



Ecotoxicidade do corante Vermelho Direto 09 utilizando *Eisenia fetida* (Savigny in Cuvier, 1826) e *Lactuca sativa* L. como indicadores biológicos

Ecotoxicity of Direct Red 09 dye using *Eisenia fetida* (Savigny in Cuvier, 1826) and *Lactuca sativa* L. as biological indicators

Leonardo Mendes da Silva^a, Vanessa de Souza Vieira Dutra^a, Ana Letícia Borgo^a, Carla Maria Souza Nascimento^a, José Emílio Zanzirolani de Oliveira^a

^a Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais-IF SUDESTE MG, *Campus* Barbacena, Laboratório Interdisciplinar de Formação de Educadores-LIFE. Rua Monsenhor José Augusto, n. 204, São José, Barbacena, Minas Gerais, Brasil. CEP: 36205-018. E-mail: leonardoifsudestemg@gmail.com, vanessasvdutra@gmail.com, analeticiaborgo03@gmail.com, carlasnascimento00@gmail.com, jose.zanzirolani@ifsudestemg.edu.br.

ARTICLE INFO

Recebido 12 Jun 2023

Aceito 26 Jun 2024

Publicado 15 Ago 2024

ABSTRACT

The constantly evolving industrial sector has been causing increasing pollution in watercourses and soil. The production of dyes contributes to this problem, as approximately 15% of the substances used in the industry are directly discarded into the environment. Due to the limited information on the environmental impacts of dyes, the study aimed to evaluate the toxic potential of Direct Red 09 dye on earthworms (*Eisenia fetida*) and the germination and initial development of lettuce (*Lactuca sativa*). Four concentrations of the dye (1, 2, 4, and 8 mg mL⁻¹) were evaluated in addition to the control (distilled water). The toxicity tests followed the OECD 207 guidelines for *E. fetida* and ISO 18763 for *L. sativa*, with adaptations. The results showed that in earthworms, exposure to the dye caused 20% mortality at a concentration of 8 mg mL⁻¹. In contrast, lower concentrations caused morphological alterations such as loss of coloration and blood and coelomic fluid leakage. In lettuce, the concentration of 8 mg mL⁻¹ reduced the germination percentage by 73,16%, and concentrations of 4 and 8 mg mL⁻¹ affected the germination speed index. The length of the shoot and root of the seedlings was affected by all evaluated dye concentrations, with the median effective concentration (EC₅₀) for the root being 1,75 mg mL⁻¹. It can be concluded that Direct Red 09 dye is toxic to the tested living organisms, highlighting the need for control in the disposal of this substance into the environment.

Keywords: Plant bioassays, ecotoxicology, aquatic pollution, soil pollution.

RESUMO

O setor industrial em constante evolução tem causado poluição crescente em cursos d'água e solo. A produção de corantes contribui com esse problema, pois cerca de 15% das substâncias utilizadas na indústria são descartadas diretamente no meio ambiente. Devido às poucas informações sobre os impactos ambientais dos corantes, o estudo objetivou avaliar o potencial tóxico do corante Vermelho Direto 09 sobre minhocas (*Eisenia fetida*) e sobre a germinação e o desenvolvimento inicial da alface (*Lactuca sativa*). Foram avaliadas quatro concentrações do corante (1, 2, 4 e 8 mg mL⁻¹), além do controle (água destilada). Os testes de toxicidade seguiram as normas da OECD 207 para a *E. fetida* e da ISO 18763 para a *L. sativa*, ambos com adaptações. Pelos resultados verificou-se que nas minhocas, a exposição ao corante causou 20% de mortalidade na concentração de 8 mg mL⁻¹, enquanto concentrações menores causaram alterações, como perda de coloração e extravasamento de sangue e fluido celômico. Na alface, a concentração de 8 mg mL⁻¹ reduziu em 73,16% a porcentagem de germinação e nas concentrações de 4 e 8 mg mL⁻¹ afetou o índice de



velocidade de germinação. O comprimento da parte aérea e da raiz das plântulas foi afetado por todas as concentrações do corante avaliadas, sendo que a concentração efetiva média (EC₅₀) para a raiz foi de 1,75 mg mL⁻¹. Conclui-se que o corante Vermelho Direto 09 é tóxico aos organismos vivos testados, evidenciando a necessidade de controle no descarte dessa substância no ambiente.

Palavras-Chave: Bioensaios vegetais, ecotoxicologia, poluição aquática, poluição do solo.

Introdução

Os cursos d'água e o solo têm sido atingidos ao longo do tempo por situações crescentes de poluição, devido a ações antrópicas. O desenvolvimento do setor industrial gerou aumento dos impactos negativos ambientais, por ser um dos principais agentes causadores de poluição do solo e da água. Os corantes têxteis, naturais e artificiais, são produzidos em todo o mundo e, atualmente, há cerca de 10.000 tipos de corantes disponíveis no mercado. A indústria de corantes foi avaliada em US\$9,4 bilhões em 2018 e está projetada para alcançar US\$15,5 bilhões em 2026 (Ayushi, 2020). Durante a produção de corantes artificiais, cerca de 15% das substâncias são eliminadas no meio ambiente, representando 20.000 toneladas de corantes têxteis por ano (Sharma, Sharma & Soni, 2021).

Dos corantes de vestuário presentes no mercado brasileiro encontra-se o Vermelho Direto 09 (Tingecor®). Esse corante é comercializado para uso doméstico e, após o uso, há o descarte da solução residual no solo e no esgoto doméstico, o que pode contaminar o ambiente, como os reservatórios de água, e prejudicar os organismos presentes no meio ou os que fazem uso da água ou solo. Infelizmente, as informações toxicológicas sobre esse corante são escassas, visto que sua ficha de Informação de Segurança de Produto Químico (FISPQ) não contém informações de ecotoxicidade. Na FISPQ há referência que o produto pode ser tóxico ao trato digestório se ingerido e pode causar irritações nos olhos, se houver contato (FISPQ, 2020).

Considerando a crescente preocupação com a poluição, é fundamental avaliar o potencial tóxico de substâncias químicas complexas, como os corantes comerciais, sobre os ecossistemas. Nesse sentido, os bioensaios surgem como ferramentas importantes para avaliar os efeitos tóxicos dessas substâncias e podem envolver a utilização de organismos vivos, incluindo animais, plantas, algas e bactérias (Zagatto & Bertolotti, 2006; Schuijt et al., 2021).

Dentre os organismos utilizados nos bioensaios, destacam-se as minhocas, que são invertebrados comuns encontrados em diversos tipos de solo, e que desempenham um papel fundamental na manutenção do ecossistema. Elas

podem representar uma proporção significativa da biomassa total do solo, variando de 60% a 80%. Além disso, a presença das minhocas no solo influencia diretamente o teor de umidade, a ciclagem de nutrientes, a aeração e a estrutura geral do solo. No entanto, é importante destacar que as minhocas são altamente sensíveis à presença de poluentes no solo (Alves, Bandeira & Hennig, 2022). Dentre as várias espécies de minhocas, destaca-se a *Eisenia fetida* (Savigny in Cuvier, 1826), que pertence à família Lumbricidae. Essa espécie específica é considerada um organismo modelo para o monitoramento ambiental (Yadav et al., 2023).

Outro bioensaio importante para avaliar o potencial tóxico de substâncias é o que utiliza modelos vegetais. Esse tipo de bioensaio oferece vantagens, como simplicidade, baixo custo e sensibilidade desses sistemas biológicos. Além disso, a utilização de modelos vegetais não requer aprovação do comitê de ética em pesquisa animal, tornando os testes mais acessíveis e éticos. É importante destacar que os bioensaios vegetais são reconhecidos e recomendados por organizações internacionais, como a *Environmental Protection Agency* (EPA) e a *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD), como uma ferramenta útil e complementar aos testes com animais em avaliações toxicológicas (Vieira, Silveira, 2018).

Com base no exposto, o estudo objetivou avaliar o potencial tóxico do corante Vermelho Direto 09 utilizando testes de toxicidade aguda com *E. fetida*, bem como avaliar seus efeitos sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de um modelo vegetal, a alface (*Lactuca sativa* L.).

Material e Métodos

Preparo das soluções testes

O corante têxtil Vermelho Direto 09 (Tingecor®) foi adquirido em comércio especializado e posteriormente diluído em água destilada para o preparo das concentrações. Para a realização das análises, foram avaliadas quatro concentrações distintas do corante (1, 2, 4 e 8 mg mL⁻¹), além disso, água destilada foi empregada como grupo controle. Após o preparo das soluções foi realizado os dois testes de toxicidade propostos conforme demonstrado na Figura 1.

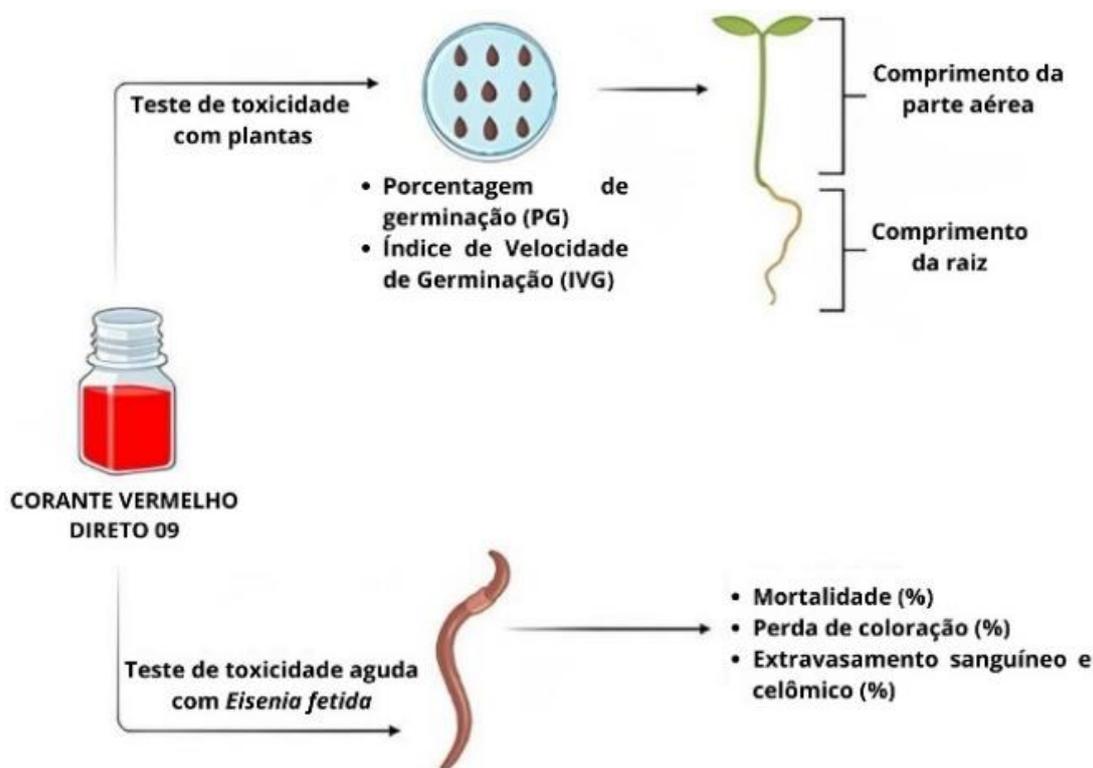


Figura 1. Testes de toxicidade desenvolvidos e parâmetros avaliados para acessar o potencial tóxico do corante Vermelho Direto 09 (Tingecor®). Fonte: Silva et al. (2023).

Teste de toxicidade aguda com *Eisenia fetida*

O teste de toxicidade aguda foi realizado seguindo os procedimentos adaptados do protocolo 207 da OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*) (OECD, 1984). Para isso, a espécie *E. fetida* foi escolhida e mantida em esterco bovino em caixas plásticas no laboratório, com a temperatura controlada em $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Para garantir um ambiente propício à cultura, o solo foi umedecido uma vez por semana e revolvido regularmente para manter o nível ideal de aeração. Somente organismos adultos foram selecionados para a realização do teste de toxicidade aguda.

Antes do início dos testes, os organismos passaram por um processo de purgação de 24 horas. Esse processo consistiu em condicionar os organismos em papel absorvente umedecido com água destilada e mantê-los no escuro em câmara aclimatizada com temperatura controlada em $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Esse procedimento permitiu que os organismos eliminassem seu conteúdo intestinal. Posteriormente, os organismos foram lavados e secos com papel toalha, logo após adicionou-se uma minhoca por placa de poliestireno (90x15 mm), sendo utilizadas 10 minhocas para cada tratamento. Esses recipientes foram recobertos com papel filtro umedecido com 1 mL de cada concentração da solução teste e do controle (água destilada). Os recipientes foram vedados com tampas perfuradas para possibilitar a circulação de

ar e, em seguida, transferidos para uma bandeja e mantidos durante 48 horas em ambiente escuro e aclimatado ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) (OECD, 1984).

Após o período de exposição, as placas foram abertas e as minhocas foram submetidas a um estímulo físico com o dedo indicador. Os organismos que não apresentaram resposta a esse estímulo foram classificados como mortos (OECD, 1984). Além disso, foram avaliados outros indicadores de toxicidade, tais como perda de coloração e extravasamento de líquido celômico e sanguíneo, conforme descrito em Domínguez-Rodríguez et al. (2020).

Teste de toxicidade utilizando *Lactuca sativa*

O teste de toxicidade com plantas foi conduzido seguindo as normas da ISO 18763, com pequenas modificações. A espécie *L. sativa* foi escolhida como modelo vegetal, pois é recomendada pela ISO 18763 e pela OECD 208 como um modelo altamente sensível e apresenta germinação e crescimento uniforme (OECD, 2006; ISO 18763, 2016).

Sementes de alface (*L. sativa* var. Elba) foram adquiridas em casa agrocomercial e utilizadas como material de teste nos bioensaios. O experimento foi conduzido empregando um delineamento inteiramente casualizado, no qual foram utilizados cinco tratamentos distintos (controle, 1, 2, 4 e 8 mg mL^{-1}), cada um com cinco repetições. Em cada repetição empregou-se uma

placa de Petri, dispondo 20 sementes de alface sobre papel de filtro germinativo. Posteriormente, foram adicionados 3 mL de solução teste em cada placa, preparada previamente. Cada amostra foi selada com plástico filme e mantida em câmara de germinação a $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, na ausência de luminosidade durante 72 horas.

Para determinar o potencial tóxico do corante Vermelho Direto 09, a germinação das sementes de alface (*L. sativa*) foi avaliada a cada 12 horas durante 72 horas de análise experimental. Este procedimento visou estabelecer o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), conforme proposto por Maguire (1962), e a Porcentagem de Germinação (PG), determinada conforme Bernardes et al. (2015). Após este período, as sementes foram retiradas de cada placa de Petri e o comprimento da parte aérea e da raiz de cada plântula foi mensurado com o auxílio de um paquímetro, visando verificar os possíveis efeitos de toxicidade do corante sobre o desenvolvimento das plântulas.

Para avaliar o grau de toxicidade do corante em relação aos parâmetros analisados (PG, IVG, comprimento da raiz e da parte aérea), empregou-se o Índice de Toxicidade (IT), que foi calculado seguindo a Equação 1 (Silva & Silva, 2023).

$$IT = \frac{\text{Média do parâmetro em questão}}{\text{Média do controle}} \quad \text{Eq.(1)}$$

Além do cálculo do IT, foi realizado o cálculo da concentração efetiva média (EC_{50}), por meio de regressão não-linear, utilizando o *software* GraphPad Prism.

Análise dos dados

As análises de variância nos dados obtidos foram realizadas a partir do teste de toxicidade com *E. fetida* e *L. sativa*, seguidas pela comparação das médias por meio do teste de Scott-Knott, com um nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* estatístico SISVAR, e os gráficos foram gerados por meio do *software* GraphPad Prism.

Resultados

Teste de toxicidade aguda com *Eisenia fetida*

A taxa de sobrevivência das minhocas foi afetada pelo corante têxtil Vermelho Direto 09 somente na concentração de 8 mg mL^{-1} , resultando em uma mortalidade de 20%, em comparação ao grupo controle. Não houve mortalidade observada nas demais concentrações testadas (Figura 2).

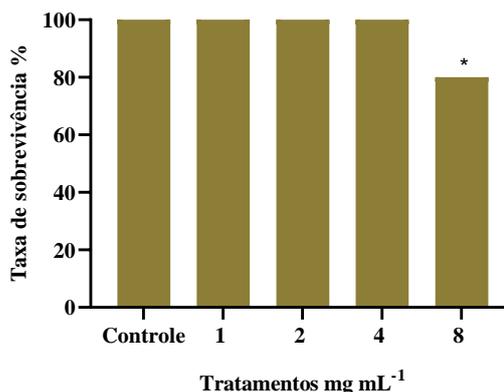


Figura 2. Taxa de sobrevivência de minhocas (*Eisenia fetida*) expostas a quatro concentrações do corante Vermelho Direto 09, além do controle. Médias com asterisco (*) diferem estatisticamente do grupo controle pelo teste de Scott-Knott (5%). Fonte: Silva et al. (2023).

Apesar de não ter havido mortalidade de minhocas nas concentrações mais baixas do corante, foram constatadas algumas alterações, tais como perda de coloração e extravasamento de líquido sanguíneo e celômico (Tabela 1).

Tabela 1. Alterações observadas em minhocas após 48 horas de exposição a diferentes concentrações do corante Vermelho Direto 09. Fonte: Silva et al. (2023).

Tratamentos (mg mL^{-1})	Perda de coloração	Fluido sanguíneo (%)	Fluido celômico
Controle	0 a*	0 a	0 a
1	20 b	0 a	0 a
2	20 b	0 a	0 a
4	20 b	10 a	0 a
8	40 c	20 b	20 b

*Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não difere estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a um nível de 5% de probabilidade.

Teste de toxicidade com *Lactuca sativa*

Após a avaliação dos parâmetros, constatou-se que o corante têxtil Vermelho Direto 09 (Tingecor) afetou, significativamente, a Porcentagem de Germinação (PG) das sementes de alface, na concentração de 8 mg mL^{-1} . Nesta concentração, houve inibição de 73,16% da germinação, em comparação ao grupo controle (Figura 3).

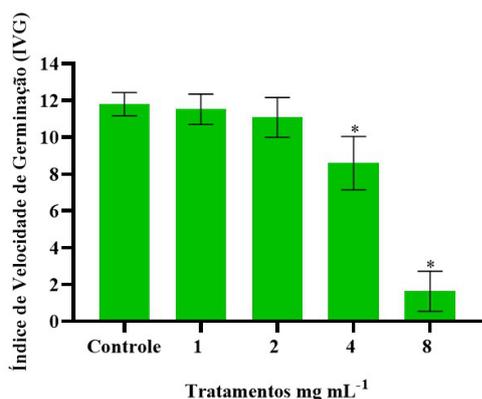


Figura 3. Porcentagem média de germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*) expostas as quatro concentrações do corante Vermelho Direto 09 (Tingecor), além do controle. Médias com asterisco (*) diferem estatisticamente do grupo controle pelo teste de Scott-Knott (5%). Fonte: Silva et al. (2023).

Considerando o índice de velocidade de germinação, as concentrações de 4 e 8 mg mL⁻¹ provocaram distúrbios no metabolismo germinativo das sementes de *L. sativa*, reduzindo, significativamente, o índice de velocidade de germinação (IVG). A concentração de 4 mg mL⁻¹ atrasou o IVG em 27,11%, enquanto a concentração de 8 mg mL⁻¹ reduziu o IVG em 81,04%, em comparação ao grupo controle (Figura 4).

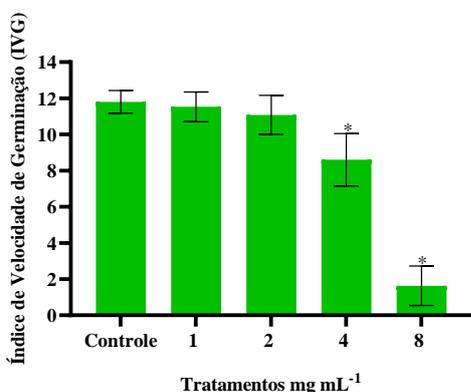


Figura 4. Índice de velocidade de germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*) expostas às quatro concentrações do corante Vermelho Direto 09 (Tingecor), além do controle (água destilada). Médias com asterisco (*) diferem estatisticamente do grupo controle pelo teste de Scott-Knott (5%). Fonte: Silva et al. (2023).

Ao contrário do efeito observado na germinação das sementes de alface, todas as concentrações do corante Vermelho Direto 09 avaliadas afetaram, significativamente, o desenvolvimento da raiz e da parte aérea das plântulas, caracterizando o corante como

fitotóxico. Na concentração mais baixa (1 mg mL⁻¹), o corante causou uma redução de 19,30% no comprimento da raiz e de 4,82% no comprimento da parte aérea das plântulas de alface, em comparação com o controle. A concentração mais alta avaliada (8 mg mL⁻¹) causou redução de 81,32% no comprimento da raiz e de 68,53% no comprimento da parte aérea (Figura 5).

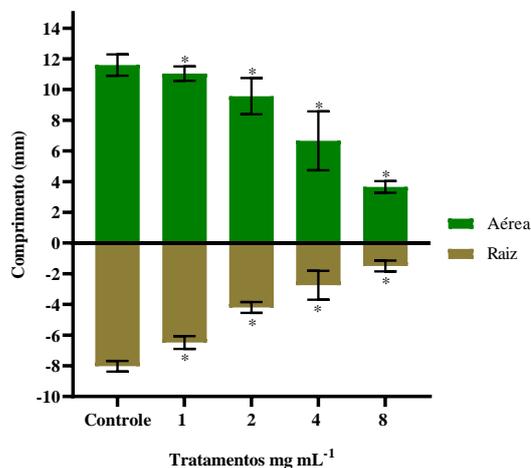


Figura 5. Comprimento médio de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a quatro concentrações (mg mL⁻¹) do corante Vermelho Direto 09 (Tingecor), além do controle (água destilada). Médias com asterisco (*) diferem estatisticamente do grupo controle pelo teste de Scott-Knott (5%). Fonte: Silva et al. (2023).

Dados de ecotoxicidade do corante Vermelho Direto 09 sobre os organismos modelos avaliados

Por meio do teste de toxicidade aguda com minhocas, não foi possível determinar a concentração letal média (CL₅₀) do corante Vermelho Direto 09, pois não houve mortalidade suficiente nos tratamentos, o que impossibilitou a construção de uma curva de dose-resposta.

Entretanto, por meio do bioensaio de toxicidade utilizando a espécie vegetal *L. sativa* foi possível realizar o cálculo da concentração efetiva média (EC₅₀) para os parâmetros avaliados (PG, IVG, comprimento da raiz e da parte aérea), conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Concentração efetiva média (EC₅₀) do corante Vermelho Direto 09 sob os parâmetros: porcentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da raiz e da parte aérea das plântulas de *Lactuca sativa*. Fonte: Silva et al. (2023)

Parâmetros avaliados	EC ₅₀ (mg mL ⁻¹)
PG	4,70
IVG	4,45
Compr. da raiz	1,75
Compr. da parte aérea	3,03

Os cálculos do IT indicaram que o comprimento da raiz foi o parâmetro mais afetado pelo corante Vermelho Direto 09 no modelo vegetal *L. sativa*, com as diferentes concentrações testadas afetando esse parâmetro em 53,42%. Em contrapartida, a porcentagem de germinação foi o parâmetro menos afetado, apresentando um impacto de 20,73% (Figura 6).

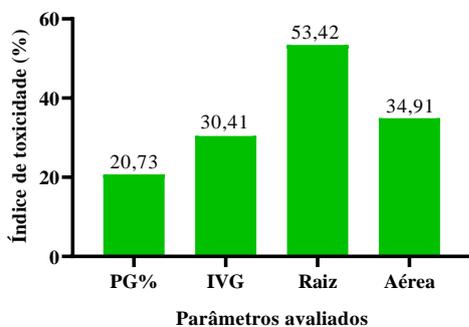


Figura 6. Grau de toxicidade do corante Vermelho Direto 09 (Tingecor) sobre os parâmetros avaliados (Porcentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da raiz e da parte aérea). Fonte: Silva et al. (2023).

Discussão

Este é o primeiro estudo a utilizar bioensaios empregando técnicas macroscópicas para avaliar a toxicidade aguda em modelos animais (*E. fetida*) e vegetais (*L. sativa*) ao corante Vermelho Direto 09 (Tingecor®). Pelo pioneirismo, ressalta-se a sua importância na compreensão dos potenciais efeitos adversos deste corante no meio ambiente.

Os estudos toxicológicos de corantes têxteis, geralmente, são realizados com organismos aquáticos, mas é possível realizar ensaios com organismos terrestres para entender seus efeitos no ambiente edáfico (Pereira et al., 2017). Neste estudo foi utilizada a *E. fetida* como organismo modelo terrestre para avaliar a toxicidade aguda do corante Vermelho Direto 09, pelo teste de contato com papel de filtro. As minhocas são frequentemente utilizadas como bioindicadores de avaliação do potencial tóxico de contaminantes presentes no solo, por ser seu habitat, viverem em contato constante com o solo e desempenharem um papel fundamental na manutenção do equilíbrio dos ecossistemas (Gopinathan, Kanhere & Banerjee, 2015). No entanto, há escassez de estudos disponíveis sobre a toxicidade de corantes na macrofauna do solo. A exposição de minhocas a ambientes contaminados pode resultar em alterações em suas interações ecológicas, bem como afetar sua sobrevivência e reprodução (Pereira et al., 2017).

Atualmente, pela pouca disponibilidade de informações sobre os efeitos agudos dos corantes têxteis em organismos não alvo foi utilizado, neste estudo, concentrações baixas (1 mg mL^{-1}) do corante Vermelho Direto 09 que não provocou mortalidade em *E. fetida*. No entanto, na concentração mais elevada (8 mg mL^{-1}), o corante foi capaz de promover efeitos letais após 48 horas de exposição. Além disso, não foi possível estimar a concentração letal média (CL_{50}) devido às baixas taxas de mortalidade observadas após 48 de exposição. No estudo conduzido por Pereira et al. (2017), verificou-se que o corante têxtil índigo carmin provocou mortalidade significativa em *E. andrei* somente após 72 horas de exposição e em altas concentrações, com uma CL_{50} de $75,79 \text{ mg cm}^2$. No entanto, quando expostas a concentrações menores de índigo carmin, as minhocas apresentaram alterações, tais como edema, o que pode indicar o consumo total da energia de reserva corporal com autólise tecidual. De maneira semelhante, neste estudo foram constatadas alterações como perda de coloração, extravasamento sanguíneo e celômico em minhocas expostas a concentrações mais baixas do corante Vermelho Direto 09 (Tabela 1). Gopinathan, Kanhere & Banerjee (2015) relataram que o corante Malachite Green exibiu toxicidade de contato com a CL_{50} de $2,6 \text{ mg cm}^2$, em 48 horas.

O corante Vermelho Direto 09 afetou negativamente a germinação das sementes de *L. sativa* a partir da concentração de 8 mg mL^{-1} . No entanto, na concentração de 4 mg mL^{-1} , embora a germinação não tenha sido inibida, houve redução significativa no Índice de Velocidade de Germinação (IVG). Rodrigues et al. (2013) e Silva & Andrade-Vieria (2024) demonstraram que a germinação é o parâmetro menos sensível para avaliar a toxicidade de substâncias, utilizando bioensaios vegetais. Algumas substâncias podem não afetar a germinação, mas ainda assim interferir nas reações fisiológicas e metabólicas envolvidas nesse processo.

Os resultados do IT e do cálculo da concentração efetiva média (EC_{50}) mostraram que, de fato, a germinação das sementes de *L. sativa* foi o parâmetro menos afetado pelo corante Vermelho Direto 09, corroborando os resultados de Rodrigues et al. (2013) e Silva & Andrade-Vieria (2024). Em um estudo realizado por Haq & Raj (2018), a toxicidade do corante Azure-B foi avaliada em sementes de *Vigna radiata*. Os autores constataram que concentrações entre 50-100% do corante inibiram significativamente a germinação das sementes, concluindo que o corante foi tóxico para esse processo. Em outro estudo, Oliveira et al. (2018) avaliaram a toxicidade de dois corantes

têxteis: o *Direct Black 38* e o *Reactive Blue 15*. As concentrações dos corantes variaram de 62,5 a 1000 mg L⁻¹. Os resultados demonstraram que, nessas concentrações, os corantes não foram capazes de inibir a germinação de sementes de *Cucumis sativus* L., *L. sativa* e *Lycopersicon esculentum* L.

Neste estudo, verificou-se que todas as concentrações do corante Vermelho Direto 09 avaliadas apresentaram potencial tóxico sobre o modelo vegetal *L. sativa*, resultando em efeito negativo no desenvolvimento das plântulas, conforme apresentado na Figura 4. É comum que as plântulas apresentem inibição no crescimento quando expostas a substâncias tóxicas, pois o crescimento e desenvolvimento vegetal estão intimamente relacionados à proliferação celular nas zonas meristemáticas. A exposição à substância tóxica pode reduzir a frequência de divisão celular, afetando o desenvolvimento normal do vegetal (Silva et al., 2023).

Ademais, os resultados indicaram que o comprimento da raiz das plântulas de alface foi mais afetado do que o comprimento da parte aérea pelo corante Vermelho Direto 09, o que foi confirmado pelo cálculo do IT. Esse resultado é consistente com Turk & Tawaha (2002), que destacam a maior sensibilidade das raízes a diferentes agentes estressores, incluindo compostos químicos. Isso ocorre porque as raízes são responsáveis por processos críticos no crescimento e desenvolvimento das plantas, como a absorção de água e nutrientes, a fixação de nitrogênio e a interação com microrganismos do solo.

Guari et al. (2015) avaliaram o potencial tóxico do corante Azo Ácido Azul 29 utilizando o modelo vegetal *L. sativa*. As concentrações-teste foram de 50, 100, 500, 1000, 1500, 2500 e 3500 µg mL⁻¹. Em todas as concentrações avaliadas foram constatadas reduções nos comprimentos das raízes e das partes aéreas das plântulas, assim como neste estudo. Estes mesmos autores determinaram uma concentração efetiva média (EC₅₀), ou seja, uma concentração que inibiu em 50% o comprimento das raízes e da parte aérea das plantas, de 2106 µg mL⁻¹, o que é equivalente a 2,106 mg mL⁻¹. O resultado do EC₅₀ obtido por Guari et al. (2015) foi muito próximo ao EC₅₀ obtido neste estudo, o qual foi de 1,75 mg mL⁻¹.

Embora este estudo tenha utilizado um organismo vegetal para avaliar o potencial tóxico do corante Vermelho Direto 09, outros estudos mostram que há similaridade entre os bioensaios com vegetais e animais (Mauro et al., 2014; Palmieri et al., 2016). Além disso, se uma substância tem o potencial de afetar o DNA e o

desenvolvimento normal de um organismo vegetal, é importante considerar que ela também pode afetar outros organismos (Rank & Nielsen, 1997; Iqbal et al., 2019).

Conclusão

O corante Vermelho Direto 09 demonstra efeitos tóxicos em minhocas (*E. fetida*) e plantas (*L. sativa*), com diferentes graus de sensibilidade, dependendo da concentração e do parâmetro avaliado. A toxicidade se manifestou de forma mais pronunciada no organismo vegetal, afetando principalmente o desenvolvimento das plântulas.

A compreensão aprofundada dos efeitos tóxicos do corante Vermelho Direto 09 em diferentes organismos é de suma importância para estabelecer medidas que garantam a segurança e reduzam os riscos associados ao seu uso em diversas aplicações. Existe a necessidade premente de adotar uma abordagem cuidadosa e responsável no emprego de corantes, levando em consideração os potenciais impactos negativos no ambiente.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos de Pós-Graduação para Leonardo Mendes da Silva.

Referências

- Alves, P. R. L.; Bandeira, F. O.; Hennig, T. B. 2022. Ecological Role of Earthworms as Bioindicators of Soil Health. In: Vig, A. P.; Singh, J.; Suthar, S. [eds.]. Earthworm Engineering and Applications, 1 ed., Nova Science Publishers, Inc. pp. 51-64.
- Ayushi C. 2020. Textile Dyes Market Size, Share & Growth. Disponível em: <https://www.alliedmarketresearch.com/textile-e-dyes-market>. Acesso em: 22. mar. 2023.
- Bernardes, P. M.; Andrade-Vieira, L. F.; Aragão, F. B.; Ferreira, A.; da Silva Ferreira, M. F. 2015. Toxicity of difenoconazole and tebuconazole in *Allium cepa*. Water, Air, & Soil Pollution, 226, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2462-y>
- Domínguez-Rodríguez, V. I.; Adams, R. H.; Sánchez-Madrigal, F.; Pascual-Chablé, J. D. L. S.; Gómez-Cruz, R. 2020. Soil contact bioassay for rapid determination of acute toxicity with *Eisenia foetida*. Heliyon, 6, e03131. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03131>
- FISPQ – Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico. Tingecor, 2020 Disponível em:

- <https://www.guaranycorantes.com.br/FISPQ/fispqtingecor.pdf> Acesso em: 22 jan. 2023.
- Gopinathan, R.; Kanhere, J.; Banerjee, J. 2015. Effect of malachite green toxicity on non target soil organisms. *Chemosphere*, 120, 637-644.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.09.043>
- Guari, E. B.; Almeida, E. J. R.; Martiarena, J. S.; Yamagami, N. S.; Corso, C. R. 2015. Azo Dye Acid Blue 29: biosorption and phytotoxicity test. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226, 1-7.
<https://doi.org/10.1007/s11270-015-2611-3>
- Haq, I.; Raj, A. 2018. Biodegradation of Azure-B dye by *Serratia liquefaciens* and its validation by phytotoxicity, genotoxicity and cytotoxicity studies. *Chemosphere*, 196, 58-68.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.153>
- Iqbal, M.; Abbas, M.; Nisar, J.; Nazir, A.; Qamar, A. 2019. Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: a review. *Chemistry International*, 5, 1, 1-80.
- ISO 18763:2016. 2016. Soil quality – Determination of the toxic. Effects of pollutants on germination and early growth of higher plants. ISO (the International Organization for Standardization), pp. 1-22. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/63317.html>. Acesso em: 22 jan. 2023.
- Maguire, J. D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2, 176-177.
<https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>
- Mauro, M. O.; Pesarini, J. R.; Marin-Morales, M. A.; Monreal, M. T. F. D.; Monreal, A. C. D.; Mantovani, M. S.; Oliveira, R. J. 2014. Evaluation of the antimutagenic activity and mode of action of the fructooligosaccharide inulin in the meristematic cells of *Allium cepa* culture. *Genetics and Molecular Research*, 13, 4808-4819.
<http://dx.doi.org/10.4238/2014.February.14.14>
- OECD. 1984. Teste No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests, Guideline for Testing of Chemicals, pp. 1-9. Disponível em: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-207-earthworm-acute-toxicity-tests_9789264070042-en. Acesso em: 4 jan. 2023.
- OECD. 2006. Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. OECD Publishing, 1-21.
<https://doi.org/10.1787/9789264070066-en>
- Oliveira, G. A. R.; Leme, D. M.; Lapuente, J.; Brito, L. B.; Porredón, C.; Rodrigues, L.; ... Oliveira, D. P. 2018. A test battery for assessing the ecotoxic effects of textile dyes. *Chemico-biological interactions*, 291, 171-179.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.06.026>
- Palmieri, M. J.; Andrade-Vieira, L. F.; Trento, M. V. C.; Eleutério, M. W.; Luber, J.; Davide, L. C.; Marcussi, S. 2016. Cytogenotoxic effects of spent pot liner (SPL) and its main components on human leukocytes and meristematic cells of *Allium cepa*. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227, 1-10.
<https://doi.org/10.1007/s11270-016-2809-z>
- Pereira, P. C. G.; Reimao, R. V.; Pavesi, T.; Saggiaro, E. M.; Moreira, J. C.; Correia, F. V. 2017. Lethal and sub-lethal evaluation of Indigo Carmine dye and byproducts after TiO₂ photocatalysis in the immune system of *Eisenia andrei* earthworms. *Ecotoxicology and environmental safety*, 143, 275-282.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.043>
- Rank, J.; Nielsen, M. H. 1997. *Allium cepa* anaphase-telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 390, 121-127.
[https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(97\)00008-6](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(97)00008-6)
- Rodrigues, L. C. D. A.; Barbosa, S.; Pazin, M.; Maselli, B. D. S.; Beijo, L. A.; Kummrow, F. 2013. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 17, 1099-1108.
- Schuijt, L. M.; Peng, F. J.; Van den Berg, S. J.; Dingemans, M. M.; Van den Brink, P. J. 2021. (Eco) toxicological tests for assessing impacts of chemical stress to aquatic ecosystems: facts, challenges, and future. *Science of the total environment*, 795, 148776.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148776>
- Sharma, J.; Sharma, S.; Soni, V. 2021. Classification and impact of synthetic textile dyes on Aquatic Flora: A review. *Regional*

- Studies in Marine Science, 45, 101802.
<https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101802>
- Silva, Q. M.; Andrade-Vieria, L. F. 2024. Is pearl millet (*Pennisetum glaucum*) a good plant species for ecotoxicological tests? Environmental Science and Pollution Research, 31, 41953-41963.
<https://doi.org/10.1007/s11356-024-33947-x>
- Silva, L. M.; Silva, F. J. 2023. Toxic Effects Promoted by a Commercial Detergent on the Germination and Initial Development of Cucumber Seedlings (*Cucumis sativus* L.). Ecotoxicology and Environmental Contamination, 18, 2, 3-9.
<https://doi.org/10.5132/eec.2023.02.02>
- Silva, L. M.; Cimino, F. F.; Borgo, A. L.; Dutra, V. S. V.; Oliveira, J. E. Z. 2023. Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do infuso dos rizomas de *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae). Rev Fitos, 17, 9-17.
<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1447>
- Turk, M. A.; Tawaha, M. 2002. Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and growth of lentil. Journal of Agronomy, 1, 28-30.
- Vieira, L. F. A.; Silveira, G. L. 2018. Cyto (geno) toxic endpoints assessed via cell cycle bioassays in plant models. Cytotoxicity. London: IntechOpen, pp. 117-129.
- Yadav, R.; Kumar, R.; Gupta, R. K.; Kaur, T.; Kour, A.; Kaur, S.; Rajput, A. 2023. Heavy metal toxicity in earthworms and its environmental implications: A review. Environmental Advances, 12, 100374.
<https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100374>
- Zagatto, P. A.; Bertoletti, E. 2006. Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. São Carlos: Rima Artes e Textos. 478p.