

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DAS ÁGUAS SUPERFICIAIS DO RIBEIRÃO ATLÂNTICO (MADAGUAÇU-PR) EM *Allium cepa* L.

Bruno Cesar Circunvis¹, Michele Cristina Heck¹, Veronica Elisa Pimenta Vicentini¹

RESUMO

Muitos estudos têm sido realizados com o intuito de avaliar os efeitos da ação antrópica sobre os recursos hídricos. Diante disso, o presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial citotóxico das águas superficiais da Nascente, da Confluência e da Jusante do Ribeirão Atlântico, um afluente do Rio Pirapó, localizado no Município de Mandaguaçu-PR, em sistema teste vegetal, com células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. Para tanto, foi avaliado o efeito das águas sobre o ciclo de divisão celular. Raízes de bulbos de *Allium cepa*, foram preparados pela reação de Feulgen e corados com o reativo de Schiff. Os dados foram obtidos a partir da análise de 5.000 células por grupo, nos tempos de 0h-controle, 24h de tratamento com as águas do ribeirão e 24h de recuperação em água filtrada. A análise estatística, pelo teste do Qui-quadrado, demonstrou que os resultados de nenhum dos pontos avaliados foi estatisticamente diferente do controle negativo, feito com água filtrada, ou seja, as águas superficiais dos três pontos amostrados não apresentaram potencial citotóxico neste sistema teste. Apesar de não terem sido encontrados resultados positivos para citotoxicidade é de vital importância que estudos de monitoramento continuem sendo realizados neste ribeirão, já que se trata de uma região com intensa atividade agrícola.

Palavras-chave: *mutagênese ambiental; citotoxicidade; Allium cepa* L.; águas de rio.

INVESTIGATION OF CYTOTOXIC POTENTIAL OF SURFACE WATER OF ATLANTIC RIVER (MADAGUAÇU-PR) in *Allium cepa* L.

ABSTRACT

Many studies have been conducted in order to evaluate the effects of human activity on water resources. Thus, the aim of the present study was to evaluate the cytotoxic potential of surface water in source, confluence and downstream of Atlantic river, a tributary of Pirapo river, placed in Mandaguaçu-PR. The plant test system with meristematic root cells of *Allium cepa* L was carried out. The effect of water on the cell division cycle was evaluated. Onion roots were prepared by Feulgen reaction and stained with Schiff's reagent. Data were obtained from analysis of 5000 cells per group in three different times: a) 0 hours (control); b) 24 hours of treatment with the river waters; c) 24 hours of recovery in filtered water. Statistical analysis by chi-square show that none of the points assessed was statistically different from control, i.e., the surface waters of three sampling sites showed no cytotoxic potential. Although positive results for cytotoxicity have not been found it is of vital importance that monitoring studies continue to be performed at this stream, since it is a region with intensive agriculture.

Keywords: *environmental mutagenesis; cytotoxicity; Allium cepa* L.; river water.

INTRODUÇÃO

O crescimento das cidades e a necessidade da agricultura fornecer alimentos estão entre os fatores que têm sido responsáveis pelo aumento da pressão das atividades antrópicas sobre os recursos naturais nas últimas décadas. Em todo o planeta, praticamente não existe um ecossistema que não tenha sofrido influência direta e/ou indireta do homem (1).

Os ecossistemas aquáticos também têm sido alterados de maneira significativa em função de múltiplos impactos ambientais é necessário conhecer o relacionamento entre os componentes do sistema, para

advindos de atividades antrópicas, tais como: mineração, construção de barragens, desvio do curso natural de rios, lançamento de efluentes domésticos e industriais não tratados, desmatamento e uso inadequado do solo em regiões ripárias e em planícies de inundação (1). Como consequência destas atividades, tem-se observado uma expressiva queda da qualidade da água e perda de biodiversidade aquática, em função da destruturação do ambiente físico, químico e alteração da dinâmica natural das comunidades biológicas. Isso por que a principal característica dos ecossistemas aquáticos é a complexa interação entre fatores destes três ambientes, motivo pelo qual

compreender sua resposta a uma substância xenobiótica (2).

¹ Departamento de Biotecnologia, Biologia Celular e Genética. Universidade Estadual de Maringá - PR.

Durante as últimas três décadas têm aumentado o interesse da comunidade científica e das agências regulatórias em relação à detecção, conhecimento e controle sobre agentes ambientais responsáveis por danos à saúde humana e a sustentabilidade dos ecossistemas (3).

Segundo Silva e Fonseca (3), apesar da dificuldade em se estabelecer ligações diretas entre os efeitos ecológicos e a saúde humana, o uso de espécies sentinelas para o monitoramento dos problemas ambientais é a base para esta conexão. Em razão disso, hoje em dia a comunidade científica admite que a saúde humana depende da saúde ambiental, e que a contínua degradação do ambiente ameaça a qualidade de vida humana, em virtude das interconexões entre o estado dos ecossistemas (3-4).

Vários são os tipos e espécies de organismos (vegetais, peixes, mamíferos entre outros) que são utilizados como biomarcadores para avaliar possíveis efeitos e riscos naturais ou de origem antropogênica. Dentre os vegetais superiores, *Allium cepa* L. tem se mostrado como eficiente organismo no teste de citotoxicidade e genotoxicidade, devido às características que possui, principalmente, em questões de monitoramento ambiental (5).

A bacia do rio Pirapó é a única no Estado do Paraná que se encontra totalmente inserida na região de domínio da Floresta Estacional Semidecidual e foi a mais antropizada, correspondendo, atualmente, a menos de 4% de sua superfície original. A colonização dessa região é relativamente recente e está vinculada a um intenso processo de desflorestamento, com o propósito de expandir as regiões agrícolas no noroeste paranaense. O Ribeirão Atlântico, um afluente do rio Pirapó, é de suma importância para 113 propriedades rurais do Município de Mandaguaçu-PR, as quais são abastecidas pelo mesmo. Destas propriedades, 100 apresentam área de preservação permanente (APPs), no entanto, 16 necessitam de recomposição florestal, e das 51 nascentes, deste ribeirão, 38 foram exploradas para consumo humano (6)

Dada a relevância dos recursos hídricos para a manutenção dos ecossistemas, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial citotóxico das águas superficiais do Ribeirão Atlântico, um afluente do Rio Pirapó, localizado no Município de Mandaguaçu-PR,

em sistema teste vegetal, com células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L.

MATERIAL E MÉTODOS

Pontos de Coleta

As águas do Ribeirão Atlântico, localizado no Município de Mandaguaçu-PR, foram obtidas em 3 pontos, água da mina (Nascente), água da Confluência (Ponto 1) e água da Jusante (Ponto 2) (Figura 1). Uma amostra, de água, de cada um dos pontos foi coletada no período da tarde, no mês de março, todas na mesma data, com tempo bom, com sol, temperatura mínima de 20°C e máxima de 32°C, umidade relativa do ar em 32%, ventos de 9Km/h e pressão (hPa) de 1009, sendo a média de chuva do mês de março de 25-120 mm, e nos dias que antecederam as coletas não foram observadas chuvas (7).

Descrição dos pontos de coleta

Nascente (Mina): localizada em uma propriedade rural particular dentro da área agrícola do Município de Mandaguaçu-PR. Apresenta pouca vegetação, do tipo mata ciliar, sendo observados entulhos arrastados pela chuva e pela ação direta do homem.

Ponto 1 (Confluência): localizada na principal área agrícola, e existindo próximo ao ponto de coleta uma propriedade rural constituída da monocultura da cana de açúcar. Nas proximidades há grande tráfego de automóveis e de pessoas, ponto de pesca e lazer em dias quentes, por isso, apresenta um grande acúmulo de entulhos. Apresenta vegetação diversa.

Ponto 2 (Jusante): dentro da área rural da Vila Pulinópolis (Mandaguaçu), situado próximo a propriedades produtoras da cana de açúcar e de outras culturas, e neste ponto o Ribeirão Atlântico liga-se com o Rio Pirapó. Um barranco constituído de terra e cascalho serve como estrada e local de pesca e lazer. Apresenta mata ciliar.

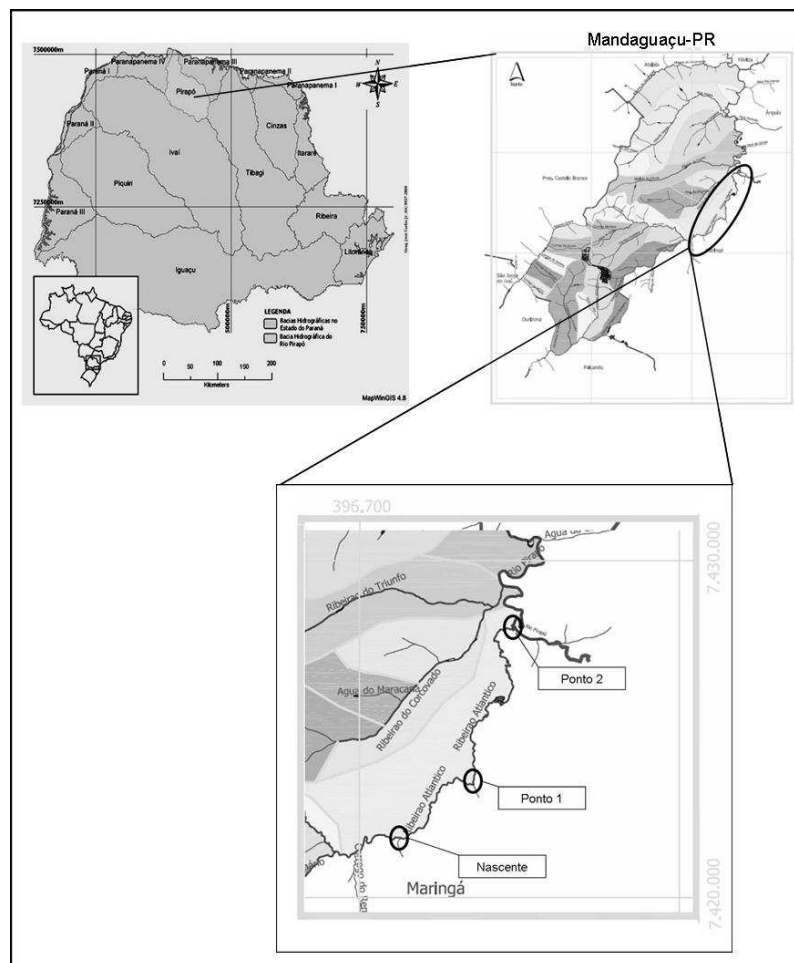


Figura 1. Localização dos pontos de coleta das águas superficiais do Ribeirão Atlântico/ Mandaguáçu-PR.

Fonte: Base Cartográfica da Copel.

Teste com *Allium cepa* L.

A técnica aplicada no presente estudo foi descrita por Kihlman (8), com modificações, usando a reação de Feulgen e coloração com o reativo de Schiff. Pequenos bulbos de cebolas foram adquiridos de uma fonte comercial e colocados para enraizar em frascos com água à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), aerada, até a obtenção de raízes com cerca de 1 a 1,5 cm de comprimento.

Antes de cada tratamento, algumas raízes (3 a 5) foram coletadas e colocadas em solução fixadora (3 metanol: 1 ácido acético), para servirem de controle do próprio bulbo, sendo considerado o tempo inicial como 0h. Em seguida, as raízes destes bulbos foram colocadas nas respectivas soluções tratamento, águas do Ribeirão Atlântico, por 24h. Após o tempo de tratamento, foram retiradas algumas raízes (3 a 5) de cada bulbo

e acrescentadas à solução fixadora. As raízes restantes nos bulbos foram lavadas com água filtrada, para retirar possíveis resíduos presentes nas águas do ribeirão, e os mesmos colocados em água filtrada, para recuperação, de eventuais danos ocorridos, por mais 24h, e posteriormente coletadas e fixadas. No grupo controle negativo as cebolas permaneceram durante todo o tempo das amostragens, em água filtrada, sendo também coletadas a cada 24h.

Posteriormente, as lâminas foram confeccionadas pelo método de esmagamento da região meristemática mais corada das raízes e montadas permanentes.

A análise das lâminas foi realizada em "teste cego" em microscópio de luz com objetiva de 40X. Para avaliar as células com alterações morfológicas, estruturais e determinação do Índice Mitótico (IM) foram utilizados cinco bulbos para cada controle, tratamento (água

da Nascente, Ponto 1 e Ponto 2) e recuperação, sendo analisadas 1.000 células por bulbo, totalizando 5.000 células por grupo. A análise estatística foi realizada pelo teste do Qui-quadrado ($\alpha=0,05$), com auxílio do programa GrafPad InStat versão 3.02.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Perfil da amostra

No presente trabalho, em nenhum dos tratamentos com as amostras das águas superficiais do Ribeirão Atlântico, Mandaguauçu

- PR, da Nascente, Ponto 1 (Confluência) e Ponto 2 (Jusante) foram observadas alterações celulares e nem cromossômicas das células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L.

Os resultados obtidos para o índice de divisão celular dos tratamentos com as águas do Ribeirão Atlântico e controle negativo, feito com água filtrada, encontrados nos três períodos amostrais, apresentam-se na Figura 2.

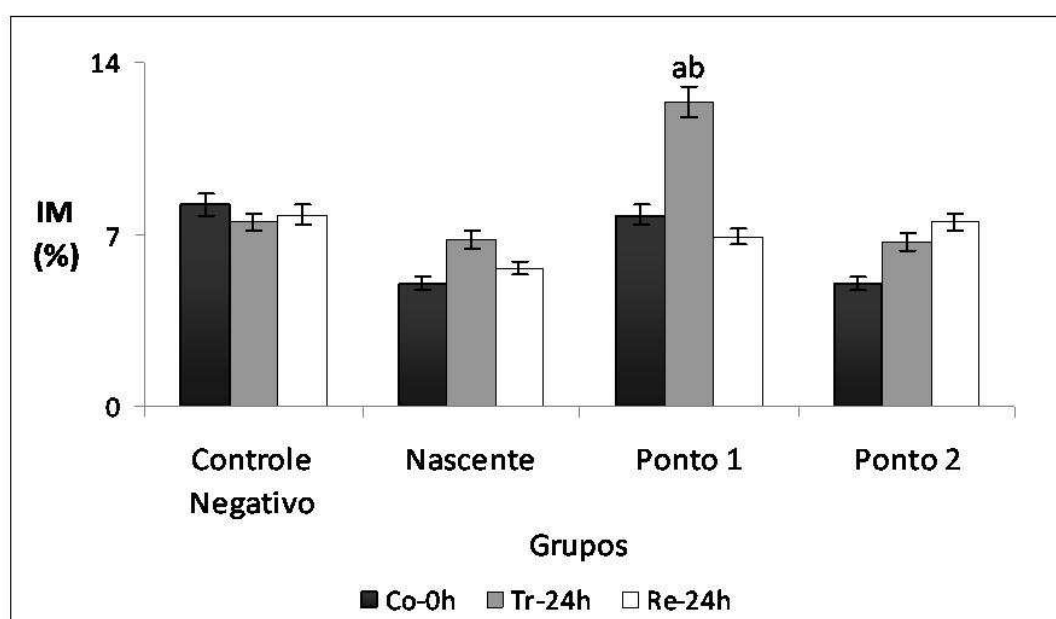


Figura 2. Índices Mitóticos (IM) médios das células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L., obtidos para cada Controle (Co-0h), Tratamento (Tr-24h), com as águas superficiais da Nascente, Ponto 1 (Confluência) e Ponto 2 (Jusante), do Ribeirão Atlântico de Mandaguauçu-PR, e respectiva Recuperação (Re-24h).

a- Resultado estatisticamente significativo em relação a Re-24h do Ponto 1.

b- Resultado estatisticamente significativo em relação ao Tr-24h da Nascente.

Estudos de monitoramento ambiental têm mostrado efeitos danosos da aplicação indiscriminada de substâncias resultantes de processos antropogênicos no ambiente natural, sejam eles efluentes urbanos, industriais ou da agricultura, tendo levado a realização de avaliações cito e genotóxicas em diversos ambientes aquáticos poluídos como mares, rios e lagos, utilizando, para isso, vários métodos. Em razão da grande complexidade envolvida no meio ambiente que inclui variados modelos de ecossistemas, cada um deles apresenta-se e responde de forma diferente, devido às interações dos

componentes bióticos e abióticos que o compõe.

Neste estudo, para os índices de divisão celular das células de *Allium cepa* L., a análise estatística mostrou que os resultados obtidos não apresentaram diferenças, estatisticamente significativas, entre os grupos tratados com as águas da Nascente, Ponto 1 (Confluência) e Ponto 2 (Jusante), em relação ao controle negativo em todos os tempos amostrais, ou seja, as águas não apresentaram ação citotóxica (Figura 2).

Segundo Smaka-Kincl et al. (9), a análise do índice mitótico constitui uma ferramenta confiável para estudos de monitoramento de águas superficiais, pois o nível de citotoxicidade de águas poluídas pode ser determinado pela taxa de redução do índice mitótico. No presente trabalho não foi verificado a redução do índice de divisão celular, por essa razão as águas não apresentaram potencial citotóxico. Pode-se verificar ainda, que o Ponto 1 (Confluência) apresentou diferença, estatisticamente significativa, entre o tempo de tratamento (12,4) e a sua respectiva recuperação (6,9), e também, quando comparado com o tratamento com a água da Nascente (7,5), apresentando índice mitótico mais elevado.

Segundo Cassaro (10), mais de 40% da região que compreende o Ribeirão Pirapó é de áreas agriculturáveis, o que demonstra que a vulnerabilidade ambiental está concentrada nos processos erosivos e escoamentos superficiais, devido ao uso indevido de áreas ripárias. O Ponto 1 (Confluência) está localizado na principal área agrícola de Mandaguaçu-PR, próximo ao ponto de coleta existe uma propriedade rural constituída da monocultura da cana de açúcar, podendo colaborar com o deflúvio superficial, arrastando componentes orgânicos, provenientes do processo de adubação, nas águas do ribeirão, o que pode ter estimulado as divisões celulares mitóticas nas raízes de cebola após o tratamento. No entanto, após as raízes voltarem para a água filtrada, o índice mitótico deste grupo diminuiu no período da recuperação, tornando-se semelhante ao resultado do controle, reforçando a hipótese da ação efetiva sobre a divisão celular, em presença de compostos orgânicos.

Esta constatação pode explicar o aumento do índice de divisão celular no Ponto 1, durante o tempo de tratamento com a água do Ribeirão Atlântico, além da escassez de mata ciliar. Quando a mata ciliar está presente, reduz significativamente a possibilidade de contaminação das águas de rios por sedimentos, resíduos agrícolas, industriais e domésticos, conduzidos pelo escoamento superficial da água no terreno. Segundo Piacente (11), uma região de monocultura da cana de açúcar, pode provocar inúmeros impactos ambientais oriundos de sua produção, tais como, redução da biodiversidade, causada pelo desmatamento e pela implantação da monocultura, a contaminação das águas superficiais e subterrâneas e do solo, por meio da prática

excessiva de adubação química, corretivos minerais e aplicação de herbicidas e defensivos agrícolas, e o assoreamento de corpos d'água, devido à erosão do solo em áreas de reforma. Além disso, nas proximidades do local da coleta de água no Ponto 1, existe grande tráfego de automóveis e de pessoas, ponto de pesca e lazer em dias quentes, contribuindo para a deposição de lixo, dentre eles compostos orgânicos, que somados aos resíduos carregados para o leito do córrego, podem servir de fonte de nutrientes para a indução da divisão celular, observada no tratamento com a amostragem deste local.

Corroboram com os resultados encontrados, um estudo realizado por Düsman et al. (12), que avaliou amostras das águas dos Ribeirões Mandacarú, Maringá, Miosótis e Nazareth, localizados na região urbana da cidade de Maringá-PR, pelo mesmo sistema-teste, onde as águas também não apresentaram atividade citotóxica. No entanto, verificaram um aumento do índice de divisão celular das raízes dos bulbos tratados com as águas dos Ribeirões Mandacarú e Maringá. De acordo com os autores, este aumento pode estar relacionado com a maior descarga de poluentes de origem orgânica, observada nesses pontos de coleta.

Sang e Li (13) avaliaram a genotoxicidade do lixiviado proveniente de um aterro municipal em células meristemáticas de raízes de *Vicia faba*, e verificaram que amostras coletadas em estação quente e chuvosa, não apresentaram ação citotóxica, diferente das coletas em estação fria e seca. Segundo os autores, em estações quentes, os processos de degradação microbiológica são mais acelerados e, além disso, ocorre a diluição dos compostos pela precipitação de chuvas. Esses resultados corroboram com os do presente estudo, apesar de não terem sido verificadas precipitações pluviométricas nos dias que antecederam a coleta, estas ocorreram em estação quente e chuvosa, consequentemente tem-se a diluição de compostos que poderiam apresentar efeito tóxico sobre as células. Resultados semelhantes foram encontrados por Peron et al. (14), e também demonstram essa correlação entre períodos quentes e chuvosos e períodos frios e secos, ao avaliar o potencial mutagênico e citotóxico das águas superficiais do rio Pirapó (Apucarana-PR), em teste com *Allium cepa*, estes verificaram que somente as águas coletadas no período de outono reduziram, de forma estatisticamente significativa, o índice mitótico. Contudo, as

águas coletadas na primavera não apresentaram potencial citotóxico, assim como no presente estudo. Düsman *et al.* (15) verificaram que as águas dos córregos Corregozinho, Isalto, Morangueira e Ozório, localizados na área urbana de Maringá-PR, também não apresentaram potencial citotóxico, pelo sistema-teste das células de *Allium cepa* L. Em um trabalho realizado por Mariucci (16), visando a avaliação da qualidade das águas do pesqueiro São José, localizado na área urbana de Maringá-PR, avaliadas pelo mesmo sistema-teste, estas também não apresentaram efeito citotóxico, e nem induziram alterações celulares e cromossômicas. Utilizando outro sistema-teste, Silva *et al.* (17), observaram que as águas do poço, e dos rios Fica e Minas Gerais, localizados próximos a Ubatã-PR, no sistema-teste de células da medula óssea de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) não provocaram aumento no número de aberrações cromossômicas e não alteraram o ciclo de divisão celular dos ratos.

Muitas são as variáveis que podem influenciar no contexto aquático e em suas reações com as substâncias xenobióticas. Variáveis ambientais como potencial hidrogênico (pH), oxigênio dissolvido (OD), temperatura da água e do ar, transparência, turbidez, salinidade e presença de matéria orgânica, podem interferir nas reações dos agentes tóxicos com o componente biótico e abiótico, influenciando na toxidez dos compostos químicos. Também influenciam nestas reações a ocorrência de chuvas e seu efeito sobre a profundidade total do rio, bem

como, a possibilidade de arraste de solos, alterando a composição físico-química da água.

Segundo Rocha *et al.* (18), as estratégias de redução da poluição de ambientes aquáticos, devem ter como metas a diminuição do deflúvio superficial proveniente tanto de atividades de natureza urbana quanto rural, por meio de práticas de manejo que garantam a qualidade do solo e da água e a proteção das zonas ripárias, uma vez que estas têm um papel relevante na diminuição do escoamento superficial.

Mesmo não tendo apresentado potencial citotóxico, o Ribeirão Atlântico sofre constante degradação por meio de processos antropogênicos, principalmente da atividade agrícola. Sendo assim, é de extrema importância que estudos periódicos de monitoramento ambiental sejam desenvolvidos na região com intuito de preservação e manutenção da qualidade da água, tendo como consequência a manutenção dos ecossistemas.

Bruno Cesar Circunvis, Michele Cristina Heck, Veronica Elisa Pimenta Vicentini

Endereço para correspondência: Universidade Estadual de Maringá
Av Colombo, 5790. Departamento de Biologia Celular e Genética, Bloco
H67, sala 11, Jardim Universitário, CEP: 87020-900 - Maringá - Paraná -
Brasil.

E-mail: arbvepv@wnet.com.br

Recebido em 07/12/2011

Revisado em 08/03/2012

Aceito em 11/07/2012

REFERÊNCIAS

- (1) GOULART, M.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **FAPAM em Revista**, v.2, n.2, p.153-164, out./nov. 2003.
- (2) LEMOS, C. T.; TERRA, N. R. Poluição - Causas, Efeitos e Controle. In: SILVA, J., ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003. p.117-144.
- (3) SILVA, J.; FONSECA, M. B. Estudos Toxicológicos no Ambiente e na Saúde Humana. In: SILVA, J., ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003. p.70-84.
- (4) ANDRADE, D. C.; ROMEIRO, A. R. Serviços ecossistêmicos e sua importância para o sistema econômico e o bem-estar humano. Texto para Discussão. **Instituto de Economia da UNICAMP**, n.155, p.1-44, fev. 2009.
- (5) LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v.682, n.1, p.71- 81, jul./aug. 2009.
- (6) VIEIRA, P. Z; SORIA, T. V.; DE SOUZA, R. P. Plano Municipal de Gestão de Recursos Hídricos do Município de Mandaguáçu – PR, p.06-83, 2009.
- (7) CLIMA TEMPO. **Previsão do Tempo e Meteorologia**. Disponível em: <<http://www.climatempo.com.br/>>. Acesso em: 02 setembro 2009.
- (8) KIHLMAN, B. A. **Root tips for stuying the effects of chemicals on chromosomes. Chemical Mutagens: Principles and Methods for their Detection**. New York: Plenum Press, 1971.
- (9) SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOVKA, M.; TOMAN, M. J. The evaluation of waste, surface and ground water quality using *Allium cepa* L. test procedure. **Mutation Research**, v.368, n. 3-4, p.171-179, jul. 1996.
- (10) CASSARO, L. **Estudo da degradação ambiental da bacia de captação de água para abastecimento da cidade de Maringá - Rio Pirapó**. 1999. 120f. Monografia (Especialização em Controle e Gestão Ambiental). Universidade Estadual de Maringá, 1999.
- (11) PIACENTE, F. J. **Agroindústria Canaveira e o Sistema de Gestão Ambiental: O Caso das Usinas Localizadas nas Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiáí**. 2005. 181f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Econômico), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- (12) 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**, v.34, n.3, p.311-318, jul./set. 2012.
- (13) SANG, N.; LI, G. Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba*.

Mutation Research, v. 560, n.2, p.159-165, jun. 2004.

(14) PERON, A. P., et al. Potencial mutagênico das águas do Rio Pirapó (Apucarana, Paraná, Brasil) em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v.7, n.2, p.155-159, abr./jun. 2009.

(15) 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**, v.33, n.1, p.71-77, jan./mar. 2011.

(16) MARIUCCI, R. G. **Avaliação da Citotoxicidade a Água da Mina, Represa e Ribeirão do Pesqueiro São José, em Maringá-PR, m Sistema Teste Vegetal**. 2005. 53f. Monografia (Especialização em Biotecnologia Aplicada a Saúde e Meio Ambiente), Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005.

(17) 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**, v.26, n.1, p.101-105, jan./mar. 2004.

(18) ROCHA, S. A.; LOUGON, M. S.; GARCIA, G. O. Influência de diferentes fontes de poluição no processo de eutrofização. **Revista Verde**, v.4, n.4, p.01-06, out./dez. 2009.