

# **CITOGENOTOXICIDADE DAS ÁGUAS TRATADAS NA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO (ETE) DO RIO DOCE/GO, POR MEIO DE BIOINDICADORES (*ALLIUM CEPA*)<sup>1</sup>**

## ***CYTOGENOTOXICITY OF THE WATERS TREATED AT THE SEWAGE TREATMENT STATION (ETE) OF THE RIO DOCE / GO, BY BIOINDICATORS (*ALLIUM CEPA*)***

Assis, Lenigher Luan Oliveira<sup>2</sup>; Silva, Maria de Fátima Rodrigues da<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Artigo apresentado à Faculdade de Engenharia Ambiental como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheiro Ambiental, Faculdade de Engenharia Ambiental, Universidade de Rio Verde, 2016.

<sup>2</sup> Aluno de Graduação, Faculdade de Engenharia Ambiental, Universidade de Rio Verde, 2016. E-mail: luanassis\_engambiental@hotmail.com

<sup>3</sup> Orientador, Professor da Faculdade de Agronomia, Universidade de Rio Verde, 2016. E-mail: fatimars@hotmail.com

**Resumo:** O objetivo para realizar este trabalho foi avaliar o potencial ecotoxicológico das águas tratadas na ETE de Aparecida do Rio Doce/GO, que são despejadas no efluente do Rio Doce por meio do bioindicador e *Alium cepa*. Para desenvolver a pesquisa coletou-se duas (02) amostras em dois pontos: no Rio Doce a montante e no ponto de despejo da ETE. As coletas ocorreram por três meses e encaminhadas, imediatamente, para análise. A análise referente à toxicidade, feita por intermédio de ensaios de desenvolvimento de raiz de bulbos de *Allium cepa*, foi realizada seguindo procedimentos apresentados por Fiskesjo (1985), citado por Ribeiro (1999). Com os resultados citogentoxico de água do Rio Doce bem como de seu efluente vindo de uma ETE indicam potencial citotóxico e genotóxico avaliada pela frequência de alterações cromossômicas e índice mitótico em células meristemáticas das raízes *do A. cepa*. Sugere-se o biomonitoramento contínuo deste recurso hídrico e investigações para melhor determinar fontes e natureza de contaminantes clandestinos.

**Palavras-chave:** Biomonitoramento, ecotoxicologia, qualidade da água.

**Abstract:** The objective of this work was to evaluate the ecotoxicological potential of the water treated in the ETE of Aparecida do Rio Doce / GO, which are discharged into the Rio Doce effluent through the bioindicator and *Alium cepa*. To develop the research, two (02) samples were collected in two points: in the Rio Doce upstream and at the point of disposal of the ETE. The samples were collected for three months and immediately sent for analysis. The toxicity analysis, carried out by *Allium cepa* bulb root development trials, was performed following procedures presented by Fiskesjo (1985), cited by Ribeiro (1999). With the cytogenotoxic results of water from the Doce River as well as its effluent coming from a ETE indicate cytotoxic and genotoxic potential evaluated by the frequency of chromosomal changes and mitotic index in meristematic cells of *A. cepa* roots. It is suggested the continuous biomonitoring of this water resource and investigations to better determine sources and nature of clandestine contaminants.

**Key-words:** Biomonitoring, ecotoxicology, water quality.

## Introdução

Nos últimos tempos a humanidade tem experimentado o desenvolvimento das cidades exigindo um consumo maior dos recursos hídricos. Apesar de a água ser fundamental para a vida seu uso é desordenado e está ameaçado por diversas formas de poluição oriundas das ações do homem, o que tem resultado em prejuízos para a própria humanidade (MORAES; JORDÃO, 2002; GUIMARÃES; CARVALHO; SILVA, 2007).

A conservação e administração correta dos recursos hídricos estão sendo negligenciada, mas sua integridade ecológica deve ser preservada para a manutenção da biodiversidade de ecossistemas aquáticos continentais no Brasil, bem como sua saúde (PAZ et al., 2008). As águas doces servem de *habitats* para diversos organismos, dentre os quais estão às bactérias, protozoários, fungos, esponjas, celenterados, vermes, rotíferos, briozoários, moluscos, crustáceos, aracnídeos e uma série de grupos de insetos a grandes vertebrados (ROCHA, 2016).

Um ambiente adequadamente preservado é muito importante econômica, estética e socialmente. Assegurar a manutenção do equilíbrio de todos os seus componentes, em condições ideais, se mostra com a tarefa mais desafiadora. Diversas espécies são características de ambientes estáveis, de forma que se adaptar ao ambiente que apresenta perturbação é menor, a exemplo das espécies que sobrevivem nos interiores das florestas, recifes de corais, organismos de lagos cristalino e de grutas, onde há uma grande probabilidade de haver modificações no ambiente (PRIMACK; RODRIGUES, 2010).

O monitoramento da qualidade das águas, além de seus parâmetros físicos e químicos, pode ser realizado utilizando-se de organismos vivos, sendo esse procedimento denominado de biomonitoramento em que são utilizadas espécies sensíveis às mudanças físicas e químicas que ocorrem no ambiente (VITORINO; MOUGA, 2014). Lijteroff, Lima e Prieri (2008) retratam que um organismo é bioindicador quando ele mostra alguma reação capaz de ser identificada em situações de diferenças ou mudanças do meio no qual ele vive, por exemplo, quanto há contaminação do ar. Diversas espécies não são capazes de se adaptarem ecologicamente ou geneticamente a uma condição ambiental modificada, de forma que sua falta, com certeza, é um indicativo da existência de algum problema.

Diversos bioindicadores estão sendo estudados por conta de sua interação com o ambiente e por apresentar maior facilidade de ser avaliado. Um bioindicador muito estudado é o líquen, o qual cresce em rochas e troncos de árvores, e absorvem minerais encontrados

dissolvidos junto com a água, apresentando-se muito suscetível aos efeitos atmosféricos (LIJTEROFF; LIMA; PRIERI, 2008).

Na maior parte dos países observa-se uma grande preocupação no que diz respeito ao grande impacto ocasionado pelo lançamento de efluentes oriundos de estações de tratamento de esgotos em corpos d'água (OLIVEIRA; SPERLING, 2005).

Para investigar a toxicidade de águas contaminadas é utilizado o teste *Allium cepa* L. (cebola). Este teste favorece uma avaliação com diferentes parâmetros fitotóxicos, tais como bioacúmulo de contaminantes em variados tecidos (raízes, folhas e bulbos), impedimento do crescimento de raízes, diminuição de biomassa, bem como de biomarcadores de estresse oxidativo como peroxidação lipídica, carbonilação de proteínas, glutathione reduzida (GSH), atividade da catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) (MENDES et al., 2011).

O citado método de avaliação de mudanças cromossômicas em raízes de *Allium* tem validação pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP), que o classifica como sendo um eficiente teste para analisar e monitorar in situ a genotoxicidade de substâncias ambientais (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007).

Todos os organismos vivos encontram-se, todo tempo, expostos às substâncias mutagênicas, estas são capazes de causar danos celulares. Os danos podem ser induzidos por agentes químicos, físicos ou biológicos que prejudicam processos vitais como a duplicação e a transcrição gênica, além das mudanças cromossômicas, ocasionando processos cancerosos e morte celular. Em virtude de ocasionar lesões no material genético, tais substâncias são conhecidas como genotóxicas (COSTA; MENK, 2000). Assim, o teste possibilita compreender os riscos ambientais. Ele é bastante usado para analisar águas naturais, rio ou lagos, que recebem efluentes urbanos e industriais. Ao ser aplicado possibilita identificar alterações genéticas como formação de micronúcleo e alteração do índice mitótico de águas (AMARAL et al., 2007).

O uso da água é contínuo e necessário, mas é indispensável que esta esteja em conformidade com os padrões de qualidade. Diante disso foi desenvolvido um estudo no Rio Doce/GO localizado no município de Aparecida do Rio Doce/GO.

A Resolução n. 430 de 13 de maio de 2011 CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. No que diz respeito aos padrões de qualidade das águas, esta resolução estabelece limites

individuais para cada substância em cada classe. A natureza possui a capacidade de promover Trabalho de Conclusão de Curso defendido junto à Faculdade de Engenharia Ambiental da UniRV em novembro de 2016

parte do tratamento dos esgotos, sejam eles domésticos ou industriais. Porém, se a carga orgânica lançada for muito alta pode ocasionar degradação ao ambiente, sendo este um dos aspectos importantes que devem ser considerados ao lançar águas tratadas nos rios sem os cuidados necessários.

Diante da abordagem, o objetivo central do presente estudo foi avaliar o potencial citogenotóxico das águas do Rio Doce bem como as águas tratadas na ETE de Aparecida do Rio Doce/GO, e que são despejadas no efluente do Rio Doce por meio do bioindicador *Allium cepa*.

### Metodologia

O estudo foi realizado no Município de Aparecida do Rio Doce, na bacia hidrográfica do Rio Doce, localizado na região sudoeste do Estado de Goiás, a qual recebe água residuária tratada da ETE do município de Aparecida do Rio Doce, com operação e responsabilidade da estatal SANEAGO (Companhia Saneamento de Goiás S/A). A posição geográfica da referida bacia hidrográfica é  $18^{\circ}17'51,30''$  S e  $51^{\circ}08'56,39''$  O. A população deste município estimada para o ano de 2014 foi estimada em 2.505 habitantes (IBGE, 2010) (Figura 1). A Bacia do Rio Doce abrange os municípios Jataí, Rio Verde, Caiapônia e Aparecida do Rio Doce, todos do Sudoeste Goiano e estende-se por uma área de 261.034,28 hectares (OLIVEIRA, 2011).



Figura 1 - Locais de coleta das amostras de água superficial no ponto a montante e lançamento da ETE de Aparecida do Rio Doce. Fonte: Adaptado do Google earth (2016).

Na cidade de Aparecida do Rio Doce existe uma estação de tratamento de esgoto (ETE), de responsabilidade operacional da empresa estatal Saneago (Companhia Saneamento de Goiás S/A), nas margens do Rio Doce, local no qual é realizado o lançamento de efluente tratado. Em virtude do recebimento de efluentes tratados, é necessária a realização do monitoramento quanto aos padrões de qualidade da água no curso do rio.

A ETE está em funcionamento desde o mês de março de 2006, tendo capacidade de realizar o tratamento de 7,5 litros de esgoto por segundo. O sistema de tratamento é formado por tratamento preliminar (gradeamento, caixas de areia e calha parshall) e três lagoas em série, sendo uma lagoa anaeróbica, uma lagoa facultativa e uma lagoa de maturação.

Com relação ao tratamento preliminar, observa-se que as águas residuárias chegam à estação, dando início a um processo no qual é feita a remoção dos materiais sólidos grosseiros que estão ali, este que permanecem retidos nas grades. Nesta fase é usado o gradeamento e sedimentação por gravidade.

No momento em que as águas residuárias passam pelos reatores, estas escoam lentamente por meio de canal aberto, e passam forçadamente por um canal estreito, em destino às as três lagoas facultativas. Este processo é denominado de tratamento secundário, sendo nele que acontece a retirada da matéria orgânica biodegradável que existe nos sólidos dissolvidos, de nutrientes, o que é realizado através de um processo biológico gerado pela lagoa facultativa simples, não aerada.

Ato contínuo, acontece o tratamento terciário, que é composto pelas três lagoas de polimento, ocasião em que são retirados os nutrientes, os coliformes e uma parte complementar de demanda bioquímica de oxigênio. Nesta ocasião é finalizado o processo e as águas estão prontas para serem reutilizadas ou lançadas nos mananciais.

Após tratadas, essas águas residuárias, estas são novamente lançadas nos rios, e questões tem sido levantadas quanto ao risco de contaminação destas águas. Ressalta-se que, no momento em que serão despejadas nos mananciais, as águas residuárias precisam estar de acordo com os parâmetros estabelecidos na legislação. Por isso, a verificação quanto à a descarga das águas devidamente tratadas e de acordo com as exigências, é importante principalmente, para garantir que os impactos ambientais não sejam grandes.

Para desenvolver a pesquisa foram coletadas duas (02) amostras em locais alternados de amostras de água (1L), nas proximidades do lugar onde é lançada a água residuária tratada.

As coletas foram realizadas no decorrer de três meses, com frequência de aproximadamente 10

dias entre uma coleta e outra, por intermédio do uso de frascos de polietileno e encaminhadas, imediatamente, para análise. No momento da coleta os frascos foram enxaguados na água do local e, em seguida foram coletadas amostras da água e lacrados os frascos. Foram coletados 1 L de amostra em cada ponto (Figuras 2 A e B).

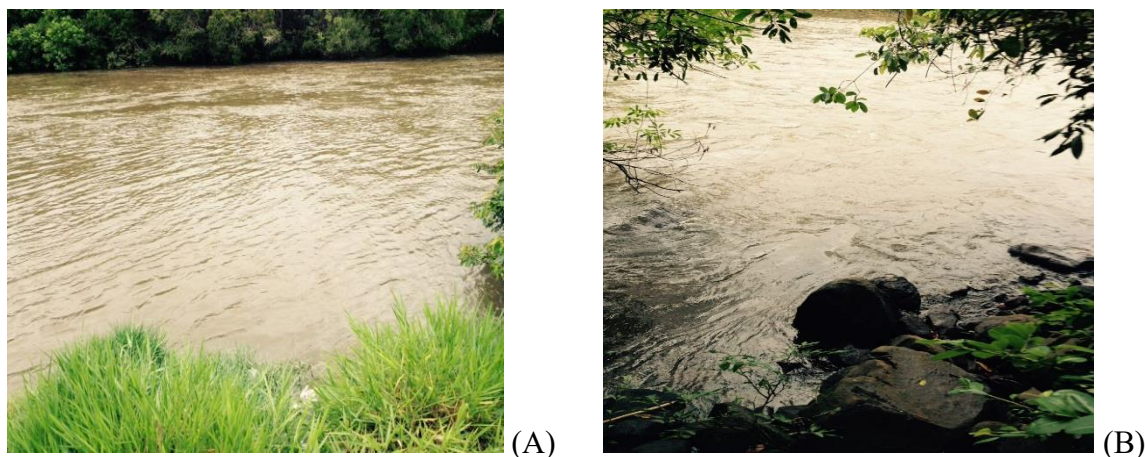


Figura 2 - Coleta das amostras para análises no local de despejo do efluente (A) e Ponto de coleta a 200 m a jusante (B) Fonte: Arquivo pessoal (2016).

O delineamento experimental seguiu conforme descrito por Fiskesjo (1989). Foram utilizados 05 (cinco) bulbos de *A. Cepa* para cada amostra coletada e para os controles negativos. Os bulbos foram colocados em recipientes contendo as soluções de controles positivo e negativo, com o uso de água destilada e amostra da água do rio, de modo a poderem enraizar durante um período de 72 h.

Foram selecionados bulbos de 2,0 cm (dois centímetros) de diâmetros colocados em água destilada durante 24 horas em temperatura ambiente, para estimular o desenvolvimento do meristema radicular. Após este período, os bulbos foram colocados no material a ser testado por um período de 48 horas. Os bulbos com menor desenvolvimento radicular em cada tratamento e nos controles foram descartados.

Após o período de exposição, os bulbos foram retirados das amostras testes e foram coletadas cerca de 8 a 10 raízes de cada bulbo e fixadas em Carnoy, durante aproximadamente 6 horas e armazenadas em etanol 70% a 4°C para posterior preparação e observação de lâminas.

Para a confecção de lâminas as raízes foram retiradas do etanol 70%, lavadas em água destilada, submetidas à hidrólise ácida com HCl 1N durante 3 (três) minutos à temperatura ambiente, lavadas novamente em água destilada, coradas durante dois minutos em orceína-acética 1% e então, preparadas em uma lâmina de citologia através de esmagamento manual.

Foram preparadas 10 (dez) lâminas, sendo uma lâmina para cada bulbo contendo uma raiz cada uma e, foi estimado o número de anormalidades (cromossomos retardatários, pontes cromossômicas, fragmentos, células trinucleadas, binucleadas e brotamentos) em anáfases-telófases.

Para a avaliação de efeitos citotóxicos, o parâmetro analisado foi o índice mitótico (IM). A coleta de imagens e contagem de células foram feitas no sistema de captura de imagens do microscópio.

O índice mitótico foi determinado pela equação:  $IM = NCM/NTC \times 100$ , em que NCM corresponde ao número de células em mitose e NTC ao número total de células analisadas.

As análises das atividades genotóxicas foram feitas por meio da investigação de anormalidades cromossômicas (AC) nas células de raízes. Estes efeitos foram verificados por meio de irregularidades em metáfases, como: aderência, perdas, C-metáfase; em anáfase, como desorganização, multipolares, com pontes, células em brotamento, perdas, atrasos cromossômicos, células com fragmentos cromossômicos, células portadoras de micronúcleo e células multinucleadas. Foram analisadas 3000 (três mil) células por tratamento.

Os resultados do índice mitótico foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey, com  $p < 0,05$ , para indicar o valor significativo. As lâminas portadoras das alterações mais representativas, para cada anormalidade, foram fotos documentadas, para ilustrar os resultados.

### **Resultados e Discussões**

Após realizada a coleta de material nas proximidades do lugar onde é lançada a água residuária tratada, foram realizados testes de citotoxicidade e genotoxicidade, que originaram os seguintes resultados:

#### **- Testes de citotoxicidade:**

Na tabela 1 estão demonstrados os índices mitóticos dos tratamentos. Observa-se que tanto as águas do Rio Doce quanto o efluente estimularam o crescimento das raízes quando comparados ao grupo controle após 48 horas de exposição. O tratamento com água do Rio Doce favoreceu o maior crescimento de raízes (5,4 cm), seguido da ETE (3,5cm) comparados ao controle negativo (2,2cm).

Tabela 1 - Índice mitótico em raízes de *Allium cepa* submetidos a tratamento com água do Rio Doce e da ETE - Aparecida do Rio Doce – GO

Tratamento	Comprimento das raízes (cm)	N. de células em intérfase	n. de células em divisão	Índice mitótico
Controle (água destilada)	2,2 ± 0,083	2609	391	15%
ETE	3,5 ± 0,1	2469	531	21,5%
Rio Doce	5,4 ± 0,1	2329	671	29%

Número de células observadas por tratamento: 3000

O índice mitótico das águas do rio foi maior que o do efluente e diferiram também significativamente entre si ( $p < 0,05$ ) indicando o efeito citotóxico do efluente. O maior Índice Mitótico (IM) encontrado ocorreu no tratamento com água do Rio Doce (22,3%) e o tratamento com ETE apresentou índice igual a 18%, ambos acima do controle com água destilada (13,3%), e menor que o controle negativo (13,3%).

Circunvis et al. (2012), ao analisaram os efeitos citotóxicos e genotóxicos provocados pela água do trecho do rio Subaé na Bahia que tem sido impactado por atividade industrial pelo lançamento de efluentes tóxicos em suas águas, verificaram que a avaliação do Índice Mitótico se apresenta como uma ferramenta segura para se realizar estudos de monitoramento de águas superficiais, pelo fato do nível de citotoxicidade de águas poluídas serem passíveis de serem determinados analisando a taxa de diminuição deste índice.

Com o objetivo de avaliar a citogenotoxicidade do ribeirão da Lage, fonte de água para a cidade de Rio Verde- GO por meio do teste *Allium cepa* como bioindicador, verificaram que o índice mitótico do controle foi 17,6 e do córrego foi 13,3 sem variação significativa entre as amostras. Com isso pode-se identificar que os níveis de citotoxicidade para este determinado trecho são baixos (SILVA; SILVA, 2016).

Alvin et al. (2011) ressaltam que toda alteração nas condições ambientais, notadamente em virtude de poluição, é possível de ser notada nas plantas, por conta da diminuição do crescimento radicular. Esta característica é um indício de estar presente um, ou diversos, poluentes a área de estudo.

Nolasco (1997) acrescentou que o aumento da carga orgânica recebida de esgoto doméstico e industrial, são fatores principais de comprometimento da qualidade da água. No entanto, Jardim (2004) destacou que efluentes domésticos e industriais, ao alcançar os corpos d'água, podem se reverter em fontes de alimento para organismos como algas. Estudos realizado pelo autor caracterizou ter havido um crescimento significativo das raízes de *Allium cepa* L. nas amostras não diluídas expostas a efluentes com elevada carga orgânica.



### - Testes de genotoxicidade:

Em ambos os tratamentos foram encontradas anormalidades cromossômicas dos tipos, *stickness* (cromossomos pegajosos), pontes anafásicas e metáfases com cromossomos atrasados, anáfases multipolares, anáfases desorganizadas conforme mostrado na figura 3.

Observações locais demonstraram que as águas estão sujeitas ao descarte de efluentes clandestinos de resíduos de oficinas mecânicas, como graxas e óleos, o que talvez possa explicar a taxa de alterações cromossômicas das células tratadas com água do rio.

Pesquisas conduzidas por Costa et al. (2015), demonstraram que, provavelmente por causa da presença de *trihalometanos* e de metais, as amostras por eles conseguidas, revelaram o aparecimento de mudanças nas células, sugerindo um provável efeito mutagênico destas águas, notadamente dos tipos: pró-metáfases e metáfases desorganizadas, metáfases multipolares e com cromossomos soltos, metáfases-colchicínicas, anáfases desorganizadas, anáfases multipolares e com cromossomos soltos, pontes anafásicas, micronúcleos e telófase com cromossomo tardio, de acordo com o que é visto na Tabela 2 e Figura 3.

Tabela 2- Quantidade de anormalidades cromossômicas, e frequência de cada tipo de alteração, nas raízes de *A. cepa*, submetidas aos diferentes tratamentos com a água do Rio Doce e seu efluente.

<b>Tratamento</b>	<b>metáfases alteradas</b>	<b>anáfases alteradas</b>	<b>telófases alteradas</b>	<b>Total de anormalidades cromossômicas</b>
Controle	-	-	-	-
ETE	21	11	09	41
Ponto a montante da ETE – Rio Doce	11	04	02	17

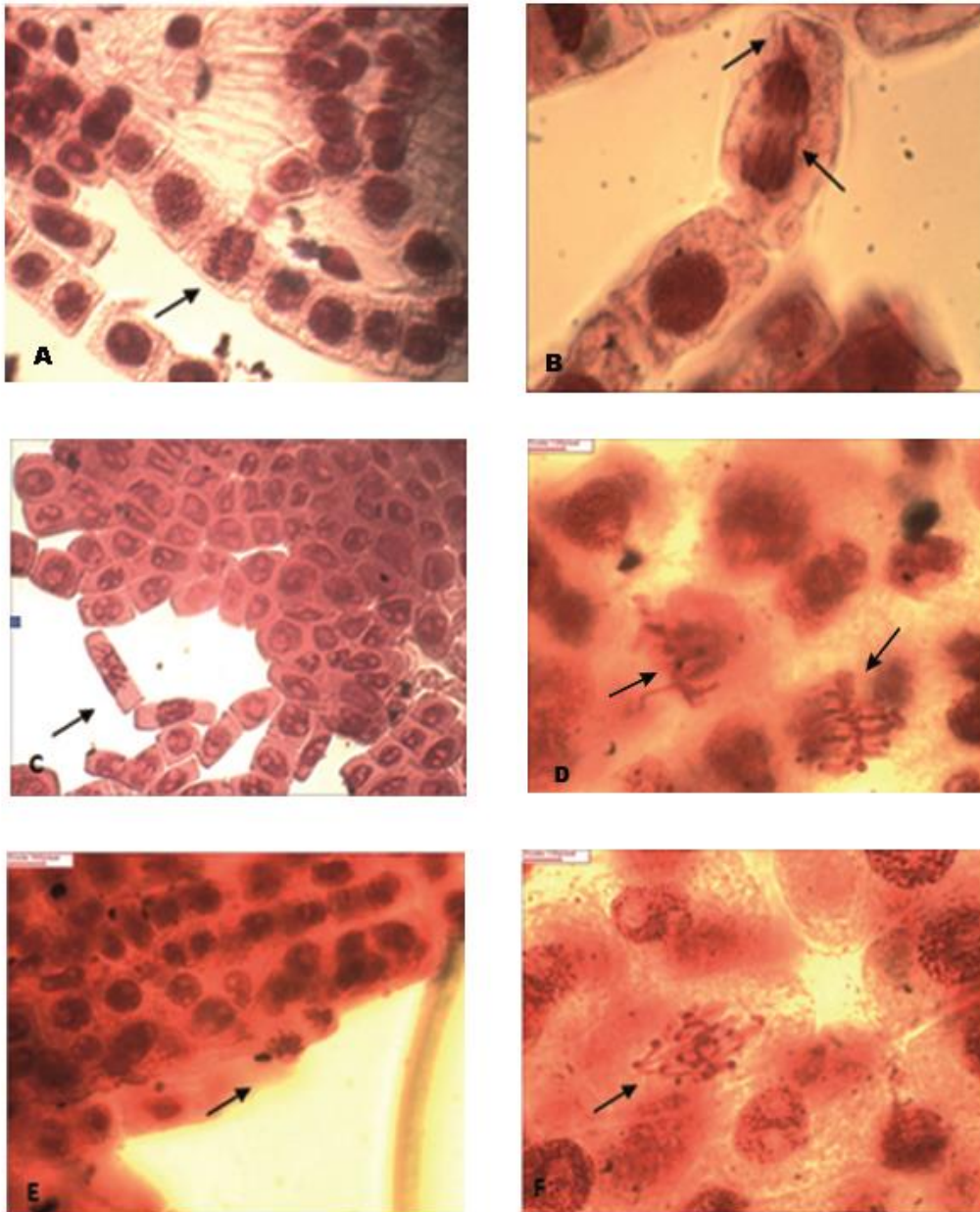


Figura 3 - Anomalias cromossômicas encontradas nas raízes tratadas com água do Rio Doce e com o efluente da ETE do Rio Doce – Aparecida do Rio Doce-GO. **A:** Anáfase multipolar (400x). **B:** ponte anáfase e cromossomo solto (1000x). **C:** metáfase com região equatorial desorganizada (200x). **D:** metáfase com *stickiness*. **E:** telófases desorganizadas (200x). **F:** metáfase desorganizada (1000x).

Observa-se, assim, que as mudanças verificadas neste estudo revelam um possível efeito quanto à formação do fuso da divisão celular, que deve ter relação com a polimerização das tubulinas.

Souza (2006) ao verificar efluentes de uma indústria de papel e celulose constatou que ocorreram aberrações nas células meristemáticas de *Allium cepa*, encontrando apenas as aberrações cromossômicas: C-metáfase, pontes anafásicas e anáfase desorganizadas, tanto no efluente tratado como no não tratado, evidenciando que a anáfase sofreu maior número de anomalias.

Alterações cromossômicas parecidas com os resultados obtidos neste estudo foram também encontradas por Domingues (2008), usando o teste com *Allium cepa*, como metáfases colchicínicas e desorganizadas, anáfases multipolares e com perda de cromossomos, bi-metáfases e micronúcleos, analisando a água do córrego Cleópatra, no qual são descartados efluentes líquidos de uma indústria têxtil.

Podendo assim prejudicar a saúde pública das pessoas que usam para consumo ou que tenha contato direto ou indireto com essa água, vindo causar diversas doenças e a morte de peixes e demais animais aquáticos.

## CONCLUSÃO

Os resultados citogentóxicos de água do Rio Doce bem como de seu efluente vindo de uma ETE indicam que, no período estudado, este rio apresentou potencial citotóxico e genotóxico avaliada pela frequência de alterações cromossômicas e índice mitótico em células meristemáticas das raízes do *A. cepa*. Sugere-se o biomonitoramento contínuo deste recurso hídrico e investigações para melhor determinar fontes e natureza de contaminantes clandestinos.

## REFERÊNCIAS

AMARAL, A. M.; BARBÉRIO, A.; VOLTOLINI, J. C.; BARROS, L. Avaliação preliminar da citotoxicidade e genotoxicidade da água na bacia do rio Tapanhon (SP-Brasil) através do teste *Allium* (*Allium cepa*). **Revista Brasileira de Toxicologia**, São Paulo, v. 20, n.1/2, p. 65-71, 2007.

APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21<sup>th</sup> Washington DC: American Public Health Associations, 2005.

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

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução n. 430, de 13 de maio de 2011**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>. Acesso em: 04/10/2014.

COSTA, A. C.; DOMINGUES, G.; DÜSMAN, E.; ALMEIDA, I. V.; VICENTINI, V. E. P. Citotoxicidade das águas do Rio do Peixe (São Paulo-Brasil), em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n.1, p. 248-258, jan./fev. 2015.

COSTA, R.M.A.; MENK, C.F.M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia: ciência e desenvolvimento**, v.3, p.24-26, 2000.

DOMINGUES, G. **Análise dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e clastogênicos, dos efluentes líquidos, de uma indústria de tingimento têxtil, em três sistemas-teste**. 2008. Dissertação (Mestrado em Biologia Comparada) – Curso de Pós-Graduação em Biologia Comparada, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test: an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 197, n. 2, p. 243-260, Feb. 1988.

GUIMARÃES, A. J. A.; CARVALHO, D. F.; SILVA, L. D. B. **Saneamento básico**, ago. 2007. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAABwH8AG/capitulo1-saneamento-basico#>>. Acesso em: 05 out. 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo demográfico 2010**. Disponível em: <[www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em: 14 set. 2016.

JARDIM, G. M. **Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do Rio Corumbataí, São Paulo**. 2004. 138f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

LIJTEROFF, R., LIMA, L., PRIERI, B. Uso de líquenes como bioindicadores de contaminación atmosférica em la ciudad de San Luis, Argentina. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v.3. n.1, p.3-6, oct. 2008. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37012009006>>. Acesso em: 12 set. 2016.

MENDES, B.G.; BUDZIAK, D.; STOLBERG, J.; PEIXER, Z.I.; DALMARCO, J.B.; SIMIONATTO, E.L.; PEDROSA, R.C.; FELIPE, K.B.; OGAWA, J.; PEGORARO, C.; SCHEFFER, L.; BESEN M.R.; OLIVEIRA, L.J.G.G. de. Estudo da qualidade das águas do Rio Marombas (SC/BRASIL), utilizando parâmetros físico-químicos e bioensaios. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v.5, n.2, p.43-58, 2011.

MORAES D, S L.; JORDÃO, B, Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Revista de Saúde Pública**, v.36, n.3, p.370-374, 2002.

NOLASCO, A. M. Síntese dos trabalhos apresentados no II seminário sobre recuperação florestal e desenvolvimento sustentável da bacia do Corumbataí. In: SEMINÁRIO DE RECUPERAÇÃO FLORESTAL E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL, 2., Piracicaba, 1997. **Recuperação florestal e desenvolvimento sustentável na bacia do Corumbataí**. Piracicaba: Sema, 1997. p. 56-59.

OLIVEIRA, F. A.; CALAÇA, M. Bacia do Rio Doce sob representações de múltiplos sujeitos: uma abordagem geográfica. **Campo Território: Revista de Geografia Agrária**, n. 6, n. 12, p. 163-182, ago. 2011.

OLIVEIRA, P. T. S. **Zoneamento ambiental no planejamento e gestão de bacias hidrográficas**. Campo Grande, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, 2011.

OLIVEIRA, S.M.A.C.; SPERLING, M. Von. Avaliação de 166 ETEs em operação no país, compreendendo diversas tecnologias. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v.10, n.4, p.347-357, 2005.

PAZ, A.; MORENO, P.; ROCHA, L.; CALLISTO, M. Efetividade de áreas protegidas (Aps) na conservação da qualidade das águas e biodiversidade aquática em sub-bacias de referência no rio das Velhas (MG). **Neotropical Biology and Conservation**, v.3, n.3, p. 149-158, set./dez. 2008.

PRIMACK, R.B; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação**. 10.ed. Londrina: Planta, 2010.

RIBEIRO, I. A. Teste de raízes de cebola para avaliação de toxicidade de efluentes industriais. **Engenharia Sanitária e Ambiental: Nota Técnica**, n.4, p. 108-112, 1999.

ROCHA, O. **Organismos de águas doces**. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/estruturas/chm/\\_arquivos/Aval\\_Conhec\\_Cap5.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/chm/_arquivos/Aval_Conhec_Cap5.pdf)>. Acesso em: 12 set. 2016

SILVA, L. R. C.; SILVA, M. F. R. **Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico do ribeirão da Lage de Rio Verde-GO, utilizando bioensaios com *Allium cepa***. Disponível em:

<<http://www.unirv.edu.br/conteudos/fckfiles/files/AVALIACAO%20DO%20POTENCIAL%20CITOTOXICO%20E%20GENOTOXICO%20DO%20RIBEIRAO%20DA%20LAGE%20DE%20RIO%20VERDE%20GO%20UTILIZANDO%20BIOENSAIOS%20COM%20ALLIUM%20CEPA.pdf>>. Acesso em: 14 out. 2016.

SOUZA, V. H. E. **Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade e estresse oxidativo de efluentes de uma indústria de papel e celulose de Santa Catarina em *Allium cepa***. 2006. 165f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

VITORINO, M.; MOUGA, D. M.D.S. Macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores da qualidade de água do Rio Cubatão, em Joinville (SC). In: SEMANA DO BIÓLOGO, 20, 2014. Joinville. **Anais...** Joinville: UNIVILLE, 2014. p.65.