

## AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FISIOLÓGICOS E CITOTÓXICOS DA ÁGUA DA PRAIA DO LARANJAL-PELOTAS/RS SOBRE SEMENTES DE ALFACE

**MÔNICA KUENTZER<sup>1</sup>; ISABELA SCHIAVON AMARAL<sup>2</sup>; ALISON ACOSTA MUNHOS<sup>3</sup>; VERA LUCIA BOBROWSKI<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – monicakuentzer@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – isa18.schiavon@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas– alisonmunhos@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – vera.bobrowski@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Fazendo parte da cidade de Pelotas/RS, o Bairro Laranjal situa-se na latitude 31° 45' S e na longitude 52° 15' O, possuindo aproximadamente 22,8 km<sup>2</sup> de área, sendo que desta, 6,8 km<sup>2</sup> são banhados pela Lagoa dos Patos e formamos Balneários Valverde, Santo Antônio e Balneário dos Prazeres (PDES-SANEP, 2003). A praia do Laranjal é caracterizada por abrigar residências de uso permanente e de uso em épocas de veraneio devido ao seu potencial turístico, suas belezas naturais e sua balneabilidade. Porém, a urbanização e as diversas ações antrópicas acabam gerando uma grande poluição o que afeta diretamente a qualidade da água.

O monitoramento ambiental é um instrumento de controle e avaliação dos impactos causados pelo homem, como no caso da poluição. E os dados obtidos no monitoramento subsidiam medidas de planejamento ambiental, controle, recuperação, preservação e conservação do ambiente, bem como auxilia na definição das políticas ambientais (AMORIM, 2003; EMCOM AMBIENTAL, 2005).

A avaliação de risco ambiental a partir de bioindicadores é reconhecida como uma técnica de monitoramento ambiental, pois acrescenta informações sobre as respostas biológicas que determinadas espécies (vegetal ou animal) apresentam na presença de poluentes (UNEP, 1991; WHO, 1993).

A utilização de sistemas testes vegetais como bioindicadores é importante para análise da genotoxicidade através da observação de alterações cromossômicas, pois substâncias consideradas genotóxicas causam danos celulares. Segundo Gadano et al. (2002), o índice mitótico e índice de replicação são usados como indicadores de proliferação adequada de células, o que pode ser medido através do sistema teste vegetal de alface (*Lactuca sativa L.*). Sementes de alface e cebola (*Allium cepa L.*) têm sido relatadas como organismos fenotipicamente mais sensíveis que expressam qualquer alteração externa a que são submetidas (COSTA e MENK, 2000).

A alface está entre os organismos-teste mais utilizados para avaliar a fitotoxicidade e a citogenotoxicidade em bioensaios (ŽALTAUSKAITĖ e ČYPAITĖ, 2008; ANDRADE et al., 2010) sendo esta espécie recomendada por agências internacionais para tal finalidade.

O objetivo deste trabalho foi analisar os efeitos fisiológicos e citotóxicos da água da Lagoa dos Patos/Pelotas utilizando-se a alface (*Lactuca sativa L.*) como bioindicador.

## 2. METODOLOGIA

Para a realização dos bioensaios, a água de superfície da Lagoa dos Patos (Pelotas/RS) de cada ponto foi coletada em recipientes de polietileno de 5L, sendo mantidos sob refrigeração ( $4\pm1^{\circ}\text{C}$ ) e transportados ao Laboratório.

O bioindicador utilizado foi *L. sativa* cv. Rainha de maio adquiridos comercialmente. Os bioensaios foram realizados em câmara de germinação com temperatura de  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ , seguindo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). As sementes foram acondicionadas em caixas gerbox forradas com papel germiteste umedecido com 10mL das amostras de água e água destilada como controle negativo. Foram utilizadas três repetições de 100 sementes, para cada amostra e controle, em delineamento estatístico inteiramente casualizado.

O efeito fisiológico de cada tratamento foi analisado pelo efeito sobre a germinação. Onde avaliamos as variáveis: teste de primeira contagem (GI), teste de germinação (G), análise de crescimento da parte aérea (PA) e do sistema radicular (SR) e índice mitótico (IM). O teste de primeira contagem (GI) realizado no período de 4 dias após a semeadura, a germinação (G) avaliada aos 7 dias após a semeadura e a análise de crescimento foi realizada com 10 plântulas de cada tratamento medindo-se o crescimento da parte aérea (CPA) e raiz (CPR) com régua milimetrada (CUCHIARA et al., 2012).

O efeito citotóxico/genotóxico foi realizado através da análise do Índice Mitótico (IM), onde as radículas foram coletadas após o teste de primeira contagem e preparadas através da técnica de esmagamento, fixadas em Carnoy I por duas horas, hidrolisadas em HCl 5N por 15min em TA, lavadas em água destilada e coradas com orceína acética 2%. A observação das lâminas foi realizada em microscópio óptico a uma magnitude de 400x, através da técnica de varredura, sendo contadas 600 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 (CUCHIARA et al., 2012)

A análise da variação foi realizada utilizando-se o pacote estatístico gratuito Assistat versão 7.7 e a comparação das médias foi realizada através do teste de Tukey com 5% de probabilidade (SILVA e AZEVEDO, 2002).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos fisiológicos dos tratamentos testados estão apresentados na Tabela 1, onde pode-se analisar os resultados e percebe-se que quanto ao desenvolvimento fisiológico de GI e G não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos.

Para o desenvolvimento da PA nos tratamentos 1, 2 e 3 esta foi estatisticamente maior que o tratamento controle e isso deve-se provavelmente ao fato de haver matéria orgânica na água, pois as técnicas de saneamento da localidade, são as fossas sépticas e poços de absorção (sumidouros), sendo que posteriormente os resíduos são incorporados ao lençol freático e por consequência em contato com a lagoa.

Quanto ao efeito citotóxico/genotóxico os resultados também podem ser observados na Tabela 1. O índice mitótico nos tratamentos 1, 2 e 3 diferiram significativamente do tratamento controle, havendo um retardo no processo de divisão celular dos tratamentos se comparado ao controle. Esses resultados condizem com o estudo realizado por Oliveira et al. (2011), onde foi possível

detectar a existência de um potencial citotóxico/genotóxico decorrente das substâncias tóxicas na água do rio Paraíba do Sul no local e épocas amostradas.

Com relação ao desenvolvimento do sistema radicular pode-se verificar na tabela que o ponto 1 de coleta de água (tratamento 1) causou a redução significativa de crescimento radicular enquanto que o ponto 2 de coleta de água causou um aumento no crescimento mas não diferindo estatisticamente do controle. Os dados obtidos no ponto 1 corroboram os estudos de Vesna (1996), que relata que a toxicidade de líquidos é indicada pela diminuição do crescimento das raízes.

**Tabela 1.** Análise dos efeitos fisiológicos dos tratamentos sobre a germinação inicial (GI) e total (G), sobre o comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CPR) e efeito citotóxico/genotóxico a partir do índice mitótico (IM). Pelotas, 2015.

	<b>GI (%) (p &gt;=0.05)</b>	<b>G (%) (p &gt;= 0.05)</b>	<b>CPA (cm) (p=0.0025)</b>	<b>CPR (cm) (p=0.0004)</b>	<b>IM (%) P&lt;0.0001</b>
CONTROLE	84.3a	98.7 a	1.78b	1.0ab	24.5 a
TRATAMENTO 1	87.7 a	99.0 a	1.98 ab	0.8c	12.3b
TRATAMENTO 2	87.0 a	98.3 a	2.35 a	1.1 a	11.5b
TRATAMENTO 3	87.3 a	99.3 a	2.28 a	0.9bc	8.8b
	CV% = 2.45	CV% = 0.72	CV% = 16.64	CV% = 17.44	CV% = 35.79

\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados preliminares obtidos neste trabalho permitem concluir a ocorrência de efeitos citotóxicos/genotóxicos nos tratamentos testados, porém não houve efeitos fisiológicos significativos.

Há necessidade de estudos sazonais quanto aos efeitos fisiológicos e citotóxicos das águas da praia do laranjal (Pelotas/RS) para dados mais conclusivos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, Leiliane C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, n. 2, p. 158-170, 2003.

ANDRADE, L. F.; DAVIDE, L. C.; GEDRAITE, L. S. The effect of cyanide compounds, fluorides, aluminum, and inorganic oxides present in spent pot liner on germination and root tip cells of *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.73, p.626-31, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, 2009. 399 p.

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.; BORGES, C. DE S.; BOBROWSKI, V. L. Sensibilidade de sementes de hortaliças na avaliação da qualidade da água em bioensaios. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 25, n.3, p.19-27, setembro de 2012

EMCON AMBIENTAL. **Empresa de Consultoria Ambiental**. Monitoramento. 2005. Disponível em: <<http://www.emconambiental.com.br/projetos3.htm>>. Acesso em: 06 jul 2015.

GADANO, A.; GURNI, A.; LÓPEZ, P.; FERRARO, G.; CARBALLO, M. In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L. **Ethonopharmacol**, v. 81, p.11-16, 2002.

GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos - um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. FUNPEC: Ribeirão Preto-SP, 2002. 131p.

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.

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.

SANEP. **Plano Diretor de Esgotos Sanitários – Memória Descritiva**. Outubro de 2003.

SILVA, F. DE A. S. E. & AZEVEDO, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n.1, p:71-78, 2002.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME – UNEP/IOC/ICES. Review of contaminants in marine mammals. **Marine Mammal Technical Report**, n. 2, p. 23, 1991.

VESNA, S.; STEGNAR, P.; LOVKA, M.; TOMAN, M. J. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the Allium test procedure. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 368, n. 3-4, p.171-179, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **International Program on Chemical Safety (IPCS)**. Environmental Health Criteria 155. Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles. Geneva, 1993.

ŽALTAUSKAITĖ, J.; ČYPAITĖ, A. Assessment of landfill leachate toxicity using higher plants. Assessment of landfill leachate toxicity using higher plants. **Environmental Research - Engineering and Management**, v.46, p.42-47, 2008.