

## Sensibilidade de sementes de hortaliças na avaliação da qualidade da água em bioensaios

Cristina Copstein Cuchiara \*

Clarissa de Souza Borges

Vera Lucia Bobrowski

Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Zoologia e Genética, Laboratório de Genética, Caixa Postal 354, CEP 96010-970, Pelotas – RS, Brasil

\* Autor para correspondência  
cccuchiara@hotmail.com

Submetido em 18/08/2011

Aceito para publicação em 04/06/2012

### Resumo

Pelo fato de sementes tolerarem níveis de estresse e por suas funções vitais estarem correlacionadas com o ambiente, este estudo teve como objetivo avaliar a alface e a cebola como bioindicadores para testar qualidade da água e os parâmetros para avaliar a qualidade de água variam de acordo com as estações do ano. Foram realizados testes de primeira contagem, germinação e índice de velocidade de germinação, assim como análises de crescimento da parte aérea e do sistema radicular e índice mitótico em sementes cultivadas em águas do Arroio Padre Doutor, sul do Brasil. Para alface, a primeira contagem, germinação e índice de velocidade de germinação no verão e a análise de crescimento na primavera, inverno e outono apresentaram diferença entre as amostras testadas e o controle ( $p < 0,05$ ). Já o índice mitótico apresentou diferença somente na primavera ( $p < 0,05$ ). Utilizando cebola, os resultados da análise de crescimento apresentaram diferença somente no inverno ( $p < 0,05$ ) e o índice mitótico apresentou diferenças entre os resultados de primavera e verão. Neste estudo, foi comprovado a citotoxicidade das águas do Arroio nos locais e períodos amostrados, onde a alface apresentou maior sensibilidade e as análises de crescimento e o índice mitótico apresentaram maior variação.

**Palavras-chave:** *Allium cepa* L.; Bioindicadores; *Lactuca sativa* L.; Teste de germinação; Sazonalidade

### Abstract

**Sensitivity of vegetables seeds in the assessment of water quality in bioassays.** Since seeds tolerate stress levels and their vital functions are correlated to the environment, the study aimed to evaluate lettuce and onions as bioindicators to test water quality, and the parameters to assess water quality vary according to the seasons of the year. First count, germination, and germination speed index tests were performed, as well as growth analyses on the shoot and root system and the mitotic index in seeds grown in the waters of Arroyo Padre Doutor, Southern Brazil. Regarding lettuce, the first count, germination, and germination speed index on Summer and the growth of the shoot and root system on Spring, Winter, and Autumn showed a difference between the samples tested and the control ( $p < 0.05$ ). In turn, the mitotic index showed a difference only on Spring ( $p < 0.05$ ). Using onion, results of the shoot and root system growth differ only on Winter ( $p < 0.05$ ) and the mitotic index showed differences between the results from Spring and Summer. In this study, the cytotoxicity of water from the Arroyo was proven in the locations and periods sampled, where lettuce presented a higher sensitivity and the analyses on growth and the mitotic index presented a higher variation.

**Key words:** *Allium cepa* L.; Bioindicators; Germination test; *Lactuca sativa* L.; Seasonality

## Introdução

Atualmente, em várias regiões do mundo, é possível observar que os ecossistemas aquáticos vêm sofrendo alterações associadas à atividade humana decorrente do processo de desenvolvimento industrial, urbano e agrícola (BOHRER, 1995; ARIAS et al., 2007; FREIRE et al., 2008; POLETO et al., 2010; PIVARI et al., 2011; STERZ et al., 2011). Por outro lado, fatores como a sazonalidade, vazão e índice de chuva podem influenciar a qualidade dos ambientes aquáticos, bem como a concentração de poluentes na água (OLIVEIRA et al., 2011). Sendo a variação na sazonalidade um fator que pode influenciar a frequência de danos genéticos e promover alterações fisiológicas nos organismos expostos. Essa variação pode provocar modificações de acordo com o nível de poluição em determinado local (RUIZ et al., 1992; HAYASHI et al., 1998).

O aumento significativo da poluição ambiental e a crescente preocupação com o bem-estar social têm levado pesquisadores a desenvolver testes biológicos eficientes (BUSS et al., 2008; LEME; MARIN-MORALES, 2009; RUBINGER, 2009). Sendo estes indispensáveis para a avaliação das reações dos organismos vivos frente à contaminação ambiental complexa, bem como para indicar os efeitos sinérgicos potenciais dos poluentes no ambiente (FISKESJÖ, 1985; LEME; MARIN-MORALES, 2009; CARITÁ, 2010).

Para diagnosticar os problemas relacionados à poluição de determinados ambientes, sistemas-teste vegetais vêm se destacando como excelentes modelos para triagem e monitoramento ambiental (FISKESJÖ, 1985; GRANT, 1994) como bioindicadores (COSTA; MENK, 2000). Por meio destes, podem ser realizados ensaios de aberrações cromossômicas, testes citogenéticos, ensaios de germinação de sementes e análise de crescimento (CONTE et al., 1998; TIMBRELL, 1999; RANK et al., 2002). Bioensaios realizados com plantas têm sido considerados mais sensíveis e mais simples, quando comparados aos que utilizam animais (FERNANDES et al., 2007).

Atividades tóxicas podem ser analisadas em diferentes sistemas-teste vegetais como em *Allium cepa* L., *Vicia faba* L., *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. e

*Hordeum vulgare* L. (FISKESJÖ; LEVAN, 1994). Pelo fato de sementes tolerarem determinados níveis de estresse e por suas funções vitais estarem estritamente correlacionadas com o ambiente, elas são capazes de indicar o efeito de fatores ambientais (BASSANI, 2001; CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008).

Sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) e cebola (*Allium cepa* L.) têm sido relatadas como organismos fenotipicamente mais sensíveis que expressam qualquer alteração externa a que são submetidas (COSTA; MENK, 2000). Devido ao crescimento da população, conseqüente aumento do consumo e variações climáticas sazonais bem definidas, estudos com cursos d'água tornam-se necessários para o monitoramento das condições da água utilizada pela população (CUCHIARA, 2007). Neste trabalho, foram testadas duas hipóteses: (i) alface (*L. sativa*) e cebola (*A. cepa*) são bons bioindicadores para testar qualidade da água e (ii) os parâmetros para avaliar a qualidade de água nestas espécies variam nas diferentes estações do ano.

## Material e Métodos

A Universidade Federal de Pelotas (UFPel), que tem seu campus universitário situado na cidade do Capão do Leão, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (31°48'24,85"S/52°24'46,16"O) consome água do Arroio Padre Doutor, que atravessa zonas industriais, urbanas e rurais, considerado de importância econômica e social para a região (CUCHIARA, 2007).

O estudo foi realizado ao longo do Arroio Padre Doutor de forma sazonal nas estações de primavera, verão, outono e inverno, nos meses de outubro de 2006, fevereiro de 2007, maio de 2007 e junho de 2007, respectivamente, entre 8 e 12h da manhã. Foram coletadas amostras de água de superfície em diferentes pontos pré-determinados e selecionados de forma a se abordar quatro áreas de influência, de acordo com a Tabela 1.

Em cada ponto, a água foi coletada em recipientes de polietileno de 5L, sendo mantidos sob refrigeração (4±1°C) e transportados ao Laboratório de Genética, Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, onde foram realizadas as análises.

TABELA 1: Localização e descrição dos pontos de coleta de água nas diferentes áreas de influência ao longo do Arroio Padre Doutor, sul do Brasil, nas diferentes estações do ano (2006/2007).

Coleta de água	Localização	Descrição
Ponto 1 “Nascente”	31°44'50,20”S 52°29'13,48”O	Localizado na nascente do arroio, na Ponte do Arroio Moreira, região que corta a BR-293, estrada que liga Pelotas a cidade de Bagé (RS)
Ponto 2 “Capão do Leão”	31°45'25,99”S 52°29'19,25”O	Localizado na Barragem do Arroio Moreira onde ocorre a coleta de água para abastecimento da população da cidade de Capão do Leão (RS)
Ponto 3 “Ponte para Jaguarão”	31°46'56,80”S 52°28'10,66”O	Localizado sob a Ponte sobre o Arroio Teodósio, região que corta a BR-116, estrada que liga Pelotas (RS) a cidade de Jaguarão (RS)
Ponto 4 “Ponte Embrapa”	31°48'30,18”S 52°25'14,41”O	Localizado próximo ao Campus da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) sob domínio da Embrapa.

Os bioindicadores utilizados foram sementes de *L. sativa* cv. Rainha de maio e de *A. cepa* cv. Baía Periforme, adquiridos comercialmente. Os bioensaios foram realizados em câmara de germinação com temperatura de 20±1°C, para ambas as espécies, seguindo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). As sementes de *L. sativa* e *A. cepa* foram acondicionadas em caixas gerbox (110 x 110mm) forradas com papel mata-borrão umedecido com 10mL das amostras de água do Arroio Padre Doutor e água destilada como controle negativo. Foram utilizadas quatro repetições de 100 sementes, para cada amostra e controle, em delineamento estatístico inteiramente casualizado.

Para a análise dos biotestes foram observadas seis variáveis: teste de primeira contagem (1ª Cont.), teste de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), análise de crescimento da parte aérea (PA) e do sistema radicular (SR) e índice mitótico (IM). No índice de velocidade de germinação (IVG) foram feitas contagens diárias até o sétimo dia, para *L. sativa*, e décimo segundo dia, para *A. cepa*; no teste de primeira contagem aos quatro para *L. sativa* e aos seis dias para *A. cepa* e no teste de germinação (G), aos sete e doze dias para *L. sativa* e *A. cepa* respectivamente, segundo Brasil (2009).

Na análise de crescimento, 15 sementes de cada bioteste, pré-germinadas em água, apresentando emissão de raiz primária de cerca de 2mm de comprimento, foram semeadas em caixas gerbox, contendo papel mata-borrão e vedadas. Foram utilizados 5ml de amostra por caixa, e, como controle, utilizou-se água destilada. As avaliações

para análise de crescimento foram feitas medindo-se o comprimento de raízes e hipocótilo das sementes com auxílio de régua milimetrada, ao final do experimento.

Na análise do Índice Mitótico (IM), as radículas foram coletadas após o teste de primeira contagem e preparadas através da técnica de esmagamento (GUERRA; SOUZA, 2002), fixadas em Carnoy (3:1, etanol:ácido acético glacial) por duas horas, hidrolisadas em HCl 5N por 15min em temperatura ambiente, lavadas em água destilada e coradas comorceína acética 2%. A observação das lâminas foi realizada em microscópio óptico a uma magnitude de 400x, através da técnica de varredura, sendo contadas 2000 células por ponto de coleta, observando-se o número de células em cada fase da mitose. Além disso, foram observadas as presenças de alterações cromossômicas somente ao nível qualitativo (SOUZA, 2005).

Após a verificação da normalidade e homocedasticidade dos dados, foi utilizada a one-way ANOVA. Após a verificação da significância da ANOVA, foi utilizado o teste de Duncan a nível de 5% de probabilidade em todos os testes estatísticos através do software Sanest (ZONTA; MACHADO, 1984).

## Resultados

Os resultados das análises de variância e das médias para verificar a sensibilidade de sementes de *L. sativa* submetidas a amostras de água do Arroio Padre Doutor nas diferentes estações do ano estão apresentados na Tabela 2.

TABELA 2: Primeira contagem, germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), parte aérea (PA), sistema radicular (SR) e índice mitótico (IM), observados para testar a sensibilidade de sementes de alfaca (*L. sativa*) submetidas às amostras de água do Arroio Padre Doutor, sul do Brasil, nas diferentes estações do ano. Amostras coletas entre 2006/2007.

Estações do ano	Amostras	1ª Cont.	G	IVG	PA	SR	IM
Primavera	Controle <sup>AD</sup>	96,75 a	98,50 a	92,92 a	4,42 ab	3,03 a	11,06 a
	Ponto 1	96,25 a	97,50 a	94,79 a	3,53 b	1,98 b	9,26 ab
	Ponto 2	96,00 a	96,50 a	92,62 a	4,29 ab	3,14 a	7,65abc
	Ponto 3	98,25 a	98,50 a	96,07 a	4,47 ab	2,74 ab	5,56 c
	Ponto 4	96,25 a	96,50 a	92,65 a	5,07 a	2,38 ab	6,50 bc
	Valor de F	1,41	2,22	1,97	5,35	3,40	3,69
	P	ns	ns	ns	0,007	0,035	0,027
	CV	1,58%	1,38%	1,16%	4,95%	8,38%	14,67%
Verão	Controle <sup>AD</sup>	86,75 b	91,50 b	51,70 b	2,84 a	2,76 a	5,17 a
	Ponto 1	95,50 a	96,00 a	71,43 a	3,16 a	3,02 a	9,21 a
	Ponto 2	93,75 a	95,25 a	60,50 ab	3,74 a	2,61 a	8,21 a
	Ponto 3	94,00 a	94,50 ab	67,34 a	1,65 a	1,44 a	7,07 a
	Ponto 4	95,25 a	96,25 a	71,92 a	2,40 a	1,80 a	8,07 a
	Valor de F	22,09	3,36	3,12	1,65	2,03	2,53
	P	0,00003	0,03	0,04	ns	ns	ns
	CV	1,64%	2,20%	7,54%	19,48%	17,23%	13,65%
Outono	Controle <sup>AD</sup>	85,50 a	87,50 a	66,03 a	2,09 a	1,41 b	5,04 a
	Ponto 1	87,25 a	88,25 a	68,78 a	2,73 a	2,80 a	7,59 a
	Ponto 2	86,00 a	89,75 a	65,81 a	2,58 a	2,33 ab	6,44 a
	Ponto 3	84,25 a	86,25 a	66,48 a	2,46 a	1,51 b	6,54 a
	Ponto 4	85,75 a	88,25 a	64,55 a	3,09 a	2,59 a	6,88 a
	Valor de F	0,58	0,75	0,30	0,93	3,75	1,11
	P	ns	ns	ns	ns	0,02	ns
	CV	3,29%	3,35%	4,15%	12,36%	12,74%	14,21%
Inverno	Controle <sup>AD</sup>	90,00 a	91,00 a	54,44 a	3,03 ab	2,59 a	6,56 a
	Ponto 1	89,75 a	90,50 a	61,44 a	2,03 bc	1,65 a	8,32 a
	Ponto 2	89,50 a	90,75 a	57,42 a	1,92 c	2,22 a	7,16 a
	Ponto 3	87,00 a	87,50 a	54,51 a	2,15 abc	2,33 a	7,31 a
	Ponto 4	87,50 a	88,75 a	54,72 a	3,17 a	2,95 a	9,94 a
	Valor de F	0,63	0,84	1,80	5,81	2,11	2,34
	P	ns	ns	ns	0,005	ns	ns
	CV	3,77%	3,68%	3,88%	8,25%	11,86%	11,10%

\*Médias seguidas de letras distintas nas colunas diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. AD= água destilada. ns = não significativo pelo teste F.

A variável primeira contagem, germinação e IVG no verão apresentou diferença estatística significativa entre as amostras testadas e o controle ( $p < 0,05$ ), havendo um aumento no percentual de germinação dos bioindicadores tratados com as amostras em relação ao controle. Na variável germinação, as amostras de água do Arroio causaram um aumento na germinação do bioindicador quando comparados ao controle, apenas a amostra do Ponto 3 não diferiu e na variável IVG, resultados similares foram observados porém a amostra do Ponto 2 não diferiu do controle.

Os resultados da sensibilidade das sementes de *L. sativa* usando a variável PA na primavera e no inverno apresentaram diferença, no entanto na primavera, os Pontos 1, 2, 3 e 4 não diferiram do controle, havendo uma diminuição do crescimento do bioindicador tratado com o amostra do Ponto 1. Já, no inverno o controle diferiu estatisticamente apenas do Ponto 2, apresentando um menor crescimento da PA do bioindicador e o Ponto 4 apresentou um maior crescimento.

A sensibilidade dos bioindicador quando utilizados o teste de SR na primavera, novamente apresentou um decréscimo de crescimento na amostra do Ponto 1 diferindo do controle e do Ponto 2, destacando o efeito fitotóxico da amostra do Ponto 1. Já no outono, houve diferença, onde o controle não diferiu dos Pontos 2 e 3 e os Pontos 1, 2 e 4 apresentaram um maior crescimento do SR, apresentando um efeito estimulatório em relação ao controle.

Já a variável IM sobre os bioindicadores de *L. sativa*, apresentou diferença somente na primavera. Quando comparadas ao controle observou-se que as amostras do Ponto 1 e 2 não diferiram e as amostras do Ponto 3 e 4 apresentaram uma diminuição do IM, sendo este o que apresentou menor índice de divisão celular.

Os dados apresentados na Tabela 3 são referentes aos testes para verificar a sensibilidade de sementes de *A. cepa* submetidas a amostras de água do Arroio Padre Doutor nas diferentes estações do ano.

TABELA 3: Primeira contagem, germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), parte aérea (PA), sistema radicular (SR) e índice mitótico (IM), observados para testar a sensibilidade de sementes de cebola (*A. cepa*) submetidas às amostras de água do Arroio Padre Doutor, sul do Brasil, nas diferentes estações do ano. Amostras coletas entre 2006/2007.

Estações do ano	Amostras	1ª Cont.	G	IVG	PA	SR	IM
Primavera	Controle <sup>AD</sup>	59,25 a	80,75 a	17,97 a	6,73 a	2,25 a	1,90 b
	Ponto 1	57,75 a	81,00 a	18,51 a	6,42 a	1,79 a	7,09 a
	Ponto 2	53,50 a	77,25 a	17,90 a	4,30 a	1,27 a	7,54 a
	Ponto 3	66,75 a	84,25 a	20,25 a	5,65 a	1,56 a	11,08 a
	Ponto 4	56,25 a	81,00 a	18,35 a	3,61 a	0,94 a	10,69 a
	Valor de F	0,98	0,55	0,70	0,99	1,42	7,22
	P	ns	ns	ns	ns	ns	0,002
	CV	17,09%	8,26%	5,76%	23,66%	20,54%	22,12%
Verão	Controle <sup>AD</sup>	40,25 a	48,00 a	13,42 a	0,81 a	0,20 a	4,13 b
	Ponto 1	41,25 a	50,50 a	14,92 a	1,98 a	0,32 a	8,22 a
	Ponto 2	43,75 a	56,50 a	17,58 a	1,42 a	0,07 a	8,64 a
	Ponto 3	38,25 a	51,75 a	14,08 a	1,06 a	0,08 a	8,68 a
	Ponto 4	41,00 a	56,75 a	13,82 a	1,87 a	0,22 a	8,52 a
	Valor de F	0,62	2,03	1,84	0,62	0,78	4,16
	P	ns	ns	ns	ns	ns	0,01
	CV	12,23%	10,20%	7,85%	33,62%	17,39%	14,47%

<b>Outono</b>	<b>Controle<sup>AD</sup></b>	31,25 a	33,25 a	9,29 a	1,83 a	0,42 a	4,86 a
	<b>Ponto 1</b>	37,00 a	42,25 a	11,00 a	1,92 a	0,38 a	3,98 a
	<b>Ponto 2</b>	38,00 a	40,75 a	10,97 a	1,15 a	0,13 a	4,32 a
	<b>Ponto 3</b>	38,00 a	42,25 a	11,12 a	0,93 a	0,19 a	3,00 a
	<b>Ponto 4</b>	38,50 a	43,75 a	10,94 a	1,26 a	0,46 a	4,74 a
	<b>Valor de F</b>	0,69	1,08	0,67	0,42	0,69	0,68
	<b>P</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	<b>CV</b>	19,77%	19,75%	8,56%	34,77%	21,87%	22,94%
<b>Inverno</b>	<b>Controle<sup>AD</sup></b>	83,75 a	87,00 a	25,40 a	5,00 a	2,38 a	7,43 a
	<b>Ponto 1</b>	80,75 a	82,75 a	24,11 a	4,24 ab	1,40 b	7,92 a
	<b>Ponto 2</b>	59,00 a	61,00 a	15,51 a	3,98 abc	1,08 b	6,93 a
	<b>Ponto 3</b>	87,75 a	90,00 a	26,81 a	3,54 bc	1,01 b	8,16 a
	<b>Ponto 4</b>	79,75 a	87,25 a	26,17 a	2,85 c	0,98 b	6,31 a
	<b>Valor de F</b>	1,46	1,59	1,28	4,02	4,48	1,04
	<b>P</b>	ns	ns	ns	0,02	0,01	ns
	<b>CV</b>	23,62%	22,89%	17,80%	9,12%	13,97%	10,34%

\*Médias seguidas de letras distintas nas colunas diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo AD = água destilada. ns = não significativo pelo teste F.

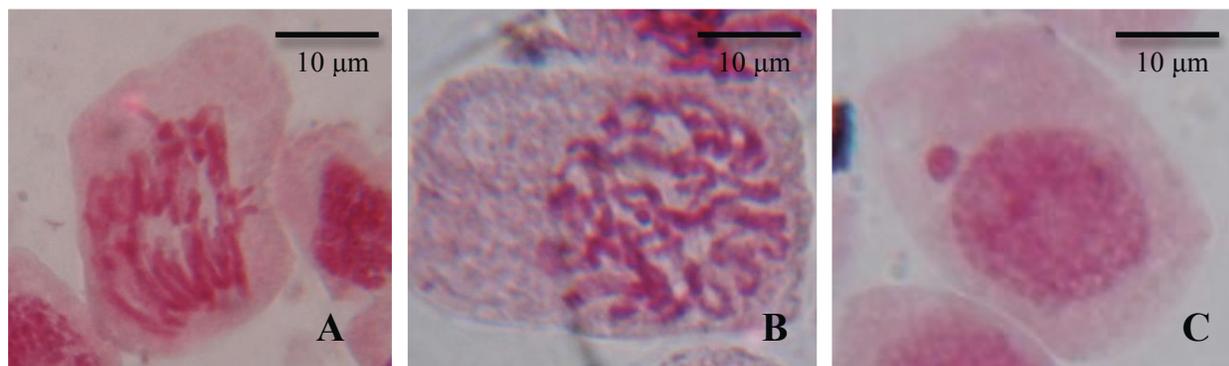
Os resultados da análise de crescimento da PA e SR sobre *A. cepa* apresentaram diferença somente na estação do inverno. Na análise da PA, o controle diferiu apenas do Ponto 3 e 4, este apresentando uma redução no crescimento, neste teste podemos observar uma redução gradativa no crescimento da PA entre as diferentes amostras. Resultados similares podem ser observados para SR onde o controle diferiu de todas as amostras, porém elas não diferiram entre si.

A variável IM sobre o bioindicador apresentou resultados estatísticos nas estações de primavera e verão.

Na duas estações, dados das amostras diferiram do controle, porém as amostras não apresentaram diferença entre si, causando um aumento na divisão celular em relação ao controle.

A presença de aberrações cromossômicas observadas nas células meristemáticas dos bioindicadores não foi significativa, porém houve o aparecimento de alterações do tipo ponte anafásica, quebra de fuso acromático e micronúcleos nas quatro estações do ano (Figura 1).

FIGURA 1: Aberrações cromossômicas observadas em células meristemáticas radiculares de cebola (*A. cepa*) submetidas a diferentes amostras de água do Arroio Padre Doutor, sul do Brasil. A) Formação de ponte anafásica. B) Quebra de fuso acromático. C) Célula com micronúcleo. Aumento de 1000x.



## Discussão

Analisando os dados obtidos nas diferentes estações do ano utilizando como bioindicadores sementes de *L. sativa* e *A. cepa* podemos notar que *L. sativa* apresentou maior sensibilidade do que *A. cepa*. Entre as variáveis testadas, a análise de crescimento (PA e SR) apresentou maior variação. Estes resultados concordam com Ferreira e Borghetti (2004) que relatam que muitas vezes o efeito tóxico das substâncias não é sobre a germinação (percentual final de germinação no tempo), mas sobre a velocidade de germinação ou outro parâmetro do processo. Como pode ser observado por Borella e Pastorini (2009) em plântulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) e picão-preto (*Bidens pilosa* L.) submetidas aos extratos de folhas de umbu (*Phytolacca dioica* L.).

Como podemos observar para essas amostras, o teste de primeira contagem e de germinação não foram afetados pelos possíveis compostos das águas do Arroio na coleta de primavera. Compostos esses oriundos de esgotos residenciais e de resíduos agroindustriais, além da contaminação por teores naturais ou pela má dosagem de substâncias químicas durante o tratamento da água (GONÇALVES et al., 2004). No entanto, o efeito foi detectado sobre o crescimento da parte aérea e sistema radicular das sementes de *L. sativa* não só retardando o processo, mas também o ativando; o mesmo foi descrito por Labouriau (1983) e Borrela e Pastorini (2009).

Conforme Ferreira e Áquila (2000), os testes de primeira contagem, germinação e índice de velocidade de germinação são menos sensíveis aos efeitos de substâncias químicas que o crescimento da plântula, porém, a quantificação experimental é muito mais simples, pois para cada semente o fenômeno é discreto, germina ou não germina. Nesse contexto, podemos verificar que as sementes de *L. sativa* na coleta de verão foram sensíveis a amostras de água do Arroio Padre Doutor, sofrendo efeito tóxico.

A água que abastece o Arroio passa por lavouras e aglomerados urbanos possibilitando a presença de substâncias tóxicas ou fertilizantes (RODRIGUES et al., 1992). Segundo os mesmos autores, diferentes compostos químicos agem como inibidores de germinação e

crescimento e influenciam diretamente na velocidade de emissão das radículas das plantas testes, pois interferem na divisão celular, na permeabilidade das membranas e na ativação de enzimas.

Outros autores compararam a sensibilidade de *A. cepa* e *L. sativa* frente a diferentes agentes e verificaram que *L. sativa* é mais sensível do que *A. cepa* (SOUZA, 2005; MAGIERO et al., 2009; GRISI et al., 2011). Segundo Souza (2005), sementes de *L. sativa* são mais sensíveis aos efeitos alelopático dos extratos aquosos das espécies medicinais analisadas, evidenciando-se assim, que essa espécie pode ser utilizada para monitorar a ação de substâncias tóxicas.

Podemos observar que nos ensaios realizados, os resultados obtidos para as diferentes amostras não diferiram na maioria das variáveis testadas. Porém, estas variações são similares às observadas em amostras de água do Rio Paraguai (Brasil), através do teste de germinação com sementes de *L. sativa*, onde demonstrou o potencial citotóxico das mesmas em pontos que recebem o esgoto municipal (MORAES; JORDÃO, 2001). Além disso, os mesmos autores observaram a influência sazonal da citotoxicidade das amostras analisadas, a qual foi relacionada aos ciclos de inundação e estiagem, similares aos ciclos aqui observados.

Em alguns casos pode-se observar que células tratadas com as amostras de água sofreram interferência na divisão celular. Esse fenômeno possivelmente representa um dos mecanismos de ação das águas do Arroio sobre o desenvolvimento do sistema radicular (PIRES et al., 2001). Tal incremento na divisão celular pode ser explicado pela presença de sais e outros nutrientes dissolvidos nas águas do Arroio que não estão presentes na água destilada.

É interessante notar o aparecimento de três tipos de alterações cromossômicas (Figura 1). Sendo elas, mesmo não significativas, decorrentes de quebras de DNA, ou seja, podem ser consequências da ocorrência de deficiências e inversões de segmentos provocados pelas quebras (CHEACH; OSBORN, 1978).

As mesmas anormalidades nucleares foram observadas em raízes de *A. cepa* por Matsumoto e Marin-Morales (2004), onde alterações cromossômicas

provavelmente foram induzidas pela ação de cromo presente em amostras de água durante períodos de seca e chuva, com alterações diferentes observadas na interfase e em células em divisão. Mesmo com o aparecimento de alterações, a exposição às amostras de água não causou efeito genotóxico nas células meristemáticas dos bioindicadores. Diferentemente do estudo realizado por Oliveira et al. (2011), onde foi possível detectar a existência de um potencial genotóxico decorrente das substâncias tóxicas na água do rio Paraíba do Sul no local e épocas amostradas.

Neste estudo, foi possível verificar o efeito sazonal da citotoxicidade decorrente das águas do Arroio Padre Doutor nos locais e épocas amostradas. Sendo que, entre os bioindicadores utilizados, a alface apresentou maior sensibilidade e entre as variáveis, as análises de crescimento (PA e SR) e o IM foram as que apresentaram maior variação. Com base nisso, verificamos a importância em se preservar os recursos naturais, fazendo-se necessários estudos de biomonitoramento por meio de sistemas-teste vegetais sazonalmente de modo a auxiliar e contribuir com redes de monitoramento e ações de manejo.

## Referências

- ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C.; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D. F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.
- BOHRER, M. B. C. **Biomonitoramento das lagoas de tratamento terciário dos efluentes líquidos industriais (SITEL) do pólo petroquímico do sul, Triunfo, RS, através da comunidade zooplancônica**. 1995. 470 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 1995.
- BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Biotemas**, Florianópolis, v. 22, n. 3, p. 67-75, 2009.
- BASSANI, M. A. Fatores psicológicos da percepção da qualidade ambiental. In: BASSANI, M. A.; BOLLMANN, H. A.; MAIA, N. B.; MARTOS, H. L.; BARRELA, W. (Ed.). **Indicadores ambientais: conceitos e aplicações**. São Paulo: EDUC/COMPED/INEP, 2001. p. 47-57.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Departamento Nacional de Produção Vegetal, 2009. 365 p.
- BUSS, D. F.; OLIVEIRA, R. B.; BAPTISTA, D. F. Monitoramento biológico de ecossistemas aquáticos continentais. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 339-345, 2008.
- CARITÁ, R. **Avaliação do potencial genotóxico e mutagênico de amostras de águas de recursos hídricos que recebem efluentes urbanos e industriais do pólo ceramista da cidade de Santa Gertrudes – SP**. 2010. 185 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. 2010.
- CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, Elmsford, v. 72, n. 5, p. 722-725, 2008.
- CHEACH, K. S.; OSBORN, D. DNA lesions occur with loss of viability in embryos of ageing sycamore seed. **Nature**, London, v. 272, n. 5654, p. 593-599, 1978.
- CONTE, C.; MUTTI, I.; PUGLISI, P.; FERRARINI, A.; REGINA, G.; MAESTRI, E.; MARMIROLI, N. DNA fingerprinting analysis by a PCR based method for monitoring the genotoxic effects of heavy metals pollution. **Chemosphere**, Elmsford, v. 37, p. 2739-2749, 1998.
- COSTA, R. M. A.; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 3, n. 12, p. 24-26, 2000.
- CUCHIARA, C. C. **Biomonitoramento de cursos d'água de importância econômica e social: estudo de caso do Arroio Padre Doutor, Capão do Leão, RS, Brasil**. 2007. 60 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2007.
- FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Amherst, v. 88, p. 252-259, 2007.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 175-204, 2000.
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 520 p.
- FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Lund, v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.
- FISKESJÖ, G.; LEVAN, A. Evaluation of the Firstten MeC Chemicals in the *Allium cepa*. **Atlas**, New York, v. 21, p. 139-149, 1994.
- FREIRE, M. M.; SANTOS, V. G.; GINUINO, I. S. F.; ARIAS, A. R. L. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 347-354, 2008.
- GONÇALVES, D. G.; LESSA, R. N. T.; MACHADO, C. A. O.; FARIAS, B. M. P. Controle físico-químico e bacteriológico da eficiência da hidráulica Campus UFPel/EMBRAPA. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E VI ENCONTRO DE PÓS GRADUAÇÃO, XIII, 2004, Pelotas. **Resumos...** Pelotas: Congresso de Iniciação Científica e VI Encontro de Pós Graduação, 2004. Versão eletrônica.
- GRANT, W. F. The present status of higher plant bioassays for detection of environmental mutagens. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 310, n. 2, p. 175-185, 1994.

- GRISI, P. U.; GUALTIERI, S. C. J.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Efeito alelopático do fruto de *Sapindus saponaria* na germinação e na morfologia de plântulas daninhas e de hortaliças. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n. 2, p. 311-322, 2011.
- GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. São Paulo: Funpec, 2002. 131 p.
- HAYASHI, M.; UEDA, T.; UYENO, K.; WADA, K.; KINAE, N.; SAOTOME, T.; TANAKA, N.; TAKAI, A.; SASAKI, Y. F.; ASANO, N.; SOFUNI, T.; OJIMA, Y. Development of genotoxicity assay systems that use aquatic organisms. **Mutation Research**, Leiden, v. 399, n. 2, p. 125-133, 1998.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação de sementes**. Washington: OEA, 1983. 174 p.
- LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 682, p. 71-81, 2009.
- MAGIERO, E. C.; ASSMANN, J. M.; MARCHESI, J. A.; CAPELIN, D.; PALADINI, M. V.; TREZZI, M. M. Efeito alelopático de *Artemisia annua* L. na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 3, p. 317-324, 2009.
- MATSUMOTO, S. T.; MARIN-MORALES, M. A. Mutagenic potential of the water of a river that receives tannery effluent using the *Allium cepa* test system. **Cytologia**, Tokyo, v. 69, p. 399-408, 2004.
- MORAES, D. S. D.; JORDÃO, B. Q. Evaluation of the genotoxic potential of municipal waste water discharged into the Paraguay river during periods of flood and drought. **Environmental Toxicology**, New York, v. 16, p. 113-116, 2001.
- PIRES, N. M.; SOUZA, I. R. P.; PRATES, H. T.; FARIA, T. C. L.; FILHO, I. A. P.; MAGALHÃES, P. C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 55-65, 2001.
- PIVARI, M. O.; OLIVEIRA, V. B.; COSTA, F. M.; FERREIRA, R. M.; SALINO, A. Macrófitas aquáticas do sistema lacustre do Vale do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 62, n. 4, p. 759-770, 2011.
- POLETO, C.; CARVALHO, S. L.; MATSUMOTO, T. Avaliação da qualidade de água de uma microbacia hidrográfica no município de ilha solteira (SP). **Holos Environment**, Rio Claro, v. 10, n. 1, p. 95-110, 2010.
- OLIVEIRA, L. M.; VOLTOLINI, J. C.; BARBÉRIO, A. Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste *Allium cepa*. **Revista Ambiente & Água**, Taubaté, v. 6, n. 1, p. 90-103, 2011.
- RANK, J.; LOPEZ, L. C.; NIELSEN, M. H.; MORETTON, J. Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEHP in *Allium cepa* root cells performed by two different laboratories. **Hereditas**, Lund, v. 136, p. 13-18, 2002.
- RODRIGUES, L. R. A.; RODRIGUES, T. J. D.; REIS, R. A. **Alelopátia em plantas Forrageiras**. Jaboticabal: FCAVJ-UNESP, 1992. 160 p.
- RUBINGER, C. F. **Seleção de métodos biológicos para a avaliação toxicológica de efluentes industriais**. 2009. 71 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2009.
- RUIZ, E. F.; RABAGO, V. M. E.; LECONA, S. U.; PEREZ, A. B.; MA, T. H. Tradescantia- micronucleus (Trad-MCN) bioassay on clastogenicity of wastewater and in situ monitoring. **Mutation Research**, Leiden, v. 270, n. 1, p. 45-51, 1992.
- SOUZA, S. A. M. **Biotestes na avaliação da fitotoxicidade de extratos aquosos de plantas medicinais nativas do Rio Grande do Sul**. 2005. 89 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2005.
- STERZ, C.; ROZA-GOMES, M. F.; ROSSI, E. M. Análise microbiológica e avaliação de macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores da qualidade da água do Riacho Capivara, município de Mondai, SC. **Unesc & Ciência**, Joaçaba, v. 2, n. 1, p. 7-16, 2011.
- TIMBRELL, J. A. **Introduction to Toxicology**. 2. ed. CRC: Taylor & Francis, 1999. 167 p.
- ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. **SANEST**: sistema de análise estatística para microcomputadores. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1984. 138 p.