
ECOLOGIA

CAIO FABIO GIOVANNI PAVÃO

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA TOXICIDADE
DE ANTICONCEPCIONAL NA GERMINAÇÃO
DE SEMENTES DE *Lactuca sativa***



Rio Claro - SP
2023

CAIO FABIO GIOVANNI PAVÃO

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA TOXICIDADE DE
ANTICONCEPCIONAL NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
*Lactuca sativa***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, para obtenção do grau de Ecólogo

Orientador: Antonia Marli dos Santos

Rio Claro - SP
2023

P337a Pavão, Caio
Avaliação comparativa da toxicidade de anticoncepcional na germinação de sementes de *Lactuca sativa* / Caio Pavão. -- Rio Claro, 2023
29 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ecologia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientadora: Antonia Marli dos Santos

1. Ecologia. 2. Germinação. 3. Fitotoxicidade. 4. Anticoncepcional. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CAIO FABIO GIOVANNI PAVÃO

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA TOXICIDADE DE
ANTICONCEPCIONAL NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
*Lactuca sativa***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita
Filho", para obtenção do grau de Ecólogo

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dra. Antonia Marli dos Santos

Prof. Dra. Daiane Cristina Sass

Prof. Dra. Alessandra Ike Coan

Aprovado em: 07 de Julho de 2023

Caio F.G. Pavão
Assinatura do discente

Antonia Marli dos Santos
Assinatura do(a) orientador(a)

RESUMO

É notória a preocupação dos efeitos que os resíduos de diversos medicamentos podem trazer ao meio ambiente. O consumo de tais remédios, tal como os anticoncepcionais, podem trazer efeitos nas atividades biológicas do ecossistema como um todo, já que pode ocorrer alterações ambientais na forma em que esses resíduos são descartados, mediante os diversos usos que podemos sinalizar, tais como: hospitalar, veterinário e doméstico. Um aumento de suas descargas e a de seus produtos de transformação no ambiente e sua toxicidade se manifestam nos componentes vivos dos ecossistemas, impactando diretamente em ações que possam atuar em saneamento básico. Isso pode ser notado, por exemplo, em uma análise de germinação de sementes.

Estes podem ser dependentes da própria semente: intrínsecos (tais como a constituição da semente ou a sua maturidade e vitalidade), ou extrínsecos (tais como a luz, a temperatura, características do solo, contaminantes, etc).

O objetivo deste trabalho de natureza descritiva é analisar a presença dos resíduos de um determinado medicamento conhecido por “Ciclo 21”, um anticoncepcional da União Química Farmacêutica Nacional S/A, que, por meio da utilização de sementes como bioindicadores durante o experimento demonstrando o seu potencial na detecção de problemas ambientais e como isso pode impactar no comportamento do ecossistema.

Faz-se necessário discutir a necessidade de ações que possam auxiliar neste tipo de contaminação, ao reduzir os impactos, orientando o gerenciamento adequado de resíduos e descarte, já que de acordo com o estudo, o medicamento se mostrou tóxico em todas as suas concentrações, apresentando baixos índices de germinação quando comparados com a ausência do medicamento na amostra.

Palavras-chave: Anticoncepcionais; ecossistemas; sementes; *Lactuca sativa*.

ABSTRACT

There is a notorious concern about the effects that the residues of various medicines can bring to the environment. The consumption of such medicines, such as contraceptives, can have effects on the biological activities of the ecosystem as a whole, since environmental changes can occur in the way in which these residues are disposed of, through the various uses that we can indicate, such as: hospital , veterinary and domestic. An increase in its discharges and that of its transformation products into the environment and its toxicity are manifested in the living components of ecosystems, directly impacting on actions that can act in basic sanitation. This can be noticed, for example, in a seed germination analysis.

These can be dependent on the seed itself: intrinsic (such as the constitution of the seed or its maturity and vitality), or extrinsic (such as light, temperature, soil characteristics, contaminants, etc.).

The objective of this descriptive work is to analyze the presence of residues of a certain medicine known as "Ciclo 21", a contraceptive from União Química Farmacêutica Nacional S/A, which, through the use of seeds as bioindicators during the experiment demonstrating the its potential in detecting environmental problems and how this can impact on ecosystem behavior.

It is necessary to discuss the need for actions that can help in this type of contamination, by reducing impacts, guiding the proper management of waste and disposal, since according to the study, the drug proved to be toxic in all its concentrations, showing low germination rates when compared to the absence of the drug in the sample.

Keywords: Contraceptives; ecosystems; seeds; *Lactuca sativa*.

SUMÁRIO

| | | |
|-----|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 6 |
| 2 | DESENVOLVIMENTO..... | 8 |
| 3 | OBJETIVOS..... | 11 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 12 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 16 |
| 5.1 | Ensaio de Fitotoxicidade em sementes..... | 16 |
| 6 | CONCLUSÃO..... | 24 |
| | REFERÊNCIAS..... | 25 |

1 INTRODUÇÃO

Diversos tipos de medicamentos são utilizados em todo o mundo, e após a utilização dos mesmos, esses compostos podem ser de forma parcial, metabolizados e excretados e entrar nos sistemas de esgotos existentes, efluentes industriais, águas superficiais, subterrâneas e mesmo a potável (JACOB, 2017).

Compreende-se que a presença de fármacos no ambiente é um problema ambiental emergente pois está diretamente relacionada com o aumento do consumo de fármacos na atualidade (RZYMSKI *et. al*, 2017). Ainda que os benefícios do uso de medicamentos na saúde e bem estar humano e animal sejam reconhecidos, sabe-se que se tratam de importantes contaminantes ambientais (JACOB, 2017).

Ao se verificar as concentrações (mesmo que subterapêuticas) à espécie humana nas águas tratadas por estações de tratamento de esgotos e efluentes, pode haver uma contaminação ambiental por conta de interferentes endócrinos estrogênicos, tal como é com um dos componentes do medicamento “Ciclo 21”, mais especificamente o 17 α -etinilestradiol, que em uma exposição crônica e múltipla de diferentes espécies químicas, produziriam ações deletérias sobre os organismos.

Tal fato poderia impactar no sistema reprodutivo e nervoso, conforme é trazido por Singleton *et al.* (2003), além de aparecimento de diversos tipos de câncer, atrelados com o sistema reprodutivo.

A preocupação com os efeitos relacionados com a exposição à tais alterações, em termos históricos, provêm desde o início do século XX, observando os efeitos estrogênicos em animais de laboratório expostos a extratos de órgãos e tecidos reprodutivos femininos (ALLEN e DOISY, 1923).

Para diagnosticar os problemas relacionados à poluição de determinados ambientes, sistemas-teste vegetais vêm se destacando como excelentes modelos para triagem e monitoramento ambiental (FISKESJÖ, 1985; GRANT, 1994) como bioindicadores em contrapartida ao teste em animais (COSTA; MENK, 2000).

Por meio desses mencionados, podem ser realizados ensaios de aberrações cromossômicas, testes citogenéticos, ensaios de germinação de

sementes e análise de crescimento (CONTE *et al.*, 1998). Bioensaios realizados com plantas têm sido considerados mais sensíveis e mais simples, quando comparados aos que utilizam animais (FERNANDES *et al.*, 2007).

No presente trabalho pretendemos estudar a contaminação do medicamento no meio ambiente, com foco no estudo de germinação de semente, relacionado com as diferentes concentrações do anticoncepcional.

O modo comparativo será para avaliar a forma com que a germinação se manifesta nesses cenários diversos, considerando diferentes concentrações de medicamento *versus* ausência do medicamento *versus* uso do filtro de carvão ativado para filtragem. Este trabalho, portanto, discorre a seguinte pergunta norteadora: Os hormônios presentes no anticoncepcional apresentam potencial de toxicidade no ambiente?

2 DESENVOLVIMENTO

Silva *et. al* (2011) trazem no estudo um caso realizado na Alemanha, em que o consumo de medicamentos superou, no ano de 2011, mais de 100 toneladas por ano. Os produtos farmacêuticos são a classe de poluentes orgânicos emergentes que mais têm chamado a atenção dos pesquisadores, devido aos números crescentes de utilização de medicamentos (ainda que não seja considerado um dado para uma quantidade real de consumo, visto que diversos medicamentos são consumidos sem receituário médico ou que sejam ilegalmente adquiridos).

As consequências indesejadas podem afetar a saúde do ecossistema de forma geral, por via de emissão de gases e particulados na produção industrial farmacêutica, tanto quanto em indústrias de incineração de fármacos e seus excipientes. Para a saúde coletiva também, considerando a contaminação em águas e utilização na agricultura, por exemplo (WHO, 2004).

Quando são considerados aspectos relacionados com a saúde humana, os insumos biologicamente ativos sobre as células e presentes na formulação dos medicamentos, são em muitas vezes considerados substâncias ambientalmente passíveis de bioacumulação, por conta da sua alta atividade biológica, baixa biodegradabilidade e grande caráter lipofílico dessas substâncias, conforme é tratado por Christensen (1998).

Petrovic (2005) traz que interferentes endócrinos são categorizados como substâncias químicas que podem impactar no funcionamento do sistema endócrino de espécies animais, e também de seres humanos, podendo causar câncer e prejudicar os sistemas reprodutivos. Tais substâncias podem ser de origem antropogênica, denominados “xenoestrogênios”, por exemplo, presentes no metabolismo animal (estrona, progesterona, testosterona, etc) e também presentes no metabolismo de plantas, como os fitoestrogênios.

Ao se olhar para o Brasil, Sodré e Locatelli (2010) trazem que em um estudo realizado em 2002, a principal fonte de contaminação das águas é feita por meio de esgotos domésticos que não são tratados, já que a maior parte dos efluentes urbanos não passam pelo processo de tratamento terciário para a remoção de nutrientes e desinfecção.

Um estudo com amostras de água superficial dos rios Atibaia, Ribeirão Anhumas, Capivari e Jundiá (Bacia do rio Atibaia), localizados na região metropolitana da cidade de Campinas (SP), revelou a presença de paracetamol, cafeína, ácido acetilsalicílico, di-n-butilftalato, bisfenol A, 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol (este último, sendo um dos compostos do medicamento “Ciclo 21”) nas faixas de concentração entre 0,005 até 41,7 μgL^{-1} (SODRÉ *et al*, 2010). Com isso, nota-se, assim, o baixo percentual de tratamento da Região Metropolitana de Campinas, especialmente nas regiões onde a densidade populacional é mais elevada (SODRÉ *et al*, 2010).

Essas substâncias estão largamente difundidas em diversas ações do dia a dia, estando presente em diversas matrizes, como é o caso de (a) água para consumo humano e alimentos, onde se destacam os fitoestrógenos em plantas, agrotóxicos nos vegetais e na água, que possui a maior parte dos interferentes endócrinos absorvidos de tais fontes (via oral); (b) cosméticos que possuem alquilfenóis, composto por um agrupamento fenólico ligado a uma cadeia carbônica, que têm esses compostos gerando os alquilfenóis etoxilados (APEs) que estão presentes em formulações de diversos produtos (Birkett e Lester, 2002).

Rodrigues *et al.* (2013) tratam das alterações microbiológicas, fisiológicas e químicas, considerando a presença de compostos tóxicos gerados e como eles podem acarretar um desequilíbrio ambiental, impactando na qualidade, produção e plantio como um todo.

Mayer e Poljakoff-Mayber (1989) já tratavam sobre a temperatura e a luminosidade interagindo de forma unida, como importantes na germinação. Tal fato ocorre, por exemplo, por conta do mecanismo de ação de germinação de sementes em altas temperaturas, que podem estar atrelados com aspectos de interesse biológico e ecológico, como o enfraquecimento do endosperma. Por isso, é tão importante a escolha da temperatura como fator de germinação, já que para eles, a temperatura considerada ótima, é aquela que há a mais alta porcentagem de germinação em um menor espaço de tempo.

Ainda que diversas pesquisas tenham indicado os fármacos como potenciais contaminantes ambientais, esse assunto não atraiu significativo reconhecimento até os anos de 1990, quando se descobriu que eram substâncias capazes de causarem efeitos com consequências negativas nos

ecossistemas em concentrações tão reduzidas como nanogramas por litro (PURDOM *et al.*, 1994).

Nascimento (2012) também considera a importância da temperatura na germinação de sementes de *Lactuca sativa* principalmente nas primeiras horas de embebição de água pelas sementes, que deve ocorrer em temperaturas mais amenas.

Tannus (2017) traz que os antibióticos e os interferentes endócrinos estão no topo desta preocupação já que causam resistência bacteriana, e são representados pelos hormônios e outras substâncias, respectivamente.

As análises da presença de substâncias poluentes procedem com a finalidade de gerar dados que são comparados com as amostras controle, e a influência de contaminantes tóxicos são empregadas como precursor de toxicidade.

Asahide *et al* (2012), tratam da importância em observar que a fase de germinação de uma planta tem diversos eventos fisiológicos que atuam nesse processo de funções metabólicas em que a água é a principal via. Consequentemente, pode-se considerar que uma vez que esse meio aquoso estiver contaminado, há um alto risco de comprometimento na germinação, fazendo, portanto, com que a influência de contaminantes tóxicos seja considerado como precursor de toxicidade.

3 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo principal avaliar a toxicidade do anticoncepcional “Ciclo 21” em sementes de *Lactuca sativa*. Os objetivos específicos são verificar os efeitos de diferentes combinações de contaminantes e também as respectivas concentrações na germinação e desenvolvimento de mudas de diferentes cultivares de alface, analisando o comportamento fisiológico das sementes.

A toxicidade, a depender do grau, pode influenciar no desenvolvimento normal das plantas, principalmente nas suas etapas iniciais, como é o caso em estudo da germinação e desenvolvimento de raízes.

Ao observar e medir o comprimento das mesmas em um espaço de tempo predeterminado, controlando esse período, será possível então notar a presença e influência de compostos químicos tóxicos no ambiente.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O caminho metodológico foi realizado, primeiramente com uma metodologia de análise comparativa para triagem toxicológica de sementes de *Lactuca sativa* (alface), que conforme BEDNARCZUK *et. al* (2010) seguem os princípios dos 3 Rs, ou seja: redução, refinamento e substituição da experimentação animal.

As sementes foram compradas em loja de produtos agropecuários. DA SILVA *et al* (2008) instruíram que um dos primeiros passos a serem feitos é lavá-las em água corrente e serem secas antes do preparo do bioensaio, pois elas podem estar com defensivo agrícola, para que não haja a influência no teste. Todas as sementes que foram utilizadas são do mesmo lote para uma melhor avaliação relacionando a germinação e pureza em porcentagem.

Para teste da toxicidade da amostra, foi realizado um controle positivo (CP) por meio de um tóxico conhecido por Sulfato de Zinco 1M e controle negativo (CN) com água destilada.

Para o estudo presente, foram colocadas soluções concentradas de medicamento “Ciclo 21” conhecido por ser um anticoncepcional, que é indicado para prevenção de gravidez e para o controle de irregularidades menstruais. Em sua composição, os principais ativos em cada comprimido, e suas concentrações, respectivamente, são combinados entre Etinilestradiol (0,03 mg) e Levonorgestrel (0,15 mg) e demais excipientes (Lactose, Povidona, Celulose Microcristalina, Laurilsulfato De Sódio, Croscarmelose Sódica e Macrogol).

Os ativos principais, Etinilestradiol e Levonorgestrel, ao se considerar uma cartela de 21 comprimidos, obtém-se que há 0,63 mg e 3,15 mg de cada, respectivamente. Quando considerado como unidade de medida gramas (g), obtém-se:

Equação 1

$$0,00315 \text{ g} - 100 \text{ mL}$$

$$x - 1000 \text{ mL} (1 \text{ L}) = 0,0315 \text{ g/L de concentração de Etinilestradiol}$$

Equação 2

$$0,00063 \text{ g} - 100 \text{ mL}$$

$$x - 1000 \text{ mL} (1 \text{ L}) = 0,0063 \text{ g/L de concentração de Levonorgestrel}$$

Para realizar a curva de dose resposta, houve 3 triplicatas de diluições da amostra a ser estudada, considerando como fator de diluição 0,3 que permitiu avaliar a toxicidade em intervalos entre: 100%, 30%, 10%, 3% e 1%.

Foi diluído em água destilada uma amostra inicial contendo uma cartela do medicamento “Ciclo 21” em um Balão Volumétrico de 100 mL para concentração de 0,0315 g/L de Etinilestradiol e 0,0063 g/L de Levonorgestrel e a partir dessa amostra, foram feitas as 9 demais diluições considerando as porcentagens acima.

São amostras com concentrações seguindo, para o primeiro ativo (Etinilestradiol) os seguintes valores: 0,0315 g/L (A1), 0,00945 g/L (A2), 0,00315 g/L (A3), 0,000945 g/L (A4) e 0,000315 g/L (A5). Para o seguinte ativo (Levonorgestrel), obtém-se: 0,0063 g/L (A1), 0,00189 g/L (A2), 0,00063 g/L (A3), 0,000189 g/L (A4) e 0,000063 g/L (A5).

Ao se considerar a solução final de 4 mL utilizada nas placas, foram feitas as diluições seguindo respectivamente: A1 = 4 mL da amostra inicial concentrada, A2 = 1,2 mL; A3 = 0,4 mL; A4 = 0,12 mL; A5 = 0,04 mL. A amostra A6 foi colocada no CP (Zinco 1 M), a A7 no CN (Água destilada), A8 seguiu as concentrações de A1 porém com tratamento de carvão ativado com 10g (FCA), e A9 seguiu as concentrações de A5, com concentração de [1%] em contato com o dobro (20g) de filtro de carvão ativado.

A partir do que foi apresentado, obteve-se o cálculo do Índice de Crescimento Radicular (ICR) - Equação 3 e do Índice de Germinação (IG) - Equação 4 - para cada extrato apresentado. Pode-se verificar que as equações a serem utilizadas foram:

Equação 3

$$\text{Índice de Crescimento Radicular (ICR)} = \text{CRA} \div \text{CRCN}$$

Em que:

CRA = Comprimento da Radícula na Amostra

CRCN = Comprimento da Radícula no Controle Negativo

Equação 4

$$\text{Índice de Germinação} = \text{ICR} \times (\text{SGA} \div \text{SGCN}) \times 100$$

Em que:

ICR = Índice de Crescimento Radicular

SGA = Número de Sementes Germinadas na Amostra

SGCN = Número de Sementes Germinadas no Controle Negativo

Terminado o tempo de exposição, foi feita uma medição do comprimento da raiz de cada uma das plântulas correspondente a cada concentração e controles positivo e negativo. Em seguida, houve uma quantificação do número de sementes que não germinaram e a porcentagem de variação do crescimento da raiz. Testes-controles foram realizados com água destilada colocada na preparação das soluções.

Todos os ensaios foram realizados em triplicatas, contendo 20 sementes em cada placa, gerando, portanto, uma análise em cima de 180 sementes para cada diluição. O comprimento do hipocótilo e das radículas foi medido com auxílio de uma régua milimetrada e foram germinadas sementes cujo comprimento médio das radículas foi igual ou superior a 2 mm.

Em cada placa de Petri (90 mm x 15 mm), foi utilizado um papel de filtro (papel de germinação) que permaneceu úmido, porém não encharcado, contendo 20 sementes de *L. sativa* (colocadas com pinça com espaço suficiente entre elas para permitir o crescimento das radículas) em triplicatas para a germinação sendo verificado o controle negativo, temperatura (25 °C) e luminosidade.

Neste estudo, as placas foram tampadas, vedadas com filme de PVC a fim de evitar a perda de umidade e foram incubadas por 5 dias (120h), sem o recebimento de luz, pois a ausência é justificada por Dalastra *et al.*, (2016) que tratam sobre a baixa incidência de luz impactando diretamente no crescimento, já que as plantas que foram mantidas em sombreamento, tendem a ser mais altas e com uma área foliar maior em relação às que estavam crescendo na luz.

As placas foram devidamente identificadas, colocadas dentro de uma caixa de isopor, em uma sala com temperatura controlada por ar condicionado em 25 °C, já que, de acordo com Filgueira (2003) a temperatura ótima para a germinação das sementes de alface é de 20 °C a 30 °C, pois acima dessa margem, elas não germinam, pois provêm de climas temperados, como o Sul da Europa, por exemplo.

Dentro da caixa, foi colocado um termômetro, para confirmação da temperatura durante o período, e foram feitas algumas conferências se a temperatura estava adequada. Depois, foram realizadas mais duas repetições, considerando os mesmos processos.

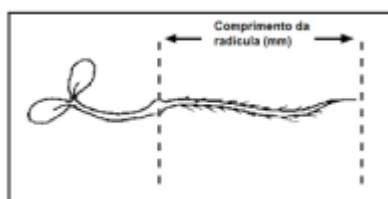
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaio de fitotoxicidade em sementes

No estudo os parâmetros considerados foram as germinações de sementes, comprimento da radícula e do hipocótilo (conforme a Figura 1), considerando um estudo comparativo entre as diluições para obter os resultados das soluções bem concentradas com as outras diluídas.

Além disso, utilizou-se também um filtro de carvão ativado - FCA (para filtrar as soluções, com o objetivo de diminuir o contaminante). Agitou-se bem e deixou em contato com a solução antes de filtrar e ser colocado pra germinação por volta de 20 minutos.

Figura 1. Esquema para medir comprimento do hipocótilo e radícula em sementes

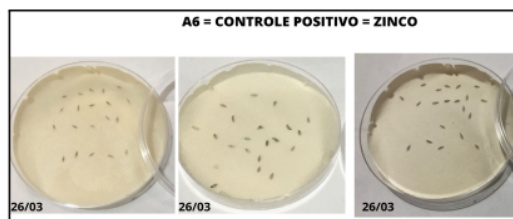


Fonte: Ariati (2015)

De acordo com a fabricante, a porcentagem de germinação das sementes de alface do lote que foi utilizado neste estudo é de 92%. No teste realizado, 90% das sementes germinaram no Controle Negativo, ou seja, água destilada (Figura 3). Na figura anterior, (Figura 2), são apresentados os resultados do controle positivo.

Ao se considerar as figuras expostas no trabalho, faz-se necessário compreender que estas são as mais representativas das amostras obtidas, e os resultados aqui apresentados, são uma média de todas as amostras.

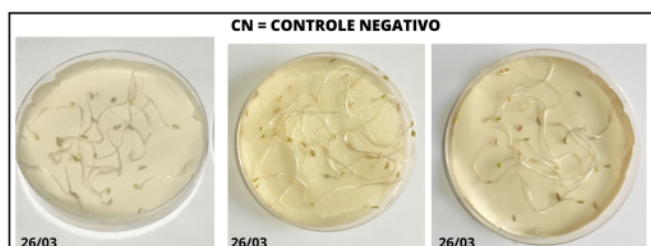
Figura 2. Sementes não germinadas em Controle Positivo



Fonte: Elaborado pelo autor

Mediante tal fato, é notório que o sulfato de Zinco 1 M zerou a germinação das sementes, fazendo com que ele se apresente como um grande exemplo de controle positivo para a toxicidade. Enquanto a amostra com água destilada, se mostrou um exemplo de controle negativo excelente, viabilizando o crescimento máximo de sementes, quase chegando no total das amostras (90%), ou seja, 162 das 180 sementes utilizadas.

Figura 3. Sementes germinadas em Controle Negativo

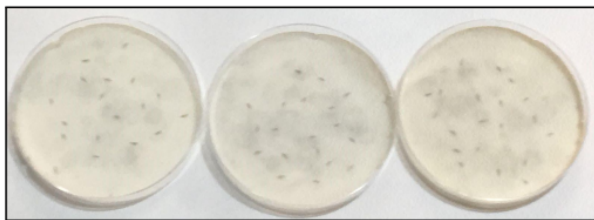


Fonte: Elaborado pelo autor

O valor médio da radícula neste cenário foi de 1,24 cm enquanto o hipocótilo trouxe um valor médio de 2,23 cm. Ademais, os pêlos radiculares presentes nas radículas em meio ao Controle Negativo, eram bem mais desenvolvidos perante as outras amostras consideradas em todo o estudo.

Ao utilizar o filtro com 10g de carvão ativado (FCA), nenhuma semente foi germinada ao se colocar a concentração máxima (A8 com concentração de 100%), trazendo, portanto, a ineficiência para este tipo de tratamento, não sendo efetivo no controle da substância, conforme a Figura 4 abaixo.

Figura 4. Sementes não germinadas em A8

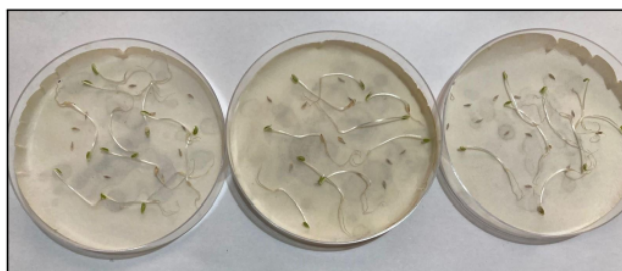


Fonte: Elaborado pelo autor

Porém, ao se observar a Figura 5 abaixo, a amostra 9 (A9) realizada com o FCA, porém, desta vez, com concentração de [1%] em contato com o dobro (20g) de filtro de carvão ativado trouxe resultados distintos. Dessa forma, observou-se que, ao manter pelo mesmo tempo da A8, o resultado foi positivo, demonstrando que, ao diminuir a concentração do “Ciclo 21”, o FCA se mostrou com maior eficiência na germinação em relação à amostra A5 que não recebeu carvão, e que apresentou menor número de sementes germinadas (IG subiu de 37,78% para 50%, considerando A5 e A9, respectivamente).

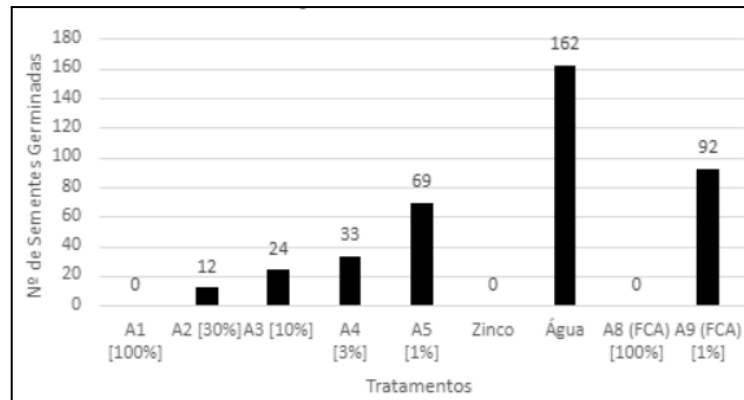
Já para comprimento de hipocótilo e de radícula, não houve diferença significativa quando comparado A5 com A9.

Figura 5. Sementes germinadas em A9



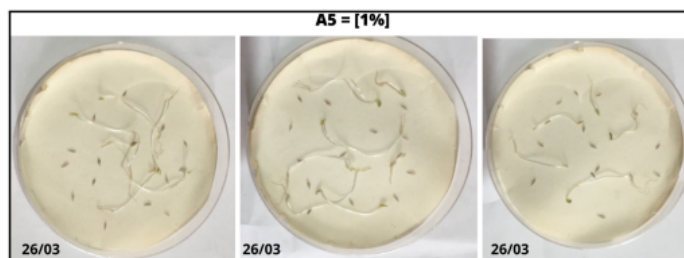
Fonte: Elaborado pelo autor

Embora a amostra 5 tenha apresentado baixa germinação das sementes de *L. sativa* (conforme apresentado na Figura 6 abaixo) ainda assim, houve um estímulo do crescimento do hipocótilo em valor médio de 1,3 cm com germinação média de 38% e tamanho médio de radícula de 1,1 cm. Quando comparado com a amostra do Controle Negativo, observa-se que o crescimento do hipocótilo foi 58,2%.

Figura 6. Quantidade de sementes germinadas

Fonte: Elaborado pelo autor

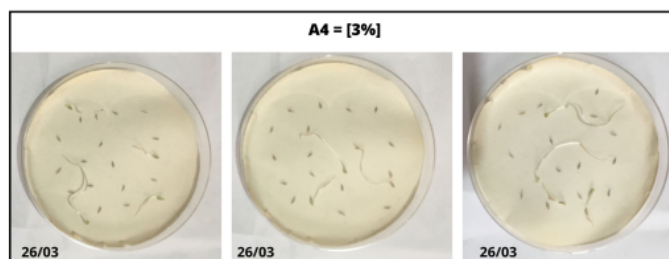
Os resultados da Figura 6 mostram, portanto, de maneira geral, neste estudo, que há grande interferência do medicamento na germinação das sementes, visto que até em doses muito pequenas, ainda é apresentado um baixo índice de germinação. Para a amostra 5 (A5), de acordo com a Figura 7, a amostra com 1% de diluição do medicamento, apresenta 38,33% de germinação e para os demais, abaixo de 20%.

Figura 7. Sementes germinadas em A5

Fonte: Elaborado pelo autor

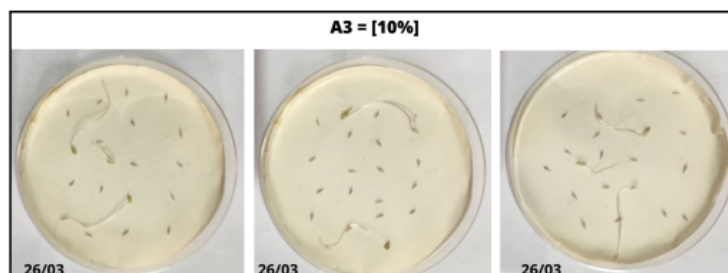
A amostra 4 (A4), de acordo com a Figura 8, com mais toxicidade, já apresentou maior atrofia da radícula quando comparado com a A5, mostrando os valores médios em 1,06 cm e hipocótilo em valor médio de 1,1 cm.

Dessa forma, verifica-se que embora tenha apresentado baixa germinação, esta amostra apresentou um estímulo ao crescimento da radícula quando comparada com as demais soluções mais concentradas.

Figura 8. Sementes germinadas em A4

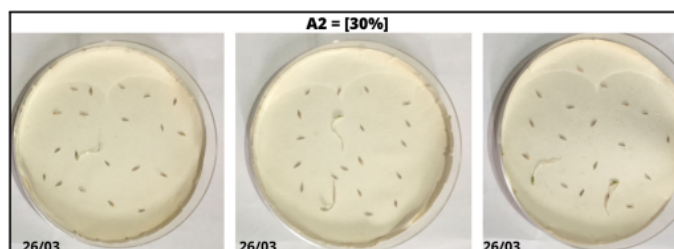
Fonte: Elaborado pelo autor

Na amostra da sequência (A3), conforme mostra na Figura 9, a radícula possui valor médio de 0,75 cm e o hipocótilo com valor médio para 0,9 cm.

Figura 9. Sementes germinadas em A3

Fonte: Elaborado pelo autor

Na amostra 2 (Figura 10), o hipocótilo foi bem menor, com 0,4 cm e 0,2 cm de radícula. Já a primeira amostra (Figura 11), com total concentração da diluição do “Ciclo 21”, nenhuma semente foi considerada germinada, e por conta disso, o hipocótilo/ radícula não foram considerados.

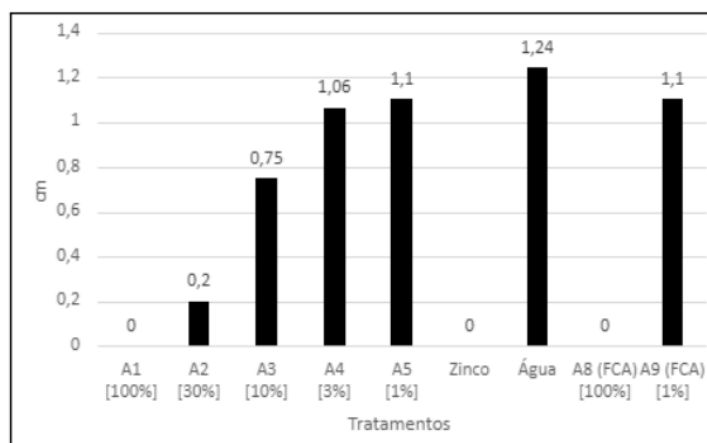
Figura 10. Sementes germinadas em A2

Fonte: Elaborado pelo autor

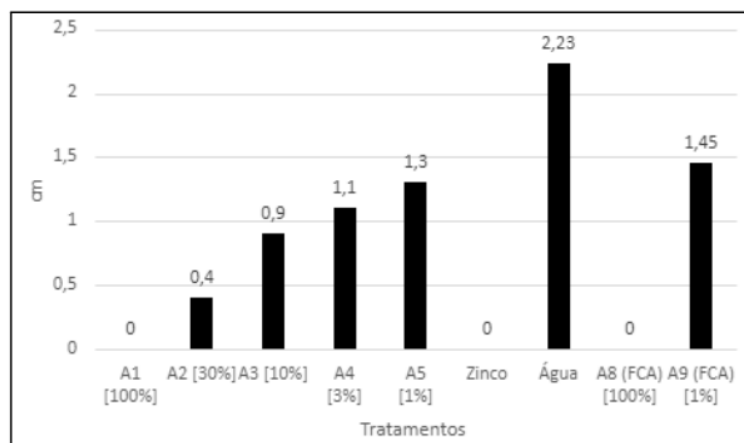
Figura 11. Sementes não germinadas em A1

Fonte: Elaborado pelo autor

Com os dados expostos mediante as figuras citadas anteriormente, pode-se verificar que há, nas Figuras 12 e 13, o comprimento médio da radícula e do hipocótilo para cada concentração.

Figura 12. Comprimento médio da radícula em sementes de alface

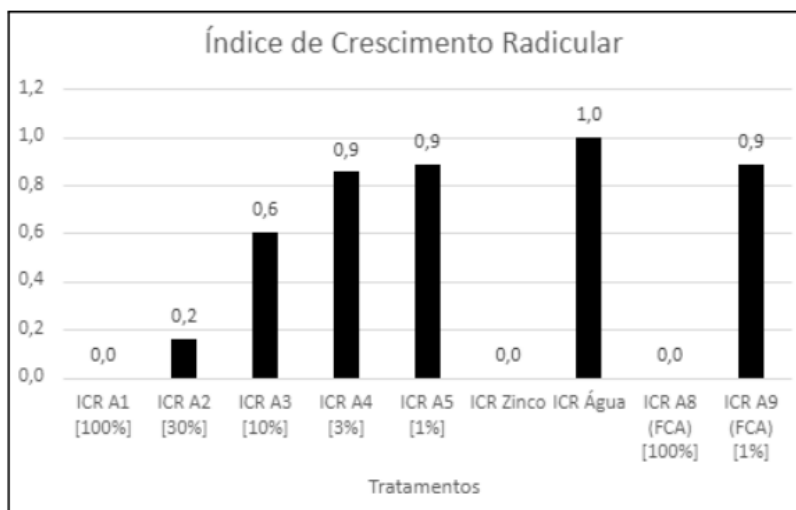
Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 13. Comprimento médio do hipocótilo em sementes de alface

Fonte: Elaborado pelo autor

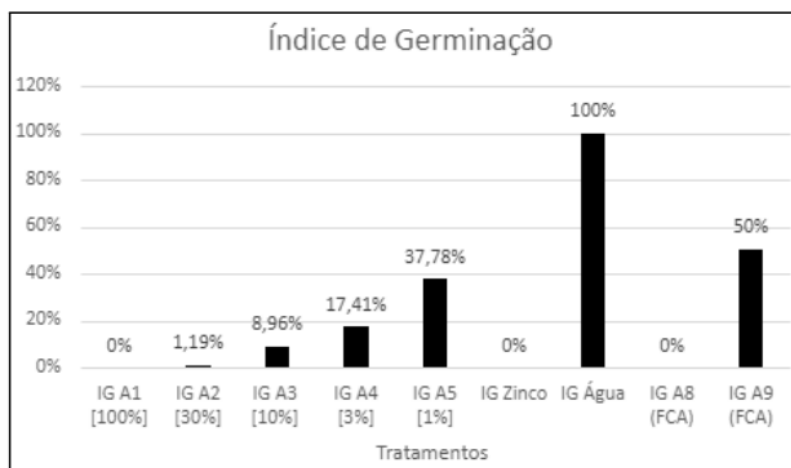
A partir do comprimento tanto das Figuras 12 e 13, pôde-se obter o Índice de Crescimento Radicular (ICR) conforme a Figura 14 e o Índice de Germinação (IG) considerando cada uma das amostras, em seus diversos tratamentos obtidos, conforme a Figura 15, utilizando as equações 3 e 4 apresentadas no Item 4.

Figura 14. ICR de sementes de alface



Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 15. IG (%) de sementes de alface



Fonte: Elaborado pelo autor

Young *et al.* (2012), tratam que o Índice de Germinação estabelece um parâmetro para medir a toxicidade frente aos efeitos que podem ser avaliados. Uma amostra com IG abaixo de 80%, é considerada tóxica, enquanto taxas acima de 120% são vistas como estimulantes para o crescimento radicular e valores entre 80% e 120% trazem efeitos não significativos.

A amostra com Controle Negativo confirmou o que foi colocado anteriormente, que a água se mostrou como um excelente veículo de germinação, visto que as sementes germinaram, conforme já era esperado. A amostra com o Controle Positivo (Zinco), apresenta novamente a confirmação de que não é um veículo para germinação.

As demais amostras, da sequência, (A5 e A4), apresentaram ICRs iguais, com IG se mostrando tóxico para todas as amostras contendo a diluição com o medicamento “Ciclo 21”, sendo todas abaixo de 38%.

6 CONCLUSÃO

As sementes de *L. sativa* tratadas neste estudo nos traz a percepção de que, independentemente de qualquer tratamento, o medicamento se mostrou tóxico em todas as suas concentrações, trazendo baixos índices de germinação comparados com a ausência do medicamento na amostra. Dado o exposto, a pergunta de pesquisa pode ser respondida, visto que os hormônios presentes no anticoncepcional apresentam potencial de toxicidade no ambiente, mediante o que foi analisado, neste estudo.

As sementes de alface são conhecidas por sua alta sensibilidade e talvez por isso reagiram tão fortemente aos tratamentos utilizados (GÓMEZ *et al.*, 2001).

Em relação ao crescimento radicular, ao se verificar as duas amostras mais próximas à do Controle Negativo, nota-se que os valores são próximos, porém verifica-se que há uma diminuição dos pêlos radiculares, o que pode implicar em tamanhos menores de alongamento do hipocótilo em busca da luz.

De maneira geral, as amostras apresentaram índices de fitotoxicidade elevados, até mesmo nas amostras com as menores concentrações do medicamento.

Embora o filtro de carvão ativado (FCA) tenha sido utilizado com a amostra em menor concentração de medicamento, ainda assim, a germinação de sementes foi baixa, demonstrando a toxicidade. No momento em que foi menor a concentração do medicamento, com o dobro de carvão ativado, o filtro se mostrou mais eficiente, se demonstrando mais efetivo para conter o efeito do medicamento no crescimento e germinação das sementes.

Provavelmente um teste com mais tempo de contato pode ser válido para verificar a efetividade do filtro. Por conta disso, faz-se necessário haver novos estudos com outros filtros, ou até mesmo com outros métodos de inibição, para verificar quais seriam os métodos utilizados para que não haja a contaminação do nosso ecossistema.

Os ensaios como os apresentados neste estudo para avaliação de germinação e crescimento radicular de sementes permitem a avaliação da toxicidade dos compostos que são largamente utilizados pelas grandes corporações.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, E.; DOISY, E. A. An ovarian hormone: Preliminary report on its localization, extraction and partial purification, and action in test animals. **Journal of the American Medical Association**, v. 81, n. 10, p. 819-821, 1923.
- ARIATI, W. L. **Interação entre salinidade e pH na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*)**. 2015. 27 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas Bacharelado, Universidade do Extremo Sul Catarinense - Unesc, Criciúma, 2015.
- BEDNARCZUK, V. O. *et al.* Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão acadêmica**, v. 11, n. 2, 2010.
- BIRKETT, J. W.; LESTER, J. N. (Ed.). **Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes**. IWA Publishing, 2002.
- BORRELY, S. I. *et al.* Contaminação das águas por resíduos de medicamentos: ênfase ao cloridrato de fluoxetina. **O mundo da saúde**, v. 36, n. 4, p. 556-563, 2012.
- CONTE, C. *et al.* DNA fingerprinting analysis by a PCR based method for monitoring the genotoxic effects of heavy metals pollution. **Chemosphere**, v. 37, n. 14-15, p. 2739-2749, 1998.
- COSTA, R. M. A.; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 12, p. 24-26, 2000.
- CHRISTENSEN, F. M. Pharmaceuticals in the environment—a human risk?. **Regulatory toxicology and pharmacology**, v. 28, n. 3, p. 212-221, 1998.
- DA SILVA, E. A. *et al.* Germinação da semente e produção de mudas de cultivares de alface em diferentes substratos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 2, p. 245-254, 2008.
- FERNANDES, T. CC; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, Maria A. 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.
- FILGUEIRA, F. A. R. Asteráceas—alface e outras hortaliças herbáceas. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, p. 289-295, 2003.
- FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.

GRANT, W. F. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 310, n. 2, p. 175-185, 1994.

JACOB, R. S. **Avaliação da contaminação aquática por fármacos utilizando análises ecotoxicológicas**. 2017. 149 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

MAYER, A.M., POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. Oxford: Pergamon, 1989. 270p.

NASCIMENTO, W. M.; CRODA, M. D.; LOPES, A. C. A. Produção de sementes, qualidade fisiológica e identificação de genótipos de alface termotolerantes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, p. 510-517, 2012.

PURDOM, C. E. *et al.* Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. **Chemistry and Ecology**, v. 8, n. 4, p. 275-285, 1994.

RODRIGUES, L. C. de A. *et al.* Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 1099-1108, 2013.

RZYMSKI, P.; *et al.* Pharmaceutical pollution of aquatic environment: an emerging and enormous challenge. **Limnological Review**, v. 17, n. 2, p. 97, 2017.

SINGLETON, D. W.; *et al.* Xenoestrogen exposure and mechanisms of endocrine disruption. **Frontiers in Bioscience-Landmark**, v. 8, n. 6, p. 110-118, 2003.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; J., W. F. Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: a sewage-to-tap issue. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 206, p. 57-67, 2010.

SODRÉ, F. F. *et al.* Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de Campinas (SP, Brasil). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 2, n. 2, p. 187-196, 2007.

TANNUS, M. M. Poluição ambiental causada por fármacos para usos humanos e veterinários. **Rev Acadêmica Oswaldo Cruz**, v. 4, n. 15, p. 9, 2017. WHO – World Health Organization. The World Medicines Situation Report 2004. Disponível em: . Acessado em 10 março. 2023.

YOUNG, B. J. *et al.* Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 76, p. 182-186, 2012.