

UTILIZAÇÃO DO *Allium sativum* L. EM TESTES ECOTOXICOLÓGICOS E DE BIOMONITORAMENTO: ESTUDO PRELIMINAR.

Graça Regina Armond Matias e Igor Leonardo Pereira Rodrigues*

RESUMO: *Ensaio ecotoxicológico e de biomonitoramento constituem ferramentas importantes em programas de controle da qualidade hídrica e na avaliação de riscos ambientais. Todavia estes devem ser de fácil aplicação e sensíveis para detectar baixos níveis de poluição. Plantas são utilizadas como biomonitores por serem mais sensíveis a estresse ambiental. Neste bioensaio, pretendeu-se monitorar o crescimento da raiz do *Allium sativum* L. por 60 dias, objetivando estabelecer padrões para avaliar efeitos de inibição no alongamento e desenvolvimento da estrutura radicular quando submetido a diferentes agentes tóxicos. Realizaram-se estudos preliminares utilizando indivíduos adultos em diferentes condições morfofisiológicas: bulbos íntegros; parcialmente íntegros, porém completos; bulbos individualizados, distribuídos em replicatas em provetas de 100 ml, contendo água segundo padrões da APHA. Revisões semanais levaram à renovação do componente líquido e ajuste dos parâmetros físico-químicos. O crescimento das raízes dos indivíduos-teste foi mensurado a cada 48h, utilizando-se paquímetro para medir comprimento e espessura dos pontos de crescimento estabelecidos após surgimento dos primeiros brotos radiculares. Os resultados mostraram que um dos pré-requisitos para um eficiente crescimento e desenvolvimento das raízes é a utilização de indivíduos completos e íntegros (taxa e média de crescimento de 74% e 0,9cm, respectivamente). Uma menor eficiência no alongamento das raízes foi observado nos bulbos parcialmente íntegros e completos (taxa e média de crescimento de 50% e 0,6cm, respectivamente). Entretanto bulbos individualizados apresentaram valores irrelevantes ou até mesmo ausência de crescimento, comprovando a importância da qualidade e da integridade dos organismos selecionados na realização dos experimentos e na eficiência e confiabilidade dos testes.*

Palavras-chave: Bioensaio; *Allium sativum* L.; Crescimento da raiz.

INTRODUÇÃO

As questões ambientais têm trazido maiores preocupações ao desenvolvimento econômico mundial, onde cada vez mais se faz necessária a busca de soluções definitivas para o problema da poluição, levando o consumidor a selecionar produtos ecologicamente mais eficientes. Assim, a indústria sente a vantagem em adotar e promover tecnologias limpas para estes produtos.

Como resultados de processos de transformação, a atividade industrial gera resíduos líquidos que geralmente são lançados em corpos receptores hídricos. O lançamento desses compostos pode causar sérias conseqüências, comprometendo sua qualidade e a sobrevivência da fauna e flora aquática (NASCIMENTO; SOUSA; NIPPER, 2002).

Utilizando as ferramentas básicas da Toxicologia clássica para estudar e comparar a toxicidade de uma substância sobre o organismo-teste, selecionado em função de sua sensibilidade e sua viabilidade para a obtenção das provas de toxicidade, a Ecotoxicologia disponibiliza meios para fazer prognósticos, diagnósticos e monitoramento ambiental, minimizando, assim, as ocorrências de danos ambientais.(COUTO, 2003).

* Biólogos, egressos da UCSal e pesquisadores do Laboratório de Biologia Marinha e Biomonitoramento – LABIOMAR/UFBA. biologos_labiomar@hotmail.com. Orientadora: Iracema Andrade Nascimento, Professora, Pós-Doutora pelo Instituto of Applied Sciences e Coordenadora do LABIOMAR/UFBA. iraceman@ufba.br.

Os testes de toxicidade servem para avaliar os efeitos que determinadas substâncias causam à(s) espécie(s)-teste. Esses testes consistem em expor os organismos representativos do ambiente a várias concentrações de uma ou mais substâncias, ou a fatores ambientais, durante um determinado período de tempo, no qual são avaliadas as reações biológicas apresentadas por esse(s) organismo(s) para estimar os efeitos potenciais de agentes tóxicos sobre uma determinada comunidade ou nível biológico em estudo.

Essas reações podem causar efeitos prolongados, ou seja, crônicos, que causam letalidade ou uma alteração qualquer a nível de sistemas biológicos, principalmente em relação ao ciclo reprodutivo; ou efeitos rápidos e severos (agudos) que afetam o organismo, levando à morte em poucas horas de exposição do produto.

Testes com *Allium cepa* (cebola) já foram sugeridos como uma alternativa simples e sensível para detecção de estresse ambiental e aplicados para determinar e monitorar a qualidade de água, juntamente com outros organismos da flora, tais como a alface (*Lactuca sativa*), obtendo-se resultados satisfatórios. (PICA-GRANADOS; HERNÁNDEZ; TRUJILIO, 2000; ARKHIPCHUK *et al*, 1999; ARKHIPCHUK; MALLIONOVSKAYA; GARANKO, 2000).

O presente trabalho tem como objetivo geral um estudo preliminar para viabilizar da utilização do *Allium sativum L.* (alho) como bioindicador de qualidade hídrica, através da realização de um padrão de crescimento em diferentes aspectos morfológicos do bulbo do organismo e traz como objetivos específicos a implementação desta técnica, ainda nova para este tipo de organismo, no Laboratório de Biologia Marinha e Biomonitoramento- LABIOMAR da Universidade Federal da Bahia, e a determinação de parâmetros para a utilização desta técnica, quanto à qualidade morfológica do organismo teste.

Os recursos metodológicos aplicados neste trabalho foram de determinação do processo de crescimento dos bulbos, relacionados ao aspecto morfológico dos mesmos, quanto ao tamanho e espessura das raízes, por conseguinte a realização de análises estatísticas com base nos resultados apresentados. Foi utilizada uma abordagem científica através de parâmetros morfológicos, descritos no item desenvolvimento, a serem ampliados, em outras análises, a parâmetros citogenéticos dentre outros, em trabalhos futuros.

DESENVOLVIMENTO DO TEMA DO TRABALHO

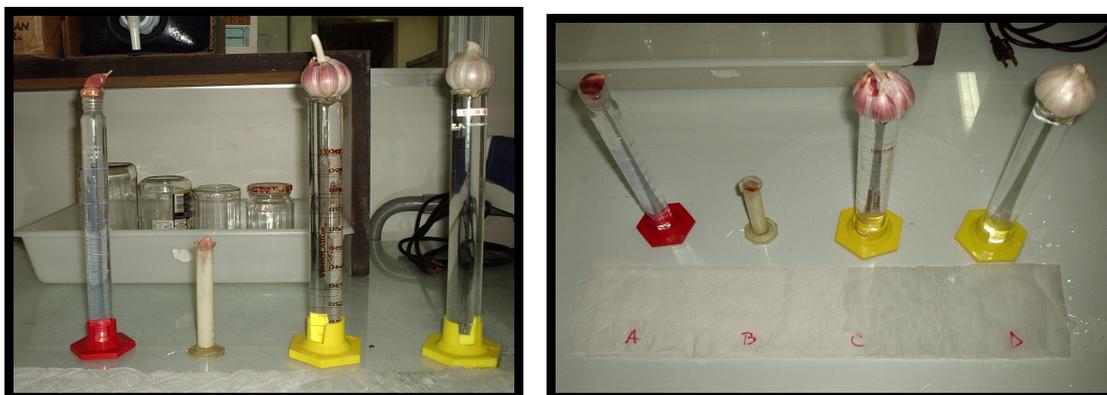
Neste bioensaio, buscou-se monitorar o crescimento da raiz do *Allium sativum L.* Este vegetal apresenta um sistema radicular fasciculado com base no qual se podem estabelecer padrões para avaliar efeitos de inibição no alongamento e desenvolvimento da estrutura radicular deste organismo vegetal, quando submetido a diferentes agentes tóxicos (SILVA, 2004).

Este estudo decorreu durante os meses de maio, junho, julho e agosto, onde o experimento foi subdividido em dois períodos (60 dias cada), utilizando-se diferentes lotes do biomonitor em questão, visando-se obter dados referentes ao processo de crescimento e correlacioná-los, garantindo, desta forma, uma maior confiabilidade do teste.

A parte experimental constitui-se basicamente na utilização de indivíduos adultos em diferentes condições morfológicas: (1) bulbos íntegros; (2) bulbos parcialmente íntegros; e bulbos individualizados (3) dente com raiz maior e (4) dente individualizado.

A explicação para a adoção de tais condições fundamentou-se primordialmente em comprovar a existência de alguma interferência no processo de alongamento da raiz, mediante alterações estruturais. Os indivíduos foram distribuídos em replicatas em provetas de 100mL contendo exclusivamente água destilada, segundo padrões físico-químicos preconizados pela APHA- American Public Health Association (1995). Revisões semanais levaram à renovação do componente líquido e ajuste dos parâmetros físico-químicos.

As replicatas foram organizadas em diferentes grupos: A, B, C e D (Figuras 1 e 2). Em cada grupo, foram estabelecidos 5 pontos de crescimento, definidos, obviamente, após o surgimento dos primeiros brotos radiculares que foram mensurados para cálculo das taxas de crescimento da raiz.



Figuras 01 e 02. Disposição das replicatas organizadas em diferentes grupos.

As medições foram realizadas em intervalos periódicos de 48 horas e com o auxílio de um paquímetro e focadas, principalmente, em 2 parâmetros morfológicos: crescimento e espessura da estrutura radicular.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostraram que um dos pré-requisitos para uma melhor eficiência no crescimento e desenvolvimento das raízes é a utilização de indivíduos completos e íntegros que apresentaram uma taxa média de crescimento de 74% e 0,9cm, respectivamente (Figura 3). Uma menor eficiência no alongamento das raízes foi observado nos bulbos parcialmente íntegros e completos (taxa e média de crescimento de 50% e 0,6cm, respectivamente) (Figura 4).



Figura 03. Crescimento do indivíduo completo e íntegro.

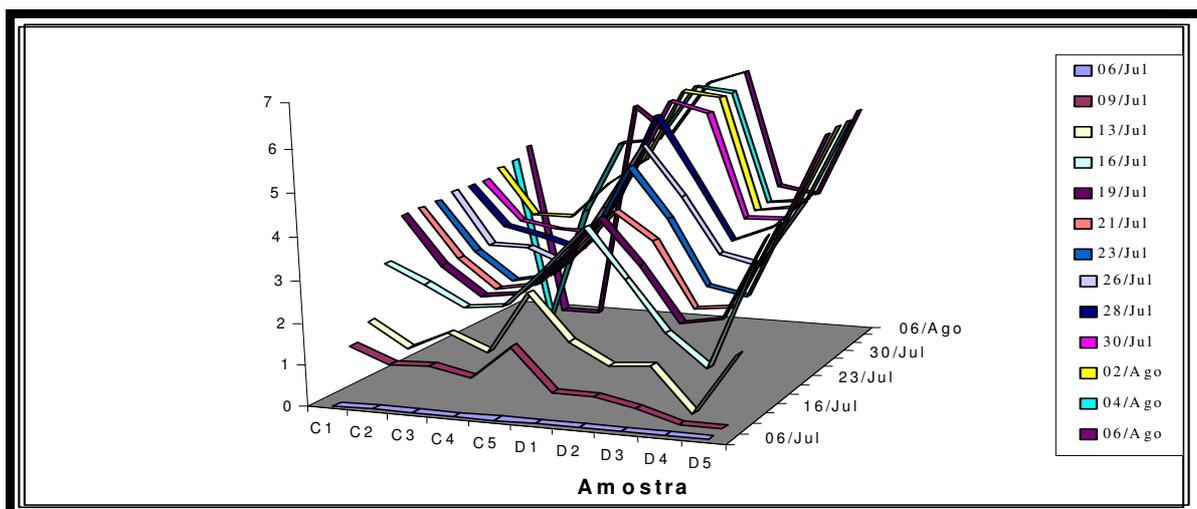


Figura 4 – Crescimento da raiz de bulbos integros

Em contrapartida, os bulbos individualizados apresentaram ausência de crescimento nos meses iniciais (Figura 5), comprovando a importância da qualidade e da integridade dos organismos selecionados na realização dos experimentos e na eficiência e confiabilidade dos testes e apontando evidências de prováveis relações de sinergismos e/ou antagonismos de fatores morfofisiológicos entre os indivíduos-teste, propiciando, desta forma, novas oportunidades de investigações científicas (Figura 6).

Em relação ao monitoramento da espessura da raiz, não houve nenhuma alteração, durante o crescimento, tendo esta permanecido com 0,1 – 0,2 cm.

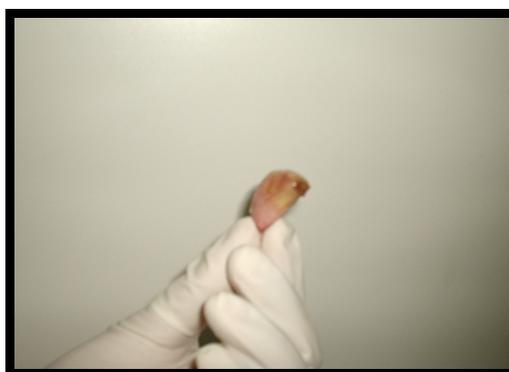


Figura 5. Crescimento do indivíduo individualizado.

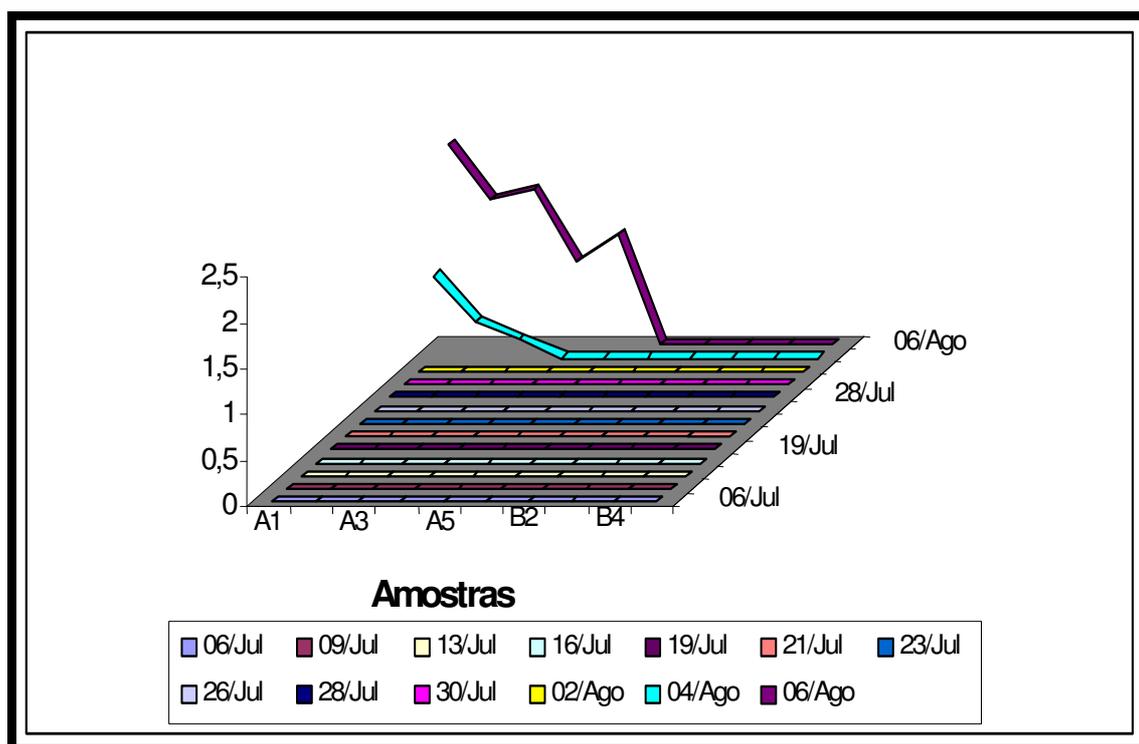


Figura 6 – Crescimento da raiz de bulbos individualizados

A Tabela 01 mostra os valores de mensuração do último lote do *Allium sativum L.*, com intervalos de 48 horas; a análise estatística dos lotes podem ser visualizadas na Tabela 02.

Tabela 01. Valores de mensuração do comprimento das raízes do *Allium sativum L.* em julho-agosto de 2004

Dados	A1	A2	A3	A4	A5	B1	B2	B3	B4	B5	C1	C2	C3	C4	C5	D1	D2	D3	D4	D5
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,22	0,84	0,89	0,69	1,5	0,5	0,5	0,3	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,6	1,02	1,48	1,08	2,58	1,5	1	1,08	0	1,48
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,84	2,4	1,9	2	2,93	4	2,84	1,64	0,88	3,4
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,86	2,68	1,98	2,1	3	4,08	3	1,67	1,84	3,85
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,88	2,68	1,99	2,15	3	4,08	3,42	1,82	1,93	4
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,9	2,69	2,01	2,2	3,1	5	3,8	2,2	2	4,2
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2,69	2,68	2,29	3,8	5,4	4,2	2,83	2,6	4,2
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3	2,8	2,5	3,88	6	4,5	3	3,38	4,3
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3	2,82	2,8	4,4	6,26	6	3,4	3,44	5,6
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4,2	3	3	3,9	4,6	6,4	6,28	3,44	3,58	5,68
12	0,9	0,4	0,2	0	0	0	0	0	0	0	4,26	†	3	4,86	5	6,4	6,3	3,5	3,6	5,7
13	2,2	1,6	1,7	0,9	1,2	0	0	0	0	0	4,5	†	†	5,7	5	6,4	6,72	3,8	3,62	5,86

Tabela 02. Análise estatística dos lotes, segundo as características morfológicas.

	Bulbo individualizado (A)	Bulbo individualizado (B)	Bulbo parcialmente íntegro (C)	Bulbo íntegro (D)
Média	0,140	0,000	2,675	3,206
Desvio Padrão	0,438	0,000	1,377	2,054

REFERÊNCIAS

APHA AWWA WEF- American Public Health Association, 1995. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 19ª edição.

ARKHIPCHUK, V.V.; MALLINOVSKAYA, M.V.; GARANKO, N.N. **Cytogenetic Study of Organic and Inorganic Toxic Substances on Allium cepa, Lactuca sativa, and Hydra attenuate Cells**. Institute of Hydrobiology, Ukrainian Academy of Sciences, Geroyev Stalingrada Ave. 12, Kyiv. Ukraine. 2000 by John Wiley & Sons, Inc. 3 April 2000. 338-344 pp.

ARKHIPCHUK, V.V.; ROMANENKO, V.D.; MALLINOVSKAYA, M.V.; KIPNIS, L.S.; SOLOMATINA, V.D.; KROT, Y. G. **Toxicity Assessment of Water Samples with a Set of Animal and Plant Bioassays: Experience of the Ukrainian Participation in the WaterTox Program**. Institute of Hydrobiology, Ukrainian Academy of Sciences, Geroyev Stalingrada Ave. 12, Kyiv. Ukraine. 2000 by John Wiley & Sons, Inc. 26 November 1999. 338-344 pp.

COUTO, B.C. **Teste de Toxicidade com Embriões de Ostras Crassostrea rhizophorae, GUILDING, 1828: Seleção de Substâncias de Referência e Identificação da Concentração de Efeito Crônico**. 2003. 123f. (Dissertação Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento) – Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2003.

NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. **Métodos em ecotoxicologia marinha: aplicações no Brasil**. Ed. Artes Gráficas e Indústria Ltda. São Paulo. 2002. cap., VI, p. 73-81.

PICA-GRANADOS, Y; HERNÁNDEZ, H.S; TRUJILIO, G.D. **Bioassay Standardization for Water Quality Monitoring in Mexico**. Instituto Mexicano de tecnologia del Agua, Morelos, México. 2000 by John Wiley & Sons, Inc. 3 April 2000. 322-330 pp.

SILVA, S. **Flores do Alimento**. Disponibiliza nomes científicos e característica de plantas utilizada na culinária. Empresa das artes. Disponível em: <<http://www.consulteme.com.br/1b/biologia/alhoa.htm>>. Acesso em: 26 agosto 2004.