

# CITOTOXICIDADE DAS ÁGUAS DO RIO DO PEIXE (SÃO PAULO-BRASIL), EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAIZ DE *Allium cepa* L.

## CYTOTOXICITY OF WATERS OF THE RIVER PEIXE (SÃO PAULO-BRAZIL), IN MERISTEMATIC ROOT CELLS OF *Allium cepa* L.

**Alessandra Corveloni da COSTA<sup>1</sup>; Giovana DOMINGUES<sup>2</sup>; Elisângela DÜSMAN<sup>3</sup>; Igor Vivian de ALMEIDA<sup>4</sup>; Veronica Elisa Pimenta VICENTINI<sup>5</sup>**

1. Especialista em Biotecnologia Aplicada à Agroindústria-UEM, Laboratório de Mutagênese e Monitoramento Ambiental - LMMA, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - DBC, Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá, PR, Brasil; 2. Mestre em Biologia Comparada – PGB-UEM, LMMA, DBC, UEM, Maringá, PR, Brasil; 3. Doutora em Biologia Comparada – PGB-UEM, LMMA, DBC, UEM, Maringá, PR, Brasil. lisdusman@yahoo.com.br; 4. Doutorando em Biologia Comparada – PGB-UEM, LMMA, DBC, UEM, Maringá, PR, Brasil; 5. Professora Doutora, LMMA, DBC, UEM, Maringá, PR, Brasil.

**RESUMO:** Nas últimas décadas, a qualidade da água do Rio do Peixe, localizado no interior do Estado de São Paulo, está diminuindo, principalmente porque o rio vem sofrendo com o desmatamento feito às suas margens, o que provocou o assoreamento e permitiu o despejo de todos os tipos de resíduos, em especial das indústrias que ficam ao seu redor. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial citotóxico das águas do Rio do Peixe, coletadas em quatro propriedades rurais localizadas em Garça-SP (nascente), Tupã-SP, Flórida Paulista-SP e Ouro Verde-SP (jusante), usando como sistema teste vegetal as células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. Os resultados obtidos mostraram que todas as amostras das águas coletadas não apresentaram efeito citotóxico após 24 horas de tratamento. Entretanto, as amostras obtidas em Tupã, Flórida Paulista e Ouro Verde (jusante) foram mutagênicas, pois causaram o aparecimento de alterações nas células, principalmente, dos tipos metáfases-colchicínicas, anáfases desorganizadas, multipolares e com ponte cromatídica, além de células micronucleadas. Portanto, os resultados obtidos alertam para o perigo eminente que os efluentes lançados indiscriminadamente no ambiente, de rios e lagos, podem representar não só aos organismos que ali habitam, mas a todos os outros que dele dependem, seja para lazer, limpeza, higiene ou alimentação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Água de Rio. Alteração Cromossômica. Ecotoxicologia. Monitoramento Ambiental. Mutagênese Ambiental.

### INTRODUÇÃO

Durante as últimas três décadas tem aumentado o interesse da comunidade científica e das agências regulatórias em relação à detecção, conhecimento e controle sobre os agentes ambientais responsáveis por danos à saúde humana e a sustentabilidade dos ecossistemas (CETESB, 2005).

Segundo Moraes (2000) os testes biológicos para toxicidade e genotoxicidade são indispensáveis para avaliações de reações dos organismos vivos à poluição ambiental e para uma indicação dos efeitos sinérgicos potenciais de vários poluentes, enquanto que, a análise físico-química identifica a presença e as respectivas concentrações de diferentes poluentes.

Os relatos de efeitos teratogênicos, mutagênicos e, especialmente, carcinogênicos, justificam a necessidade da realização de testes toxicológicos rigorosos e de análises a partir de material biológico e da complementação dos dados através de projetos de biomonitoramento no campo (CAVAS, 2005; FRENZILLI, 2008; HARA et al., 2009; KLOBUCAR et al., 2002).

Dentre os vegetais superiores utilizados nos testes de citotoxicidade e genotoxicidade pode-se citar o de *Allium cepa* L. (KURAS, 2006; LEME, 2008; SMAKA-KINCL et al., 1996). Este teste já foi utilizado para testar diversas substâncias, como medicamentos, chás, sucos, aditivos alimentares, agrotóxicos, esgotos domésticos e industriais, águas de abastecimento humano, rios, lagos e mares, dentre outros. A utilização deste bioensaio tem como vantagens o baixo custo, a facilidade de execução e análise e o fato de poder ser realizado *in vivo* (DÜSMAN et al., 2012a; FERREIRA et al., 2012; KURAS, 2006; LEME, 2008; TURKOGLU, 2008).

O Rio do Peixe está localizado no interior do estado de São Paulo. A nascente do Rio está localizada no município de Garça (Latitude 22°12'41" Sul e Longitude 49°39'52" Oeste) e corre em direção ao Oeste do estado, desembocando no Rio Paraná a uma altitude de 240 m entre as cidades de Presidente Epitácio e Panorama (Latitude 21°33'11" Sul e Longitude 51°57'47" Oeste), com 380 km de extensão.

O Rio do Peixe é formado pela confluência de vários rios, córregos e ribeirões, drenando os



As amostras das águas foram coletadas no período da manhã e tarde, entre as 9 h e 15 h, no mês de fevereiro, com céu nublado. A temperatura variou entre mínima de 25°C e máxima de 31°C, e a média de chuva no mês foi de 20 mm. As características dos pontos de coleta das amostras foram:

PONTO I. nascente em Garça: pH 7,0, região com vegetação nativa, área com brejos e presença de plantação de verduras ao seu redor, conforme Figura 2.

PONTO II. Tupã: pH 7,5, região com bastante vegetação em suas margens e com a presença de

uma máquina no rio fazendo a drenagem de areia, conforme Figura 3.

PONTO III. Flórida Paulista: pH 7,2, região com pouca vegetação na margem do rio, redução da mata ciliar, assoreamento e próximo ao local presença de uma plantação de cana de açúcar e uma usina sucroalcooleira, conforme Figura 4.

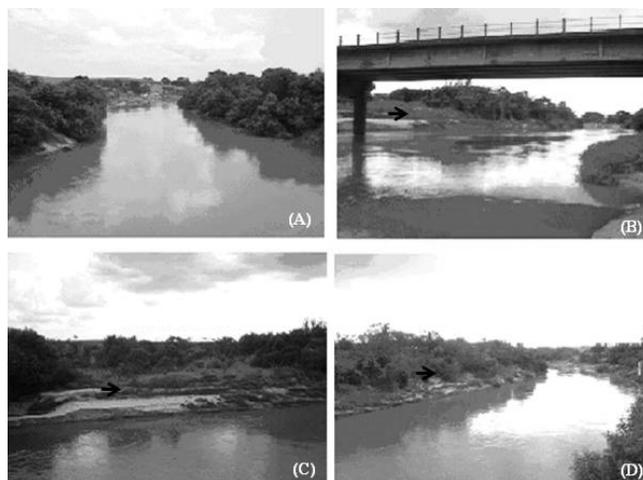
PONTO IV. jusante em Ouro Verde: pH 7,6, região com margens com redução da mata ciliar, apresentando piscina de assoreamento e recebe os efluentes de uma usina de cana-de-açúcar da cidade de Dracena-SP, localizada a alguns quilômetros da jusante, conforme Figura 5.



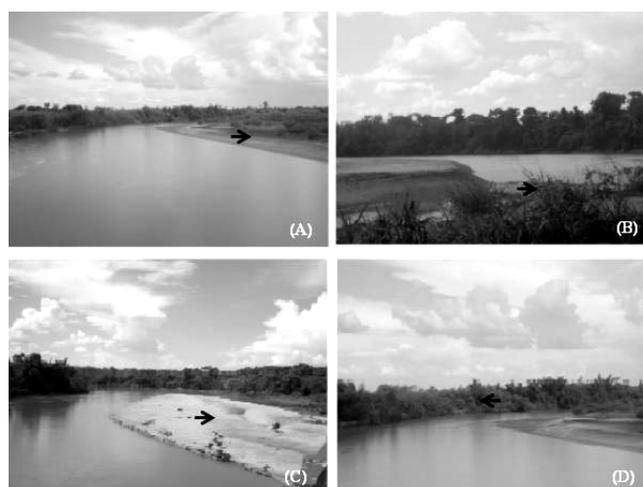
**Figura 2.** Ponto de coleta da água da Nascente do Rio do Peixe, na cidade de Garça-SP, com vegetação nativa na região (A, B e D) e presença de plantação de verduras (seta) ao seu redor (C).



**Figura 3.** Ponto de coleta da água do Rio do Peixe, na cidade de Tupã-SP, com muita vegetação em suas margens (A e C) e com a presença de uma máquina (seta) fazendo a drenagem de areia (B e D).



**Figura 4.** Ponto de coleta da água do Rio do Peixe na cidade de Flórida Paulista-SP, com pouca vegetação na margem do rio (seta), redução da mata ciliar (B, C e D), assoreamento (B e C) e próximo ao local havendo uma plantação de cana de açúcar e uma usina sucroalcooleira (A).



**Figura 5.** Ponto de coleta da água da Jusante do Rio do Peixe, na cidade de Ouro Verde-SP, apresentando margens com redução de mata ciliar (seta) (A, B, C e D) e piscina de assoreamento (C).

#### **Células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L.**

A parte experimental foi realizada segundo a metodologia originalmente introduzida por Levan em 1949 (em FISKESJÖ, 1985).

Cinco bulbos de cebola, para cada grupo controle e tratado, foram colocados para enraizar em frascos com água à temperatura ambiente, aerada e no escuro. Antes de cada tratamento, três raízes foram coletadas e fixadas (3 metanol: 1 ácido acético) para servirem de controle do próprio bulbo (CO-0 h). Em seguida, as raízes destes bulbos foram colocadas nas respectivas amostragens das águas do Rio do Peixe e divididas em grupos: Nascente - Garça, Tupã, Flórida e Jusante - Ouro Verde, por 24 h. Após o tempo de tratamento, foram retiradas três raízes de cada cebola e fixadas (TR-24 h). As raízes restantes foram lavadas e os bulbos novamente

colocados em água filtrada, para recuperação, de eventuais danos ocorridos, por 24 h, sendo as raízes restantes retiradas e fixadas (RE-24 h).

Foi feito um grupo Controle Negativo, no qual as cebolas permaneceram durante todo o tempo das amostragens, em água filtrada, ocorrendo também sua coleta a cada 24 h.

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

Para a confecção das lâminas, foi utilizada a região mais corada das raízes, contendo as células meristemáticas, que foi macerada com orceína

acética e coberta com lamínula. As lâminas foram armazenadas por 24 h no congelador e após, as lamínulas foram descoladas em nitrogênio líquido, e deixadas secar a temperatura ambiente. As lâminas permanentes foram montadas com bálsamo do Canadá.

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

A análise estatística foi realizada pelo teste do Qui-quadrado ( $n=5$ ,  $\alpha=0,05$ ), comparando os valores dos IM médios de cada tempo de amostragem (CO-0 h, TR-24 h e RE-24 h) entre si, dentro de cada grupo controle ou tratado, e comparando estes valores do grupo controle negativo com os dos grupos tratados com as águas do Rio do Peixe de Garça, Tupã, Flórida e Ouro Verde.

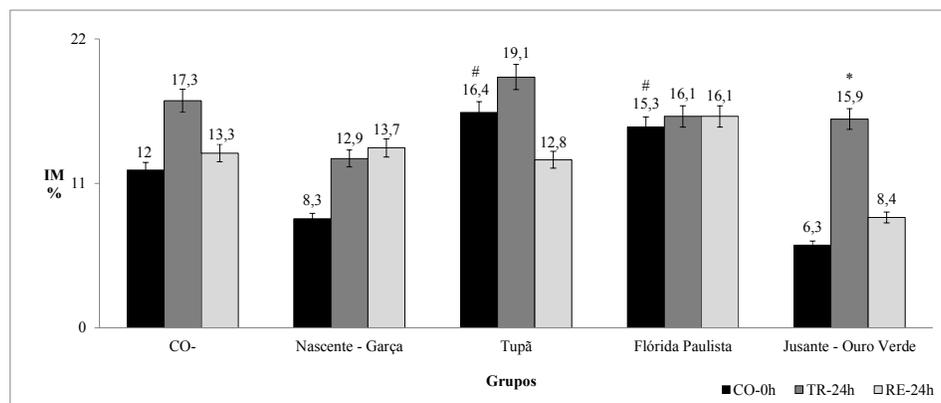
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os índices mitóticos obtidos (Figura 6) mostram que os tratamentos com as amostras das águas do Rio do Peixe-SP, da Nascente em Garça, das cidades de Tupã e Flórida Paulista e à jusante em Ouro Verde, não foram citotóxicas para as células meristemáticas de raiz de *Allium cepa*. Corroboram com esses dados, também utilizando o sistema teste de *Allium cepa*, o trabalho de Peron et

al. (2009), com as águas do Rio Pirapó (Apucarana-PR), o estudo de Bianchi et al. (2011), com as águas do Rio Monjolinho (São Carlos-SP), que recebem efluentes domésticos e indústrias não tratados, e os dados de Ferreira et al. (2012), com as águas dos Ribeirões Varginha (Califórnia-PR) e Tabatinga (Mandaguari-PR), que recebem efluentes industriais e urbanos ao longo do seu curso, e que também não demonstram citotoxicidade destas águas.

Vale destacar que os tratamentos com as amostras de água do Rio do Peixe das cidades de Garça, Tupã e Flórida Paulista (TR-24 h) apresentaram valores de índices mitóticos estatisticamente semelhantes aos do controle negativo (TR-24 h CO-), do controle do próprio bulbo (CO-0 h) e do tempo de recuperação (RE-24 h) de cada cebola.

Entretanto, a amostra de água da jusante em Ouro Verde (TR-24 h) apresentou um índice mitótico diferente do controle do próprio bulbo (CO-0 h) (Figura 6), com uma elevação destes valores de 6,3 (CO-0 h) para 15,9 (TR-24 h). Essa diferença não foi observada nos outros grupos tratados com as águas do Rio do Peixe, possivelmente porque, o tempo zero hora (0 h) da amostra de Ouro Verde apresentou um índice mitótico (6,3) bem menor que os dos outros controles neste mesmo tempo de amostragem (0 h) (Controle negativo: 12; Garça: 8,3; Tupã: 16,4 e Flórida Paulista: 15,3). Apesar disto, o tempo zero hora da amostra de água da jusante em Ouro Verde foi semelhante estatisticamente ao controle negativo e a nascente em Garça, neste mesmo tempo de avaliação. Diferenças estatísticas no tempo zero hora foram observadas somente entre a Nascente e a Jusante com os pontos Tupã e Flórida Paulista.



**Figura 6.** Percentuais dos Índices Mitóticos (IM) médio e desvio padrão, obtidos para cada Controle (CO-0 h), Tratamento (TR-24 h) com as quatro amostragens de água, de diferentes localidades, do Rio do Peixe-SP, e respectiva Recuperação (RE-24 h). CO-: controle negativo.

\* Resultado estatisticamente significativo em relação ao respectivo CO-0 h; # Resultado estatisticamente significativo em relação ao CO-0 h da Nascente-Garça e da Jusante-Ouro Verde.

O aumento no percentual de divisão celular das raízes de cebola na jusante em Ouro Verde pode ser explicado devido à redução da mata ciliar e ao assoreamento na região (Figura 5), além do grande descarte de componentes orgânicos nestas águas, oriundos principalmente, das plantações de cana-de-açúcar localizadas antecedentes a este ponto de coleta (Figura 4). Entretanto, o índice mitótico deste grupo (TR-24 h: 15,9) diminuiu no período da recuperação (RE-24 h: 8,4), reforçando a hipótese do estímulo das divisões celulares em *Allium cepa* durante o contato direto com os compostos orgânicos (VUJOŠEVIĆ et al., 2008).

Esses resultados corroboram com os encontrados por Düsman et al. (2011, 2012b), avaliando os Córregos Corregozinho, Isalto, Morangueira e Ozório e os Ribeirões Mandacaru, Maringá, Miosótis e Nazareth, todos localizados na região urbana de Maringá-PR, e que também não encontraram citotoxicidade nestas águas com *Allium cepa*, mas observaram elevações nos índices mitóticos dos tratamentos com as amostras das águas dos Córregos Mandacaru (28%), Maringá (20%) e Ozório (68%), se comparado ao controle.

A ausência de potencial citotóxico das águas avaliadas no presente estudo pode ser devido aos valores de pH próximo ao neutro (7,0) das amostras de água do Rio do Peixe-SP (Garça: 7,0; Tupã: 7,5; Flórida Paulista: 7,2 e Ouro Verde: 7,6). Baixos valores de pH favoreceriam o efeito tóxico das águas, devido ao aumento da dissolução de íons metálicos e de sua concentração na coluna d'água (SILVA et al., 2003), efeito não observado no presente estudo.

Também influenciam no efeito citotóxico das águas a ocorrência de chuvas e seus efeitos sobre a profundidade total do rio, bem como, a possibilidade de arraste de solos alterando a composição físico-química da água (ODEIGAH et al., 1997), efeitos que também não foram observados no presente estudo, pois no local das coletas, a média de chuva mensal na região foi baixa, cerca de 20 mm.

Foi realizada a análise físico-química da amostra da água coletada do Rio do Peixe em Flórida Paulista-SP, no Laboratório de Saneamento e Meio Ambiente, do Departamento de Engenharia Civil da Universidade Estadual de Maringá em Maringá-PR. O laudo mostrou que esta água apresentava valores acima dos permitidos pela Resolução CONAMA N°357/2005, para a classe 3 de águas doce, de manganês (1,522mg/L, sendo o aceitável 0,5mg/L) e de chumbo (0,054mg/L, sendo o aceitável 0,033mg/L). A citotoxicidade do manganês já foi comprovada em células epiteliais

humanas *in vitro* (PASCAL; TESSIER, 2004) e em cultura de células de linfócitos humanos (LIMA et al., 2008). E a genotoxicidade do chumbo e outros metais foi provada por Steinkellner et al. (1998), pelo teste do micronúcleo em células de raiz de *Allium cepa*. Desta forma, apesar da amostra de água de Flórida Paulista não ter apresentado potencial citotóxico, pelo teste de citotoxicidade com *Allium cepa*, a presença destes metais poderia ter resultado nesta atividade. El-Shahaby et al. (2003) afirmaram que a genotoxicidade apresentada pelos efluentes industriais coletados na área de Sandub-Dakahlia-Egito, também em *Allium cepa*, foi decorrente da presença de metais pesados, como chumbo, zinco, cobalto, cobre e cádmio.

Além disso, o monitoramento do Índice de Qualidade da Água Bruta para fins de Abastecimento Público (IAP) e do Índice de Qualidade de Proteção da Vida Aquática (IVA) da Região Hidrográfica Aguapeí/Peixe (2007), mostrou que o Rio do Peixe apresentava, no ano da coleta das amostras (2007), qualidade regular em quase toda sua extensão. Porém na região de Marília a qualidade foi considerada ruim, assim como próxima a nascente deste Rio e do Ponto IV avaliado. Esta má qualidade da água na cidade de Marília deve-se, principalmente, ao elevado potencial de formação de trihalometanos, compostos que se formam durante o processo de tratamento das águas destinadas ao consumo humano, e pela presença de chumbo, em concentração acima da estabelecida pela legislação, na região da nascente (www.comitepcj.sp.gov.br, 2013).

Assim, provavelmente devido à presença de trihalometanos e de metais, as amostras obtidas em Tupã, Flórida Paulista e Ouro Verde, causaram o aparecimento de alterações nas células, indicando um possível efeito mutagênico destas águas, principalmente, 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, conforme mostrado na Tabela 1 e Figura 7.

Tipos semelhantes de alterações cromossômicas, utilizando o teste com *Allium cepa*, também foram encontrados por Domingues (2008), como metáfases colchicínicas e desorganizadas, anáfases multipolares e com perda de cromossomos, bi-metáfases e micronúcleos, avaliando a água do córrego Cleópatra, onde são despejados efluentes líquidos de uma indústria têxtil. Maschio (2009) também mostrou, pelo teste com sementes de *Allium cepa*, que as águas da Represa Municipal de São

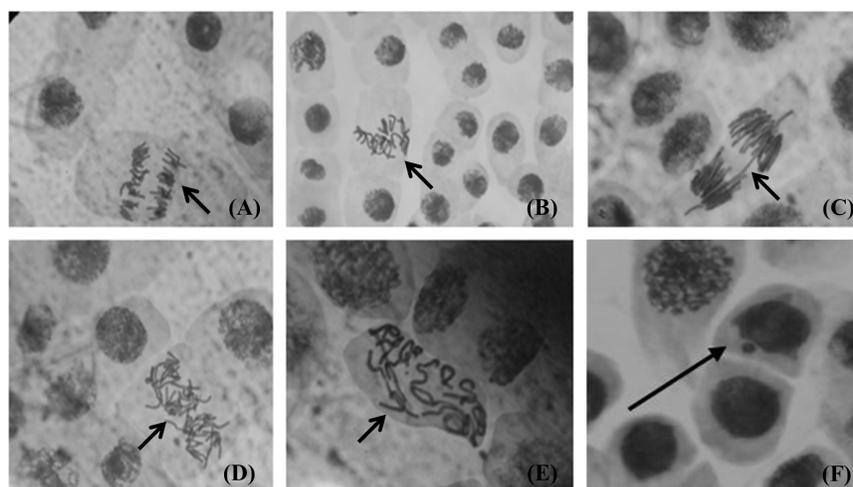
José do Rio Preto (SP), que recebe efluentes domésticos e industriais da cidade, não apresentaram efeitos citotóxicos, mas causaram aberrações cromossômicas semelhantes às do presente estudo: metáfases-colchicínicas, anáfases com pontes, perdas e quebras cromossômicas, além

de células binucleadas. Corroboram ainda com esses resultados os dados de Moraes (2000) que mostraram elevada presença de células aberrantes em *Allium cepa* tratadas com amostras de água do efluente municipal que desemboca as margens do rio Paraguai, no pantanal sul-matogrossense.

**Tabela 1.** Tipos, números e total de alterações obtidas para os diferentes grupos tratados com as águas do Rio do Peixe, no tempo de 24h, em células de raiz de *Allium cepa*.

Ponto de Coleta	FASES DA MITOSE										Total de Alteração	
	I	P-M		Metáfase			Anáfase			T		
	MN	D	CS	CM	D	MP+CS	P+CS	D	MP+D+P	CT		
GARÇA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TUPÃ	4	1	1	3	-	1	1	4	2	-	17	
FLÓRIDA PAULISTA	2	-	-	2	2	1	-	4	1	-	12	
OURO VERDE	-	-	2	-	-	-	-	-	4	1	07	

I=interfase, P-M=pró-metáfase, T=telófase; CM=metáfase-colchicínica, CS=cromossomo solto, CT=cromossomo tardio, D=desorganizada, MN=micronúcleo, MP=multipolar, P=ponte.



**Figura 7.** Alterações cromossômicas encontradas nos tratamentos com águas do Rio do Peixe-SP, em células de raiz de *Allium cepa* (microfotografias obtidas com a objetiva de 40 vezes). A) Anáfase multipolar; B) Metáfase com região equatorial desorganizada; C) Anáfase com ponte e cromossomos soltos; D) 2 Anáfases multipolares desorganizadas; E) Metáfase-colchicínica; F) Célula com micronúcleo.

Os tipos de alterações encontradas no presente estudo indicam um provável efeito sobre a formação do fuso da divisão celular, provavelmente, relacionadas à polimerização das tubulinas. Alguns compostos, como os metais e os herbicidas, em especial os utilizados nas plantações de cana-de-açúcar, plantaço predominante da região do Rio do Peixe-SP, ligam-se às moléculas de tubulina e inviabilizam a formação dos microtúbulos e dos fusos mitóticos, além de poderem alterar e desregular a concentração de cálcio na célula, que é essencial para a formação, manutenção e

polimerização dos microtúbulos (HERTEL et al., 1981; MASCHIO, 2009).

Desta forma, as pró-metáfases e metáfases desorganizadas, metáfases multipolares, com cromossomos soltos e colchicínicas, encontradas nas amostras de água do Rio do Peixe, são decorrentes de uma parcial ou completa inativação do fuso mitótico das células, que impediu que a placa equatorial fosse bem organizada. Conseqüentemente, devido a erros na formação das fibras do fuso, da placa equatorial e da divisão do centrômero, a movimentação das cromátides-irmãs

para os pólos também foi bloqueada ou falha, levando ao aparecimento de anáfases desorganizadas, multipolares, com cromossomos soltos e com ponte, além de telófases com cromossomos soltos, conforme Tabela 1. Além disso, as alterações na formação do fuso ou mesmo sua total ausência podem resultar na formação de uma célula poliplóide ou pode levar à formação de vários micronúcleos, se houver a reconstituição do envoltório nuclear ao redor de um número aleatório de cromossomos (MILLER; THERMAN, 2001).

Desta forma, considerando que outros trabalhos comprovam a atividade citotóxica e mutagênica de amostras de rios que sofrem com descarga de efluentes industriais e domésticos (GANA et al., 2008; KUTLU et al., 2004), outros estudos podem ser realizados na região do Rio do Peixe-SP, com a finalidade de monitorar a citotoxicidade e mutagenicidade dessas águas, em diferentes estações do ano.

Os resultados aqui obtidos não pretendem afirmar que as águas do rio avaliado sejam impróprias para o consumo, banho ou lazer. Entretanto, estes resultados podem servir como um alerta para o perigo eminente que os efluentes lançados indiscriminadamente no ambiente podem representar não só para os organismos que ali habitam, mas para todos os outros que dele dependem, seja para lazer, limpeza, higiene ou alimentação. Os riscos são ampliados, não só para o Rio do Peixe-SP, mas para qualquer outro que seja utilizado para o abastecimento da população, sendo indicado que o biomonitoramento ambiental seja feito de forma sistematizada.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao pessoal do Laboratório de Mutagênese e Monitoramento Ambiental da Universidade Estadual de Maringá-UEM.

---

**ABSTRACT: (Cytotoxicity of waters of the River Peixe (São Paulo-Brazil), in meristematic root cells of *Allium cepa* L.)** In recent decades, the water quality of the River Peixe, located within the State of São Paulo, has been decreasing, mainly because the river has suffered from deforestation made to its banks, causing silting and allowed the dumping of all types of waste, especially in industries that are around you. The objective of this study was to evaluate the cytotoxic potential of the waters of the River Peixe, collected at four farms located in Garça-SP (source), Tupã-SP, Flórida Paulista-SP and Ouro Verde-SP (downstream), using as a system test plant root meristematic cells of *Allium cepa* L. The results showed that all water samples collected was no cytotoxic effect after 24 hours of treatment. However, samples taken in Tupã, Flórida Paulista and Ouro Verde (downstream) were mutagenic, because it caused the appearance of changes in cells, mainly types of colchicine-metaphase, disorganized anaphase, multipolar and with chromatid bridge, addition of micronucleated cells. Therefore, the results warn of imminent danger that the effluents discharged indiscriminately into the environment may represent not only the organisms that live there, but for all others who depend on it, whether for leisure, cleaning, hygiene or food.

**KEYWORDS:** Water River. Chromosome Alteration. Ecotoxicology. Environmental Monitoring. Environmental Mutagenesis.

---

#### REFERÊNCIAS

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E. L. G.; MARIN-MORALES, M. A. 2011. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, New York, v. 74, n. 4, p. 826-833, 2011.

CAVAS, T.; GARANKO, N. N.; ARKHIPCHUK, V. V. Induction of micronuclei and binuclei in blood, gill and liver cells of fishes subchronically exposed to cadmium chloride and copper sulphate. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, v. 43, n. 4, p. 569-574, 2005.

CETESB. **Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo**, 2002. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 21 jan. 2013.

CETESB. **Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo**, 2005. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 21 jan. 2013.

CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). **Resolução número 357, de 17 de março de 2005**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2013.

DOMINGUES, Giovana. **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.

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 Sci. Biol. Sci.**, Maringá, v. 33, n. 1, p. 71-77, 2011.

DÜSMAN, E.; FERREIRA, M. F. S.; BERTI, A. P.; MARIUCCI, R. G.; MANTOVANI, M. S.; VICENTINI, V. E. P. Investigation of the cytotoxic and mutagenic effects of *Malpighia glabra* L. (Barbados Cherry) fruit pulp and vitamin C in plant and animal test system. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 32, n. 2, p. 405-411, 2012a.

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, Miosóti and Nazareth in the urban area of Maringá PR Brazil. **Acta Sci. Biol. Sci.**, Maringá, v. 34, n. 3, p. 311-318, 2012b.

EL-SHAHABY, O. A.; ABDEL MIGID, H. M.; SOLIMAN, M. I.; MASHALY, I. A. Genotoxicity screening of industrial wastewater using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. **Pakistan J. Biol. Sci.**, Asian, v. 6, n. 1, p. 23-28, 2003.

FERREIRA, C. F.; FRUEH, A. B.; DÜSMAN, E.; HECK, M. C.; VICENTINI, V. E. P. Avaliação da citotoxicidade das águas dos Ribeirões Varginha (Califórnia-PR) e Tabatinha (Mandaguari-PR), em *Allium cepa* L. **SaBios Rev. Saúde Biol.**, Campo Mourão, v. 7, n. 2, p. 46-54, 2012.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Landskrona, v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.

FRENZILI, G.; NIGRO, M.; LYONS, B. P. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 681, n. 1, p. 80-92, 2008.

GANNA, J. M.; ORDÓÑEZ, R.; ZAMPINI, C.; HIDALGO, M.; MEONI, S.; ISLA, M. I. Industrial effluents and surface waters genotoxicity and mutagenicity evaluation of a river of Tucuman, Argentina. **J. Hazard. Mater.**, Amsterdam, v. 155, n. 3, p. 403-406, 2008.

HARA, R. V.; LOPES, B. P. V.; SANTOS, F. P.; OLIVEIRA, R. J. Aplicabilidade de ensaios da genética toxicológica no biomonitoramento de ambientes aquáticos e promoção da saúde humana. **Rev. Terra e Cultura**, Londrina, n. 48-49, p. 20-29, 2009.

HERTEL, C.; QUADER, H.; ROBINSON, D. G.; ROOS, I.; CARAFOLI, E.; MARME, D. Herbicides and fungicides stimulate  $Ca^{2+}$  efflux from rat mitochondria. **FEBS Lett.**, Amsterdam, v. 127, n. 1, p. 37-39, 1981.

KLOBUCAR, G. I. V.; PAVLICA, M.; ERBEN, R.; PAPES, D. Application of the micronucleus and comet assays to mussel *Dreissena polymorpha* haemocytes for genotoxicity monitoring of freshwater environments. **Aquat. Toxicol.**, Amsterdam, v. 64, n. 1, p. 15-23, 2003.

KURAS, M.; NOWAKOWSKA, J.; SLIWINSKA, E. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium* Test induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 107, n. 2, p. 211-221, 2006.

- KUTLU, M.; AYDÖGAN, G.; SUSUZ, F.; ÖZATA, A. The *Salmonella* mutagenicity of water and sediments from the Porsuk River in Turkey. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, Amsterdam, v. 17, n. 2, p. 111-116, 2004.
- LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water-A case study. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 650, n. 1, p. 80-86, 2008.
- LIMA, P. D. L.; VASCONCELLOS, M.; BAHIA, M.; MONTENEGRO, R.; PESSOA, C.; COSTALOTUFO, L.; MORAES, M.; BURBANO, R.; BAHIA, M. O. Genotoxic and cytotoxic effects of manganese chloride in cultured human lymphocytes treated in different phases of cell cycle. **Toxicol. in vitro.**, New York, v. 22, n. 4, p. 1032-1037, 2008.
- MASCHIO, Lucilene Regina. **Avaliação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico das águas do Rio Preto na área de influência da região de São José do Rio Preto/SP**. 2009. Tese (Doutorado em Genética) – Curso de Pós-Graduação em Genética, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2009.
- MILLER, O. J.; THERMAN, E. **Human Chromosomes**. 4 ed. New York: Springer-Verlag, 2001.
- MORAES, Danielle Serra de Lima. **Avaliação dos potenciais tóxicos, citotóxicos e genotóxicos de águas ambientais de Corumbá-MS em raízes de *Allium cepa***. 2000. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2000.
- ODEIGAH, P. G. C.; NURUDEEN, O.; AMUND, O. O. Genotoxicity of oil field wastewater in Nigeria. **Hereditas**, Landskrona, v. 126, n. 2, p. 161-167, 1997.
- PASCAL, L. E.; TESSIER, D. M. Cytotoxicity of chromium and manganese to lung epithelial cells in vitro. **Toxicol. Lett.**, Amsterdam, v. 147, n. 2, p. 143–151, 2004.
- PERON, A. P.; CANESIN, E. A.; CARDOSO, C. M. V. Potencial mutagênico das águas do Rio Pirapó (Apucarana, Paraná, Brasil) em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. **Rev. Bras. Biociênc.**, Porto Alegre, v. 7, n. 2, p. 155-159, 2009.
- Plano Estadual de Recursos Hídricos 2004-2007: UGRHI-21 - Peixe**. Disponível em: <[http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/PERH/04-07\\_UGRHI-21.pdf](http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/PERH/04-07_UGRHI-21.pdf)>. Acesso em: 31 jan. 2013.
- Região Hidrográfica Aguapeí/Peixe**. Disponível em: <[http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/RS/RSESP2007\\_02AguapeiPeixe.pdf](http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/RS/RSESP2007_02AguapeiPeixe.pdf)> Acesso em: 31 jan. 2013.
- SILVA, J.; HEUSER, V.; ANDRADE, V. **Biomonitoramento Ambiental**. In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. (org.). Genética Toxicológica. Porto Alegre: Alcance, 2003. p. 166-180.
- SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOVKA, M.; TOMAN, M. J. The Evaluation of Waste, Surface and Ground Water Quality Using *Allium* Test Procedure. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v. 368, n. 3-4, p. 171-179, 1996.
- STEINKELLNER, H.; MUN-SIK, K.; HELMA, C.; ECKER, S.; MA, T. H.; HORAK, O.; KUNDI, M.; KNASMÜLLER, S. Genotoxicity effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays. **Environ. Mol. Mutagen.**, New York, v. 31, n. 2, p. 183-191, 1998.
- TANURI, R. **Programação comemora 100 anos da exploração do Rio do Peixe**. In: Jornal Diário de Marília, em 4 de junho 2006. Disponível em: <<http://www.diariodemarilia.com.br/Noticias/38931/Razes-100-anos-da-explorao-do-Rio-do-Peixe>>. Acesso em: 23 nov. 2012.

TURKOGLU, S. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, v. 46, n. 6, p. 2035-2041, 2008.

VUJOŠEVIĆ, M.; ANDELKOVIĆ, S.; SAVIĆ, G.; BLAGOJEVIĆ, J. Genotoxicity screening of the river Rasinain Serbia using the *Allium* anaphase-telophase test. **Environ. Monit. Assess.**, Dordrecht, v. 147, n. 1-3, p. 75-81, 2008.