a 12.000 xg por 30 min a 4 °C. Os sobrenadantes foram recuperados, filtrados em filtro de 0,45 µm e armazenados a -20 °C antes dos ensaios.

Os quatro morfotipos foram reativados através do cultivo em caldo. Para tanto, discos estoques dos micélios foram inoculados em erlenmeyers contendo 25 mL de caldo Sabouraud Dextrose (KASVI, SP), pH 5,6. As culturas foram incubadas em agitador orbital a 130 rpm, à temperatura de 27 °C, durante 5 dias. Ao final do período de incubação, alíquotas de 1 mL do sobrenadante foram transferidas para tubos de microcentrífuga de 1,5 mL e centrifugadas durante 5 minutos a 5.000 rpm, para separação das células. Alíquotas de 200 µL dos sobrenadantes das culturas foram inoculadas em poços de 0,9 mm de diâmetro feitos previamente no meio teste, usando a parte mais larga de uma ponteira de 1000 µL estéril como furador. As placas foram cobertas com papel alumínio para evitar fotooxidação e incubadas por 24 h em estufa microbiológica a 37 °C.

4.3. Obtenção de cebolas e crescimento de raízes

Os bulbos de *Allium cepa* L. (cebola) foram obtidos em feiras livres da cidade, todos de mesma procedência, com aparência saudável e não germinadas. As cebolas foram colocadas para crescimento de raízes em copos de plásticos por 48 horas em água mineral, seguido de 24 horas em solução de extratos bacterianos e fúngicos. As bases dos bulbos (prato) das cebolas foram colocadas em contato direto com as soluções contendo os extratos bacterianos e fúngicos a 10 ppm em recipientes a temperatura ambiente para enraizar (Figura 3). Os catáfilos mais externos e as raízes envelhecidas ou secas do bulbo foram retiradas para evitar o apodrecimento.

Figura 3 – Modelo esquemático de preparação para crescimento de raízes.



Fonte: Elaborada pelo autor. Bases dos bulbos das cebolas colocadas em contato direto com as soluções em copos de plástico de 30 mL.

4.4. Ensaios de citogenotoxicidade sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L.

Para avaliação de atividade citotóxica e genotóxica dos extratos procedeu-se com a metodologia descrita por Bezerra *et al.* (2016), com modificações.

Os extratos foram testados na concentração de 10 mg/L (10 ppm). Foram utilizadas águas minerais comerciais das marcas Naturágua® e Límpida®, adquiridas no comércio local como controle negativo e paracetamol a 500 mg/L (500 ppm) como controle positivo.

Após o período de crescimento, as raízes foram fixadas em solução fixadora de Carnoy (etanol 95% + ácido acético glacial na proporção de 3:1 v/v) por período de 24 horas a temperatura ambiente para, então, serem coradas com orceína acética 1%.

4.5. Preparação e coloração de lâminas contendo pontas de raízes

O processamento pré-coloração das raízes procedeu-se de acordo com a metodologia descrita por Souza *et al.* (2017), com adaptações: as raízes foram lavadas duas vezes com água destilada por cinco minutos cada lavagem; em seguida, foram hidrolisadas em HCl 5 M por 10 minutos; depois, as raízes foram novamente lavadas com água destilada por cinco minutos.

Após selecionadas e colocadas em lâminas, prosseguiu-se com a coloração pela retirada, com auxílio de agulhas e lupas, dos ápices radiculares medindo cerca de 2 mm, adição de 2-3 gotas do coranteorceína acética 1%, fragmentadas o máximo possível com agulhas, adição de lamínula e esmagamento leve com polegar (envolvidas em papel toalha para retirar o excesso do corante). As lâminas foram analisadas em microscópio óptico, nos aumentos finais de 100x e de 400x.

4.6. Análise dos efeitos citogenotóxicos sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L.

Para cada tratamento foram utilizados três bulbos (triplicata). Para cada bulbo foi confeccionada uma lâmina. Em cada lâmina, foi colocado um ápice radicular. Foram feitas oito focagens de 50 células/campo, totalizando 400 células por lâminas, com três lâminas para cada tratamento, totalizando 1.200 células analisadas por tratamento.

Para os efeitos citotóxicos, foram verificados os índices mitóticos (IM) de cada tratamento. O cálculo do IM se deu pela soma das células em qualquer fase de divisão (prófase, metáfase, anáfase e telófase), dividindo-se pelo total de células contadas e multiplicando-se por 100.

Para a análise dos efeitos genotóxicos foram observados todos os tipos de aberrações cromossômicas encontradas, calculando-se o índice de genotoxicidade (IGen) pela fórmula $IGen = (n^{\circ} \text{ de células com aberrações cromossômicas} / n^{\circ} \text{ total de células observadas}) \times 100$ (Souza *et al.*, 2017).

Para a análise de aberrações cromossômicas (ACs), foram considerados: cromossomos soltos e fragmentos cromossômicos em todas as fases do ciclo (prófase, metáfase, anáfase e telófase), além de pontes e atrasos anafásicos (Bonciu *et al.*, 2018), sendo todos os registros reunidos em uma só categoria para possibilitar a avaliação das ACs. As alterações morfológicas foram observadas de acordo com o atlas elaborado (Apêndice A).

4.6.1. Análises estatísticas

Os dados de todos os ensaios foram categorizados no Microsoft Excel® (Versão 2010 para Windows). Foi utilizado o teste One-way ANOVA com pós-teste Dunnett a 5% de probabilidade, executados com o auxílio do software GraphPad Prism® (versão 8.0.1 para Microsoft Windows®), para analisar a diferença entre as médias das repetições em triplicatas utilizadas nos testes.

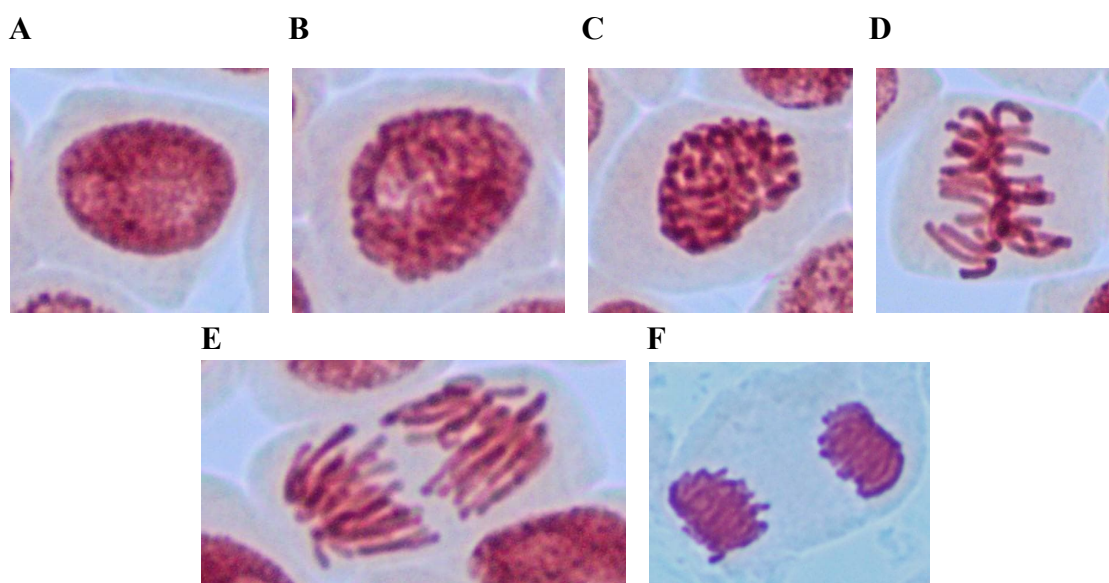
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 21 amostras (fúngicas e bacterianas) testadas foram agrupadas de acordo com o reino biológico: 4 morfotipos fúngicos isolados a partir de solos de duas áreas diferentes de Irauçuba, 1 (N3) da área de vegetação natural (Natural Irauçuba) e 3 (D3, D5 e D11) da área de sobrepastagem (Desertificação Irauçuba); 11 amostras bacterianas provenientes de Irauçuba, incluindo áreas de sobrepastagem (BD 10), área de exclusão de pastagem (Exclusão Irauçuba) (BE 12, 19, 21 e 29) e áreas de vegetação natural (BN 01, 10, 11, 16, 18 e 25), e 6 amostras de *Pseudomonas* (p31, 32, 49, 119, 128 e 137).

Neste estudo, o paracetamol (acetaminofeno) foi utilizado como controle positivo por apresentar mecanismos bem caracterizados de citotoxicidade celular, incluindo estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e danos ao cromossomo (quando administrado em altas concentrações) observados em diferentes sistemas biológicos, como animais e plantas (Ritter *et al.*, 2016; Huber *et al.*, 2009).

A análise microscópica permitiu identificar as diferentes fases do ciclo celular (figura 4) a serem consideradas para cálculo do índice mitótico. As características morfológicas observadas estão ilustradas no Apêndice A.

Figura 4 – Fases do ciclo celular em *Allium cepa* L.



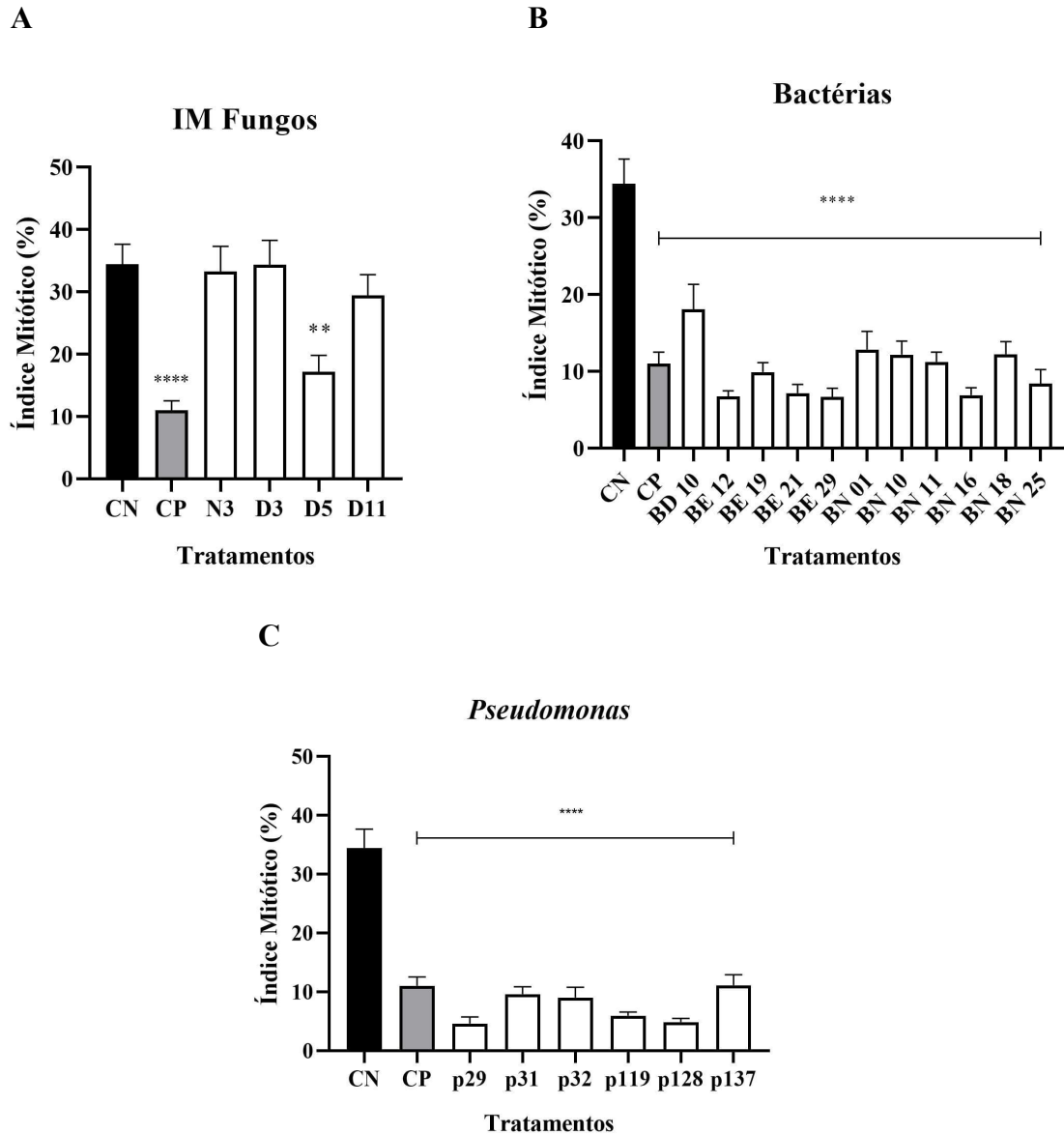
Fonte: Elaborada pelo autor. Fotomicrografias de lâminas de células de pontas de raiz de cebola preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com orceína acética 1%, analisadas em microscopia óptica com aumento final de 400x, evidenciando as fases do ciclo mitótico: **A.** Intérfase; **B.** Prófase inicial; **C.** Prófase avançada; **D.** Metáfase; **E.** Anáfase; **F.** Telófase.

O índice mitótico (IM) é considerado uma medida para avaliar quantitativamente a divisão celular de um organismo (Kato; Haskins, 2023). Portanto, se o IM for baixo em comparação com o tratamento controle, o extrato está afetando a mitose (Mercado; Galvis, 2023). Nesse caso, a análise microscópica das células refletiu uma diminuição notável no IM das células tratadas com extratos bacterianos (Figura 5. B e C) comparado ao controle negativo (água). O paracetamol causou inibição de aproximadamente 68% quando comparado ao controle, com IM menor do que o evidenciado pelo estudo de Mercado e Galvis (2023) usando a mesma concentração (500 ppm) em *Pisum sativum* L..

Dentre os tratamentos com extratos fúngicos, apenas D5 (IM = 34%) apresentou diferença significativa no índice mitótico quando comparado ao controle negativo, com média de aproximadamente 17% das células em divisão (Figura 5). As demais amostras não apresentaram diferença significativa. Das amostras bacterianas isoladas de Irauçuba, todas as 11 apresentaram diferenças significativas, evidenciando similaridade com o controle positivo (paracetamol a 500 ppm). Dos tratamentos com *Pseudomonas*, todos apresentaram diferenças significativas, de modo equivalente ao controle positivo.

A diminuição da atividade mitótica pode ter sido causada pela inibição da síntese de DNA ou pelo bloqueio da fase G2 do ciclo celular, impedindo a divisão da célula (Türkoglu, 2008). De acordo com Fernandes *et al.* (2007), tanto o aumento quanto a diminuição do IM são indicadores importantes de poluição ambiental: quando é menor que no controle, há alteração no desenvolvimento do organismo; quando é maior, o aumento da divisão celular pode indicar um distúrbio na proliferação celular e, inclusive, a formação de um tumor (Souza *et al.*, 2017).

Figura 5 – Efeito dos extratos sobre o índice mitótico em células meristemáticas de *Allium cepa* L.

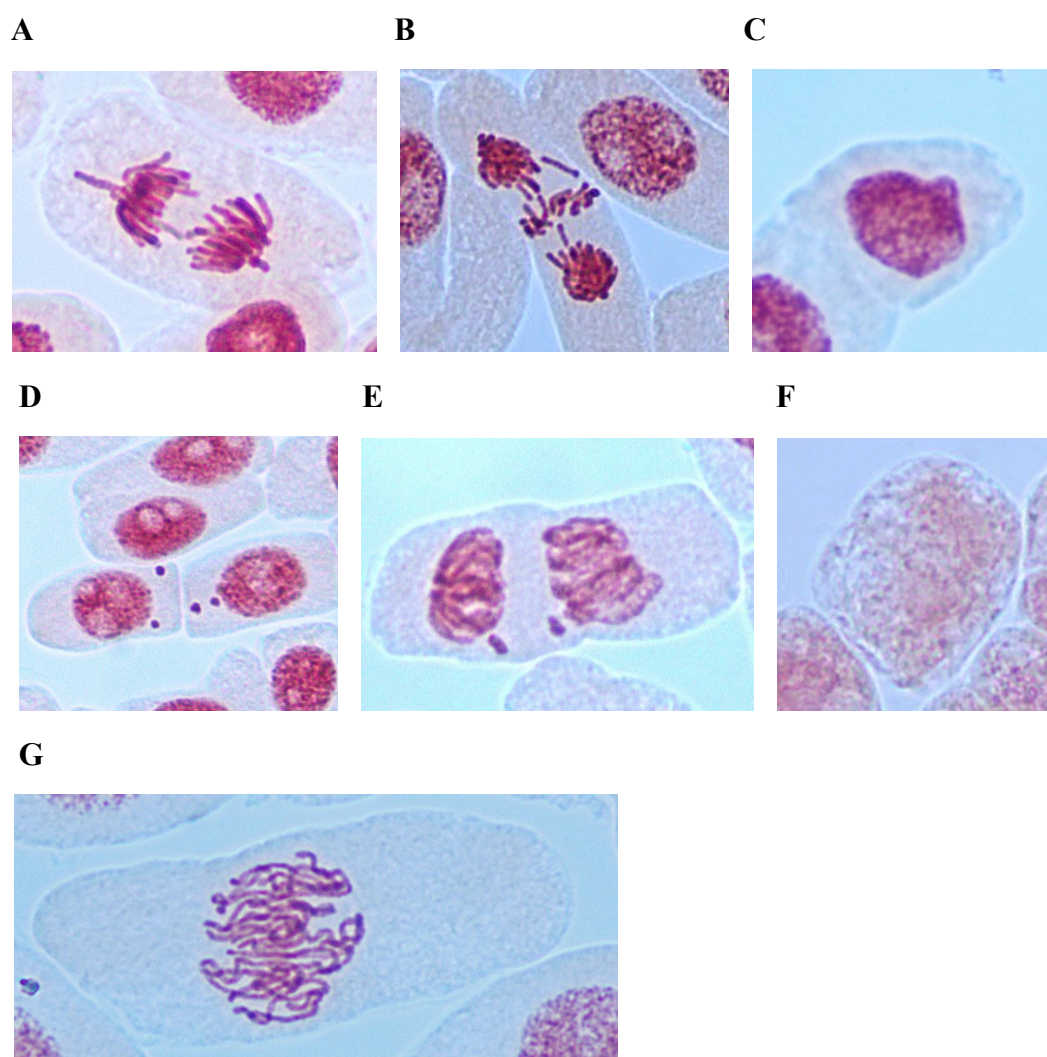


Fonte: Elaborada pelo autor. CN: Controle Negativo; CP: Controle Positivo; ANOVA “one-way”, e pós-teste de Dunnett. Significância de * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ em relação ao CN.

Durante a análise das fotomicrografias das lâminas (Figura 6), foi possível a visualização de aberrações cromossômicas. As aberrações cromossômicas são alterações observadas na estrutura dos cromossomos devido a danos, quebras ou troca de material cromossômico. Enquanto algumas aberrações são capazes de induzir efeitos genéticos somáticos ou hereditários, muitas dessas são letais para as células (Alabi *et al.*, 2022). As amostras de todos os extratos apresentaram algum nível de citogenotoxicidade, com

observação da presença de células com cromossomos atrasados, brotamentos nucleares, micronúcleos, pontes anafásicas, quebras cromossômicas, hipercromasia, metáfase com aderência. As alterações morfológicas observadas também estão ilustradas no Apêndice A.

Figura 6 – Anomalias cromossômicas encontradas no processo mitótico de células meristemáticas de *Allium cepa* L. expostas aos diferentes extratos.

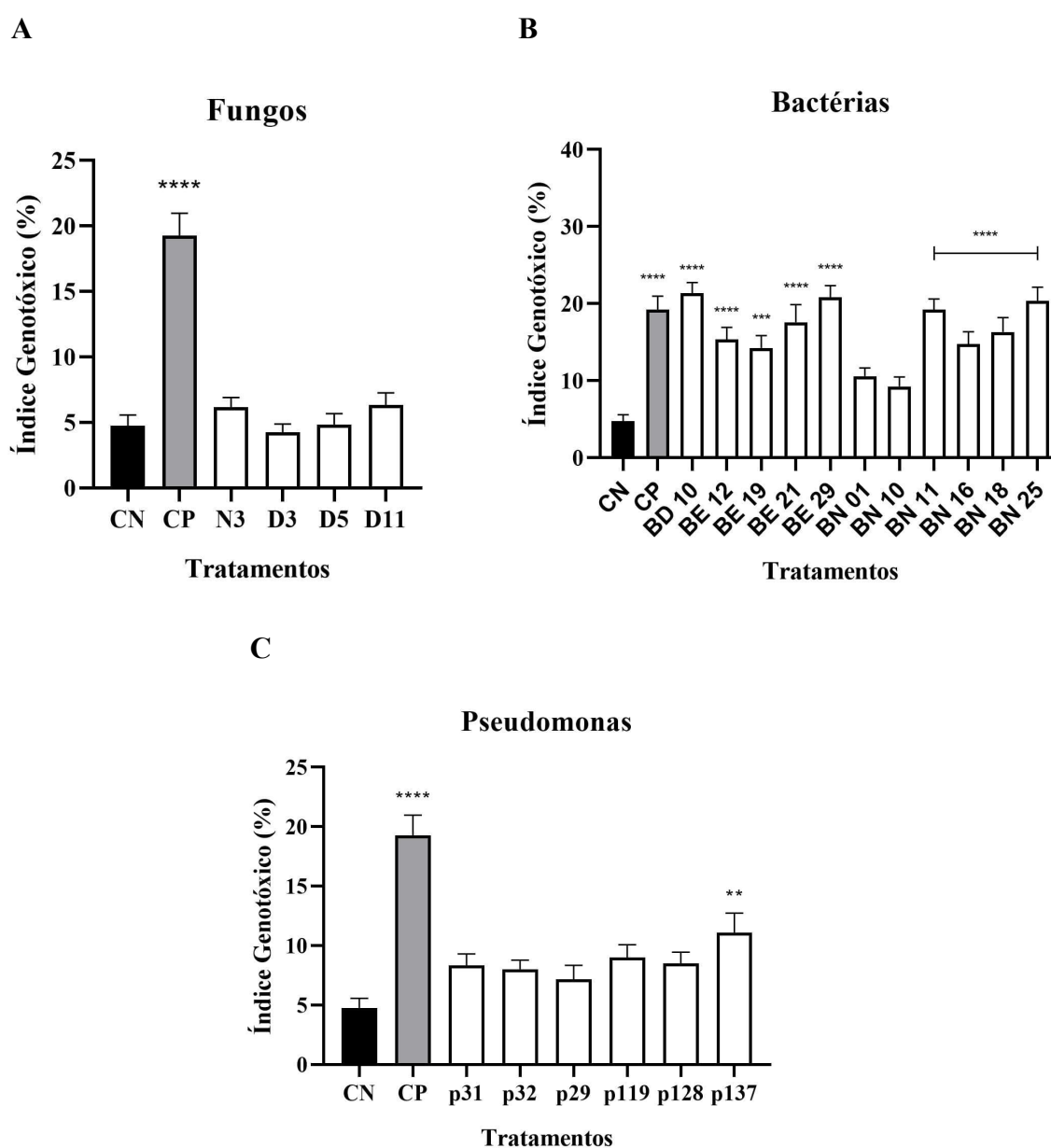


Fonte: Elaborada pelo autor. Fotomicrografias de lâminas de células de pontas de raiz de cebola expostas à água mineral, paracetamol ou extratos bacterianos, preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com orceína acética 1%, analisadas em microscopia óptica com aumento final de 400x. **A.** ponte anafásica; **B.** cromossomos atrasados; **C.** broto nuclear; **D.** micronúcleos; **E.** quebra cromossômica; **F.** célula anucleada; **G.** metáfase com aderência.

Em relação ao índice genotóxico (Figura 7), as amostras fúngicas não apresentaram diferenças significativas quando comparadas ao controle negativo, evidenciando baixa

genotoxicidade. Os extratos bacterianos, entretanto, apresentaram-se quase como equivalentes ao controle positivo, em nível de IGen. Em especial, dos extratos isolados de *Irauçuba*, duas amostras (BN 01 e BN 10) não exibiram diferença significativa quando comparadas ao controle negativo. Os tratamentos com *Pseudomonas* apresentaram IGen menor que controle positivo, sem diferença significativa comparada ao controle negativo.

Figura 7 – Efeito dos extratos sobre o índice genotóxico em células meristemáticas de *Allium cepa* L.



Fonte: Elaborada pelo autor. CN: Controle Negativo; CP: Controle Positivo; ANOVA “one-way”, e pós-teste de Dunnett. Significância de * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ em relação ao CN.

A presença de cromossomos com aderência pode indicar a interação química dos componentes dos extratos microbiológicos com o DNA, proteínas ou ambos, formando complexos com o grupo fosfato do DNA. A presença de cromossomos fragmentados indica quebras cromossômicas, que podem ser resultado de pontes anafásicas ou telófases. Já o atraso cromossômico ocorre como resultado da separação inadequada das cromátides irmãs devido à formação incorreta do fuso mitótico, resultando, frequentemente, na perda de informação genética nas células-filhas (Alabi *et al.*, 2022).

De acordo com Hoffelder *et al.* (2004), as pontes anafásicas são uma causa comum e um indicador de instabilidade cromossômica. Esse fenômeno pode ocorrer como resultado da aderência cromossômica (Marcano *et al.*, 2004), pelo encurtamento dos telômeros (Lange, 2002) ou por uma translocação ou inversão desigual de segmentos cromossômicos (Gömürgen, 2005). Segundo Marcano *et al.* (2001) e Kuras (2004), a aderência cromossômica é um tipo de anormalidade que não afeta a molécula de DNA em si, mas a matriz proteica da cromatina, provavelmente a quantidade de histonas ou outras proteínas que regulam sua estrutura.

É importante destacar que os cromossomos são estruturas filiformes compostas de proteínas e DNA, organizadas de forma compacta para permitir a transmissão precisa do material genético às células-filhas na mitose; esse processo depende da ligação precisa dos cromossomos aos microtúbulos do fuso (Liu *et al.*, 2020; Sharp, 2002). Na fase mitótica final, uma extensa remodelação garante que os cromossomos separados sejam circundados por um envelope nuclear e que um único núcleo seja formado em cada célula-filha. No entanto, atipias celulares podem ocorrer durante o processo mitótico (Kwon *et al.*, 2020).

As moléculas de DNA são continuamente danificadas por fatores genotóxicos endógenos e exógenos. Esses fatores contribuem para o dano ao DNA e a instabilidade genômica, afetando a transcrição e a replicação, e podem ser herdados pelas células-filhas. No entanto, as células possuem um processo de reparo conhecido como resposta ao dano ao DNA (DDR) para o reconhecimento e reparo desse dano. Os mecanismos de reparo do DNA incluem reparo por excisão de base (BER), reparo por excisão de nucleotídeos (NER), reparo de erros de pareamento (MMR), recombinação homóloga (HR), junção de extremidades não homólogas (NHEJ), síntese translesão e reparo de ligações cruzadas intercadeias de DNA (Bandyopadhyay *et al.*, 2014).

Normalmente, o dano ao DNA é detectado por proteínas sentinelas intracelulares, que transmitem sinais que levam ao acúmulo da proteína p53. Primeiramente, p53 suspende o ciclo celular (na fase G1) para permitir que o DNA seja reparado antes de ser replicado. No

entanto, se o dano for muito grande para ser reparado com êxito, a p53 desencadeia a apoptose, principalmente pela via mitocondrial (Kumar *et al.*, 2025).

As células cancerosas desviaram-se do mecanismo que normalmente regula a divisão celular e o crescimento tecidual. A causa direta é quase sempre um defeito genético em uma ou mais das proteínas que regulam a divisão celular. A inativação de genes de supressão tumoral (codificam proteínas que normalmente inibem a divisão celular) ou a transformação de proto-oncogenes em oncogenes (versões mutadas de genes que codificam proteínas sinalizadoras envolvidas na regulação do ciclo celular) podem conferir autonomia de crescimento a uma célula e, assim, promover a proliferação descontrolada ao produzir alterações em sistemas celulares (Nelson *et al.*, 2022; Ritter *et al.*, 2025).

O combate a essas células muitas vezes envolve agentes quimioterápicos antineoplásicos, os quais, assim como algumas toxinas produzidas por microrganismos (Kumar *et al.*, 2025), induzem lesão celular por efeitos citotóxicos e genotóxicos diretos, afetando um aspecto característico da biologia da célula cancerosa, a divisão celular (Ritter *et al.*, 2025).

Embora os mecanismos específicos de ação dos microrganismos avaliados ainda não sejam conhecidos, os efeitos citotóxicos e genotóxicos observados apresentam semelhança com aqueles induzidos pelo paracetamol, sugerindo a possível participação de vias celulares comuns. Diversos patógenos bacterianos induzem citogenotoxicidade em células eucarióticas, como evidenciado por estudos de atividade proteolítica de *Serratia* sp. em células de mamíferos (Petersen; Tisa, 2014), assim como quebras de dupla-fita no DNA do hospedeiro induzidas por toxinas e fatores de virulência produzidos por uma espécie de *Klebsiella*, *K. pneumoniae* em células eucarióticas (Cano *et al.*, 2009; Pan; Li, 2025). O gênero *Burkholderia* também é comumente associado a efeitos patogênicos em plantas e animais (Elshafie; Camele, 2021; Madigan *et al.*, 2016).

Por outro lado, os dados publicados sobre a citotoxicidade de fungos filamentosos são considerados inconclusivos e frequentemente dependem dos métodos utilizados para os testes (Skóra *et al.*, 2016). Apesar de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* serem capazes de produzir uma ampla gama de enzimas e metabólitos secundários com atividades citotóxicas e genotóxicas, como aflatoxinas (Musivand *et al.*, 2022; Skóra *et al.*, 2016), o presente estudo não detectou alterações significativas nos índices mitótico e genotóxico.

A maioria das aberrações cromossômicas observadas neste estudo resultou de distúrbios no fuso mitótico durante a anáfase e a metáfase, indicando que os componentes dos extratos atuam interferindo no fuso mitótico. O estudo de Schmidt e Bastians (2007) mostrou

que substâncias bioquímicas que inibem a formação do fuso mitótico têm se mostrado eficientes em inibir o ciclo celular na mitose e, subsequentemente, em induzir a morte das células tumorais. Isso pode indicar que os extratos microbiológicos podem contribuir para a terapia do câncer.

6. CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que alguns extratos microbiológicos podem provocar alterações significativas no índice mitótico e genotóxicos em células meristemáticas de raiz de cebola (*Allium cepa* L.). Ao contrário das amostras fúngicas, no geral, as amostras bacterianas exibiram, de forma significativa, menor índice mitótico quando comparadas ao controle negativo. As preparações histológicas permitiram observar alterações no ciclo mitótico, evidenciadas pelas aberrações cromossômicas. Quando comparadas aos extratos fúngicos e de *Pseudomonas*, as amostras bacterianas de Irauçuba mostraram índices genotóxicos mais expressivos em relação ao controle negativo.

7. REFERÊNCIAS

- ABBAS, M. W. *et al.* Bioactive Compounds, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anti-Cancer, and Toxicity Assessment of *Tribulus terrestris*—In Vitro and In Vivo Studies. *Antioxidants*, Basel, v. 11, n. 6, Artigo 6, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/11/6/1160>. Acesso em: 6 out. 2025
- AGRAWAL, S. *et al.* Acetaminophen Toxicity. Florida (United States of America): **StatPearls Publishing**; 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28722946/>. Acesso em: 20 out. 2025.
- ALABI, O. A. *et al.* Cytogenotoxicity of the aqueous extract of *Parquetina nigrescens* leaf using *Allium cepa* assay. **Protoplasma**, v. 259, p. 1417-1425, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00709-022-01741-6>. Acesso em: 21 out. 2025.
- ALIAS, C. *et al.* *Allium cepa* tests: A plant-based tool for the early evaluation of toxicity and genotoxicity of newly synthesized antifungal molecules. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 889, 2023. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571823000724?ref=pdf_download&r=RR-2&rr=9b8d333099b74d41. Acesso em: 5 nov. 2025.
- ARAÚJO, A. S. F. *et al.* Caatinga Microbiome Initiative: disentangling the soil microbiome across areas under desertification and restoration in the Brazilian drylands. **Restoration Ecology**, v. 32, n. 2, 2025. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/rec.14298>. Acesso em: 10 out. 2025
- ASMA, S. T. *et al.* Natural Products/Bioactive Compounds as a Source of Anticancer Drugs. **Cancers**, v. 14, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/24/6203>. Acesso em: 6 out 2025.
- BANDYOPADHYAY, D.; *et al.* Lead induced oxidative stress: A health issue of global concern. **Journal Pharmacy Research**, v. 88, p. 1198-1207, 2014.
- BANERJEE, S., VAN DER HEIJDEN, M. G. A. Soil microbiomes and One Health. **Nature Reviews Microbiology**, v. 21, p. 6-20, 2023 <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00779-w>
- BAR-ON, Y. M., PHILLIPS, R.; MILO, R. The biomass distribution on Earth. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, p. 6506-6511, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29784790/>. Acesso em: 10 out. 2025
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, n. 72, p. 248-254, 1976.

BONCIU, E. *et al.* An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. **Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics**, v. 71, n. 3, p. 191-209, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00087114.2018.1503496>. Acesso em: 5 nov. 2025.

CANO, V., Moranta, D., Llobet-Brossa, E. *et al.* Klebsiella pneumoniae triggers a cytotoxic effect on airway epithelial cells. **BioMed Central Microbiol**, v. 9, n. 156, p. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-156>. Acesso em: 20 nov. 2025.

CASTRO, L. G. Z. de. Prospecção de microrganismos isolados de ninho de espuma de Leptodactylus vastus e Physalaemus cuvieri com potencial biotecnológico. 2019. oof. TCC (Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

COSTA, V. A. S. da. **Fungos da caatinga e seu potencial na promoção da fertilidade do solo de áreas em processo de desertificação**. Dra. Vânia Maria Maciel Melo. 2021. 51 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/59481>. Acesso em: 20 nov. 2025.

CHAUHAN, P. *et al.* Soil microbiome: diversity, benefits and interactions with plants. **Sustainability**, v. 15, p. 14643, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su151914643>. Acesso em: 10 out. 2025

CHO, H. *et al.* Chromosome-level genome assembly and improved annotation of onion genome (*Allium cepa* L.). **Sci Data**, v. 12, n. 336, 2025. <https://doi.org/10.1038/s41597-025-04635-3>. Acesso em: 20 out. 2025

COLEINE, C. *et al.* (2024) Dryland microbiomes reveal community adaptations to desertification and climate change. **The ISME Journal**, v. 18. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae056>. Acesso em: 10 out 2025

DEMAIN, A. L. Importance of microbial natural products and the need to revitalize their discovery. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 41, p. 185-201, 2014. Disponível em: <https://academic.oup.com/jimb/article/41/2/185/5995291>. Acesso em: 6 out. 2025.

ELSHAFIE, H. S.; CAMELE, I. An Overview of Metabolic Activity, Beneficial and Pathogenic Aspects of Burkholderia Spp. **Metabolites**, v. 11, p. 321, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/metabo11050321>. Acesso em: 20 nov. 2025.

EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. E-book. p. 558. ISBN 978-85-277-2384-8. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/978-85-277-2384-8/>. Acesso em: 22 nov. 2025.

FERNANDES, T. C. C. *et al.* Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252-259, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357506001945>. Acesso em: 20 set. 2025.

FIRBAS, P.; AMON, T. Chromosome damage studies in the onion plant *Allium cepa* L. **International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics**, v. 67, p. 25-35, 2014. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00087114.2014.891696>. Acesso em: 9 nov. 2025.

GÖMÜRGEN, A. N. Cytological Effect of the Potassium Metabisulphite and Potassium Nitrate Food Preservative on Root Tips of *Allium cepa* L. **Cytologia**, v. 70, n. 2, pg. 119-128, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1508/cytologia.70.119>. Acesso em: 20 set. 2025.

HOFFELDER, D. R. *et al.* Resolution of anaphase bridges in cancer cells. **Springer Verlag**, v. 112, n. 8, p. 389-397, 2004. Disponível em: <https://www.scopus.com/pages/publications/3543013739#>. Acesso em: 22 set. 2025.

HUBER, C. *et al.* Metabolism of acetaminophen (paracetamol) in plants—two independent pathways result in the formation of a glutathione and a glucose conjugate. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 16, p. 206-213, 2009. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-008-0095-z>. Acesso em: 20 nov. 2025.

JESUS, E. C. *et al.* A bibliometric analysis on soil microbial diversity and processes: global trends and methodologies. **Soil Organisms**, v. 97, n. SI, p. 65-77, 2025. Disponível em: <https://soil-organisms.org/index.php/SO/article/view/423>. Acesso em: 6 out. 2025.

KATO, T. A; HASKINS, J. S. Mitotic index analysis. In: Gotoh E (ed) Chromosome Analysis. **Methods in Molecular Biology**, v. 2519, 2023. Humana, New York, NY. Disponível em: https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-0716-2433-3_3. Acesso em: 22 set 2024.

KURAS, L. Characterization of Protein-DNA Association In Vivo by Chromatin Immunoprecipitation. **Signal Transduction Protocols**. Methods in Molecular Biology, v. 284, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1385/1-59259-816-1:147>. Acesso em: 20 set. 2025.

KUMAR, V. *et al.* **Robbins & Kumar Patologia Básica**. 11^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2025. 856 p.

KWON, M; LEIBOWITZ, M. L.; LEE, J. H. Small but mighty: the causes and consequences of micronucleus rupture. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 52, n. 11, p. 1777-1786, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s12276-020-00529-z>. Acesso em: 25 set. 2025

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 22, p. 680-685, 1970. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/227680a0>. Acesso em 2 nov. 2024

LANGE, T. de. Protection of mammalian telomeres. **Oncogene**, v. 21, p. 532–540, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205080>. Acesso em: 20 set. 2025.

LIU, X; *et al.* Phase separation drives decision making in cell division. **Journal of Biological Chemistry**, v. 295, n. 39, p. 13419-13431, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.011746>. Acesso em: 25 set. 2025.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14^a ed, Porto Alegre: Artmed, 2016.

MARCANO, L.; CARRUYO, I.; MONTIEL, X.; MORENO, P. M. Inhibición de la actividad biosintética nucleolar inducida por el plomo en meristemas radiculares de cebolla (*Allium cepa* L.). **Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas**, v. 35, n. 1, 2001. Disponível em: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/208>. Acesso em: 20 set. 2025.

MARCANO, L. *et al.* Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. **Elsevier**, Environmental Research, 2004, v. 94, n. 2, p. 221-226. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001393510300121X>. Acesso em: 20 set. 2025.

MERCADO, S. A. S.; GALVIS, D. G. V. Paracetamol ecotoxicological bioassay using the bioindicators *Lens culinaris* Med. and *Pisum sativum* L. **Environmental science and pollution research international**, v. 30, n. 22, p. 61965–61976, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26475-7>. Acesso em: 18 set. 2024.

MIR, M. A.; BANIK, B. K. Sustainable healing: Natural compounds facilitating the future cancer treatment. **World Development Sustainability**, v. 6, 2025, Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772655X25000126>. Acesso em: 6 out 2025.

MUSIVAND, B. *et al.* *Allium cepa* inhibits *Aspergillus fumigatus* growth and virulence and suppresses the expression of *glip* gene involved in fungal pathogenesis. **Infection Epidemiology and Microbiology**, v. 8, n. 2, p. 149-158. Disponível em: https://iem.modares.ac.ir/article_1884.html. Acesso em: 20 nov. 2025.

NELSON, D. L. *et al.* **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 8^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2022.

OLIVEIRA, A. F. N. **Seleção de isolados de bactérias de solos de caatinga com potencial para promoção de crescimento vegetal**. Dra. Vânia Maria Maciel Melo. 2020. 63 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal

do Ceará, Fortaleza, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/59478>. Acesso em: 20 nov. 2025.

PAN, T., LI, Q. Mobile genetic elements in *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of Bacteriology**, v. 207, p. 12-25, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jb.00012-25>. Acesso em: 20 nov. 2025.

PAREEK, S. *et al.* Onion (*Allium cepa* L.): Chemistry and Human Health, 2nd Edition. **Fruit and Vegetable Phytochemicals**, p. 1145-1162, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/320428763_Onion_Allium_cepa_L_Chemistry_and_Human_Health_2nd_Edition. Acesso em: 20 nov. 2025.

PEDRINHO, A., *et al.* Soil microbial diversity plays an important role in resisting and restoring degraded ecosystems. **Plant Soil**, v. 500, p. 325-349, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-024-06489-x>. Acesso em: 6 out 2025.

PETERSON, L. M.; TISA, L. S. Molecular Characterization of Protease Activity in *Serratia* sp. Strain SCBI and Its Importance in Cytotoxicity and Virulence. **Journal of Bacteriology**, v. 196, n. 22, p. 3923-3936, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jb.01908-14>. Acesso em: 20 nov. 2025.

PROCÓPIO, L.; BARRETO, C. The soil microbiomes of the Brazilian Cerrado. **Journal of Soils and Sediments**, v. 21, p. 2327-2342, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11368-021-02936-9>. Acesso em: 6 out 2025.

QUINTERO-RINCÓN, P. *et al.* Natural anticancer agents: prospection of medicinal and aromatic plants in modern chemoprevention and chemotherapy. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 15, n. 25, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13659-025-00511-0>. Acesso em: 6 jan. 2026.

RANI, A.; SAINI, K. C.; BAST, F.; MEHARIYA, S.; BHATIA, S. K.; LAVECCHIA, R.; ZUORRO, A. Microorganisms: A Potential Source of Bioactive Molecules for Antioxidant Applications. **Molecules**, v. 26, p. 1142, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules26041142>. Acesso em: 6 out. 2025.

RITTER, James M. *et al.* **Rang & Dale Farmacologia**. 10^a. ed. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 2025.

SANTOS, M. O. *et al.* Estimated Cancer Incidence in Brazil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 69, n. 1, 2023. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/3700>. Acesso em: 6 out. 2025.

SCHMIDT, M.; BASTIANS, H. Mitotic drug targets and the development of novel anti-mitotic anticancer drugs. **Drug Resistance Updates**, v. 10, p. 162-181, 2007. Disponível

em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1368764607000441?via%3Dihub>. Acesso em: 21 out. 2025.

SHARP, D. J. Cell division: MAST sails through mitosis. **Current Biology**, v. 12, n. 17, p. 585-587, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(02\)01098-9](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(02)01098-9). Acesso em: 25 set. 2025.

SKÓRA, J. et al. Toxinogenicity and cytotoxicity of *Alternaria*, *Aspergillus* and *Penicillium* moulds isolated from working environments. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 14, p. 595-608, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13762-016-1172-3>. Acesso em: 20 nov. 2025.

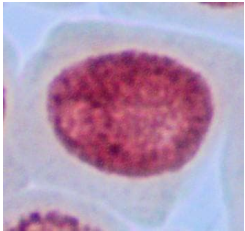
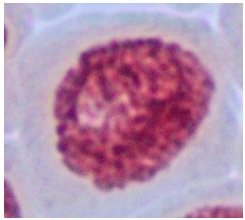
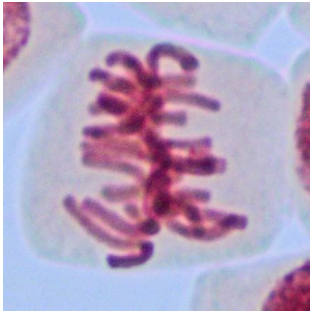
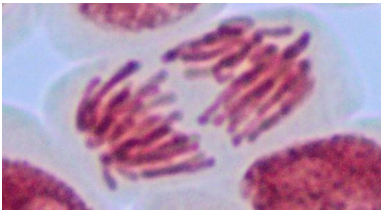
SOUZA, R. B. de *et al.* Genotoxicity evaluation of two metallic-insecticides using *Allium cepa* and *Tradescantia pallida*: A new alternative against leaf-cutting ants. **Chemosphere**, v. 168, p. 1093–1099, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27816288/> Acesso em: 11 nov. 2024.

SUNG, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians, New York, v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21660>. Acesso em: 6 out. 2025.

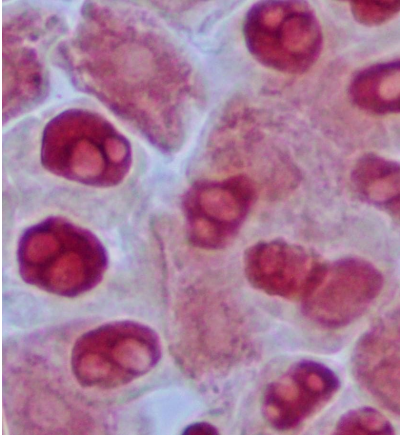
TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. **Environmental Contamination**, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/221926002_Bioindicator_of_Genotoxicity_The_Allium_cepa_Test. Acesso em: 9 nov. 2025.

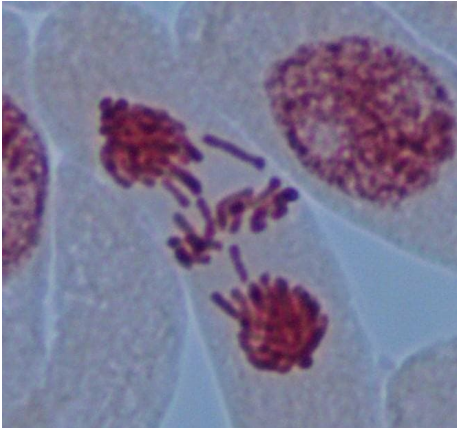
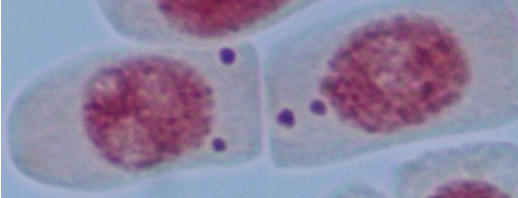
TÜRKÖGLÜ, S. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. **Food and Chemical Toxicol**, v. 46, n. 6, p. 2035-2041, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691508000665>. Acesso em: 20 set. 2025.

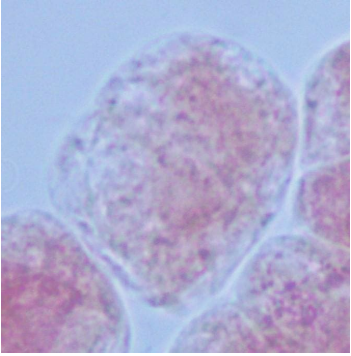
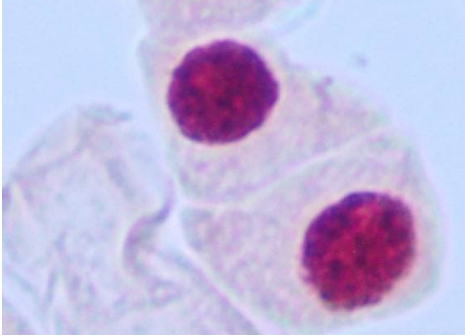
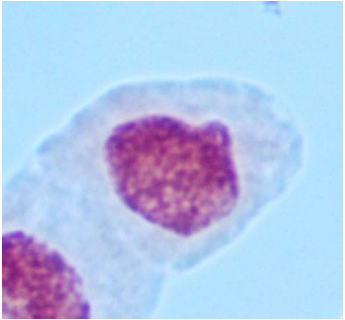
APÊNDICE A – ATLAS DE REFERÊNCIA PARA MICROSCOPIA

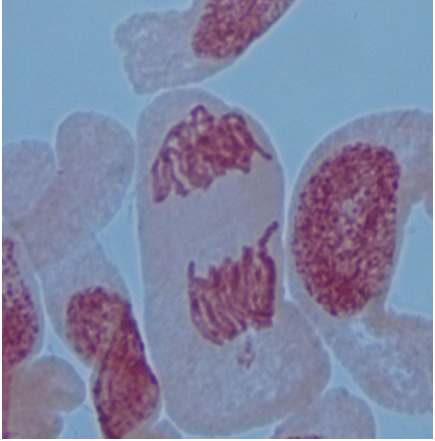
Normal	
Interfase	
Prófase	
Prófase	
Metáfase	
Anáfase	

Telófase	
----------	--

Anomalias do ciclo mitótico	
Nucléolo largo	
Anáfase irregular	

Cromossomos atrasados/retardatários (anáfase)	 A light micrograph of a cell in anaphase. The chromosomes are stained dark purple. Most chromosomes are aligned at the metaphase plate, but a group of chromosomes is lagging behind, moving more slowly towards one of the poles.
Cromossomos atrasados/retardatários (telófase)	 A light micrograph of a cell in telophase. Two distinct groups of chromosomes are visible, each moving towards a pole. A group of chromosomes is lagging in the center of the cell, between the two main groups.
Anáfase com ponte	 A light micrograph of a cell in anaphase. Two groups of chromosomes are moving towards opposite poles. A thin, thread-like bridge of chromatin connects the two groups, indicating a chromosome bridge.
Micronúcleo	 A light micrograph of several cells. Two cells are shown with large, prominent nuclei. In each of these cells, there is a smaller, distinct, dark-stained nucleus located near the main nucleus, which is a micronucleus.

Células sem núcleo	
Hipercromasia	
Metáfase com aderência	
Broto nuclear	

Quebra cromossômica	 A light micrograph of several cells stained with a red dye. The nuclei are visible, and some show irregular, fragmented, or broken chromosomal structures, indicating chromosomal breakage.
Quebra cromossômica	 A light micrograph of a cell stained with a red dye. The nucleus shows two distinct, broken or fragmented chromosomal structures, indicating chromosomal breakage.

Fonte: Elaborado pelo autor.