

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**SIMONE CRISTINA DOS SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO E RANQUEAMENTO DE CULTIVARES DE *Lactuca sativa* L.  
(ASTERACEAE) E *Allium cepa* L. (ALLIACEAE) NA PADRONIZAÇÃO DE  
BIOENSAIOS PARA FITOTOXICIDADE**

**Alfenas/MG  
2016**

**SIMONE CRISTINA DOS SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO E RANQUEAMENTO DE CULTIVARES DE *Lactuca sativa* L.  
(ASTERACEAE) E *Allium cepa* L. (ALLIACEAE) NA PADRONIZAÇÃO DE  
BIOENSAIOS PARA FITOTOXICIDADE**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG. Área de concentração: Tecnologia Ambiental.

**Orientador:** Prof. Dr. Sandro Barbosa

**Coorientador:** Dra. Luciene de Oliveira Ribeiro Trindade (Bolsista PNP/Programas)

**Colaboradores:** Prof. Dr. Eduardo Gomes Salgado (UNIFAL-MG), Prof. Dr. José Marcello Salabert Campos (UFJF), Mateus Donizetti Oliveira Assis (Mestrando PPG Ciências Ambientais-UNIFAL-MG) e Ursuléia Aparecida de Oliveira (PIVIC-UNIFAL-MG).

**Alfenas/MG  
2016**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Santos, Simone Cristina Dos.

Caracterização e ranqueamento de cultivares de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) e *Allium cepa* L. (Alliaceae) na padronização de bioensaios para fitotoxicidade / Simone Cristina Dos Santos. -- Alfenas - MG, 2016.  
67 f.

Orientador: Sandro Barbosa.

Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Alfenas, 2016.

Bibliografia.

1. Bioensaio. 2. Alface. 3. *Allium cepa* (Homeopatia). 4. Citogenética.  
I. Barbosa, Sandro. II. Título.

CDD-581.3



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Universidade Federal de Alfenas / UNIFAL-MG  
Programa de Pós-graduação – Ciências Ambientais  
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714. Alfenas - MG CEP 37130-000  
Fone: (35) 3299-1449 (Coordenação) / (35) 3299-1392 (Secretaria)  
<http://www.unifal-mg.edu.br/ppgca/>



SIMONE CRISTINA DOS SANTOS

**“Caracterização e ranqueamento de cultivares de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) e *Allium cepa* L. (Alliaceae) na padronização de bioensaios para fitotoxicidade”**

A Banca julgadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de Concentração: Ciências Ambientais.

Aprovada em: 02 de dezembro de 2016.

Prof. Dr. Sandro Barbosa  
Instituição: UNIFAL - MG

Assinatura:  \_\_\_\_\_

Profa. Dra. Vania Helena Techio  
Instituição: UFLA

Assinatura:  \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Fábio Kummrow  
Instituição: UNIFESP

Assinatura:  \_\_\_\_\_

*Dedico este estudo aos meus pais  
Abel e Ismênia cuja sabedoria sempre me inspirou.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus pelo dom da vida e por sua presença nela, nos momentos de desamparo nas horas incertas e de grandes obstáculos e pela minha incessante fé.

Aos meus pais Abel e Ismênia, a quem dedico um amor incondicional, por ter me ensinado a trilhar um grande caminho baseado nas boas ações e na sabedoria, por terem um grande coração e dedicação, por zelarem pela minha vida e pelo grande investimento, incentivo e paciência para comigo.

Ao Prof. Dr. Sandro Barbosa que além de orientador se tornou um verdadeiro guia e pai em minha vida, por todos os ensinamentos, conselhos, pelas críticas, pela paciência, por acreditar no futuro desse trabalho, por contribuir pelo meu crescimento como profissional e como pessoa e principalmente por ser tão especial e cuidadoso.

À minha querida coorientadora e amiga Dra. Luciene de Oliveira Ribeiro Trindade pela sua calma, pela sua sabedoria, por acreditar em mim e me amparar em todos os momentos durante a caminhada, por ser um grande exemplo de profissional e de mulher.

À Ursulêia Aparecida de Oliveira, que além de ser meu braço direito e muitas vezes meu cérebro se tornou uma verdadeira irmã e contribuiu além das minhas expectativas pela profissional que sou hoje, pela imensa força que possui e muitas vezes me inspirou de todas as maneiras, sem você este projeto jamais seria o mesmo.

Às minhas irmãs Fabiana e Cristiane pelo incentivo e grandes conselhos.

À toda equipe do laboratório de Biotecnologia Ambiental e Genotoxicidade (BIOGEN), em especial para Gabriela Ezequiel, Dona Ciomara, Marília Carvalho e todos os amigos do programa da pós que se tornaram minha família, obrigada pelo companheirismo, pelo convívio, pelos conselhos e amizade, pelas boas risadas, gordices, pelo aprendizado e alguns dos melhores momentos ao longo da caminhada.

À Universidade Federal de Alfenas pela oportunidade oferecida. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Mestrado.

Às minhas amigas e irmãs da República Bis: Renata Ribeiro, Aymee Romero, Sayane Alves, Caroline Espurio, Leticia Loretta e Aimê Marques por todo carinho e cuidado, pelos

melhores momentos dos meus anos, pela amizade, pelas risadas e “papos-cabeça” e por estarem sempre ao meu lado.

À todos que de algum modo contribuíram por todo esse meu crescimento e amadurecimento ao longo da jornada, minha eterna GRATIDÃO!

*“Nossa Maior fraqueza está em desistir. O caminho mais certo de vencer é tentar mais uma vez” (Thomas Edison, 1920)*

## RESUMO GERAL

As espécies *Lactuca sativa* L. e *Allium cepa* L. estão entre as mais utilizadas como organismo-teste em bioensaios vegetais. O conhecimento dos cultivares acerca dos aspectos fisiológicos e genéticos é um passo fundamental para a padronização e seleção dos melhores genótipos para bioensaios. O objetivo desse trabalho foi caracterizar, ranquear e, posteriormente, validar com Sulfato de Cádmio ( $\text{CdSO}_4$ ) as cultivares de Alface (*Lactuca sativa* L.) e Cebola (*Allium cepa* L.) quanto aos parâmetros germinativos, de crescimento inicial e citogenéticos. Para essa finalidade, sementes de 14 cultivares de Alface e 13 de Cebola obtidos comercialmente foram germinadas em placas de Petri (70 mm) com 3 mL de água destilada. As Placas foram montadas em B.O.D (24 °C) com fotoperíodo de 12 horas. Os parâmetros avaliados consistiram em: percentual de germinação, índice de velocidade de germinação, número de plântulas normais, comprimento de raiz e de parte aérea, biomassa fresca e seca, índice mitótico, anormalidades cromossômicas e conteúdo de DNA. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas por meio do teste Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), e à análise multicritérios, utilizando *Technique for Order Preference by Similarity* (TOPSIS) para a obtenção de um *ranking* dessas cultivares. De acordo com a análise estatística dos dados, as cultivares de *Lactuca sativa* L. mais adequadas aos bioensaios vegetais, foram Babá de Verão, Grandes Lagos e Grand Rapids enquanto que para *Allium cepa* L. se destacaram Baia Periforme, Vale Ouro, White Creole. Do *ranking* obtido pelo TOPSIS, Babá de Verão e Baia Periforme foram as melhores cultivares para Alface e Cebola, respectivamente. Ambas apresentaram maior frequência de anormalidades cromossômicas, sendo cromossomo perdido e *stickiness* as anomalias predominantes em *L. sativa* L. e *A. cepa* L. respectivamente nos controles. No teste de toxicidade com a presença do metal Cádmio, as cultivares de ambas as espécies se mostraram sensíveis, visto que o metal interferiu no alongamento de raiz e parte aérea, na biomassa fresca e no índice mitótico e aumentou a frequência de anormalidades cromossômicas, exceto para Crioula, uma vez que o Cádmio estimulou o IM.

**Palavras chave:** Fitotoxicidade. Bioensaio. Alface. Cebola. Citogenética.

## ABSTRACT

The species *Lactuca sativa* L. and *Allium cepa* L. are among the most used as test organisms in plant bioassays. The knowledge of the cultivars about the physiological and genetic aspects is a fundamental step for the standardization and selection of the best genotypes for bioassays. The objective of this work was to characterize, classify and later validate with CdSO<sub>4</sub> the cultivars of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) and Cebola (*Allium cepa* L.) on germination, initial growth and cytogenetic parameters. For this purpose, seeds of 14 cultivars of Lettuce and 13 of commercially obtained Onion were germinated in Petri dishes (70 mm) with 3 mL of distilled water. Plates were mounted in B.O.D (24 ° C) with photoperiod of 12 hours. The evaluated parameters consisted of: percentage of germination, rate of germination, number of normal seedlings, root and shoot length, fresh and dry biomass, mitotic index, chromosomal abnormalities and DNA content. The data were submitted to analysis of variance, the averages being compared by means of the Scott-Knott test ( $p < 0.05$ ), and to the multi-criteria analysis, using Technique for Order Preference by Similarity (TOPSIS) to obtain a ranking of these Cultivars. According to the statistical analysis of the data, the cultivars of *Lactuca sativa* L. more suitable to the plant bioassays were Summer Babysitter, Great Lakes and Grand Rapids, while for *Allium cepa* L. Periform Bay, Gold Valley and White Creole were highlighted. From the ranking obtained by TOPSIS, Summer Babysitter and Periform Bay were the best cultivars for Lettuce and Onion, respectively. Both presented higher frequency of chromosomal abnormalities, being chromosome lost and stickiness the predominant anomalies in *L. sativa* L. and *A. cepa* L. respectively in the controls. In the toxicity test with the presence of Cadmium metal, the cultivars of both species were sensitive, since the metal interfered in the root and shoot extension, fresh biomass and mitotic index, and increased the frequency of chromosomal abnormalities except For Creole, since Cadmium stimulated the IM.

**Keywords:** Phytotoxicity. Bioassay. Lettuce. Onion. Cytogenetics.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AC</b>	- Anormalidades Cromossômicas
<b>BB</b>	- Boston Branca
<b>BF</b>	- Biomassa Fresca
<b>BOD</b>	- Biochemical oxygen demand
<b>BP</b>	- Baía Periforme
<b>BoP</b>	- Bola Precoce
<b>BPP</b>	- Baía Periforme Precoce
<b>BS</b>	- Biomassa Seca
<b>BV</b>	- Babá de Verão
<b>Co</b>	- Conquista
<b>Cr</b>	- Crioula
<b>CR</b>	- Comprimento de Raiz
<b>CPA</b>	- Comprimento de Parte Aérea
<b>De</b>	- Delícia
<b>Di</b>	- Diamantina
<b>GL</b>	- Grandes Lagos
<b>GR</b>	- Grand Rapids
<b>Gr</b>	- Granex
<b>Ib</b>	- Ibiapaba
<b>IM</b>	- Índice Mitótico
<b>IVG</b>	- Índice de Velocidade de Germinação
<b>MI</b>	- Maravilha de Inverno
<b>Mi</b>	- Mimosa
<b>Mo</b>	- Mônica
<b>NPN</b>	- Número de Plântulas Normais
<b>Pr</b>	- Primavera
<b>QE</b>	- Quatro Estações
<b>RBP</b>	- Romana Branca de Paris
<b>RM</b>	- Rainha de Maio
<b>RRC</b>	- Roxa Red Criole
<b>RV</b>	- Regina de Verão
<b>SSP</b>	- Simpson Semente Preta

**TG 502** - Texas Grana 502

**VO IPA 11**- Vale Ouro

**VV** - Vitória de Verão

**WC** - White Creole

**%G** - Porcentagem de Germinação

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 DESENVOLVIMENTO .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1. Bioensaios .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2. Descrição das principais características de Lactuca sativa L.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3 Descrição das principais características de Allium cepa L.....</b>	<b>19</b>
<b>2.4. Métodos de Análises Multicritérios.....</b>	<b>21</b>
<b>3 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>28</b>
<b>4 OBJETIVOS .....</b>	<b>29</b>
<b>4.1 Objetivo geral.....</b>	<b>29</b>
<b>4.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>29</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>30</b>
<b>SEGUNDA PARTE.....</b>	<b>41</b>
<b>ARTIGO I: SELECTION OF GENOTYPES FOR PLANT BIOASSAYS USING Lactuca sativa L. AND Allium cepa L. ....</b>	<b>41</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>43</b>
<b>Material and methods .....</b>	<b>44</b>
<b>Results.....</b>	<b>47</b>
<b>Discussion .....</b>	<b>50</b>
<b>Conclusions .....</b>	<b>54</b>
<b>References .....</b>	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os bioensaios constituem-se em procedimentos que para mediar a resposta dos organismos que são expostos aos contaminantes em relação a um determinado controle. Dessa maneira, estes ensaios biológicos possuem a finalidade de detectar e quantificar os efeitos tóxicos das substâncias químicas, isoladas ou em misturas, e dessa maneira, caracterizar e determinar seus efeitos negativos e os níveis de toxicidade diferentes (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008). Os testes que envolvem vegetais (bioensaios vegetais) têm sido amplamente utilizados para avaliar a toxicidade de amostras ambientais e/ou princípios bioativos de plantas (aleloquímicos) (OLIVEIRA et al., 2013; OLIVEIRA, et al., 2014; MA et al. 2015; ZHAO, YUAN E ZHANG, 2016).

As espécies *Lactuca sativa* L. (Alface) e *Allium cepa* L. (Cebola) são amplamente citadas na literatura como organismos-teste em bioensaios vegetais (OLIVEIRA, et al., 2014; MA et al. 2015; MORAES et al., 2015; TANG et al., 2016; ZHAO; YUAN; ZHANG, 2016). Ambas possuem características vantajosas que possibilitam e facilitam a utilização para essa finalidade como germinação rápida e uniforme, crescimento linear em ampla faixa de variação de pH, baixa sensibilidade aos potenciais osmóticos, facilidade de manuseio e acesso, zona meristemática radicular com grande número de células em divisão, número e tamanho cromossômico que facilitam análises citogenéticas, além de alto grau de sensibilidade aos toxicantes (RICE,1984; GRIPPA et al., 2010; CUCHIARA, 2012; SIMÕES et al., 2013).

As espécies em questão apresentam populações com características bem definidas denominadas cultivares que estão agrupadas de acordo com seus descritores fenotípicos e genotípicos. Considera-se cultivar a variedade de qualquer gênero ou espécie vegetal superior que seja claramente distinguível de outras cultivares conhecidas por margem mínima de descritores. Assim, devem se distinguir por denominação própria, apresentar homogeneidade e estabilidade quanto aos descritores através das gerações sucessivas e ser passível de uso agroflorestal. Além disso, devem também ser descritas em publicação especializada disponível e acessível ao público, bem como a linhagem componente dos híbridos (BRASIL, 1997). Portanto, cultivares são genótipos e fenótipos selecionados e registrados com base em suas características que as tornam interessantes para cultivo (XAVIER et al., 1995). Tanto a manifestação do potencial de produção como a utilização de uma cultivar como planta-alvo em bioensaios, depende da interação de seu genoma com o ambiente. Desta maneira a escolha

do material genético adequado constitui uma ferramenta decisiva para o sucesso do sistema de cultivo e dos bioensaios vegetais (LIMA et al., 2004).

Os parâmetros avaliados em bioensaios vegetais permitem a visualização dos efeitos sobre a germinação e crescimento da planta-alvo (FERREIRA; ÁQUILA, 2000). Contudo, fazem-se necessários estudos que objetivem conhecer o comportamento das espécies, assim como as cultivares quanto aos aspectos germinativos, de crescimento inicial e do comportamento do complemento cromossômico. Embora os bioensaios vegetais utilizando Alface e Cebola sejam amplamente relatados na literatura e exista registros de estudos sobre o desempenho de diferentes espécies na execução dos bioensaios, não foram encontrados registros sobre a padronização para tal procedimento, como também não há comparação das cultivares dessas espécies frente a uma substância tóxica.

Dessa maneira, padronizar e aperfeiçoar a condução dos bioensaios vegetais, assim como avançar no conhecimento das cultivares das espécies quanto à fisiologia, constituição e caracterização do complemento cromossômico constitui um passo fundamental para as pesquisas que utilizam Alface e Cebola como organismos-teste em ensaios fitotóxicos. Isso possibilitará o aumento da precisão das análises de alterações provenientes da exposição a agentes tóxicos. O objetivo desse trabalho foi caracterizar, ranquear e validar com metal tóxico, as cultivares de Alface (*Lactuca sativa* L.) e Cebola (*Allium cepa* L.) quanto aos parâmetros germinativos, de crescimento inicial e citogenéticos para uso em bioensaios vegetais.

## 2 DESENVOLVIMENTO

A seguir, é apresentada uma revisão da literatura atualizada acerca dos temas abordados neste estudo, com a finalidade de gerar embasamento e conhecimento teórico para a análise e discussão dos resultados encontrados.

### 2.1. Bioensaios

Os testes biológicos possuem como finalidade a detecção e a quantificação das substâncias químicas isoladas ou em misturas, assim como a caracterização e determinação de seus efeitos nocivos sinérgicos ou antagônicos. A contaminação ambiental resultante de substâncias tóxicas pode ocorrer por diversas fontes poluidoras, tais como: efluentes agrícolas, industriais e domésticos, medicamentos e produtos químicos em geral (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008; RIZZO, 2011).

Portanto, em sua concepção, os bioensaios constituem um procedimento experimental para mediar a resposta dos organismos quando são expostos aos contaminantes em relação a um controle, são realizados em laboratório sob condições específicas e controladas, onde os organismos-teste são expostos a diferentes concentrações de uma amostra e os efeitos produzidos sobre estes são observados e quantificados (CÂNDIDO et al., 2010). É um recurso muito eficiente, rápido e com baixo custo, principalmente em regiões onde outras metodologias que utilizam aparelhos de alta precisão são muito caras (PAULINO; MAZANTI; GAETA, 1992). São abundantemente utilizados para estabelecer níveis de toxicidade de contaminantes e matrizes aquosas, como águas superficiais, subterrâneas e residuais (RIZZO, 2011).

Estes experimentos, são realizados com organismos que sejam bioindicadores, devido suas características peculiares de sensibilidade ou tolerância a determinadas substâncias químicas. Assim, esses organismos respondem de forma integral com reações específicas, seja por meio de perturbações diretas e/ou indiretas ou por alguma alteração nos aspectos morfológicos, fisiológicos, comportamentais e genéticos quando expostos a substâncias nocivas. A exposição dos bioindicadores à substância ou composto químico são realizadas em diferentes concentrações por um determinado tempo (BETTINARDI, 2009; CÂNDIDO et al., 2010; SOUZA FILHO et al., 2010).

Os bioensaios que utilizam plantas como organismos-testes são caracterizados por possuírem baixo custo e diferentes avaliações de *endpoints*, tais como taxa de germinação, alongamento de raiz, peso da biomassa e atividade enzimática (RIZZO, 2011). Além disso, Mazzeo (2013) destaca que os vegetais são considerados importantes materiais biológicos por permitirem a avaliação de danos induzidos por contaminantes ambientais constituindo excelentes bioindicadores de efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de ambientes contaminados com substâncias químicas. Assim, os vegetais, têm sido utilizados em estudos sobre fitotoxicidade de compostos orgânicos e inorgânicos (DI SALVATORE et al., 2008), em afluentes contaminados (CAVALCANTI, 2014), de compostos secundários de plantas com possível potencial alelopático (aleloquímicos) (OLIVEIRA et al., 2013; OLIVEIRA, et al., 2014; MA et al. 2015; ZHAO, YUAN; ZHANG, 2016) e de solos contaminados (MAZZEO, 2013). Prichoa et al. (2013) mencionam que os bioensaios fornecem informações para análise do efeito alelopático, quando se trata da germinação de sementes em meio a extratos vegetais. Segundo Buzar et al. (2007) os bioensaios vegetais têm sido amplamente utilizados nas análises de efeito biológico com plantas superiores, além de serem indicados para monitoramento da bioatividade de extratos, frações e compostos isolados, assim como monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas.

Existem diversos parâmetros que podem ser avaliados pelos bioensaios vegetais com a finalidade de averiguar os efeitos tóxicos dos compostos e/ou substâncias químicas testadas. Na literatura é comum a citação de parâmetros como: taxa de germinação, índice de velocidade de germinação e alongamento de raiz (SILVEIRA et al., 2014, MORAES et al., 2015;). Todavia, existem outros parâmetros que são avaliados, como exemplo pode-se citar a biomassa fresca, biomassa seca, tempo médio de germinação, taxa de plântulas normais desenvolvidas, alongamento da parte aérea, alongamento do hipocótilo, número de sementes mortas e sementes não germinadas, índice de velocidade de emergência, percentagem de emergência, além de aspectos micromorfológicos de plântulas e parâmetros genéticos como índice mitótico e anormalidades cromossômicas (JUCHEM et al., 2013; NUNES et al., 2014; SILVEIRA et al., 2014; MORAES et al., 2015).

Os parâmetros avaliados em bioensaios podem ser visualizados nos efeitos sobre a germinação e crescimento da planta-alvo, porém estas visualizações são manifestações secundárias de modificações ocorridas em nível molecular (FERREIRA; ÁQUILA, 2000). Contudo, é necessária a realização de estudos que objetivem conhecer o comportamento das espécies utilizadas como organismos-teste, assim como combinações genótípicas quanto aos aspectos germinativos, desenvolvimento inicial e o comportamento do complemento

cromossômico. Além do mais, de acordo com Andrade et al. (2008) as análises cromossômicas possibilitam a identificação de polimorfismos cromossômicos e fornecem informações a respeito de possíveis alterações na estrutura ou no número dos cromossomos.

É preciso observar que para se utilizar o bioensaio vegetal é necessário ter conhecimento das condições em que os indivíduos serão submetidos, bem como das condições naturais e intrínsecas de resposta dos mesmos, proporcionem a correta discriminação entre indivíduos resistentes e suscetíveis, que podem variar conforme as condições de crescimento das plantas, do toxicante e da espécie a ser avaliada (ROSO; MEROTTO; DELATORRE, 2010). Assim, o conhecimento acerca do organismo-teste e seu comportamento quanto aos diversos aspectos genéticos e fisiológicos é imprescindível e, para tanto, faz-se necessário o uso de metodologias que possibilitem a caracterização dos materiais geneticamente distintos dentro da espécie-alvo.

## **2.2. Descrição das principais características de *Lactuca sativa* L.**

*Lactuca sativa* L. (Alface) pertence à família Asteraceae, a mesma família das chicórias e almeirões. Caracteriza-se por ser uma hortaliça folhosa, herbácea, autógama e dicotiledônea. Originou-se de espécies silvestres na região do Mediterrâneo e já era utilizada como planta medicinal desde 4500 a.C (MAGALHÃES, 2006; COSTA; SALA, 2012). Alvim et al. (2011) destacam que a hortaliça além de ser mundialmente conhecida, pode ser utilizada tanto na alimentação quanto na medicina e em experimentos científicos. É encontrada em regiões de clima temperado, sendo, portanto, cultivada em quase todas as regiões do globo terrestre (LIMA, 2007).

Com relação a sua morfologia, de acordo com Costa e Sala (2012) e Filgueira (2000) possui caule diminuto, no qual as folhas são presas. Estas são largas, justapostas, flexíveis e crescem em formas de rosetas, são lisas ou crespas formando ou não uma cabeça repolhuda. Sua coloração varia de acordo com o teor de clorofila de cada cultivar e vai do verde claro, ao verde escuro até cultivares de coloração mais arroxeada. Suas flores são vistas na fase reprodutiva e possuem coloração amarelada, disposta em inflorescência do tipo capítulo, que possuem entre 10 e 25 flores, denominadas floretes. O ovário de cada florete é unilocular e produz somente uma semente. O sistema radicular é ramificado e superficial.

A Alface foi introduzida no Brasil pelos portugueses em 1650 (MACHADO et al., 2011; PINHEIRO et al., 2012; EMBRAPA, 2014), tornando-se uma das hortaliças de maior importância no país, principalmente por sua facilidade de aquisição e produção durante todo ano (HENZ; SUINAGA, 2009; COSTA; SALA, 2012). Além disso, de acordo com Lima (2007) a hortaliça possui grande importância alimentar, por apresentar baixo teor de calorias além de elevada fonte de vitaminas (A, B1, B2 e C) e sais minerais como cálcio e ferro. Segundo Associação de Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas (ABCSM) (2012) e Guimarães (2011), o agronegócio de Alface no Brasil atinge R\$ 2,1 bilhões/ano, com área cultivada de aproximadamente 35 mil ha.

Os produtores focados na ampliação da competitividade do agronegócio de Alface têm buscado novos cultivares obtidos através do melhoramento genético que sejam mais tolerantes às condições edafoclimáticas, já que altas temperaturas e altas pluviosidades são responsáveis por 60 % da perda de produção. Além disso, buscam genótipos tolerantes ao pendoamento precoce e também resistentes às doenças e pragas, com menor custo de produção e alta produtividade (GUIMARÃES et al., 2011; COSTA; SALA, 2012). Costa e Sala (2012) afirmam que existem no mercado e na comercialização da espécie no Brasil cerca de seis variedades (crespa, lisa, americana, mimosa, romana e vermelha), sendo os mais consumidos a variedade do tipo crespa, representando cerca de 70 % da produção, destacando-se cultivar Grand Rapids, e do tipo lisa (10 %) com destaque das cultivares Boston Branca, Babá de Verão e Regina de Verão. A diversidade nas características morfológicas e fisiológicas entre as variedades e cultivares de Alface determina grandes diferenças na conservação pós-colheita, nos aspectos de manuseio e na preferência dos consumidores (HENZ; SUINAGA, 2009).

A espécie em questão é amplamente citada como planta-alvo em ensaios biológicos vegetais para avaliação da fitotoxicidade e citogenotoxicidade de substâncias químicas derivadas do metabolismo secundário dos vegetais (RIBEIRO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014; MARTIN – PUZON; RIVERA, 2015), assim como amostras ambientais, efluentes domésticos e industriais (RAMOS et al., 2013; CARVALHO et al., 2014; MORAES et al., 2015; TANG et al., 2016). A Alface possui características peculiares que viabilizam seu uso para tal finalidade, tais como a germinação rápida (24 horas) e uniforme, crescimento linear pouco sensível às diferenças de pH e potenciais osmóticos, e um alto grau de sensibilidade a agentes tóxicos, mesmo em baixas concentrações (RICE, 1984; SOUZA et. al, 2007; CARVALHO et al., 2014). Além do mais, os aquênios de alface são encontrados no comércio

durante o ano todo, são fáceis de manipular, demandam de metodologias simples e possuem um baixo custo.

Segundo Lebeda et al. (2009) e Mousavi et al. (2013), dentre as espécies do gênero *Lactuca* há diferenças quanto à forma, tamanho e número cromossômico. A *Lactuca sativa* L. apresenta fórmula cariotípica  $2n=2x=18$ , e a avaliação de danos provocados por toxicantes sobre o complemento cromossômico da Alface é favorecida pelo fato da espécie possuir características citogenéticas estáveis e bem definidas, como grande número de células em divisão, cromossomos grandes e em número reduzido.

### **2.3 Descrição das principais características de *Allium cepa* L.**

A Cebola (*Allium cepa* L.) é uma monocotiledônea da família Alliaceae, e é uma das espécies mais cultivadas dessa família, devido essencialmente ao volume e valor econômico de seus bulbos, os quais possuem também ação medicinal como atividade antioxidante, antiinflamatória, antitumoral, antiviral e cardiovascular (CASTELLANE et al., 1990; LORENZI; MATOS, 2002). É uma espécie originária da Ásia Central, principalmente do noroeste da Índia e do Afeganistão (ACOSTA et al., 1993). De acordo com Garcia (1990), a Cebola foi introduzida no Brasil no Estado do Rio Grande do Sul no século XVIII, sendo as primeiras produções das cultivares Baia Periforme e Crioula (WAMSER et al., 2014).

Segundo Boiteux e Melo (2004), *Allium cepa* L. é uma das hortaliças mais cultivadas no mundo, sendo a segunda de maior importância econômica, com valor estimado em US\$ 6 bilhões anuais. Pesquisas realizadas recentemente (IBGE, 2016) estimam que a produção nacional da espécie em 2016 é de 1,5 milhões de toneladas, destacando Santa Catarina como o estado brasileiro com maior produtividade com 432,4 mil toneladas de cebola e rendimento de 22,350 kg/ha.

Os produtores de Cebola devem considerar, dentre as diversas cultivares, exigências para luz, temperatura e luminosidade das regiões (exigências de fotoperíodo), padrão genético e preferência para o consumo (BOITEUX; MELO, 2004; LONGO, 2009). Na busca de cultivares que atendam a esses requisitos, e considerando o efeito da interação genótipo-ambiente na cultura da Cebola, o ideal é a identificação de híbridos adaptados e produtivos e a seleção das linhagens para produção de híbridos superiores na região de cultivo. No estado do

Rio Grande do Norte, o plantio significativo de cebola é recente, com produtores buscando alternativas como forma de reduzir as perdas utilizando cultivares híbridos, uma vez que consiste em uma das tecnologias para o aumento da produtividade (FARIA et al., 2012).

Quanto às diferentes cultivares, Boiteux e Melo (2004) citam que os grupos são classificados como populações geneticamente heterogêneas como “Baia Periforme”, “Pêra” e “Crioula”, mantidas em coleções de germoplasmas por produtores. As cultivares brasileiras geralmente possuem bulbos globulares e alongados, película amarela, marrom, vermelha ou arroxeadas. As cultivares híbridas, possuem efeitos benéficos da heterose e alto padrão genético, tais como maior uniformidade de bulbificação, maior capacidade de adaptação por tolerar maior diversidade de plantio e maior produtividade em relação às cultivares de polinização livre, por isso, são as preferidas dos produtores médios e de grandes portes.

Uma das formas de se agrupar as cultivares de Cebola é devido ao seu padrão genético. O número básico de cromossomos da Cebola é  $2n=2x=16$  (BOITEUX; MELO, 2004), os autores Paknia e Karimzadeh (2010) citam ainda, que os genótipos de populações Iranianas de *Allium cepa* possuem diferenças entre o tamanho do maior cromossomo, cromossomos mais curtos, comprimento total de cromossomos e índice centromérico.

*A. cepa* L. também é comumente utilizada como organismo-teste em bioensaios vegetais e considerada um organismo eficiente em testes de citotoxicidade e genotoxicidade (GOMES et al., 2015; BIANCHI, MONTOVANI, MARIN-MORALES, 2015; NEVES et al., 2016). A espécie é utilizada para a análise de substâncias com possível potencial mutagênico (CUCHIARA et al., 2012; MACHADO, 2013) estimado pela frequência de anormalidades cromossômicas indicando riscos de aneuploidia (LEME; MARIN-MORALES, 2007). Fornece também valiosas informações em relação à avaliação de amostras ambientais, constituindo, portanto, uma grande ferramenta para a pesquisa do potencial genotóxico e citotóxico de produtos químicos, misturas complexas tais como extratos de plantas, resíduos industriais e águas contaminadas (CUCHIARA et al., 2012).

De acordo com Cuchiara et al. (2012) e Gripa et al. (2010), o teste com *Allium cepa* L. é recomendado para uma rápida avaliação da genotoxicidade de efluentes devido sua elevada sensibilidade, baixo custo, disponibilidade durante o ano todo, cinética de proliferação e crescimento rápido das raízes, alta tolerância a diferentes condições de cultivo, facilidade de manipulação e grande número de células em divisão com número de cromossomos reduzido ( $2n=16$ ) e tamanho grande que são facilmente corados e observados (KURÁS, 2006). Os testes utilizando *A. cepa* são autorizados e validados pelo Programa Internacional de

Segurança Química e pelo Programa das Nações Unidas (GROVER; SATWINDERJEET, 1999)

Os testes de citogenotoxicidade realizados com *Allium cepa* baseiam-se em inúmeros parâmetros de análise que se resumem aos parâmetros macroscópicos como a formação de tumores e avaliação de crescimento de raízes, e microscópicos tais como: índice mitótico e anormalidades no ciclo celular como, por exemplo: cromossomos em anel, pontes cromossômicas, cromossomos pegajosos (*Stickiness*), retardos cromossômicos, que ocorrem principalmente nas fases de metáfase e anáfase e formação de micronúcleos, como indicadores de anormalidades no DNA (BAGATINI, 2007).

A Cebola mostrou-se sensível também nas análises de hidrocarbonetos do petróleo, representando um modelo eficiente para detectar tais combinações (LEME; MARIN-MORALES, 2007; MACHADO, 2013), utilizado em conjunto com outros sistemas-testes para avaliar a contaminação de águas superficiais por esgotos, lodos de esgotos domésticos e industriais, poluentes provenientes de plantações agrícolas e em extratos aquosos de solos (OLIVEIRA et al., 2012; MAZZEO, 2013; MAZZEO, 2015; MARTINS; SOUZA; SOUZA, 2016).

#### **2.4. Métodos de Análises Multicritérios**

Conforme Junior, Osiro e Carpinetti (2013), a modelagem de um problema que envolve decisão pode contar com a participação de um ou mais agentes decisórios e utilizar um ou mais critérios durante a avaliação. Cada agente decisório é responsável por definir valores de julgamento pessoal a alguns atributos, tais como o grau de desempenho das alternativas em relação a cada critério e o peso dos critérios de decisão.

Os métodos que envolvem uma decisão considerando mais de um critério são denominados métodos de decisão multicritério (MDMC) ou análises de decisões multicritérios (MCDA). Os MCDA, são métodos que foram desenvolvidos para alicerçar o decisor no seu processo de decisão único e pessoal (ISHIZAKA; NEMERY, 2013), ou seja, os MCDA providenciam passos e técnicas para encontrar a melhor solução. Nestes, algumas alternativas são avaliadas segundo um número de critérios definidos. Assim, cada critério induz a uma ordenação particular das alternativas, sendo necessária a adoção de mecanismos

capazes de construir uma ordenação geral de preferências, denominada ranking ou classificação (KAHRAMAN, 2008).

De acordo com Gomes, Gomes e Almeida (2006), estes métodos proveem um maior entendimento do contexto multidisciplinar do processo decisório, além de efetuar a análise da decisão e testar a sua precisão. Também recomendam um curso de ações ou selecionam a melhor ação a ser implementada, assim como validam a análise da decisão e organizam as informações para decisões futuras. Estas técnicas em conjunto, por conseguinte, são utilizadas para: (a) identificar a melhor opção, (b) ordenar as opções, (c) listar um número limitado de alternativas para uma subsequente avaliação detalhada, ou (d) simplesmente distinguir as possibilidades aceitáveis das inaceitáveis.

Na literatura é possível encontrar trabalhos recentes que envolvam métodos de decisão multicritérios na tomada de decisões ambientais (SORVARI et al., 2013, JIANG et al, 2015, TOPUZ; GESTEL, 2016), além de já serem aplicados em vários outros campos de pesquisa como ciência nanomaterial (TERVONEN et al., 2009), para diminuição do impacto das mudanças climáticas (QUIN et al, 2009), produção agrícola (OLIVEIRA et al, 2015), para remediação de locais contaminados por petróleo (QUIN et al., 2008) e aterros contaminados (SORVARI et al., 2013).

Existem diversos MCDA que podem ser utilizados em modelos simples ou combinados, tais como Análise por Envoltório de Dados (*Data Envelopment Analysis- DEA*) (CHARNES; COOPER; RHODES, 1978), Método Analítico Hierárquico (*Analytic Hierarchy Process- AHP*) (SAATY, 1980) e TOPSIS (*Technique for Order Preference by Similarity*) (HWANG E YOON, 1995).

A *Technique for Order Preference by Similarity* (TOPSIS) têm sido uma técnica bastante promissora (CRITTO et al., 2007; QIN et al., 2008; HUANG et al., 2011; SAMVEDI et al., 2012) e trata-se da avaliação do desempenho das alternativas através da similaridade com uma solução ideal. Dessa maneira, essa técnica se baseia na comparação de um conjunto de alternativas baseada no cálculo da distância de uma alternativa ideal positiva e uma alternativa ideal negativa, os melhores e piores valores, respectivamente (HUANG et al, 2011), ou seja, a melhor alternativa seria aquela que é mais próxima da solução ideal positiva e mais distante da solução ideal negativa (HUANG, 2008; ERTUĞRUL; KARAKAŞOĞLU, 2009).

O TOPSIS utiliza critérios de avaliação classificados em benefício e custo, ou seja, o benefício significa que um valor maior é melhor e o critério custo significa o inverso. De acordo com Ishizaka e Nemery (2013) o algoritmo para o cálculo da melhor alternativa

segundo essa técnica é baseado em cinco etapas. A primeira delas é a organização das alternativas sobre os diferentes critérios em uma matriz. Em seguida essa matriz é normalizada em uma segunda etapa. Os resultados da normalização são ponderados e então é calculado as distâncias da solução ideal positiva e da negativa. Finalmente, é realizado o cálculo da proximidade. Essas etapas são explicadas detalhadamente a seguir (HUANG, 2008; ISHIZAKA; NEMERY, 2013; DU et al., 2014;):

- a) As performances de  $m$  alternativas  $j$  com relação a critérios  $i$  são coletados em uma matriz de decisão  $X = (X_{ia})$ . Os critérios são normalizados com a finalidade de comparar unidades diferentes. Essa etapa transforma várias dimensões de atributos para atributos não-dimensionais, o que permite a comparação entre critérios de diferentes unidades. A normalização distributiva requer que os desempenhos sejam divididos pela raiz quadrada da soma do quadrado cada elemento em uma coluna.

$$r_{ia} = \frac{x_{ia}}{\sqrt{\sum_{a=1}^n x_{ia}^2}}$$

Para  $a=1, \dots, n$  e  $i=1, \dots, m$

A normalização ideal é calculada dividindo cada desempenho pelo mais alto valor em cada coluna, quando o critério deve ser maximizado. Se o critério precisa ser minimizado, cada desempenho é dividido pelo resultado mais baixo em cada coluna

- b) A decisão normalizada da matriz é construída através da multiplicação da pontuação  $a_{ij}$  normalizada pelo seu correspondente pesos  $w_i$ :

$$v_{ij} = w_i \cdot a_{ij}$$

Assim as pontuações resultado deste cálculo serão utilizadas para comparar cada ação a uma ação ideal (positiva) e anti-ideal (negativo) que é calculada coletando o melhor e o pior desempenho em cada critério da matriz de decisão normalizada. Confirma-se as soluções ideal positiva indicadas por  $A^+$  (benefícios) e as soluções ideal negativa indicadas por  $A^-$  (custos). Que são definidas a seguir:

$$A^+ = \{b_1^+, b_2^+, \dots, b_n^+\} = \{(\max_i b_{ij} | j \in K_b) (\min_i b_{ij} | j \in K_c)\}$$

$$A^- = \{b_1^-, b_2^-, \dots, b_n^-\} = \{(\max_i b_{ij} | j \in K_b) (\min_i b_{ij} | j \in K_c)\}$$

Onde  $K_b$  são os critérios benefício e  $K_c$  os critérios de custo.

c) Cálculo das medidas de separação para cada alternativa:

Obtêm-se as medidas de separação das alternativas existentes das soluções ideal positivo e negativo. As medidas de separação são calculadas com base na distância Euclidiana,  $S_i^+$  e  $S_i^-$ , respectivamente, que são derivadas a partir do seguinte modo:

$$S_i^+ = \sqrt{\sum_{j=1}^n (b_j^+ - b_{ij})^2}, i = 1, \dots, m; j = 1, \dots, n$$

$$S_i^- = \sqrt{\sum_{j=1}^n (b_j^- - b_{ij})^2}, i = 1, \dots, m; j = 1, \dots, n.$$

d) E por último calcula-se a proximidade relativa à solução ideal:

$$C_i = \frac{S_i^-}{S_i^- + S_i^+}, i = 1, \dots, m.$$

As posições das alternativas são de acordo com a proximidade em relação ao ideal, assim, as alternativas com maior  $C_i$  supostamente são mais importantes e devem ser consideradas prioritárias.

O Método Analítico Hierárquico (*Analytic Hierarchy Process*- AHP) é talvez o mais conhecido e amplamente utilizado método multicriterial (MARIMIN et. al, 2014; FERREIRA, 2015; SINGH; NACHTNEBEL, 2016). O método tem sido aplicado para resolver problemas em diferentes áreas de interesses das necessidades humanas, tais como nas áreas sociais, políticas, econômicas e de pesquisa operacional, além disso tem sido adotado em áreas de educação, engenharia, governo, indústria, manufatura, gestão e até esportes (VAIDYA E KUMAR, 2006). O AHP ainda não é tão aplicado na área ambiental, porém tem se mostrado

bastante ascendente na mesma (TOPUZ; GESTEL, 2016; LUTHRA, et al., 2016; ABDOLLAHZADEH et. al, 2016).

O AHP, foi desenvolvido na década de 1970 com a finalidade de resolver a alocação de recursos escassos e necessidades de planejamento para os militares (SAATY, 2000). Atualmente, sua principal proposta é auxiliar na tomada de decisão e selecionar a melhor alternativa a ser adotada partindo de um objetivo bem definido com a presença de múltiplos critérios distribuídos em níveis hierárquicos. A escolha pelo método se deu devido a sua eficácia ao selecionar uma opção dentre as alternativas possíveis, considerando aspectos qualitativos e quantitativos através de comparações paritárias entre os critérios propostos.

Saaty (2000) afirma que o AHP é um método sistemático de sintetizar prioridades, estruturalmente representadas por uma hierarquia. O problema é assim decomposto na forma hierárquica, para que as pessoas envolvidas possam visualizar o problema como um todo, de forma completa, facilitando a compreensão do mesmo e permitir uma visão mais ampla dos critérios, que serão comparados posteriormente (FERREIRA, 2015). Salgado et al. (2012) cita que na prática, uma aplicação pode requisitar mas níveis no AHP, como por exemplo, a inclusão de sub-critérios. A figura 1 apresenta uma estrutura hierárquica composta por três níveis: objetivos, critérios e alternativas.

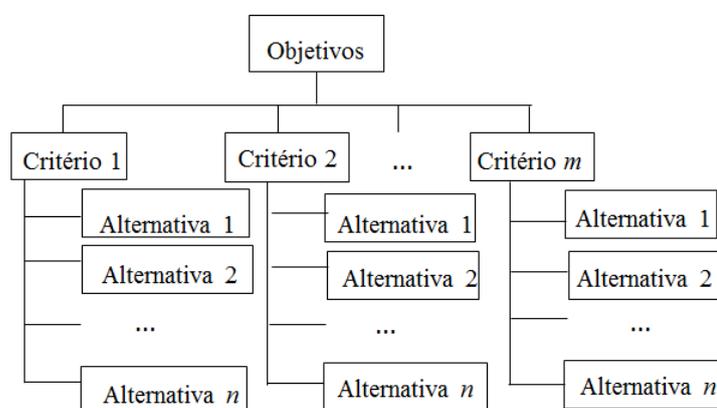


Figura 1- Estrutura Hierárquica

Fonte: SALGADO et al. (2012)

De acordo com Ho (2007), a técnica de utilização do AHP consiste em três operações principais para obter o ranking das alternativas: a definição do problema assim como, a indicação dos objetivos e resultados que se quer alcançar e a construção da hierarquia através da realização de comparações. E por último há a análise de prioridade e a verificação de

consistência. As etapas do processo estão escritas detalhadamente a seguir de acordo com Salgado et al. (2014).

Em uma planilha de Excel, os pesos para os critérios e prioridades para as alternativas são obtidos com os julgamentos previstos por especialistas. Estes julgamentos devem ser inseridos em matrizes de comparação em pares. Os julgamentos, inseridos nas matrizes de comparação são muitas vezes baseadas na Escala Fundamental de números absolutos de Saaty (2010) (Tabela 1). Ou seja, numa escala linear de 1 a 9, o valor 1, a partir dessa escala, é usado quando foi julgado que ambos os objetos têm a mesma prioridade. Uma das implicações da utilização da Escala fundamental é que a matriz de comparação vai ser uma matriz recíproca positiva.

Tabela 1- Escala Fundamental de número absolutos utilizada no *Analytic Hierarchy Process*- AHP.

Valor	Definição	Explicação
1	Igual importância	Os dois critérios contribuem de forma idêntica para o objetivo
3	Pouco mais importante	A análise e a experiência mostram que um critério é um pouco mais importante que o outro
5	Muito mais importante	A análise e a experiência mostram que um critério é claramente mais importante que outro
7	Bastante mais importante	A análise e a experiência mostram que um dos critérios é predominante para o objetivo
9	Extremamente mais importante	Sem qualquer dúvida um dos critérios é absolutamente predominante para o objetivo
2,4,6,8 Valores recíprocos dos anteriores	Valores intermediários	Também podem ser utilizados

Fonte: Adaptado de Saaty (1980)

Sabendo que  $A_1, A_2, \dots, A_n$  seja o " $n$ " o número comparável das alternativas ou critérios com seus pesos  $W_1, W_2, \dots, W_n$ . A matriz de proporções de todos os pesos é dada abaixo.

$$W = \begin{bmatrix} w_1 \\ w_2 \\ \vdots \\ w_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{w_1}{w_1} & \frac{w_1}{w_2} & \dots & \frac{w_1}{w_n} \\ \frac{w_2}{w_1} & \frac{w_2}{w_2} & \dots & \frac{w_2}{w_n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{w_n}{w_1} & \frac{w_n}{w_2} & \dots & \frac{w_n}{w_n} \end{bmatrix}$$

A matriz de comparação em par  $A = [a_{ij}]$  representa as intensidades de preferência entre pares individuais de alternativas ( $A_i$  vs  $A_j$ , para todo  $i, j = 1, 2, \dots, n$ ).

Com  $n$  alternativas  $\{A_1, A_2, \dots, A_n\}$ , um decisor compara pares de alternativas para todos os pares possíveis e uma matriz de comparação  $A$  obtida, em que o elemento  $a_{ij}$  mostra preferência de  $A_i$  obtida por comparação com  $A_j$ .

$$A = [a_{ij}] = \begin{bmatrix} 1 & a_{12} & \dots & a_{1j} & \dots & a_{1n} \\ \frac{1}{a_{12}} & 1 & \dots & a_{2j} & \dots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & & \vdots & & \vdots \\ \frac{1}{a_{1j}} & \frac{1}{a_{2j}} & \dots & a_{ij} & \dots & a_{in} \\ \vdots & \vdots & & \vdots & & \vdots \\ \frac{1}{a_{1n}} & \frac{1}{a_{2n}} & \dots & \frac{1}{a_{in}} & \dots & 1 \end{bmatrix}$$

No entanto, no método AHP, geralmente, a verificação das comparações de matrizes de consistência, toma como base o índice de consistência,  $\mu$ , de acordo com a equação abaixo:

$$\mu = (\lambda - n)/(n - 1)$$

Assim, para uma matriz de comparações 100 % consistentes, temos  $m = 0$ , para  $\lambda = n$ . Na aplicação do AHP presente nesta tese, foi utilizado o software AHP Excel.

### 3 JUSTIFICATIVA

Os bioensaios vegetais permitem que uma série de parâmetros relacionados a germinação e crescimento inicial da planta-alvo sejam avaliados com o intuito de caracterizar os efeitos tóxicos dos compostos testados. No entanto, a visualização destes efeitos sobre a germinação e/ou crescimento são manifestações secundárias de modificações ocorridas em nível molecular e celular. Portanto, estudos que visem caracterizar o comportamento fisiológico e genético das espécies utilizadas como modelo são essenciais para determinar combinações genótípicas adequadas para bioensaios vegetais.

Neste contexto, é importante caracterizar e selecionar dentre os cultivares de Alface e de Cebola, aqueles que possuem melhor resposta quanto aos aspectos germinativos e de crescimento inicial, bem como quantificar o índice mitótico, o conteúdo de DNA desses cultivares para assim, recomendá-los como organismos-teste para bioensaios vegetais.

Para a tomada de decisão dos melhores cultivares do ranqueamento, recorre-se aos métodos estatísticos como Métodos de Análises Multicritérios com o uso da ferramenta TOPSIS (*Technique for Order Preference by Similarity*), AHP (*Analytic Hierarchy Process*) e análise de variância (ANOVA) ( $\alpha=5\%$ ) com comparação de médias por meio de testes específicos, como Scott-Knott, com o auxílio do software Sisvar (5.6).

Não foram encontrados na literatura registros da padronização das cultivares dessas duas espécies para estudos de alelopatia/fitotoxicidade, sendo que alguns trabalhos nem citam a cultivar utilizada e, dentre aqueles que citam, há divergências no uso das diferentes cultivares. Sendo assim, faz-se necessário um levantamento bibliográfico das principais cultivares de *L. sativa* e *A. cepa* utilizadas em bioensaios vegetais, bem como o ranqueamento destas quanto aos parâmetros fisiológicos e citogenéticos.

O presente trabalho pretende ainda avançar na validação do comportamento germinativo e do crescimento inicial dos genótipos de *Lactuca sativa* L. e *Allium cepa* L., visando à utilização das melhores cultivares das espécies em questão, adequadas às metodologias de bioensaios vegetais aplicados em pesquisas de alelopatia, genotoxicidade e fitotoxicidade de substâncias químicas isoladas ou em misturas, efluentes, resíduos agrícolas, industriais ou domésticos, sedimentos, medicamentos e produtos químicos em geral.

## 4 OBJETIVOS

A sessão a seguir trata dos objetivos gerais e específicos pretendidos neste trabalho.

### 4.1 Objetivo geral

Caracterizar, ranquear e validar cultivares de Alface (*Lactuca sativa* L.) e Cebola (*Allium cepa* L.) quanto aos parâmetros germinativos, de desenvolvimento inicial e parâmetros citogenéticos.

### 4.2 Objetivos específicos

Avaliar o percentual de germinação e o índice de velocidade de germinação de diferentes cultivares das espécies em estudo.

Avaliar o crescimento inicial das plantas-alvo por meio da análise de crescimento de raiz, comprimento da parte aérea, número de plântulas normais, biomassa fresca e seca.

Avaliar os parâmetros citogenéticos por meio da quantificação do índice mitótico, anormalidades cromossômicas, conteúdo de DNA das diferentes cultivares de Alface e Cebola.

Validar as melhores cultivares das espécies selecionadas após o ranqueamento utilizando uma substância de reconhecido efeito alelopático / fitotóxico.

## REFERÊNCIAS

ACOSTA, A.; GAVIOLA, J.C.; GALMARINI, C. **Manual de production de semillas hortícolas: cebolla**. José Crnko, Mendoza. 1993.

ALVIM, L. B. et al. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L. **Ambiente e Água**, v. 6, n. 2, p. 255-265, 2011.

ANDRADE, D. A. V. et al. Aspectos morfológicos de frutos e sementes e caracterização citogenética de *Crotalaria lanceolata* E. Mey. (Papilionoideae - Fabaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v. 22, n.3, p. 621-625, 2008.

ABDOLLAHZADEH, G. et al. Selecting strategies for rice stem borer management using the *Analytic Hierarchy Process* (AHP). **Crop Protection**, v. 84, p. 27-36, 2016.

BAGATINI, M.D.; SILVA, A.C.F.; TEDESCO, S.B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 17, n.3, p. 444-447, 2007.

BETTINARDI, I.W. **Desenvolvimento do kit monitox (biomassa liofilizada de *Vibrio fischeri*) para o automonitoramento de toxicidade de efluentes industriais**. 2009. 130f. Tese de mestrado do programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos da Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2009.

BIANCHI, J.; MANTOVANI, M.S.; MARIN-MORALES, M.A. Analysis of the genotoxic potencial of low concentrations of Malathion on the *Allium cepa* cells and rat hepatoma tissue culture. **Journal of environmental Science**, v.36, p. 102-111, 2015.

BOITEUX, L. S; MELO, P. C. T. **Sistema de Produção de Cebola (*Allium cepa* L)**. EMBRAPA, 2004. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/cebola/index.htm>>. Acesso em: 23 fev. 2016.

BRAMMER, S. P.; ZANOTTO, M.; CAVERZAN, A. **Citogenética vegetal: da era clássica à molecular**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 9p. Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do85.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do85.htm)>. Acesso em: 11 fev. 2016.

BRASIL. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Levantamento do Sistema de Produção Agrícola**. Rio de Janeiro v.29 n.8 p.1-79 agosto.2016.

BRASIL. Subchefia para assuntos jurídicos. **Lei 9.456 de Proteção de Cultivares**. Brasília, DF, 1997. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/L9456.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9456.htm)>. Acesso em: 14 mar. 2016.

BUZAR, A. G. R; OLIVEIRA, V. R; BOITEUX, L. S. Estimativa da diversidade genética de germoplasma de cebola via descritores morfológicos, agronômicos e bioquímicos. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 527-532, 2007.

CÂNDIDO, A.C.S. et al. Potencial alelopático de lixiviados das folhas de plantas invasoras pelo método sanduiche. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n.3, p. 268-272, 2010.

CARVALHO, W.P. et al. Allelopathy of green manures extracts on germination and initial growth of the lettuce. **Bioscience Journal**, v.30, p. 1-11, 2014.

CASTELLANE, P. D.; NICOLOSI, W. M.; HASEGAWA, M. **Produção de sementes de hortaliças**. Jaboticabal, FCAV/Funep, 1990. 261p.

CAVALCANTI, P.P. et al. Contamination from the affluent of Furnas reservoir by trace metals. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 74, no. 4, p. 877-885, 2014.

CHARNES, A.; COOPER, W. W.; RHODES, E. Measuring the efficiency of decision making units. **European Journal of Operational Research**, v. 2, p. 429-444, 1978.

COSTA, C. P.; SALA, F.C. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012.

CRITTO, A. et al. Development of a site-specific ecological risk assessment for contaminated sites: Part I. A multicriteria based system for the selection of ecotoxicological tests and ecological observations. **Science Total Environmental**, v.379, n.1, p. 16-33, 2007.

CUCHIARA, C.C.; BORGES, C.S.; BOBROWKI, V.L.; Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.6, n.1, p.33-38, João Pessoa, mar. 2012.

DIAS, N. S. et al. Estudo dos efeitos mutagênicos e citotóxicos do confrei (*Symphytum officinale*) no ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.10, n°3, p. 20-29, 2013.

DI SALVATORE, M.; CARAFA, A.M.; CARRATU, G. Assessment of heavy metals phytotoxicity using seed germination and root elongation tests: a comparison of two growth substrates. **Chemosphere**, v. 73, p. 1461- 1464, 2008.

DOLEZEL, J. Applications of flow cytometry for the study of plant genomes. **Journal of Applied Genetics**, v. 38, n. 3, p. 285- 302, 1997.

DU, Y. et al. DENG, Y. A new method of identifying influential nodes in complex networks based on topsis, **Physica A**, v. 399, p.57–69, 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). 2014. **Hortaliças na Web**. Disponibiliza informações sobre Alface. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/hortalicasnaweb/alface.html>>. Acesso em: 19 fev. 2016.

ERTUĞRUL, I; KARAKAŞOĞLU, N. Performance evaluation of Turkish cement firms with fuzzy analytic hierarchy process and TOPSIS methods. **Expert Systems with Applications**, v. 36, n.1, pp. 702-715, 2009.

FARIA, M. V. et al. Desempenho agronômico e heterose de genótipos de cebola. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 220-225, 2012.

FERREIRA, A. G.; AQUILA M. E. A.; Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 175-204, 2000.

FERREIRA, M.M.; MARTINS, J.M.; SALGADO, E.G. Aplicação do método *Analytic Hierarchy Process* para a adoção de computação em nuvem em empresas juniores. **Revista Eletrônica de Sistemas de Informação e Gestão Tecnológica**, v.5, n.1, p. 51-70, 2015.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**. Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2000. 402p.

GARCIA, A. **Versão preliminar de um Programa Estadual de Produção e Comercialização de Bulbos e Sementes de Cebola**. EMBRAPA/IPAGRO/MARA/EMATER. 68p, 1990. (Publicação avulsa).

GOMES, C.F.S; GOMES, L.F.A.M; ALMEIDA, A. 2006. **Tomada de Decisão Gerencial: O Enfoque Multicritério**. 2 ed., Editora Atlas, São Paulo.

GOMES, L. F. M.; MOREIRA, A. M. M. (1998). **“Da informação à tomada de decisão: agregando valor através dos métodos multicritério”**. RECITEC, Recife, v. 2, n. 2, pp. 117 - 139. Disponível em: <[www.fundaj.gov.br/rtec/res/res-001.html](http://www.fundaj.gov.br/rtec/res/res-001.html)>. Acesso em: 20 de fev. 2016.

GOMES, J.V. et al. Induction of cytotoxic and genotoxic affects of Guandu River Waters in the *Allium cepa* system. **Ambiente & Água- Na Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v.10, n.1, p. 48-58, 2015.

GRIPPA, G.A. et al. Estudo geneotóxico do surfactante Tween 80 em *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 23, n. 1-2, p. 11-16, 2010.

GROVER, I.S.; SATWINDERJEET, K. Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluente detected by the Allium root anaphase aberration and micronucleus assays. **Mutation Research**, v. 426, p. 183-188, 1999.

GUIMARÃES, M. A.; MANDELLI, M. S.; SILVA, D. J. H. Seleção de genótipos de *Lactuca sativa* L. para a produção com adubação orgânica. **Revista Ceres**, v.58, n. 2, p.202-207, 2011.

HENZ, G. P.; SUINAGA, F. **Tipos de Alface Cultivados no Brasil**. Brasília: EMBRAPA, 2009. 7p. (Comunicado Técnico, n. 75).

Ho, W. Integrated analytic hierarchy process and its applications – A literature review. **European Journal of Operational Research**, v.186, p. 211–228, 2008.

HUANG, J. Combining entropy weight and TOPSIS method for information system selection. **In Proceedings of the IEEE Conference on Cybernetics and Intelligent Systems, CIS 2008**, pp. 1281-1284, 2008.

HUANG, I.B.; KEISLER, J.; LINKOV, I. Multicriteria decision analysis in environmental sciences: ten years of applications and trends. **Sci. Total Environ.** v. 409, n.19, p. 3578–3594, 2011.

HWANG, C. L.; YOON, K. P. **Multiple attributes decision making methods and applications**. Berlin: Springer-Verlag, 1995.

ISHISAKA, A.; NEMERY, P. **Multi- Criteria Decision Analysis- Method and Software**. United Kingdom, 2013. 300p.

JIANG, Y-X. et al. A new tool for assessing sediment quality based on the Weight of Evidence approach and grey TOPSIS. **Science of the Total Environment**. V. 537, p. 369–376, 2015.

JUCHEM, F. et al. Potencial alelopático de diferentes extratos de frutos de adubos verdes sobre a germinação de sementes de couve. *In.: VIII Congresso Brasileiro de Agroecologia Anais...* – Porto Alegre/RS, 2013.

JUNIOR, F.R.L.; OSIRO, L.; CARPINETTI, L.C. Multicriteria decision methods for supplier selection: a literature review on the state of art. **Gestão & Produção**, São Carlos, v. 20, n. 4, p. 781-801, 2013.

KAHRAMAN, C; **Fuzzy Multicriteria Decision Making- Theory and Applications with recente developments**. Turkey: Springer Science, 2008.

KUMARI, S. et al. DNA damage: detection strategies. **Experimental and Clinical Sciences**, v. 7, p.44-62, 2008.

KURÁS, M. et al. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium* Test induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **Chemosphere**, v.107, p.211-221, 2006.

LEÃO, F. F. **Citogenética e potencial forrageiro de combinações genômicas de capim elefante e milheto**. 2009. 110p. Tese de Doutorado do Programa de Pós-Graduação de Genética e Melhoramento de Plantas- Universidade federal de Lavras, Lavras, 2009.

LEBEDA, A. et al. Wild *Lactuca* germplasm for lettuce breeding: current status, gaps and challenges. **Euphytica**, v.170, n.2, p. 15-34, 2009.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Avaliação da qualidade de águas impactadas por petróleo por meio de sistema-teste biológico (*Allium cepa*) - um estudo de caso. **Anais... 40 PDPETRO**, Campinas, SP, 2007.

LEÓN, J.C. et al. Assessment of antimicrobial activity of Na -lauroyl arginate ethylester (LAE®) against *Yersinia enterocolitica* and *Lactobacillus plantarum* by flow cytometry and transmission electron microscopy. **Food Control**, v. 63 p. 1-10, 2016.

LIMA, A.A. et al. Competição das cultivares de alface Vera e Verônica em dois espaçamentos. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, p.314-316, 2004.

LIMA, M.E. **Avaliação do desempenho da cultura de alface (*Lactuca sativa*) cultivada em sistema orgânico de produção, sob diferentes lâminas de irrigação e coberturas do solo**. 2007. 92 f. Dissertação do Mestrado em fitotecnia do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica- RJ, 2007.

LONGO, A. E. **Micropropagação de alho e ginogênese in vitro de cebola**. 2009. 130 f. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia), Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2009.

LORENZI E MATOS. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002, 512 p.

LUTHRA, S., et al. Using AHP to evaluate barriers in adopting sustainable consumption and production initiatives in a supply chain. **International Journal of Production Economics**, 2016.

MA, Z. et al. Toxic and non-toxic strains of *Microcystis aeruginosa* induce temperature dependent allelopathy toward growth and photosynthesis of *Chlorella vulgaris*. **Harmful Algae**, v. 48, p. 21-29, 2015.

MACHADO, F.F. et al. Análise de frações de fibra alimentar em rúcula e alface em diferentes estágios de maturação, sob sistema hidropônico. **Alimento & Nutrição**, Araraquara, v. 22, n. 3, p. 401-406, jul./set, 2011.

MACHADO, A.T. **Avaliação do potencial mutagênico do efluente do Terminal Petroquímico Almirante Soares Duda (Osório/RS) através do sistema teste de *Allium cepa***. 2013. 45 f. Tese de monografia para bacharel em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2013.

MAGALHÃES, A.G. **Caracterização de genótipos de Alface (*Lactuca sativa* L.) em cultivo hidropônico sob diferentes valores de condutividade elétrica da solução nutritiva**. 2006. 96p. Dissertação de Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco -PE, 2006.

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 3, n. 12, p. 355-381, 2008.

MARIMIN, M.A.D.; MUHAMMAD, P.I.F.; WIGUNA, B. Value chain analysis for green productivity improvement in the natural rubber supply chain: a case study. **Journal of Cleaner production**, v.85, p.201-211, 2014.

MARTIN-PUZON, J.J.R.; RIVERA, W. Free-radical scavenging activity and bioactive secondary metabolites from various extracts of *Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC. (Molluginaceae) roots, stems and leaves. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v.5, n.9, p.711-715, 2015.

MARTINS, M.N.C.; SOUZA, V.V.; SOUZA, T.S. Cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of sewage sludge on *Allium cepa*. **Chemosphere**, v. 148, p. 481-486, 2016.

MAZZEO, D.E.C. **Avaliação da viabilidade de lodo de esgoto como recondicionante de solos agrícolas, após processo de atenuação natural, por meio de diferentes bioensaios**. 2013. 225p. Tese de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Celular da Universidade Estadual Paulista Júnior de Mesquita Filho, Rio Claro, 2013.

MAZZEO, D.E.C. et al. Monitoring the natural attenuation of sewage sludge toxicity using the *Allium cepa* test. **Ecological Indicators**. v. 56, p.60-69, 2015.

MORAES, R.M. et al. Effects of copper on physiological and cytological aspects in *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 13, n. 2, p. 115-121, 2015.

MOUSAVI, S. H. et al. Cytological study of chromosome and genome composition of Iranian Lettuce (*Lactuca sativa* L.) accessions. **European Journal of Experimental Biology**, v. 1, n. 3, p. 303-311, 2013.

NETO, M.F. **Estudos citogenéticos em espécies cariáceas com uso potencial no melhoramento genético do Mamoeiro**. 2010. 75p. Dissertação de mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas- Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Goytacazes-RJ, 2010.

NEVES, C.S. et al. The Phytoecdysteroid  $\beta$ -ecdysone is genotoxic in Rodent Bone Marrow Micronuclei and *Allium cepa* L. Assays. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 177, p. 81-84, 2016.

NUNES, J. V. D.; MELO, D.; PEREIRA, L. H.; LOURES, N. T. P.; SOSA, D. E. Atividade alelopática de extratos de plantas de cobertura sobre soja, pepino e alface. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, n. 1, p. 122 – 130, 2014.

OLIVEIRA, J.P.W. et al. Genotoxicidade e Análises Físico- Químicas das águas do Rio dos Sinos (RS) usando *Allium cepa* e *Eichhornia crassipes* como bioindicadores. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v.1, n.1, p. 15-22, 2012.

OLIVEIRA, L. G. et al. Atividade alelopática de extrato acetato-etílico de folhas de *Solanum cernuum* Vell. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 44, n. 3, p. 538-543, 2013.

OLIVEIRA A.K.M. et al. Análise fitoquímica e potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 41-47, 2014.

OLIVEIRA, E. et al. Aplicação de Métodos Multicritério ordinais em dados de produção agrícola, para avaliação da sustentabilidade. **Interciência**. v. 40, n.7, 2015.

PAULA, C.S. et al. Estudo do potencial fitotóxico de extratos de *Bauhinia unguolata* L. sobre divisão celular e atividade enzimática em plântulas de alface. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.4, p.577-584, 2015.

PAULINO, C.A.; MAZANTI, M.T.; GAETA, R. Exposição aguda ao inseticida carbofuran avaliada em bioensaio com moscas *Drosophyla Melanogaster*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 209-212, 1992.

PAKNIA, R., KARIMZADEH, G. Karyotypic Study in Some Iranian Local Onion Populations. **Journal of Plant Physiology and Breeding**, v.1; p. 49-56. 2010.

PINHEIRO, M. V. M. et al. Propagação *in vitro* de genótipos de Alface via embriogênese de Alface. **Ciência Rural**, v.42, n.11, nov, 2012.

PRICHOA F.C. et al. Comparative allelopathic effects of *Cryptocarya moschata* and *Ocotea odorifera* aqueous extracts on *Lactuca sativa*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n.2, p. 197-202, 2013.

QIN, X.S.; HUANG, G.H.; SUN, W.; CHAKMA, A.; Optimization of remediation operations at petroleum-contaminated sites through a simulation-based stochastic-MCDA approach. **Energy Sources Part A**, v. 30, p.14–15, 1300–1326, 2008.

QUIN, X.S. et al. A MCDM- based expert system for climat- change impact assessment and adaptation planning-A case study for the Georgia Basin Canada. **Expert Systems with Applications**, v. 34, p. 2164–2179, 2009.

RAMOS, S.J. et al. Selenato e selenito na produção, nutrição mineral e biofortificação com selênio em cultivares de Alface. **Revista Brasileira Ciência e Solo**, v. 35, p.1347-1355, 2013.

RIBEIRO, L. O. et al. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em bioensaio com alface. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 2, p. 220-225, 2012.

RICE, E.L.; **Alelopathy**. 2. Ed, New York: Academic Press, 1984.

RIZZO, L. Biossays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. **Water research**, v. 45, p. 4311-4340, 2011.

ROSA, J. M. et al. Efeito alelopático de *Salix* spp. sobre a germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Raphanus sativus* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.12, n.3, p.255-263, 2013.

ROSO, A.C.; MEROTTO JR., A. & DELATORRE, C.A. Bioensaio para diagnóstico da resistência aos herbicidas imidazolinonas em arroz. **Planta Daninha**, v. 28, n. 2, p. 411-419, 2010.

SAATY, T. L. **The Analytic Network Process**. New York: McGraw Hill, 1980.

SAATY, T. L., **Decision making for leaders**. Pittsburg, WS. Publications, 2000.

SALGADO, E. G.; SALOMON, V.A.P.; MELLO, C.H.P. (Analytic hierarchy prioritisation of new product development activities for electronics manufacturing. **International Journal of Production Research**, v. 50, n.17, p.4860–4866, 2012.

SOUZA, C.A.J. et al. Priorização das práticas de TQM na indústria farmacêutica. **Revista Espacios**. v. 35, N. 4, p.7-11, 2014.

SANTOS, D. N. dos. **Caracterização genética de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) por meio de citometria de fluxo e marcadores moleculares**. 2012. 84 p. Tese de Doutorado em Fitotecnia -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

SAMVEDI, A.; JAIN, V.; CHAN, F.T.S.; Quantifying risks in a supply chain through integration of fuzzy AHP and fuzzy TOPSIS. **Int. J. Prod. Res.** V. 51, n.8, p. 2433–2442, 2012.

SILVA, V.B. **Caracterização morfoagronômica e Citogenética de raças locais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L)**. 2011. 71p. Mestrado do Programa de Pós- Graduação em Genética e Melhoramento- Universidade do Piauí, Teresina, 2011.

SILVEIRA, B. D. et al. *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze allelopathic activity on germination and initial growth of *Lactuca sativa* L. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 1, p. 79-85, 2014.

SINGH, R.P.; NACHTNEBEL, H.P. Analytical hierarchy process (AHP) application for reinforcement of hydropower strategy in Nepal. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 55, p. 43–58, 2016.

SIMÕES, M.S. et al. Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas**, v. 26, n.3, p. 29-36, 2013.

SORVARI, J.; SCHULTZ, E.; HAIMI, J.; Assessment of ecological risks at former landfill site using TRIAD procedure and multicriteria analysis. **Risk Analysis**, v.33, n.2, p. 203–219, 2013.

SOUZA, C. S. M. et al. Alelopatia do extrato aquoso de folhas de aroeira na germinação de sementes de alface. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 2, p. 96-100, 2007.

TERVONEN, T. et al. Risk- based classification system of nanomaterials. **Journal of Nanoparts Research**, v.11, n.4, p.757–766, 2009.

TANG, X. et al. Cadimium uptake in above-ground parts of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 125, p. 102-106, 2016.

TOPUZ, E.; GESTEL, C.A.M. Na approach for environmental risk assessment of engineered nanomaterials using Analytical Hierarchy Process (AHP) and fuzzy inference rules. **Environment International**, v. 92- 93, p. 334–347, 2016.

TUR, C. M.; BORELLA J.; PASTORINI L. H. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. **Biotemas**, v. 23, n.2, p. 13-22, 2010.

VAIDYA, O.S., KUMAR, S. Analytic hierarchy process: An overview of applications. **European Journal of Operational Research**, v.169, n.1, p.1–29, 2006.

VIEIRA, L.M. et al. *In vitro* plant regeneration of *Passiflora setacea* D.C. (Passifloraceae): the influence of explant type, growth regulators, and incubation conditions. **In Vitro Cellular & Development Biology- Plant**, v. 50, p. 738-745, 2014.

VICCINI, L.F. et al. Citral and linalool content has been correlated to DNA content Lippia alba (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae). **Industrial Crops and Products**, v.59, p.14-19, 2014.

XAVIER, D. F. et al. **Caracterização morfológica e agronômica de algumas cultivares de capim-elefante**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 24 p. 1995. (EMBRAPA-CNPGL. Documentos 60).

WAMSER, G.H. et al. Caracterização de genótipos de cebola com a utilização de marcadores moleculares RAPD. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n.3, p. 573-580, 2014.

ZHAO, Y.; YUAN, S.; ZHANG, T. The stationary distribution and ergodicity of a stochastic phytoplankton allelopathy model under regime switching. **Commun Nonlinear Sci Numer Simulat**, v. 37, p. 131–142, 2016.

## SEGUNDA PARTE

**ARTIGO I:** Selection of genotypes for plant bioassays using *Lactuca sativa* L. and *Allium cepa* L.

**AUTORES:** Simone Cristina dos Santos, Ursuléia Aparecida de Oliveira, Mateus Donizetti Oliveira Assis, Luciene de Oliveira Ribeiro Trindade, Eduardo Gomes Salgado, José Marcello Sallabert Campos, Sandro Barbosa.

**Artigo submetido a Pakistan Journal of Botany**

## SELECTION OF GENOTYPES FOR PLANT BIOASSAYS USING *Lactuca sativa* L. AND *Allium cepa* L.

SIMONE CRISTINA DOS SANTOS<sup>1</sup>, URSULÉIA APARECIDA DE OLIVEIRA<sup>1</sup>, LUCIENE DE OLIVEIRA RIBEIRO TRINDADE<sup>1</sup>, MATEUS DONIZETTI OLIVEIRA ASSIS<sup>1</sup>, JOSÉ MARCELLO SALLABERT CAMPOS<sup>2</sup>, EDUARDO GOMES SALGADO<sup>3</sup>, SANDRO BARBOSA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Alfenas; Departamento de Ciências da Natureza, Alfenas-MG

<sup>2</sup> Universidade Federal de Juiz de Fora. Departamento de Biologia, Juiz de Fora-MG

<sup>3</sup> Universidade Federal de Alfenas. Departamento de Ciências Exatas, Alfenas-MG

\*Corresponding author email: [sandro.barbosa@unifal-mg.edu.br](mailto:sandro.barbosa@unifal-mg.edu.br) (35) 3299-1419

### Abstract

Biological assays can be used to identify and/or prove the interference of various compounds, natural or synthetic, in the physiology and karyology of a living organism. Plant bioassays are considered an efficient, quick and inexpensive tool to monitor environmental interference caused by anthropogenic actions, as well as to test the biological action of chemical substances. *Lactuca sativa* L. (Lettuce) and *Allium cepa* L. (Onion) are among the most used test organisms in plant bioassays; however, little is known about the behavior of different genotypes of these species within the bioassay dynamics. In this context, it is necessary to characterize and rank cultivars of these species that better respond to germination tests, initial growth and cytogenetic parameters for greater efficiency and reliability of the results from plant bioassays. 30 seeds were seeded into Petri dishes, moistened with 3.0 mL distilled water, brought to a germination chamber at 24 °C, with a 12-hour photoperiod. Germination percentage, germination speed index, number of normal seedlings, root length, shoot length, fresh and dry biomass, mitotic index, frequency of chromosomal abnormalities and DNA content were evaluated. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA) at 5% and to multicriteria analysis with the aid of TOPSIS. The most suitable cultivars for phytotoxicity and cytotoxicity studies, in descending order, are Babá de Verão, Grand Rapids and Grandes Lagos (Lettuce) and Baia Periforme, Crioula and Vale Ouro (Onion). These genotypes were highly sensitive to characterize the toxicity of a chemical substance.

## Introduction

Biological assays can be used to identify and/or prove the interference of various chemical substances and thus characterize and quantify their positive or negative effects (Rizzo, 2011). Higher plants are excellent bioindicators of toxic activities, once they allow the evaluation of physiological, cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of environments contaminated by chemical substances. Among the species most suitable for plant bioassays are *Lactuca sativa* L. and *Allium cepa* L., due to peculiarities such as rapid and uniform germination, linear growth in a wide range of pH variation, low sensitivity to osmotic potentials, ease of handling, material availability during the year, large number of dividing cells in the meristematic zone, small number of chromosomes, visible and large, besides exhibiting rapid responses to treatments and a high degree of sensitivity to toxicants (Cuchiara, 2012; Simões *et al.*, 2013; Carvalho, 2014).

Bioassays using these plants as a test organism allow to evaluate phytotoxicity through the analysis of germination and initial growth (Ribeiro *et al.*, 2012; Carvalho *et al.*, 2014; Moraes *et al.*, 2015), as well as the cytotoxicity estimated by the increase or reduction in mitotic index and frequency of chromosomal abnormalities (Grippa *et al.*, 2010; Dias *et al.*, 2013; Neves *et al.*, 2016). These analyses may indicate aneugenic and/or clastogenic effects of chemical substances derived from the plant secondary metabolism (Martin-Puzon & Rivera, 2015; Bianchi, Montovani & Marin-Morales, 2015), as well as contaminated water and industrial waste (Gomes *et al.*, 2015; Aguiar *et al.*, 2016).

The species in question have populations with well-defined characteristics denominated cultivars, which are grouped according to their phenotypic and genotypic descriptors. According to Xavier *et al.* (1995), cultivar is the designation corresponding to a genotype/phenotype, selected and properly registered, based on the characteristics that make it interesting for cultivation. Both the manifestation of production potential and the use of a cultivar as a target plant in bioassays depend on the interaction of its genome with the environment. Therefore, according to Lima (2004), the selection of the appropriate genetic material is a decisive tool for the success of the cultivation system and bioassays. Thus, it is of great relevance to identify and characterize, among Lettuce and Onion cultivars, those that have the best response regarding the endpoints used in bioassays with plants.

No records of the standardization of cultivars of these species were found in the literature for allelopathy/toxicity studies; some studies do not record the cultivar used and, among those who mention them, there are differences in the use of different cultivars. Knowledge about the test organism (target species) and its

behavior regarding the various genetic and physiological aspects is essential and, therefore, it is necessary to use methodologies that allow the characterization of genetically distinct materials within the target species.

Therefore, the objective of this study was to characterize, standardize, classify and validate, with a toxic substance, cultivars of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) and Onion (*Allium cepa* L.) regarding germination, initial growth and cytogenetic parameters.

### Material and methods

Fourteen *Lactuca sativa* L. cultivars and 13 *Allium cepa* L. cultivars, obtained commercially, were selected; they were investigated in the literature for their use in plant bioassays (Table 1 and Table 2).

Table 1

Table 2

For each cultivar, 30 seeds were seeded in 70-mm Petri dishes, containing two disks of no. 2 Whitmann filter paper, moistened with 3 mL distilled water. The dishes were kept in a B.O.D. germination chamber (Solab Científica®), at 24 °C, with a 12-hour photoperiod. The percentage of germination (%G) and germination speed index (GSI) were obtained by counting seeds with radicle protrusion. Thus, %G was evaluated with 24 and 48 hours for Lettuce and on the 3rd and 12th days for Onion, after the experiment was set. The GSI was analyzed every 4 hours up to 48 hours for Lettuce and, for Onion, every 8 hours up to 120 hours.

On the seventh day, the number of normal seedlings, that is, those with root and shoot, were determined, besides fresh biomass, using an analytical balance (Marte, AY 220). Root length (RL) and shoot length (SL) were measured from 10 visibly larger seedlings, with the aid of a digital caliper (Digimess, LR44). The seedlings were dried in a forced air oven (Nova Ética 400 ND) at 65 °C for approximately 72 hours, until a constant mass was obtained and they were weighed for the obtention of the dry biomass.

For cytogenetic analyses, blades were prepared by the crushing method, adapted from Moraes *et al.* (2015) and Alvim *et al.* (2011). Root tips were collected with 24 hours (Lettuce) and 72 hours (Onion), respectively, fixed in Carnoy 3:1 and stored at -18 °C. A total of 6000 cells were analyzed for each cultivar, and they were quantified at the different stages of the cell cycle to calculate mitotic index and chromosomal abnormalities (CA): micronucleus (MN), anaphase bridge (AB), telophase bridge (TB), C-metaphase (CM), stickiness (S) and lost chromosome (LC).

For quantification of the DNA content, totally expanded Lettuce young leaves and Onion roots were used. To estimate 2C DNA values, 20-30 mg of plant material, together with a reference standard (*Pisum sativum* cv. Ctirad for Lettuce and *Vicia faba* L. cv Inovec for Onion), were ground in the presence of LB01 buffer (1mL) to release the nuclei, according to the methodology cited by Dolezel *et al.* (1989). The crushed tissue was filtered and the removed nuclear suspension was stained with 25 µL of a solution consisting of propidium iodide and RNase. About 10,000 nuclei were analyzed for each sample using a FACSalibur cytometer (Becton Dickson). Each histogram generated in the cytometry was analyzed using the software WinMDI 2.8 Cell Quest. The values of 2C DNA for each sample were calculated by the relative fluorescence intensity of the sample relative to the internal reference standard.

Ranking data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the means were compared by the Scott-Knott test at 5% significance, using the software Sisvar (Ferreira, 2013).

A ranking of cultivars was also determined using the multicriteria analysis TOPSIS (Technique for Order Preference by Similarity), presented by Huang *et al.* (2011). The calculation involved in the analysis is described below:

Constructing a normalized matrix and the weighted normalized decision matrix (Equation 1). Thus, considering a normalized decision matrix, where  $D = x_{mn}$  :

$$a_{ij} = \frac{x_{ij}}{\sqrt{\sum_i^m x_{ij}^2}}, i = 1, \dots, m; j = 1, \dots, n. \quad (1)$$

Thus, the scores resulting from this calculation will be used to compare each action to an ideal (positive) and anti-ideal (negative) action, which is calculated by collecting the best and the worst performance in each criterion of the normalized decision matrix (Equation 2).

$$\begin{aligned} A^+ &= \{b_1^+, b_2^+, \dots, b_n^+\} = \{(\max_i b_{ij} | j \in K_b) (\min_i b_{ij} | j \in K_c)\} \\ A^- &= \{b_1^-, b_2^-, \dots, b_n^-\} = \{(\max_i b_{ij} | j \in K_b) (\min_i b_{ij} | j \in K_c)\} \end{aligned} \quad (2)$$

Where,  $K_b$  are the benefit criteria and  $K_c$ , the cost criteria.

Finally, the proximity to the ideal solution is calculated (Equation 3):

$$C_i = \frac{S_i^-}{S_i^- + S_i^+}, i = 1, \dots, m. \quad (3)$$

The positions of the alternatives are in accordance with the proximity to the ideal; therefore, the alternatives with greater  $C_i$  are supposedly more important and should be considered as priorities.

After ranking, the three best cultivars of *L. sativa* and *A. cepa* were submitted to validation, to evaluate their behavior in the presence of a known toxic substance ( $\text{CdSO}_4$ ). Therefore, 30 seeds of each cultivar were seeded into Petri dishes on a double layer of no. 2 Whitmann paper, containing 3 mL of  $\text{CdSO}_4$  solution (500  $\mu\text{M}$ ) and distilled water as a negative control. The plates were distributed in B.O.D (Solab Científica®) and maintained at 24 °C with a 12-hour photoperiod. Evaluations regarding germination, initial growth and cytogenetic parameters were the same as those described in ranking and data were submitted to analysis of variance (ANOVA) at 5% significance.

## Results

The results of germinative, initial growth and cytogenetic parameters, as well as the ranking obtained from the TOPSIS analysis of *Lactuca sativa* L. and *Allium cepa* L. cultivars, are described in Tables 3 and 4, respectively.

Table 3

Table 4

There was a significant difference ( $p < 0.05$ ) among *Lactuca sativa* L. cultivars for the percentage of germination (%G) at both 24 and 48 hours after culture (Table 3). It is observed that Babá de Verão, Grandes Lagos and Grand Rapids had a better performance at both 24 hours (about 93% to 98% germination), and 48 hours, totaling almost 100% germination. However, for %G, two cultivars did not present satisfactory germination: Maravilha de Inverno exhibited 14% and Mimosa, with only 2% germinated seeds at the first 48 hours. For *A. cepa* L. (Table 4), there was also a significant difference among cultivars, and Baia Periforme was statistically more significant than the others, obtaining a result of 59% germination on the third day. On the twelfth day, Baia Periforme, along with Vale Ouro, Crioula and White Creole were the most responsive to this parameter, with averages of approximately 90% germination. Cultivars Roxa Red Criole and Granex did not present germination on the third day. However, on the twelfth day, about 24% and 0.8% germination was observed, respectively.

For Germination Speed Index (GSI) of lettuce cultivars, Grand Rapids showed a higher average (17.6), while Mimosa and Maravilha de Inverno presented results statistically equal, with very low averages (0.09 and 0.66, respectively): they were, therefore, the latest ones. On the other hand, for Onion, it was found that the highest GSI values were obtained for Baia Periforme, Crioula, Diamantina, Vale Ouro and White Creole, which did not differ statistically, with indices of approximately 4 to 5. Cultivar Granex had the lowest GSI, with an average of 0.03.

In Lettuce, Grand Rapids, Grandes Lagos and Babá de Verão, as in the previous parameters, presented a greater percentage of normal seedlings (NS), with about 95%. The NS for Mimosa and Maravilha de Inverno was the lowest observed (1.6%), fact already predicted due to the low germinability. In Onion, Baia Periforme,

Vale Ouro, Crioula and White Creole presented the highest NS values. Cultivar Granex presented NS equal to zero and was, therefore, the less responsive for this parameter.

It can be observed that, among *L. sativa* cultivars, Grand Rapids is the one with the highest root length (37.3 mm) and shoot length (30.6 mm), and that cultivar Maravilha de Inverno did not present growth. In *A. cepa*, Baia Periforme, Bola Precoce and Vale Ouro were statistically equal to each other, exhibiting the highest root length averages (8.8 to 9.9 mm). Baia Periforme, Bola Precoce and Crioula were statistically equal, presenting the highest shoot lengths (35 to 38 mm). Granex did not show root and shoot growth.

*Lactuca sativa* cv Babá de Verão stood out, showing the highest value (0.588g) for fresh biomass (FB). Mimosa and Maravilha de Inverno, as well as in the other variables, had very low FB values (0.091 and 0.094g, respectively). In relation to dry biomass (DB), Babá de Verão and Grand Rapids were statistically equal, with the highest averages (0.028g and 0.030g, respectively), and Maravilha de Inverno exhibited the lowest average (0.01g). For *Allium cepa* L., Baia Periforme and White Creole did not differ statistically, presenting the highest FB averages. Granex and Roxa Red Creole were also less responsive to this parameter, with the lowest values (0.19g). Ibiapaba was the cultivar with the highest DB accumulation (0.101g) and Primavera had the lowest value (0.058g).

Regarding the mitotic index (MI), lettuce cultivars Boston Branca, Babá de Verão, Grandes Lagos and Grand Rapids showed the highest cell division rate (34 to 36%). In Onion, the cultivar with the highest MI was Baia Periforme, with 14.8% cells in division.

The results obtained by flow cytometry for the quantification of DNA content (pg) showed that there was no statistical difference between the values for *Lactuca sativa* L. and *Allium cepa* L. cultivars, ranging from 6.10 to 6.33 and 34.5 to 34.8; respectively.

In the multicriteria analysis (Technique for Order Preference by Similarity - TOPSIS), a ranking of Lettuce and Onion cultivars was obtained, in which Babá de Verão and Baia Periforme presented results closest to the ideal positive solution (0.99589 and 0.91064, respectively). Cultivars Mimosa (Lettuce) and Granex (Onion) obtained the worst performance in the evaluated criteria, approaching the ideal negative solution, with 0.75256 and 0.07399, respectively.

In the analysis of chromosomal abnormalities (Tables 5 and 6), cultivar Babá de Verão (Alface) presented the highest frequency of abnormalities (FCA), 1.08%, with a predominance of lost chromosome, while Baia Periforme (Onion) presented the highest FCA (0.57%), with the highest percentage of stickiness. The abnormalities of each species are identified in Figure 1.

Table 5

Table 6

Figure 1

From the ranking obtained in the analysis of variance and TOPSIS, the three cultivars most responsive to the tested variables were: Babá de Verão, Grandes Lagos and Grand Rapids for *Lactuca sativa* L., and Baia Periforme, Vale Ouro and White Creole for *Allium cepa* L. They were validated by exposure to a known toxic substance, CdSO<sub>4</sub>, tested in previous studies at a concentration of 500µM (Tables 7 and 8). Cultivar White Creole was not found commercially during experiment setting, making it impossible to include it in the analyses. Therefore, Crioula (4th best in the ranking) was chosen to proceed in the validation experiments.

Table 7

Table 8

For *Lactuca sativa* L., there was no significant difference between %G of cultivars exposed to the control and CdSO<sub>4</sub>, both at 24 and 48 hours. There was a delay in the germination speed of Babá de Verão and Grandes Lagos submitted to the treatment in relation to the control, which was not observed for Grand Rapids. For the other parameters, except DB, there was a significant reduction in cultivar average, when exposed to CdSO<sub>4</sub> in relation to the control. Therefore, the treatment with Cadmium influenced the growth of Lettuce seedlings (Figure 2A).

For the three *Allium cepa* cultivars, the seeds exposed to Cadmium presented a reduction in %G in relation to the control, both at 72 and 96 hours. Baia Periforme and Crioula exposed to the metal had reduced GSI, compared to the control, whereas for Vale Ouro, the metal accelerated seed germination.

Only cultivar Crioula presented sensitivity to Cadmium for RL, since the metal inhibited root growth, when compared to the control. On the other hand, the exposure to the metal did not influence the SL of Crioula, whereas for the other cultivars, there was a difference between the treatment with the metal and the control (Figure 2B).

## Figure 2

For FB and DB, there was no statistical difference between the treatment with Cadmium and the control for *A. cepa*.

For Baia Perifome and Vale Ouro, Cadmium inhibited cell division in relation to the control, a fact not observed in cultivar Crioula, in which the metal stimulated cell division, resulting in a MI higher than the control.

Regarding chromosomal abnormalities (Table 9 and 10), the treatment with Cadmium did not alter the number of CA in Babá de Verão and Grandes Lagos in relation to the control. However, for Grand Rapids, the control had a higher percentage of abnormalities (0.47%), since the number of dividing cells in roots exposed to Cadmium was very low. It is also emphasized that C-metaphases and Stickiness were the most frequent abnormalities.

In *A. cepa* cv Baia Perifome, the frequency of chromosomal abnormalities was not influenced by Cadmium. In Crioula, the exposure to CdSO<sub>4</sub> led to an increase in FCA while, in Vale Ouro, the treatment reduced this frequency.

## Table 9

## Table 10

### Discussion

Lettuce cultivar Grand Rapids is among the genotypes most used in the literature as a test organism in plant assays (Catão *et al.*, 2014; Paula *et al.*, 2015, Santos *et al.*, 2015), compared to other cultivars. From a total of 178 articles analyzed (from 2004 to 2016), 48 cite the use of Grand Rapids in phytotoxicity experiments. In this study, this cultivar presented excellent performance, especially for germination percentage (%G), which was considered early, according to articles that evaluate %G with 24 and 48 hours (Moraes *et al.*, 2015; Mecina *et al.*, 2016). Although Grand Rapids is the most cited, Babá de Verão obtained the highest averages for most parameters in the analysis of variance and stood out first in the TOPSIS ranking.

*Allium cepa* L. is one of the most used species in plant bioassays. However, few articles identify the genotype used as a target plant. From 120 articles selected (from 2004 to 2016), 25 cite Baia Periforme in research. This cultivar stands out from the others, once it allows a homogeneous analysis, both from a genetic and a physiological point of view, which provides greater reliability for the performed bioassays (Santos *et al.*, 2011; Grisi *et al.* 2013; Lacerda, MALAQUIAS & Peron, 2014; Peres *et al.*, 2015; Rodrigues *et al.*, 2015; Martins, Souza & Souza, 2016). In this paper, this cultivar stood out in all parameters analyzed, and was superior to the others for %G on the 3rd day, as well as for mitotic index (MI). Ragassi *et al.* (2012) point out that some Brazilian Onion cultivars have contributions from Baia Periforme in their genetic basis. Cultivars such as Vale Ouro IPA 11, Crioula, Bola Precoce, included in this study, are the result of breeding programs that used Baia Periforme in the cross breeds (Leite *et al.*, 2009), which corroborates some of these genotypes among the first in rankings.

A high %G, as well as high values of germination speed index (GSI), are important parameters to be considered, especially in the negative control, in studies evaluating the influence of allelochemicals and/or potentially toxic substances (Kikuti & Marcos Filho, 2012; Carvalho *et al.*, 2014; Catão *et al.*, 2014; Peres *et al.*, 2015). The high germinative capacity (rate equal to or higher than 80%) of the seeds in the control group of an experiment allows greater precision, reliability and validation of the data. Nascimento (2002) states that such parameters provide the researcher with a better knowledge of the physiological performance of species in phytotoxicity bioassays, allowing more consistent and rapid responses. Vieira and Carvalho (1994) point out that experimental results from the use of genotypes with low percentage of germination exposed to a toxic agent can be underestimated. Therefore, toxicity experiments using a suitable cultivar allow to infer that the low %G and GSI values found in the treatments are most often associated with the toxic effect of the tested substance. Therefore, even with the essential use of the negative control, the use of cultivars with a high percentage of germination is essential.

The cultivars that obtained the worst performance for %G and GSI in *L. sativa* were Mimosa and Maravilha de Inverno and, in *Allium cepa* L., Granex and Roxa Red Creole; thus, they are not suitable for plant bioassays. They did not correspond to the %G indicated by the supplier and, according to Nascimento (2002), this may be related to seed vigor, which is defined as properties that determine the potential for a rapid and uniform emergence, providing a normal seedling development under different cultivation conditions. Therefore, vigor is also related to GSI, since it calculates the average number of seeds germinated in a time interval. It is

noteworthy that optimal germination conditions were given to these Lettuce and Onion genotypes and, probably due to the low vigor of their seeds, their performance in the experiments was compromised.

The cultivars that stood out for root length (RL) and shoot length (SL) were Grand Rapids (Lettuce) and Baía Periforme, Bola Precoce and Vale Ouro (Onion). In a plant bioassay, RL is one of the most cited endpoints (Lutterbeck *et al.*, 2015; Freitas *et al.*, 2016; Verdejo *et al.*, 2016), due to its simplicity, speed and sensitivity. Park *et al.* (2016) studied lettuce cultivated in hydroponics, and reported the importance of RL as an appropriate endpoint in the evaluation of toxic substances at different concentrations in bioassays for the effect of metals, wastewater and other complex substances. According to Taiz and Zeiger (2013), it is known that the root function is the support and absorption of nutrients by the plant, which are used for its development. Thus, it can be inferred that the larger the root length, the larger its absorption surface. Ratsch (1986) states that the physiological effects of metals on plants are closely linked to the absorption and accumulation of toxic substances, and the first organ affected is the root, once it is more in contact with the tested substance. Therefore, a significant reduction in root length is considered to be a valid and sensitive response to the effects of toxicants, when compared to the initial germination process (imbibition) and shoot growth. However, SL analysis is also important, since toxic agents may not affect root germination and growth, but may alter leaf growth and development patterns, and consequently alter photosynthetic (carbon allocation) and/or respiratory rates in the test plant. In a study on the growth of volatile organic compounds emitted by bacteria in *L. sativa* conducted by Fincheira *et al.* (2016), SL of lettuce seedlings was more affected than RL, when submitted to one of the treatments.

Normal seedlings were those with functional root and shoot, and cultivars Grandes Lagos, Babá de Verão and Grand Rapids (Lettuce) and Baía Periforme, Crioula, Vale Ouro and White Creole (Onion) were the most outstanding in this parameter. Mimososa and Maravilha de Inverno (*L. sativa* L.) and Granex (*A. cepa* L.) presented low frequencies of normal seedlings, which was already expected, due to the low %G. This is corroborated by Nascimento (2002), since seeds with low vigor can provide an increase in the number of abnormal seedlings.

Leme, Marin-Morales (2009) report that meristematic plant root cells are excellent indicators of cytogenotoxic effects and several researchers have used mitotic index (MI) as one of the main endpoints in this type of evaluation, since the cytotoxicity of a substance can be determined on the basis of the increase or reduction in the cell division rate in relation to the control group (Kumar *et al.*, 2015; Bianchi, Fernandes & Marin-Morales, 2016; Martins, Souza & Souza, 2016). According to Gadano *et al.* (2002), if there is a significant

reduction in MI, this can be caused by the inhibition of DNA synthesis or blockage in the G2 phase of the cell cycle. According to the same authors, the reduction of up to 22% in MI in relation to the negative control may indicate lethal effects of the substances tested on the test organism. Thus, cultivars with a high MI are suitable for biological assays to assess toxicity at the cytogenetic level when exposed to chemical substances. The cultivars used in this study, Boston Branca, Babá de Verão, Grandes Lagos and Grand Rapids in *L. sativa* and Baia Periforme in *A. cepa* stand out as the cultivars with the highest cell division rates.

According to Bagatini, Silva and Tedesco (2007), the evaluation of chromosomal abnormalities (CA) is constantly used in cytogenotoxicity tests, which are one of the few direct methods to measure damage in target organisms exposed to toxic substances. The effects of these substances can be detected cytologically by inhibition of the cell cycle, interruption of metaphases and induction of numerical and structural chromosomal changes (Leme & Marin-Morales 2009). Mutations may also be due to the intrinsic instability of nucleic acids, and the observation of CA as micronuclei, chromosomal bridges, C-metaphases, stickiness and lost chromosome is common, even at low frequencies, in cells not exposed to toxic agents. Thus, in this study, the importance of quantifying CA inherent in each cultivar exposed only to water commonly used as a negative control in bioassays is justified (Aragão *et al.*, 2015; Palmieri *et al.*, 2016). In this study, it was possible to observe that Babá de Verão (Lettuce) and Baia Periforme (Onion) were the cultivars that had the highest frequency of CA, and are among those that presented the highest MI values, and it is possible to suggest that the cell cycle of these genotypes occurs irregularly and lacks appropriate studies to understand the reasons for these disorders.

*Lactuca sativa* L. and *Allium cepa* L. cultivars that obtained the highest average values for the highest number of parameters tested were considered the most suitable for plant assays. Thus, Babá de Verão, Grandes Lagos and Grand Rapids (Lettuce) and Baia Periforme, Crioula and Vale Ouro (Onion) were selected for validation tests with CdSO<sub>4</sub>, a substance of recognized toxicity in plants (Benavides, Gallego & Tomaro, 2005).

Effects of Cadmium toxicity on higher plants have been widely reported in the literature (Bauddh & Singh, 2015; Matraszek *et al.*, 2016; Park *et al.*, 2016; Zhu *et al.* 2016). Vieira *et al.* (2015) report that plant exposure to high Cadmium concentrations causes morphological, physiological and biochemical changes. These changes can lead to a marked decline in the absorption capacity and accumulation of essential elements by the roots, mainly due to the general reduction in the metabolism owing to mineral deficiencies, in addition to the reduction in biomass. Similar results were found in this study, in which the toxic action of Cadmium was observed especially for NS, RL, SL, FB and MI.

The exposure of Lettuce cultivars to the metal did not influence %G. However, the germination of Onion cultivars showed to be sensitive to this parameter. Similar results were found by Bavi *et al.* (2011), when studying the effect of Cadmium on *Cicer arietinum*, in which it did not influence plant germination, and Ali *et al.* (2015), where Cadmium significantly reduced the %G of *Brassica nabus*.

Monteiro *et al.* (2009) report the influence of Cadmium on the growth and development of Lettuce, and RL and SL were the endpoints that showed the greatest inhibition. The significant reduction in FB for Lettuce and Onion cultivars exposed to Cadmium corroborate the studies conducted by Aslan *et al.* (2014) in *Capsicum annum* and by Ali *et al.* (2015) in *Brassica nabus*.

Regarding cytogenotoxic effects, the responses found in this study for *Lactuca sativa* show a mean reduction of 92% in cell division when exposed to CdSO<sub>4</sub>, compared to the negative control (distilled water). According to Gadano *et al.* (2002), if the reduction in MI is higher than 22% of the MI of the negative control, it may indicate lethal effects of the substances tested on the test organism, corroborating the idea that the Lettuce genotypes selected for the validation experiments are highly sensitive to toxicity assays.

The results obtained for Baia Periforme and Vale Ouro (Onion) are similar to those presented by Seth *et al.* (2008), in which Cadmium significantly reduced MI in Onion roots, indicating the cytotoxic potential of this metal. *Allium cepa* cv. Crioula is an exception since, in addition to being little mentioned in the literature as a test plant in plant bioassays, was highly sensitive to CdSO<sub>4</sub>, once a stimulus in its cell division was observed, when compared to the control, besides the high frequency of CA, with predominance of micronucleus and stickiness.

According to Leme, Marin-Morales (2009) and Oliveira *et al.* (2012), the occurrence of abnormalities in the cell cycle and/or in the chromosomal complement are indicative of the mutagenic action of toxic substances. The highest frequency of micronuclei and stickiness may indicate that CdSO<sub>4</sub> has an aneugenic effect, and that both *L. sativa* and *A. cepa* cultivars selected for validation assays were highly sensitive to cytogenotoxicity tests.

## Conclusions

The cultivars of *Lactuca sativa* L. and *Allium cepa* L. most suitable for phytotoxicity and cytogenotoxicity studies, in descending order of germination, initial growth and cytogenetic parameters, according to statistical analyses (ANOVA and TOPSIS), are Babá de Verão, Grand Rapids and Grandes Lagos (Lettuce) and Baia Periforme, Vale Ouro and Crioula (Onion).

In addition to being the most responsive to the parameters used in ranking, these genotypes were also highly sensitive to characterize the toxicity of a chemical substance.

### References

- Aguiar, L.L.; Andrade-Vieira, L.F.; David, J.O. 2016. Evaluation of the toxic potential of coffee wastewater on seeds, roots and meristematic cells of *Lactuca sativa* L. *Ecotox. Environ. Safe.*, 133: 366–372.
- Ali, B., Hu, X., Gill, R.A., Ali, S., Wang, S., Zhou, W. 2015. Deteriorative effects of cadmium stress on antioxidant system and cellular structure in germinating seed of *Brassica napus* L. *J. Agric. Sci. Technol.*, 17 (1): 63-74.
- Alvim, L. B.; Kummrow, F.; Beijo, L. B.; Lima, C. A. A.; Barbosa, S. 2011. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L. *Amb-Água.*, 6: 255-265.
- Aragão, F. B.; Andrade-Vieira, L. F.; Ferreira, A.; Costa, A. V.; Queiroz, V. T.; Pinheiro, P. F. 2015. Phytotoxic and cytotoxic effects of Eucalyptus essential oil on *Lactuca sativa* L. *Allelopathy J.*, 35: 259-272.
- Aslam, R., Ansari, M.Y.K., Choudhary, S., Bhat, T.M., Jahan, N. 2014. Genotoxic effects of heavy metal cadmium on growth, biochemical, cyto-physiological parameters and detection of DNA polymorphism by RAPD in *Capsicum annum* L. – An important spice crop of India. *Saudi. J. Biol. Sci.*, 21 (5): 465-472.
- Bagatini, M.D.; Silva, A.C.F.; Tedesco, S.B. 2007. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 17 (3): 444-447.
- Bauidh, K.; Singh, R.P. 2015. Effects of organic and inorganic amendments on bio-accumulation and partitioning of Cd in *Brassica juncea* and *Ricinus communis*. *Ecol. Eng.*, 74: 93–100.
- Bavi, K., Kholdebarin, B., Moradshahi, A. 2011. Effect of cadmium on growth, protein content and peroxidase activity in pea plants. *Pak. J. Bot.*, 43 (3): 14467-1470.
- Benavides, M.P.; Gallego, S.M.; Tomaro, M.L. 2005. Cadmium toxicity in plants. *Bras. J. Plant. Physiol.*, 17 (1): 21-34.
- Bianchi, J.; Mantovani, M.S.; Marin-Morales, M.A. 2015. Analysis of the genotoxic potencial of low concentrations of Malathion on the *Allium cepa* cells and rat hepatoma tissue culture. *J. Environ Sci.*, 36: 102-111.
- Carvalho, W.P.; Carvalho, G.J.; Abbade Neto, D.O.; Teixeira, L.G.V. 2014. Allelopathy of green manures extracts on germination and initial growth of the lettuce. *Biosci. J.*, 30: 1-11.
- Catão, H. C. R. M.; Gomes, L.A.A.; Santos, H.O.; Guimarães, R.M.; Fonseca, P.H.F.; Caixeta, F. 2014. Aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes de alface em diferentes temperaturas. *Pesqui. Agropec. Bras.*, 49 (4): 316- 322.
- Costa, C. P.; Sala, F.C. 2012. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. *Horticul Bras.*, 30 (2): 187-194.
- Cuchiara, C.C.; Borges, C.S.; Bobrowki, V.L. 2012. Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água. *Tecnol. & Ciên. Agropec.*, 6 (1): 33-38.

- Dias, N. S.; Silva, T. C.; Filho, G. P. B.; Badreddine, J. F.; Matozinho, H. H. S.; Resende, M. R.; Gomes F. O. 2013. Estudo dos efeitos mutagênicos e citotóxicos do confrei (*Symphytum officinale*) no ciclo celular de *Allium cepa*. *Rev. Eletrônica Farm.*, 10 (3): 20-29.
- Dolezel, J.; Binarova, P.; Lucretti, S. 1989 Analysis of nuclear DNA content in plant cells by flow cytometry. *Bio. Plant.*, 31: 113-122.
- Ferreira, A. G.; Aquila M. E. A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Rev. Bras. Fisio. Veg.*, 12: 175-204.
- Ferreira, D. F. 2013. *Recursos Computacionais Utilizando R*. Lavras, Brasil.
- Fincheira, P.; Venthur, H.; Mutis, A.; Parada, M.; Quiroz, A. 2016. Growth promotion of *Lactuca sativa* in response to volatile organic compounds emitted from diverse bacterial species. *Microbiological Research*. 193: 39-47.
- Freitas, A.S.; Cunha, I.M.F.; Andrade-Vieira, L.F.; Techio, V.H. 2016. Effect of SPL (Spent Pot Liner) and its main components on root growth, mitotic activity and phosphorylation of Histone H3 in *Lactuca sativa* L. *Ecotox. Environ. Safe.*, 124: 426-434.
- Gadano, A.; Gurni, A.; López, P.; Ferraro, G.; Carballo, M. 2002. In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L. *J. Ethnopharmacol*, 81: 11-16.
- Gomes, J.V.; Teixeira, J.T.S.T.; Lima, V.M.; Borba, H.B. 2015. Induction of cytotoxic and genotoxic affects of Guandu River Waters in the *Allium cepa* system. *Amb- Água.*, 10 (1): 48-58.
- Goujon, E.; Richard, C.; Goupil, P.; Ledoigt, G. 2015. Cytotoxicity on *Allium cepa* L. of the two main sulcotriene photoproducts xanthene-1,9-dione-3,4-dihydro-6-methylsulphonyl and 2-chloro-4-mesybenzoic. *Pestic. Biochem. Phys.* 124: 37-42.
- Grippa, G.A.; Morozesk, M.; Nati, N.; Matsumoto, T. 2010. Estudo genotóxico do surfactante Tween 80 em *Allium cepa*. *Rev. Bras. Toxicol*, 23 (1-2): 11-16.
- Grisi, P.U.; Gualtieri, S.C.J.; Ranal, M.A.; Santana, D.G. 2011. Efeito Alelopático do Fruto de *Sapindus saponária* na Germinação e na Morfologia de plântulas Daminhas e de Hortaliças. *Planta Daninha.*, 29 (2): 311-322.
- Guerra, M.; Souza, M. J. 2002. Como Observar Cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. São Paulo, Brasil.
- Huang, I.B.; Keisler, J.; Linkov, I. 2011. Multicriteria decision analysis in environmental sciences: ten years of applications and trends. *Sci. Total Environ.*, 409 (19): 3578-3594.
- Kikuti, A.L.P.; Marcos Filho, J. 2012. Testes de vigor em sementes de alface. *Hort. Bras.*, 30: 44-50.
- Kumar, D.; Rajeshwari, A.; Jadon, P.S.; Chaudhuri, G.; Mukherjee, A.; Chandrasekaran, N.; Mukherjee, A. 2015. Cytogenetic sutides of chromium (III) oxide nanoparticles on *Allium cepa* root tip cells. *J. Environ. Sci.*, 38: 150-157.
- Kumari, S.; Rastogi, R.; Singh, K.; Singh, S.; Sinha, R. DNA damage: detection strategies. *Exper Clinical Sciences.*, 7: 44-62.
- Leite, D.L.; Oliveira, V.R.; Santos, C.A.F.; Costa, N.D.; Fonseca, M.E.N.; Boiteux, L.S.; Melo, P.E.; Reis, A.; Bueno, B.; Baptista, M.J. 2009. Melhoramento genético de cebola para as condições tropicais e subtropicais do Brasil. *Rev. Colomb. Ciênc. Hortíc.*, 3 (1): 18-27.
- Leme, D. M.; Marin-Morales, M. A. 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutat. Res.* 682: 71-81.
- Lacerda, L.P.; Malaquias, G.; Peron, A.P. 2014. Antiproliferative action of aqueous extracts of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. (Fabaceae) on the cell cycle of *Allium cepa* L. *Acad. Bras. Cienc.* 86 (3): 1147-1150.
- Lutterbeck, C.A.; Kern, D.I.; Machado, E.L.; Kümmerer, K. 2015. Evaluation of the toxic effects of four anti-

cancer drugs in plant bioassays and its potency for screening in the context of waste water reuse for irrigation. *Chemosphere.*, 135: 403–410.

Lima, A.A.; Miranda, E.G.; Campos, L.Z.O.; Cuznato Júnior, W.H.; Melo, S.C.; Camargo, M.S. 2004. Competição das cultivares de alface Vera e Verônica em dois espaçamentos. *Horticul. Bras.*, 22 (2): 314-316.

Ma, Z.; Fang, T.; Thring, R.W.; Li, Y.; Yu, H.; Zhou, Q. Zhao, M. 2015. Toxic and non-toxic strains of *Microcystis aeruginosa* induce temperature dependent allelopathy toward growth and photosynthesis of *Chlorella vulgaris*. *Harmful Algae.*, 48: 21-29.

Martins, M.N.C.; Souza, V.V.; Souza, T.S. 2016. Cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of sewage sludge on *Allium cepa*. *Chemosphere.*, 148: 481-486.

Martin-Puzon, J.J.R.; Rivera, W. 2015. Free-radical scavenging activity and bioactive secondary metabolites from various extracts of *Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC. (Molluginaceae) roots, stems and leaves. *Asian. Pac. J. Trop. Dis.*, 5 (9): 711-715.

Matraszek, R.; Hawrylak-Nowak, B.; Chwil, S.; Chwil, M. 2016. Macroelemental condition of cadmium stressed lettuce plants grown under conditions of intensive sulphur nutrition. *J. Environ. Manag.*, 180: 24-34.

Mecina, G.F., Santos, V.H.M., Andrade, A.R., Dokkedal, A.L., Saldanha, L.L., Silva, L.P. Silva, R.M.G. 2016. Phytotoxicity of *Tridax procumbens* L. *S. Afr. J. Bot.*, 102: 130–136.

Monteiro, M.S.; Santos, C.; Soares, A.M.V.M.; Mann, R.M. 2009. Assessment of biomarkers of cadmium stress in lettuce. *Ecotox. Environ. Safe.*, 72 :811–818.

Moraes, R.M.; Filho, P.R.S.; Carvalho, M.; Nogueira, M.L.; Barbosa, S. 2015. Effects of copper on physiological and cytological aspects in *Lactuca sativa* L. *R. bras. Bioci.*, 13 (2): 115-121.

Nascimento, W. M. 2002. *Germinação de Sementes de Alface*. (nº29) EMBRAPA Brasília, Brasil.  
Neves, C.S.; Gomes, S.S.L.; Santos, T.R.; Almeida, M.M.; Souza, Y.O.; Garcia, R.M.G.; Otoni, W.C.; Chedier, L.M.; Viccini, L.F.; Campos, J.M.S. 2016. The Phytoecdysteroid  $\beta$ -ecdysone is genotoxic in Rodent Bone Marrow Micronuclei and *Allium cepa* L. Assays. *J. Ethnopharmacol.*, 177: 81–84.

Pandey, H.; Kumar, V.; Roy, B.K. 2014. Assessment of genotoxicity of some common food preservatives using *Allium cepa* L. as a test plant. *Toxicology Reports.*, 1: 300-308.

Palmieri, M.J.; Andrade-Vieira, L.F.; Campos, J.M.S.; Gedraite, L.S.; Davide, L.C. 2016. Cytotoxicity of Spent Pot Liner on *Allium cepa* root tip cells: A comparative analysis in meristematic cell type on toxicity bioassays. *Ecotox. Environ. Safe.*, 133: 442-447.

Park, J.; Yoon, J-H.; Depuydt, S.; Oh, J-W.; Jo, Y-M.; Kim, K.; Brown, M.T.; Han, T. 2016. The sensitivity of na hydroponic lettuce root elongation bioassay to metals, phenol and wastewaters. *Ecotox. Environ. Safe.*, 126: 147-153.

Paula, C.S.; Canteli, V.C.D.; Silva, C.B.; Miguel, O.G.; Miguel, M.D. 2015. Estudo do potencial fitotóxico de extratos de *Bauhinia unguolata* L. sobre divisão celular e atividade enzimática em plântulas de alface. *Rev. Bras. Pl. Med.*, 17 (4): 577-584.

Pereira, G. J. G.; Molina, S. M. G.; Lea, P. J.; Azevedo, R. A. 2002. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria juncea*. *Plant. Soil.* 239: 123-132.

Pereira, M. P.; Pereira, F. J.; Rodrigues, L. C. A.; Barbosa, S.; Castro, E. M. C. 2013. Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular. *Revista Agro@ambiente On-line.*, 7(1): 36-43, 2013.

Peres, M. T. L. P.; Mapelib, A.; Faccendac, O.; Honda, N.K. 2015. Herbicidal and Plant-growth Stimulating Effects of Phenolic Compounds Isolated from Lichens. *Electron. J. Chem.* 7 (3): 275-281.

- Ragassi, C.F.; Santos, M.D.M.; Fonseca, M.E.N.; Oliveira, V.R.; Buzar, A.G.R.; Costa, C.P.; Boiteux, L.S. 2012. Genotipagem de polimorfismos associados com sistemas de macho-esterilidade em acessos de cebola adaptados ao Brasil. *Hort. Bras.*, 30: 409-414.
- Ramos, S.J.; Faquin, V.; Almeida, F.W.A.; Guilherme, L.R.G.; Bastos, E.A.; Ávila, P.A. 2013. Selenato e selenito na produção, nutrição mineral e biofortificação com selênio em cultivares de Alface. *R. Bras. Ci. Solo.*, 35: 1347-1355.
- Rajeshwari, A.; Roy, B.; Chandrasekaran, N.; Mukherjee, A. 2016. Cytogenetic evaluation of gold nonorods using *Allium cepa* teste. *Int. J. Plant Physiol. Bioche.*, 109: 209-219.
- Ratsch, H.C., Johndro, D. 1986. Comparative toxicity of six test chemicals to lettuce using two root elongation test methods. *Environ. Monit. Assess.*, 6: 267-276.
- Ribeiro, L. O.; Barbosa, S.; Balieiro, F. P.; Beijo, L. A.; Santos, B. R.; Gouvea, C. M. C. P.; Paiva, L. V. 2012. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em bioensaio com alface. *Rev. Bras. Bioci.*, 10: 220-225.
- Rizzo, L. 2011. Biossays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. *Water research.*, 45: 4311-4340.
- Rodriguez, Y.A.; Christofolletti, C. A.; Pedro, J.; Bueno, O.C.; Malspina, O.; Ferreira, R.A.C.; Fontanetti, C.S. 2015. *Allium cepa* and *Tradescantia pallida* bioassays to evaluate effects of the insecticide imidacloprid. *Chemosphere.*, 120: 438-442.
- Santos, C.A.F.; Oliveira, V.R.; Rodrigues, M.A.; Ribeiro, H.L.C.; Silva, G. O. 2011. Similaridade genética entre cultivares de cebola de diferentes tipos e origens, baseada em marcadores AFLP. *Hort. Bras* 29: 32-37.
- Santos, V.H.M.; Daneluzzi, G.S.; Silva, L.P.; Silva, R.M.G. 2015. Evaluation of allelopathic potential of leaf extract of *Kielmeyera coriacea* on *Lactuca sativa* L. *Biosci. J.*, 31(1): 259-267.
- Schat, H.; Llugany, M.; Bernhard, R. 2001. Metal-specific patterns of tolerance, uptake and transport of heavy metals in hyperaccumulating and nonhyperaccumulating metallophytes. *Phytorem. Cont. Soil Water*. 171-188.
- Seth, C.S.; Misraa, V.; Chauhanb, L.K.S.; Singhc, R.R. 2008. Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of *Allium cepa*: cytogenetic and Comet assay approach. *Ecotox. Environ. Safe.*, 71: 711-716.
- Simões, M.S.; Madail, R.H.; Barbosa, S.; Nogueira, M.L. 2013. Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. *Biotemas.*, 26 (3): 29-36.
- Taiz, L.; Zeiger, E. 2013. *Fisiologia Vegetal* (3ed) Porto Alegre, Brasil.
- Tang, X.; Pang, Y.; Gao, P.; Nguyen, T.H.; Tong, Y. 2016. Cadmium uptake in above-ground parts of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Ecotox. Environ. Safe.*, 125: 102-106.
- Tur, C. M.; Borella J.; Pastorini L. H. 2010. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. *Biotemas.*, 23(2): 13-22.
- Verdejo, J.; Ginocchio, R.; Sauv e, S.; Mondaca, P.; Neaman, A. 2016. Thresholds of copper toxicity to lettuce in field-collected agricultural soils exposed to copper mining activities in Chile. *J. Plant. Nutr. Soil Sc.* 16(1): 155-158.
- Vieira, R.D.; Carvalho, N.M. 1994. *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal, Brasil.
- Vieira, L.R.; Corrêa, E.S.; Moraes, B.S.; Rossato, M.V.; Vestena, S. 2015. Cadmium toxicity in plants. *REGET*, 19 (2): 1574-1588.
- Vitória, A. P.; Lea, P. J.; Azevedo, R. A. 2001. Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues. *Phytochemistry*, 57: 710-715.

Xavier, D. F.; Botrel, M. A.; Daher, R. F.; Gomes, F. T.; Pereira, A. V. 1995. *Caracterização morfológica e agronômica de algumas cultivares de capim-elefante*. (EMBRAPA-CNPGL. Documentos 60).

Zhang, W.; Lin, K.; Zhou, J.; Zhang, W.; Liu, L.; Zhang, Q. 2016. Cadmium accumulation, sub-cellular distribution and chemical forms in rice seedling in the presence of sulfúur. *Eur. J. Pharm-Environ.*, 37: 335-348.

Zhu, J.; Wang, W-S.; M, D.; Zhang, L-Y.; Ren, F.; Yuan, T-T. 2016. A role for CK2 b subunit 4 in the regulation of plant growth, cádmium accumulation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content under cadmium stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant. Physiol. Bioch.*, 109: 240-247.

**Table 1.** *Lactuca sativa* L. cultivars obtained commercially.

<b>Cultivar</b>	<b>Acronym</b>	<b>%G*</b>	<b>Shelf life</b>	<b>Purity (%)</b>	<b>Literature</b>
Babá de Verão	BV	97	nov/16	100	4
Boston Branca	BB	83	oct/16	99.8	3
Delícia	Del	93	oct/16	100	1
Grand Rapids	GR	97	feb/16	100	48
Grandes Lagos	GL	98	dec/16	100	5
Maravilha de Inverno	MI	80	jul/16	99.8	1
Mimosa (Salad Bown)	Mi	94	nov/16	99.7	4
Mônica	Mo	98	jun/16	100	8
Quatro Estações	QE	90	dec/16	99.9	1
Rainha de Maio	RM	82	nov/16	99.8	6
Regina de Verão	RV	98	sep/16	99.8	1
Romana Branca de Paris	RBP	96	oct/16	99.9	1
Simpson Semente Preta	SSP	93	oct/16	99.9	3
Vitória de Verão	VV	93	sep/16	99.7	1

\* Indication of germination according to supplier.

**Table 2.** *Allium cepa* L. cultivars obtained commercially.

<b>Cultivar</b>	<b>Acronym</b>	<b>%G*</b>	<b>Shelf life</b>	<b>Purity %</b>	<b>Literature</b>
Baia Periforme	BP	80	feb/16	100	25
Baia Periforme Precoce	BPP	85	oct/16	100	0
Bola Precoce	BoP	80	feb/16	100	2
Conquista	Co	83	oct/16	100	0
Crioula	Cr	89	dec/16	99.9	0
Diamantina híbrida	Di	81	jun/16	99.9	0
Granex (híbrida)	Gr	80	jul/16	100	0
Ibiapaba (híbrida roxa)	Ib	80	jun/16	100	0
Primavera	Pr	85	jun/16	99.8	0
Roxa (Red Creole)	RRC	88	feb/16	100	0
Texas Grana 502	Te	85	jul/16	99.9	1
Vale Ouro IPA 11	VO	96	nov/16	100	0
White Creole	WC	82	apr/16	100	0

\* Indication of germination according to supplier.

**Table 3.** Ranking of Lettuce cultivars obtained from germination, initial growth, cytogenetic parameters and TOPSIS analysis.

Cult.	G24h(%)	G48h(%)	GSI	NS (%)	RL (mm)	SL (mm)	FB (g)	DB (g)	MI (%)	DNA (pg)	TOPSIS	R.
BV	98 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	13.68 <sup>c</sup>	95 <sup>a</sup>	28.79 <sup>b</sup>	24.15 <sup>c</sup>	0.588 <sup>a</sup>	0.028 <sup>a</sup>	35.8 <sup>a</sup>	6.18 <sup>a</sup>	0.99589	1 <sup>o</sup>
GR	98 <sup>a</sup>	97 <sup>a</sup>	17.6 <sup>a</sup>	94 <sup>a</sup>	37.3 <sup>a</sup>	30.61 <sup>a</sup>	0.398 <sup>d</sup>	0.030 <sup>a</sup>	36 <sup>a</sup>	6.10 <sup>a</sup>	0.99561	2 <sup>o</sup>
GL	93 <sup>a</sup>	99 <sup>a</sup>	16.13 <sup>b</sup>	95.8 <sup>a</sup>	25.83 <sup>c</sup>	22.40 <sup>c</sup>	0.544 <sup>b</sup>	0.020 <sup>b</sup>	34.9 <sup>a</sup>	6.23 <sup>a</sup>	0.99382	3 <sup>o</sup>
BB	79 <sup>b</sup>	88 <sup>b</sup>	9.79 <sup>d</sup>	82.5 <sup>b</sup>	28.51 <sup>b</sup>	24.10 <sup>c</sup>	0.452 <sup>c</sup>	0.020 <sup>b</sup>	34.5 <sup>a</sup>	6.20 <sup>a</sup>	0.98955	4 <sup>o</sup>
VV	74 <sup>b</sup>	90 <sup>b</sup>	9.92 <sup>d</sup>	80 <sup>b</sup>	21.47 <sup>d</sup>	30.46 <sup>a</sup>	0.420 <sup>d</sup>	0.020 <sup>b</sup>	29.5 <sup>b</sup>	6.23 <sup>a</sup>	0.98816	5 <sup>o</sup>
RM	15 <sup>g</sup>	69 <sup>c</sup>	3.71 <sup>f</sup>	53 <sup>c</sup>	17.49 <sup>e</sup>	19.79 <sup>d</sup>	0.237 <sup>g</sup>	0.018 <sup>b</sup>	21.6 <sup>c</sup>	6.26 <sup>a</sup>	0.98071	6 <sup>o</sup>
Mo	54 <sup>d</sup>	85.8 <sup>b</sup>	6.98 <sup>e</sup>	83 <sup>b</sup>	24.50 <sup>c</sup>	21.30 <sup>d</sup>	0.320 <sup>e</sup>	0.020 <sup>b</sup>	15 <sup>d</sup>	6.11 <sup>a</sup>	0.97833	7 <sup>o</sup>
RV	22.5 <sup>f</sup>	63 <sup>c</sup>	3.77 <sup>f</sup>	33 <sup>d</sup>	12.91 <sup>f</sup>	19.75 <sup>d</sup>	0.198 <sup>h</sup>	0.018 <sup>b</sup>	27 <sup>b</sup>	6.33 <sup>a</sup>	0.97761	8 <sup>o</sup>
SSP	30 <sup>f</sup>	62 <sup>c</sup>	4.19 <sup>f</sup>	40 <sup>d</sup>	16.28 <sup>e</sup>	20.84 <sup>d</sup>	0.275 <sup>f</sup>	0.022 <sup>b</sup>	26 <sup>b</sup>	6.21 <sup>a</sup>	0.95797	9 <sup>o</sup>
Del	22.5 <sup>f</sup>	55 <sup>c</sup>	4.03 <sup>f</sup>	37.5 <sup>d</sup>	16.74 <sup>e</sup>	17.95 <sup>e</sup>	0.200 <sup>h</sup>	0.018 <sup>b</sup>	29.7 <sup>b</sup>	6.20 <sup>a</sup>	0.95252	10 <sup>o</sup>
RBP	44 <sup>e</sup>	85 <sup>b</sup>	6.29 <sup>e</sup>	79 <sup>b</sup>	20.67 <sup>d</sup>	23.00 <sup>c</sup>	0.443 <sup>c</sup>	0.023 <sup>b</sup>	28.5 <sup>b</sup>	6.33 <sup>a</sup>	0.94701	11 <sup>o</sup>
QE	62.5 <sup>c</sup>	90.8 <sup>b</sup>	7.19 <sup>e</sup>	87.5 <sup>b</sup>	19.90 <sup>d</sup>	26.93 <sup>b</sup>	0.448 <sup>c</sup>	0.020 <sup>b</sup>	19 <sup>c</sup>	6.24 <sup>a</sup>	0.94403	12 <sup>o</sup>
MI	1.6 <sup>h</sup>	14 <sup>d</sup>	0.66 <sup>g</sup>	1.6 <sup>c</sup>	0.00 <sup>h</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.090 <sup>i</sup>	0.010 <sup>c</sup>	8 <sup>c</sup>	6.24 <sup>a</sup>	0.78038	13 <sup>o</sup>
Mi	0 <sup>h</sup>	2.5 <sup>e</sup>	0.09 <sup>g</sup>	1.6 <sup>c</sup>	4.82 <sup>g</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.095 <sup>i</sup>	0.023 <sup>b</sup>	14.7 <sup>d</sup>	6.10 <sup>a</sup>	0.75256	14 <sup>o</sup>
CV	11.18	9.69	12.17	10.9	8.38	9.34	7.09	19.63	12.66	-	-	-

\*Columns followed by distinct letters differ by the Scott-Knott test at 5% significance. Cult. - Cultivars, G - Percentage of Germination, GSI - Germination Speed Index, NS - Number of Normal Seedlings, RL - Root Length, SL - Shoot length, FB - Fresh Biomass, DB - Dry Biomass, MI - Mitotic Index, DNA - DNA Content, TOPSIS - Technique for Order Preference by Similarity, R. - Ranking, CV - Coefficient of Variation.

**Table 4.** Ranking of Onion cultivars obtained from germination, initial growth, cytogenetic parameters and TOPSIS analysis.

Cult.	G3°d(%)	G12°d(%)	GSI	NS (%)	RL (mm)	SL (mm)	FB (g)	DB (g)	MI (%)	DNA (pg)	TOPSIS	R.
BP	59 <sup>a</sup>	93 <sup>a</sup>	5.18 <sup>a</sup>	86.7 <sup>a</sup>	8.85 <sup>a</sup>	37.47 <sup>a</sup>	0.507 <sup>a</sup>	0.083 <sup>c</sup>	14.8 <sup>a</sup>	34.78 <sup>a</sup>	0.91064	1°
VO	41 <sup>b</sup>	91.7 <sup>a</sup>	4.72 <sup>a</sup>	85.8 <sup>a</sup>	9.92 <sup>a</sup>	31.93 <sup>b</sup>	0.438 <sup>b</sup>	0.074 <sup>d</sup>	10 <sup>b</sup>	34.80 <sup>a</sup>	0.80149	2°
WC	31 <sup>c</sup>	89 <sup>a</sup>	4.33 <sup>a</sup>	81.7 <sup>a</sup>	5.11 <sup>c</sup>	29.53 <sup>b</sup>	0.493 <sup>a</sup>	0.086 <sup>b</sup>	9.9 <sup>b</sup>	-	0.72115	3°
Cr	45 <sup>b</sup>	90 <sup>a</sup>	4.68 <sup>a</sup>	77 <sup>a</sup>	4.35 <sup>d</sup>	35.44 <sup>a</sup>	0.389 <sup>c</sup>	0.070 <sup>e</sup>	8.6 <sup>c</sup>	34.57 <sup>a</sup>	0.68723	4°
Pr	42 <sup>b</sup>	81.7 <sup>b</sup>	4.70 <sup>a</sup>	70 <sup>b</sup>	4.99 <sup>c</sup>	30.74 <sup>b</sup>	0.355 <sup>c</sup>	0.058 <sup>f</sup>	6 <sup>d</sup>	34.80 <sup>a</sup>	0.62817	5°
Di	49.7 <sup>b</sup>	85.8 <sup>b</sup>	4.58 <sup>a</sup>	70.8 <sup>b</sup>	7.36 <sup>b</sup>	28.52 <sup>c</sup>	0.371 <sup>c</sup>	0.087 <sup>b</sup>	4 <sup>e</sup>	34.76 <sup>a</sup>	0.51374	6°
BPP	32 <sup>c</sup>	72.3 <sup>c</sup>	3.65 <sup>b</sup>	58 <sup>c</sup>	4.12 <sup>d</sup>	26.29 <sup>c</sup>	0.332 <sup>d</sup>	0.066 <sup>e</sup>	2 <sup>f</sup>	34.83 <sup>a</sup>	0.47722	7°
Co	13 <sup>e</sup>	67.5 <sup>c</sup>	2.88 <sup>c</sup>	62 <sup>c</sup>	5.77 <sup>c</sup>	20.31 <sup>d</sup>	0.307 <sup>d</sup>	0.080 <sup>c</sup>	2.8 <sup>f</sup>	34.60 <sup>a</sup>	0.43495	8°
BoP	4 <sup>e</sup>	45 <sup>e</sup>	0.95 <sup>d</sup>	31.7 <sup>d</sup>	9.29 <sup>a</sup>	38.64 <sup>a</sup>	0.306 <sup>d</sup>	0.069 <sup>e</sup>	3 <sup>f</sup>	34.70 <sup>a</sup>	0.40835	9°
TG	23 <sup>d</sup>	55 <sup>d</sup>	2.88 <sup>c</sup>	30 <sup>d</sup>	5.20 <sup>c</sup>	17.00 <sup>e</sup>	0.304 <sup>d</sup>	0.074 <sup>d</sup>	2 <sup>f</sup>	34.67 <sup>a</sup>	0.39306	10°
Ib	13 <sup>e</sup>	31 <sup>f</sup>	1.31 <sup>d</sup>	12 <sup>f</sup>	6.84 <sup>b</sup>	16.58 <sup>e</sup>	0.256 <sup>e</sup>	0.101 <sup>a</sup>	0.3 <sup>g</sup>	34.54 <sup>a</sup>	0.27213	11°
RRC	0 <sup>e</sup>	24 <sup>g</sup>	0.93 <sup>d</sup>	19 <sup>e</sup>	3.55 <sup>d</sup>	11.17 <sup>f</sup>	0.192 <sup>f</sup>	0.080 <sup>c</sup>	0 <sup>g</sup>	34.78 <sup>a</sup>	0.18025	12°
Gr	0 <sup>e</sup>	0.8 <sup>h</sup>	0.03 <sup>e</sup>	0 <sup>g</sup>	0.00 <sup>e</sup>	0.00 <sup>g</sup>	0.197 <sup>f</sup>	0.090 <sup>b</sup>	0 <sup>g</sup>	34.67 <sup>a</sup>	0.07399	13°
CV	12.5	6.42	11.22	12.17	12.34	9.63	9.91	3.6	13.05	-	-	-

\*Columns followed by distinct letters differ by the Scott-Knott test at 5% significance. Cult. - Cultivars, G - Percentage of Germination, GSI - Germination Speed Index, NS - Number of Normal Seedlings, RL - Root Length, SL - Shoot length, FB - Fresh Biomass, DB - Dry Biomass, MI - Mitotic Index, DNA - DNA Content, TOPSIS - Technique for Order Preference by Similarity, R. - Ranking, CV - Coefficient of Variation.

**Table 5.** Chromosomal abnormalities in root cells from *Lactuca sativa* L. seeds exposed to distilled water.

Cultivars	MN	AB	TB	CM	S	LC	FCA (%)
BB	0	1	6	13	14	10	0.73
BV	6	1	8	13	16	21	1.08
Del	8	1	4	14	8	4	0.65
GL	3	0	0	8	8	7	0.43
GR	4	1	15	7	7	17	0.85
MI	3	0	2	1	2	3	0.18
Mi	0	0	0	0	1	1	0.03
Mo	12	1	12	2	7	9	0.71
QE	13	2	12	6	1	6	0.66
RBP	2	1	1	12	16	9	0.68
RM	4	1	1	5	1	8	0.33
RV	0	1	0	6	4	4	0.25
SSP	10	0	9	1	17	17	0.90
VV	0	2	2	5	21	9	0.65

MN - Micronucleus; AB - Anaphase bridge; TB - Telophase bridge; CM - C-metaphase; S - Stickiness; LC - Lost chromosomes; FCA (%) - Frequency of chromosomal abnormalities. Cytogenetic analyses were performed counting 6000 cells per treatment.

**Table 6.** Chromosomal abnormalities in root cells from *Allium cepa* L. seeds exposed to distilled water.

Cultivars	MN	AB	TB	CM	S	LC	FCA (%)
BP	10	0	1	2	20	1	0.57
BPP	8	0	0	1	11	2	0.37
BoP	0	0	0	0	4	0	0.07
Co	4	0	0	1	5	0	0.17
Cr	9	0	0	5	13	0	0.45
Di	2	1	0	1	0	2	0.10
Gr	0	0	0	0	0	0	0
Ib	0	0	0	0	2	0	0.03
Pr	5	2	0	6	14	1	0.47
RRC	0	0	0	0	0	0	0
TG	12	0	0	0	3	2	0.28
VO	6	1	1	2	14	4	0.47
WC	2	0	2	3	6	0	0.38

MN - Micronucleus; AB - Anaphase bridge; TB - Telophase bridge; CM - C-metaphase; S - Stickiness; LC - Lost chromosomes; FCA (%) - Frequency of chromosomal abnormalities. Cytogenetic analyses were performed counting 6000 cells per treatment.

**Table 7.** Germination, initial growth and cytogenetic variables for different *Lactuca sativa* L. cultivars exposed to distilled water as a negative control and to CdSO<sub>4</sub> solution (500 µM).

Cultivar		G24h (%)	G48h (%)	GSI	NS (%)	RL (mm)	SL (mm)	FB (g)	DB (g)	MI (%)
BV	Control	94 <sup>a</sup>	98.9 <sup>a</sup>	21.24 <sup>a</sup>	93 <sup>a</sup>	23.13 <sup>a</sup>	21.15 <sup>a</sup>	0.430 <sup>a</sup>	0.023 <sup>a</sup>	23 <sup>a</sup>
	CdSO <sub>4</sub>	94 <sup>a</sup>	97.8 <sup>a</sup>	16.89 <sup>b</sup>	12 <sup>b</sup>	2.62 <sup>b</sup>	9.28 <sup>b</sup>	0.230 <sup>b</sup>	0.020 <sup>a</sup>	3.4 <sup>b</sup>
GL	Control	95 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	22.56 <sup>a</sup>	95 <sup>a</sup>	26.03 <sup>a</sup>	20.69 <sup>a</sup>	0.473 <sup>a</sup>	0.026 <sup>a</sup>	28 <sup>a</sup>
	CdSO <sub>4</sub>	96 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	17.38 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	3.00 <sup>b</sup>	7.94 <sup>b</sup>	0.240 <sup>b</sup>	0.020 <sup>a</sup>	1.8 <sup>b</sup>
GR	Control	93 <sup>a</sup>	97.8 <sup>a</sup>	16.46 <sup>a</sup>	94 <sup>a</sup>	37.85 <sup>a</sup>	15.45 <sup>a</sup>	0.413 <sup>a</sup>	0.030 <sup>a</sup>	31 <sup>a</sup>
	CdSO <sub>4</sub>	92 <sup>a</sup>	97.8 <sup>a</sup>	16.28 <sup>a</sup>	3.3 <sup>b</sup>	3.43 <sup>b</sup>	7.59 <sup>b</sup>	0.203 <sup>b</sup>	0.030 <sup>a</sup>	0.03 <sup>b</sup>
CV		6.10	4.04	7.53	8.04	15.46	12.43	4.44	10.6	13.54

\*Columns followed by distinct letters differ by the Scott-Knott test at 5% significance. G - Percentage of Germination, GSI - Germination Speed Index, NS - Number of Normal Seedlings, RL - Root Length, SL - Shoot length, FB - Fresh Biomass, DB - Dry Biomass, MI - Mitotic Index, CV - Coefficient of Variation.

**Table 8.** Germination, initial growth and cytogenetic variables for different *Allium cepa* L. cultivars exposed to distilled water as a negative control and to CdSO<sub>4</sub> solution (500 µM).

Cultivar		G72h (%)	G96h (%)	GSI	NS (%)	RL (mm)	SL (mm)	FB (g)	DB (g)	MI (%)
BP	Control	53 <sup>a</sup>	72 <sup>a</sup>	2.16 <sup>a</sup>	81 <sup>a</sup>	11.18 <sup>a</sup>	35.68 <sup>a</sup>	0.380 <sup>a</sup>	0.090 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>
	CdSO <sub>4</sub>	31 <sup>b</sup>	38 <sup>b</sup>	1.22 <sup>b</sup>	74 <sup>b</sup>	10.11 <sup>a</sup>	26.43 <sup>b</sup>	0.335 <sup>a</sup>	0.090 <sup>a</sup>	17 <sup>b</sup>
Cr	Control	38 <sup>a</sup>	52 <sup>a</sup>	1.80 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	7.89 <sup>a</sup>	24.84 <sup>a</sup>	0.267 <sup>a</sup>	0.060 <sup>a</sup>	8.9 <sup>b</sup>
	CdSO <sub>4</sub>	31 <sup>b</sup>	35 <sup>b</sup>	1.38 <sup>b</sup>	15 <sup>b</sup>	6.15 <sup>b</sup>	24.35 <sup>a</sup>	0.235 <sup>a</sup>	0.060 <sup>a</sup>	13 <sup>a</sup>
VO	Control	23 <sup>a</sup>	35 <sup>a</sup>	1.10 <sup>b</sup>	18 <sup>a</sup>	5.99 <sup>a</sup>	17.69 <sup>a</sup>	0.200 <sup>a</sup>	0.063 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup>
	CdSO <sub>4</sub>	16 <sup>b</sup>	19 <sup>b</sup>	1.31 <sup>a</sup>	11 <sup>b</sup>	5.03 <sup>a</sup>	11.01 <sup>b</sup>	0.229 <sup>a</sup>	0.080 <sup>a</sup>	2.04 <sup>b</sup>
CV		8.88	10.46	6.50	11.16	7.77	7.89	11.73	3.19	5.43

\*Columns followed by distinct letters differ by the Scott-Knott test at 5% significance. G - Percentage of Germination, GSI - Germination Speed Index, NS - Number of Normal Seedlings, RL - Root Length, SL - Shoot length, FB - Fresh Biomass, DB - Dry Biomass, MI - Mitotic Index, CV - Coefficient of Variation.

**Table 9.** Chromosomal abnormalities in root cells from *Lactuca sativa* L. seeds exposed to 500  $\mu\text{M}$  cadmium solution and distilled water as a negative control.

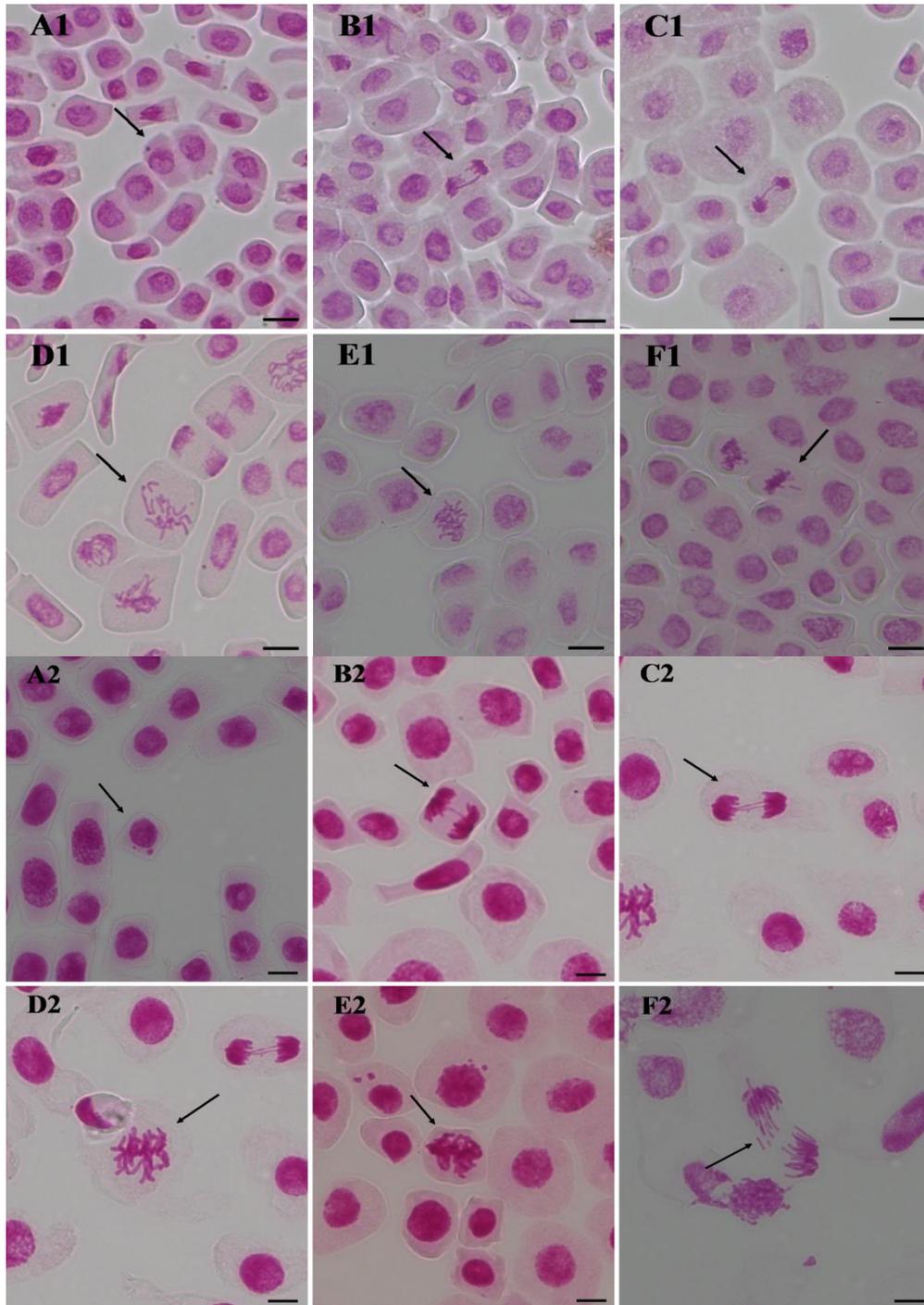
Cultivar		MN	AB	TB	CM	S	LC	FCA (%)
BV	Control	0	0	0	3	9	1	0.22
	CdSO <sub>4</sub>	0	0	2	12	1	1	0.27
GL	Control	1	0	0	1	7	5	0.23
	CdSO <sub>4</sub>	0	0	0	9	7	0	0.27
GR	Control	0	1	0	0	26	1	0.47
	CdSO <sub>4</sub>	1	0	0	1	0	0	0.03

MN - Micronucleus; AB - Anaphase bridge; TB - Telophase bridge; CM - C-metaphase; S - Stickiness; LC - Lost chromosomes; FCA (%) - Frequency of chromosomal abnormalities. Cytogenetic analyses were performed counting 6000 cells per treatment.

**Table 10.** Chromosomal abnormalities in root cells from *Allium cepa* L. seeds exposed to 500  $\mu\text{M}$  cadmium solution and distilled water as a negative control.

Cultivar		MN	AB	TB	CM	S	LC	FCA (%)
BP	Control	10	1	0	0	17	2	0.50
	CdSO <sub>4</sub>	4	0	1	0	21	4	0.50
Cr	Control	12	2	2	0	16	1	0.52
	CdSO <sub>4</sub>	32	0	0	1	31	2	1.12
VO	Control	44	2	4	2	15	23	1.50
	CdSO <sub>4</sub>	1	0	0	0	3	0	0.07

MN - Micronucleus; AB - Anaphase bridge; TB - Telophase bridge; CM - C-metaphase; S - Stickiness; LC - Lost chromosomes; FCA (%) - Frequency of chromosomal abnormalities. Cytogenetic analyses were performed counting 6000 cells per treatment.



**Figure 1.** Chromosomal abnormalities observed in meristematic cells of *L. sativa* (1) and *A. cepa* (2) exposed to distilled water. (A1 and A2) Micronucleus; (B1 and B2) Anaphase Bridge; (C1 and C2) Telophase Bridge; (D1 and D2) C-Methaphase; (E1 and E2) Stickiness; (F1 and F2) Lost Chromosome.



**Figure 2.** Action of a toxic substance in the plant bioassay. A) Lettuce exposed to distilled water (control) and CdSO<sub>4</sub> solution. B) Onion exposed to distilled water (control) and CdSO<sub>4</sub> solution.