



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS**  
**CAMPUS CERRO LARGO-RS**  
**CURSO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS-LICENCIATURA**

**DAVI BORGES**

**CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE *Allium cepa* SUBMETIDAS À ÁGUA  
ANTROPIZADA**

**CERRO LARGO - RS**  
**2019**

**DAVI BORGES**

**CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE *Allium cepa* SUBMETIDAS À ÁGUA  
ANTROPIZADA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado como requisito para obtenção do grau de  
licenciado em Ciências Biológicas da Universidade  
Federal da Fronteira Sul.

**Orientadora: Dra Suzymeire Baroni**

**CERRO LARGO - RS  
2019**

**Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS**

Borges, Davi  
CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE Allium cepa SUBMETIDAS À  
ÁGUA ANTROPIZADA / Davi Borges. -- 2019.  
24 f.:il.

Orientadora: Doutora Suzyneire Baroni.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -  
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de  
Ciências Biológicas-Licenciatura, Cerro Largo, RS,  
2019.

1. Monitoramento. 2. Xenobiotico. 3. Citotoxicidade.  
4. Allium cepa. I. Baroni, Suzyneire, orient. II.  
Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL  
COORDENAÇÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS- LICENCIATURA  
Avenida Jacob Reinaldo Hempel, 1580, São Pedro, Cerro Largo-RS, CEP 97900-000, 55 3359-3381  
cienciasbiologicas@uffs.edu.br, www.uffs.edu.br

DAVI BORGES

CITOTOXIDADE EM CÉLULAS DE *ALLIUM CEPA* SUBMETIDAS A ÁGUA ANTROPIZADA

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Licenciado em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora: Dra. Suzymeire Baroni

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

25/11/2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Suzymeire Baroni - UFFS

Prof. Dra. Nessana Dartora - UFFS

Avaliador Me. Rodrigo Pateta Barcelos - UFFS

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Pontos de Coleta das Amostragens.....	11
Figura 2: Bulbos em tratamento com água do ponto 1, 2 e 3.....	11
Figura 3: Preparo de lâminas para análise do índice mitótico.....	12
Figura 4: Fotos das células em mitose normal encontradas em lâminas do controle de <i>Allium cepa</i> .....	16
Figura 5: Fotos das células com anormalidade nucleares encontradas nas lâminas de <i>Allium cepa</i> em tratamento com as águas do arroio Encantado.....	16

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros das amostras coletados para análise (O <sup>2</sup> D) oxigênio Dissolvido, (C) Condutividade, (STD) Sólidos Totais Dissolvidos e (S) salinidade.....	13
Tabela 2: Número de mitoses obtido no tratamento da coleta 1, apresentando as fases: Prófase, Metáfase, Anáfase, Telófase e a Anormalidades Nucleares de cada ponto.....	13
Tabela 3: Número de mitoses obtido no tratamento da coleta 2, apresentando as fases: Prófase, Metáfase, Anáfase, Telófase e a Anormalidades Nucleares de cada ponto.....	14
Tabela 4: Número de mitoses obtido no tratamento da coleta 3, apresentando as fases: Prófase, Metáfase, Anáfase, Telófase e a Anormalidades Nucleares de cada ponto.....	14
Tabela 5: Número de mitoses em 3000 células nos três dos Pontos do Arroio Encantado e os valores de IM calculado.....	14
Tabela 6: Valores calculado de $p$ pelo t teste com nível de significância de 0,05. P1 (ponto 1) P2 (ponto2) P3 (ponto 3) C (controle).....	16

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Número do índice mitótico dos diferentes pontos de coleta e dos controles.....	15
Gráfico 2: Anormalidades nucleares encontradas nos pontos (P1, P2 e P3) das três coletas e do controle.....	15

## LISTA DE ABREVIATURAS

P1- Ponto 1

P2- Ponto 2

P3- Ponto 3

P - Prófase

M – Metáfase

A- Anáfase

T- Telófase

AN – Anormalidade Nuclear

IM- Índice Mitótico

O<sup>2</sup>D- oxigênio Dissolvido

C- Condutividade

STD- Sólidos Totais Dissolvidos

S- Salinidade

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	09
2. Metodologia.....	10
3. Resultado.....	12
4. Discussão.....	17
5. Conclusão.....	19
6. Referências.....	20

## 1. INTRODUÇÃO

A poluição dos recursos hídricos é um problema grave e crescente. Apesar da existência de uma legislação pertinente, a poluição do meio aquático continua a ocorrer a partir de fontes de origem doméstica, agrícola e industrial. Nos últimos anos, o nível de compostos xenobióticos no meio aquático vem aumentando de forma alarmante. Tal fato vem contribuindo para a redução da qualidade ambiental, bem como para o comprometimento da saúde dos seres vivos que habitam esses ecossistemas (SCALON; SILVA 2009).

Alterações na quantidade, distribuição e qualidade dos recursos hídricos ameaçam a sobrevivência humana e demais espécies do planeta. Pode-se citar o crescimento demográfico e a expansão das atividades econômicas, seja no meio urbano ou rural, como causas do aumento no consumo e na deterioração desses recursos (BORGES; GALBIATTI; FERRAUDO, 2003).

Segundo o IBGE (2002) em relação ao esgoto sanitário 47,8% dos Municípios não possuem a rede pública de coleta de esgoto, cerca de 32% deles coletam, apenas 20,2 % dos Municípios coletam e tratam o esgoto que recolhem das residências. Isso indica que cerca de 80,0% de todo o esgoto produzido no país é descartado *In Natura* nos mananciais, tornando a água importante fonte dispersora de fatores.

Segundo Maier e Santos (2007) as contaminações dos cursos hídricos acontecem por meio de agente químicos utilizados na agricultura, pela criação de bovinos e pelo despejo de resíduos industriais e domésticos sem tratamento. O arroio Encantado tem sua nascente em Cerro Largo - RS, iniciando em uma área agrícola/pecuária, recebendo produtos poluentes direta e indiretamente dessas atividades. Continua seu leito percorrendo a cidade onde recebe resíduos domésticos não tratados, pois a cidade não tem rede de coleta e tratamento de esgoto (KASPER; DAROIT, 2016).

Plantas superiores constituem um importante material para testes genéticos de monitoramento de poluentes ambientais. A espécie *Allium cepa* tem sido considerada um organismo teste eficiente para indicar a presença de citotoxicidade e clastogenicidade. (FISKESJÖ, 1985). Para Leme e Marin-Morales (2009) a utilização para avaliar danos no DNA, como aberrações cromossômicas e distúrbios no ciclo mitótico, tem sido utilizado para avaliar um grande número de agentes químicos, o que contribui para sua crescente aplicação no monitoramento ambiental.

O sistema teste vegetal de *Allium cepa* apresenta-se como um bioindicador ideal da genotoxicidade, devido ao seu baixo custo, confiabilidade e concordância com outros testes de

genotoxicidade, auxiliando os estudos de prevenção de danos à saúde humana (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007).

O método da alteração cromossômica em raízes de *Allium cepa* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, WHO) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias ambientais (CABRERA; RODRIGUEZ, 1999; SILVA *et al*, 2004).

Plantas superiores são frequentemente usadas em estudos de monitoramento, é de fácil manuseio e possui vantagens em relação a outros testes de curto prazo que exigem preparações anteriores das amostras testadas. Com o teste *Allium cepa*, permite a avaliação de diferentes pontos. Entre os parâmetros, as aberrações cromossômicas têm sido as mais utilizadas para detectar a genotoxicidade ao longo dos anos. Além disso, o sistema de teste de *Allium cepa* fornece informações importantes para avaliar os mecanismos de ação de um agente sobre seus efeitos no material genético (efeitos clastogênicos e / ou aneugênicos).

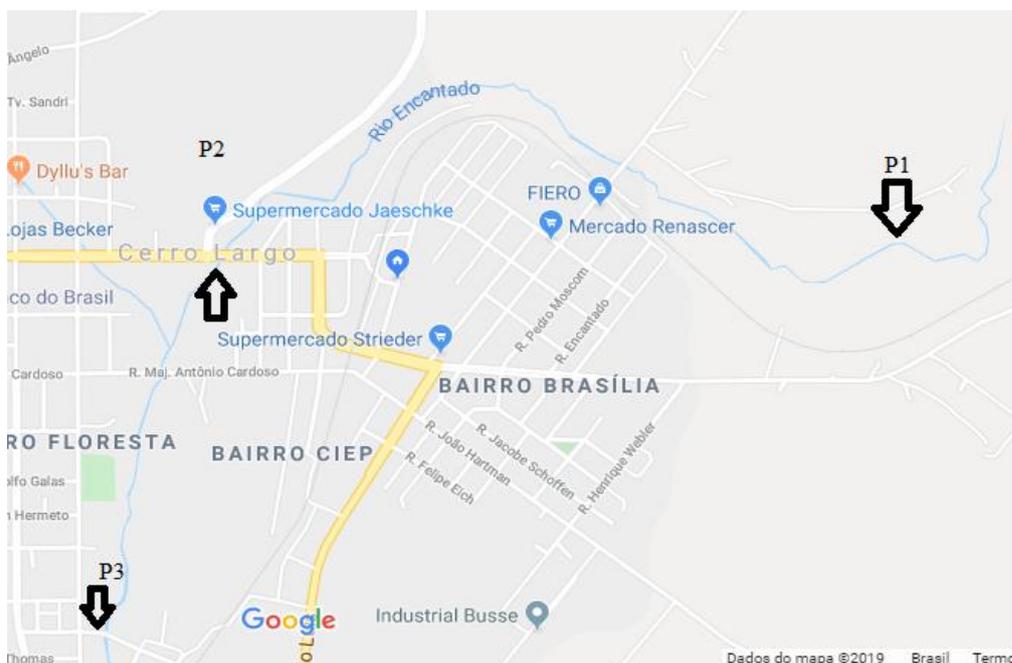
Diante de todas as vantagens que o sistema de teste *Allium cepa* oferece, ele tem sido amplamente utilizado para avaliar os impactos causados por xenobióticos, caracterizando uma importante ferramenta para estudos de monitoramento ambiental, onde resultados satisfatórios foram relatados (LEME; MARIN-MORALES 2009).

Elaboramos esse trabalho com intuito de verificar se a presença de agentes xenobióticos no arroio altera os padrões de mitose na raiz de *Allium cepa*.

## 2. METODOLOGIA

Para a realização das análises nesta pesquisa foram realizadas coletas de água do Arroio Encantado, que pode ser classificado como água de Classe II, sendo possível utiliza-la para consumo humano mediante tratamento, segundo a resolução do CONAMA 357/2005 e que se encontra no município de Cerro Largo - RS no noroeste do estado. Os pontos foram escolhidos baseando-se nos locais que mais apresentaram intervenção antrópica, como mostrado na figura 1. O primeiro ponto está localizado em uma área de pastagem rodeado de agricultura à 28°08'50'' Sul e 54°42'43'' Oeste estando a 178 m acima do nível do mar. O segundo ponto, uma área urbana no início da cidade de Cerro Largo/RS à 28°08'50'' Sul e 54°43'47'' oeste, em uma altitude de 171 m acima do nível do mar e o terceiro ponto no fim do arroio próximo ao rio Ijuí a 28°09'25'' Sul 54°43'59'' Oeste a 160m acima do nível do mar.

Figura 1: Pontos de Coleta das Amostras.



Fonte: Adaptado de Google Maps (2019).

Logo após a coleta e a identificação, as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Genética na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) para aferição dos parâmetros como salinidade, sólidos dissolvidos totais, condutibilidade, pH, e oxigênio dissolvidos, da água coletada conforme a tabela 1 e posteriormente acondicionadas sob refrigeração. Foram adquiridos bulbos de cebola em estabelecimento local da variedade Baia para os testes em triplicata. Os bulbos foram colocados em água destilada por 24 horas para induzir o crescimento radicular, após esse período foram colocados no tratamento utilizando as águas coletadas do arroio por 72 h. sendo três bulbos por ponto de coleta mais o controle com água destilada conforme a figura 1.

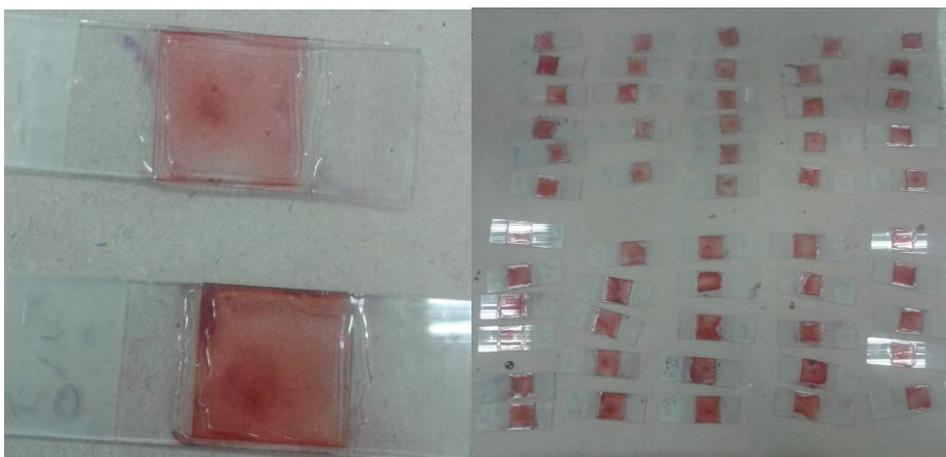
Figura 2: Bulbos em tratamento com água do ponto 1, 2 e 3.



Fonte Autor, 2019;

Após esse período cortou-se as raízes dos bulbos sendo acondicionados em microtubos para processo de fixação usando o fixador Carnoy. Depois de 24 horas foi feita a lavagem das raízes em água destilada por três vezes sendo em seguida submetidas à Hidrólise em HCl 1 N durante 15 minutos em temperatura ambiente, seguida por outra lavagem em água destilada. Para a coloração usamos Schiff, por uma hora em local escuro (MALINI, 2010). Decorrido o tempo as raízes foram lavadas em água sulfurosa para confecção das lâminas. Escolheu-se uma raiz, com auxílio da uma tesoura e uma pinça, cortando-se a parte meristemática, fazendo suave esmagamento das células. Depois desse processo usou-se orceína para melhor visualização e contra coloração dos núcleos, como mostra a figura 2, fechou-se com lamínula e posteriormente foi vedada com verniz acrílico para análise em Microscópio Óptico.

Figura 3: Preparo de lâminas para análise do índice mitótico



Fonte: Autor 2019;

Para a contagem das células foram selecionadas três lâminas por ponto, contabilizando 3000 células de cada ponto, identificando as fases da mitose e as anormalidades nucleares presentes. Para isso foi usado um microscópio óptico em aumento de 1000x. Após a coleta dos dados foi calculado o índice mitótico, ( $IM = \frac{\text{n}^\circ \text{ de células em mitose}}{\text{n}^\circ \text{ total de células}} \times 100$ ) para comparações entre os pontos e o controle.

### 3. RESULTADOS

Os dados da tabela 1 mostram os valores aferidos quanto aos parâmetros físico-químicos das amostras segundo a resolução 357/2005 do CONAMA. Percebe-se que quanto aos valores

ideais preconizados, o oxigênio dissolvido dos três locais apresenta valor abaixo do esperado. Os demais parâmetros estão dentro dos limites aceitáveis.

Tabela 1: Parâmetros das amostras coletados para análise (O<sup>2</sup>D) oxigênio Dissolvido, (C) Condutividade, (STD) Sólidos Totais Dissolvidos e (S) salinidade;

AMOSTRAS	pH	O <sup>2</sup> D mg/l <sup>1</sup>	C mS/cm <sup>2</sup>	STD ppm <sup>3</sup>	S ppm <sup>4</sup>
P1	7,01	4,69	214	141	107
P2	7,64	5,20	185,9	127,5	101
P2	7,10	5,33	230	121	153
CONTROLE	6,8	6,0	330	205	150

<sup>1</sup> miligrama por litro - <sup>2</sup> milisiemens por centímetro - <sup>3</sup> - <sup>4</sup> partes por milhão.

Fonte: Autor, 2019;

Foram contadas 3000 células de cada ponto (P1, P2, P3), totalizando 9000 células por coleta, verificando a presença das diferentes fases da mitose e possíveis alterações encontradas nas células. As Anormalidades Nucleares (AN) encontradas foram: stickiness, pontes anafásicas e micronúcleos.

Tabela 2: Número de mitoses obtido no tratamento da coleta 1, apresentando as fases: Prófase, Metáfase, Anáfase, Telófase e a Anormalidades Nucleares de cada ponto.

Pontos	P <sup>1</sup>	M <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	T <sup>4</sup>	A N <sup>5</sup>
P1	34	23	21	36	15
P2	74	30	19	36	18
P3	85	28	11	41	15
Controle	104	47	27	63	4

<sup>1</sup> Prófase - <sup>2</sup> Metáfase - <sup>3</sup> Anáfase - <sup>4</sup> Telófase - <sup>5</sup> Anormalidades Nucleares.

Fonte: Autor, 2019;

Tabela 3: Número de mitoses obtido no tratamento da coleta 2, apresentando as fases: Prófase, Metáfase, Anáfase, Telófase e a Anormalidades Nucleares de cada ponto.

Pontos	P <sup>1</sup>	M <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	T <sup>4</sup>	A N <sup>5</sup>
--------	----------------	----------------	----------------	----------------	------------------

P1	65	28	11	39	15
P2	59	25	6	44	7
P3	78	25	12	42	10
Controle	104	47	27	63	4

<sup>1</sup>Prófase – <sup>2</sup>Metáfase – <sup>3</sup>Anáfase – <sup>4</sup>Telófase - <sup>5</sup>Anormalidades Nucleares.

Fonte: Autor, 2019;

Tabela 4: Número de mitoses obtido no tratamento da coleta 3, apresentando as fases: Prófase, Metáfase, Anáfase, Telófase e a Anormalidades Nucleares de cada ponto.

Pontos	P <sup>1</sup>	M <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	T <sup>4</sup>	A N <sup>5</sup>
P1	105	59	17	55	17
P2	106	50	22	53	11
P3	79	50	16	56	11
Controle	104	47	27	63	4

<sup>1</sup>Prófase – <sup>2</sup>Metáfase – <sup>3</sup>Anáfase – <sup>4</sup>Telófase - <sup>5</sup>Anormalidades Nucleares.

Fonte: Autor, 2019;

Tabela 5: Número de mitoses em 3000 células nos três dos Pontos do Arroio Encantado e os valores de IM calculado.

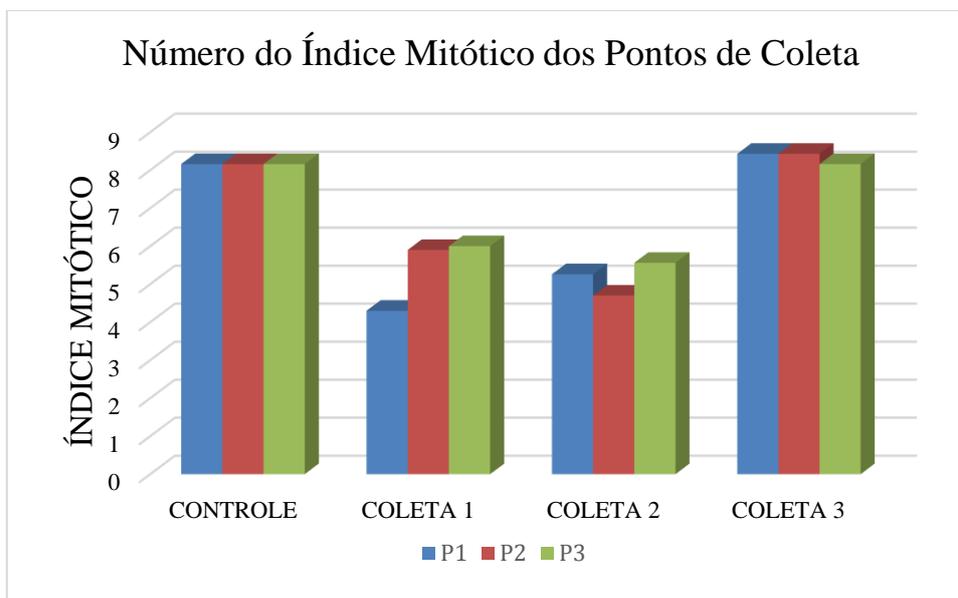
	coleta 1*		coleta 2 *		coleta 3*	
	Nº M*	IM*	Nº M*	IM*	Nº M*	IM*
P1	129	4,30	158	5,26	253	8,43
P2	177	5,90	141	4,70	242	8,06
P3	180	6,00	167	5,56	212	7,06
CTL	245	8,16	245	8,16	245	8,16

\*coleta 1- período chuvoso \*coleta 2- período seco \*coleta 3- período chuvoso. \* N°- número \*M - mitose \*IM - índice mitótico

Fonte: Autor, 2019;

O gráfico 1 mostra os valores calculados de índice mitótico (IM) para os pontos mais o controle.

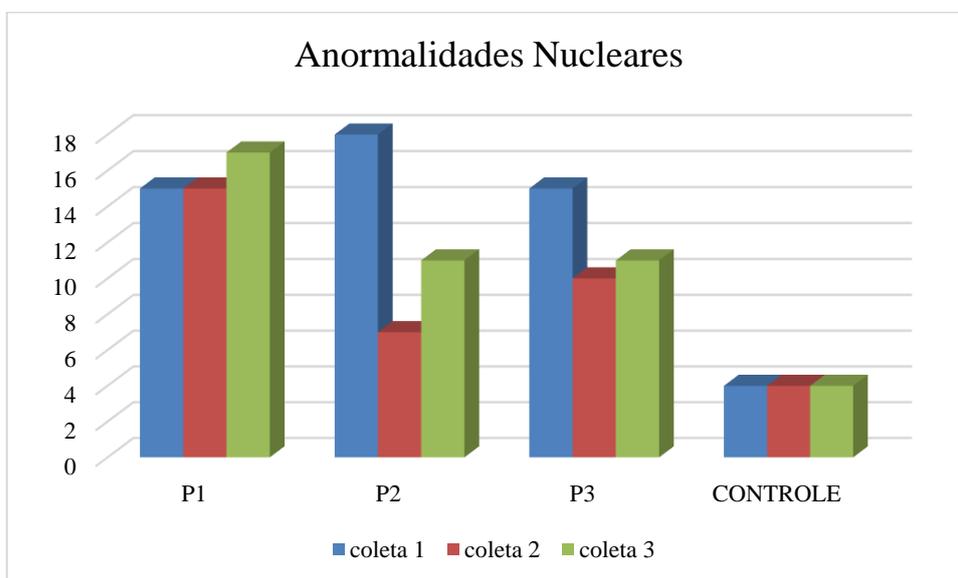
Gráfico 1: Número do índice mitótico dos diferentes pontos de coleta e dos controles.



Fonte: Autor, 2019;

As anormalidades nucleares verificadas nos três pontos de coleta em relação ao controle se apresentam número elevado como mostra o gráfico 2.

Gráfico 2: Anormalidades nucleares encontradas nos pontos (P1, P2 e P3) das três coletas e do controle.



Fonte: Autor, 2019;

Tabela 6: Valores calculado de  $p$  pelo t test com nível de significância de 0,05. P1 (ponto 1) P2 (ponto2) P3 (ponto 3) C (controle).

Variáveis	Valor de $p$
C X P1	0,0034*

C X P2	0,0023*
C X P3	0,6171
P1X P2	0,7196
P1X P3	0,0059*
P2XP3	0,0039*

\*valores significativos

Figura 4: Fotos das células em mitose normal encontradas em lâminas do controle de *Allium cepa*;

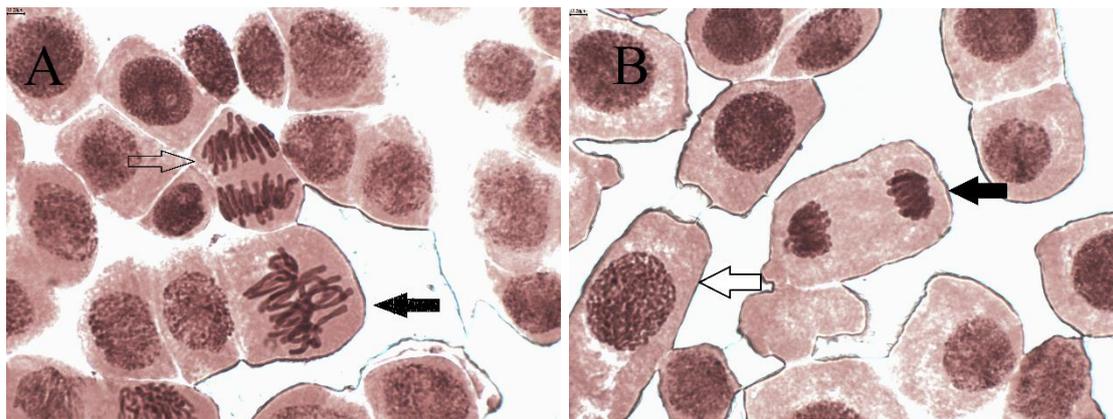
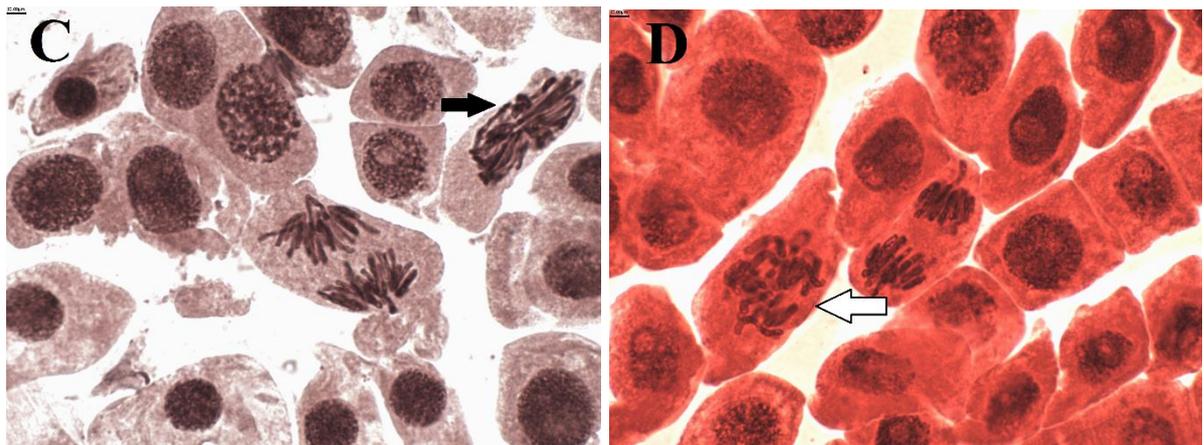
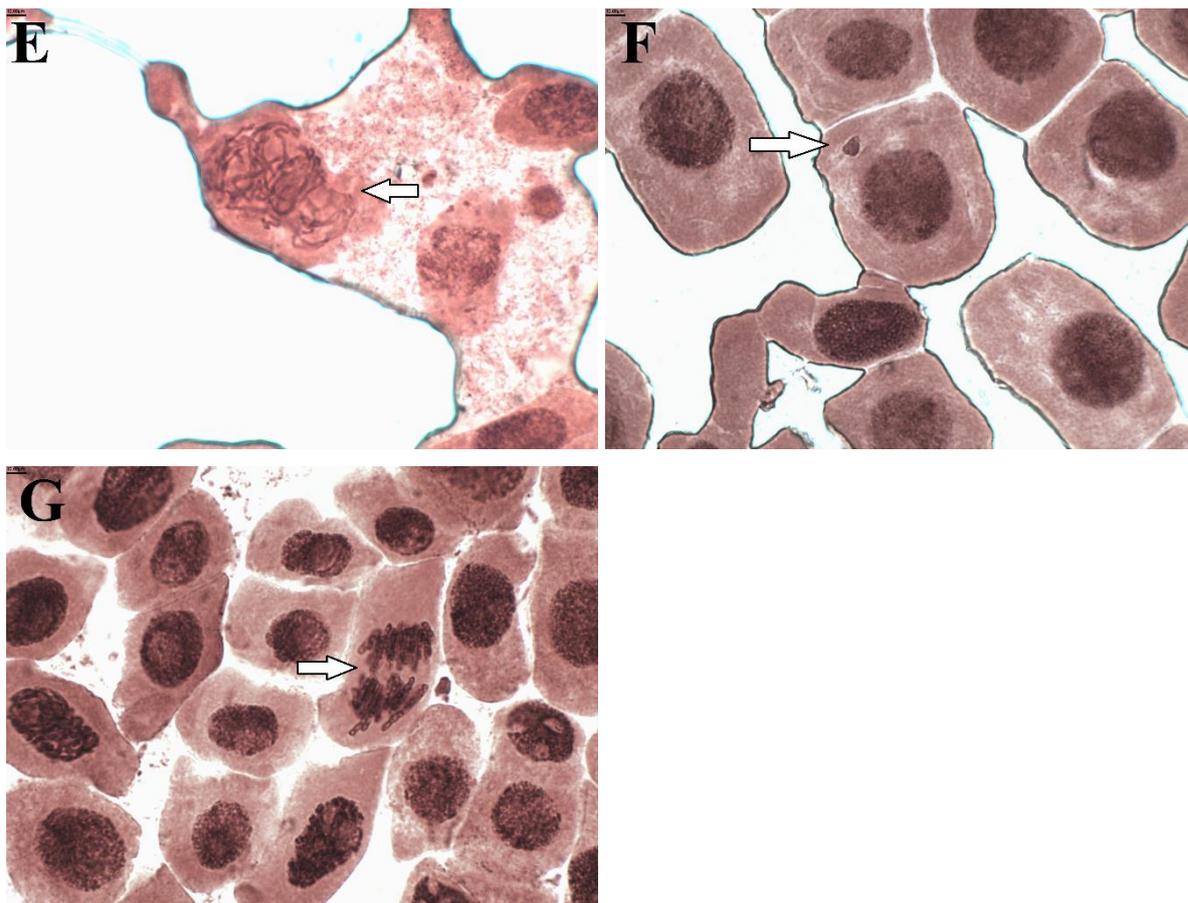


Foto A  $\square \rightarrow$ , Anáfase,  $\blacksquare \rightarrow$ , Metáfase, foto B,  $\square \rightarrow$ , Anáfase  $\blacksquare \rightarrow$ ;

Fonte: Autor, 2019

Figura 5: Fotos das células com anormalidade nucleares encontradas nas lâminas de *Allium cepa* em tratamento com as águas do arroio Encantado;





Fotos: C stickiness, D perda dos fusos, E c-mitose, F micronúcleo e G ponto anafásica.  
 Fonte: Autor, 2019;

#### 4. DISCUSSÃO

As amostras de água coletadas nos três pontos analisados foram avaliadas segundo a determinação de valores estabelecidos pela resolução 357 do CONAMA/2005. Os dados indicam que quanto ao oxigênio dissolvido os três locais apresentam valores abaixo do preconizado pelo CONAMA. Esses valores condizem com a realidade do arroio que recebe efluente urbano sem tratamento, o que aumenta o nível de eutrofização e, portanto, altera os padrões de oxigênio. Os demais parâmetros estão dentro da normalidade especificada na resolução, mas isso não implica que essas águas estejam adequadas para os organismos que nela vivem.

O tempo de exposição e a concentração de xenobióticos são determinantes para que uma alteração significativa se expresse em um determinado núcleo sendo assim, espera-se que mesmo que a exposição seja num curto espaço tempo, mas em concentrações elevadas as alterações podem se manifestar (CARNIATO *et al.*, 2007).

Observando os resultados nas diferentes coletas, pode-se notar alteração do I.M nas amostras de todos os pontos nas coletas 1 e 2 em relação ao Controle. A coleta 3, já difere nos valores de I.M provavelmente devido ao volume de chuvas, que contribuiu para a diminuição da concentração de poluentes nos pontos de coleta. É sabido que o que pode influenciar de forma significativa a frequência de danos mitóticos é a sazonalidade, que ocasiona variação no nível de poluição em determinado local (RUIZ *et al.*, 1992; HAYASHI *et al.*, 1998).

Além do I.M foi avaliado o aparecimento de mitoses com anormalidades e erros. No gráfico 2 podemos verificar que a ocorrência de alterações nucleares é maior que no grupo controle. Isso pode indicar que a água desse arroio apresenta xenobióticos que interagem e alteram os processos celulares de eucariotos.

As alterações cromossômicas são causadas por agentes genotóxicos, causando deformidades nos cromossomos (FISKESJÖ, 1985), levando a alterações no DNA (OLIVEIRA *et al.*, 2011), e se os eventos de reparo forem malsucedidos, os erros são irreversíveis, levando à apoptose (MAJER *et al.*, 2005). Segundo Leme e Marin-Morales, 2009, as alterações cromossômicas do meristema radicular das raízes de cebola de *Allium cepa* são excelentes indicadores para verificação de agentes genotóxicos presentes nos leitos, comprovados pela presença de alterações como stickiness, micronúcleo e pontes anafásicas.

O objetivo deste trabalho não foi identificar quais agentes químicos estavam presentes no leito do arroio, todavia, sabemos que a atividade agrícola e pecuária, sobretudo o mau uso dos defensivos agrícolas pode contaminar os corpos de água causando alterações no ciclo celular das raízes das cebolas (FERREIRA, 2011; ARAÚJO; TÁRREGA, 2008).

Nosso trabalho apresentou dados semelhantes ao de Kasper *et al.*, 2018, que avaliaram o Arroio Clarimundo nesse mesmo município. Os resultados mostraram que a qualidade desse arroio está comprometida pelo excesso de contaminantes depositados no leito, sem nenhuma intervenção dos órgãos públicos quanto a esse problema. Dessa forma, em relação ao arroio Encantado, objetivo desse estudo, percebe-se que a qualidade da água não foge dos achados no arroio Clarimundo.

Tendo em vista, que os leitos de águas são um local de interação de diversas espécies, que as atividades agropecuárias, nos usos de suas atribuições, culminam na deterioração, assoreamentos e contaminação dos corpos hídricos e que o arroio Encantado está rodeado de áreas agricultáveis, podemos inferir que a qualidade hídrica desse arroio é potencialmente capaz de induzir danos clastogênicos em organismos eucarióticos. (ORTEGA; CARVALHO, 2011).

## 5. CONCLUSÃO

Os parâmetros físico-químicos das amostras se mostraram dentro do estabelecido pelo CONAMA com exceção dos valores de oxigênio dissolvido devido a excesso de matéria orgânica no leito do arroio.

Nas amostras de duas coletas realizadas há diferença nos I.M em relação ao controle indicando que, nesse período da coleta, a água apresenta potencial genotóxico e clastogênico.

Os dados também mostram que os danos no material genético, AN, foram significativos, o que sugere que substâncias xenobióticas, ali presentes, têm potencial para interferir nos processos mitóticos em eucariotos.

## 6. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Ionnara Vieira de; TARREGA, Maria Cristina Vidotte Blanco; **Sistema agropecuário de produção integrada: Alcance dos direitos coletivos e do princípio da função social?**. Anais do XV Congresso Nacional do Conpedi, Brasília – Df, p.6253-6271, 20 nov. 2008.

BAGATINI, Margarete Dulce; SILVA, Antonio Carlos Ferreira da; TEDESCO, Solange Bosio. **Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais**. Brazilian Journal Of Pharmacognosy, Santa Maria, Rs, p.444-447, 25 abr. 2007.

BRAGA, Jacqueline Ramos Machado; LOPES, Diêgo Menezes; **Citotoxicidade e genotoxicidade da água do rio Subaé (Humildes,B, Brasil) usando *Allium cepa l.* como bioindicador**. Rev. Ambient. Água [online]. 2015, vol.10, n.1, pp.130-140. ISSN 1980-993X. <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1459>.

BORGES, Maurício José; GALBIATTI, João Antonio; FERRAUDO, Antonio Sergio; **Monitoramento da qualidade hídrica e eficiência de interceptores de esgoto em cursos d'Água urbanos da bacia hidrográfica do córrego Jaboticabal;RBRH - Revista Brasileira de Recursos Hídrico**. v. 8 n.2, p. 161–171 Abr/Jun 2003.

CABRERA, G.L.; RODRIGUEZ, D.M.G.; **Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays**. Mutat Res-Fund Mol M 426: 211-214.1999.

CARNIATO, Juliana Graciani; *et al.* **Avaliação da toxicidade de percolado de resíduos sólidos pós tratamento biológico e fotocatalítico**. Engenharia ambiental – Espírito Santo do Pinhal. v. 4, n. 2, p. 92 – 101. 2007.

CAZENAVE, Jimena; *et al.* **Multiple biomarkers responses in *Prochilodus lineatus* allowed assessing changes in the water quality of Salado River basin (Santa Fe, Argentina)**, Environmental.Pollut, v. 157, p. 1-9, 2009.

CHAUHAN, L. K. S; SAXENA, P. M.; GUPTA, S. K.; **Cytogenetics effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa***. Environment and Experimental Botany. 42:181-189, 1999.

DIAS, André Roncon; Júnior, Ulysses Ribeiro; **Impacto da solução de Carnoy no número de linfonodos resgatados em peças cirúrgicas de câncer gástrico: estudo prospectivo randomizado**. Tese (doutorado). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Ciências em Gastroenterologia. São Paulo, 2014.

FERREIRA, M. L. P. C.; **De defensivos agrícolas a agrotóxicos: desafios para a regulamentação dos agroquímicos no Brasil**. Florianópolis: Editora da UFSC; FUNJAB, 2011. 169 p.

FISKESJÖ, Geirid; ***Allium cepa* test II: Assessment of a chemical's genotoxic potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in roots tips of *Allium cepa L.*** Environmental Toxicological and Waters Quality. 9:235–241, 1985.

HAYASHI, Makoto; *et al.* **Development of genotoxicity assay systems that use aquatic organisms.** Mutation Research, Leiden, v. 399, n. 2, p. 125-133, 1998.

KASPER, Mauricio.; DAROIT, Daniel. Joner.; **Monitoramento da qualidade microbiológica das águas do arroio Clarimundo, município de Cerro Largo (RS).** 2016. 37 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas - Licenciatura, Universidade Federal da Fronteira Sul – Uffs, Cerro Largo/rs, 2016.

KASPER, Natan *et al.* **Impact of anthropic activities on eukaryotic cells in cytotoxic test: Impacto de atividades antrópicas sobre células eucarióticas em teste citotóxico.** Ambiente & Água, Cerro Largo-RS, v. 13, p.1-11, 2018.

LEME, Daniela Morais; Marin-Morales, Maria Aparecida; **Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application.** Mutat Res 682: 71–81, 2009.

MAIER, Clamarion; SANTOS, Danilo Rheinheimer dos; **Qualidade de águas superficiais e tratamento de águas residuárias por meio de zonas de raízes em propriedades de agricultores familiares.** 2007. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Ciências do Solo, Santa Maria, Rs, Brasil., Santa Maria, Rs, Brasil, 2007.

MAJER, Bernhard J; *et al.* **Use of Plant Bioassays for the Detection of Genotoxins in the Aquatic Environment.** Acta Hydrochimica Hydrobiologica, weinheim, v. 33, n. 1, p. 45-55, 2005.

OLIVEIRA, Leonardo. Maurer de; VOLTOLINI, Júlio César; BARBÉRIO, Agnes; **Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste Allium cepa.** Revista Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science: v. 6, n. 1, 2011.

ORTEGA, Diego. Javier. Perez.; CARVALHO, Sérgio Luís de; **Avaliação dos efeitos das atividades antrópicas na bacia hidrográfica do córrego do Ipê, município de Ilha Solteira - SP.** Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de Conhecimento: Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais, Ilha Solteira - Sp, p.1-151, out. 2011.

RUIZ, Elvia F.; *et al.* **Tradescantia micronucleus (Trad-MCN) bioassay on clastogenicity of wastewater and in situ monitoring.** Mutation Research, Leiden, v. 270, n. 1, p. 45-51, 1992.

SCALON, Madalena Cristina Streb; SILVA, Luciano Basso da; **Avaliação dos efeitos genotóxicos da água do rio dos Sinos sobre peixes e vegetais.** 2009. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental, Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo/RS, 2009.

SILVA, C.R.; *et al.* **Absence of mutagenic and cytotoxic potentiality of senna (*Cassia angustifolia Vahl.*) evaluated by microbiological tests.** Rev Bras Farmacogn 14(Supl. 1): 1-3, 2004.

MALINI, Maressa; et al. **Determination of the antimutagenicity of an aqueous extract of *Rhizophora mangle* L. (rhizophoraceae), using in vivo and in vitro test systems.** Genet Mol Biol; 33:176-181.2010.