
Água de poços superficiais: efeito genotóxico em células eucarióticas

Water from surface wells: genotoxic effect on eukaryotic cells

Izabel Aparecida SoaresORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0004-7664>

Universidade Federal da Fronteira Sul-Brasil

E-mail: izabel.soares@uffs.edu.br**Aline Steffens Benini**ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8204-403X>

Universidade Federal da Fronteira Sul-Brasil

E-mail: alinesteffens2001@gmail.com**Raul Távora**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5864-6830>

Universidade Comunitária da Região de Chapecó-Brasil

E-mail: raul.tavora@uffs.edu.br**Gisele Arruda**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5690-2527>

Universidade Estadual do Oeste do Paraná-Brasil

E-mail: giselearrudabioq@gmail.com**Alexandre Carvalho de Moura**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0894-2903>

Universidade Federal da Fronteira Sul-Brasil

E-mail: alexandre.moura@uffs.edu.br**Suzymeire Baroni**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0586-3978>

Universidade Federal da Fronteira Sul-Brasil

E-mail: suzymeire.baroni@uffs.edu.br**Gilza Maria de Souza-Franco**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5023-3211>

Universidade Federal da Fronteira Sul-Brasil

E-mail: gilza.franco@uffs.edu.br

RESUMO

A região sudoeste do Paraná faz parte de uma matriz econômica predominantemente agrícola e pecuária. Diante desse contexto, torna-se importante realizar o diagnóstico e monitoramento da qualidade da água para garantir a saúde pública e a sustentabilidade das atividades locais. Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade da água de poços superficiais em áreas rurais e urbanas em relação à genotoxicidade, utilizando o teste *Allium cepa*. Bulbos de *A. cepa* foram expostos às amostras de água coletadas em sete pontos, sendo cinco em áreas rurais e dois em áreas urbanas. Foram incluídos controles positivos com nitrato de chumbo e controles negativos com água destilada. Posteriormente, as raízes foram analisadas para identificar possíveis danos cromossômicos. Os resultados apontaram indícios de citogenotoxicidade e genotoxicidade nas amostras de água analisadas.

Palavras-chave: Biomonitoramento; Mutagênese ambiental; Sistema *Allium cepa*.

ABSTRACT

The southwest region of Paraná is part of a predominantly agricultural and livestock economic matrix. In this context, it becomes important to carry out the diagnosis and monitoring of water quality to ensure public health and the sustainability of local activities. This study aimed to assess the quality of water from shallow wells in rural and urban areas in relation to genotoxicity, using the *Allium cepa* test. Bulbs of *A. cepa* were exposed to water samples collected at seven points, five in rural areas and two in urban areas. Positive controls with lead nitrate and negative controls with distilled water were included. Subsequently, the roots were analyzed to identify possible chromosomal damage. The results indicated evidence of cytogenotoxicity and genotoxicity in the analyzed water sample.

Keywords: Biomonitoring; environmental mutagenesis; *Allium cepa* system.

INTRODUÇÃO

A água representa um elemento vital para o desenvolvimento e a manutenção da vida. No rol dos recursos naturais, destaca-se como o mais importante para a subsistência das espécies, sendo essencial para a satisfação de necessidades básicas. No entanto, apesar de sua vital importância, sua utilização vem sendo ameaçada por constantes contaminações, decorrentes de diversas atividades antrópicas, incluindo a expansão de atividades industriais, urbanas e agrícolas em seu estado natural (COSTA et al., 2012).

No contexto brasileiro, a qualidade da água destinada ao abastecimento domiciliar é impactada por resíduos domésticos, emissões industriais, escoamento urbano superficial e agentes poluentes provenientes de práticas agrícolas e pecuárias (BERTONCINI, 2008). Assim, mesmo sendo um recurso indispensável para a sobrevivência de todos os seres vivos, a água não está livre de ações causadoras de diversas contaminações. Atualmente, essas ações direcionam estudos sobre a qualidade e potencial toxicológico das águas disponíveis para consumo.

A região sudoeste do Paraná é caracterizada por uma área agrícola significativa, onde há uso constante de defensivos nas lavouras locais (VIEIRA et al., 2017). Diante desse contexto, ações contínuas de monitoramento são necessárias para avaliar o impacto desses defensivos na vida dos organismos nos ecossistemas locais, abrangendo desde seres humanos e animais de grande e pequeno porte até insetos, microrganismos e plantas não-alvo dos defensivos. As avaliações, normalmente realizadas por métodos de análises físico-químicas e com o uso de bioindicadores de qualidade, mostram-se eficazes na busca de respostas mais precisas sobre o cenário dos ecossistemas. Composto tal cenário, estudos têm revelado potencial efeito citotóxico, genotóxico e mutagênico dos

agrotóxicos (PARVAN et al., 2020; LUSTOSA et al., 2023). Para uma compreensão mais precisa dos efeitos tóxicos de certos compostos, é essencial aos bioensaios (ALMEIDA et al., 2021).

Dentre os diversos indicadores de qualidade da água, aqueles relacionados à genotoxicidade são relevantes para a avaliação do potencial da água em causar efeitos prejudiciais aos organismos vivos. Isso é verificado por meio da compreensão da expressão desses efeitos em organismos modelo, como destacado por Cunha (2011). O teste com *Allium cepa*, é um modelo padrão para análise ecotoxicológica devido à sua fácil execução, custo reduzido e obtenção rápida de resultados. Inúmeros estudos, como os conduzidos por Rank e Nielsen (1993), Callisto et al., (2001), Buss et al., (2003), Cartitá e Marin-Morales (2008), Leme e Marin-Morales (2008), Peron et al., (2009), Araes e Longhin (2012), Kasper et al., (2018) e Pellen et al., (2020), empregam o teste com *A. cepa*. Nesse organismo, a toxicidade é evidenciada por meio de alterações cromossômicas durante a divisão celular. Tais danos genéticos geralmente são provocados por poluentes ambientais, indicando a presença de substâncias tóxicas, citotóxicas e mutagênicas, características altamente indesejadas na água destinada ao consumo humano (ARRAES & LONGHINI, 2012).

Em muitos municípios brasileiros, a distribuição de água potável é limitada. Aproximadamente 34,51% das residências rurais no país estão conectadas à rede de distribuição de água, com ou sem canalização interna. Por outro lado, a maioria das habitações rurais, representando 66,6%, utiliza alternativas coletivas de abastecimento, como poços freáticos, poços tubulares profundos e a captação direta de nascentes de água (BRASIL, 2017).

No município de Realeza, no Sudoeste do Paraná, que possui aproximadamente 19.247 habitantes, conforme dados do IBGE em 2022, uma significativa parcela da população, sobretudo na área rural, consome água proveniente de poços artesianos. A necessidade de monitoramento abrange não apenas a qualidade microbiológica e físico-química, mas também a avaliação ecotoxicológica desses poços. Vale ressaltar que a região sudoeste do Paraná se destaca como uma área onde as atividades agrícolas são realizadas em larga escala, envolvendo o uso intensivo de agrotóxicos nas lavouras locais (VIEIRA et al., 2017).

Assim, o objetivo deste estudo é avaliar a qualidade da água de poços superficiais quanto a citotoxicidade, genotoxicidade e danos celulares em células eucarióticas por meio o sistema de teste *Allium cepa*.

MATERIAL E MÉTODO

Foram coletadas amostras de água de poços superficiais no município de Realeza, sudoeste do Paraná, no mês de março de 2023. A escolha aleatória dos poços artesanais rurais e urbanos baseou-se na listagem fornecida pela prefeitura do município, abrangendo três pontos localizados em comunidades da Zona Rural: P1, P2, P3, P4, P5 e na zona urbana central (P6) e (P7). Além da coleta das amostras, observou-se a presença de vegetação no entorno dos pontos da Zona Rural, incluindo sua composição e estrutura.

Para o ensaio citogenético, foi utilizada a metodologia adaptada de Krüger (2009). Ao todo, foram empregados 63 bulbos, adquiridos comercialmente com tamanho semelhante e não enraizados. Inicialmente, os bulbos de *A. cepa* foram escarificados na região das raízes e colocados individualmente em becker de 50 ml com água destilada para estimular diretamente o crescimento radicular. Esse estímulo foi realizado por meio de uma Câmara de Germinação do tipo DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e fotoperíodo de 12 horas, condicionando os bulbos à temperatura de 25°C durante todo o experimento, com troca da água destilada a cada 24 horas.

Assim que as raízes atingiram o comprimento de 15 a 20 mm e após a proliferação celular, os bulbos foram aleatoriamente expostos às amostras das águas coletadas (P1, P2, P3, P4, P5, P6 e P7), juntamente com os controles positivo e negativo. Três bulbos foram destinados a cada amostra coletada, assim como três bulbos para cada controle, sendo os controles realizados com água destilada (controle negativo) e Nitrato de Chumbo (0.5 mg/L) como controle positivo.

Após 24 horas sob o respectivo tratamento, foram retiradas nove radículas com crescimento intensivo e cerca de cinco radículas com menor crescimento em cada bulbo. As radículas foram inseridas em microtubos e submetidas ao fixador Carnoy por 12 horas para interromper o processo de atividade celular e preservar a integridade da estrutura cromossômica. Posteriormente, o material foi armazenado em etanol (70%) sob refrigeração até a confecção das lâminas.

Para a confecção das lâminas, as pontas das raízes foram seccionadas para a extração da região meristemática, sendo em seguida submetidas à coloração com orceína-acética 2% e aquecidas na lamparina a álcool para fixação e ruptura da parede celular. Após esse processo, realizou-se o esmagamento manual das radículas com lamínula. As lâminas foram observadas utilizando microscópio óptico para a contagem das células em divisão mitótica e avaliação de danos cromossômicos. Foram realizadas três repetições para cada tratamento ou ponto de coleta, analisando-se 1000 células por bulbo, totalizando 3000 células por ponto. A análise citogenética consistiu na determinação do índice mitótico (IM) e do Índice de alterações cromossômicas (IAC), sendo também contados os micronúcleos para verificar a genotoxicidade em cada ponto analisado.

Os dados obtidos nas contagens totais foram submetidos à análise de variância ANOVA (one way) considerando o nível de significância $p < 0,05$, através do programa Statistica 8.0 (Statsoft, 2007). Para avaliar possíveis alterações cromossômicas, foi empregada a análise de variância (Anova) com curva normal, seguida pelo teste de Tukey, a fim de identificar eventuais diferenças significativas entre os grupos de controle e os tratamentos.

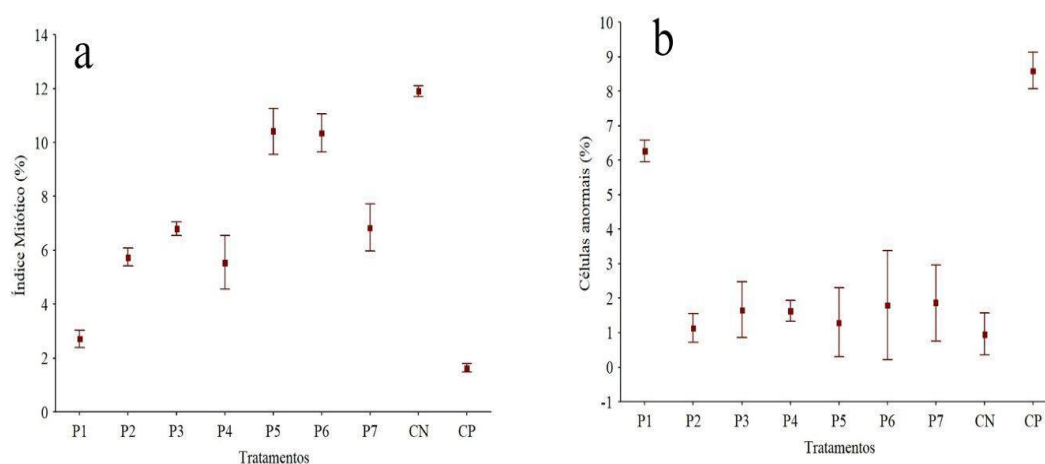
RESULTADOS E DISCUSSÃO

No contexto da preservação dos pontos de coleta na zona rural, foi observada uma diversidade de formação vegetal. Nos pontos P1, P2 e P3, nota-se uma vegetação composta por gramíneas, arbustos e ervas, caracterizando uma área de início de sucessão, no entanto não apresenta densidade de mata ou árvores de grande porte. Importante ressaltar que não foi identificada a presença de monoculturas nos arredores desses pontos. Já no P4, a vegetação é escassa, com elementos como entulho de madeira, pedregulhos e erosão, sendo predominantes gramíneas e samambaias que invadem o ponto de coleta da água superficial. O P5, por sua vez, apresenta uma vegetação de crescimento secundário, com árvores de porte médio, vegetação rasteira média e trepadeiras. Os P6 e P7, na área urbana, protegidos apenas por tubulação, sem mata ciliar.

No decorrer do estudo, os efeitos nas células de *A. cepa* foram abordados em diversos aspectos. Inicialmente, o efeito citotóxico foi avaliado através do Índice Mitótico (IM), enquanto o potencial genotóxico no sistema teste *A. cepa* foi analisado pelo Índice de Alterações Cromossômicas (IAC) e presença de micronúcleos (MN).

Os resultados do IM de *A. cepa* mostram valores inferiores nos pontos P1 (8,16%), P2 (10,6%) e P3 (10,5%), em comparação com o controle negativo (12%) e superiores ao controle positivo (4,9%). Por outro lado, os pontos P4 (14,23%), P5 (32,23%), P6 (33,50%) e P7 (20,53%) apresentam valores superiores em relação a ambos os controles. Os valores do Índice Mitótico (IM) foram submetidos a teste estatístico e os resultados do teste apontam significativa alteração nos índices mitóticos dos pontos 5, 6 e 7 em comparação com os valores de controle negativo e positivo. Esses dados indicam que as águas dos poços superficiais estão interferindo na atividade mitótica das células, para os pontos P5, P6 e P7 e que o P1 diferiu com maior variação citotóxica em comparação com os demais (Figura 1a).

Figura 1: Média e desvio padrão do índice mitótico (IM) (a) e dos índices de células anormais (b) após exposição às amostras de água de poços superficiais no município de Realeza/PR. O ponto representa a média e as barras a desvio padrão ($p < 0,001$).



Fonte: autores, 2023

Essa diferença, nos IM, indica presença de elementos xenobióticos nas amostras coletadas nos pontos estudados. Conforme mencionado por Smaka-Kincl et al., (1996), a redução no índice mitótico (IM) constitui um método confiável para identificar substâncias citotóxicas. Almeida et al., (2021) ressalta que os resultados do índice mitótico (IM) podem variar em relação ao controle negativo (CO-), podendo indicar efeitos citotóxicos quando maiores ou menores que o CO-. A presença de alterações citotóxicas que inibem a divisão celular é sugerida quando o IM é menor que o do controle negativo, enquanto valores superiores podem indicar substâncias alterando a divisão celular e interferindo no ciclo celular, potencializando as células a fazerem check-point para uma nova rodada de mitose (ALMEIDA et al., 2021). Mitoses em excesso também

é indicativo de alteração na regulação gênica que comanda o ciclo celular e, dessa forma, compostos presentes nessas águas induzem erros nesse mecanismo acelerando novas mitoses.

No estudo conduzido por Varaschini et al., (2019), amostras coletadas de três poços artesianos na Zona Rural do município de Realeza, no ano de 2018, indicam valores inferiores no índice mitótico para dois dos três poços, sugerindo citotoxicidade.

Para a avaliação do potencial genotóxico, ou seja, o número de alterações cromossômicas encontradas em 1000 células, a ANOVA ($p < 0,001$) indicou que a amostra coletada no P1 apresentou um maior potencial genotóxico (Figura 1b). Na análise das lâminas, foram identificadas células com a presença de danos cromossômicos quando comparadas com células normais em mitose do grupo controle negativo. Os danos mais frequentes identificados foram a perda dos fusos, cromossomos vagantes e anormalidades nas fases mitóticas (Figura 1b).

Especificamente, a amostra do P1 apresenta o maior número de alterações nucleares, com irregularidades na metáfase e na anáfase (metáfase desorganizada, cromossomos frouxos, anáfase desorganizada e cromossomos atrasados). Essas ocorrências podem ser induzidas por substâncias que interferem na formação das fibras do fuso durante a mitose, conforme relatado por Andrade et al., (2008) e Haroun e Al Shehri (2001). As alterações nucleares, em nossos testes, são significativas e ao longo das divisões celulares, ocorridas durante o período de 72 horas, o núcleo tentou reorganizar seu genoma, embora com falhas. Isso está em consonância com estudos que destacam substâncias clastogênicas, presentes em um ecossistema, como causadoras de quebra cromossômica ou disfunções dos fusos mitóticos, resultando no aparecimento de micronúcleos e/ou alterações nucleares (THOMÉ et al., 2016).

A identificação de nucléolos grandes foi uma das principais características dos P6 e P7, neste estudo. De acordo com Kalinina et al., (2018), tanto células vegetais quanto animais, quando expostas a condições de estresse, podem manifestar mudanças funcionais e morfológicas nos nucléolos. Butorina e Kalaev (2000) afirmam que a atividade nucleolar é o parâmetro mais sensível a ser analisado em estudos de citogenotoxicidade, com o aumento no número e no tamanho dos nucléolos por núcleo sendo as características mais frequentemente observadas. A presença de nucléolos hipertrofiados e com formatos irregulares é considerada um indicativo de instabilidade

celular conforme apontado por Mäkinen et al., (1993), Krüger et al., (2000) e Montanaro et al., (2008). Em células vegetais, estudos semelhantes revelaram uma conexão entre a variação no tamanho e na forma dos nucléolos e a ação de agentes genotóxicos, conforme descrito por Arkhipchuk et al., (2000) e Ventura-Camargo et al., (2011).

Além dos efeitos genotóxicos, também foram observados sinais de citotoxicidade na análise das amostras coletadas nos pontos P5, P6 e P7. Nota-se a presença de células que exibem características semelhantes à cariorrexe e células com retração citoplasmática. Mudanças como a cariorrexe e a retração citoplasmática são indicativas de células em processo de apoptose, como documentado por Bhagyanathan e Thoppil (2016), Vijayarathna et al., (2017) e Adeyemi e Awoniran (2019). A cariorrexe, uma alteração nuclear observada em células animais, caracterizada por uma distribuição irregular da cromatina, é identificada nas amostras analisadas. Essa modificação nuclear é frequentemente encontrada em células em processo de morte por necrose ou apoptose, conforme mencionado por Tolbert et al., (1992) e Thomas et al., (2009). Observamos a presença de células com modificações nucleares semelhantes à cariorrexe, como também relatado em outro estudo anterior realizado por nosso grupo com células meristemáticas de *A. cepa* (LIMA et al., 2016). A retração citoplasmática, também observada por outros pesquisadores em células meristemáticas das raízes de *A. cepa* submetidas a tratamento com extratos vegetais (BHAGYANATHAM e THOPPIL, 2016; PRAJITHA e THOPPIL, 2016), foi evidenciado como uma das alterações citoplasmáticas associadas à apoptose.

A análise genotóxica realizada por Varaschini et al., (2019) em amostras coletadas de três poços artesianos na Zona Rural de Realeza, no mesmo município do presente estudo, confirmou a presença de anormalidades cromossômicas, incluindo pontes anafásicas e telofásicas, anáfases com multipolaridades, c-metáfase, descompactação desigual da cromatina, prófases desorganizadas, metáfase anormal e anáfase anormal. Além disso, nas amostras coletadas de seis poços artesianos também no mesmo município, sendo três pontos em áreas rurais e três pontos em áreas urbanas (SOARES et al., 2022), indicam presença de contaminantes nas amostras de águas, que induzem genotoxicidade.

Frente a esse achado, surge um problema a ser identificado: como essas águas estão sendo contaminadas com produtos indutores de erros no material genético? Uma

hipótese é o carreamento desses compostos, usado na agricultura, pelo solo e chuva. No trabalho de McManus et. al., (2017) podemos ver a presença de pesticidas e seus metabólitos em lençóis freáticos de regiões agrícolas na Irlanda. Na Espanha, um estudo de Menchen, Heras e Alday (2017) também relata a presença de altas concentrações de Triazina em águas subterrâneas. Já no Brasil, trabalhos como o de Silva, et.al., (2011) apontam presença de agrotóxicos nas águas subterrâneas, advindos da cultura de arroz. Diante do exposto, nossos dados apontam que as águas dos poços superficiais, que apresentam altos índices de alterações nas células analisadas estão, da mesma forma, sofrendo exposição de produtos provenientes da agricultura presente no entorno, já que a região não possui indústrias que produzem poluentes e contaminantes.

Diante dos dados analisados neste estudo, substâncias xenobióticas estão presentes nas águas de quatro poços interferindo nas rotas celulares de *Allium cepa*.

CONCLUSÃO

O método utilizando o organismo-teste *Allium cepa* revela-se como um modelo altamente eficaz, destacando sua sensibilidade na identificação de potenciais variações na toxicidade. A análise das células das raízes dessa planta, no que se refere aos efeitos genotóxicos e citotóxicos, é uma estratégia importante no monitoramento da qualidade da água de poços superficiais e nascentes.

Os resultados deste estudo indicam a presença de citotoxicidade e genotoxicidade nas amostras de água dos poços superficiais rurais no município de Realeza, Paraná. Os poços rurais apresentaram maior inibição do processo de divisão celular e maior incidência de anormalidades cromossômicas nas células das raízes de *Allium cepa* em comparação com os poços urbanos. Esses resultados sugerem uma possível contaminação dos poços rurais por agrotóxicos e outros poluentes associados às atividades agrícolas locais.

Medidas de monitoramento e controle são necessárias para garantir a qualidade da água destinada ao consumo humano e proteger a saúde da população.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à da Fundação Araucária – Paraná pelo fomento desta pesquisa científica.

REFERÊNCIAS

- ADEYEMI, D. O.; AWONIRAN, P. O. *Curcuma longa* extracts suppress pathophysiology of experimental hepatic parenchymal cell necrosis. **Pathophysiology**, v. 26, p. 153-162, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2019.04.002>.
- ALMEIDA, L. M.; BAILÃO, E. F. L. C.; CAMILO-COTRIM, C. F.; SOARES, R. R.; GARCIA, F. F.; PAULA, M. I. M.; LIMA, G. G. Conservação e monitoramento ambiental utilizando *Allium cepa* como indicadora de poluição das águas superficiais: uma revisão narrativa. **Águas e Florestas: desafios para conservação e utilização**, p. 174-191, 2021. <http://dx.doi.org/10.37885/210303792>.
- ANDRADE, T. S. A poluição das águas por agrotóxicos. Disponível em: https://www.eduvaleavare.com.br/wp-content/uploads/2014/07/poluicao_aguas.pdf. Acessado em: 26 de abril de 2022.
- ARKHIPCHUK, V. V.; MALINOVSKAYA, M. V.; GARANKO, N. N. Cytogenetic study of organic and inorganic toxic substances on *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, and *Hydra attenuate* cells. **Environmental Toxicology**, v. 15, n. 4, p. 338-344, 2000.
- ARRAES, A. I. O. M.; LONGHIN, S.R. Otimização de ensaio de toxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* como organismo teste. **Encyclopedia Biosphere**, v. 8, n.14, 2012.
- BALSANELLO, R. L.; VARASCHINI, F. R.; SOUZA-FRANCO, G. M.; SOARES, I.A. Avaliação ecogenotoxicológica das águas de poços artesianos da região sudoeste do Paraná. VI Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica – UFFS Chapecó, v. 1, n.6, 2016.
- BERTONCINI, E. I. Tratamento de efluentes e reuso da água no meio agrícola. **Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**, v. 1, n. 1, p. 152-169, 2008.
- BHAGYANATHAN, N. K.; THOPPIL, J. E. Pre-apoptotic activity of aqueous extracts of *Cynanchum sarcomedium* Meve & Liede on cells of *Allium cepa* and human erythrocytes. **Protoplasma**, v. 253, p. 1433-1438, 2016.
- BRASIL. Fundação Nacional de Saúde - FUNASA. Saneamento Rural. 2017.
- BUSS, D. F.; BAPTISTA, D. F.; NESSIMIAN, J. L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, p. 465-473, 2003.
- BUTORINA, A. K.; KALAEV, V. N. Analysis of sensitivity of different criteria in cytogenetic monitoring. **Russian Journal of Ecology**, v. 31, p. 186-189, 2000.
- CALLISTO, M.; MORETTI, M.; GOULART, M. Macroinvertebrados Bentônicos como Ferramenta para Avaliar a Saúde de Riachos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 6, n. 1, p. 71-82, 2001.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, n. 5, p. 722-725, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.03.056>.

COSTA, C. L.; LIMA, R. F.; PAIXÃO, G. C.; PANTOJA, L. D. M. Avaliação da qualidade das águas subterrâneas em poços do estado do Ceará, Brasil. **Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 2, p.171-180, jul./dez. 2012.

CUNHA, B. M. Avaliação ecotoxicológica de distintos tipos de efluentes mediante ensaio de toxicidade aguda utilizando *Artemia salina* e *Lactuca sativa*. Monografia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul, 2011.

FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99-112, 14 fev. 1985. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>.

HAROUN, S.A. and SHEHRI, M.A. (2001). Cytogenetic effects of Calotropis procera extract on Vicia faba L. *Cytologia* 66: 373-378.

IBGE - Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística. Paraná: Realeza: Infográficos: Dados gerais do município: 2022.

KALININA, N. O.; MAKAROVA, S.; MAKHOTENKO, A.; LOVE, A. J.; TALIANSKY, M. The multiple functions of the nucleolus in plant development, disease and stress responses. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 132, p. 1-19, 2018. <http://doi.org/10.3389/fpls.2018.00132>.

KASPER, N.; BARCELOS, R. P.; MATTOS, M.; BARONI, S. Impact of anthropic activities on eukaryotic cells in cytotoxic test. *Revista Ambiente & Água*, v. 13, n. 3, p. 1-10, 2018. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2107>.

KRÜGER, R A. **Análise de toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa***. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental, Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2009. Disponível em: <https://aplicweb.feevale.br/site/files/documentos/pdf/29080.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2023.

KUPSKE, C. **Exposição ao glifosato e incidência de câncer em agricultores familiares do Município de Cerro Largo-RS**. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis. Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, RS, 2018. 97 p.

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**, v. 650, p. 80-86. 2008.

LIMA, M. G. F.; ROCHA, L. C.; SILVEIRA, G. L.; ALVARENGA, I. F. S.; ANDRADE-VIERIA, L. F. Nucleolar alterations are reliable parameters to determine

the cyto genotoxicity of environmental pollutants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 174, n. 15, p. 630-636, 2019. <http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.033>.

LUSTOSA, E. A.; SOUZA, M. A. N.; OLIVEIRA, T. L.; PERREIRA, J. G. S.; SOUZA, J. M.; NÓBREGA, F. V. A. Toxicidade e genotoxicidade do inseticida ciromazina em bioensaio com *Allium cepa*. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 1, 3 jan. 2023. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v12i1.39261>.

MÄKINEN, K.; ESKELINEM, M.; LIPPONEN, P.; NUUTINEM, P.; MARIN, S.; ALHAVA E. Ag-NORs related to flow cytometry, morphometry and prognosis in patients with pancreatic cancer. **Anticancer Research**, v. 13, n. 1, p. 157-160, 1993.

MENCHEN A, HERAS JL, ALDAY JJ. Pesticide contamination in groundwater bodies in the Júcar River European Union Pilot Basin (SE Spain). *Environ Monit Assess*. 2017 Apr;189(4):146. doi: 10.1007/s10661-017-5827-4. Epub 2017 Mar 7. PMID: 28271238.

MCMANUS, L.; COXON, C. E.; MELLANDER, P. E.; DANAHER, M.; RICHARDS, K.G. Hydrogeological characteristics influencing the occurrence of pesticides and pesticide metabolites in groundwater across the Republic of Ireland. **Science of The Total Environment**, v. 601–602, p. 594-602, 2017.

PARVAN, L. G.; LEITE, T. G.; FREITAS, T. B.; PEDROSA, P. A. A.; CALIXTO, J. S.; AGOSTINHO, L. A. Bioensaio com *Allium cepa* revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 11, p. 1-10, set. 2020. <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-6223202000544>.

PRAJITHA, V., THOPPIL, J.E., 2016. Genotoxic and antigenotoxic potential of the aqueous leaf extracts of *Amaranthus spinosus* Linn. using *Allium cepa* assay. *South African Journal of Botany* 102, 18-25.

PELLENZ, L.; BORBA, F. H.; DAROIT, D. J.; LASSEN, M. F. M.; BARONI, S.; ZORZO, C. F.; GUIMARÃES, R. E.; QUINONES, F. R. E.; SEIBERT, D. Landfill leachate treatment by a boron-doped diamond-based photo-electro-Fenton system integrated with biological oxidation: A toxicity, genotoxicity and by products assessment. **Revista de Gestão Ambiental**, pv 264, p. 11047, jun/2020.

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. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 2, p. 155-159, abr./jun. 2009.

RANK, J.; NIELSEN, M. H. A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. **Hereditas**, v. 118, n. 1, p. 49-53, 1993.

SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOVKA, M.; TOMAN, M. J. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 368, n. 3-4, p. 171-179, 1996.

SILVA, D. R. O. et al., Ocorrência de Agrotóxicos em águas subterrâneas de áreas adjacentes a lavouras de arroz irrigado. **Química Nova**, v.34, p.748-752, 2011.

SOARES, I. A.; NASCIMENTO, M.; TÁVORA, Z.; DAMIN, S.; RETUCI, V. S. Qualidade Toxicológica e Microbiológica da Água de Poços Artesianos do Município de Realeza-Paraná. *Acta Elit Salutis*, v. 6, n.1, 2022.

THOMAS, P.; HOLLAND, N.; BOLOGNESI, C.; KIRSCH-VOLDERS, M.; BONASSI, S.; ZEIGER, E.; KNASMUELLER, S.; FENECH, M. Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, v. 4, n. 6, p. 825-837, 2009.

THOMÉ, R. G.; SILVA, P. M.; SANTOS, H. B.; Avaliação de genotoxicidade da água de um rio urbano utilizando estudo de células sanguíneas de *Danio rerio*. **Conexão Ciência (Online)**, v. 11, n.2, p. 9-16, 2016.

TOLBERT, P. E.; SHY, C. M.; ALLEN, J. W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutation Research*, v. 271, p. 69-77, 1992. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(92\)90033-I](https://doi.org/10.1016/0165-1161(92)90033-I).

VARASCHINI, F. R.; BALSANELLO, R. L.; RETUCI, V. S.; SOUZA-FRANCO, G. M.; MOURA, A. C.; SOARES, I. A. Danos celulares causados pela água avaliados pelo bioensaio de *Allium cepa*. *Acta Elit Salutis*, v. 1, n. 1, p. 9-9, 2019.

VENTURA-CAMARGO, B. C.; MALTEMPI, P. P. P.; MARIN-MORALES, M. A. The use of cytogenetic to identify mechanisms of action of an azo dye in *Allium cepa* meristematic cells. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, v. 1, n. 3, p. 1-12, 2011. <https://dx.doi.org/10.4172/2161-0525.1000109>.

VIEIRA, M. G.; STEINKE, G.; ARIAS, J. L. O.; PRIMEL, E. G.; CABRERA, L. C. C. Avaliação da Contaminação por Agrotóxicos em Mananciais de Municípios da Região Sudoeste do Paraná. *Revista Virtual de Química*, v. 9, n. 5, ago. 2017. Disponível em: <http://static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/MarcosNoPrelo.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2023.

VIJAYARATHNA, S.; CHEN, Y.; KANWAR, J.R.; SASIDHARAN, S. Standardized *Polyalthia longifolia* leaf extract (PLME) inhibits cell proliferation and promotes apoptosis: The anti-cancer study with various microscopy methods. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 91, p. 366-377, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.04.112>.