

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

VITÓRIA LUIZA FARIA SILVA

Construção e utilização de projeto de *Wetland indoor* para mitigação dos efeitos citotóxicos
de solução de bituca de cigarro

UBERLÂNDIA – MG

2025

VITÓRIA LUIZA FARIA SILVA

Construção e utilização de projeto de *Wetland indoor* para mitigação dos efeitos citotóxicos
de solução de bituca de cigarro

Monografia apresentada ao Instituto de Biologia
(INBIO) da Universidade Federal de Uberlândia
(UFU), como requisito para obtenção do título
de licenciada em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Robson José de Oliveira
Júnior

UBERLÂNDIA – MG

2025

VITÓRIA LUIZA FARIA SILVA

Construção e utilização de projeto de *Wetland indoor* para mitigação dos efeitos citotóxicos
de solução de bituca de cigarro

Monografia apresentada ao Instituto de Biologia
(INBIO) da Universidade Federal de Uberlândia
(UFU), como requisito para obtenção do título
de licenciada em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Robson José de Oliveira
Júnior

Uberlândia, 24 de abril de 2025.

Banca examinadora:

Robson José de Oliveira Júnior - (Doutor, Universidade Federal de Uberlândia)

Jeamylle Nilin Gonçalves (Doutora, Universidade Federal de Uberlândia)

Maria Gabriela Franco de Lima (Mestra, Universidade Federal de Uberlândia)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Construção e utilização de projeto de *Wetland indoor* para mitigação dos efeitos citotóxicos
de solução de bituca de cigarro

Vitória Luiza Faria Silva

Aprovada pela banca examinadora em: 24/04/2025

Prof. Dr. Robson José de Oliveira Júnior
Presidente da Banca Examinadora

Uberlândia, 24 de abril de 2025

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço a mim mesma, não por vaidade, mas pelo esforço e dedicação que fez este trabalho ser possível. Foram anos de desafios e aprendizados, e sem minha determinação essa conquista não teria se realizado.

Agradecer a Deus, pelo dom da vida e pela força que me sustenta a cada dia. À Nossa Senhora, minha mãe santíssima, que esteve comigo em todos os momentos, amparando-me nos dias difíceis e guiando meus passos com amor e proteção.

Aos meus pais Claudia e Valério, pelo amor incondicional, pelo apoio incansável e por acreditarem em mim até quando eu mesma duvidei. À minha irmã Clara, companheira de vida, que sempre esteve ao meu lado, oferecendo ajuda, compreensão e força nos momentos em que preciso. À minha família: avós, tias, tios, primos/as, por serem um porto seguro.

Ao meu namorado Matheus, que desde 2023 tem acompanhado de perto minha trajetória e, ao longo do tempo, se tornou uma das pessoas mais importantes da minha vida. Sua presença, apoio, amor e compreensão fizeram essa caminhada mais leve e feliz.

Às minhas amigas Mariana e Larissa, que com suas risadas, conversas e companheirismo encheram meus dias de alegria e tornaram essa experiência inesquecível.

Aos colegas de faculdade, que compartilharam comigo as disciplinas, os perrengues e todas as dores e delícias da vida acadêmica. Seria impossível citar todos, mas cada um deixou sua marca nessa jornada.

À minha psicóloga Alessandra. Seu olhar acolhedor e suas palavras sempre me ajudaram a enxergar a vida de outra forma, trazendo equilíbrio e me fortalecendo ao longo desse processo.

Ao meu orientador Dr. Robson, por ter me aceitado como aluna e por ter me orientado desde a iniciação científica até este momento tão importante do TCC. Sua paciência, incentivo e ensinamentos foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, em especial Eduardo e Ricardo, que dividiram comigo muitos dias de bancada, oferecendo não apenas apoio técnico, mas também boas conversas e momentos de descontração que tornaram o processo mais leve.

Por fim, minha gratidão ao Laboratório de Citogenética (LabCitogen), à Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e ao CNPq pelo suporte e pelas oportunidades concedidas.

A todos, que de forma direta ou indiretamente, fazem parte da minha vida e dessa linda trajetória. O meu muito obrigada!

RESUMO

As bitucas de cigarro são um dos resíduos sólidos mais comuns e negligenciados em relação ao seu impacto ambiental. Após o descarte inadequado, liberam substâncias tóxicas como metais-traço, nicotina, alcatrão e entre outros, capazes de causar problemas ambientais devido à sua toxicidade. Considerando sua composição química e os efeitos causados aos ecossistemas, torna-se necessário a busca de soluções sustentáveis para tal problemática. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia de um sistema de *Wetland indoor* construído com a macrófita *Eichhornia crassipes* (aguapé) para a fitorremediação de soluções contaminadas por bitucas de cigarro. O experimento foi conduzido por 37 dias, utilizando concentrações de 25%, 50% e 100% da solução lixiviada, além do controle negativo (água destilada) e da testemunha (lixiviado sem planta). O desenvolvimento das plantas utilizadas no sistema foi monitorado semanalmente, por meio de parâmetros como medição de peso, medição de diâmetro dos bulbos e contagem de suas quantidades, além do florescimento do indivíduo. Foram realizadas análises antes e após a fitorremediação com testes de parâmetros físico-químicos (utilizando um multiparâmetro) e bioensaios com *Allium cepa* [metodologia do teste seguindo Fiskesjö (1985) e confecção das lâminas seguindo Guerra (2002)]. Após o tratamento no sistema de *Wetland*, sugere-se uma melhora significativa em todos os parâmetros físico-químicos, como aumento de oxigênio dissolvido e potencial redox, redução da condutividade elétrica e de sólidos totais dissolvidos além da melhora no pH da solução. Os resultados de *A. cepa* demonstraram que após o tratamento no sistema de *Wetland*, teve-se aumento do comprimento das raízes, elevação no índice mitótico e redução significativa das alterações nucleares, cromossômicas e da frequência de micronúcleos. Conclui-se que a fitorremediação por *Eichhornia crassipes* em sistema de *Wetland indoor* é uma alternativa eficaz e de baixo custo para mitigar os impactos ambientais causados pelo descarte inadequado de bitucas de cigarro, sendo a escolha do aguapé justificada por sua alta capacidade de absorção de produtos tóxicos e crescimento rápido, características lançadas neste estudo.

Palavras-chave: Citogenética; Fitorremediação; Poluição Ambiental.

ABSTRACT

Cigarette butts are among the most common and overlooked solid waste in terms of environmental impact. Once improperly discarded, they release toxic substances such as trace metals, nicotine, tar, among others, which can cause environmental damage due to their toxicity. Considering their chemical composition and the effects they have on ecosystems, the search for sustainable solutions to this issue becomes necessary. In this context, the aim of this study was to evaluate the effectiveness of an indoor constructed Wetland system using the macrophyte *Eichhornia crassipes* (water hyacinth) for the phytoremediation of solutions contaminated by cigarette butts. The experiment was conducted over 37 days, using leachate solution concentrations of 25%, 50%, and 100%, in addition to a negative control (distilled water) and a reference group (leachate without plants). The development of the plants in the system was monitored weekly through parameters such as weight measurement, bulb diameter measurement, bulb count, and individual flowering. Analyses were carried out before and after phytoremediation, including tests of physicochemical parameters (using a multiparameter probe) and bioassays with *Allium cepa* [test methodology based on Fiskesjö (1985) and slide preparation according to Guerra (2002)]. After treatment in the Wetland system, a significant improvement was observed in all physicochemical parameters, including increased dissolved oxygen and redox potential, reduced electrical conductivity and total dissolved solids, as well as an improvement in solution pH. The *A. cepa* results showed that after treatment in the wetland system, there was an increase in root length, a rise in the mitotic index, and a significant reduction in nuclear and chromosomal alterations, as well as in the frequency of micronuclei. It is concluded that phytoremediation using *Eichhornia crassipes* in an indoor wetland system is an effective and low-cost alternative for mitigating the environmental impacts caused by the improper disposal of cigarette butts, with the choice of water hyacinth justified by its high capacity for absorbing toxic compounds and rapid growth, characteristics confirmed in this study.

Keywords: Cytogenetics; Phytoremediation; Environmental Pollution.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Bitucas de Cigarro.....	13
1.2 Biorremediação por meio de <i>Wetland indoor</i>	13
1.2.1 <i>Eichhornia crassipes</i>	14
1.3 Justificativa.....	15
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3. METODOLOGIA.....	16
3.1 Produção da solução de bitucas de cigarro.....	16
3.2 Biorremediação em projeto de Sistema de <i>Wetland indoor</i>	16
3.3 Análise dos parâmetros físico-químicos das soluções de bitucas de cigarro.....	18
3.4 Bioensaio com <i>Allium cepa</i>	18
3.5 Análises Estatísticas.....	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1 Qualidade da solução de bitucas de cigarro.....	21
4.1.1 Análise dos parâmetros físico-químicos.....	21
4.1.1.1 Potencial Hidrogeniônico (pH).....	22
4.1.1.2 Oxigênio Dissolvido (OD).....	23
4.1.1.3 Condutividade Elétrica (CE).....	24
4.1.1.4 Potencial Redox (ORP).....	25
4.1.1.5 Sólidos Totais Dissolvidos (STD).....	27
4.2 Biorremediação em modelo experimental de <i>Wetland</i> construído (CW).....	28
4.3 Ensaios Citogenotóxicos.....	34
4.3.1. Toxicidade.....	34
4.3.2. Citotoxicidade.....	35
4.3.3. Genotoxicidade.....	37
4.3.3.1 Frequência de Alterações Cromossômicas (AC).....	37
4.3.3.2 Frequência de Alterações Nucleares (AN).....	39
4.3.3.3 Frequência de Micronúcleo (MN).....	40
5. CONCLUSÃO.....	41
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Eichhornia crassipes</i>	14
Figura 2: Ilustração do aparato utilizado para fumar os cigarros artificialmente	16
Figura 3: Sistema de <i>Wetland</i> construído	17
Figura 4: Montagem do experimento de bioensaio com <i>Allium cepa</i>	19
Figura 5: Gráfico demonstrando a variação de pH para cada concentração de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H ₂ O) antes e após a biorremediação (B) e a testemunha no sistema <i>Wetland</i> que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita	23
Figura 6: Gráfico demonstrando a variação de oxigênio dissolvido (mg/L) para cada concentração de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H ₂ O) antes e após a biorremediação (B) e a testemunha no sistema <i>Wetland</i> que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita.....	24
Figura 7: Gráfico demonstrando a variação de condutividade elétrica (uS/cm) para cada concentração de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H ₂ O) antes e após a biorremediação (B) e a testemunha no sistema <i>Wetland</i> que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita.....	25
Figura 8: Gráfico demonstrando a variação de potencial redox (mV) para cada concentração de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H ₂ O) antes e após a biorremediação (B) e a testemunha no sistema <i>Wetland</i> que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita.....	26
Figura 9: Gráfico demonstrando a variação de sólidos totais dissolvidos (mg/L) para cada concentração de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H ₂ O) antes e após a biorremediação (B) e a testemunha no sistema <i>Wetland</i> que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita.....	27

Figura 10: Gráfico demonstrando o valor de temperatura (°C) ambiente para cada semana de experimento.....	28
Figura 11: Gráfico demonstrando o valor médio de pesos (g) das macrófitas de cada tratamento para cada semana de experimento.....	29
Figura 12: Gráfico demonstrando a variação de pesos (g) das macrófitas de cada tratamento.....	30
Figura 13: Gráfico demonstrando a média do peso seco (g) das macrófitas ao final do experimento de cada tratamento.....	30
Figura 14: Gráfico demonstrando a média da quantidade de bulbos em cada tratamento para cada semana de experimento.....	31
Figura 15: Gráfico demonstrando a média do diâmetro dos bulbos (cm) das macrófitas em cada tratamento para cada semana de experimento	32
Figura 16: Gráfico demonstrando a média de florescimento de flores nas macrófitas ao longo do experimento em cada tratamento	33
Figura 17: Gráfico demonstrando o comprimento médio de raízes de <i>Allium cepa</i> tratadas com as diferentes concentrações de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H ₂ O) antes e após a biorremediação (B), a testemunha no sistema <i>Wetland</i> que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita, e o controle positivo feito com MMS.....	34
Figura 18: Gráfico demonstrando o Índice Mitótico (%) observado em células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> tratadas com as diferentes concentrações de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H ₂ O) antes e após a biorremediação (B), a testemunha no sistema <i>Wetland</i> que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita, e o controle positivo feito com MMS.....	36
Figura 19: Gráfico demonstrando a Frequência de Alterações Cromossômicas (AC) em processo de divisão celular de <i>Allium cepa</i> tratadas com as diferentes concentrações de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H ₂ O) antes e após a biorremediação (B), a testemunha no sistema <i>Wetland</i> que continha apenas solução de cigarro	

100% sem macrófita, e o controle positivo feito com MMS38

Figura 20: Prancha com as fases da divisão celular bem como as alterações cromossômicas e nucleares consideradas no teste de *Allium cepa*. a) prófase; b) metáfase; b1) metáfase pegajosa; b2) metáfase com perda cromossômica; c) anáfase; c1) anáfase com ponte cromossômica; c2) anáfase multipolar; c3) anáfase com atraso/retardo; d) telófase; e) micronúcleo; f) perda cromossômica; g) broto nuclear38

Figura 21: Gráfico demonstrando a Frequência de Alterações Nucleares (AN) em processo de divisão celular de *Allium cepa* tratadas com as diferentes concentrações de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H₂O) antes e após a biorremediação (B), a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita, e o controle positivo feito com MMS39

Figura 22: Gráfico demonstrando a Frequência de Micronúcleos (MN) em 1000 células em interfase de *Allium cepa* tratadas com as diferentes concentrações de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H₂O) antes e após a biorremediação (B), a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita, e o controle positivo feito com MMS.....41

1. INTRODUÇÃO

A gestão ambiental sustentável é fundamental para a preservação dos recursos naturais e a promoção da saúde pública, pois contribui para a conscientização sobre os impactos da poluição ambiental. A mesma surge como uma resposta necessária para enfrentar os desafios relacionados à geração e destino dos resíduos, incluindo a contaminação causada por resíduos tóxicos. (RUMAMBI *et al.*, 2023).

Entre os poluentes ambientais mais insidiosos e menos discutidos está o cigarro, cujo impacto negativo vai além da saúde humana e se estende ao meio ambiente, pois as bitucas descartadas convencionalmente liberam substâncias tóxicas, como nicotina, metais-traço entre outros poluentes que contaminam o solo e corpos d'água, afetando a fauna e a flora local (ARAT *et al.*, 2024).

A sensibilização da população sobre esses impactos é essencial para estimular mudanças comportamentais e promover ações que minimizem os danos ambientais (ACHMAD *et al.*, 2023). Nesse contexto, o uso de estratégias sustentáveis, como a biorremediação, pode ser uma alternativa eficaz para a mitigação dos efeitos tóxicos das bitucas de cigarro no ambiente.

A biorremediação é uma abordagem sustentável de limpeza eficaz para remover resíduos tóxicos de ambientes poluídos, ganhando destaque por sua aplicabilidade em diferentes contextos, tal técnica utiliza microrganismos e plantas para tratar locais contaminados e converter poluentes em formas menos tóxicas (BALA *et al.*, 2022). Esta abordagem tem a promessa de mitigação dos impactos ambientais apresentados, especialmente em casos de contaminação por compostos orgânicos e inorgânicos tóxicos, ao utilizar processos naturais com baixo custo e reduzida interferência ambiental, o que a torna uma alternativa sustentável e eficiente (COPETTI *et al.*, 2022).

Entre as tecnologias baseadas nesse princípio, os sistemas de *Wetlands* construídos (zonas úmidas artificiais) se apresentam como uma solução versátil e eficiente, combinando processos biológicos, químicos e físicos para tratar lixiviados, através de processos naturais de purificação (BAKHSHOODEH *et al.*, 2020). Nesse sentido, o desenvolvimento de um *Wetland indoor* adaptado focado na mitigação dos efeitos citogenotóxicos de soluções derivadas de bitucas de cigarro representa uma aplicação inovadora e de grande relevância ambiental.

1.1 Bitucas de Cigarro

O cigarro é composto por uma mistura complexa de compostos químicos, muitos dos quais são prejudiciais ao meio ambiente, que apresentam alta citotoxicidade para células eucarióticas, especialmente em organismos aquáticos, como microcrustáceos e peixes, afetando processos celulares vitais como crescimento celular, integridade da membrana e atividade enzimática (ARAT *et al.*, 2024). O lixiviado da bituca de cigarro contém produtos químicos tóxicos que causam efeitos agudos e crônicos nesses organismos, comprometendo sua sobrevivência, crescimento e reprodução (VENUGOPAL *et al.*, 2021).

As bitucas de cigarro, consideradas neste trabalho como pontas dos cigarros que sobram após serem fumados, são um dos resíduos sólidos mais comuns e, ao mesmo tempo, mais atendidos no debate sobre poluição ambiental. Sabe-se disso pois estima-se que 4,5 trilhões de pontas de cigarro são descartadas anualmente em ambientes urbanos, naturais, terrestres e aquáticos (BONANOMI *et al.*, 2015). Além disso, uma boa porcentagem do lixo coletado em limpezas urbanas e costeiras, representa uma série de ameaça aos ecossistemas (MOROZ *et al.*, 2021).

As pontas de cigarro contém substâncias tóxicas e podem poluir litros de água, tornando-as perigosas com potenciais impactos ambientais, que se descartadas convencionalmente, liberam substâncias tóxicas, revelando a necessidade de medidas de controle e remediação eficazes (TORKASHVAND *et al.*, 2020).

Nesse contexto, destaca-se a citotoxicidade desses resíduos, ou seja, a capacidade dos compostos tóxicos presentes nas bitucas de causar danos celulares, afetando a saúde dos ecossistemas e a biodiversidade. Estudos demonstram que as bitucas de cigarro contribuem significativamente para a poluição ambiental (BEUTEL *et al.*, 2021). Sendo assim, é essencial a implementação de práticas de gestão ambiental que minimizem esses impactos, uma vez que representam uma ameaça às formas de vida e ao meio ambiente (MOROZ *et al.*, 2021).

1.2 Biorremediação por meio de *Wetland indoor*

Uma das abordagens promissoras para a biorremediação é a utilização de *Wetlands* construídos (CWs, em inglês). Tal estrutura são zonas úmidas artificiais concebidas para viabilizar processos naturais para fins de tratamento de águas residuais (STOTTMEISTER *et al.*, 2003). Esses sistemas simulam as funções dos pântanos naturais, utilizando plantas aquáticas e microrganismos para remover contaminantes de águas residuais (VYMAZAL *et al.*, 2022).

Os CW's são altamente eficazes na eliminação de substâncias orgânicas e na remoção de metais-traço, tornando-se uma solução ecológica e sustentável para o tratamento de águas poluídas (VYMAZAL *et al.*, 2021). Além de serem sistemas de baixo custo e baixa tecnologia, os *Wetlands* construídos podem atuar como alternativas ou complementos no tratamento de águas residuais, especialmente em países em desenvolvimento (CHEN *et al.*, 2019).

1.2.1 *Eichhornia crassipes*

Eichhornia crassipes (Mart.) Solms, comumente conhecida como jacinto-d'água ou aguapé (Figura 1), é uma macrófita aquática altamente invasiva originária de massas de água doce das regiões tropicais quentes da América do Sul, com distribuição natural nas bacias do Amazonas e do Rio Prata, sendo encontrada em todos os domínios fitogeográficos nacionais (MISIN, 2025). Ela possui caule longo, esponjoso e bulboso com folhas brilhantes, largas, espessas, verdes ovais, inflorescência semelhante roxa e sistema radicular azul escuro (SOUSA, 2020).



Figura 1: *Eichhornia crassipes*. À esquerda temos a imagem do sistema radicular da planta. À direita temos a espécie coletada e utilizada no experimento com inflorescência característica da espécie. Fonte: Autoria Própria.

Apesar de sua natureza invasiva, ela foi reconhecida no meio acadêmico por seu potencial de fitorremediação em várias aplicações industriais e ambientais. A espécie é utilizada em processos de tratamento secundário de águas residuais, crescendo sem exigências nutricionais excepcionais (MONROY-LICHT *et al.*, 2024). Não obstante, é capaz de absorver

grandes quantidades de nutrientes, muitas vezes superiores às suas necessidades biológicas. Como consequência, reduz significativamente poluentes como fósforo e nitrogênio amoniacal. Isso a torna uma candidata promissora para melhorar a qualidade da água em sistemas naturais e artificiais (DÖLLE *et al.*, 2021).

Outro aspecto da *Eichhornia crassipes* é sua eficácia na absorção de metais-traço e outros poluentes de corpos d'água. Alguns estudos demonstraram que ocorre o acúmulo de metais como cromo e lítio em suas raízes, tornando-a uma ferramenta valiosa para limpeza de água contaminada (HAYYAT *et al.*, 2023).

1.3 Justificativa

A poluição por resíduos tóxicos como bitucas de cigarro ainda é um desafio subestimado. Considerando sua composição química e os efeitos causados aos ecossistemas aquáticos, é necessário buscar soluções sustentáveis. A biorremediação, especialmente por meio de *Wetlands* construídos, surge como alternativa eficaz. Nesse contexto, a macrófita *Eichhornia crassipes* demonstra grande potencial, motivando o desenvolvimento deste projeto.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficiência de um sistema de *Wetland indoor* com *Eichhornia crassipes* na fitorremediação de soluções contaminadas por bitucas de cigarro.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar as soluções de bitucas de cigarro por meio de análises físico-químicas e do teste de *Allium cepa*;
- Produzir um modelo experimental de *Wetland* construído com *Eichhornia crassipes* para tratar a solução feita, após análises iniciais;
- Analisar a solução em seus aspectos físico-químicos e citogenotóxicos após passar pelo tratamento via *Wetland* construído;
- Comparar os resultados obtidos antes e após a aplicação do tratamento no sistema de *Wetland*, avaliando a eficácia da fitorremediação.

3. METODOLOGIA

3.1 Produção da solução de bitucas de cigarro

A preparação da solução estoque foi feita a partir de um protocolo adaptado, com base na metodologia descrita por Cardoso *et al.* (2018). O cigarro Rothmans, contendo 20 unidades por maço, foi adquirido em comércio local devido à sua fácil disponibilidade.

Os cigarros foram fumados artificialmente com o auxílio de um dispositivo específico (Figura 2), garantindo a padronização das pontas em 1 cm acima do filtro. Após o fumo, as bitucas foram armazenadas em sacos de *zip lock* em temperatura ambiente. Em um béquer contendo 1 L de água destilada, foi acrescentado 1 maço (20 unidades) de bitucas de cigarro (CARDOSO *et al.* 2018). Foram preparados aproximadamente 30 litros de solução estoque para utilização nos testes experimentais, utilizando um total de 30 maços de cigarro, correspondendo a 600 unidades de bitucas.

As soluções foram deixadas em repouso por 24 horas em temperatura ambiente, em seguida filtrada e armazenada a -20°C para preservar sua composição até o momento das diluições. As concentrações utilizadas nos experimentos foram de 100%, 50% e 25% utilizando como referência o trabalho de Seemann (2021).

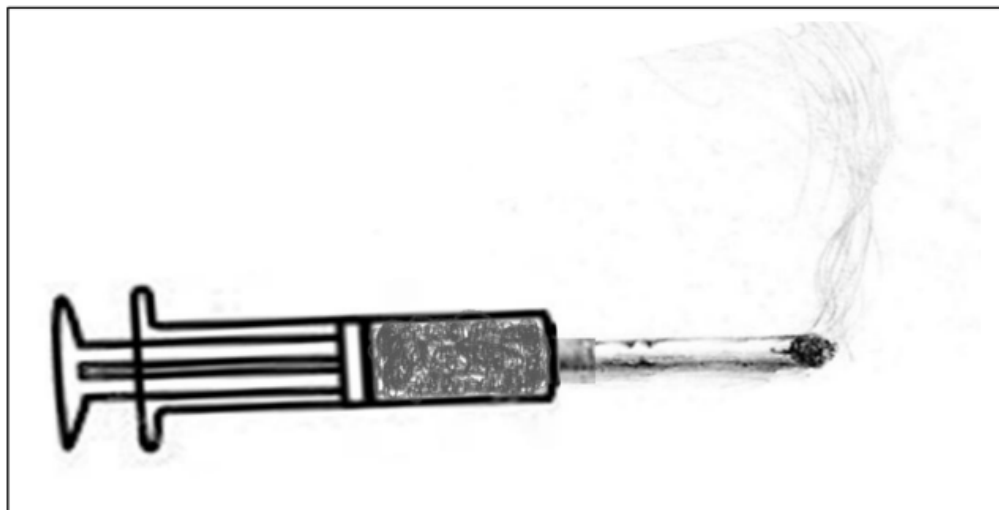


Figura 2: Ilustração do aparato utilizado para fumar os cigarros artificialmente. Fonte: Montalvão, 2019.

3.2 Biorremediação em projeto de Sistema de *Wetland indoor*

Para a realização desse experimento, foi utilizado a macrófita aquática *Eichhornia crassipes*. O experimento foi realizado na casa de vegetação da Universidade Federal de Uberlândia, campus Umuarama.

Esta espécie inicialmente foi acondicionada em um indivíduo por recipiente de politereftalato de etileno (PET) com água destilada durante 7 dias em temperatura ambiente. Durante esse período, foram submetidas a agitação e oxigenação adequada, através de bombas de ar de aquário e tubos, de forma independente, sem haver mistura de amostras. Após esse período de adaptação, a água inicial foi substituída pelas soluções diluídas em suas respectivas concentrações das bitucas de cigarro, mantendo a oxigenação presente e temperatura controlada, ficando por mais 30 dias no sistema. O período total do experimento foi de 37 dias.

O experimento foi conduzido com cinco repetições, utilizando recipientes de PET com lixiviado nas concentrações de 100%, 50% e 25%, todos contendo macrófitas. Além disso, foi incluído um controle negativo (recipiente com água destilada e macrófitas) e uma testemunha (recipiente com lixiviado a 100% sem macrófitas), conforme ilustrado na Figura 3.



Figura 3: Sistema de *Wetland* construído. À esquerda o início da montagem do protótipo. À direita o protótipo em funcionamento com aguapés e amostras a serem biorremediadas. Fonte: autoria própria.

Para monitorar a dinâmica de desenvolvimento das macrófitas, foi feito o registro fotográfico das plantas em sua fase inicial e final, fazendo a manutenção periódica das plantas e do sistema de *Wetland*. Além disso, reuniu-se informações sobre o peso de cada indivíduo, quantidade de bulbos e diâmetro dos mesmos a cada semana (S0, S1, S2, S3, S4 e S5). A temperatura do ambiente foi registrada uma vez por semana no decorrer do experimento para obtenção de temperatura média, mínima e máxima em que as macrófitas foram cultivadas.

3.3 Análise dos parâmetros físico-químicos das soluções de bitucas de cigarro

A análise físico-química é um componente crítico em vários campos científicos. Ela envolve o estudo das propriedades físicas e químicas de substâncias para entender seu comportamento e interações. Elas são valiosas no biomonitoramento de ecossistemas, fornecendo dados precisos sobre a presença e concentração de poluentes. Essas análises permitem avaliar e identificar fontes de contaminação, facilitando a tomada de decisões informadas para a conservação ambiental (DAOU *et al.*, 2020). Através de técnicas avançadas de análise, é possível monitorar e controlar a poluição de forma mais eficiente, promovendo a sustentabilidade dos recursos naturais (AGIBAYEVA *et al.*, 2022).

A partir das soluções de bitucas de cigarro foram realizadas análises físico-químicas com base no método descrito pela American Public Health Association (APHA, 2017), que fornece diretrizes robustas para a avaliação de parâmetros relacionados à qualidade de soluções. Um equipamento multiparâmetro foi utilizado para medir diversas variáveis essenciais, como potencial hidrogeniônico, potencial redox, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e sólidos totais dissolvidos.

Para cada parâmetro avaliado, foram analisadas as unidades de amostras antes e após o processo de fitorremediação no sistema de *Wetland indoor*, a fim de identificar alterações nas características físico-químicas das soluções ao longo do experimento. Os dados obtidos foram registrados e comparados quantitativamente com seus correspondentes para determinar a eficiência do sistema de fitorremediação na mitigação de compostos tóxicos presentes nas soluções de bitucas de cigarro.

3.4 Bioensaio com *Allium cepa*

No contexto de avaliação ambiental, o bioensaio com *Allium cepa* (cebola) destaca-se como uma metodologia eficaz para avaliar os efeitos tóxicos de diversos poluentes. Este teste é uma ferramenta valiosa e amplamente utilizada para detectar genotoxicidade e mutagenicidade, avaliando a citogenotoxicidade de misturas de metais-traço (JAYAWARDENA *et al.*, 2021).

Este bioensaio aproveita as células do meristema radicular da cebola para detectar alterações cromossômicas e outros danos genéticos. Após a exposição dos bulbos da cebola à solução teste durante um determinado tempo, avalia-se os efeitos citotóxicos, analisando a morfologia e o crescimento das raízes e o índice mitótico. Também é possível avaliar os

efeitos genotóxicos a partir da análise da frequência de micronúcleos ou de alterações cromossômicas (FISKESJÖ, 1985).

Essas alterações cromossômicas são indicativas de danos ao DNA e interrupções no processo mitótico (SMIRNOVA *et al.*, 2024). O teste é vantajoso devido ao seu baixo custo, facilidade de execução e capacidade de fornecer observações claras de alterações cromossômicas (MELO *et al.*, 2024). Desta forma, contribui para a compreensão dos impactos ambientais, toxicidade de substâncias presentes no meio ambiente e para o desenvolvimento de estratégias de mitigação (JAYAWARDENA *et al.*, 2021).

A metodologia desenvolvida para o bioensaio com cebolas foi o protocolo estabelecido por Fiskesjö (1985) com algumas modificações pontuais. Para a realização dos testes, foram utilizados cinco bulbos de *Allium cepa* para cada tratamento e suas respectivas diluições. Além disso, foram incluídos dois controles: o controle negativo, utilizando água destilada, e o controle positivo, feito com metilmetanosulfonato (MMS) na concentração de $2,5 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$. As diluições realizadas foram de 25%, 50% e 100% das soluções de bituca de cigarro. Posteriormente, repetiu-se este experimento com as amostras de cada tratamento após findado o tempo de 37 dias do experimento no protótipo de *Wetland* construído.

Os bulbos de cebola foram preparados por meio de raspagem e limpeza da região do prato, local onde ocorre o crescimento das raízes, para estimular o surgimento das gemas radiculares. Em seguida, o desenvolvimento do meristema radicular foi estimulado ao crescimento com a imersão do prato em água destilada por 24 horas, sob temperatura ambiente. Após a preparação, os bulbos foram expostos às soluções-teste e aos controles positivos e negativos por um período de 72 horas (Figura 4).



Figura 4: Montagem do experimento de bioensaio com *Allium cepa*. Fonte: Autoria própria.

Após o tempo de exposição, os bulbos foram retirados das soluções, e as 10 maiores raízes de cada bulbo foram coletadas e medidas para posterior análise. Essas raízes foram fixadas com Carnoy 3:1 (etanol e ácido acético) por 24 horas à temperatura ambiente e armazenadas em etanol 70% a 4°C para posterior preparo de lâminas para análise (OLIVEIRA, 2018).

O preparo de lâminas foi realizado de acordo com a metodologia Guerra (2002) com algumas adaptações. As raízes armazenadas no etanol 70% foram retiradas da solução e lavadas três vezes com água destilada em temperatura ambiente, por 5 minutos em cada lavagem. Em seguida, foram hidrolisadas em ácido clorídrico (HCl) 5N à temperatura ambiente por 8 minutos e lavadas novamente três vezes em água destilada. Após esse processo, o meristema da raiz foi transferido para a lâmina e colocado uma gota de ácido acético a 45%, para evitar o ressecamento. A coifa, estrutura que protege a raiz e auxilia na sua penetração no solo, foi retirada restando somente o meristema, o qual sofreu fragmentação em pequenos pedaços utilizando agulhas hipodérmicas. Novamente adicionou-se uma gota de ácido acético sobre o material para a cobertura com a lamínula. Para evitar a sobreposição do material, foi realizada a técnica de esmagamento suave, utilizando o dedo polegar sobre o conjunto lâmina/lamínula. Para finalizar a preparação da lâmina, o conjunto foi congelado em nitrogênio líquido por aproximadamente cinco segundos. Posteriormente a lamínula foi rapidamente tirada com auxílio de um bisturi e a lâmina deixada para secar. A coloração do material foi realizada com Giemsa a 10%, durante 13 minutos.

Em cada tratamento havia quintuplicatas de bulbos, e para cada bulbo foram preparadas triplicatas de lâminas, contendo duas raízes cada. Para as análises, as lâminas foram codificadas e examinadas utilizando um microscópio óptico com objetiva de 40x. Foram analisadas 1000 células por bulbo, totalizando 5000 células por tratamento. Com os dados obtidos, foi possível averiguar os efeitos citotóxico e genotóxico antes e após a biorremediação.

Para a análise dos efeitos citotóxicos mensurou-se o tamanho das raízes antes e após a exposição aos tratamentos e o Índice Mitótico no experimento, calculado a partir da seguinte fórmula:

$$IM = \frac{CM}{CT} \times 100$$

Onde:

IM = Índice Mitótico;

CM = número de células em divisão mitótica;

CT = número de células totais.

Já para avaliar o efeito genotóxico foi analisada a frequência de micronúcleos em 1000 células na interfase por bulbo e também o número de alterações cromossômicas em 1000 células na anáfase-telófases. As alterações cromossômicas (AC) foram apresentadas como o número total de alterações em 1000 células em divisão por bulbo, exceto de células em prófase. Considera-se alteração cromossômica: fragmentos cromossômicos, cromossomos atrasados, pontes, entre outros.

Cada tratamento foi avaliado em comparação ao seu correspondente, antes da biorremediação. Desta forma, a toxicidade foi identificada por meio da inibição do crescimento.

3.5 Análises Estatísticas

Os dados encontrados referentes ao crescimento das macrófitas, as análises físico-química e os ensaios citogenotóxicos foram analisados utilizando one-way ANOVA, seguido pelo teste de *Bonferroni* (quando comparados com suas concentrações respectivas) ou *Dunnett* (quando comparados ao seu grupo controle) para comparações múltiplas. Todos os testes respeitaram o mesmo intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

As análises foram realizadas utilizando os softwares GraphPad Prism (versão 7.0 – GraphPad Software, Inc.) e Excel (versão 16.0 – Microsoft Corporation, Inc.).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Qualidade da solução de bitucas de cigarro

4.1.1 Análise dos parâmetros físico-químicos

Os valores dos parâmetros físico-químicos medidos pelo multiparâmetro são apresentados no Quadro 1.

Quadro 1: Valores dos parâmetros físico-químicos das soluções antes e após a biorremediação no sistema de *Wetland indoor*.

	Antes da Biorremediação				Depois da Biorremediação				
Parâmetro (unidade de medida)	H ₂ O	Cigarro 25%	Cigarro 50%	Cigarro 100%	H ₂ O	Cigarro 25%	Cigarro 50%	Cigarro 100%	Testemunha
pH	6,91	6,88	6,87	6,87	6,90	6,89	6,89	6,89	6,88
Oxigênio dissolvido (mg/L)	13,51	8,78	8,59	8,66	16,11	12,95	14,10	11,24	9,73

Condutividade elétrica (uS/cm)	3,00	120,00	173,00	329,00	21,60	15,80	17,40	23,60	178,20
Potencial Redox (mV)	270,70	288,80	290,60	285,60	329,60	348,90	361,60	342,70	292,50
Sólidos Totais Dissolvidos (mg/L)	2,00	61,00	88,00	167,00	11,40	8,40	9,20	12,00	90,20

Os dados obtidos na análise dos parâmetros físico-químicos da solução de bitucas de cigarro antes e após a biorremediação no sistema de *Wetland indoor* permitiram avaliar a eficiência do tratamento e as alterações promovidas pelo processo. A comparação dos valores evidencia mudanças nas características da solução, sugerindo alterações nos compostos presentes após o tratamento. A interpretação desses resultados é essencial para compreender o impacto inicial da solução no meio e a eficácia do sistema em mitigar seus efeitos. A seguir, são discutidos individualmente os principais parâmetros analisados, destacando suas variações e implicações ambientais.

4.1.1.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Uma análise do pH revelou mudanças significativas após a biorremediação no sistema de *Wetland indoor*, especialmente nas soluções com maiores concentrações de bitucas de cigarro. Os resultados indicaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) nas soluções de água destilada (H_2O) e nas concentrações de 50% e 100% de bitucas, enquanto na solução de 25% a variação não foi significativa. Essa diferença sugere que a efetividade do sistema na alteração do pH, está diretamente relacionada à carga inicial de compostos presentes na solução. Um estudo demonstrou que a remoção de contaminantes por sistemas de zonas úmidas construídos depende da carga poluente inicial e da interação dos microorganismos e substratos com os compostos presentes na água (PIVETTA, 2022). As variações de pH antes e após a biorremediação para cada tratamento estão apresentadas na Figura 5.

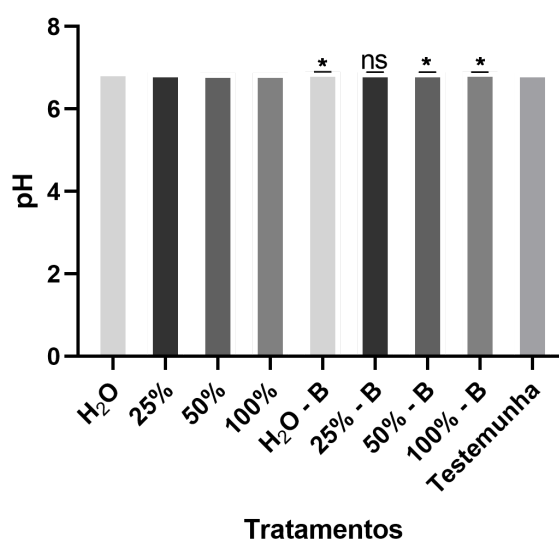


Figura 5: Gráfico demonstrando a variação de pH para cada concentração de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H₂O) antes e após a biorremediação (B) e a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita. Os dados representam a média $\pm$ o erro padrão. ns: não significativo à $p < 0,05$. * = $p < 0,05$ (comparando com o seu respectivo tratamento antes da biorremediação). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

Concentrações mais elevadas, como 50% e 100%, contêm maior quantidade de substâncias químicas, como nicotina, metais traço, entre outros que são potencialmente alteráveis pelo processo de biorremediação, resultando em mudanças mais expressivas. Um trabalho recente demonstrou que sistemas de zonas úmidas podem alterar a composição química da água residual ao remover compostos orgânicos e inorgânicos por processos físicos, químicos e biológicos (SILVA *et al.*, 2022). No entanto, em concentrações mais baixas de contaminantes, como na solução de 25%, as alterações podem ser menos perceptíveis, pois a carga poluente reduzida pode não gerar impactos expressivos no equilíbrio químico do meio tratado (PIVETTA, 2022).

Esses dados reforçam a influência da concentração de substâncias na resposta ao tratamento, evidenciando a capacidade do sistema de *Wetland indoor* em mitigar os efeitos químicos da solução, especialmente em concentrações mais elevadas. A eficácia desse tipo de sistema de controle de pH e remoção de contaminantes já observada em diferentes contextos de tratamento de efluentes, mostra seu potencial como estratégia sustentável de descontaminação (SILVA *et al.*, 2022).

4.1.1.2 Oxigênio Dissolvido (OD)

A análise do oxigênio dissolvido (OD) revelou mudanças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em todas as soluções apresentadas após a biorremediação no sistema de *Wetland indoor*, conforme demonstrado na Figura 6. Esse resultado indica que o processo

de biorremediação promoveu uma alteração consistente na disponibilidade de oxigênio dissolvido, independentemente da concentração de bitucas de cigarro. Estudos recentes confirmam que os sistemas de zonas úmidas construídos podem influenciar positivamente a concentração de oxigênio distribuída por meio de atividades microbiológicas e pela fotossíntese das macrófitas (MARCELINO *et al.*, 2020; TERAMOTO *et al.*, 2021).

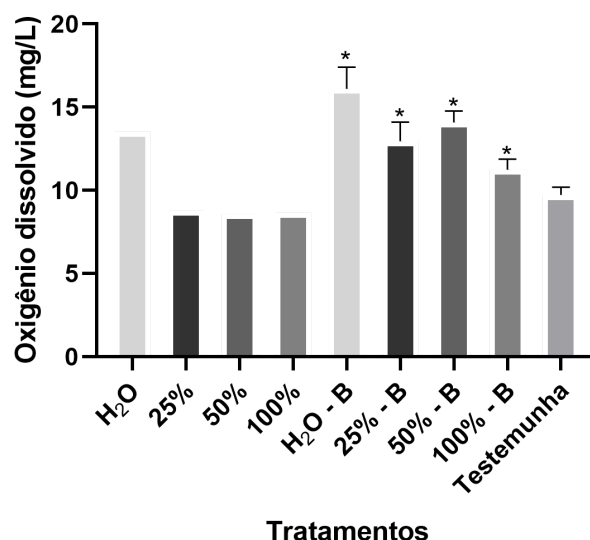


Figura 6: Gráfico demonstrando a variação de oxigênio dissolvido (mg/L) para cada concentração de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H₂O) antes e após a biorremediação (B) e a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita. Os dados representam a média $\pm$ o erro padrão. * = $p < 0,05$ (comparando com o seu respectivo tratamento antes da biorremediação). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

A variação do OD pode estar associada à degradação de compostos orgânicos e ao consumo de oxigênio por microrganismos durante a biorremediação (SILVA *et al.*, 2021). Esta variação em diferentes soluções pode ser atribuída à combinação de fatores como a manipulação de compostos orgânicos e a atividade microbiana, que consome oxigênio durante o processo de biorremediação (TERAMOTO *et al.*, 2021). No entanto, em sistemas de zonas úmidas, a presença de macrófitas também pode contribuir para a oxigenação do meio, uma vez que elas liberam oxigênio nas raízes, criando zonas aeróbicas que favorecem a manipulação de substâncias poluentes (DINIZ *et al.*, 2005). A eficácia da biorremediação e a alteração no OD refletem a interação entre o substrato, a macrófita e os microorganismos, que colaboram para melhorar a qualidade da solução.

4.1.1.3 Condutividade Elétrica (CE)

A condutividade elétrica da solução de bitucas de cigarro apresentou uma redução significativa ($p < 0,05$) após o processo de biorremediação no sistema *Wetland* para todas as

concentrações testadas (100%, 50% e 25%) e para a água destilada (H₂O), em comparação com seus respectivos valores antes da biorremediação, como mostra o gráfico da Figura 7.

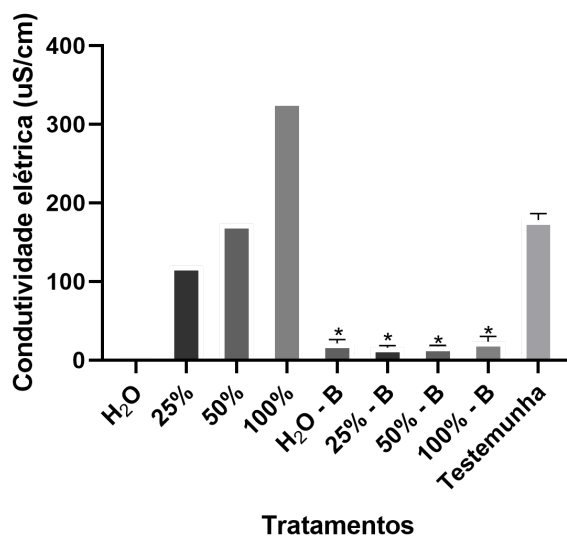


Figura 7: Gráfico demonstrando a variação de condutividade elétrica (uS/cm) para cada concentração de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H₂O) antes e após a biorremediação (B) e a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita. Os dados representam a média $\pm$ o erro padrão. * $p = < 0,05$ (comparando com o seu respectivo tratamento antes da biorremediação). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

Essa diminuição na condutividade elétrica indica uma redução na concentração de íons dissolvidos, sugerindo a remoção de compostos químicos liberados pelas bitucas, como metais-traço e resíduos tóxicos. Já o controle (sistema sem macrófita, com solução 100%) manteve níveis elevados de CE, confirmando que a redução nos outros grupos está associada à ação das plantas no processo de biorremediação. Isso reforça o papel das macrófitas na absorção de íons e na promoção da atividade microbiana responsável pela degradação dos poluentes (RODRIGUES *et al.*, 2016).

Esses resultados estão alinhados com estudos recentes que demonstram a eficácia de *Wetlands* construídos na remoção de poluentes e na redução da condutividade elétrica. Por exemplo, Goerck *et al.* (2021) aplicou a eletrocoagulação como pós-tratamento de efluente de um *Wetland* construído de escoamento vertical e observou uma diminuição de 15,8% na CE, além de altas eficiências na remoção de fósforo e matéria orgânica.

4.1.1.4 Potencial Redox (ORP)

Uma variação do potencial redox nas diferentes concentrações da solução de bitucas de cigarro (100%, 50% e 25%) e na água destilada (H₂O), antes e após o processo de biorremediação é apresentado na Figura 8. Observa-se um aumento significativo no potencial

redox após a biorremediação ($p < 0,05$) em todas as concentrações testadas, incluindo a água destilada.

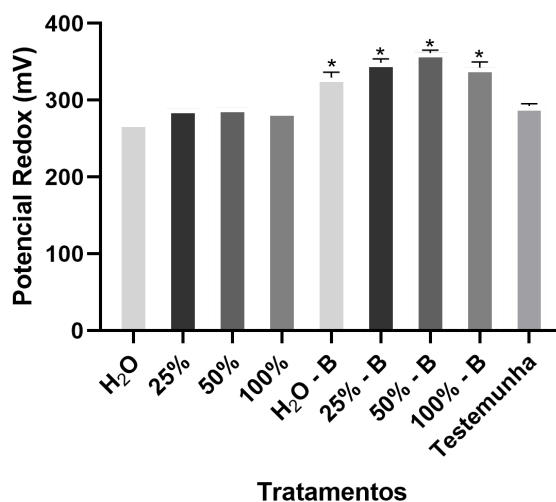


Figura 8: Gráfico demonstrando a variação de potencial redox (mV) para cada concentração de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H₂O) antes e após a biorremediação (B) e a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita. Os dados representam a média $\pm$ o erro padrão. * $p < 0,05$ (comparando com o seu respectivo tratamento antes da biorremediação). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

O aumento do potencial redox indica uma transição para condições mais oxidativas no sistema, o que é favorável, pois reflete uma maior capacidade do meio em receber elétrons. As macrófitas desempenham um papel crucial nesse processo, contribuindo para a oxigenação do meio através da liberação de oxigênio por suas raízes, isso promove a atividade microbiana aeróbica responsável pela manipulação de compostos orgânicos e inorgânicos (BRITO *et al.*, 2021).

Esses resultados estão em consonância com estudos anteriores que demonstram a influência das espécies vegetais nas condições redox de sistemas alagados construídos. Por exemplo, Matos *et al.* (2010) avaliaram o potencial redox em sistemas alagados cultivados com diferentes macrófitas e observou predominância de condições anóxicas/aeróbias, geralmente a partir de 4 meses nos sistemas. Os efluentes dos sistemas apresentaram potencial redox que variou de 53 a 226 mV, com tendência de oxigenação mais rápida no sistema cultivado com taboa (*Typha latifolia*). Valores mais baixos (negativos ou próximos de zero) indicam condições redutoras (pouca ou nenhuma presença de oxigênio), enquanto valores mais altos (positivos) representam condições oxidativas, desenvolvidas à manipulação de diversas substâncias nocivas (JARDIM *et al.*, 2014).

As respostas de oxirredução são fundamentais nos processos de remediação, pois determinam quais formas químicas os contaminantes assumem e como eles serão transformados ou removidos do ambiente. Compostos orgânicos são degradados com mais

eficiência por microrganismos aeróbicos em ambientes com alto potencial redox, onde o oxigênio atua comoceptor final de elétrons, facilitando a biodegradação dos poluentes (JARDIM *et al.*, 2014).

4.1.1.5 Sólidos Totais Dissolvidos (STD)

Foi observada uma intensa variação dos sólidos totais dissolvidos (STD) nas diferentes concentrações da solução testada (100% 50% 25%), bem como em um grupo controle negativo (H_2O), antes e após processo de biorremediação. Na Figura 9, se pode observar uma redução significativa nos valores de STD, após a biorremediação ($p < 0,05$), em todas as concentrações testadas, incluindo a água destilada.

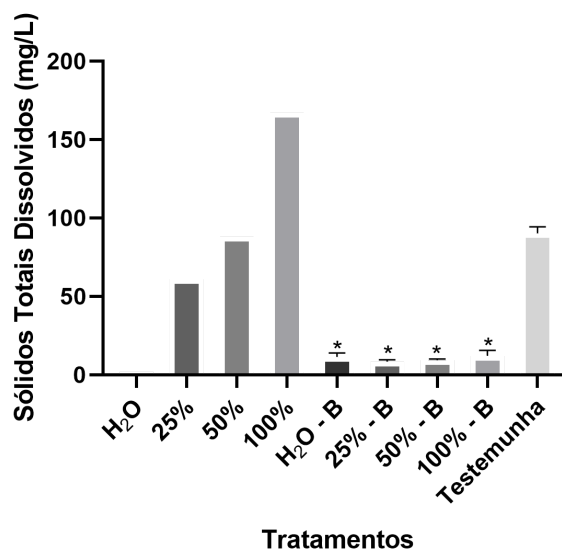


Figura 9: Gráfico demonstrando a variação de sólidos totais dissolvidos (mg/L) para cada concentração de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H_2O) antes e após a biorremediação (B) e a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita. Os dados representam a média $\pm$ o erro padrão. * = $p < 0,05$ (comparando com o seu respectivo tratamento antes da biorremediação). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

A redução dos STD indica uma eficácia na remoção de substâncias dissolvidas no meio aquoso, como compostos orgânicos e inorgânicos provenientes de bitucas de cigarro. Entre os compostos orgânicos, destacam-se a nicotina, fenóis, aldeídos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs); já entre os inorgânicos, é comum a presença de metais como chumbo, cádmio, arsênio e zinco. Essa redução pode ser atribuída à ação conjunta das macrófitas e dos microrganismos presentes no sistema *Wetland*, que assimilam e degradam esses compostos, melhorando a qualidade da água.

Esses resultados estão em consonância com Marcelino (2019) que demonstrou a eficiência de áreas úmidas construídas na remoção de sólidos dissolvidos. O estudo avaliou o

desempenho de áreas úmidas construídas, preenchidas com resíduos da construção civil na remoção de matéria orgânica e medicamentos de esgotos sanitários. Os resultados demonstraram que o sistema foi eficiente na remoção de matéria orgânica, com eficiência de 75% na remoção de demanda química de oxigênio (DQO) no sistema utilizado com argila expandida e porcelanato.

No trabalho de Silva *et al.* (2021) investigou-se a eficiência de zonas úmidas construídas de fluxo vertical com meio suporte de solo misturado com areia na remoção de coliformes termotolerantes de esgotos domésticos. Os sistemas apresentam eficiências de remoção variando de 87,8% a 100%, dependendo das taxas de aplicação hidráulica e do tipo de cultivo utilizado, demonstrando a eficácia desses sistemas no tratamento de esgotos domésticos.

Essas evidências reforçam a eficácia dos sistemas de zonas úmidas construídas na remoção de sólidos totais dissolvidos e outras impurezas, contribuindo para a melhoria da qualidade da água tratada.

4.2 Biorremediação em modelo experimental de *Wetland* construído (CW)

O modelo experimental de *Wetland* construído (CW) foi confeccionado de acordo com a metodologia descrita e teve no total 37 dias de experimento, sendo 7 dias de ambientação e 30 dias em ação. A temperatura média no decorrer do experimento foi de $30,83 \pm 2,49^{\circ}\text{C}$, sendo que foram aferidas a temperatura mínima de 25°C e máxima de 38°C , como apresentado no gráfico da Figura 10.

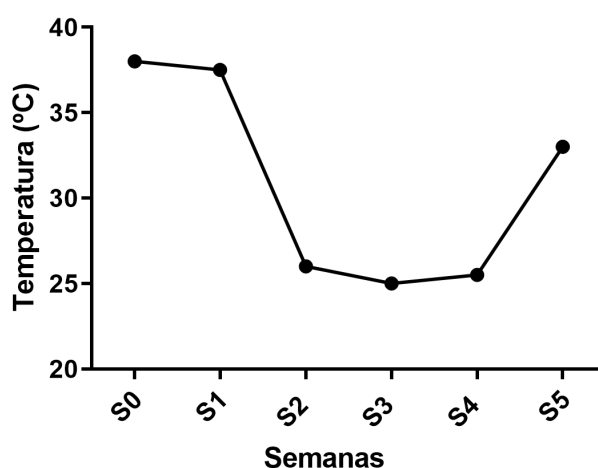


Figura 10: Gráfico demonstrando o valor de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) ambiente para cada semana de experimento. S0: semana zero, primeiro dia de experimento. S1: primeira semana de experimento. S2: segunda semana de experimento. S3: terceira semana de experimento. S4: quarta semana de experimento. S5: quinta semana de experimento, último dia. Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

A temperatura é um fator ambiental essencial que influencia diretamente os processos bioquímicos envolvidos na biorremediação, afetando tanto a atividade microbiana quanto o metabolismo das macrófitas (WANG *et al.*, 2023). A média de temperatura observada durante o experimento é considerada elevada e compatível com o clima tropical, favorecendo processos aeróbicos de manipulação de compostos orgânicos e a absorção de nutrientes pelas plantas. Apesar das oscilações, as condições térmicas mantiveram-se dentro de uma faixa tolerável para espécies vegetais adaptadas a zonas úmidas, como as frequentemente utilizadas em CWs (WANG *et al.*, 2023).

Para avaliar o crescimento das macrófitas ao longo do experimento, foi monitorado o peso médio das plantas em cada tratamento semanalmente, como mostra a Figura 11. Esse parâmetro serve como um indicativo do desenvolvimento vegetal e da capacidade das macrófitas de se adaptarem ao ambiente do *Wetland* construído, influenciado pela qualidade da solução e pela disponibilidade de nutrientes (NAZIR *et al.*, 2020).

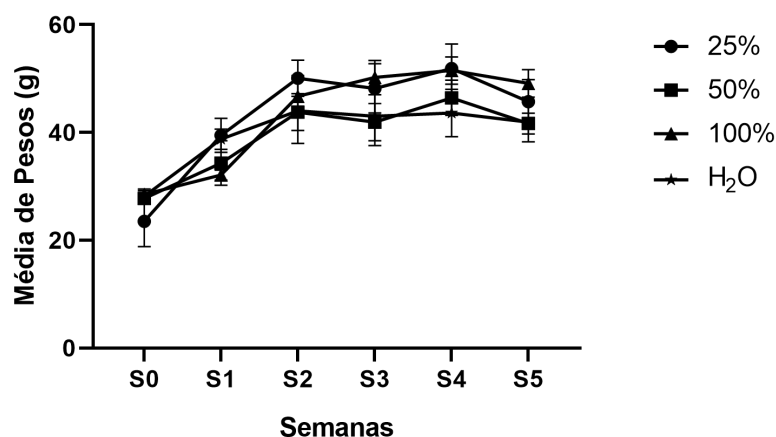


Figura 11: Gráfico demonstrando o valor médio de pesos (g) das macrófitas de cada tratamento para cada semana de experimento. H₂O refere-se ao recipiente que continha apenas água destilada para controle. 25%, 50% e 100% referem-se às concentrações de solução de bituca de cigarro em que cada recipiente continha. S0: semana zero, primeiro dia de experimento. S1: primeira semana de experimento. S2: segunda semana de experimento. S3: terceira semana de experimento. S4: quarta semana de experimento. S5: quinta semana de experimento, último dia. Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

Um estudo recente corroborou a importância desse tipo de monitoramento. Hinobu (2020) avaliou o crescimento de duas espécies de macrófitas aquáticas em diferentes concentrações de fósforo, utilizando o peso das plantas como indicador chave para determinar a resposta das macrófitas às variações nutricionais. Os resultados demonstraram que o peso das plantas é um indicador confiável do desenvolvimento vegetal em função da disponibilidade de nutrientes.

A variação de peso (peso final menos o peso inicial) entre os tratamentos foi registrada para verificar possíveis oscilações no crescimento das macrófitas ao longo do tempo, como é

indicado na Figura 12. Esse tipo de acompanhamento é relevante para entender como a biomassa se comporta diante dos diferentes tratamentos aplicados.

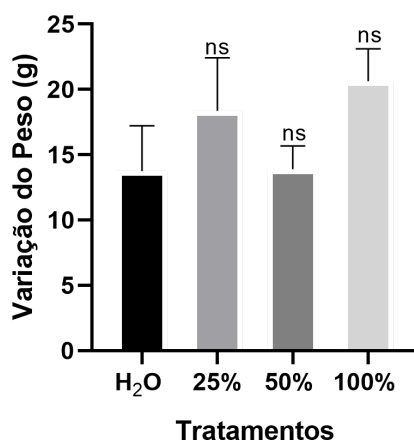


Figura 12: Gráfico demonstrando a variação de pesos (g) das macrófitas de cada tratamento. H₂O refere-se ao recipiente que continha apenas água destilada para controle. 25%, 50% e 100% referem-se às concentrações de solução de bituca de cigarro em que cada recipiente continha. ns: não significativo à $p < 0,05$ (comparando ao recipiente com água destilada, H₂O). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

Um estudo anterior também demonstrou a importância da avaliação de parâmetros como variação de peso, média de pesos ao longo do processo, peso seco e desenvolvimento estrutural da *Eichhornia crassipes* como indicadores do seu desempenho em diferentes condições ambientais. Dölle *et al.* (2021) destacam que o monitoramento da biomassa é fundamental tanto para fins de tratamento de águas residuais quanto para estimativas de produção de matéria orgânica.

Foi mensurado também o peso seco das macrófitas para quantificar a biomassa final obtida em cada tratamento, ilustrado na Figura 13. Essa análise é importante para caracterizar a produção vegetal após a exposição ao ambiente do *Wetland* construído.

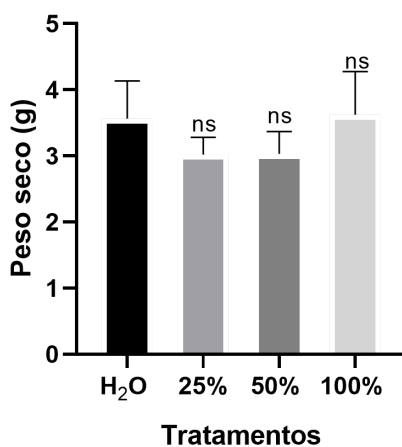


Figura 13: Gráfico demonstrando a média do peso seco (g) das macrófitas ao final do experimento de cada tratamento. H₂O refere-se ao recipiente que continha apenas água destilada para controle. 25%, 50% e 100% referem-se às concentrações de solução de bituca de cigarro em que cada recipiente continha. ns: não significativo à $p < 0,05$ (comparando ao recipiente com água destilada, H₂O). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

De forma semelhante, Hayyat *et al.* (2023) e Monroy-Licht *et al.* (2024) relatam que a variação na massa das plantas pode refletir diretamente a eficiência da fitorremediação, estando relacionada à absorção de nutrientes ou poluentes. A dissertação de Hinobu (2020) reforça essa abordagem ao correlacionar o crescimento da planta com as concentrações de fósforo no meio, demonstrando que oscilações na biomassa podem indicar tanto limitações nutricionais quanto adaptações fisiológicas da espécie. Dessa forma, o acompanhamento da variação de peso se mostra um parâmetro confiável e amplamente utilizado na literatura científica.

A contagem da quantidade de bulbos por planta (Figura 14) foi realizada para monitorar a produção de estruturas vegetativas ao longo do experimento. Esse parâmetro é comumente utilizado para acompanhar a multiplicação das macrófitas em sistemas de tratamento.

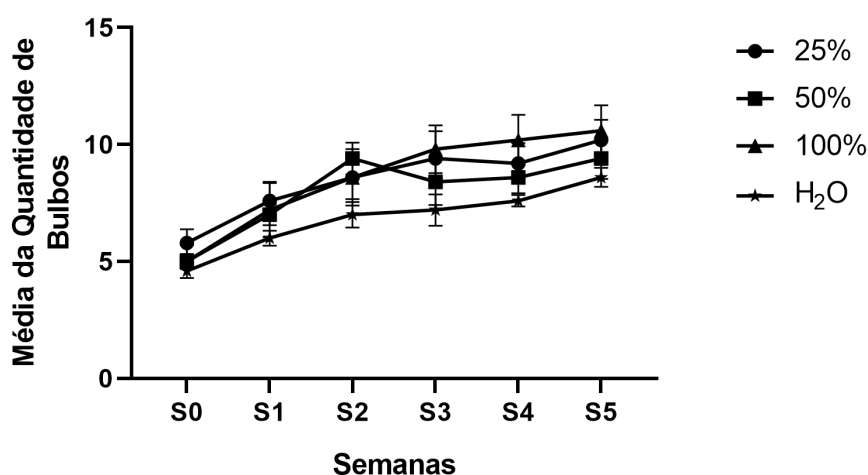


Figura 14: Gráfico demonstrando a média da quantidade de bulbos em cada tratamento para cada semana de experimento. H₂O refere-se ao recipiente que continha apenas água destilada para controle. 25%, 50% e 100% referem-se às concentrações de solução de bituca de bituca de cigarro em que cada recipiente continha. S0: semana zero, primeiro dia de experimento. S1: primeira semana de experimento. S2: segunda semana de experimento. S3: terceira semana de experimento. S4: quarta semana de experimento. S5: quinta semana de experimento, último dia. Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

O diâmetro dos bulbos foi acompanhado semanalmente (Figura 15) como uma métrica adicional de crescimento estrutural das macrófitas. Esse dado permite descrever a evolução da estrutura das plantas em diferentes condições experimentais.

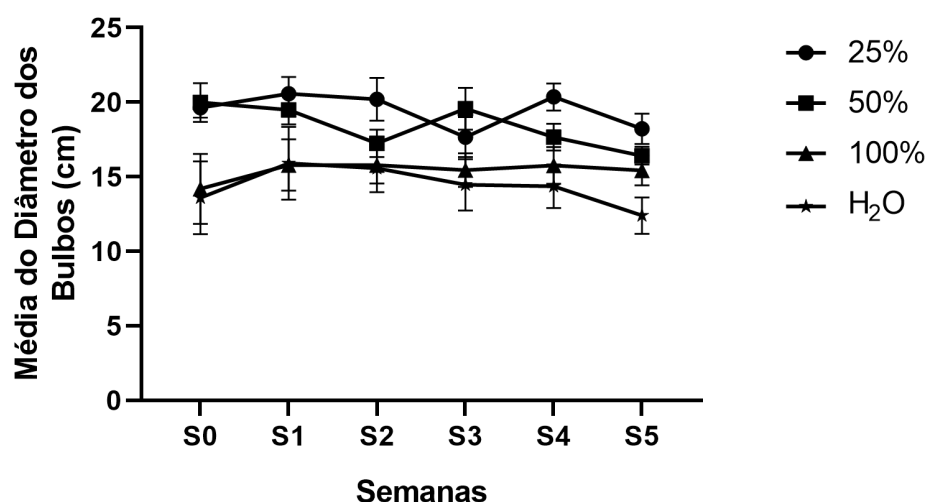


Figura 15: Gráfico demonstrando a média do diâmetro dos bulbos (cm) das macrófitas em cada tratamento para cada semana de experimento. H₂O refere-se ao recipiente que continha apenas água destilada para controle. 25%, 50% e 100% referem-se às concentrações de solução de bituca de cigarro em que cada recipiente continha. S0: semana zero, primeiro dia de experimento. S1: primeira semana de experimento. S2: segunda semana de experimento. S3: terceira semana de experimento. S4: quarta semana de experimento. S5: quinta semana de experimento, último dia. Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

A partir dessas informações foi possível afirmar, que tanto as macrófitas contendo apenas água destilada, quanto dos tratamentos, conseguiram variar o seu peso, o número e a quantidade de bulbos. Esse aumento na quantidade de bulbos, pode estar associado à capacidade das macrófitas de se adaptarem ao ambiente da *Wetland* construído, mesmo em condições não ideais, buscando garantir a propagação vegetativa. A *Eichhornia crassipes*, espécie amplamente utilizada em sistemas de tratamento de efluentes, se destaca por seus baixos requisitos nutricionais e sua capacidade de multiplicação rápida. Desta forma, facilita a formação de novas estruturas vegetativas, mesmo quando os recursos do meio estão limitados (NAZIR *et al.*, 2020). Esse comportamento adaptativo reforça a robustez da espécie em diferentes cenários ambientais, o que a torna uma candidata promissora para compor *Wetlands* construídos voltados para a biorremediação.

O florescimento das macrófitas foi monitorado ao longo do experimento em cada tratamento, como mostra a Figura 16. O aparecimento ou não de flores é uma variável frequentemente avaliada em estudos com plantas em sistemas de *Wetlands* construídos, já que o florescimento pode fornecer informações sobre o estágio de desenvolvimento e o ciclo de vida das macrófitas em diferentes condições ambientais.

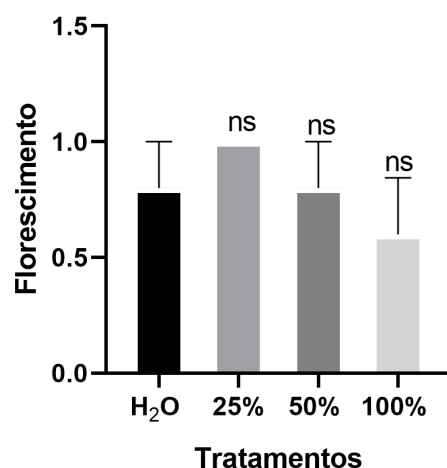


Figura 16: Gráfico demonstrando a média de florescimento de flores nas macrófitas ao longo do experimento em cada tratamento. H₂O refere-se ao recipiente que continha apenas água destilada para controle. 25%, 50% e 100% referem-se às concentrações de solução de bituca de cigarro em que cada recipiente continha. ns: não significativo à $p < 0,05$ (comparando ao recipiente com água destilada, H₂O). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

Apesar da diferença entre as variáveis monitoradas, não terem se apresentado significativas, (peso médio, variação do peso, peso seco, quantidade e diâmetro dos bulbos e florescimento das macrófitas), é possível atribuir diversos fatores intrínsecos ao experimento e às condições ambientais. Estudos recentes têm resultados semelhantes, mostrando que a eficácia das macrófitas em sistemas de zonas úmidas construídas pode variar de acordo com as condições específicas de cada estudo.

Por exemplo, Brito *et al.* (2022) avaliaram o uso de macrófitas aquáticas como ferramenta de fitorremediação em uma lagoa facultativa e observaram melhorias na qualidade da água após a implantação das plantas. No entanto, essas melhorias não foram estatisticamente significativas, exceto para o parâmetro de pH. Os autores concluíram que a densidade de macrófitas utilizadas pode ter sido insuficiente para promover efeitos significativos na eliminação de efluentes.

Para detectar diferenças mais pronunciadas entre os tratamentos, seria recomendável ampliar o tamanho amostral e estender a duração do experimento, incluindo a renovação das populações de aguapés e a reposição da água contaminada. A limitação de 5 indivíduos por tratamento pode ter reduzido o poder estatístico necessário para identificar diferenças significativas. Estudos recentes recomendam o uso de tamanhos amostrais maiores e períodos experimentais mais longos para aumentar a precisão dos resultados em pesquisas com macrófitas aquáticas (TAVEIRA, 2022).

4.3 Ensaios Citogenotóxicos

Para as análises de *A. cepa*, cada tratamento foi comparado com sua concentração correspondente antes da biorremediação. A ocorrência de citogenotoxicidade (inibição do crescimento, taxa de micronúcleo e taxa de alterações cromossômicas e nucleares), foi considerada quando a diferença entre antes e depois de biorremediação foi estatisticamente significativa. Posteriormente foram comparados os tratamentos com cada um deles, a partir do teste de comparações múltiplas de *Bonferroni*.

4.3.1. Toxicidade

Para avaliação da fitotoxicidade entre as diferentes amostras foram realizadas análises estatísticas comparando as médias de comprimento de raízes de *Allium cepa* antes e após a exposição aos tratamentos com aguapé. O crescimento das raízes em diferentes concentrações de tratamento foi comparado com o seu respectivo tratamento antes da biorremediação. A partir dos resultados obtidos foi gerado o gráfico da Figura 17.

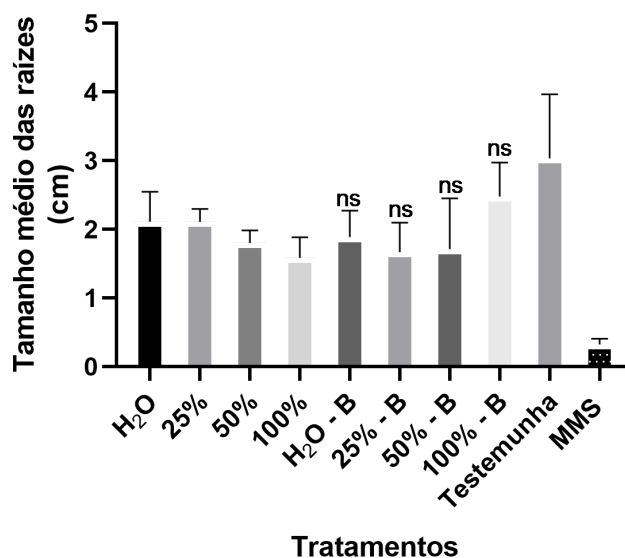


Figura 17: Gráfico demonstrando o comprimento médio de raízes de *Allium cepa* tratadas com as diferentes concentrações de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H₂O) antes e após a biorremediação (B), a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita, e o controle positivo feito com MMS. Os dados representam a média $\pm$ o erro padrão. ns: não significativo à $p < 0,05$ (comparando com o seu respectivo tratamento antes da biorremediação). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

Os resultados obtidos demonstraram que o grupo tratado com MMS (controle positivo) apresentou crescimento radicular acentuadamente reduzido em comparação com a testemunha. Antes da biorremediação, existe uma tendência de inibição do crescimento das raízes à medida que a concentração da amostra aumentava, evidenciando um possível efeito

tóxico proporcional à carga de contaminantes presentes no cigarro. Entretanto, após a biorremediação, essa tendência se inverteu, pois os tratamentos que passaram pelo sistema de *Wetland* apresentaram tendência em aumentar o crescimento radicular, indicando uma possível redução da toxicidade inicial.

A testemunha, manteve uma maior quantidade de raízes e com maior comprimento, o que reforça a ideia de que a solução do experimento, ainda continha substâncias que poderiam afetar o crescimento das raízes. Curiosamente, a água destilada, que inicialmente proporcionou um crescimento padrão mais estável, teve uma redução no tamanho das raízes após a biorremediação. Esse comportamento pode estar relacionado à possível lixiviação de compostos do sistema de tratamento para a água ou até à alteração de sua composição mineral durante o processo (BAKHSHOODEH *et al.*, 2020).

Esses resultados, destacam a complexidade das interações entre os contaminantes, o meio e as plantas indicadoras, como *Allium cepa*. Segundo Leme *et al.* (2009), a reversão dos efeitos inibitórios após a biorremediação pode indicar a redução de substâncias tóxicas específicas presentes no ambiente. No entanto, mesmo com essa melhora, ainda podem permanecer compostos secundários menos tóxicos, que, embora não causem efeitos agudos, podem continuar afetando o crescimento das plantas de forma mais sutil e gradual.

Além disso, resultados recentes apontam que sistemas de zonas úmidas construídos podem remover ou transformar certas substâncias prejudiciais. Contudo, também podem liberar subprodutos intermediários que, embora menos tóxicos, ainda afetam o desenvolvimento radicular (KURZBAUM *et al.*, 2022). Esse efeito pode explicar o comportamento inesperado da água destilada pós-biorremediação, onde a diminuição do crescimento radicular sugere que o meio passou a apresentar características menos propícias ao desenvolvimento das raízes.

Assim, a análise qualitativa das alterações no crescimento e na morfologia das raízes reforça a importância da biorremediação como ferramenta de mitigação de toxicidade. No entanto, destaca-se a necessidade de estudos complementares que avaliem não apenas o crescimento radicular, mas também outros parâmetros morfológicos e celulares para uma compreensão mais completa dos efeitos pós-tratamento.

4.3.2. Citotoxicidade

Uma análise do índice mitótico (IM) de *Allium cepa* foi realizada para investigar a possível citotoxicidade das amostras antes e após o processo de biorremediação. O IM indica

a porcentagem de células em mitose relativas às células totais. A partir dos resultados comparativos gerados pela análise estatística, foi gerado o gráfico da Figura 18.

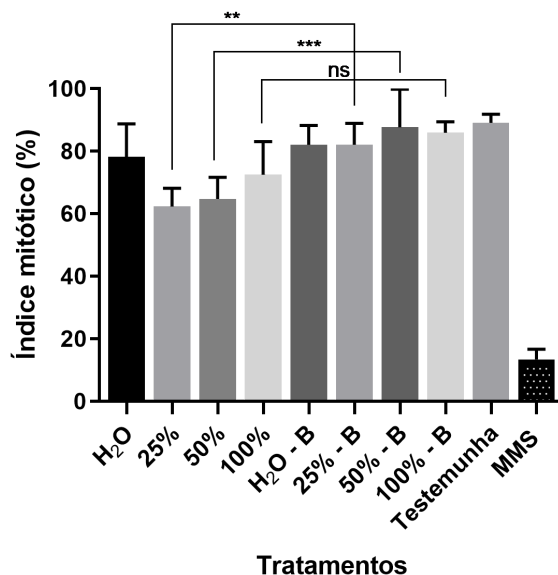


Figura 18: Gráfico demonstrando o Índice Mitótico (%) observado em células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas com as diferentes concentrações de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H₂O) antes e após a biorremediação (B), a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita, e o controle positivo feito com MMS. Os dados representam a média $\pm$ o erro padrão. ns: não significativo à $p < 0,05$. ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; (comparando com o seu respectivo tratamento antes da biorremediação). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

No presente estudo, observou-se um aumento significativo do IM nas concentrações de 25% e 50% após a biorremediação, sugerindo assim que, nestas diluições, os compostos presentes podem ter efeito citotóxico. Curiosamente, na concentração de 100%, não houve diferença significativa em relação ao seu correspondente antes da fitorremediação. Além disso, o controle positivo com metilmetanosulfonato (MMS) apresentou um índice mitótico (IM) reduzido, o que pode estar associado à sua conhecida ação como agente clastogênico, capaz de induzir quebras na molécula de DNA e promover alterações cromossômicas. O MMS é amplamente utilizado em bioensaios genotóxicos como controle positivo devido à sua capacidade de causar danos estruturais ao material genético, interferindo no ciclo celular e, consequentemente, podendo afetar a taxa de divisão celular (LEME *et al.*, 2009).

Esse fenômeno pode ser atribuído a uma resposta adaptativa das células ou à ativação de mecanismos de defesa que neutralizam os efeitos tóxicos em concentrações mais elevadas (LEME *et al.*, 2009). Uma teoria é que, em concentrações mais altas, ocorra uma citotoxicidade tão acentuada que resulta na morte celular, reduzindo o número de células em divisão e, consequentemente, o índice mitótico. Costa *et al.* (2022) avaliou o efeito

citogenotóxico do alfa terpineol, um monoterpeno presente em fragrâncias e eventualmente adicionado ao tabaco como aromatizante, em células meristemáticas *Allium cepa*, e encontrou uma diminuição significativa do IM em concentrações intermediárias. Por outro lado, as concentrações mais altas não levaram a uma redução adicional significativa, sugerindo um efeito de saturação ou adaptação celular.

Esses achados ressaltam a importância de considerar a concentração das substâncias testadas na avaliação de citotoxicidade, uma vez que diferentes concentrações podem desencadear respostas celulares distintas. A utilização do teste de *Allium cepa* continua sendo uma metodologia eficaz para a triagem de agentes citotóxicos e genotóxicos, contribuindo para a identificação de riscos ambientais e à saúde humana.

4.3.3. Genotoxicidade

4.3.3.1 Frequência de Alterações Cromossômicas (AC)

Foram apresentados dados que demonstram a frequência de alterações cromossômicas (AC), antes e após a biorremediação (Figura 19). O teste de AC foi realizado para identificar alterações estruturais nos cromossomos das células de *Allium cepa* expostas aos tratamentos. O aumento na frequência de AC pode indicar a presença de tendência mutagênica ou genotóxicas nos efluentes testados. A análise comparativa entre os tratamentos visa verificar a relação entre a concentração das substâncias e o potencial de indução de alterações cromossômicas (FISKESJÖ, 1985).

A análise da Frequência de Alterações Cromossômicas (AC) revelou diferenças estatisticamente significativas em todas as concentrações testadas após a biorremediação com o sistema de *Wetland indoor*. Especificamente, a concentração de 25% apresentou um nível de significância elevado ($p < 0,001$), enquanto as concentrações de 50% e 100% mostraram significância moderada ($p < 0,01$). Esses resultados sugerem que o sistema de *Wetland indoor* foi eficaz na mitigação dos efeitos citotóxicos das soluções de bituca de cigarro.

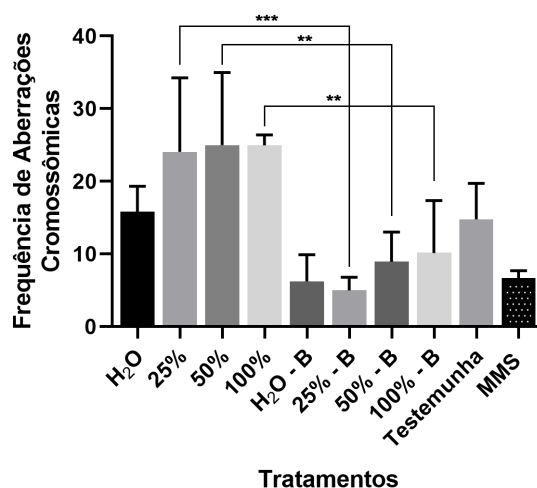


Figura 19: Gráfico demonstrando a Frequência de Alterações Cromossômicas (AC) em processo de divisão celular de *Allium cepa* tratadas com as diferentes concentrações de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H₂O) antes e após a biorremediação (B), a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita, e o controle positivo feito com MMS. Os dados representam a média ± o erro padrão. ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; (comparando com o seu respectivo tratamento antes da biorremediação). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

As alterações cromossômicas podem ser definidas como estruturais ou numéricas. As alterações estruturais incluem deleções, translocações, quebras cromossômicas e pontes anafásicas, que indicam danos severos ao material genético e podem comprometer a estabilidade celular (LEME *et al.*, 2009), alguns exemplos podem ser observados na prancha da Figura 20.

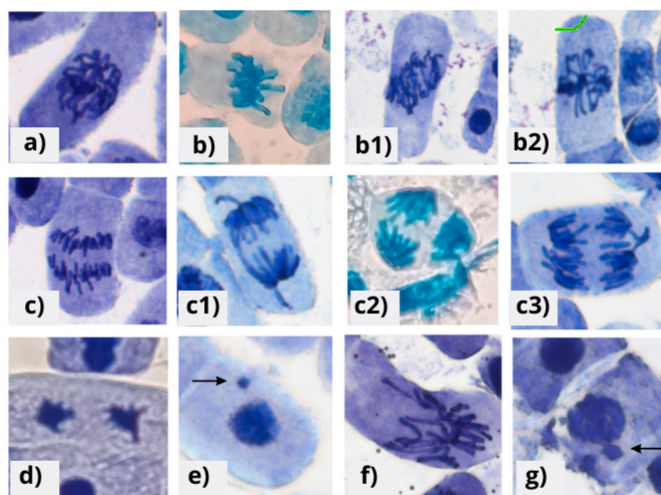


Figura 20: Prancha com as fases da divisão celular bem como as alterações cromossômicas e nucleares consideradas no teste de *Allium cepa*. a) prófase; b) metáfase; b1) metáfase pegajosa; b2) metáfase com perda cromossômica; c) anáfase; c1) anáfase com ponte cromossômica; c2) anáfase multipolar; c3) anáfase com atraso/retardo; d) telófase; e) micronúcleo; f) perda cromossômica; g) broto nuclear. Fonte: Autoria própria.

No presente estudo, a redução das alterações cromossômicas após a biorremediação sugere que o sistema de *Wetland* conseguiu remover ou neutralizar compostos genotóxicos

presentes na solução contaminada. Esse efeito pode estar relacionado à capacidade de adsorção de metais-traço pelas raízes das macrófitas, bem como à manipulação microbológica de substâncias tóxicas, processos que já foi relatado em um estudo com áreas úmidas construídas (NATAL; GHIOTTO, 2024).

4.3.3.2 Frequência de Alterações Nucleares (AN)

A Figura 21 ilustra os resultados obtidos para as Alterações Nucleares (AN) nas células de *Allium cepa* expostas aos tratamentos. As alterações nucleares incluem eventos como a formação de núcleos binucleados ou enucleados, que podem ser causados por agentes genotóxicos que afetam a estrutura nuclear (LEME *et al.*, 2009). Esse teste é particularmente útil para detectar substâncias que podem comprometer a integridade celular, resultando em danos nucleares. A análise das ANs permite uma avaliação mais detalhada sobre o efeito genotóxico das substâncias presentes nas amostras de água.

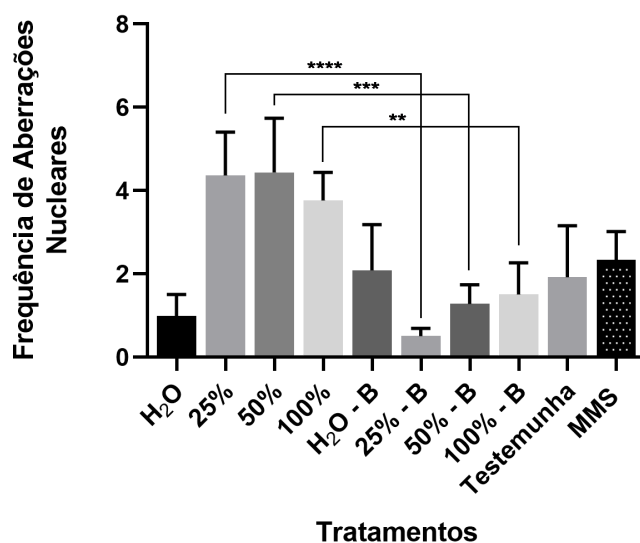


Figura 21: Gráfico demonstrando a Frequência de Alterações Nucleares (AN) em processo de divisão celular de *Allium cepa* tratadas com as diferentes concentrações de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H₂O) antes e após a biorremediação (B), a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita, e o controle positivo feito com MMS. Os dados representam a média ± o erro padrão. ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$; **** = $p < 0,0001$ (comparando com o seu respectivo tratamento antes da biorremediação). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

Uma análise da Frequência de Alterações Nucleares (AN) revelou resultados altamente significativos para todas as concentrações de 25%, 50% e 100% após a biorremediação. Esses resultados indicam que o sistema de *Wetland indoor* foi eficiente na mitigação dos danos nucleares causados pela solução de bituca de cigarro, com uma redução do número de alterações nucleares, diminuindo os efeitos citotóxicos ao longo do processo de

biorremediação. Freitas *et al.* (2023) corrobora com seu estudo sobre a utilização do teste com *Allium cepa* como uma ferramenta eficaz na avaliação da genotoxicidade de ambientes aquáticos contaminados.

A aplicação de sistemas de *Wetlands* construídos tem se mostrado uma alternativa sustentável para a remoção de poluentes orgânicos e metais-traço de águas contaminadas. A eficácia desses sistemas na redução da toxicidade de efluentes industriais foi evidenciada em estudo que utilizou o bioensaio de *Allium cepa* para avaliar a detoxificação de lodos de estações de tratamento de água e esgoto após processos de biorremediação (SANTOS, 2018).

Portanto, os resultados obtidos neste estudo reforçam a importância dos sistemas de *Wetlands* construídos na mitigação dos efeitos nocivos de contaminantes presentes em resíduos de cigarro, promovendo a melhoria da qualidade da água e reduzindo os riscos ambientais e à saúde associados à exposição a agentes genotóxicos.

4.3.3.3 Frequência de Micronúcleo (MN)

A Frequência de Micronúcleos (MN), é um teste mais comumente usado para detectar danos genéticos em células, e seus dados estão dispostos na Figura 22. Os micronúcleos são estruturas extras no citoplasma que se formam quando fragmentos de cromossomos ou cromossomos inteiros não se integram ao núcleo principal durante a divisão celular (LEME, *et al.* 2009). A presença de micronúcleos é um indicativo de que o material genético foi danificado, o que pode resultar em mutações e outras alterações genéticas (LEME, *et al.* 2009). Os resultados desse teste são essenciais para avaliar o potencial genotóxico das amostras expostas aos tratamentos.

O gráfico de Micronúcleo (MN) revelou significância estatística em todos os tratamentos. Os resultados indicam que, após a biorremediação, as concentrações de bituca de cigarro diminuíram a formação de micronúcleos, um marcador clássico de danos ao DNA. No tratamento com MMS, o valor foi significativamente elevado, confirmando sua ação como agente mutagênico e evidenciando o efeito induzido no material genético das células. A formação de micronúcleos é frequentemente associada à fragmentação cromossômica, aneuploidia e instabilidade genética, sendo um indicativo de que as células sofreram danos genéticos durante a divisão celular (FISKESJÖ, 1985).

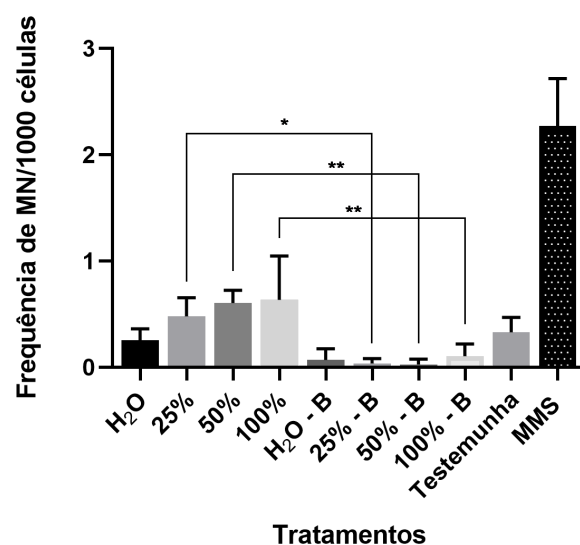


Figura 22: Gráfico demonstrando a Frequência de Micronúcleos (MN) em 1000 células em interfase de *Allium cepa* tratadas com as diferentes concentrações de solução de bituca de cigarro (100%, 50% e 25%) e água destilada (H₂O) antes e após a biorremediação (B), a testemunha no sistema *Wetland* que continha apenas solução de cigarro 100% sem macrófita, e o controle positivo feito com MMS. Os dados representam a média ± o erro padrão. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; (comparando com o seu respectivo tratamento antes da biorremediação). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

No estudo de Cavalheri (2022) avaliou-se tecnologias avançadas combinadas com *Wetlands* construídos para a remoção de contaminantes emergentes em efluentes de estações de tratamento de esgoto. Os resultados mostraram que o sistema combinado apresentou excelente desempenho na remoção de fármacos e na redução da ecotoxicidade, indicando a eficácia dessas tecnologias na melhoria da qualidade da água, indo de encontro com os resultados do presente trabalho.

5. CONCLUSÃO

Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia de um sistema de *Wetland indoor* com *Eichhornia crassipes* na mitigação dos efeitos citogenotóxicos de soluções contaminadas por bitucas de cigarro. Os resultados demonstraram que o sistema foi capaz de promover melhorias significativas nos parâmetros físico-químicos da solução, como a redução da condutividade elétrica e dos sólidos totais dissolvidos, além do aumento do potencial redox e do oxigênio dissolvido e melhora do pH da solução, indicadores claros de um processo ativo de biorremediação.

Nos ensaios com *Allium cepa*, observou-se que, antes do tratamento, a solução causava efeitos tóxicos e genotóxicos acentuados, como inibição do crescimento radicular e redução do índice mitótico, aumento de alterações cromossômicas e nucleares e frequência de

miconúcleos. Após a passagem pelo sistema de *Wetland*, esses efeitos foram significativamente reduzidos, evidenciando a capacidade da *Eichhornia crassipes* de absorver, transformar e imobilizar compostos tóxicos presentes no lixiviado de bitucas.

Embora o desenvolvimento morfológico das macrófitas não tenha apresentado diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, seu desempenho funcional no processo de fitorremediação foi evidente. A manutenção da biomassa e a resistência da planta mesmo em concentrações elevadas do contaminante reforçam sua aptidão para uso em sistemas de tratamento de água contaminada.

Conclui-se, portanto, que a utilização de *Eichhornia crassipes* em sistemas de *Wetland indoor* representa uma alternativa promissora, de baixo custo e ecologicamente sustentável para o tratamento de resíduos líquidos oriundos do descarte de bitucas de cigarro. Recomenda-se, para estudos futuros, o prolongamento do tempo de exposição, o uso de diferentes densidades de macrófitas e a inclusão de outros organismos biomonitores, a fim de ampliar o entendimento sobre os mecanismos de remediação e os limites de aplicação desse tipo de sistema em contextos reais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHMAD, Musfirah *et al.* Building Awareness about the Dangers of Smoking and Its Impact on the Environment. **Abdimas Polsaka**, [S.L.], v. 2, n. 2, p. 155-160, 22 set. 2023. Sandi Karsa Polytechnic Makassar. <http://dx.doi.org/10.35816/abdimaspolsaka.v2i2.57>.

AGIBAYEVA, Akmaral *et al.* Analytical Methods for Physicochemical Characterization and Toxicity Assessment of Atmospheric Particulate Matter: a review. **Sustainability**, [S.L.], v. 14, n. 20, p. 13481, 19 out. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/su142013481>.

APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 23^a ed. Washington: American Public Health Association, **American Water Works Association**, Water Environment Federation, 2017.

ARAT, Seren Acarer *et al.* A review on cigarette butts: environmental abundance, characterization, and toxic pollutants released into water from cigarette butts. **Science Of The Total Environment**, [S.L.], v. 928, p. 172327, jun. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172327>.

BAKHSHOODEH, Reza *et al.* Constructed Wetlands for landfill leachate treatment: a review.

Ecological Engineering, [S.L.], v. 146, p. 105725, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.105725>.

BALA, Saroj *et al.* Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: a review for a green and sustainable environment. **Toxics**, [S.L.], v. 10, n. 8, p. 484, 19 ago. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/toxics10080484>.

BEUTEL, Marc W. *et al.* A Review of Environmental Pollution from the Use and Disposal of Cigarettes and Electronic Cigarettes: contaminants, sources, and impacts. **Sustainability**, [S.L.], v. 13, n. 23, p. 12994, 24 nov. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/su132312994>.

Bonanomi, Giuliano *et al.* Cigarette Butt Decomposition and Associated Chemical Changes. **CPMAS NMR. PLoS ONE**, [S.L.], e0117393. 27 Jan. 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117393>.

BRITO, Luanny Dantas de *et al.* Potencial de uso de macrófitas aquáticas como ferramenta de fitorremediação na lagoa facultativa da Estação de Tratamento de Esgoto de Mamanguape-PB. *Gaia Scientia*, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 94-118, 29 dez. 2022. Universidade Federal da Paraíba. <http://dx.doi.org/10.22478/ufpb.1981-1268.2022v16n4.44954>.

CARDOSO, Letícia Silva *et al.* The exposure to water with cigarette residue changes the anti-predator response in female Swiss albino mice. **Environmental Science And Pollution Research**, (2018). DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-017-1150-4>.

CAVALHERI, Priscila Sabioni. Desempenho de tecnologias avançadas e combinadas com *Wetland* construído para remoção de contaminantes emergentes em efluente de estação de tratamento de esgoto. Tese (Doutorado) - Curso de Química, UFMS, Campo Grande, 2022.

CHEN, J. *et al.* Removal of steroid hormones and biocides from rural wastewater by an integrated constructed *Wetland*. **Science of The Total Environment**, v. 660, p. 358–365, abr. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.049>.

COPETTI, Camila Morizzo *et al.* Biorremediação: metodologia sustentável na remoção de xenobióticos da água. *Research, Society And Development*, [S.L.], v. 11, n. 9, p. 1-11, 10 jul. 2022. Research, Society and Development. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i9.31978>.

COSTA, Rafael Everton Assunção Ribeiro *et al.* Efeito citogenotóxico do α -terpineol em

células meristemáticas de *Allium cepa* L. **Scientia Plena**, [S.L.], v. 18, n. 4, p. 1-9, 12 maio 2022. Associação Sergipana de Ciência. <http://dx.doi.org/10.14808/sci.plena.2022.045201>.

DAOU, Claude *et al.* Multivariate Monitoring of Surface Water Quality: physico-chemical, microbiological and 3d fluorescence characterization. **Water**, [S.L.], v. 12, n. 6, p. 1673, 11 jun. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/w12061673>.

DINIZ, Célia R. *et al.* Uso de macrófitas aquáticas como solução ecológica para melhoria da qualidade de água. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 226-230, 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v9nsupp226-230>.

DÖLLE, K. *et al.* Water Hyacinths (*Eichhornia crassipes*) – Application for Secondary Wastewater Treatment and Biomass Production. **Journal Of Advances In Biology & Biotechnology**, [S.L.], p. 52-61, 25 mar. 2021. Sciencedomain International. <http://dx.doi.org/10.9734/jabb/2021/v24i130196>.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99–112, 1985. <https://doi.org/10.1111/J.1601-5223.1985.TB00471>.

FREITAS, L.G.R *et al.* Ecotoxicidade da água do canal Água Cristal (Marambaia, Belém, Pará, Brasil): utilizando o sistema teste *Allium cepa* como bioindicador. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 57-70, 10 jun. 2023. Zenodo. <http://dx.doi.org/10.5281/ZENODO.8023617>.

GOERCK, Janaina *et al.* Eletrocoagulação como pós-tratamento do efluente de um *Wetland* construído de escoamento vertical. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, [S.L.], v. 26, n. 1, p. 113-121, fev. 2021. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-415220190068>.

GOMES-SILVA, Guilherme *et al.* Using native and invasive livebearing fishes (Poeciliidae, Teleostei) for the integrated biological assessment of pollution in urban streams. **Science Of The Total Environment**, (2019). <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134336>.

GUERRA, M.; DE SOUZA, M. J. Como observar cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana. Ribeirão Preto: Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto, 2002.

HAYYAT, Muhammad Umar *et al.* Evaluating the Phytoremediation Potential of *Eichhornia*

crassipes for the Removal of Cr and Li from Synthetic Polluted Water. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 3512, 16 fev. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph20043512>.

HINOBU, Ingrid Mayumi. Avaliação do crescimento de duas espécies de macrófitas aquáticas e do fitoplâncton em diferentes concentrações de fósforo. 151 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

JARDIM, Wilson F. *et al.* MEASUREMENT AND INTERPRETATION OF REDOX POTENTIAL VALUES (EH) IN ENVIRONMENTAL MATRICES. **Química Nova**, [S.L.], p. 233-235, 2014. GN1 Sistemas e Publicações Ltd.. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140207>.

JAYAWARDENA, Uthpala A. *et al.* Cytogenotoxicity evaluation of a heavy metal mixture, detected in a polluted urban Wetland: micronucleus and comet induction in the indian green frog (*euphyctis hexadactylus*) erythrocytes and the *Allium cepa* bioassay. **Chemosphere**, [S.L.], v. 277, p. 130278, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130278>.

KURZBAUM, Eyal *et al.* The Partial Contribution of Constructed Wetland Components (Roots, Gravel, Microorganisms) in the Removal of Phenols: a mini review. **Water**, [S.L.], v. 14, n. 4, p. 626, 18 fev. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/w14040626>.

LEME, Daniela Morais *et al.* *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research/Reviews In Mutation Research**, [S.L.], v. 682, n. 1, p. 71-81, jul. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>.

MARCELINO, Gabriela Ribeiro *et al.* Construction waste as substrate in vertical subsuperficial constructed Wetlands treating organic matter, ibuprofenhene, acetaminophen and ethinylestradiol from low-strength synthetic wastewater. **Science Of The Total Environment**, [S.L.], v. 728, p. 138771, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138771>.

MARCELINO, Gabriela Ribeiro. Desempenho de *Wetlands* construídos preenchidos com resíduos da construção civil na remoção de matéria orgânica, ibuprofeno, paracetamol e etinilestradiol de esgotos sanitários. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia

Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

MATOS, Antonio T. de *et al.* Influência da espécie vegetal cultivada nas condições redox de sistemas alagados construídos. **Engenharia Agrícola**, [S.L.], v. 30, n. 3, p. 518-526, jun. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-69162010000300015>.

MELO, Erisson Cruz de *et al.* *Allium cepa* as a Toxicogenetic Investigational Tool for Plant Extracts: a systematic review. **Chemistry & Biodiversity**, [S.L.], v. 21, n. 12, 26 out. 2024. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.202401406>.

MISIN, MIDWEST INVASIVE SPECIES INFORMATION NETWORK (org.). **Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*)**. Disponível em: <https://www.misin.msu.edu/facts/detail.php?id=48>. Acesso em: 04 abr. 2025.

MONROY-LICHT, Andrea *et al.* Unlocking the potential of *Eichhornia crassipes* for wastewater treatment: phytoremediation of aquatic pollutants, a strategy for advancing sustainable development goal-06 clean water. **Environmental Science And Pollution Research**, [S.L.], v. 31, n. 31, p. 43561-43582, 25 jun. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-024-33698-9>.

MONTALVÃO, Mateus Flores. Biomarcadores comportamentais e mutagênicos em *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819) expostos a lixo de bitucas de cigarro - Urutaí, GO: IF Goiano, 2019.

MOROZ, Ivan *et al.* Toxicity of cigarette butts and possible recycling solutions—a literature review. **Environmental Science And Pollution Research**, [S.L.], v. 28, n. 9, p. 10450-10473, 7 jan. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-020-11856-z>.

NATAL, Jean Paulo Silva; GHIOTTO, Grace Anne Vieira Magalhães. **Novas tecnologias no tratamento de águas contaminadas e resíduos sólidos**. Belo Horizonte: Poisson, 2024. Disponível em: https://www.poisson.com.br/livros/individuais/Tratamento_aguas/Tratamento_aguas.pdf. Acesso em: 22 mar. 2025.

NAZIR, M. I. *et al.* Potencial of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes* L.) for Phytoremediation of Heavy Metals from Waste Water. **Biological and Clinical Sciences**

Research Journal, n. 1, p. e006–e006, 12 dez. 2020.

NORTE, A. C. C.; ZANELLA, L.; ALVES, W. C. Espécies Vegetais com Potencial Ornamental para Utilização em *Wetlands* Construídos. **ResearchGate**, 2º Simpósio Brasileiro sobre *Wetlands* Construídos. jun. 2015.

OLIVEIRA, D. M. Avaliação *in vivo* e *in vitro* do Potencial Citogenotóxico de Afluentes do Rio Uberabinha (Uberlândia-MG): uma ferramenta para o Biomonitoramento da Qualidade da Água. Dissertação—Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2018.

PIVETTA, G. G. Efeito do diâmetro de colunas experimentais de biorretenção e diferentes mídias filtrantes na remoção de poluentes do escoamento pluvial. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil, (2022).

POTT, V. J. *et al.* **Potencial do uso de plantas aquáticas na despoluição da água.** Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1517-3747 ; 133. (2002).

RODRIGUES, Ana Carolina D. *et al.* Response Mechanisms of Plants to Heavy Metal Pollution: possibility of using macrophytes for remediation of contaminated aquatic environments. **Revista Virtual de Química**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 262-276, 07 jan. 2016. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20160017>.

RUMAMBI, Freddy Johanis *et al.* Environmental Effects on Health: the role of sustainable environmental management. **Jurnal Aisyah: Jurnal Ilmu Kesehatan**, [S.L.], v. 8, n. 2, 27 maio 2023. STIKES Aisyah Pringsewu Lampung. <http://dx.doi.org/10.30604/jika.v8i2.2028>.

SANTOS, Tamara. Avaliação da detoxificação de associações de lodos de ETE e ETA pelo bioensaio de *Allium cepa*. Monografia. (Bacharelado - Ecologia) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências - Rio Claro, 2018.

SCHÜCK, Maria *et al.* Salinity and temperature influence removal levels of heavy metals and chloride from water by wetland plants. **Environmental Science And Pollution Research**, [S.L.], v. 30, n. 20, p. 58030-58040, 28 mar. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-023-26490-8>.

SEEMANN, Luiza. **Construção e utilização de projeto de *Wetland* construído para mitigação dos efeitos citogenotóxicos de afluentes urbanos contaminados.** 54 f. Monografia (Especialização) - Curso de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia,

Uberlândia - Mg, 2021.

SILVA, Amanda Lys dos Santos *et al.* MONITORAMENTO DA BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTE AGROINDUSTRIAL DESTINADO AO REUSO. **Anais do II Congresso On-Line Internacional de Sustentabilidade**, [S.L.], p. 62, 29 set. 2021. Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente. <http://dx.doi.org/10.51189/rema/2084>.

SILVA, Josiane Rodrigues Rocha da *et al.* *Wetlands* construídas para tratamento de efluentes industriais: revisão. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, [S.L.], v. 13, n. 4, p. 232-248, 2 jul. 2022. Companhia Brasileira de Produção Científica. <http://dx.doi.org/10.6008/cbpc2179-6858.2022.004.0020>.

SILVA, Selma Cristina *et al.* *Wetlands* construídos com meio suporte de solo na remoção de coliformes termotolerantes de esgotos domésticos. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 32, 26 abr. 2021. Universidade Federal da Bahia. <http://dx.doi.org/10.9771/gesta.v9i1.41906>.

SILVA, Selma Cristina *et al.* Remoção de sais em *Wetlands* construídos no tratamento de esgotos domésticos primário. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 125, 24 abr. 2018. Universidade Federal da Bahia. <http://dx.doi.org/10.9771/gesta.v6i1.22371>.

SMIRNOVA, Maria V. *et al.* Cytogenetic effects y-radiation in the cells of the root meristem of *Allium cepa*. **Siberian Journal Of Life Sciences And Agriculture**, [S.L.], v. 16, n. 2, p. 113-125, 30 abr. 2024. Science and Innovation Center. <http://dx.doi.org/10.12731/2658-6649-2024-16-2-760>.

SOUSA, D. J. L. Pontederiaceae. In: **Flora do Brasil 2020**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020.

STOTTMEISTER, U. *et al.* Effects of plants and microorganisms in constructed Wetlands for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 22, n. 1-2, p. 93-117, dez. 2003. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.08.010>.

TAVARES, S. R. DE L. Fitorremediação em Solo e Água de Áreas Contaminadas por Metais Pesados Provenientes da Disposição de Resíduos Perigosos. Tese—Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, out. 2009.

TAVEIRA, Renan. Crescimento e distribuição de duas espécies de macrófitas aquáticas submersas em diferentes condições ambientais. 2022. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Vegetal, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Rio Claro, 2022.

TERAMOTO, Elias H. *et al.* Metal speciation of the Paraopeba river after the Brumadinho dam failure. **Science Of The Total Environment**, [S.L.], v. 757, p. 143917, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143917>.

TORKASHVAND, Javad *et al.* Littered cigarette butt as a well-known hazardous waste: a comprehensive systematic review. **Journal Of Hazardous Materials**, [S.L.], v. 383, p. 121242, fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121242>.

VENUGOPAL, P. Dilip *et al.* No Butts on the Beach: aquatic toxicity of cigarette butt leachate chemicals. **Tobacco Regulatory Science**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 17-30, 1 jan. 2021. JCFCorp SG PTE LTD. <http://dx.doi.org/10.18001/TRS.7.1.2>.

VYMAZAL, Jan *et al.* Recent research challenges in constructed Wetlands for wastewater treatment: a review. **Ecological Engineering**, [S.L.], v. 169, p. 106318, nov. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2021.106318>.

VYMAZAL, Jan *et al.* The Historical Development of Constructed Wetlands for Wastewater Treatment. **Land**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 174, 21 jan. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/land11020174>.

WANG, Huiyong *et al.* Effect of Temperature on Microorganisms and Nitrogen Removal in a Multi-Stage Surface Flow Constructed Wetland. **Water**, [S.L.], v. 15, n. 7, p. 1256, 23 mar. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/w15071256>.