

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DAS ÁGUAS DOS RIBEIRÕES VARGINHA (CALIFÓRNIA-PR) E TABATINGA (MANDAGUARI-PR), EM *Allium cepa* L.

Carlos Fernando Ferreira¹, Andréia Bortoloti Frueh¹, Elisângela Düsman¹, Michele Cristina Heck¹, Veronica Elisa Pimenta Vicentini¹

RESUMO

Os recursos hídricos são altamente contaminados por efluentes urbanos, industriais e agrícolas, consequência do desenvolvimento industrial e crescimento desordenado da população humana. Por essa razão, este trabalho objetivou avaliar o potencial citotóxico das águas dos Ribeirões Varginha e Tabatinga, localizados, respectivamente, na área urbana dos municípios de Califórnia e Mandaguari, região norte central do Estado do Paraná, que recebem efluentes industriais e urbanos pelo seu curso. Para tanto, utilizou-se de uma pesquisa de abordagem qualitativa e de caráter exploratório. Foram utilizadas como sistema-teste as células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. As raízes de cebola foram preparadas pela reação de Feulgen e coradas com o reativo de Schiff. Os resultados obtidos mostraram que não houve alterações, estatisticamente significativas, pelo teste do qui-quadrado, nos índices de divisão celular nas células de *Allium cepa* L., tratadas com as águas dos ribeirões, em relação aos dados obtidos para os controles. Entretanto, considerando que alguns parâmetros físico-químicos estavam acima dos limites permitidos pela legislação vigente é importante que seja realizado um monitoramento ambiental nas regiões dos ribeirões, no sentido de analisar a citotoxicidade das águas desses, em diferentes épocas do ano, buscando manter a qualidade da água e, conseqüentemente, de todo o ecossistema.

Palavras-chave: bioindicador; monitoramento ambiental; águas de rios; ecotoxicologia.

EVALUATION OF CYTOTOXICITY OF VARGINHA (CALIFÓRNIA-PR) AND TABATINGA (MANDAGUARI-PR) WATER STREAMS IN *Allium cepa* L.

ABSTRACT

Water resources are highly contaminated by urban, industrial and agricultural sewage. It is a consequence of industrial development and uncontrolled growth of human population. Therefore, this study aimed to assess the cytotoxic potential of Varginha and Tabatinga water streams, respectively located in the cities of Califórnia and Mandaguari, north central region of state of Paraná, which receives industrial and municipal effluents through their course. For this purpose, a research with a qualitative and exploratory approach was carried out. Meristematic root cells of *Allium cepa* L. were used as test system. The onion roots were prepared by Feulgen reaction and stained with Schiff reagent. Results show that there were no statistically significant changes (chi-square test) in rates of cell division of *Allium cepa* L. treated with water from the streams and control. However, since some physical and chemical parameters were over the limits allowed in law an environmental monitoring should be carried out in areas of streams, in order to analyze the cytotoxicity of these waters at different times of the year, to maintain the quality of water and, consequently, the whole ecosystem.

Keywords: bioindicator; environmental monitoring; water for rivers; ecotoxicology.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento industrial e o crescimento desordenado da população humana atuam de forma desfavorável ao equilíbrio do meio ambiente, principalmente pela contaminação dos recursos hídricos por efluentes urbanos, industriais e agrícolas. Conseqüentemente, os seres vivos são afetados por perturbações, diretas e indiretas, causadas por substâncias nocivas presentes no meio ambiente (1).

No Brasil, a qualidade da água dos rios tem sido regulada pelo CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), resolução N°357/2005, que classifica as águas e determina os parâmetros físicos e químicos, que visam controlar a eliminação dos poluentes no ambiente para níveis não prejudiciais ao homem e aos outros organismos (2).

Ainda assim, há uma preocupação relacionada com a precisão de se estabelecer níveis tolerados, pois alguns estudos têm mostrado que, para certos parâmetros, até mesmo valores baixos podem estar associados a efeitos genotóxicos (3). Além disso, os testes

¹ Departamento de Biologia Celular e Genética. Universidade Estadual de Maringá.

citogenéticos permitem a compreensão dos efeitos de algumas substâncias sobre os organismos e são eficientes quando utilizados no biomonitoramento da extensão da poluição (4).

Segundo Smaka-kincl et al. (5), um meio confiável para a determinação rápida da presença de substâncias tóxicas no meio ambiente, para o monitoramento dos níveis de poluição em ambientes naturais e para avaliação dos níveis de poluição da água, é quantificar a redução da divisão celular em meristema de raiz de *Allium cepa* L. Resultados do teste com *A. cepa* podem indicar a presença de substâncias tóxicas, citotóxicas e até mutagênicas no ambiente, e que colocam em risco a sobrevivência dos organismos (6). Neste sentido, é importante estudar a qualidade dos ambientes aquáticos, em especial dos rios e ribeirões que cortam e abastecem as cidades.

Como muitos outros, os Ribeirões Varginha e Tabatinga, localizados, respectivamente, na área urbana dos municípios de Califórnia e Mandaguari, região norte central do Estado do Paraná, recebem efluentes industriais e urbanos durante seu curso. As nascentes destes ribeirões estão localizadas na região urbana das cidades, com muitas residências e indústrias nas redondezas, sendo contaminados por esgotos domésticos. Contudo, ainda assim, são utilizados juntamente com outros ribeirões, para o fornecimento de água nos municípios, como lazer e nas irrigações das plantações agrícolas localizadas nas suas proximidades.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo investigar o potencial citotóxico, das águas dos Ribeirões Varginha e Tabatinga, por meio das análises do índice de divisão celular e de alterações celulares e cromossômicas, em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L.

MATERIAL E MÉTODOS

Solução tratamento

As amostras de água do Ribeirão Varginha, localizado no Município de Califórnia-PR, foram coletadas com tempo bom, céu aberto, temperatura ambiente por volta dos 30°C, após um período de 6 dias sem chuva, em três pontos ao longo de seu percurso: nascente, 100m abaixo da nascente (ponto I) e 200m

abaixo da nascente (ponto II), conforme localização indicada na Figura 1.

Características dos pontos de coleta das amostras do Ribeirão Varginha:

NASCENTE: a região possuía vegetação nativa com árvores de grande porte, porém com pouca expansão de território, tendo ao seu redor várias residências e também o pátio de máquinas da prefeitura municipal.

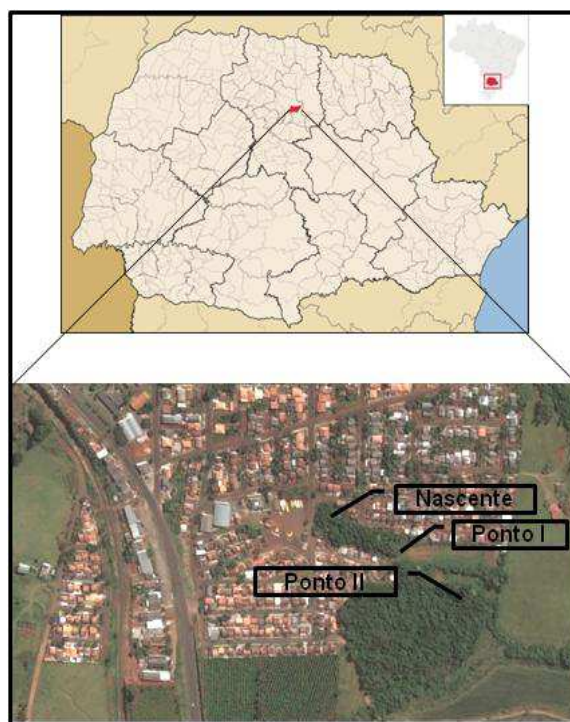


Figura 1 – Localização dos pontos de coleta das amostras de água do Ribeirão Varginha, no Município de Califórnia-PR. (Modificado de maps.google.com.br).

PONTO I: na região da coleta não existia vegetação, estando bastante próximo das residências.

PONTO II: nesta região a vegetação era mais fechada e com maior extensão na margem direita do rio, e na margem esquerda existiam três represas que, apesar de inoperantes, seriam utilizadas para a decantação dos rejeitos despejados pelo pátio de máquinas.

As amostras de água do Ribeirão Tabatinga, localizado no Município de Mandaguari-PR, foram coletadas após um período de chuvas constantes, em três pontos ao longo de seu percurso: próxima a nascente (Ponto I), região de encontro entre dois bairros da cidade (Ponto II), e água de uma propriedade



rural por onde passa o Ribeirão Tabatinga (Ponto III), conforme indicado na Figura 2.

Características dos pontos de coleta das amostras recolhidas no Ribeirão Tabatinga:

PONTO I: localizado próximo a nascente, atrás da Rodovia parque das Indústrias, no Parque Industrial I, a região apresentava pouca mata ciliar, e foram observados entulhos arrastados pela chuva e pela ação direta do homem.

PONTO II: localizado no encontro entre os bairros Jardim Cristina e Jardim Progresso, nas proximidades existia tráfego de automóveis e de pessoas, ponto de recreação e lazer em dias quentes, por isso, apresentava um grande acúmulo de entulhos.

PONTO III: dentro de uma propriedade rural, localizada atrás da BR-444.

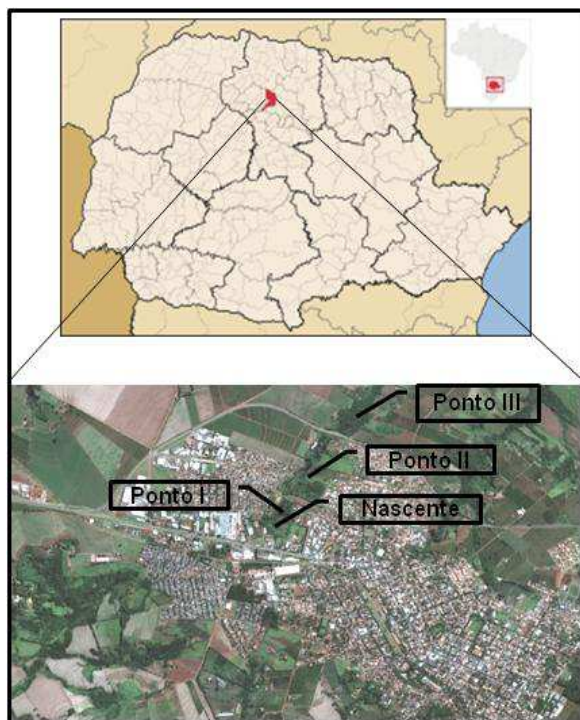


Figura 2 - Localização dos pontos de coleta das amostras de água do Ribeirão Tabatinga, no Município de Califórnia - PR. (Modificado de maps.google.com.br).

As análises físico-químicas das amostras de água foram realizadas no Laboratório de Saneamento Básico, do Departamento de Engenharia Civil, da Universidade Estadual de Maringá e abrangeu os seguintes parâmetros: pH, turbidez, sólidos sedimentáveis em cone de Imhoff, demanda

química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅) e presença de óleos e graxas. Os valores foram comparados aos dados do órgão oficial brasileiro, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (2), para a classe 1 das águas doces.

Células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L.

A parte experimental foi realizada segundo a metodologia originalmente introduzida por Levan em 1949 (7).

Os bulbos de cebola foram colocados para enraizar em frascos com água à temperatura ambiente, aerada e no escuro. Antes de cada tratamento, três raízes foram coletadas e fixadas (3 metanol: 1 ácido acético) para servirem de controle do próprio bulbo (Co-0h). Em seguida, as raízes destes bulbos foram colocadas nas amostras das águas coletadas, dos ribeirões, por 24h. Após o tempo de tratamento, foram retiradas três raízes de cada cebola e fixadas (Tr-24h). As raízes restantes foram lavadas e os bulbos novamente colocados em água filtrada, para recuperação, de eventuais danos ocorridos, por 24h, sendo as raízes restantes retiradas e fixadas (Re-24h).

Foram realizados dois controles negativos (CO-1 e CO-2), os quais permaneceram em água filtrada durante todas as amostragens, a fim de comparar as diferentes amostras de água com os seus respectivos controles nos diferentes períodos.

As raízes foram preparadas pela reação de Feulgen, permaneceram no fixador por 24h na geladeira, depois foram lavadas com água destilada e sofreram hidrólise com 5mL de ácido clorídrico 1N a 60°C, por 10 minutos, em estufa a 60°C. Após lavagem, as raízes foram coradas com 5mL do reativo de Schiff por 45 minutos.

Para a confecção das lâminas, foi utilizada a região mais corada das raízes, contendo as células meristemáticas, que foi macerada com orceína acética e coberta com lamínula. As lâminas foram armazenadas por 24h no congelador e após, as lamínulas foram descoladas em nitrogênio líquido, e deixadas secar à temperatura ambiente. As lâminas permanentes foram montadas com bálsamo do Canadá.

A análise das lâminas foi feita, em teste “cego”, em microscópico de luz, com objetiva de 40x. Para avaliar as células com alterações estruturais e determinação do Índice Mitótico (IM %), foram utilizados cinco bulbos para o grupo controle e cada grupo tratamento com as águas de cada ribeirão, sendo analisadas 1.000 células por bulbo, totalizando 5.000 células por grupo. O cálculo do IM foi feito pela razão do número de células em divisão pelo número total de células analisadas, multiplicado por 100.

A análise estatística foi realizada pelo teste do Qui-quadrado ($n=5$, $\alpha=0,05$).

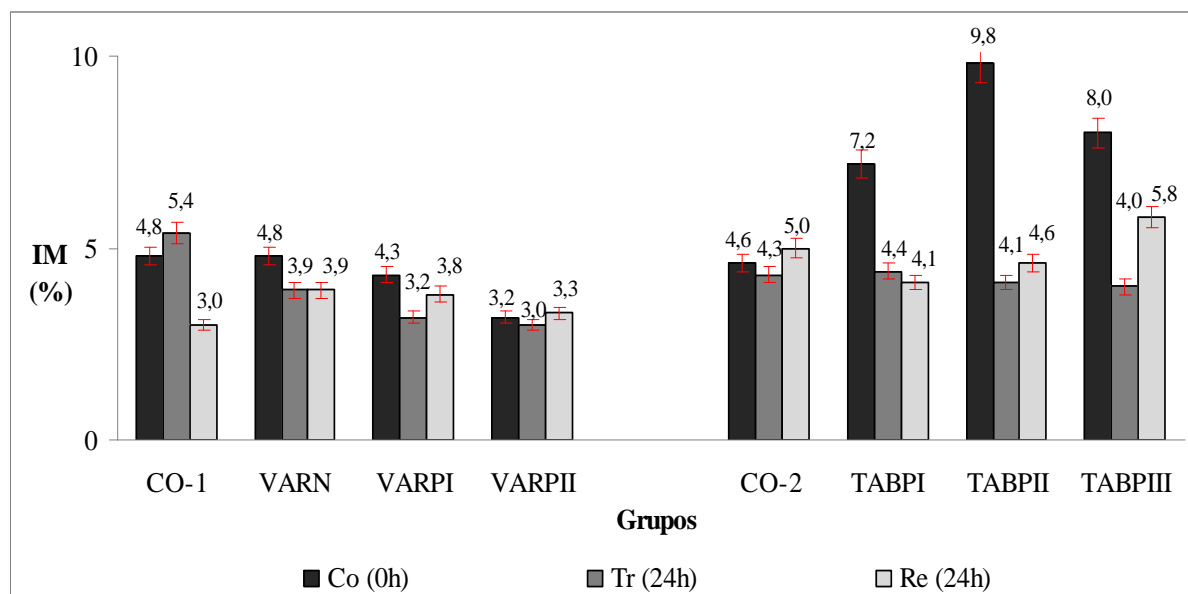
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Figura 3 mostram que não houve alterações, estatisticamente significativas, nos índices de divisão celular das amostras de água dos Ribeirões Varginha e Tabatinga. Portanto, as amostras de água destes ribeirões não se mostraram citotóxicas no sistema-teste com

células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L., em nenhum dos tempos avaliados.

Corroboram com estes resultados o trabalho de Düsman et al. (8), que não encontraram citotoxicidade, utilizando o mesmo sistema-teste do presente estudo, nas águas dos Córregos Corregozinho, Isalto, Morangueira e Ozório, localizados na área urbana da cidade de Maringá-PR.

Não foram observadas alterações morfológicas celulares e nem alterações cromossômicas quando da exposição às águas dos Ribeirões Varginha e Tabatinga. Resultados similares foram encontrados no estudo de Silva et al. (9), que também obtiveram resultados negativos para a citotoxicidade e para as aberrações cromossômicas das amostras de águas dos Ribeirões Fichta e Minas Gerais, localizados próximos à cidade de Ubatuba-PR, em um experimento feito em sistema-teste animal, com medula óssea de ratos Wistar tratados in vivo.



Figuras 3 - Percentuais dos Índices Mitóticos (IM) médio, obtidos para cada grupo controle e tratado com as águas dos Ribeirões Varginha (Município de Califórnia-PR) e Tabatinga (Município de Mandaguari-PR).

Grupos – Controle: Controle 1 (CO-1), Controle 2 (CO-2) e Tratado: Ribeirão Varginha Nascente (VARN), Ribeirão Varginha ponto I (VARPI), Ribeirão Varginha ponto II (VARPII), Ribeirão Tabatinga ponto I (TABPI), Ribeirão Tabatinga ponto II (TABPII), Ribeirão Tabatinga ponto III (TABPIII).

Tempo de Amostragem: Controle (Co)=0h, Tratado (Tr)=24h, Recuperação (Re)=24h.

Em outro estudo, Düsman et al. (2010), avaliando os Ribeirões Mandacaru, Maringá, Miosóti e Nazareth, que estão localizados na região urbana de Maringá-PR, também não mostraram, em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L., atividade citotóxica dessas águas. Esses resultados foram considerados

pelos autores dependentes das variações climáticas, da concentração das substâncias nocivas, e da época e local das amostragens avaliadas.

É possível que os resultados negativos para a citotoxicidade dos Ribeirões Varginha e



Tabatinga estejam relacionados com o período de chuvas constantes na época das coletas das amostras de água, o que pode ter ocasionado diluições ou arraste dos efluentes lançados nestes ribeirões. Apesar disso, algumas substâncias potencialmente danosas, provenientes dos efluentes, ainda poderiam estar presentes nestas águas ou em seus sedimentos e resultarem em potencial citotóxico, principalmente aos organismos daquele ecossistema e em longo prazo. Além disso, vale destacar que frequentemente as indústrias escolhem dias chuvosos para descartarem seus efluentes, a fim de evitarem a exposição de suas empresas e permitirem a mistura de seus poluentes com a água suja dos rios após a chuva.

Peron et al. (11), verificaram que as águas do Rio Pirapó situado no município de Apucarana-PR, coletadas nos períodos de chuva não apresentaram potencial citotóxico, no entanto, nos períodos de escassez, essas águas reduziram significativamente os índices de divisão celular de células meristemáticas de *Allium cepa* L. Moraes e Jordão (12), estudando os efeitos citogenéticos da água do Rio Paraguai no município de Corumbá-MS, constataram que o ciclo de inundação e seca influenciou o nível de citotoxicidade e genotoxicidade da água dos rios, uma vez que, nos períodos de estiagem prolongada ocorreu a potencialização da ação tóxica dos poluentes presentes na água do rio.

Vale destacar que existe uma grande dificuldade de se avaliar o potencial tóxico de misturas complexas, tais como, as provenientes de águas poluídas por dejetos orgânicos, pois em águas de rios e represas deve-se levar em consideração a diluição pontual dos

xenobióticos, as relações antagonistas entre as substâncias, a rápida associação que ocorre entre a maioria das partículas e a matéria húmica, e a sedimentação de sólidos em suspensão (13,14).

Entretanto, os resultados negativos para a citotoxicidade do presente estudo são importantes porque os resultados obtidos com o sistema-teste de *Allium cepa* L. podem ser extrapolados para avaliação em modelos animais e de células humanas, pois resultados de diversos estudos com *Allium* têm demonstrado uma boa correlação com os resultados de outros sistemas-teste procarióticos ou eucarióticos animais (15,16).

As análises dos parâmetros físico-químicos (Tabela 1) das amostras de água do Ribeirão Varginha justificam a não citotoxicidade do mesmo, pois, em relação às normas ambientais do Conama N°357/2005, para a classe 1 das águas doces, as amostras apresentaram valores normais de pH (6-9), turbidez (<40uT), óleos e graxas (virtualmente ausentes), sólidos dissolvidos totais (<500mg/L), DQO (3-5mg/L) e DBO5 (<3mg/L O₂). Entretanto, algumas análises do Ribeirão Tabatinga apresentaram valores acima dos permitidos pelo Conama N° 357/2005 (Tabela 1). A DBO₅ nos pontos I, II e III foi de 3,9, 27 e 12mg/L, respectivamente, sendo o permitido até 3mg/L, a DQO foi 5,2mg/L (Ponto I), 35mg/L (Ponto II) e 17,5mg/L (Ponto III), bem acima dos 3-5mg/L permitidos pela legislação, e os óleos e graxas, que pela legislação deveriam estar virtualmente ausentes, teve concentração de 4,2mg/L (Ponto I), 1,1mg/L (Ponto II) e 3,0mg/L (Ponto III).

Tabela 1 - Resultados das análises químicas das amostras de água dos Ribeirões Varginha (Município de Califórnia-PR) e Tabatinga (Município de Mandaguari-PR).

Local e Ponto da coleta		pH	Turbidez (uT)	SSIC (mL/Lh)	DQO (mg/L)	DBO ₅ (mg/L)	Óleos, graxas (mg/L)
Ribeirão Varginha	Nascente	6,60	6,99	0,10	2,0	0,3	0,0
	Ponto I	6,29	10,37	0,00	2,8	0,6	0,0
	Ponto II	7,60	12,21	0,00	3,3	1,0	0,0
Ribeirão Tabatinga	Ponto I	6,51	12,10	0,01	5,2	3,9	4,2
	Ponto II	6,49	26,60	0,30	35,0	27,0	1,1
	Ponto III	6,86	21,50	0,05	17,5	12,0	3,0

A DBO₅ mede a quantidade de oxigênio necessária para que os microorganismos biodegradem a matéria orgânica e esta ao ser biodegradada nos corpos receptores causam um decréscimo da concentração de oxigênio dissolvido no meio hídrico, deteriorando a qualidade ou inviabilizando a vida aquática (17). Considerando que aumentos em termos de DBO₅ em um corpo d'água, são provocados por despejos de origem predominantemente orgânica, e aumentos na concentração de DQO se devem, principalmente, a despejos de origem industrial (18), pode-se inferir que o Ribeirão Tabatinga, nos pontos I, II e III, tem sofrido com o descarte de esgotos e efluentes industriais tratados ou in natura.

Resultados semelhantes aos do presente estudo foram encontrados por Valente et al. (19), que observaram elevados valores de DQO e DBO₅ nas amostras de água do Ribeirão Lavapés, localizado no município de Botucatu-SP, coletadas próximas à cidade e após bairros populosos, semelhante aos pontos I, II e III do Ribeirão Tabatinga. Carvalho et al. (20), estudando o Ribeirão Ubá, localizado na cidade de Ubá-MG, também obtiveram valores maiores de DBO₅ nos pontos com a maior descarga de esgoto.

Considerando a relação DQO/DBO₅, pode-se inferir que o Ribeirão Varginha nas regiões nascente (6,67), Ponto I (4,67) e Ponto II (3,3), estão em condições apropriadas, com baixa presença de carga orgânica ainda biodegradável. Entretanto, para o Ribeirão Tabatinga foi observado valores baixos para a relação DQO/DBO₅ (Ponto I: 1,33, Ponto II: 1,29 e Ponto III: 1,45) indicando grande presença de esgoto biodegradável, característica de lançamentos domésticos, semelhante aos dados encontrados por Thebaldi et al. (21), em estudo do Córrego Jurubatuba no Município de Anápolis-GO.

Os óleos e graxas estão comumente presentes nos efluentes tendo sua origem de restaurantes industriais, oficinas mecânicas, casa de caldeiras, equipamentos que utilizem óleo hidráulico, além de matérias primas com composição oleosa (gordura de origem vegetal, animal e óleos minerais) (17). Essas substâncias constituem um fator negativo para o tratamento de despejos e para o tratamento de mananciais utilizados no abastecimento público, além de reduzirem o oxigênio dissolvido elevando a DBO₅ e a DQO (18). Vale destacar que um estudo realizado por Leme et al. (22), com as amostras de água impactadas por vazamento de petróleo do Rio

Guaecá-SP, em *Allium cepa* L., demonstrou que estas águas tiveram efeito clastogênico e aneugênico.

Além disso, vale destacar que devido ao fato dos Ribeirões Varginha e Tabatinga estarem localizados na região urbana e agrícola das cidades, é possível que as águas desses ribeirões estejam contaminadas por poluentes emergentes, como produtos farmacêuticos, hormônios naturais e sintéticos, pesticidas, substâncias tensoativas, polímeros de baixa massa molecular, produtos de uso veterinário, solventes e outros contaminantes orgânicos (23), que podem não ter causado muitas alterações nas análises físico-químicas realizadas, mas que possuem a habilidade de se bioacumularem, persistirem no ambiente, terem potencial tóxico e potencializarem o impacto dos efluentes sobre a água (24).

A toxicidade aguda de alguns poluentes emergentes e seus efeitos como desreguladores endócrinos já foram comprovados em testes com bactérias, algas, invertebrados e peixes (24, 25, 26). No entanto, mais relevante ainda são os efeitos crônicos dessas substâncias, pois muitas espécies são continuamente expostas por longos períodos sofrendo a ação cumulativa destes compostos (26).

Os testes de toxicidade têm sido cada vez mais utilizados para a determinação de efeitos deletérios em organismos aquáticos, em virtude, principalmente, do potencial risco de transferência de poluentes do ambiente para os organismos, inclusive o homem. A exposição humana a despejos de diferentes origens tem conduzido a diversos efeitos relacionados com a saúde em geral, como dor de cabeça, náuseas, irritações na pele, sérias reduções neurológicas, e existem até evidências de efeitos genotóxicos à saúde, como câncer, defeitos congênitos e anomalias reprodutivas (4).

De acordo com a legislação do Conama Nº 357/2005, as águas dos Ribeirões Varginha (no Município de Califórnia-PR) e Tabatinga (no Município de Mandaguari-PR) podem ser utilizadas no abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado, na proteção das comunidades aquáticas, na recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, e na irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo. Desta forma, levando-se em consideração as finalidades pelas quais estas



águas podem ser utilizadas, torna-se preocupante a presença de substâncias acima dos limites permitidos na legislação vigente nas águas do Ribeirão Tabatinga.

Nesse sentido, é relevante que seja realizado um monitoramento ambiental constante nas regiões dos ribeirões avaliados no presente estudo, no intuito de analisar a citotoxicidade das águas desses em diferentes épocas do ano, buscando manter a qualidade da água dos mesmos e, conseqüentemente, o equilíbrio de todo o ecossistema.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente estudo mostram que as amostras das águas dos Ribeirões Varginha no Município de Califórnia e Tabatinga no Município de Mandaguari, do Estado do Paraná, não foram citotóxicas para as células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. Entretanto, considerando que nos pontos de coleta do Ribeirão Tabatinga alguns parâmetros físico-químicos foram maiores do que os permitidos pela legislação vigente, sendo assim, é importante que seja realizado um monitoramento ambiental nas regiões amostradas desse ribeirão.

Carlos Fernando Ferreira, Andréia Bortoluti Frueh, Elisângela Düsman, Michele Cristina Heck, Veronica Elisa Pimenta Vicentini.

Endereço para correspondência: Veronica Elisa Pimenta Vicentini

Avenida Colombo, 5790, Bloco H67 (11)

Maringá - PR

87020-900

E-mail: lisdusman@hotmail.com

Recebido em 11/07/2011

Revisado em 03/10/2011

Aceito em 08/12/2011

REFERÊNCIAS

- (1) AMARAL, A. M.; BARBÉRIO, A.; VOLTOLINI, J. C.; BARROS, L. Avaliação preliminar da citotoxicidade e genotoxicidade, da água da bacia do rio Tapanhon (SP- Brasil) através do teste *Allium* (*Allium cepa*). **Revista Brasileira de Toxicologia**, São Paulo, 20(1-2): 65-72, jan./jul., 2007.
- (2) CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). Resolução número 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>> Acesso em: 17 jun. 2011.
- (3) MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTI, M. I. A.; DIAS, A. L.; FONSECA, I. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberration in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, 29(1): 148-158, jan./mar. 2006.
- (4) MORAES, D. S. L.; JORDÃO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, 36(3): 370-374, jun. 2002.
- (5) SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOVKA, M.; TOMAN, M. J. The Evaluation of Waste, Surface and Ground Water Quality Using *Allium* Test Procedure. **Mutation Research**, Amsterdam, 368(3-4): 171-179, jul. 1996.
- (6) RABELLO-GAY, M. N.; RODRIGUES, M. A. R.; MONTELEONE-NETO, R. **Mutagênese, teratogênese e Carcinogênese: métodos e critérios de avaliação**. 1 ed. Ribeirão Preto: Sociedade de Genética/ Revista Brasileira de Genética, p. 07-08, 75-77, 1991.
- (7) FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Landskrona, 102(1): 99-112, mar. 1985.
- (8) DÜSMAN, E.; FARIA, J. S.; TOLEDO, F.; MAZETI, C. M.; GONÇALVES, M. E. K.; VICENTINI, V. E. P. Vegetal test-system investigation on cytotoxicity of water from urban streams located in the northeastern region of Maringá, Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, 33(1): 71-77, jan./mar. 2011.
- (9) SILVA, M. F. P. T. B.; FERRARI, G. P.; DE TOLEDO, F.; DA ROCHA, T. C. L. M. C.; VICENTINI, V. E. P. Mutagenic effect of fresh water (well, rivers Fichta and Minas Gerais, close to the town of Ubiratã, Paraná, Brasil) in the animal test system. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, 26(1): 101-105, jan./mar. 2004.
- (10) DÜSMAN, E.; GONÇALVES, L. A.; REUSING, A. F.; MARTIN, P. G.; MARIUCCI, R. G.; VICENTINI, V. E. P. Cytotoxic potential of waters of the streams Mandacaru, Maringá, Miosótis and Nazareth in the urban area of Maringá PR Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, 2010. (No prelo)



- (11) PERON, A. P.; CANESIN, E. A.; CARDOSO, C. M. V. Potencial mutagênico das águas do Rio Pirapó (Apucarana, Paraná, Brasil) em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, 7(2): 155-159, abr./jun. 2009.
- (12) MORAES, D. S. L.; JORDÃO, B. Q. Avaliação dos potenciais tóxico, citotóxico e genotóxico de águas ambientais de Corumbá-MS em raízes de *Allium cepa*. 2000. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2000.
- (13) ODEIGAH, P. G. C.; NURUDEEN, O.; AMUND, O. O. Genotoxicity of oil field wastewater in Nigeria. **Hereditas**, Landskrona, 126(2): 161-167, jun. 1997.
- (14) FERREIRA, C. M. **Avaliação da Toxicidade do cobre e do uso de girinos de rã touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) como animais sentinelas**. 2002. 109 p. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- (15) GRANT, W. F. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. **Mutation Research**, Amsterdam, 310(2): 175-185, oct. 1994.
- (16) RANK, J.; NIELSEN, M. H. Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. **Mutation Research**, Amsterdam, 418(2-3): 113-119, oct. 1998.
- (17) GIORDANO, G. **Análise e formulação de processos para tratamento dos chorumes gerados em aterros de resíduos sólidos urbanos**. Rio de Janeiro-RJ, 2003. 257 p. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) PUC - Rio de Janeiro, 2003.
- (18) IGAM. Instituto Mineiro de Gestão das Águas: parâmetros químicos. Disponível em: <<http://www.igam.mg.gov.br>>. Acesso em: 17 jun. 2011.
- (19) VALENTE, J. P. S.; PADILHA, P. M.; SILVA, A. M. M. Oxigênio dissolvido (OD), demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO) como parâmetros de poluição no ribeirão Lavapés/Botucatu – SP. **Eletica Química**, Araraquara, 22: 49-66, 1997.
- (20) CARVALHO, F.; FERREIRA, A. L.; STAPELFELDT, F. Qualidade das águas do ribeirão Ubá-MG. **Revista Escola de Minas**, Ouro Preto, 57(3): 165-172, jul./set. 2004.
- (21) THEBALDI, M. S.; SANDRI, D.; FELISBERTO, A. B.; ROCHA, M. S.; NETO, S. A. Qualidade da água de um córrego sob influência de efluente tratado de abate bovino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, 15(3): 302–309, mar. 2011.
- (22) LEME, D. M.; ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, 88(4): 214-219, jul. 2008.
- (23) REIS FILHO, R. W.; LUVIZOTTO-SANTOS, R.; VIEIRA, E. M. Poluentes Emergentes como Desreguladores Endócrinos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Itajaí, 2(3): 283-288, set./dez. 2007.
- (24) BOLES, T. H.; WELLS, M. J. M. Analysis of amphetamine and methamphetamine as emerging pollutants in wastewater and wastewater-impacted streams. **Journal of Chromatography A**, New York, 1217(16): 2561-2568, apr. 2010.
- (25) PEDROSO, R. C. R. **Desenvolvimento de métodos de análise por CLAE-UV para os antimicrobianos tetraciclina, sulfametaxazol e trimetoprima, utilizando materiais à base de sílica e polímeros como sistemas de pré-concentração**. 2007. 122f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.
- (26) FARRÉ, M. L.; PÉREZ, S.; KANTIANI, L.; BARCELÓ, D. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, 27(11): 991-1007, dec. 2008.