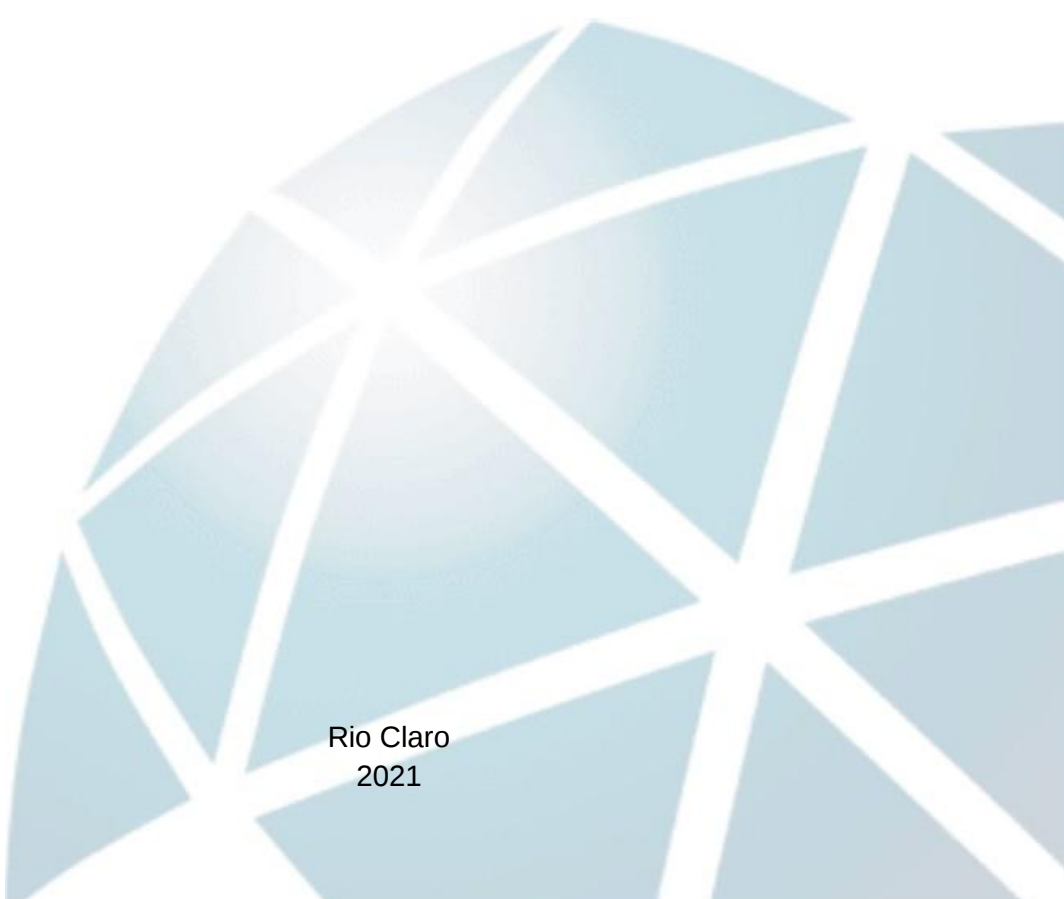

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RAFAELA BARBERIS CANJANI

EFEITOS ECOTOXICOGENÉTICOS DOS
RESÍDUOS DERIVADOS DA
ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE
ESGOTO CONDUTA - RIO CLARO/SP



Rio Claro
2021

RAFAELA BARBERIS CANJANI

EFEITOS ECOTOXICOGENÉTICOS DOS RESÍDUOS
DERIVADOS DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO
CONDUTA – RIO CLARO/SP

Orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Marin Morales

Coorientadora: MSc. Laís Roberta Deroldo Sommaggio

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de
Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharela
em Ciências Biológicas.

C223e

Canjani, Rafaela Barberis

Efeitos ecotoxicogenéticos dos resíduos derivados da Estação de Tratamento de Esgoto Conduta – Rio Claro/ SP / Rafaela Barberis
Canjani. -- Rio Claro, 2021

28 p. : il.

Trabalho de conclusão de curso (-) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Maria Aparecida Marin Morales

Coorientadora: Lais Roberta Deroldo Sommaggio

1. águas residuais. 2. lodo de esgoto. 3. monitoramento ambiental.
4. Allium cepa. 5. Lactuca sativa. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Renata Barberis e Douglas Canjani, por me apoiarem em todos os momentos da graduação, sempre oferecendo suporte quando eu mais precisava. À minha avó Aida Trupia, pelo carinho e apoio. Ao Tico e a Baleia.

À Profa. Dra. Maria Aparecida Marin Morales, pela oportunidade oferecida e por tudo que ela proporciona a mim e a seus orientandos do Laboratório de Mutagênese do Instituto de Biociências da Unesp de Rio Claro.

À MSc. Laís Roberta Deroldo Sommaggio, por todos os ensinamentos e pela extrema ajuda para que esse TCC acontecesse.

À Adriana Correa, sem a qual o Lab. De Mutagênese e as pesquisas que nele ocorrem com certeza não seriam as mesmas, pela ajuda dada durante os experimentos.

À Samantha Silveira, por ter me ensinado toda a base para as atividades feitas no lab.

Aos profissionais do Instituto de Biociências que o mantém limpo e funcionando.

Aos meus amigos Andreza Santos, Camila Rocha, Eleni Kassamarian, Gabriel Gomes, Matheus Dionisio e Paula Zilveti, que me acompanharam durante todos esses anos de faculdade, muitas vezes de longe, mas os únicos presentes em todas as épocas. Obrigada por estarem na minha vida!

RESUMO

Uma das causas de alteração da qualidade de corpos hídricos é o lançamento de efluentes resultantes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs), principalmente quando este não é realizado de forma adequada. Todo tratamento de esgoto produz resíduos como os efluentes líquidos e os resíduos semissólidos, denominados de lodo de esgoto (LE). A liberação de efluentes líquidos inadequadamente tratados em corpos d'água e o descarte inapropriado de LE no ambiente podem acarretar em sérios impactos e contaminação ambientais. Apesar das ETEs seguirem resoluções pré-estabelecidas por agências reguladoras ambientais e de saúde, quanto à qualidade de efluentes a serem lançados em corpos hídricos, essas resoluções contemplam apenas exigências quanto às características físico-químicas e microbiológicas. Desta forma, existe ainda hoje uma lacuna quanto à importância de serem realizados bioensaios que sejam capazes de avaliar a toxicidade desses resíduos para os organismos. A presente pesquisa teve por objetivo monitorar o efluente e o lodo gerados pela ETE Conduta da cidade de Rio Claro, bem como avaliar a qualidade do corpo d'água receptor (Ribeirão Claro), antes e após o recebimento do efluente lançado, por meio de bioensaios de fitotoxicidade com *Lactuca sativa* L. e de citogenotoxicidade e mutagenicidade com *Allium cepa* L. Não foram identificados efeitos fitotóxicos nem citogenotóxicos para as amostras do efluente bruto da ETE e das águas do Ribeirão Claro, coletadas à montante e a jusante do recebimento desse efluente. Por outro lado, o LE se mostrou fitotóxico pelos ensaios de alongamento do hipocótilo/radícula, realizados com o bioindicador *L. sativa*, e citotóxico, pelos testes de índice mitótico, realizados com *A. cepa*. Pelos resultados obtidos, o tratamento de esgoto realizado pela ETE Conduta parece ser eficiente para a remoção dos compostos tóxicos do seu efluente líquido, o que indica que não deve estar causando prejuízos ao corpo d'água receptor. Já o LE, por apresentar alto potencial tóxico, evidenciando tanto nos ensaios realizados com *L. sativa* como com *A. cepa*, merece uma atenção especial. Seu descarte deve ser somente realizado em aterrados apropriados para esse tipo de resíduo, ou então passar por criteriosos tratamentos de degradação de toxicidade, para que possa ser reaproveitado em atividades mais nobres.

Palavras-chave: águas residuais; lodo de esgoto; monitoramento ambiental; *Allium cepa*; *Lactuca sativa*.

ABSTRACT

An usual cause of alteration of the quality of water bodies is the discharge of the effluents resultant from wastewater treatment plants (WWTPs), specially when the treatment held at these stations does not have a good quality. All sewage treatment produces waste such as liquid effluents and semi-solids waste, called sewage sludge (SS). The release of inadequately treated liquid effluents in water bodies and the inappropriate disposal of SS at the environment can lead to serious environmental impacts and contamination. Although the WWTPs follow pre-established resolutions by regulatory environment and health agencies in regards to the quality of effluents to be released in hydric bodies, these resolutions only contemplate requirements regarding physical-chemical and microbiological characteristics. Thus, there is still a gap today concerning the importance carrying out bioassays that are able to assessing the toxicity of these wastes to organisms. The objective of the current study was to monitor the effluent and the sludge generated by the WWTP Conduta in Rio Claro, SP, as well as evaluate the quality of the receptor water body (Ribeirão Claro), before and after the effluent receipt, through bioassays of phytotoxicity with *Lactuca sativa* L. and of citogenotoxicity and mutagenicity with *Allium cepa* L. No phytotoxic or cytogenotoxic effects were identified for the samples of the raw effluent from the ETE and Ribeirão Claro waters, collected upstream and downstream of receiving this effluent. In contrast, the SS was phytotoxic by the hypocotyl/radicle elongation tests, performed with the bioindicator *L. sativa* and cytotoxic, by the mitotic index tests, performed with *A. cepa*. From the results obtained, the sewage treatment carried out by WWTP Conduta seems to have been efficient for the removal of toxic compounds from its liquid effluent, which indicates that it should not be causing damage to the receiving water body. SS, on the other hand, due to its high toxic potential, evidencing both in the tests performed with *L. sativa* and *A. cepa*, deserves special attention. Its disposal should only be carried out in landfills appropriate for this type of waste, or else undergo careful toxicity degradation treatments, so that it can be reused in more noble activities.

Key-words: residual waters; sewage sludge; environmental monitoring; *Allium cepa*; *Lactuca sativa*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	5
2. OBJETIVOS.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Coleta de amostras para estudo.....	10
3.2 Testes de germinação e alongamento das raízes com <i>Lactuca sativa</i>	10
3.3 Ensaio de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade com <i>Allium cepa</i>	11
3.4 Análises Estatísticas.....	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
5. CONCLUSÃO.....	20
REFERÊNCIAS.....	21

1 INTRODUÇÃO

A água é indispensável para todas as funções vitais dos organismos, por isso são necessárias leis e regulamentos que a protejam. A Resolução 64/292 (ONU, 2010) estabelece que água limpa e segura, bem como o saneamento, é uma necessidade essencial para a saúde, sendo então um direito do ser humano. No entanto, nem sempre a água apresenta boa qualidade para consumo, pois ela pode ser impactada por diversos fatores, tanto naturais como derivados de atividades humanas (SPERLING, 1996).

As águas residuais de origem doméstica e/ou industrial, também denominadas de esgoto, são as principais fontes poluidoras dos rios (ABNT, 1986; VEGA, 1996). Assim, para que as águas residuais possam ser descartadas no ambiente, elas precisam passar por tratamento em Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs). Os tratamentos realizados pelas ETEs devem remover o máximo possível dos contaminantes presentes nas águas residuais, para assegurar a qualidade dos efluentes que são descartados nos cursos d'água receptores. Nas ETEs, além do efluente tratado, também é gerado um resíduo semi-sólido, de consistência pastosa, denominado de lodo de esgoto (LE), que é rico em matéria orgânica e inorgânica e que pode conter substâncias tóxicas e microorganismos patogênicos (SOMMAGGIO, 2016).

Quando o esgoto chega a ETE, por sistemas específicos de captação, ele passa, primeiramente, por um sistema de grades e peneiras para a remoção de partículas sólidas grandes, areia grossa e gordura. Na sequência, o esgoto restante vai para caixas nas quais há a remoção de partículas menores, como areia e gordura que ainda permaneceram. Depois, dependendo do tipo de esgoto que está sendo tratado, pode haver tratamento primário, secundário e/ou terciário. O tratamento primário consiste na aplicação de processos físicos ou físico-químicos, como a decantação, a flotação e a eletrocoagulação, que removem as partículas sólidas em suspensão, sedimentáveis e flutuantes. O tratamento secundário de efluentes é usado para remover matéria orgânica, por processos que aceleram a biodegradação, como os que envolvem ação biológica, realizados por microorganismos anaeróbios ou aeróbios. Já o tratamento terciário remove poluentes específicos, que não são removidos pelas duas primeiras etapas do tratamento. Neste processo são utilizadas técnicas físico-químicas ou biológicas para remover

poluentes, como alguns tipos de matéria orgânica, compostos não biodegradáveis, nutrientes, metais pesados, dentre outros (BRK AMBIENTAL, 2020a; BRK AMBIENTAL, 2020b). Neste processo de tratamento podem ser utilizados sistemas como o de microfiltração, precipitação e coagulação, adsorção por carvão ativado, troca iônica, osmose reversa, eletrodíálise, cloração e ozonização (CONSULTEC, 2021).

Após o tratamento realizado, os restos sólidos ou semissólidos são encaminhados, após centrifugação, para aterros sanitários específicos. Este resíduo ainda pode passar por um tratamento de atenuação de toxicidade, para que o mesmo possa ser utilizado para outros fins, como, por exemplo, fertilizantes (BRK AMBIENTAL, 2020a; BRK AMBIENTAL, 2020b).

A cidade de Rio Claro, juntamente com as cidades de Analândia, Charqueada, Corumbataí, Ipeúna, Itirapina, Santa Gertrudes e Piracicaba, pertence à bacia hidrográfica do Rio Corumbataí. Os principais afluentes desta bacia são os rios Passa Cinco, que nasce no município de Itirapina, e o Ribeirão Claro, que nasce no município de Corumbataí. O Ribeirão Claro é um corpo d'água usado para captação de água de abastecimento público, pela Estação de Tratamento de Água José Maria Pedroso (ETA I), que abastece 40% da cidade de Rio Claro. A concessionária BRK Ambiental é responsável pelas ETEs da cidade de Rio Claro, dentre elas a ETE Conduta, localizada no bairro Jardim Conduta. A ETE Conduta, que atende atualmente 34 bairros da cidade, produz 161 L/s de efluente bruto. O tratamento realizado por esta ETE é o de reator anaeróbio (UASB), seguido por lodos ativados e desinfecção por radiação UV (BRK Ambiental, 2019; ARES-PCJ, 2013). Este último processo citado consiste em um sistema de emissão de radiação ultravioleta na fase final do tratamento do esgoto, com o objetivo de eliminar microrganismos patogênicos do efluente (BRK AMBIENTAL, 2020c).

Uma das responsabilidades das ETEs é averiguar a qualidade dos seus efluentes finais, para que esses não contaminem os corpos d'água receptores. É possível realizar uma avaliação da qualidade da água, por meio de parâmetros físico-químicos, conforme estabelece a Resolução CONAMA nº 430/11. No entanto, as águas residuais urbanas apresentam uma infinidade de micropoluentes orgânicos, incluindo nestes produtos farmacêuticos, de higiene pessoal, hormônios, produtos químicos industriais, biocidas e pesticidas (SCHWARZENBACH et al., 2006), que devem ser avaliados quanto à sua toxicidade para os organismos. Por

essa razão, é necessária, além dos ensaios físico-químicos, a realização de bioensaios que possam estimar os efeitos tóxicos resultantes dos próprios contaminantes do esgoto, e dos compostos utilizados no tratamento (PANDARD et al., 2006).

Os bioensaios de ecotoxicidade são testes realizados com organismos vivos, ou com parte deles, importantes para a obtenção de uma melhor compreensão dos efeitos individuais e integrados dos componentes de uma amostra sobre os seres vivos. Dentre os efeitos complexos registrados por esses ensaios, destacam-se os sinérgicos, aditivos, potencializadores ou antagônicos, que aparecem em decorrência da presença de diferentes substâncias em uma amostra. Os resultados obtidos em bioensaios podem complementar, substancialmente, os dados das análises físico-químicas (OBERHOLSTER et al., 2008). Já as análises físico-químicas, ao contrário, não oferecem esse tipo de avaliação, pois apenas identificam e quantificam os compostos presentes em uma amostra estudada. Por essa razão, os ensaios biológicos vêm sendo cada vez mais requeridos em avaliações dos riscos que misturas complexas oferecem aos organismos a elas expostos (QUNFANG et al., 2008).

A escolha dos organismos a serem utilizados em bioensaios (bioindicador) deve priorizar, principalmente, a sensibilidade do mesmo em responder a um amplo espectro de substâncias, característica esta que o torna um bom bioindicador para análise da toxicidade ambiental. Dentre os organismos considerados bons indicadores de toxicidade ambiental se destacam: algumas plantas superiores, como *Lactuca sativa* e *Allium cepa*; animais não-vertebrados, como *Daphnia magna* e *Hydra attenuate*; vertebrados, como *Pyxicephalus adspersus*, *Oreochromis niloticus* e *Danio rerio*; e linhagens celulares como as células de fígado de truta-arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) da linhagem RTL-W1, de ovário de hamster chinês (CHO) (*Cricetulus griseus*), de hepatoma humano (HepG2) e muitas outras (CARITÁ, 2010; OBERHOLSTER et al., 2008; SOUZA et al., 2016; SUARES-ROCHA et al., 2015; SINUO, 2019; ZEGURA, 2009).

As plantas superiores são consideradas ótimos sistemas-testes, devido à sua sensibilidade a diferentes tipos de poluentes e por permitirem a avaliação de vários parâmetros analíticos (GRANT, 1994). Dos sistemas-teste vegetais utilizados em bioensaios de toxicidade ambiental, destacam-se os realizados com as espécies *Allium cepa* L. (EL SHAHABY et al., 2003; HOSHINA et al., 2009; BIANCHI et al.,

2011) e *Lactuca sativa* L. (PANDARD et al., 2006; REDE, 2016; SOMMAGGIO, 2016; CURADO, 2017).

A espécie *A. cepa* (cebola) possui várias características importantes para um bom sistema-teste, tais como: fácil germinação (germina o ano todo, sendo adaptável às diversas condições climáticas); cromossomos grandes e em reduzido número ($2n=16$); boa cinética de proliferação e rápido crescimento das raízes; alto número de células em divisão; e facilidade de observação em microscopia de luz (FISKESJÖ, 1985; LEME et al, 2008; SOMMAGGIO, 2016). Por este organismo teste, é possível avaliar parâmetros de citotoxicidade, pela análise da variação do índice mitótico; de genotoxicidade, pela análise da presença de alterações cromossômicas (AC) e nucleares (AN); e de mutagenicidade, pela avaliação da presença de micronúcleos (MN) em suas células. De acordo com El-Shahaby et al. (2003), esta espécie é recomendada para a avaliação de AC e MN em estudos de monitoramento ambiental.

A espécie *L. sativa* (alface), assim como *A. cepa*, também responde a condições climáticas variadas e possui um ciclo de vida rápido. Esta espécie é muito utilizada em avaliações de fitotoxicidade de amostras ambientais, o que pode ser verificado por meio de teste de germinação e de alongamento do hipocótilo e da radícula (PRIAC et al., 2017).

Os bioensaios realizados com organismos-testes vegetais permitem ainda uma melhor compreensão dos mecanismos de ação de substâncias tóxicas, bem como podem inferir sobre os potenciais ecotoxicológicos de amostras ambientais complexas. Dessa forma, foi realizado um monitoramento ambiental de águas do Ribeirão Claro à montante e à jusante do descarte do efluente da ETE Conduta (Rio Claro-SP), bem como do efluente bruto lançado pela ETE neste mesmo ribeirão e do lodo de esgoto, gerado pela ETE, por meio de bioensaios com as espécies *A. cepa* e *L. sativa*.

2. OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial fitotóxico, citogenotóxico e mutagênico do efluente bruto e do lodo de esgoto da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Conduta/Rio Claro – SP e de amostras de águas do Ribeirão Claro, coletadas à montante e à jusante do lançamento de efluente da ETE-Conduta. Foram realizados bioensaios para:

- Avaliar a fitotoxicidade do efluente da ETE, por meio de ensaio de germinação e de alongamento do hipocótilo/radícula com *L. sativa*;
- Avaliar a fitotoxicidade do lodo de esgoto da ETE, por meio do ensaio de germinação e de alongamento do hipocótilo/radícula com *L. sativa*;
- Monitorar a fitotoxicidade do corpo d'água receptor (Ribeirão Claro), por meio de análise de amostras de águas coletadas à montante e à jusante do descarte do efluente da ETE-Conduta, por meio de ensaio de germinação e de alongamento do hipocótilo/radícula com *L. sativa*;
- Avaliar os efeitos toxicogenéticos do efluente bruto da ETE Conduta, por meio de ensaios de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade, realizados com o organismo teste *A. cepa*;
- Avaliar os efeitos toxicogenéticos do LE da ETE Conduta, por meio de ensaios de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade, realizados com o organismo teste *A. cepa*;
- Avaliar os efeitos toxicogenéticos de amostras de águas coletadas no Ribeirão Claro, à montante e à jusante do recebimento do efluente da ETE Conduta, por meio de ensaios de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade com o organismo teste *A. cepa*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta de amostras para estudo

Para o biomonitoramento dos impactos que o efluente da ETE Conduta possa causar sobre a qualidade das águas do Ribeirão Claro (Rio Claro-SP) e para avaliar a toxicidade do lodo de esgoto (LE) gerado pela mesma ETE, foram analisadas amostras coletadas em 4 pontos distintos, relacionados com as atividades da ETE Conduta de Rio Claro, como seguem: águas do Ribeirão Claro, coletadas à montante do descarte do efluente da ETE (ponto 1 – P1); efluente bruto da ETE (ponto 2 – P2); águas do Ribeirão Claro coletadas à jusante do descarte do efluente da ETE (ponto 3 – P3); e LE resultante do processo de tratamento da ETE (ponto 4 – P4), conforme ilustrado na Figura 1.

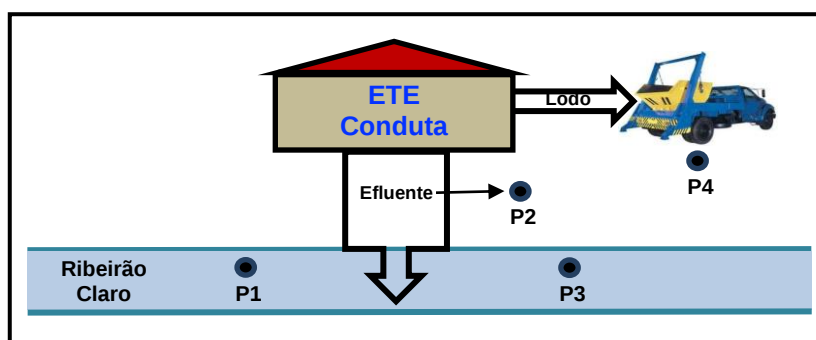


Figura 1: Esquema ilustrativo dos pontos de coleta das amostras utilizadas no presente estudo. Fonte: a autora.

3.2 Testes de germinação e de alongamento do hipocótilo/radícula realizados com bioindicador *Lactuca sativa*

Foram realizados testes de germinação e de alongamento do hipocótilo/radícula com sementes de *L. sativa*, variedade Grand Rapids – TBR. Nestes testes, sementes deste bioindicador foram expostas à germinação em amostras coletadas nos 4 pontos de estudo citados anteriormente. Vinte sementes de *L. sativa* foram dispostas em placas de Petri previamente identificadas, forradas com papel filtro e umedecidas com as amostras coletadas. O controle negativo (CN) foi realizado com água de osmose reversa e o controle positivo (CP) com uma solução de sulfato de zinco (ZnSO_4) a 0,05M. As placas foram dispostas em uma

sala climatizada a 22 °C, no escuro, por 5 dias. Após esse período, foram contabilizadas as sementes germinadas e realizadas as mensurações, com auxílio de um paquímetro digital, das radículas e dos hipocótilos das plântulas que apresentaram crescimento superior a 1cm. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas. Na Figura 2 estão representadas as estruturas do hipocótilo e radícula da plântula de *L. sativa*.

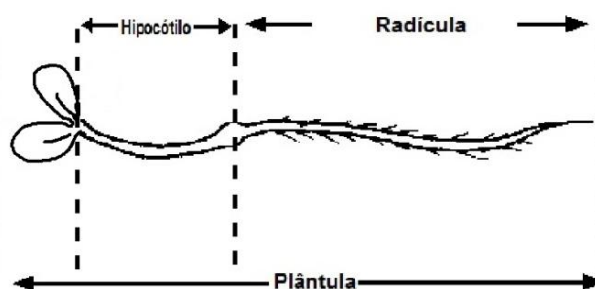


Figura 2 – Imagem ilustrativa de uma plântula de alface (*Lactuca sativa* L.), discriminando a subdivisão das estruturas de hipocótilo e radícula. Fonte: Retirado de CORNELL (2020), adaptado pela autora.

3.3 Ensaio de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade com o bioindicador *Allium cepa*

Os ensaios de citogenotoxicidade, realizados com as amostras coletadas nos quatro diferentes pontos de coletas citados anteriormente, foram desenvolvidos em triplicatas, expondo 100 sementes de *A. cepa*, variedade Baia Periforme, em placas de Petri, previamente identificadas, forradas com papel filtro embebido com as amostras coletadas. O controle negativo (CN) foi realizado com água de osmose reversa e o controle positivo (CP) com trifluralina (substância de ação aneugênica), na concentração de 0,84 ppm de princípio ativo, e com metil metanosulfonato (MMS - substância de ação clastogênica), na concentração de $4 \cdot 10^{-4}$ M. As placas foram dispostas em BOD a 22 °C, com fotoperíodo de 12 horas, por 5 dias, até que as raízes germinadas atingiram cerca de 2 cm de comprimento. Ao atingirem esse comprimento, as raízes foram coletadas e fixadas em Carnoy (3:1, álcool/ácido acético – v:v), e armazenadas a 4 °C, até o momento da confecção das lâminas.

Para a confecção das lâminas, as radículas foram hidrolisadas em HCl 1N a 60°C por 10 min, e, posteriormente, submetidas ao reagente de Schiff, por 2 horas.

Após esse período, foram confeccionadas as lâminas, seccionando-se a região meristemática das radículas em 1 gota de carmim acético (2%), que foi colocada previamente sobre a lâmina. O material foi recoberto com lamínula e suavemente esmagado. As lamínulas foram extraídas em nitrogênio líquido (LN₂) e as lâminas montadas com resina sintética, para posterior análise em microscopia de luz.

Foram analisadas citologicamente 4 lâminas/duplicata, totalizando 12 lâminas/tratamento. Com os resultados das análises citológicas, foram estimados os Índices Mitótico (IM), de Aberrações Cromossômicas (AC) e do Micronúcleo (MN). Os resultados obtidos foram analisados, de acordo com os cálculos descritos a seguir:

- Índice Mitótico (IM), que corresponde ao parâmetro de citotoxicidade:

$$IM = \frac{\text{Nº total de células em divisão} \times 100}{\text{Total de células observadas}}$$

- Índices de Alterações Cromossômicas (IAC) e nucleares (N), que correspondem ao parâmetro de genotoxicidade, avaliados pela presença de pontes, perdas, aderências cromossômicas, broto nucleares:

$$IAC = \frac{\text{Nº total de células alteradas} \times 100}{\text{Total de células observadas}}$$

- Índice de Mutagenicidade (IMt), que corresponde ao parâmetro de mutagenicidade, avaliado pela presença de células portadoras de MN e quebras cromossômicas:

$$IMt = \frac{\text{Nº total de células portadoras de MN} \times 100}{\text{Total de células observadas}}$$

O índice de morte celular foi avaliado por meio de parâmetros citomorfológicos, como vacuolização do citoplasma, núcleo lobulado e polinucleização (LEME et al., 2008).

3.4 Análises Estatísticas

Para a análise estatística, foi comparado o grupo do CN com os demais tratamentos estudados. As análises estatísticas foram realizadas pelo software GraphPad Prism 9, a 0,05 de nível de significância. Primeiramente, foi realizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk. Quando esse teste apresentou $p > 0,05$, foi utilizado o teste ANOVA um fator e quando apresentou $p < 0,05$, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos ensaios de fitotoxicidade com *Lactuca sativa* L., embora não tenha sido registrada inibição estatisticamente significativa da porcentagem de germinação para o controle positivo (CP), houve, como esperado, inibição do crescimento das estruturas radiculares. O alongamento do hipocótilo/radícula foi inferior a 1 cm, o que impediu a realização das mensurações dessas estruturas. Todas as radículas apresentaram suas pontas escurecidas, comprovando a ação tóxica do agente químico usado como CP. Esses resultados confirmam que o bioindicador está respondendo aos efeitos tóxicos do ZnSO_4 (CP) (LOPES, 2014).

Os bioensaios realizados com *Lactuca sativa* mostraram que o lodo de esgoto (LE) foi fitotóxico, pois inibiu a germinação das sementes deste bioindicador (Figura 3). Apesar de algumas sementes de alface terem germinado, o crescimento das suas estruturas (hipocótilo ou radícula) foi inferior a 1 cm, dessa forma, essas estruturas não foram mensuradas. Esse resultado já era esperado, uma vez que, de acordo com a literatura, o LE pode possuir compostos tóxicos como metais (MAÑAS & HERAS, 2018), entre outras substâncias que causam a inibição da germinação de espécies vegetais (SOMMAGGIO, 2016). Estudos semelhantes ao aqui apresentado foram desenvolvidos por Mañas e Heras (2018), onde as autoras usaram soluções de 1%, 3% e 10% de LE em testes de germinação de *L. sativa*. Ao final do experimento, verificaram que quanto menor a concentração de LE na solução, maior foi o crescimento das plântulas de *L. sativa*. Já as plântulas germinadas na solução de maior concentração apresentaram crescimento semelhante ao observado para o CP ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Os resultados de Mañas e Heras corroboram os resultados obtidos na presente pesquisa, pois em ambos os estudos houve baixa germinação, e um baixo desenvolvimento das plântulas, indicando que o LE pode apresentar alguns compostos que comprometem a germinação e o crescimento das raízes de *L. sativa*.

Com relação às demais amostras, não foram observados resultados estatisticamente significativos em relação ao CN, mostrando que tanto o efluente, como as águas coletadas no Ribeirão Claro à montante e à jusante do descarte do efluente da ETE não interferiram na germinação de *L. sativa* e nem no alongamento do hipocótilo/radícula (Figura 4). Esses resultados comprovam que a qualidade das águas do Ribeirão Claro não foi afetada pelo recebimento do efluente da ETE. O

efluente bruto também não foi fitotóxico para *L. sativa*, o que permite inferir que o tratamento da ETE foi eficiente. Amostras de efluentes de ETEs da Costa Rica, analisadas por Ramírez-Morales et al. (2020), indicaram ser fitotóxicas, pois inibiram a germinação em cerca de 20% em relação aos resultados obtidos nos testes controle realizados na pesquisa. Essa fitotoxicidade, de acordo com os autores, se deve ao fato daquele país não ter infraestrutura pré-estabelecida e adequada para o tratamento de águas residuais domésticas e/ou industriais. Desta forma, a diferença observada entre os resultados obtidos nos estudos realizados por Ramírez-Morales et al. (2020) e a presente pesquisa, pode ter sido devido ao tipo de tratamento utilizado pela ETE Conduto, o qual conta com uma série de tecnologias avançadas para esse tipo de resíduo, como reator aeróbio (UASB), lodo ativado e desinfecção por radiação UV, que parecem ter sido eficientes na remoção de possíveis compostos tóxicos do seu efluente. Contudo, Priac et al. (2017) alerta que o uso de diferentes variedades de *L. sativa* pode levar a diferentes respostas para um mesmo tipo de avaliação. Assim, existe a tênue possibilidade das diferentes respostas observadas entre os estudos citados serem devidas às diferentes variedades de *L. sativa* utilizadas nos estudos. Ramírez-Morales et al. (2020) utilizaram sementes de *L. sativa* da variedade Georgia, enquanto na presente pesquisa foi utilizada a variedade Grand Rapids – TBR.

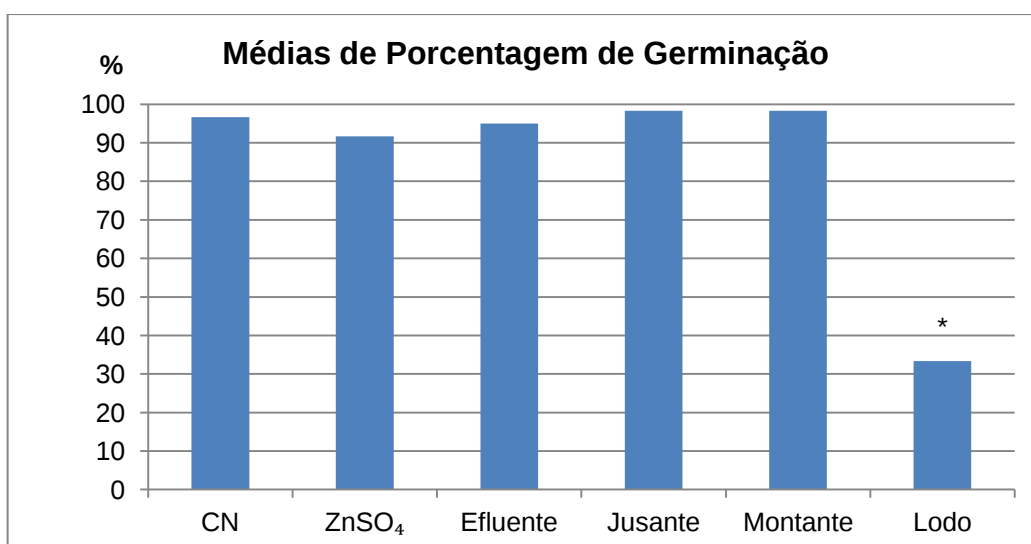


Figura 3 - Porcentagem de germinação avaliada com sementes de *Lactuca sativa* expostas às amostras do efluente da ETE, da montante e jusante do corpo d'água receptor do efluente da ETE e do lodo da ETE. CN: controle negativo; ZnSO₄: sulfato de zinco. Fonte: a autora.

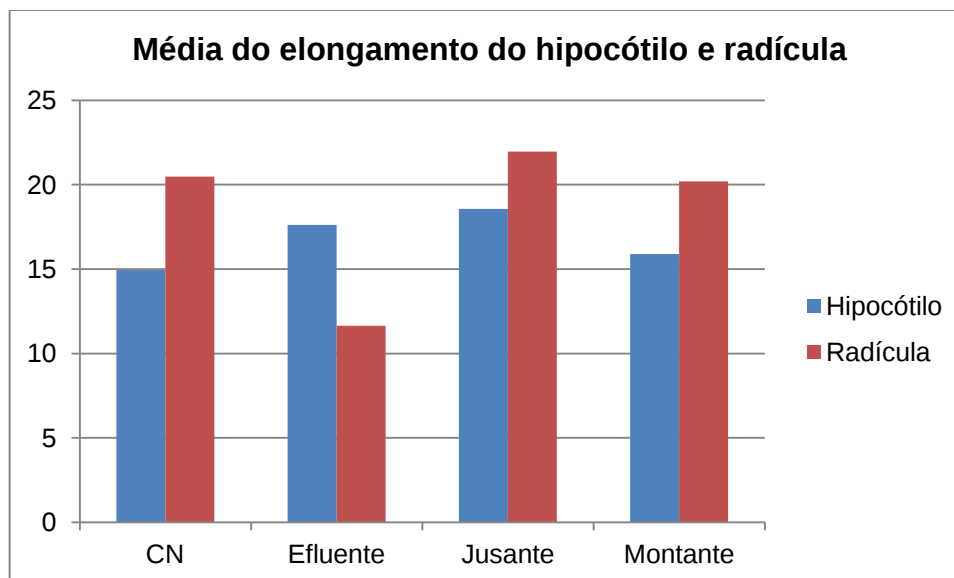


Figura 4 - Elongamento do hipocótilo/radícula, avaliado em sementes de *L. sativa* expostas às amostras do efluente da ETE, da montante e jusante do corpo d'água receptor do efluente da ETE e do lodo da ETE. O CP e o LE não apresentaram crescimento superior a 1 cm, dessa forma não foram mensurados. CN: controle negativo. Fonte: a autora.

Nos bioensaios realizados com *A. cepa*, as sementes expostas ao tratamento com LE, em sua maioria, não germinaram, e as que germinaram não cresceram o suficiente para que fossem confeccionadas lâminas com os seus meristemas. Sendo assim, não foi possível a análise de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade do LE, devido a sua alta toxicidade. Com isso, pode-se inferir que o LE foi fitotóxico para *A. cepa*. A toxicidade do LE observada para *A. cepa* provavelmente deve estar relacionada à composição desse resíduo, pois além de conter matéria orgânica também é rico em nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e manganês, poluentes metálicos, compostos fenólicos, benzenos, antracenos e resíduos farmacêuticos (DICHTL et al., 2007; GRAY, 2010 In: MAZZEO et al., 2015). Os bioensaios realizados com *A. cepa*, com as águas do Ribeirão Claro e com o efluente bruto da ETE, não exibiram resultados estatisticamente diferentes do CN. Esses dados são coincidentes com os resultados obtidos, com esse mesmo bioindicador, por Ferreira et al. (2012), quando os autores avaliaram águas dos Ribeirões Varginha (Califórnia-PR) e Tabatinga (Mandaguari-PR), rios estes que não recebem efluentes de ETES, mas sofrem interferência de áreas urbanas. Mitteregger-Júnior et al. (2006)

observaram pelo ensaio de *A. cepa* que a qualidade da água e do sedimento do Arroio Estância Velha (RS) piorava significativamente após o lançamento de efluentes industriais e de esgoto doméstico, dados esses que mostraram, de acordo com os autores, a importância da realização de tratamentos de boa qualidade pelas ETEs para garantir a qualidade ambiental.

Com relação aos resultados de índice mitótico das amostras do efluente bruto e das águas coletadas à montante e à jusante do lançamento do efluente, não foram observados potenciais citotóxicos para elas, conforme pode ser visto na Figura 5.

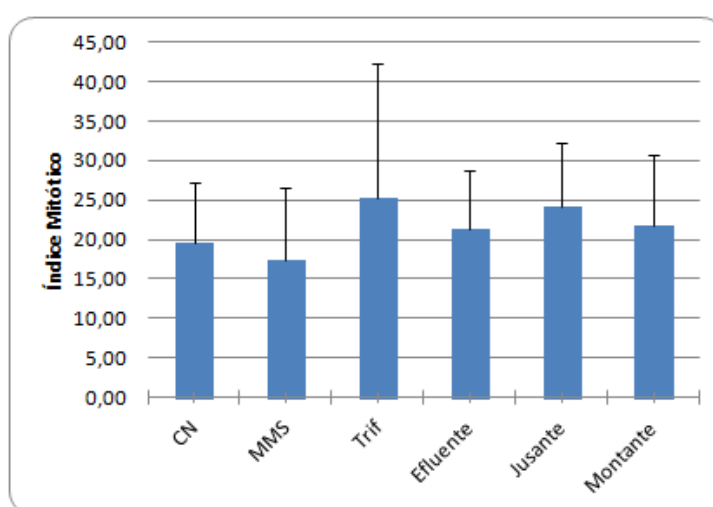


Figura 5 – Avaliação da citotoxicidade, realizada por meio do teste do índice mitótico em células meristemáticas de *A. cepa* expostas as amostras de efluente da ETE Conduto e das águas coletadas à montante e jusante do descarte do efluente da ETE. CN: controle negativo; MMS: metil metanosulfonato (CP); Trif: trifluralina (CP). Fonte: a autora.

Esses dados comprovam que o efluente bruto e as amostras de rio coletadas à montante e à jusante do descarte do efluente da ETE não apresentaram substâncias capazes de interferir no processo de divisão das células meristemáticas do organismo teste *A. cepa*. Pereira et al. (2019) afirmam que os ensaios de alongamento do hipocótilo/radícula, realizados com *L. sativa*, podem ser relacionados aos testes de alterações do índice mitótico, realizados com meristemas de *A. cepa*. Desta forma, pelos resultados de ambos os testes realizados (*L. sativa* e *A. cepa*), é possível inferir que a ETE Conduto realiza um sistema de tratamento eficiente para a remoção de substâncias com potencial citotóxico.

Nas avaliações realizadas pelos ensaios de alterações cromossômicas (AC) e nucleares (N) com o bioindicador *A. cepa*, não foram registradas diferenças estatísticas entre as amostras de água do Ribeirão Claro (coletadas à montante e à jusante do lançamento do efluente da ETE Conduta) e do efluente bruto da referida ETE, em relação aos resultados do CN, o que comprova que essas amostras não foram genotóxicas para o organismo *A. cepa* (Figura 6). As mesmas amostras, quando avaliadas pelo ensaio de MN e de quebras cromossômicas também não exibiram potencial mutagênico (Figura 7). Esses resultados são bons indicativos de eficiência do tratamento realizado pela ETE na remoção de compostos potencialmente genotóxicos e mutagênicos.

Os únicos tratamentos que exibiram potencial genotóxico e mutagênico foram os realizados com o CP (MMS e trifluralina), resultados esses que comprovaram a eficiência do sistema *A. cepa* para ser usado em biomonitoramento de qualidade de águas de recursos hídricos e de efluentes de estações de tratamento. A trifluralina é um herbicida da família das dinitroanilinas, que promove danos celulares pela sua ação aneugênica. O herbicida interfere na polimerização das tubulinas, impedindo a formação do fuso mitótico, e, conseqüentemente, impedindo o processo de divisão celular (FERNANDES et al., 2007). Esse agente é um composto amplamente usado em avaliação ecotoxicológicas, como controle positivo (FERNANDES et al., 2007, 2009; BOUFFANT et al., 2008; CARITÁ, 2010; LCAZE et al., 2010; SOUZA et al., 2018; TROMPOWSKY et al., 2019). Já o metil metanosulfonato (MMS), é um agente alquilante que age, principalmente, sobre os mecanismos de tradução, impedindo que a dupla hélice do DNA se abra, impossibilitando a tradução. Sendo um agente clastogênico, que causa danos diretos ao DNA, quebras cromossômicas, pontes, entre outros, é recomendado para ser usado como controle positivo em ensaios toxicológicos (KIRKLAND et al., 2008; SOMMAGGIO et al., 2018; PAMPLONA-SILVA et al., 2020).

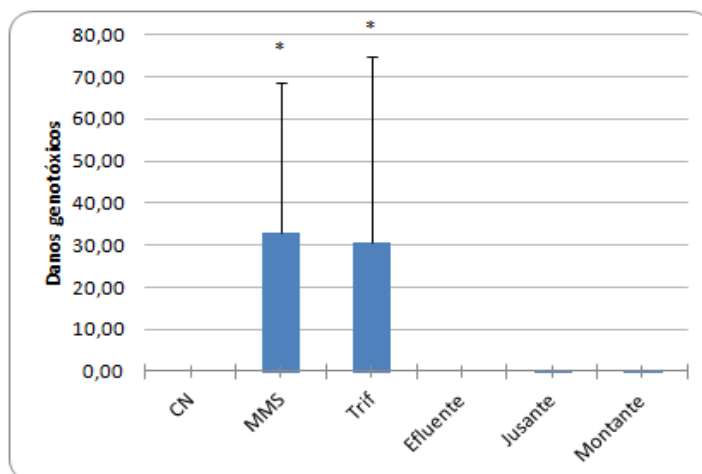


Figura 6 – Avaliação genotóxica realizada por meio do teste do AC em células meristemáticas de *A. cepa* expostas as amostras de efluente da ETE Conduta e das águas coletadas à montante e jusante do descarte do efluente da ETE. CN: controle negativo; MMS: metil metanosulfonato (CP); Trif: trifluralina (CP). Fonte: a autora

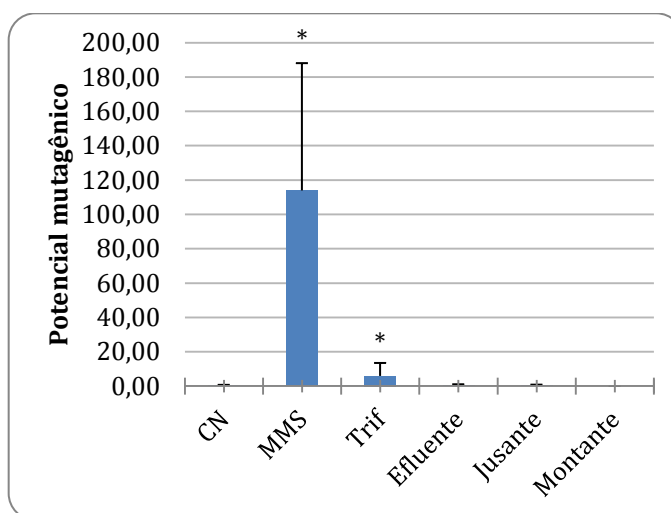


Figura 7 - Avaliação do potencial mutagênico realizado por meio do teste do AC em células meristemáticas de *A. cepa* expostas as amostras de efluente da ETE Conduta e das águas coletadas à montante e jusante do descarte do efluente da ETE. CN: controle negativo; MMS: metil metanosulfonato (CP); Trif: trifluralina (CP). Fonte: a autora

Pelos resultados obtidos no presente estudo, a qualidade do tratamento do efluente bruto, realizado pela ETE Conduta de Rio Claro, parece estar adequada para que o efluente seja lançado em corpos hídricos. Contudo, para garantir a segurança ambiental, deve haver um monitoramento contínuo tanto do tratamento realizado pela ETE como das águas do corpo d'água receptor de seus efluentes.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que os bioensaios ecotoxicológicos realizados com vegetais são importantes ferramentas para complementar avaliações físico-químicas realizadas para avaliar qualidade de tratamentos de ETEs.

Não foram observados, para as amostras de efluente bruto da ETE Conduta e para as águas do Ribeirão Claro, coletadas à montante e à jusante do lançamento do efluente da ETE, efeitos ecotoxicogenéticos para o bioindicador *A. cepa* nem fitotóxicos para o bioindicador *L. sativa*, demonstrando que o tratamento realizado na ETE Conduta está sendo eficiente para a remoção de substâncias tóxicas do seu efluente.

O LE da ETE Conduta apresentou potencial fitotóxico para o bioindicador *L. sativa*, por inibir o desenvolvimento do hipocótilo/radícula deste organismo. Além disso, também apresentou potencial fitotóxico para *A. cepa*, já que a germinação desse organismo foi inibida nessa amostra. Por essa razão, o LE deve ser descartado em aterros sanitários apropriados, ou então, receber algum tipo de tratamento que reduza sua toxicidade, para que este possa ter um destino mais nobre, como, por exemplo, ser usado como fertilizante agrícola.

Este estudo consistiu em uma avaliação preliminar de caracterização de toxicidade dos resíduos produzidos pela ETE Conduta e também dos possíveis impactos que esses resíduos possam causar ao ambiente. Desta forma, seria interessante que fossem desenvolvidos bioensaios com bioindicadores de outros níveis tróficos, para um melhor conhecimento dos possíveis riscos dos resíduos gerados pela ETE (LE e efluente), para outros sistemas biológicos, como animais e seres humanos.

Este estudo também coloca um alerta, quanto ao LE produzido na ETE, pois este resíduo se apresentou altamente tóxico, devendo então passar por sistemas de tratamentos de degradação, antes de ser disponibilizado no ambiente ou usado em qualquer atividade alternativa.

Embora o efluente da ETE não tenha demonstrado potencial tóxico significativo, este resíduo deve passar por monitoramento contínuo de sua qualidade, para garantir a segurança ambiental.

REFERÊNCIAS:

ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS). **NBR 9648** - Estudo de concepção de sistemas de esgoto sanitário. ANBT: Rio de Janeiro, 1986. 5 páginas.

ARES-PCJ (Agência Reguladora dos Serviços de Saneamento das Bacias dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí). **Relatório de fiscalização técnica dos sistemas de água e esgoto do município de Rio Claro**. ARES-PCJ: Americana, Out. 2013.

Disponível em:

http://www.arespcj.com.br/arquivos/97592_RELATORIO_DE_FISCALIZA%C3%87%C3%83O_-_RIO_CLARO_internet.pdf. Acesso em: 02 mar. 2021.

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E.L.G.; MARIN-MORALES, M.A. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [New York, NY, USA], v. 74, pp. 826-833, Dec. 2011.

BOUFFANT, R.; BOULBEN, S.; CORMIER, P.; MULNER-LORILLON, O.; BELLÉ, R.; MORALES, J. Inhibition of translation and modification of translation factors during apoptosis induced by the DNA-damaging agent MMS in sea urchin embryos.

Experimental Cell Research, [New York, NY, USA], v. 314, pp. 961-968, 2008.

BRK Ambiental. **Conheça as etapas do processo de tratamento de esgoto**. [s.l.]:

BRK Ambiental, [s.d.]. Disponível em: <https://blog.brkambiental.com.br/etapas-tratamento-de-esgoto/>. Acesso em: 22 dez. 2020a.

BRK Ambiental. **Entenda como funciona uma estação de tratamento de esgoto**.

[s.l.]: BRK Ambiental, [s.d.]. Disponível em: <https://blog.brkambiental.com.br/estacao-de-tratamento-de-esgoto/>. Acesso em: 22 dez. 2020b.

BRK Ambiental. **Série “Tecnologias do Saneamento” destaca o processo de desinfecção por radiação ultravioleta**. [s.l.]: BRK Ambiental, [s.d.]. Disponível em:

<https://www.brkambiental.com.br/rio-claro/serie-tecnologias-do-saneamento-destaca-o-processo-de-desinfeccao-por-radiacao-ultravioleta-uv>. Acesso em: 22 dez. 2020c.

BRK Ambiental. **Tratamento de Esgoto**. Disponível em:

<https://www.brkambiental.com.br/rio-claro/tratamento-de-esgoto>. [s.l.]: BRK Ambiental, [s.d.]. Acesso em: 16 jul. 2019.

CARITÁ, R. **Avaliação do potencial genotóxico e mutagênico de amostras de água de recursos hídricos que recebem efluentes urbanos e industriais do polo ceramista da cidade de Santa Gertrudes – SP**. 2010. 190 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Biologia Celular e Molecular) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2010.

CONSULTEC. **Tratamento terciário de efluente**. Campinas: CONSULTEC, [s.d.].

Disponível em: <https://www.consultecpa.com.br/tratamento-terciario-efluentes>. Acesso em: 04 jan. 2021.

CORNELL. **Collecting and Interpreting Lettuce Seed Bioassay Data.**

Pennsylvania, USA: Cornell, c2009. Disponível em:

<http://ei.cornell.edu/toxicology/bioassays/lettuce/data.html>. Acesso em: 15 dez. 2020.

CURADO, A.L.; OLIVEIRA, C.C.; COSTA, W.R.; ANHÊ, A.C.B.M.; SENHUK, A.P.M.S. Urban influence on the water quality of the Uberaba River basin: an Ecotoxicological assessment. **Ambiente & Água: An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 13, n. 1, e2127, Dec. 2017.

DICHTL, N., ROGGE, S., BAUERFELD, K. Novel strategies in sewage sludge treatment. **Clean-Soil Air Water**, v. 35, pp.473–479, 2007.

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 Journal of Biological Sciences**, v. 6, pp. 23–28, 2003.

FERNANDES, T.C.C.; MAZZEO, D.E.C.; MARIN-MORALES, M.A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, pp. 252-259, 2007.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent –Trifluralin herbicide. **Ecotoxicology & Environmental Safety**, v. 72, n. 6, p. 1680–1686, 2009.

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 Tabatinga (Mandaguari-PR), em *Allium cepa* L. **Revista Saúde e Biologia**, v.7, n.2, p. 46-54, 2012.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, pp. 99–112, 1985.

GRANT, W.F. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. **Mutation Research**, v. 310, pp. 175-185, 1994.

GRAY, N.F., 2010. Sludge treatment and disposal. In: GRAY, N.F. (Ed.), *Water Technology. An Introduction for Environmental Scientists and Engineers*. Butterworth-Heinemann, Oxford, pp. 645–685, 2010 In: MAZZEO, D.E.C.; FERNANDES, T.C.C.; LEVY, C.E.; FONTANETTI, C.S.; MARIN-MORALES, M.A. Monitoring the natural attenuation of a sewage sludge toxicity using the *Allium cepa* test. **Ecological Indicators**, v. 56, pp. 60-69, 2015.

HOSHINA, M.M.; MARIN-MORALES, M.A. Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, pp. 2090-2095, 2009.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). [S.l.:s.n.] Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/rio-claro/panorama>. Acesso em: 16 jul. 2019.

KIRKLAND, D.; KASPER, P.; MULLER, L.; CORVI, R.; SPEIT, G. Recommended lists of genotoxic and non-genotoxic chemicals for assessment of the performance of new or improved genotoxicity tests: A follow-up to an ECVAM workshop. **Mutation Research**, v. 653, pp. 99–108, 2008.

LACAZE, E.; GEFFARD, O.; BONY, S.; DEVAUX, A. Genotoxicity assessment in the amphipod *Gammarus fossarum* by use of the alkaline Comet assay. **Mutation Research**, v. 700, pp. 32-38, 2010.

LEME, D.M.; ANGELIS, D.F.; MARIN-MORALES, M.A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, v. 88, pp. 214–219, 2008.

LOPES, P.R.M. **Biorremediação de solos contaminados com óleo lubrificante pela aplicação de diferentes soluções de surfactantes químicos e biosurfactante produzidos por *Pseudomonas aeruginosa* LBI**. Tese – Doutorado - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2014, 183f.

MAÑAS, P.; HERAS, J. Phytotoxicity test applied to sewage sludge using *Lactuca sativa* L. and *Lepidium sativum* L. seeds. **International Journal of Environmental Science Technology**, v. 15, pp. 273-280, 2018.

MITTEREGGER-JÚNIOR, H.; FERRAZ-DIAS, J.; LÚCIA-YONEMA, M.; ARENZON, A.; SILVA, J.; PEGAS-HENRIQUES, J.A. Avaliação das Atividades Tóxicas e Mutagênicas da Água e do Sedimento do Arroio Estância Velha, Região Coureira-calçadista, Utilizando *Allium cepa*. **Jornal Brasileiro da Sociedade Ecotoxicológica**, v. 1, n.2., pp. 147-151, 2006.

OBERHOLSTER, P.J.; BOTHA, A.-M.; CLOETE, T.E. Biological and chemical evaluation of sewage water pollution in the Rietvlei nature reserve wetland area, South Africa. **Environmental Pollution**, [Barking, Inglaterra, GRB], v. 156, pp. 184-192, 2008.

ONU (Organização das Nações Unidas). [S.l.:s.n.] **Resolution 64/292**. Disponível em: https://www.un.org/en/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/RES/64/292. Acesso em: 21 jul. 2019.

PAMPLONA-SILVA, M.T.; GONÇALVES, L.C.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.C.; MARIN-MORALES, M.A. DNA damages induced by both endotoxin and exotoxin produced by cyanobacteria. **Chemosphere**, v. 254: 126716, pp. 1-5, 2020.

PANDARD, P.; DEVILLERS, J.; CHARISSOU, A.M.; POULSEN, V.; JOURDAIN, M.J.; FÉRARD, J.F.; GRAND, C.; BISPO, A. Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. **Science of the Total Environment**, v. 363, pp. 114-125, 2006.

PRIAC, A.; PIERRE-MARIE, B.; CRINI, G. Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: focus on germination and root elongation test parameters. **C.R. Biol**, v. 320, pp. 188-194, 2017.

RAMÍREZ-MORALES, D.; MASÍS-MORA, M.; MONTIEL-MORA, J.R.; CAMBRONERO-HEINRICH, J.C.; BRICEÑO-GUEVARA, S.; ROIAS-SÁNCHEZ, C.E.; MÉNDEZ-RIVERA, M.; ARIAS-MORA, V.; TORMO-BUDOWSKI, R.; BRENES-ALFARO, L.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, C.E. Occurrence of pharmaceuticals, hazard assessment and ecotoxicological evaluation of wastewater treatment plants in Costa Rica. **Science of the Total Environment**, v. 746, 2020, 141200.

REDE, D.; SANTOS, L.H.M.L.M.; RAMOS, S.; OLIVA-TELES, F.; ANTÃO, C.; SOUSA, S.R.; DELERUE-MATOS, C. Ecotoxicological impact of two soil remediation treatments in *Lactuca sativa* seeds. **Chemosphere**, v. 159, pp. 193-198, 2016.

SOMMAGGIO, L. R. D. **Avaliação da possibilidade de detoxificação e utilização agrícola de lodo de esgoto, após bioestimulação, por meio de diferentes bioensaios**. 2016. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2016.

SOMMAGGIO, L.R.D.; MAZZEO, D.E.C.; SANT’ANNA, D.A.E.S.; LEVY, C.E.; MARIN-MORALES, M.A. Ecotoxicological and microbiological assessment of sewage sludges associated with sugarcane bagasse. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, pp. 550-557, 2018.

SOUZA, H.O.; CONCEIÇÃO, M.B.; WEBER, L.I. Lethal concentration of methyl methanesulfonate in a new potential invertebrate model for ecotoxicology. **Nauplius** (online): The Journal of The Brazilian Crustacean Society. v. 26, e2018022. Epub Nov 01, 2018. ISSN 2358-2936. <https://doi.org/10.1590/2358-2936e2018022>.

SOUZA, T.A.J.; FRANCHIA, L.P.; ROSAB, L.R.; VEIGAB, M.A.M.S.; TAKAHASHI, C.S. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles of different sizes in CHO-K1 and CHO-XRS5 cell lines. **Mutation Research**, v. 795, p. 80-93, 2016.

SCHWARZENBACH, R.P.; ESCHER, B.I.; FENNER, K.; HOFSTETTER, T.B.; JOHNSON, C.A.; VON GUNTEN, U.; WEHRLI, B. The challenge of micropollutants in aquatic systems. **Science**, v. 313, pp. 1072-1077, 2006.

SUARES-ROCHA, P.; BRAUNBECK, T.; ANGELIS, D.F.; MARIN-MORALES, M.A. Assessment of cytotoxicity and AhR-mediated toxicity in tropical fresh water sediments under the influence of an oil refinery. **Environ Sci. Pollut. Res.**, v. 22:12566–12575, 2015.

SINUO, T.; MIAOMIAO, T.; ZHIYUAN, M.; SEN, Y.; MING, J.; RUIHENG, L.; LI, L.; JIN, Y.; ZHIQIANG, Z.; WENTAO, Z. Toxicity effects in zebrafish embryos (*Danio rerio*) induced by prothioconazole. **Environmental Pollution**, v. 255, 2019.

TROMPOWSKY, A.C.M.; CONDE, T.R.; LEMOS, R.C.; QUARESMA, B.M.C.S.; PITOMBEIRA, M.C.S.R.; CARVALHO, A.S.; BOECHAT, N.; SALOMÃO, K.; CASTRO, S.L.; ZAMITH, H.P.S. *In vitro* genotoxicity of nitroimidazoles as a tool in the search of new trypanocidal agents. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 114: e190017, 2019.

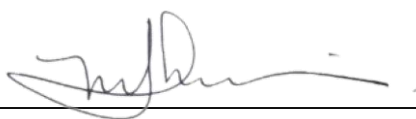
ZEGURA, B.; HEATH, E.; CERNOSA, A.; FILIPIC, M. Combination of in vitro bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples. **Chemosphere**, v.75, p.1453–1460, 2009.

QUNFANG, Z.; JIANBIN, Z.; JIANJIE, F.; JIANBO, S.; GUIBIN, J. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. **Analytica Chimica Acta**, v. 606, ed. 2, pp. 135-150, 2008.

Efeitos ecotoxicogenéticos dos resíduos derivados da Estação de Tratamento de Esgoto
Conduta – Rio Claro/ SP

Rafaela Barberis

Aluna: Rafaela Barberis Canjani



Orientadora: Maria Aparecida Marin Morales

Lais Roberta Sommaggio

Coorientadora: Lais Roberta Deroldo Sommaggio