

## **UTILIZAÇÃO DE *Allium cepa* COMO BIOINDICADOR NA AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE DO SOLO E DA ÁGUA EM UM PONTO DE DESCARTE INADEQUADO DE RESÍDUOS SÓLIDOS NO DISTRITO DE NOVA ALMEIDA, SERRA-ES.**

Fabiana França de França de Carvalho Ferreira<sup>1</sup>, Fernanda Barbarioli Ribeiro<sup>1</sup>, Francirlei da Silva<sup>1</sup>, Lavínia Bahia da Silva Narciso<sup>1</sup>, Luiza Souza de Bulhões<sup>1</sup>, Caio Simão de Lima<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Acadêmico do curso de Engenharia Ambiental da Faculdade Brasileira – Multivix Vitória

<sup>2</sup> Mestre em Ciências Biológicas, UFES. Docente da Faculdade Brasileira – Multivix Vitória

### **RESUMO**

O descarte irregular de resíduos sólidos em áreas urbanas, fruto do aumento e consumo da população, representam efeitos nocivos ao meio ambiente, em especial a água e o solo, devido à presença de compostos químicos. O *Allium cepa* possui utilização como bioindicador, sendo utilizado para avaliar a qualidade da água e solo, por meio da investigação dos processos de divisão celular. Neste sentido, este trabalho teve por objetivo analisar a potencial citotoxicidade e mutagenicidade da água e solo coletados em perímetro urbano no distrito de Nova Almeida, ES. Para tal, bulbos de cebola foram cultivados e expostos a dois tipos diferentes de tratamento, além do tratamento de controle, em água destilada, sendo analisadas 3700 células para cada. Os dados obtidos para o índice mitótico foram tratados estatisticamente e comparados à detecção de anomalias mitóticas, o que permitiu verificar efeito citotóxico e mutagênico nos tratamentos realizados. A partir dos resultados obtidos, pode-se verificar que o teste com *Allium cepa* mostrou-se eficiente para detecção de agentes citotóxicos e mutagênicos nas amostras investigadas.

**Palavras-chaves:** Teste *Allium cepa*, citotoxicidade, anomalias, índice mitótico.

### **Abstract**

Irregular disposal of solid waste in urban areas, due to the increase and consumption of the population, represents harmful effects on the environment, especially water and soil, due to the presence of chemical compounds. *Allium cepa* is used as a bioindicator and is used to evaluate the water and soil quality by investigating the processes of cell division. In this sense, this work aimed to analyze the potential cytotoxicity and mutagenicity of water and soil collected in an urban perimeter in the district of Nova Almeida - ES. For this, onion bulbs were cultured and exposed to two different types of treatment, in addition to the control treatment, in distilled water, with 3700 cells analyzed for each. The data obtained for the mitotic index were treated statistically and compared to the detection of mitotic anomalies, which allowed to verify cytotoxic and mutagenic effects in the treatments performed. From the results obtained, it can be verified that the test with *Allium cepa* proved to be efficient for the detection of cytotoxic and mutagenic agents in the investigated samples.

Keywords: *Allium cepa* test, cytotoxicity, anomalies, mitotic index.

### **INTRODUÇÃO**

A forma dinâmica em que as regiões urbanas têm se desenvolvido, ligado ao modelo atual de produção e consumo, contribui para problemática no enfrentamento aos impactos causados ao meio ambiente. Tal preocupação se dá, além de outros fatores, por

consequência do descarte inadequado de resíduos sólidos, de maneira que a exposição gradual, além de afetar a população com doenças potencialmente graves, traz sérios problemas de degradação ao solo, com a contaminação por íons metálicos, bem como das águas doces superficiais (ARAÚJO, 2014; ALVES, 2016). A Resolução CONAMA 420/2009, em seu 3º artigo, lista algumas funcionalidades do solo, dentre elas: manter o ciclo da água e dos nutrientes, proteger águas superficiais e subterrâneas, agir como filtro natural, etc. Quando uma dessas funções sofre alterações, sejam elas físicas, químicas ou biológicas, pela ação antrópica, é possível dizer que houve a degradação do solo e da água. Para Van Straalen (apud LANEIRO, 2012), essas funções básicas socioeconômicas e ecológicas são altamente vulneráveis, visto que são as mais complicadas para a preservação e recuperação, especialmente quanto à presença de poluentes químicos.

Para analisar a presença de toxicidade presentes no solo e na água, a utilização de *Allium cepa* como modelo bioindicador tem sido amplamente utilizada como forma de complementar as análises físico-químicas e apresentar resultados em pouco tempo e de baixo custo (FISKESJÖ, 1985). Além de apresentar a possibilidade de medição de parâmetros microscópicos e macroscópicos e elevada sensibilidade na detecção de agentes químicos ambientais, como o potencial de genotoxicidade (LEME; MARIN-MORALES, 2008).

O *Allium cepa* trata-se de um vegetal eficiente na identificação de mutagênicos ambientais e na avaliação do quadro de poluição e contaminação ocasionada por substâncias químicas em ecossistemas terrestres e aquáticos. De acordo com Matsumoto & Marin-Morales (2004), *Allium cepa* é um bioindicador amplamente utilizado desde a década de 1940, já que é de fácil armazenamento e manuseio, e reconhecido pela Organização Mundial de Saúde. A raiz dessa planta é responsável por entrar em contato com os poluentes do solo ou da água e auxiliar na identificação de poluentes contidos em águas superficiais, lodos, efluentes industriais e domésticos e poluentes oriundos de atividades agrícolas (GUPTA *et al.*, 2005).

Os efeitos de mutagenicidade em *Allium cepa* podem ser observados pela inibição de divisão celular, no crescimento e alterações morfológicas celulares em suas raízes, identificando a presença qualitativa de toxicidade “em sua fase inicial”, utilizando-se como indicativo de possíveis anomalias a outros tipos de celulares, em especial a célula humana (BARBÉRIO *et al.*, 2009). Conforme estudos de toxicidade com *A. cepa*, as alterações relacionadas com o crescimento da raiz e índice mitótico são parâmetros indicativos de citotoxicidade, entretanto, alterações como anomalias cromossômicas caracterizam genotoxicidade (FISKESJÖ, 1985).

Dessa maneira, o presente estudo teve por objetivo verificar possível efeito citotóxico na área de descarte de resíduos, por meio da investigação citológica do crescimento das raízes de *Allium cepa* cultivadas em água do córrego José Camilo e no solo da área ao entorno do córrego.

## MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa resultou de um estudo do tipo experimental, de pesquisa exploratória, com informação quantitativa e descritiva. A área estudada de disposição irregular dos resíduos sólidos urbanos está localizada na rua Coronel Augusto Calmon, no bairro de São João, no distrito de Nova Almeida, situado à nordeste do município de Serra, ES, georreferenciada pelas coordenadas UTM 375023,20E 7781626,24N 24K. A área é estimada em 6.800m<sup>2</sup>, e está próxima ao córrego José Camilo, localizado nas coordenadas de Latitude 20°3'29.43" Sul e Longitude 40°11'45.41 Oeste, inserido na bacia hidrográfica do rio Reis Magos (Figura 1). Por fim, segundo moradores mais antigos do bairro, a área pertence a Prefeitura

Municipal da Serra, e ao longo dos anos tem sido utilizada pela população como via pública não pavimentada.

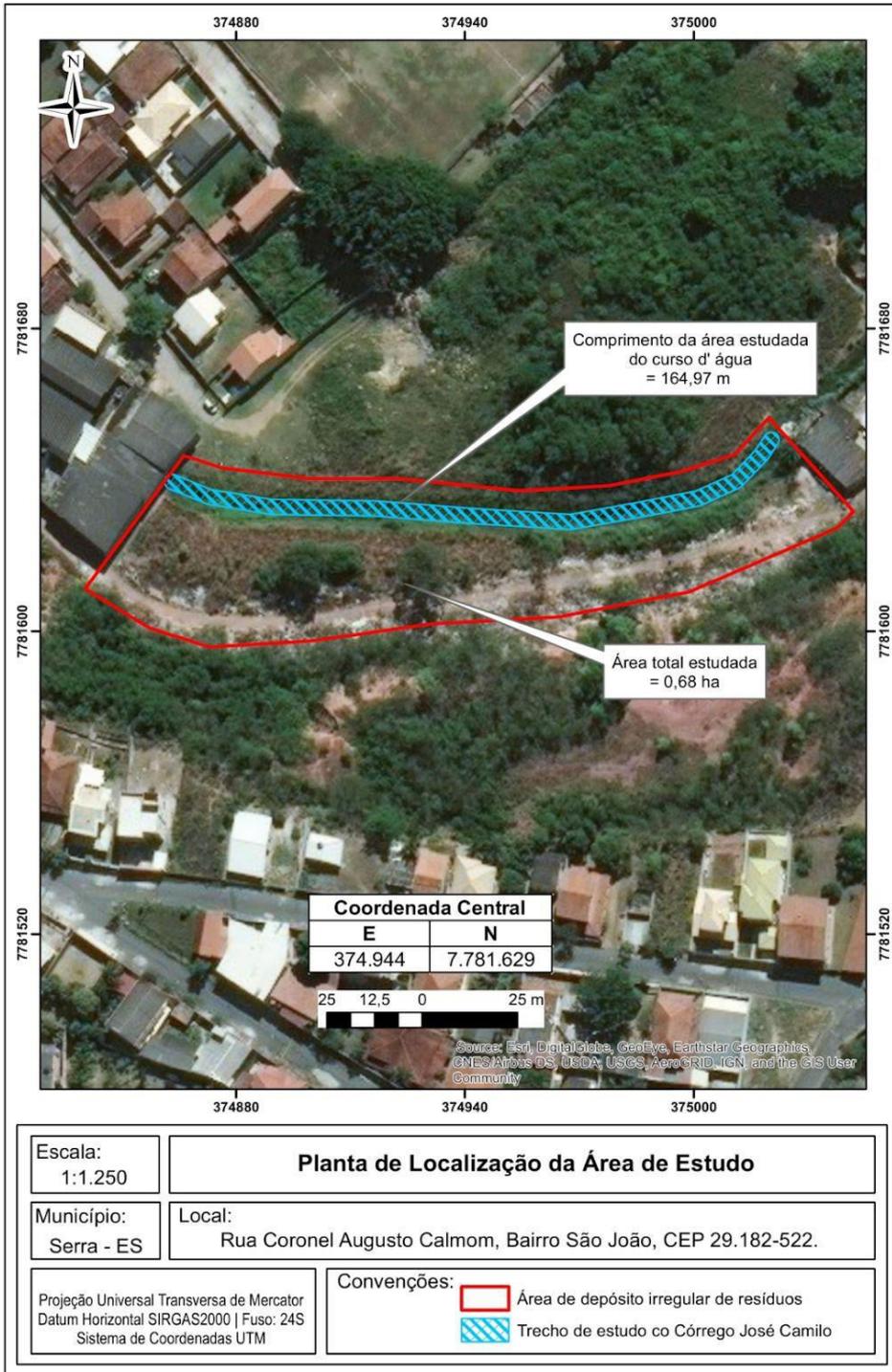


Figura 1 - Localização da área estudada.

Fonte: Sara Nunes (2018).

Local de Coleta

Foram estabelecidos a coleta de duas amostras distintas. Sendo a Amostra A da água do córrego José Camilo, onde coletou-se 1,5 litros de água, e a Amostra B, de 500 gramas de solo, em cinco pontos distintos em toda extensão da área em questão. Sendo apresentada na Tabela 1, a localização de cada amostra coletada.

**Tabela 1** - Amostras e localização das coletas de água e solo, Serra - ES

Tratamento	Referencial dos pontos de coleta	Localização	
		Latitude	Longitude
Amostra A	Córrego José Camilo	-20.058135°	-40.196591°
	Coleta de Solo 1	-20.058217°	-40.196625°
Amostra B	Coleta de Solo 2	-20.058458°	-40.196528°
	Coleta de Solo 3	-20.058327°	-40.196115°
	Coleta de Solo 4	-20.058447°	-40.195702°
	Coleta de Solo 5	-20.058233°	-40.195345°

Fonte: Fernanda Barbarioli, 2018.

### Amostragem de Água

A metodologia de coleta e preservação de amostras de água foi baseada na instrução técnica contida na ABNT NBR 9898 (1987). As amostras foram coletadas no período de 09/09 a 09/10, em um único ponto do córrego José Camilo (Tabela 1), pois havia riscos de segurança para coleta no decorrer de sua trajetória. Foram utilizados três recipientes de polietileno inertes e devidamente vedados com capacidade de 500ml cada. Eles foram alocados em caixa térmica, contendo gelo, para manter as amostras sob refrigeração de aproximadamente 4°C, a fim de preservá-las até a realização do experimento.

### Amostragem de Solo

Por se tratar de um solo heterogêneo, utilizou-se da análise composta, conforme descrito pela ABNT na NBR 10007 (2004). Onde dividiu-se a área em glebas uniformes, identificando os pontos a serem coletados, demarcando-os em ziguezague (Figura 2), de forma a percorrer toda a área estudada. Foram feitas três coletas, no período de 09/09 a 09/10, na qual retirou-se cinco amostras em torno de 500g de porções do solo por coleta, de aproximadamente 0-10 cm de profundidade. Elas foram misturadas para a obtenção de uma amostra homogênea e, com auxílio de uma pá, somente 500g da mistura foi



reservada em um recipiente de polietileno para ser utilizada na lavagem do solo.

Figura 2 - Área demarcada pela coleta das amostras de solo e água. Datum: WGS84

Fonte: Luiza Bulhões (2018)

#### Percolação da lavagem do solo

Da amostra do solo coletada pesou-se 300g colocando-a em uma garrafa de politereftalato, invertida, com o fundo retirado e tendo no “bico” filtro de papel, para que somente a água percolada fosse capaz de atravessar. Adicionou-se 1 litro de água destilada e aguardou-se o processo de percolação finalizar-se (FOGAÇA et al., 2014), a fim de se obter uma solução para o crescimento das raízes do bulbo de *Allium cepa* para tratamento.

#### Cultivo para o teste *Allium cepa*

Para análise da possível citotoxicidade, foi realizado o cultivo de nove bulbos de *Allium cepa* por coleta, sendo eles divididos para cada tratamento adotado, ficando: três bulbos para o cultivo em água destilada, três bulbos para o cultivo em água do córrego e três bulbos para o cultivo em água da lavagem do solo. Foram realizadas três coletas com repetição do sistema de cultivo acima citado, totalizando ao final do experimento o cultivo de 27 bulbos de *Allium cepa*. Antes de colocá-las no meio para crescimento, as raízes já existentes nos bulbos de *Allium cepa* foram retiradas, a fim de que as células analisadas fossem todas de raízes crescidas no meio investigado. Os vegetais foram colocados em recipientes com 300ml para cada solução, de maneira que apenas a parte inferior do bulbo estivesse em contato com seu meio de cultivo. Em seguida, acompanhou-se o crescimento radicular de cada tratamento por aproximadamente três dias, tendo seu crescimento entre 1 a 5cm, logo podendo seccionar suas extremidades para o preparo das lâminas (FISKEJÖ, 1993).

#### Preparo das lâminas

A extração do meristema das raízes foi executada no período das 15h30 às 17h, sendo lavadas com água destilada para remover possíveis sujeiras e algas existentes. Em seguida, as mesmas foram dispostas num tubo de ensaio tampado com 10ml do fixador de Carnoy por aproximadamente 24h. Após esse período, as raízes novamente foram lavadas com água destilada para remover resquícios do fixador. Numa placa de Petri, as raízes foram colocadas junto a 5ml do corante de orceína/acética a 2%, a seguir, levadas a chama do bico de bunsen, para que por meio do aquecimento da solução, as raízes pudessem ser coloridas. Em seguida, cada meristema da raiz foi posta em cima de uma lâmina de microscopia, adicionando uma gota do corante para em seguida esmagá-la ao sobrepor a lamínula (GUERRA & SOUZA, 2002). Para a conservação das lâminas, utilizou-se de esmalte incolor para vedar as extremidades da lamínula de cada lâmina preparada, e todas as lâminas foram identificadas mediante à raiz contida de cada tratamento. As amostras foram analisadas no Laboratório de Microbiologia da Faculdade Brasileira – Multivix Vitória.

#### Análise dos dados

As lâminas, após serem produzidas, foram observadas em microscópio óptico com objetiva de 40x. Utilizando-se do método de contagem direta, foram analisadas para cada tratamento

quatro lâminas, tendo o total de 12 lâminas analisadas, sendo contabilizadas para cada tratamento 3700 células, determinada pelo somatório das células apuradas nas quatro lâminas analisadas. Assim, todas foram identificadas, e as que se encontravam em divisão mitótica e as que apresentaram anomalias foram fotografadas e registradas. Depois da contagem de todas as células e da identificação do número de células em divisão mitótica, empregou-se o cálculo do índice mitótico para avaliação da citotoxicidade, que é dado pela equação (1):

$$\text{Índice Mitótico (IM)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de células em mitose}}{\text{N}^\circ \text{ de células totais}} \times 100$$

Os dados foram submetidos à análise da variância e do teste de Tukey (P=0,05), para a comparação das médias do índice mitótico, utilizando o programa estatístico IBM SPSS Statistics 23.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para o Índice Mitótico (IM) das Amostras A, B e do Tratamento de Controle, em cada lâmina analisada, encontram-se na Tabela 2. Esses dados serviram de base para, por intermédio do Teste de Tukey, estabelecer parâmetros que possibilitem evidenciar diferenças significativas entre os diferentes tipos de tratamento, ao nível de significância a P<0,05.

**Tabela 2** - Índice Mitótico por lâmina encontrado nas células meristemáticas radiculares de *Allium Cepa*.

Tratamento	Lâmina 1	Lâmina 2	Lâmina 3	Lâmina 4
Controle	3,22	6,92	2,77	3,18
A	25,53	17,55	15,11	12,73
B	41,45	33,33	22,69	17,19

Fonte: Fernanda Barbarioli, 2018.

Conforme observado na Tabela 3, o Índice Mitótico que apresenta o maior valor entre os tratamentos expostos foi o da Amostra B (27,11%) e o menor no tratamento de Controle (3,59%). Os tratamentos, quando comparados entre si, apresentam diferenças estatísticas significativas (Tabela 3). Se comparados ao tratamento de controle, as Amostras A e B apresentam um elevado índice mitótico. Zortéa *et al.* (2015) em estudos nos rios do Município de Carlinda, MT, também averiguou o aumento do índice mitótico dos tratamentos quando comparados ao tratamento de Controle. De acordo com Maschio (2009), o grau de citotoxicidade de um experimento pode ser estabelecido pelo aumento ou decréscimo do índice mitótico.

**Tabela 3** - Índice Mitótico e porcentagem (%) de anomalias encontradas em células da meristema das raízes de cebolas tratadas

Tratamento	Total de Células Analisadas	Nº de Células em Mitose	IM (%)	Anomalias (%)
Controle	3700	133	3,59 c	-
A	3700	608	16,43 b	6,58
B	3700	1003	27,11 a	1

Fonte: Fernanda Barbarioli, 2018.

Nota: Médias seguidas por diferentes letras minúsculas diferem estatisticamente entre si a significância P<0,05 pelo Teste de Tukey.

Segundo Grippa *et al.* (2010), o aumento no índice mitótico, como identificado nesta pesquisa, aponta que houve estímulo na divisão celular, que pode ser prejudicial às células, pois a proliferação desequilibrada pode provocar a disseminação de doenças.

O aumento da divisão celular visto nos resultados das amostras A e B pode ter sido provocado pela presença de compostos orgânicos, pois nos pontos de coleta há a deposição de resíduos sólidos urbanos, comumente apresentando compostos orgânicos, sendo eles fontes de nutrientes (RUPPENTHAL; CASTRO, 2005), que podem provocar a indução da divisão celular dos meristemas radiculares de *Allium cepa*. A pesquisa realizada por Dusman *et al.* (2012), que avaliaram amostras das águas dos ribeirões da cidade de Maringá, PR, pelo mesmo sistema-teste, reforça a hipótese que o aumento do índice mitótico está associado com poluentes de origem orgânica.

Adicionalmente na análise das 3.700 células/tratamento da Amostra A (Tabela 3), obteve-se uma porcentagem de 6,58% de anomalias nas células em divisão mitótica. Com base nesse dado, junto com o índice mitótico já mencionado (16,43%), as células das raízes expostas a esse tratamento indicam que possa existir algum agente citotóxico que cause aumento na divisão celular. Zortéa *et al.* (2015) relatam que situações em que o índice mitótico é maior quando comparado ao controle denotam a reprodução descontrolada das células, podendo haver uma má formação das células, comprometendo características de herdabilidade, o que proporciona implicações diretamente à saúde dos organismos expostos.

O material analisado da Amostra B foi o que obteve o menor número de células em interfase, o que demonstra uma alta atividade na divisão celular, que está associado ao efeito proliferativo das células mitóticas (FASCHINETTO, 2007). É notável a presença de células anômalas em todos os estágios mitóticos (Figura 3: E, F, G e H), desde a prófase à telófase, possibilitando evidenciar que os agentes citotóxicos podem agir em qualquer fase da mitose. Esse resultado fora encontrado por Miranda *et al.* (2013), que ao analisarem a genotoxicidade notaram a presença de fases anômalas em solo contaminado por detritos domésticos em todos os estágios mitóticos.

Destaca-se a presença de micronúcleos como uma das anomalias mais observadas, aparecendo em quase todos os estágios mitóticos, devido aos eventos clastogênicos, quando origina ou induz a ruptura ou quebra dos cromossomos, e aneugênicos, quando se origina de cromossomos inteiros que não completaram a formação durante a separação das cromátides irmãs (GALVÃO *et al.*, 2013). De acordo com Marcano e Del Campo (1995), esses micronúcleos são indícios comuns da ação tóxica sobre o material genético, o que remete a efeitos irreversíveis para a célula, que podem ser reparados pela própria célula, mas originam mutações cromossômicas e gênicas quando reparadas erroneamente ou não reparadas. Nota-se no estágio de telófase (Figura 3H) a existência de um micronúcleo, que configura o resultado de mutação cromossômica pela qual gera a criação de um núcleo pequeno ao lado do núcleo original da célula (UMBUZEIRO & ROUBIECEK, 2003).

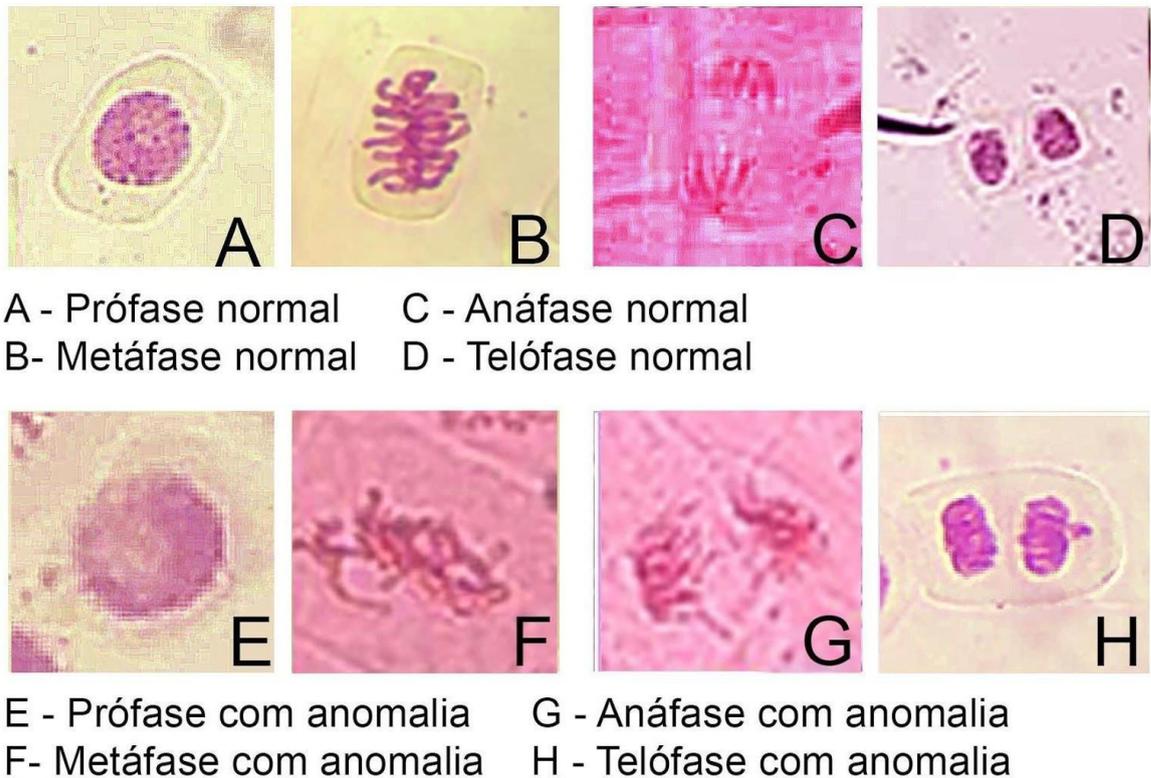


Figura 3 -Fases da divisão celular.

Fonte: Luiza Bulhões (2018)

A fase de prófase apresentou maior percentual das células em mitose nas amostras A e B (Tabela 4), sendo também a de maior porcentagem de anormalidades cromossômicas. Fato possivelmente explicado por ser a fase de maior expansão no processo mitótico e pelo momento do crescimento em que foram feitas as coletas das raízes (MONARCA et al., 2000). Para Leme & Martin-Morales (2009), as aberrações cromossômicas em células de *Allium cepa* são parâmetros eficazes para a apuração do potencial citotóxico nas águas contaminadas, uma vez que fornecem informações essenciais que devem ser destacadas no biomonitoramento ambiental.

**Tabela 4** - Percentual por fase da divisão mitótica de células normais e anômalas de cada tratamento

Tratamento	Prófase (%)		Metáfase (%)		Anáfase (%)		Telófase (%)	
	Normais	Anômalas	Normais	Anômalas	Normais	Anômalas	Normais	Anômalas
Controle	89,5	-	5,3	-	2,3	-	3,0	-
A	88,3	4,1	3,3	2,3	0,5	0,2	1,3	-
B	98,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,4	0,6

Fonte: Fernanda Barbarioli, 2018.

Conforme já evidenciado em bibliografia (FISKEJÖ, 1993), o teste *Allium cepa* mostrou ser um procedimento eficiente, de baixo custo e rápido na realização dos bioensaios, visto que os tratamentos analisados permitiram a identificação de anomalias cromossômicas. Os tratamentos apontaram efeito citotóxico, mutagênico e aumento no índice mitótico em relação ao tratamento de controle nas células meristemática de *Allium cepa*, possibilitando verificar possíveis evidências da existência de substâncias químicas capazes de provocar alterações em organismos vivos, além de representarem riscos ambientais. Os efeitos tóxicos e mutagênicos verificados para o organismo teste do estudo funcionam como um alerta para os possíveis efeitos aos demais organismos vivos e seres humanos na área estudada. Em especial por tratar-se de área povoada que convive com descarte irregular de resíduos.

## CONCLUSÕES

Os dados observados nesta pesquisa possibilitam concluir que os bioensaios realizados, utilizando-se do teste *Allium cepa*, mostraram-se eficientes para identificar o potencial de citotoxicidade nas amostras ambientais coletadas. Eles são evidenciados pela porcentagem de anomalias registradas e o aumento do índice mitótico das amostras analisadas em comparação ao tratamento de controle. Cabe ressaltar que o presente trabalho aponta para a necessidade de estudos complementares para se chegar a verdadeira magnitude dos impactos ocasionados aos diferentes ambientes em que a *Allium cepa* estava exposto, bem como para identificar quais os agentes causadores da toxicidade dos tratamentos, principalmente do córrego.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9898: Preservação e técnicas** de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores. Rio de Janeiro, 1987.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10007: Amostragem de Resíduos Sólidos**. Rio de Janeiro, 2004.

ALVES, Giovana. **Degradação do Solo em Área de Disposição Irregular de Resíduos Sólidos no Semiárido Tropical**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2016. 84 f. A

ARAÚJO, Cristiane. **Qualidade do Solo da Camada de Cobertura Final em Área de Disposição de Resíduos no Semiárido Tropical**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2014. 41f.

BARBERIO, A.; BARROS, L.; VOLTOLINI, J.C.; MELLO, M.L.S. Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/PDF/bjb/v69n3/v69n3a10.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2018.

BELLEZONI, R. A. **Caracterização de impacto ambiental no solo em um aterro de pequeno porte**. 2012. 81 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia, 2012.

BRAGATO, M. Tratamento *in-situte* solo contaminado por derivados de petróleo e metais. Tese de Doutorado, São Paulo, 2006.

BRASIL. Resolução Conama nº 420, de 28 de dezembro de 2009. “Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Publicada no DOU nº 249 de 30/01/2009. Págs 81-84. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>>. Acesso em: 08 set. 2018.

BRILHANTE, O.M. ; CALDAS, L.Q.A. Gestão e Avaliação de Risco em Saúde Ambiental, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ. Rio de Janeiro, 1999.

CABRERA G.L.; RODRIGUEZ D.M.G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays, 1999.

CÂNDIDO, Jacqueline Bonfim et al. Diagnóstico Ambiental e Análise Temporal dos Impactos Ambientais causados por um Depósito de Resíduos Sólidos no Município de Cariri do Tocantins – TO. Revista Científica da Fundação Educacional de Ituverava. Tocantins, 2017.

CASTILHOS J.R.; Armando Borges de et al. Resíduos Sólidos Urbanos: Aterro Sustentável para Municípios de Pequeno porte. Rio de Janeiro: ABES, 2003.

CIRCUNVINS, B. C.; HECK, C. M.; VICENTINI, V. E. P. **Investigação do potencial citotóxico das águas superficiais do ribeirão Atlântico (Mandaguaçu-PR) em *Allium cepa* L.** SaBios: Revista Saúde e Biologia., V.7, n.3, p.7-14, set-dez., 2012.

CETESB- COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Manual de gerenciamento de áreas contaminadas**. 2.ed, CETESB, São Paulo, 2001.

CONOR, J. A.; FERGUSON, M. A. Essential medical genetic. **Smith Blackwell Scientific Publications**, London, 1993.

COSTA, L. B.; ALVES, A. M. **Contaminação de água por resíduos sólidos: uma perspectiva geomorfológica nos municípios de Dr. Severiano e Encanto-RN**. GeoTemas, Pau dos Ferros, Rio Grande do Norte, Brasil, v. 1, n. 1, p. 79-90, jan./jun., 2011.

COSTA, R.M.A.; MENK, C.F.M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. Biotecnologia: ciência e desenvolvimento. São Paulo, 2000.

DUSMAN, 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, Paraná state, Brazil. **Acta Scientiarum**. v.34, n.3, p. 311-318, Jul./Set., 2012

FASCHINETO, J.M.; BAGATINI, M.D.; DURIGON, J.; SILVA, A.C.F.; TEDESCO S.B. Efeito das infusões de *Achyroclinesatureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. Revista Brasileira de Farmacologia, 2007.

FISKESJÖ, Geirid. Allium test on river water from Braan and Sexan before and after closure off a chemical factory. **Ambio**, v.14, p. 99 – 103, 1985.

FISKEJÖ, G. The *Allium* test an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions.

Mutation Research. Amsterdam, 1988.

FISKEJÖ, G. *Allium test I: A 2-3 day plant test for toxicity assessment by measuring the mean root growth of onions (Allium cepa L.). Environmental Toxicology and Water Quality*, Nova Iorque, 1993.

FLORES-LOPES, Fábio. Monitoramento ambiental da bacia hidrográfica do Lago Guaíba – RS – Brasil, através da utilização de diferentes metodologias aplicadas à toxicoses de peixes.

Tese (Doutorado em biologia animal) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

FOGAÇA, L. B. V.; MARTINS, B. F.; AMORIM, L. L. G.; ALMEIDA, F. P. Comportamento de percolação de hidrocarbonetos em função da textura do solo. **V Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**. IBEAS- Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais. Belo Horizonte/ MG. 24-27 de novembro de 2014.

FRANÇA, Rosiléia Garcia; RUARO, Édina Cristina Rodriguês. Diagnóstico da Disposição final dos Resíduos Sólidos Urbanos na região da Associação dos Municípios do Alto Irani (AMAI), Santa Catarina. Santa Catarina, 2009.

GALVÃO, M.; MIRANDA, D. P.; COSTA, G. M.; SILVA, A. B. da; KARSBURG, I. V. Índice de genotoxicidade por *Allium cepa* no teste de bioindicador em águas poluídas por dejetos químicos no município de Alta Floresta. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11, n.21, p. 2373-2383, 2015.

GRANT, W.F. Chromosome aberration assays in *Allium cepa*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Genetox Program. **Mutation Research**, Amsterdam, 1999.

GRIPPA, G. A.; MOROZESK, M.; NATI, N.; MATSUMOTO, S. T. Estudo genotóxico do surfactante Tween 80 em *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 23, n.1-2, p. 11-16, 2010.

GUERRA, A. J. T; CUNHA, S. B. da. **Geomorfologia e Meio Ambiente**. 5º Ed. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 2004.

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

GUPTA, S. K.; SRIVASTAVA, R.; KUMAR, D. Bioremediation of municipal sludge by vermitechnology and toxicity assessment by *Allium cepa*. *Bioresource Technology*, Leiden, v. 96, n. 17, p. 1867-1871, 2005.

LANEIRO, C. F M. Avaliação da biodisponibilidade de metais em solos contaminados por atividades mineiras: métodos químicos, bioquímicos e ecotoxicológicos. Dissertação de Mestrado, Engenharia do Meio Ambiente – Instituto Politécnico de Beja – Escola Superior Agrária. p.129, 2012.

LEME, D.M.; MARIN – MORALES, M. A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water – a case study. *Mutation Research*.

*Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 650, p. 80 – 86, 2008.

MARCANO, L.; DEL CAMPO, A. Estudio ultraestructural del nucléolo en poblaciones meristemáticas de cebolla *Allium cepa* L. tratadas con inhibidores metabólicos. *Ciencia*, v.3, p.73-82, 1995.

MATHIAS.N.D.; COSTA. W. Estudo químico de alguns pontos do solo superficial do aterro controlado do Botuquara. 2012.

MATSUMOTO, S. T. Estudo sobre a influência de efluentes potencialmente genotóxicos, derivados de curtume, na contaminação de recursos hídricos da região de Franca/SP. Tese de doutorado Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto - SP, 2004.

MATSUMOTO, S.T.; MARIN-MORALES, M.A. Mutagenic potential of the water of a river that receives tannery effluent using the *Allium cepa* test system. *Cytologia*. 69: 399-408. 2004, apud

AMARAL, A. de M.; BARBÉRIO, A.; VOLTOLINI, J.C.; BARROS, L. Avaliação preliminar da citotoxicidade e genotoxicidade, da água da bacia do rio Tapanhol (SP-Brasil) através do teste *Allium* (*Allium cepa*). *Revista Brasileira de Toxicologia*. V. 20, n.1 e 2, p. 65-72. 2007.

MIRANDA,D.P.; VIEIRA, A.; MELLO, V. DOS SANTOS. De.; TEIXEIRA, A.D.; KARSBURG, I.V.

Genotoxicidade de solo coletado em presença de detritos domésticos com uso do sistema *Allium cepa*. in: Seminário de Biodiversidade e agroecossistemas amazônicos, 2013, Alta Floresta. **Anais...** Alta Floresta. Universidade do Estado de Mato Grosso. CD.

MMA, MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE; **Áreas contaminadas**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/residuos-perigosos/areas-contaminadas.html>>. Acesso em: 23/10/2018.

MONARCA, S.; FERETTI, D.; COLLIVIGNARELLI, C.; GUZZELA, L.; ZERBINI, I.; BERTANZA, G.E.; PEDRAZZANI, R. The influence of different disinfectants on mutagenicity and toxicity of urban wastewater. **WaterResearch**, Londres, 2000.

OLIVEIRA, A. L. et al. Análise qualitativa dos impactos ambientais no meio abiótico em um depósito de resíduos sólidos. *Revista Enciclopédia Biosfera*. Goiânia, v. 11, n. 22, 2015. PAULA, R. P.; BUENO, S. S. S.; SCHMITT, K. F. M.; ROSSI, A. A. B. Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicadores de citotoxicidade e genotoxicidade em *Aristolochia elegans* Master. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer- Goiânia, v.11, n.21. p 1749-1756, 2015.

RUPPENTHAL, A. M. C. Efeito da composição de lixo urbano na nutrição e produção de gladiolo. *Revista Bras. Ci. Solo*, 29:145-150, 2005.

SILVA, C.; SCHOENNHALS, M.; CORNELI, V. M.; ARANTES, E. J. Diagnóstico da contaminação do solo e aplicação do índice de qualidade de aterros de resíduos da CETESB na área de disposição de resíduos sólidos de Peabirú-PR. *Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal*, v.9, n.2, p. 252-270, abr/jun. 2012.

UMBUZEIRO, G.A.; ROUBICEK, D.A.; **Genotoxicidade Ambiental**. In: ZAGATO, P.A.; BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações*. São Carlos: Rima, 2003, p. 327-344, 2003.

ZORTÉA, K. É. M.; LEMES, J. S.; NASCIMENTO, M.; TAFARELO, A. P.; ROSSI, A. A. B. Potencial citotóxico e genotóxico da água de rios do município de Carlinda, Mato Grosso, Brasil, por meio do teste *Allium cepa* L. **AgrarianAcademus**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.2, n.03, p.71-80, 2005.