
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

GABRIELLY CRISTINE MARTINS

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE EFLUENTES DE ESTAÇÃO DE
TRATAMENTO DE ESGOTO DA CIDADE DE SANTA BÁRBARA D'OESTE

GABRIELLY CRISTINE MARTINS

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE EFLUENTES DE ESTAÇÃO DE
TRATAMENTO DE ESGOTO DA CIDADE DE
SANTA BÁRBARA D'OESTE

Orientador: Professora. Dra. Maria Aparecida Marin Morales

Co-orientadora: 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 Bacharelado em Ciências Biológicas.

Rio Claro

2021

M386a Martins, Gabrielly Cristine
Avaliação da toxicidade de efluentes de estação de tratamento de esgoto da cidade de Santa Bárbara d'Oeste / Gabrielly Cristine Martins. -- Rio Claro, 2021
22 f. : il., tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientadora: Maria Aparecida Marin Morales Coorientadora: Laís Roberta Deroldo Sommaggio

1. Ambiental. 2. Genética. 3. Toxicologia. 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.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Professora Maria Aparecida Marin Morales que me concedeu a oportunidade de trabalhar no grande laboratório de mutagênese ambiental, no qual tive a felicidade de ter a ajuda de grandes colegas de trabalho, principalmente da minha coorientadora Laís e da técnica do laboratório Adriana. Além da equipe do laboratório tive a honra de trabalhar em conjunto com a ETE de Santa Bárbara d'Oeste e sua equipe, sobretudo o Thiago que nos auxiliou nas coletas.

Sou grata aos meus pais, minhas irmãs e avó que me acompanharam na minha jornada, e principalmente ao meu esposo Everson que incentivou a persistir nas minhas batalhas diárias e jamais desistir.

RESUMO

As Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) produzem resíduos que podem ter ação detrimental tanto para o ambiente como para a saúde humana. Dentre os resíduos produzidos nas ETEs estão o lodo de esgoto, que é destinado a aterros sanitários específicos, e o efluente líquido, que é lançado em corpos d'águas superficiais. Embora as águas residuais passem por diversos tratamentos para remoção da carga poluidora, antes de serem lançadas nos corpos hídricos, esta remoção não é completa. Apesar das ETEs seguirem resoluções pré-estabelecidas para o lançamento de efluentes nos corpos receptores, os critérios desta avaliação só contemplam as características físico-químicas e microbiológicas da água. Para um real monitoramento ambiental, também é necessário que sejam realizadas bioensaios complementares, com organismos bioindicadores de toxicidade. As espécies vegetais *Lactuca sativa* e *Allium cepa* são consideradas eficientes bioindicadores para avaliação da qualidade ambiental, por fornecerem dados consistentes sobre a fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de amostras ambientais. O presente estudo teve por objetivo monitorar o efluente tratado da ETE Toledos I da cidade de Santa Bárbara-SP, bem como as águas do Ribeirão dos Toledos, a montante e jusante do recebimento do efluente da ETE, além de um efluente contaminado com cromo que foi descartado no sistema coletor de esgoto municipal, por meio de ensaios de germinação e de crescimento de radícula/hipocótilo com *L. sativa* e por ensaios de índice mitótico (IM), de aberrações cromossômicas (AC) e de micronúcleo (MN) com *A. cepa*. Pelos bioensaios realizados com *L. sativa*, foi observado, para o período chuvoso, potencial fitotoxicidade para o efluente da ETE e para o efluente contaminado com cromo. Já para o período seco, foi observada fitotoxicidade para o efluente da ETE, para a amostra de água coletada a jusante do lançamento do efluente da ETE e para o efluente contaminado com cromo. Pelos ensaios com *A. cepa*, foi observado potencial citotóxico (ensaio do IM), somente no período chuvoso, para as amostras coletadas a jusante do lançamento do efluente da ETE e para o efluente contaminado com cromo. Neste estudo não foi observado potencial genotóxico (ensaio de AC) para nenhum tratamento do período chuvoso e seco, o que demonstrou que o tratamento realizado pela ETE foi eficiente para a remoção de substâncias genotóxicas do efluente. Pelo ensaio do MN foi observado potencial mutagênico somente para o efluente contaminado com cromo, o que também comprovou a eficiência do tratamento realizado pela ETE, na remoção de compostos mutagênicos de seu efluente. Pelos resultados desse estudo foi possível observar que os bioindicadores *L. sativa* e *A. cepa* apresentam diferentes sensibilidades para a avaliação das amostras ambientais, reforçando a importância do uso de diferentes biomarcadores e bioindicadores para um melhor diagnóstico das condições ambientais. O presente estudo demonstrou ainda a necessidade de incluir bioensaios de toxicidade aos ensaios químicos, para uma melhor avaliação da qualidade dos efluentes gerados pelas ETEs, bem como das condições dos ambientes aquáticos.

PALAVRAS CHAVES: mutagenicidade, fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*.

ABSTRACT

The Wastewater treatment plants (WWTP) produce waste that can have a detrimental effect on both the environment and human health. Among the waste produced in the WWTPs are sewage sludge, which is destined for specific sanitary landfills, and liquid effluent, which is released into bodies of surface water. Although wastewater undergoes several treatments to remove the polluting load, before being released into water bodies, this removal is not complete. Despite the fact that the WWTP follow pre-established resolutions for the discharge of effluents in the receiving bodies, the criteria of this evaluation only contemplate the physical-chemical and microbiological characteristics of the water. For real environmental monitoring, it is also necessary to carry out complementary bioassays, with organisms bioindicators of toxicity. The plants bioindicators *Lactuca sativa* and *Allium cepa* are considered efficient organisms for assessing environmental quality, for providing consistent data on phytotoxicity, cytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity of environmental samples. The present study aimed to monitor the treated effluent from the Toledos I WWTP of the Santa Bárbara-SP city, as well as the waters of Ribeirão dos Toledos, upstream and downstream of receiving the WWTP effluent, in addition to a chrome contaminated effluent that it was discarded in the municipal sewage collection system, by means of germination and root / hypocotyl growth tests with *L. sativa* and by mitotic index (MI), chromosomal aberrations (CA) and micronucleus (MN) tests with *A. cepa*. For the bioassays carried out with *L. sativa*, a potential phytotoxicity was observed for the rainy season for the WWTP effluent and for the effluent contaminated with chromium. For the dry period, phytotoxicity for the WWTP effluent, for the water sample collected downstream of the discharge of the WWTP effluent and for the effluent contaminated with chromium was observed. By the tests with *A. cepa*, rainy season, cytotoxic potential (MI assay) for the samples collected downstream of the discharge of the WWTP effluent and for the effluent contaminated with chromium was observed. In this study, genotoxic potential (CA assay) was not observed for any treatment of the rainy and dry periods, which demonstrated that the treatment carried out by the WWTP was efficient for the removal of genotoxic substances from the effluent. The MN test showed a mutagenic potential only for the effluent contaminated with chromium, which also proved the efficiency of the treatment carried out by the WWTP, in removing mutagenic compounds from its effluent. From the results of this study, it was possible to observe that the bioindicators *L. sativa* and *A. cepa* present different sensitivities for the evaluation of environmental samples, reinforcing the importance of using different biomarkers and bioindicators for a better diagnosis of environmental conditions. The present study also demonstrated the need to include toxicity bioassays in chemical tests, for a better evaluation of the quality of the effluents generated by the WWTPs and the conditions of the aquatic environments.

KEY WORDS: mutagenicity,
cepa, *Lactuca sativa*.

phytotoxicity, cytotoxicity, genotoxicity, *Allium*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1. EFLUENTES UTILIZADOS NO ESTUDO	13
3.2. TESTES DE GERMINAÇÃO COM <i>LACTUCA SATIVA</i>	16
3.3. BIOENSAIO COM <i>ALLIUM CEPA</i>	16
3.3.1. Testes de citotoxicidade, genotoxicidade e de mutagenicidade em células meristemáticas de <i>A. cepa</i>	17
3.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
4.1 <i>LACTUCA SATIVA</i>	19
4.2 <i>ALLIUM CEPA</i>	23
5. CONCLUSÃO	28
6. REFERÊNCIAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

A água é um recurso natural essencial à vida, seja como o maior componente bioquímico celular (constitui 70 a 95% das células), como meio de vida de todos os organismos e como fator de produção de vários bens de consumo final e intermediário. A sua especial importância está na dependência da água para o desempenho das funções vitais de todos os seres vivos.

A água doce corresponde a cerca de 3% de toda a água do planeta. Entretanto, menos de 1% dessa água está localizada em rios, lagos, aquíferos e reservatórios, portanto disponível para consumo dos organismos continentais (The United Nations World Water Development Report, 2003). A água doce, apropriada para uso e em quantidade adequada, é de suma importância para a manutenção da vida no planeta e, conseqüentemente, para o funcionamento adequado de ecossistemas. Além disso, esse bem mineral contribui com as atividades socioeconômicas, como a agricultura e pecuária (ANA, 2011; Relatório Mundial das Nações Unidas, 2016).

O consumo de água pelos seres humanos vem aumentando em cerca de 1% ao ano, impulsionado essencialmente pelo aumento populacional, além do desenvolvimento industrial e comercial (The United Nations World Water Development Report, 2019), o que têm resultado em graves crises de abastecimento da população (BERTONCINI, 2008). De acordo com a The United Nations World Development (2019), mais de dois bilhões de pessoas vivem em países com estresse hídrico. A previsão da UNESCO é de que a população mundial atingirá a marca de 10 bilhões de habitantes em 2050, o que levará 1/4 dessa população a viver em situação de escassez crônica de água potável (CHRISTOFIDIS, 2003; UNESCO, 2018). Sendo assim, devido a estimativa futura de disponibilidade de água para a vida humana, existe uma preocupação com o bem-estar e a saúde da população, como também com a produção agrícola e industrial (SRINIVASAN et al., 2012). Contudo, a crise hídrica não está relacionada somente com a quantidade de água disponível, mas também com a qualidade da água a ser consumida.

A qualidade da água pode estar relacionada a fatores variados, que vão desde a sua própria condição natural até as derivadas de interferências humanas (SPERLING, 1996). A poluição da água gera situações adversas aos ecossistemas e caracteriza um fator de risco à saúde humana. De acordo com Abera et al. (2011) e Khan et al. (2013), 80% das doenças humanas são veiculadas pela água. A falta de

tratamento da água de abastecimento, tratamento inadequado do esgoto urbano ou lançamento de esgotos domésticos *in natura* nos rios, estão entre as principais causas de óbitos (3,1%) nos grandes centros urbanos, correspondendo a mais de 1,7 milhão de mortes anuais. A qualidade da água ainda está associada à diminuição da longevidade humana em 3,7% (OMS, 2003, ASHBOLT, 2004). Assim, a poluição dos recursos hídricos está também muito relacionada com os ambientes urbanos e o desenvolvimento econômico da região. Uma das variáveis que compromete a qualidade da água dos recursos hídricos é o lançamento de esgotos sem o devido tratamento em suas águas, que ocorre, principalmente, em aglomerados urbanos (ATLAS ESGOTOS, 2017).

Quando um contaminante é lançado no meio ambiente, ele pode se misturar a substâncias naturais ou sintéticas já existentes nesse meio e essa mistura pode apresentar toxicidades variadas, derivadas de efeitos sinérgicos, aditivos, potencializadores ou antagônicos, que podem comprometer a sobrevivência da biota do local impactado (ZAGATTO, 2008). Os efeitos da toxicidade ambiental podem atingir todos os níveis de organização biológica e afetar tanto a estrutura quanto as funções de todo ecossistema (FENT, 1996; 2004).

Um dos parâmetros que indica poluição hídrica é o da demanda bioquímica de oxigênio (DBO), que corresponde a quantidade de oxigênio necessária para oxidar a matéria orgânica presente na água. De acordo com o relatório da Agência Nacional de Águas - Atlas Esgotos (2017), os recursos hídricos de regiões metropolitanas brasileiras apresentam os piores índices de DBO, devido à alta concentração de matéria orgânica decorrente de intensos lançamentos de efluentes derivados das mais variadas atividades urbanas, o que leva a eutrofização dos seus corpos d'água. Outro parâmetro analisado para avaliar a qualidade das águas de recursos hídricos é a turbidez. Os corpos hídricos receptores podem apresentar altos índices de turbidez, devido ao recebimento de grandes quantidades de esgotos com materiais suspensos (ANA, 2018). A alta turbidez pode alterar as condições de penetração da luz solar nesses ambientes, alterando, assim, a fotossíntese dos organismos produtores aquáticos e, conseqüentemente, a oxigenação do sistema hídrico, o que pode levar a processos de eutrofização, além de também interferir na temperatura da água.

As águas residuais possuem características bastante diversas, pois podem conter diferentes substâncias, como material suspenso, compostos orgânicos,

metais, entre outros (ARCHELA et al., 2003). Os principais poluentes químicos encontrados em águas residuais são o fósforo e nitrogênio, por serem importantes nutrientes para a microbiota envolvida com o processo de eutrofização (RAJASULOCHANA; PREETHY, 2016). As fontes mais comuns dos esgotos são as águas residuais dos sistemas urbanos e industriais e as águas pluviais, mas a característica do esgoto dependerá das fontes mais próximas do local de descarte (METCALF; EDDY, 1991). Além disso, essas águas podem conter inúmeros patógenos responsáveis por doenças, como bactérias, protozoários, helmintos e vírus, provenientes de excreções de pessoas infectadas, que acabam tendo como destino as águas residuais domésticas. Estes agentes biológicos são considerados importantes fatores etiológicos de várias doenças infecciosas, fator este envolvido com a elevação das taxas de mortalidade infantil de países em desenvolvimento (COSTA, 2007; ALBURQUEQUE; MONTE, 2010).

Para garantir a qualidade da água dos recursos hídricos e, conseqüentemente, da biota associada a eles, torna-se imprescindível a realização de tratamentos adequados das águas residuais, para que seja certificada a isenção de contaminantes que possam causar riscos ambientais, como o comprometimento da qualidade de águas superficiais e subterrâneas e também da salinidade de solos, (MARINHO et al.; 2013). As Estações de Tratamento de Esgoto são responsáveis por remover grande parte da carga poluidora orgânica, inorgânica e microbiológica do esgoto, cujo intuito é o descarte de um efluente que preserve os padrões de qualidade dos corpos hídricos receptores (CARVALHO; OLIVEIRA, 2010).

O Município de Santa Bárbara está localizado na Bacia Hidrográfica do Rio Piracicaba, que pertence à Unidade Hidrográfica de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI) do Piracicaba, Capivari e Jundiaí (PCJ). O referido município é contemplado por três micros bacias hidrográficas principais: a Bacia dos Ribeirão dos Toledos, a Bacia do Córrego Araçariguama e a Bacia do Córrego Santa Bárbara. A bacia do Ribeirão dos Toledos tem uma área total de 207.506.873 m² (DAE Santa Bárbara d'Oeste, 2018).

A ETE Toledos I passa, preliminarmente, por um sistema de grades e uma caixa de areia, para a remoção de sólidos grosseiros (lixo e detritos). Na sequência, segue para um tanque onde é injetado oxigênio, para suprir a demanda respiratória e, conseqüentemente, as atividades de decomposição da matéria orgânica, realizadas pelas bactérias aeróbias. O esgoto é então encaminhado aos flotores, que

agrupam o lodo em flocos, permitindo a sua separação. O material floculado é centrifugado (processo de desidratação) e o lodo de esgoto desidratado é enviado para aterros específicos. Após todo o processo de tratamento do esgoto, resta um efluente tratado que é lançado no Ribeirão dos Toledos (DAE Santa Bárbara d'Oeste, 2018).

Outra etapa importante no tratamento de efluentes sanitários é a desinfecção. Esse processo acontece antes que qualquer efluente seja lançado em um corpo hídrico receptor (LÉO, 2008). Metcalf e Eddy (1991) afirmam que a escolha do processo de desinfecção está relacionada com as características do efluente, como a quantidade de agentes tóxicos, a sua origem, tipos de microrganismo presente e as suas propriedades químicas. Um dos processos de desinfecção mais utilizados em ETE's é o que emprega derivados de cloro, devido ao seu baixo custo e alta eficiência na inativação de microrganismos, como as bactérias. Esses químicos, contudo, formam subprodutos como os trihalometanos, que são cancerígenos, além de outros produtos tóxicos que afetam diretamente o meio ambiente e a saúde pública (LAZAROVA et al., 1999; SINGER, 1999; DIAS, 2001; JÚNIOR, 2012).

Mesmo quando as ETE's realizam todas as etapas pré-estabelecidas para tratamento de esgoto, há ainda a necessidade de se monitorar esses sistemas de tratamento, tanto para a certificação de que o efluente a ser lançado atende aos padrões estabelecidos pela legislação vigente (Conselho Nacional do meio Ambiente - CONAMA 457/2005 e Lei n.º 997, de 31 de maio de 1976.) (AZZOLINE, FRINHANI, FABRO, 2012), como para estimar os possíveis impactos que eles possam desencadear nos recursos hídricos onde serão lançados. Além das análises físico-químicas que são realizadas para avaliar a qualidade da água, identificando e quantificando as substâncias tóxicas presentes, são necessários também testes toxicológicos, que possam avaliar os efeitos das substâncias tóxicas sobre os sistemas biológicos (OLIVI et al, 2008).

A realização de ensaios biológicos permite biomonitorar os efluentes e as águas dos rios, antes e após o recebimento desses efluentes em seus leitos. A toxicidade do efluente final pode ser devido a própria constituição do esgoto, como também do tratamento empregado pela ETE, já que alguns tratamentos podem acentuar os efeitos tóxicos do efluente final, devido a interações entre os compostos presentes no efluente e as substâncias usadas no tratamento (CETESB, 2013). Além da preocupação com a toxicidade do efluente, deve ser considerada também a

interação do efluente com o meio aquático receptor e os efeitos dessa interação sobre os organismos expostos. Os ensaios biológicos de toxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade são importantes mecanismos para este tipo de avaliação, conferindo um melhor diagnóstico da qualidade do corpo d'água e, conseqüentemente, a possibilidade de manutenção da vida daquele ecossistema aquático.

Muitas plantas, pela alta sensibilidade que apresentam quanto a detecção de fatores da poluição e na toxicidade dos compostos químicos, são utilizadas como bioindicadores de efeitos genotóxicos, por isso indicadas para serem aplicadas em monitoramento ambiental, (KÚRAS et al., 2006; LEME, MARIN-MORALES, 2009; BIANCHI et al., 2011). A comprovação da eficiência de bioensaios vegetais em monitoramento ambiental vem de estudos internacionais apoiados pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP), pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pela United States of Environmental Protection Agency (USEPA) (TURKOGLU, 2008). Estes testes permitem a observação de diferentes parâmetros genéticos, como as alterações cromossômicas estruturais ou numéricas, que podem acontecer em qualquer fase do ciclo celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase) (LEME, MARIN-MORALES, 2009; FERNANDES et al., 2009), que são consideradas evidências de efeitos genotóxicos, induzidos por agentes clastogênicos e/ou aneugênicos.

Alguns vegetais, como a espécie *Allium cepa* e *Lactuca sativa*, são considerados excelentes bioindicadores de contaminação ambiental (GRANT, 1994; MA, 1995; GRANT, 1998). A espécie *A. cepa* é uma das mais utilizadas para avaliar efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de contaminantes e amostras ambientais. As vantagens de utilização deste teste se devem à sua simplicidade e rapidez de execução, ao seu baixo custo e eficiência na obtenção dos resultados (GRANT, 1982; CHAUHAN et al., 1999; LEME, MARIN-MORALES, 2009). Esta espécie apresenta rápido crescimento radicular, células meristemáticas homogêneas, cromossomos grandes e em número reduzido ($2n=16$) (GRANT, 1999; LEME, MARIN-MORALES, 2009).

Além da espécie *A. cepa*, outra espécie vegetal também muito utilizada para avaliação da toxicidade de efluentes e de amostras ambientais é a *Lactuca sativa* (GIORGETTI et al., 2011). A *L. sativa* é considerada modelo para estudos de fitotoxicidade, recomendada para avaliações ecotoxicológicas por várias agências

internacionais (ISO, 1995; USEPA, 1996; OECD, 2003). Os testes de fitotoxicidade são baseados na taxa de germinação de sementes desta espécie e na potencialidade de inibição do alongamento da radícula e do hipocótilo de suas plântulas. Os ensaios com *L. sativa*, como os de *A. cepa*, são de fácil e rápida execução, de baixo custo, além de serem muito eficientes para avaliar toxicidade ambiental (PARK et al., 2007). Desta forma, o uso simultâneo desses dois organismos-teste vegetal permite uma melhor compreensão dos mecanismos de ação de substâncias tóxicas, bem como inferir sobre os reais potenciais ecotoxicológicos, como os efeitos fitotóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos (ANDRADE et al., 2010; PALMIERI et al., 2016; ARAGAO et al., 2015; FREITAS et al., 2016) de contaminantes ambientais.

Os compostos genotóxicos podem causar danos ao material genético, como aberrações cromossômicas do tipo C-metáfases, pontes anafásicas e telofásicas, anáfases multipolares, perdas cromossômicas, células binucleadas, dentre outros (FERNANDES et al 2009). Esses efeitos no material genético não são permanentes, isto é, são transitórios (DEARFIELD et al., 2002), mas podem inviabilizar a célula ou até mesmo levar ao desenvolvimento de processos carcinogênicos (FERNANDES, 2005). Os efeitos mutagênicos são caracterizados por promover alterações persistentes nas células, que podem ser microscopicamente visualizadas pela presença de micronúcleos e quebras cromossômicas (MATSUMOTO; MARIN-MORALES, 2004; FERNANDES et al., 2007).

2. OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi biomonitorar o efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da cidade de Santa Bárbara D'Oeste-SP (ETE Toledos I) e as águas do Ribeirão dos Toledos, a montante e a jusante do lançamento do efluente da ETE, em diferentes períodos sazonais (chuvoso e seco). Dessa forma, foram realizados ensaios para:

- ✓ Avaliar a fitotoxicidade de efluente da ETE, no período chuvoso e seco, por meio de ensaio de germinação com o organismo teste *Lactuca sativa*;
- ✓ Monitorar o corpo d'água receptor (Ribeirão dos Toledos), a montante e a jusante do recebimento do efluente da ETE Toledos I, no período chuvoso e seco, por meio dos ensaios de crescimento com *Lactuca sativa*;

- ✓ Avaliar a citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade do efluente da ETE, coletado no período chuvoso e seco, por meio de ensaios com o organismo teste *Allium cepa*;
- ✓ Monitorar o corpo d'água receptor, por meio de amostras coletadas no período chuvoso e seco, a montante e a jusante do lançamento do efluente da ETE, por meio dos ensaios de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade com o organismo teste *Allium cepa*;
- ✓ Avaliar a eficiência dos tratamentos realizados pela ETE, quanto a toxicidade do seu efluente final.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Efluentes utilizados no estudo

Para a avaliação dos impactos que o lançamento do efluente da ETE Toledos I de Santa Bárbara D'Oeste promove no Ribeirão dos Toledos, foram coletadas, em períodos chuvoso e seco, amostras do efluente da ETE e de águas do Ribeirão dos Toledos, antes (a montante) e após (a jusante) o recebimento do efluente. A coleta foi realizada conforme descrito a seguir:

- Ponto a montante: cerca de 1 a 5 km acima do lançamento do efluente no corpo receptor;
- Efluente tratado da ETE, antes do mesmo ser lançado no corpo receptor;
- Ponto a jusante: cerca de 1 a 5 km de distância abaixo do lançamento do efluente no corpo receptor.

Figura 2 – Vista geral do Ribeirão dos Toledos



Fonte: Márcio Alegre.

Figura 3 – Coleta de efluente da ETE Toledos I.



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4 – Coleta de amostra de água do ribeirão Toledos I, no ponto a montante da ETE Toledos.



Fonte: Elaborada pela autora.

Além das amostras descritas anteriormente, foi também analisado no presente estudo um efluente bruto com altos teores de cromo (pH: 1,0), que foi lançado por uma Empresa local no sistema de esgoto da cidade. O efluente bruto dessa empresa foi coletado pelos profissionais da ETE Toledos I e encaminhado, para análise, ao Laboratório de Mutagênese Ambiental (LMA). Como o episódio de lançamento do efluente contaminado com cromo aconteceu 1 mês antes da primeira coleta desse estudo, os gestores da ETE ficaram preocupados com uma possível interferência no efluente da ETE, por isso, solicitaram que as mesmas análises toxicológicas fossem feitas também para o efluente bruto da empresa. Como informação adicional, os gestores da ETE tomaram as medidas legais cabíveis para que a empresa que lançou o efluente contaminado com cromo fosse responsabilizada e autuada, pois esse efluente não deveria ter sido lançado na rede coletora, sem o devido tratamento prévio, por colocar em alto risco a qualidade do efluente da ETE, das água do corpo hídrico receptor do efluente e, conseqüentemente, da saúde ambiental.

Para a realização das análises com o efluente bruto contaminado com cromo, por meio dos ensaios com os bioindicadores *L. sativa* e *A. cepa*, foi necessário diluir a amostra do efluente, pois a toxicidade do efluente bruto impediu a germinação das sementes de ambos os vegetais. Desse modo, foram realizadas diversas diluições em água destilada desse efluente, sendo usada assim a diluição de 1ml de efluente para 150 ml de água de osmose reversa.

3.2. Testes com *Lactuca sativa*.

Para o teste de germinação, foram distribuídas 20 sementes de *L. sativa* em placas de Petri contendo papel filtro umedecido com 4 mL das amostras acima citadas (efluente da ETE; água do Ribeirão dos Toledo a montante e a jusante do lançamento do efluente da ETE; diluição do efluente contaminado com cromo). O controle negativo (CN) foi realizado com água de osmose reversa e o controle positivo (CP) com sulfato de zinco heptahidratado. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata. As placas de Petri foram incubadas em BOD, sem fotoperíodo (no escuro), por 120 horas, a uma temperatura de 22 °C (+/- 2) °C.

As sementes germinadas foram contabilizadas e os valores foram utilizados para os cálculos do índice de germinação, representado pela razão entre o número de sementes germinadas e o total de sementes expostas. Para o ensaio de alongamento das raízes e hipocótilos, essas estruturas foram mensuradas com um paquímetro digital. As médias dos resultados obtidos nessas mensurações foram usadas para avaliação a toxicidade das amostras. As radículas com tamanho menor que 0,5 cm não foram mensuradas.

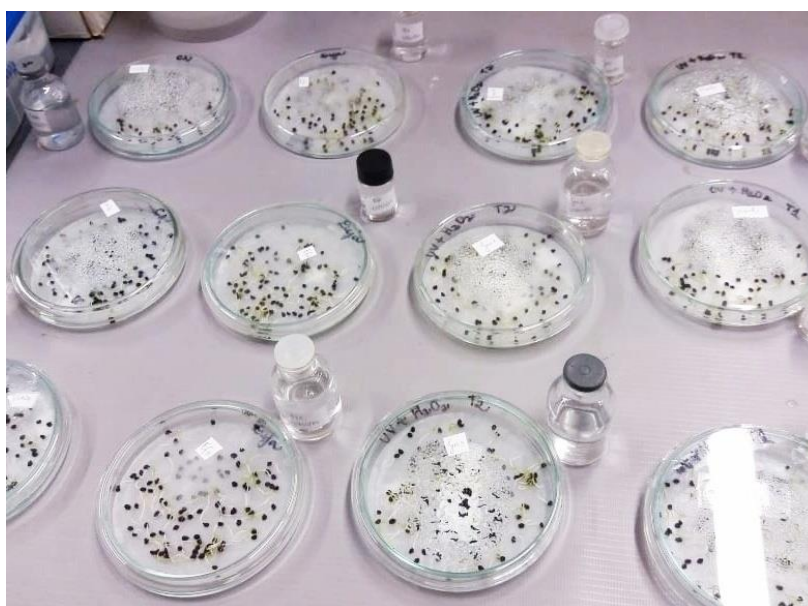
3.3. Bioensaios com *Allium cepa*

Para os bioensaios com *A. cepa*, 100 sementes deste bioindicador foram dispostas em placa de Petri forrada com papel filtro umedecido com os respectivos tratamentos anteriormente descritos (Figura 5). O controle negativo (CN) foi realizado em água de osmose reversa e o controle positivo (CP) em Metilmetano sulfonato (MMS, Sigma-Aldrich CAS 66-27-3), para a estação chuvosa, e com o herbicida Trifluralina, para a estação seca. Ambas as substâncias podem atuar como agente indutor de danos, causando grande variedade de lesões, tais como C-metáfases, metáfases poliploides, metáfases com aderência cromossômica, e

anáfases multipolares. (SOMMAGGIO et al., 2018; FERNANDES et al., 2009). Todos os ensaios foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas em BOD, com fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, a temperatura de 22 °C (+/- 2 °C).

Após germinação, as radículas foram coletadas, fixadas em Carnoy (álcool e ácido acético 3:1- v/v) e armazenadas em frascos de vidro, devidamente etiquetados (Figura 5). As radículas foram armazenadas a 4 °C, até a sua utilização na confecção das lâminas.

Figura 5 – Ensaio de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade, realizados com o bioindicador *Allium cepa*.



Fonte: Elaborada pela autora.

1.3.1. Testes de citotoxicidade, genotoxicidade e de mutagenicidade em células meristemáticas de *A. cepa*.

Os testes de citotoxicidade (índice mitótico – IM), genotoxicidade (Aberrações Cromossômicas - AC) e de mutagenicidade (micronúcleos - MN) foram realizados com células meristemáticas de *A. cepa*, de acordo com o protocolo estabelecido por Grant (1982), com algumas modificações. As raízes fixadas passaram por banhos em água destilada, para a retirada do excesso de fixador; hidrolisadas em HCl 1N, em banho-Maria a 60 °C, por 8 a 11 minutos; e coradas, por duas horas, no escuro, pela reação de Feulgen (reativo de Schiff). Após coloração, as raízes foram lavadas em água destilada, até a retirada do excesso de reativo de Schiff. As regiões

meristemáticas foram seccionadas em lâmina contendo uma gota de carmim acético (2%), recobertas com lamínula e suavemente esmagadas. Após a flambagem em lamparina, as lamínulas foram retiradas em nitrogênio líquido e as lâminas montadas com resina sintética, para a análise em microscópio de luz, no aumento de 1000x.

A citotoxicidade das amostras foi avaliada pelo IM, que foi obtido pela razão entre o número total de células em divisão e o total de células observadas. O *endpoint* de genotoxicidade foi obtido pelo ensaio de AC. Nesta análise foram considerados diferentes tipos de AC (perdas, pontes, atrasos, aderências cromossômicas, entre outros), nas diferentes fases da divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase). As presenças de MN e de quebras cromossômicas foram consideradas como parâmetro de avaliação de mutagenicidade. Para cada tratamento, foram analisadas 12 lâminas, sendo contabilizadas 500 células por lâmina, totalizando 6000 células contadas por tratamento.

3.4. Análises estatísticas.

Para a análise estatística, os resultados dos tratamentos estudados foram comparados com o do grupo CN. As análises estatísticas foram realizadas em software a 0,05 de nível de significância. Primeiramente, foram realizados os testes de normalidade (Shapiro – Wilk) e de homogeneidade (Levene). Quando os resultados dos testes apresentaram distribuição normal ($p > 0,05$), foi utilizado o teste estatístico ANOVA um fator, e quando as amostras não apresentaram distribuição normal ($p < 0,05$), foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira coleta foi realizada na primeira semana de maio de 2019. Apesar do mês de abril ser, normalmente, início de período de estiagem, no ano de 2019 as chuvas se prolongaram até o início do mês de maio, caracterizando assim o período de coleta como chuvoso (Tabela 1) Durante o mês de abril/2019, os índices pluviométricos (mm) da região de Santa Bárbara d'Oeste foram semelhantes à média dos meses considerados de estação chuvosa (janeiro, fevereiro e março).

A segunda coleta corresponde ao período de seca, e foi realizada no início do mês de outubro do mesmo ano. Como pode ser observado na tabela 1, as chuvas

do referido ano se iniciaram em outubro, porém no mês de setembro (mês que antecedeu a coleta) foi de baixo valor pluviométrico, índice esse que se manteve até o início de outubro, quando foi realizada a coleta, caracterizado assim em uma coleta com condição de período seco.

Tabela1: Dados climáticos referentes ao ano de 2019

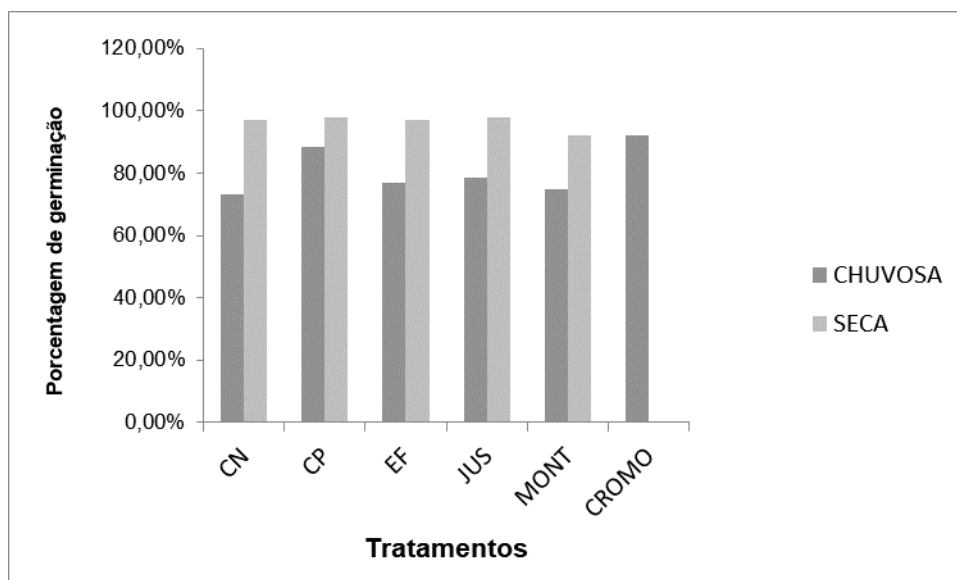
Santa Bárbara d'Oeste 2019	Temperatura média (°C)		Precipitação (mm)
	mínima	máxima	
Janeiro	21,34	33,96	151,38
Fevereiro	20,2	30,9	114,31
Março	19,9	30,8	198,1
Abril	18,9	30,7	129,7
Maio	16,4	28,2	42,4
Junho	13,9	27,3	13,9
Julho	11,2	26,3	64,5
Agosto	13,2	27,5	3,05
Setembro	16,8	30,8	45,98
Outubro	18,96	33,43	80,77
Novembro	19,2	31,2	206,75
Dezembro	19,9	30,9	196,1

Fonte: Portal Agrometeorológico e Hidrológico do Estado de São Paulo (CIAGRO).

4.1 *Lactuca sativa*.

Os resultados da análise de índice de germinação, observados para todos os ensaios realizados, não se apresentaram estatisticamente diferentes dos resultados do controle negativo, para ambas as estações (chuvosa e seca), demonstrando que as amostras avaliadas não apresentaram fitotoxicidade, para esse parâmetro de análise. O gráfico 1 corresponde aos resultados obtidos para esse parâmetro.

Gráfico 1 - Porcentagem de germinação, após exposição de sementes de *Lactuca sativa* a amostra do efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE), a amostras de águas do Ribeirão dos Toledos, coletadas a jusante e montante do lançamento do efluente da ETE para as estações chuvosa e seca, e ao efluente contendo cromo (apenas para a estação chuvosa).



CN: Controle negativo; CP: controle positivo; EF: efluente da ETE; JUS: amostra coletada a jusante do descarte da ETE; MONT: amostra coletada a montante do descarte da ETE; CROMO: efluente diluído (1:150) da empresa, que continha altos índices de cromo.

Outro parâmetro analisado foi o de crescimento da radicular/hipocótilo que constituem importantes marcadores nas avaliações de toxicidade ambiental. Esses parâmetros podem estar relacionados com alterações do índice mitótico dos meristemas apicais radiculares (PEREIRA et al., 2019).

Pelos resultados dos testes de crescimento da radícula/hipocótilo, realizados com *L. sativa*, pode-se observar que todas as amostras coletadas no período chuvoso não apresentaram resultados estatisticamente diferentes em relação ao controle negativo, com exceção do efluente da empresa contaminado com cromo (Tabela 2), cujo comprimento radicular foi inferior a 0,5 cm, não sendo possível a mensuração desta estrutura vegetal. Pelos resultados do CP, pode comprovar que o organismo respondeu a ação tóxica da substância, comprovando assim a sua adequação ao teste realizado (Figura 6). Já, com relação aos testes de crescimento da radícula/hipocótilo, realizados com amostras coletadas no período seco, foi observado uma diminuição estatisticamente significativa desses parâmetros para o efluente que continha cromo, para a amostra do efluente da ETE e para a amostra coletada a jusante do lançamento do efluente da ETE (Tabela 2).

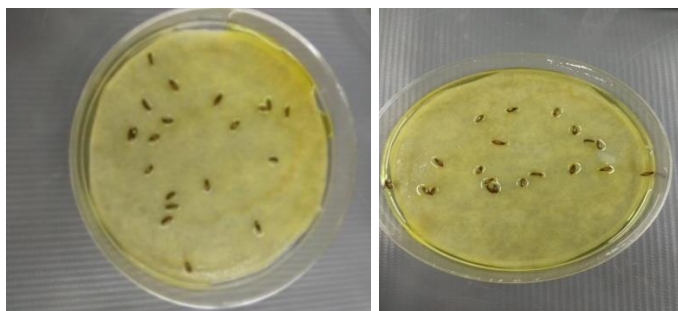
Tabela 2: Fitotoxicidade observada em sementes de *Lactuca sativa* submetidas à germinação em amostras de CN, CP, efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE), a amostras de águas do Ribeirão dos Toledos, coletadas a jusante e montante do lançamento do efluente da ETE para as estações chuvosa e seca, e ao efluente contendo cromo (apenas para a estação chuvosa).

Amostras	Período			
	Chuvoso		Seco	
	Hipocótilo (mm)	Radícula (mm)	Hipocótilo (mm)	Radícula (mm)
CN	21,26 ± 1,63	23,46 ± 5,59	19,76 ± 0,48	27,95 ± 5,73
CP	0*	0*	0*	0*
Efluente da ETE	30,34 ± 1,87	26,23 ± 2,24	15,47 ± 1,29	17,27 ± 2,11 *
Jusante	26,96 ± 1,85	30,85 ± 1,12	21,2 ± 1,07	11,41 ± 0,38 *
Montante	25,58 ± 1,20	30,6 ± 1,47	23,68 ± 0,77	33,73 ± 2,14
Efluente com cromo	0*	0*	-	-

*Estatisticamente significativo ($p < 0,05$). CN: Controle Negativo; CP: Controle Positivo; -: parâmetros não avaliados pois o efluente da empresa contendo cromo foi enviado apenas no mês de maio.

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 6 - Germinação das sementes de *L. sativa*, referente ao tratamento realizado com o efluente industrial diluído, que estava contaminado com cromo.



Fonte: Elaborada pela autora

No presente estudo não foi observado resultados fitotóxicos, relacionados aos ensaios de alongamento de radícula/hipocótilo, para a estação chuvosa, tanto para as amostras de efluente da ETE como para as amostras coletadas a montante e jusante do descarte do efluente, demonstrando que o tratamento da ETE Toledos I foi eficiente na eliminação das substâncias com potenciais fitotóxicos. Segundo Rouleau et al. (1997), eventos de chuva intensa podem levar a uma diluição significativa dos poluentes presentes em águas residuais. O que pode estar relacionado com a ausência de fitotoxicidade das nossas amostras. Um estudo

realizado por Cunha (2011) avaliou a germinação e crescimento das raízes do organismo *L. sativa* submetido a efluentes de estação de tratamento industrial. No estudo citado, o autor conclui, pelos resultados de boa taxa de crescimento das raízes e de germinação de sementes, que o tratamento realizado pela empresa foi eficaz para a remoção de compostos fitotóxicos do efluente.

Os ensaios de alongamento radicular/hipocótilo, realizados na estação seca, mostraram que houve uma diminuição significativa no crescimento das radículas para os tratamentos com o efluente da ETE e com a amostra coletada no Ribeirão dos Toledo, a jusante do descarte do efluente da estação de tratamento. Esses resultados podem estar relacionados à uma alta carga de contaminação química das águas residuais, que não foram efetivamente removidas no tratamento da ETE. O ponto a jusante, além de sofrer a influência direta do efluente da ETE, também sofreu pela baixa vazão característica do período, que comprometeu ainda mais a qualidade das suas águas. Essa hipótese pode ser justificada pelos valores expressos na tabela 2, onde a média do comprimento da radícula do ponto a jusante foi menor que a do efluente da ETE. Os resultados também demonstram que a toxicidade da amostra coletada a jusante do descarte do efluente também pode estar relacionada à interferentes da área urbana que interagiram de maneira sinérgica com os contaminantes presentes no efluente, causando essa diminuição do crescimento das radículas de *L. sativa*.

O efluente da empresa contendo cromo, mesmo diluído, inibiu o crescimento do hipocótilo e da radícula do bioindicador *L. sativa*, não sendo, então, possível a avaliação do crescimento desses biomarcadores. Estudos realizados por Chang et al (1992) apresentam resultados de fitotoxicidade do cromo e de outros metais sobre o crescimento da raiz de milho. Além disso, o estudo demonstrou a importância do fator acumulativo do cromo, demonstrando que as lesões nas plantas, causadas pelo Cr, aumenta, proporcionalmente, com a concentração do metal. Em nosso estudo, observamos que, embora tenha havido germinação, o crescimento da radícula e hipocótilo ainda ficou comprometido. Isso demonstra que o nível de cromo presente no efluente, mesmo após a intensa diluição, só foi suficiente para a indução da germinação das sementes do vegetal.

Alguns autores (YU et al, 2017; YU et al, 2018) citam que as plantas possuem estratégias de compartimentalização e acúmulo de alguns metais na parede celular, partes aéreas e na raiz, o que pode minimizar a fitotoxicidade desses elementos.

Entretanto, esse processo de acumulação de metais pode afetar o desenvolvimento da planta (MOREIRA, 2018). No presente estudo, sementes de *L. sativa*, submetidas ao efluente contendo cromo, apresentaram desenvolvimento das raízes e hipocótilo afetados, provavelmente devido a ação fitotóxica deste metal.

4.2 Ensaio com *Allium cepa*.

Foram realizadas análises de IM das células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, cujas sementes foram expostas às amostras de efluente tratado da ETE Toledos I e das águas coletadas no Ribeirão dos Toledos, a montante e a jusante do lançamento de efluente da ETE, para os períodos seco e chuvoso. Também foi avaliado por este bioindicador o efluente de uma empresa contaminado com cromo, que foi descartado no sistema coletor de águas residuais do município de Santa Bárbara D'Oeste. Esse parâmetro de avaliação permite estimar se os compostos presentes no efluente induzem alterações no ciclo celular, que possam ocasionar efeitos adversos aos organismos. O aumento do IM pode estar relacionado com o aparecimento de neoplasias, enquanto a sua redução pode levar a prejuízos no desenvolvimento dos organismos (MATSUMOTO, 2004).

Para o parâmetro de IM, referente a coleta da estação chuvosa, foi observado um aumento significativo desse índice para a amostra coletada a jusante do lançamento do efluente da ETE (Tabela 3). Como esse efeito não foi encontrado na amostra de efluente, pode-se inferir que a presença de substâncias citotóxicas provavelmente esteja relacionada à mistura complexa, formada pela associação das substâncias já presentes no rio com as emissões da área urbana, uma vez que esse ponto se encontra dentro da região urbana de Santa Barbara d'Oeste. Esse resultado também pode ser reflexo de poluição difusa, derivada de um possível descarte de efluentes clandestinos, próximo à região da coleta. Sendo assim, o resultado pode tratar-se de um evento pontual, uma vez que o resultado citotóxico não foi observado no efluente da ETE e nem nas amostras coletadas no período seco.

De acordo com Sperling (1996), os principais agentes indutores de toxicidade aquática, observada por ensaios com plantas, são os compostos inorgânicos dissolvidos, como alguns íons ou metais. Estudos realizados por Hoshina (2005) demonstraram que sementes de *Allium cepa*, submetidas a amostras de águas

coletadas em pontos com alta concentração de íons dissolvidos, apresentaram efeitos citotóxicos nas suas células meristemáticas. Smaka-Kinl et al. (1996) também observaram que a diminuição do índice mitótico (IM) pode ser indicativo da presença de substâncias citotóxicas nas amostras de águas.

Já, com relação ao efluente da empresa que contém cromo, foram observados resultados de IM estatisticamente diferentes do CN. Como pode ser observado na tabela 3, houve uma redução no IM das células meristemáticas de *A. cepa* exposto a esse tratamento. Esses resultados corroboram com os observados com o bioindicador *L. sativa*, o qual apresentou uma inibição do crescimento da radícula e do hipocótilo. O cromo, juntamente com outros metais tóxicos (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd e Pb), é considerado um dos principais poluentes originado de atividades industriais e urbanas. O cromo existe na natureza em vários estados, entretanto o cromo hexavalente (Cr VI) é o absorvido com maior facilidade pelas células, portanto, considerado a forma mais tóxica do metal (JAVED; USMANI, 2017). Dessa forma, esse metal pode causar diversos danos ao material genético dos seres vivos (MATSUMOTO et al., 2006). Os resultados referentes ao índice mitótico, obtidos nos ensaios realizados com o efluente industrial com altos teores de cromo, foram coincidentes com os descritos por Srivastava (2011). O autor observou, em raízes de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*), efeitos citotóxicos para o cromo, pela diminuição da taxa de divisão celular.

No que diz respeito a coleta das amostras realizada no período seco, para o parâmetro de IM, não foram observados resultados estatisticamente significativos em relação ao CN. Esses resultados mostram que o tratamento realizado pela ETE Toledos, neste período, foi satisfatório para a remoção de compostos citotóxicos do efluente.

Como citado anteriormente, foram observados resultados distintos para o parâmetro de citotoxicidade entre o período seco e o chuvoso. A citotoxicidade observada para o ponto a jusante do lançamento do efluente da ETE, no período chuvoso, pode ter ocorrido, devido a descartes clandestinos, realizados próximos à coleta, ou ainda, devido ao carreamento de contaminantes citotóxicos das margens para dentro do rio, promovido pelas intensas chuvas do período. Os resultados referentes a citotoxicidade de ambas as estações, para todos os tratamentos, estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3: Citotoxicidade observada em células meristemáticas de *A. cepa* submetidas à germinação em amostras de CN, CP, efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE), a amostras de águas do Ribeirão dos Toledos, coletadas a jusante e montante do lançamento do efluente da ETE para as estações chuvosa e seca, e ao efluente contendo cromo (apenas na estação chuvosa).

Amostras	CITOTOXICIDADE	
	Período	
	Chuvoso	Seco
CN	13,76 ± 4,22	26,95 ± 8,17
CP	16,72 ± 5,07	24,87 ± 10,59
Efluente	12,26 ± 6,29	19,26 ± 5,25
Jusante	19,87 ± 3,81*	24,11 ± 6,19
Montante	15,01 ± 5,40	20,28 ± 8,15
Efluente com cromo	1,91 ± 4,77*	-

*Estatisticamente significativo ($p < 0,05$). CN: Controle Negativo; CP: Controle Positivo; -: parâmetros não avaliados pois o efluente da empresa contendo cromo foi enviado apenas no mês de maio. Fonte: Elaborado pela autora.

A avaliação do potencial genotóxicos das amostras do efluente tratado da ETE Toledos I e das águas do Ribeirão dos Toledos, coletadas a montante e jusante da emissão do efluente da ETE, foi realizada pelo ensaio de aberrações cromossômicas, em células meristemáticas de *A. cepa*. A detecção da genotoxicidade das amostras foi estimada pela avaliação das anormalidades cromossômicas presentes nessas células, pós exposição das sementes às amostras estudadas, como recomendado por Leme e Marin-Morales (2009). Com relação a esse parâmetro, não foram observados resultados estatisticamente significativos para as amostras do efluente da ETE e das águas do Ribeirão dos Toledos, em relação aos do CN, para ambas os períodos de coleta. Por esses resultados, podemos inferir que o tratamento por lodo ativado com aeração prolongada, realizado pela ETE Toledos I, foi eficiente para a remoção de compostos genotóxicos do efluente.

As amostras de efluente da empresa contendo cromo também não apresentaram resultados genotóxicos para o organismo teste *A. cepa*. De acordo com a literatura, o cromo também é um agente genotóxico, como pode ser observado nos experimentos realizados por Costa et. al (2016), o qual avaliou o crescimento de raízes e o ciclo celular do meristema *A. cepa* tratados com Cr (VI). Os autores observaram diversas anomalias mitóticas nas menores concentrações

testadas, entretanto a maior concentração de Cr (VI) inibiu a divisão celular, o que impossibilitou a análise das anomalias mitóticas. Portanto, esse estudo corrobora com os resultados aqui apresentados, já que a amostra do efluente com cromo inibiu a divisão celular (avaliado pelo IM) e, conseqüentemente, o crescimento das raízes dos bioindicadores utilizados no presente trabalho, o que impediu a realização do teste. Os resultados referentes a genotoxicidade de ambas as estações, para todos os tratamentos, estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4: Genotoxicidade observada em células meristemáticas de *A. cepa* submetidas à germinação em amostras de CN, CP, do efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE), a amostras de águas do Ribeirão dos Toledos, coletadas a jusante e montante do lançamento do efluente da ETE, e ao efluente contendo cromo (apenas para a estações chuvosa).

Amostras	GENOTOXICIDADE	
	Período	
	Chuvoso	Seco
CN	0	0,24 ± 0,44
CP	3,15 ± 2,36*	18,27 ± 9,26*
Efluente	0,41 ± 0,90	0,32 ± 0,63
Jusante	0,08 ± 0,28	0,40 ± 0,76
Montante	0,08 ± 0,29	0,24 ± 0,43
Efluente com cromo	1,21 ± 1,25	-

*Estatisticamente significativo ($p < 0,05$). CN: Controle Negativo; CP: Controle Positivo; -: parâmetros não avaliados pois o efluente da empresa contendo cromo foi enviado apenas no mês de maio. Fonte: Elaborado pela autora.

Para a análise dos efeitos mutagênicos do efluente tratado da ETE Toledos I e das águas coletadas a montante e jusante do descarte desse efluente no Ribeirão dos Toledos, foram contabilizadas as células meristemáticas de *Allium cepa* portadoras de MNs e quebras cromossômicas. Os resultados observados para esse parâmetro não foram estatisticamente significativos para nenhuma das amostras estudadas, quando comparadas ao CN, com exceção do efluente contendo cromo.

No estudo apresentado por Costa et al (2016), que avaliaram a toxicidade do cromo, foi observado mutagenicidade com alto índice de células com micronúcleo na interfase, o que corrobora com os nossos resultados, pois as células tiveram baixo índice mitótico. A maioria das células contabilizadas se encontravam na interfase. Dessa forma, a maioria dos micronúcleos observados estavam presentes também

nesta fase da divisão celular. Os resultados referentes a mutagenicidade de ambas as estações, para todos os tratamentos, estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5: Mutagenicidade observada em células meristemáticas de *A. cepa* submetidas à germinação em amostras de CN, CP, efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE), a amostras de águas do Ribeirão dos Toledos, coletadas a jusante e montante do lançamento do efluente da ETE, e ao efluente contendo cromo(apenas para a estações chuvosa).

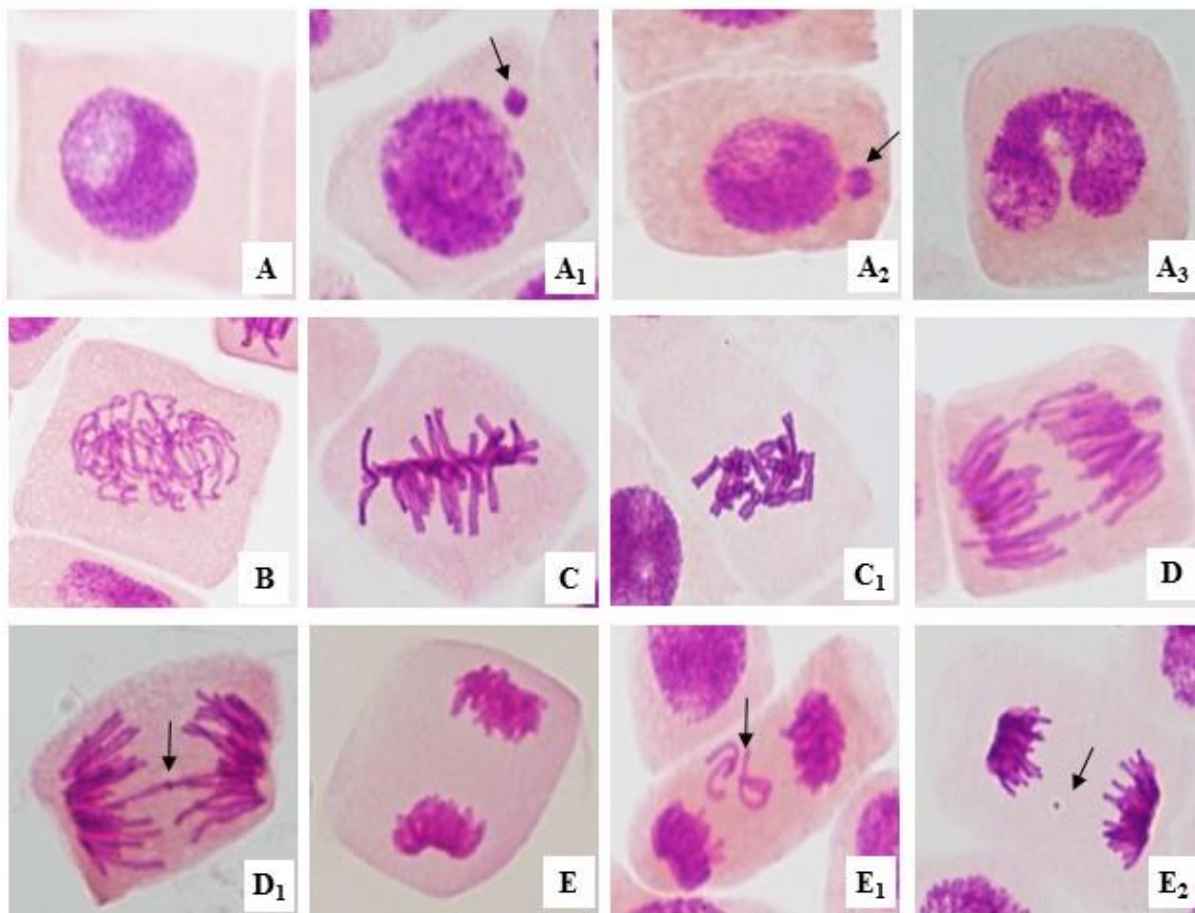
Amostras	MUTAGENICIDADE	
	Período	
	Chuvoso	Seco
CN	0,41 ± 0,66	0,08 ± 0,28
CP	8,85 ± 3,39*	7,09 ± 4,49*
Efluente	1,31 ± 1,21	0,48 ± 0,76
Jusante	0,66 ± 0,65	0,32 ± 0,48
Montante	0,41 ± 0,66	0,89 ± 0,97
Efluente com cromo	5,18 ± 4,73*	-

*Estatisticamente significativo ($p < 0,05$). CN: Controle Negativo; CP: Controle Positivo; -: parâmetros não avaliados pois o efluente da empresa contendo cromo foi enviado apenas no mês de maio. Fonte: Elaborado pela autora.

Os resultados obtidos nos ensaios de mutagenicidade do efluente da ETE Toledos I confirmam a eficiência do tratamento realizado por esta estação de tratamento, na remoção de compostos mutagênicos. Grisolia et al (2005) avaliaram a genotoxicidade de efluentes primário, secundário e terciário de uma estação municipal de tratamento de esgoto, por meio do bioensaio com *Allium cepa*. Os autores também comprovaram, pelos ensaios de AC, a eficiência do tratamento realizado pela ETE, corroborando os dados aqui apresentados. A imagem 7 traz as alterações observadas no ciclo celular, para todos os tratamentos realizados, incluindo os resultados dos testes controle.

Figura 7- Alterações no ciclo celular observadas em células meristemáticas de *A. cepa*, após serem germinadas com as amostras de controle negativo, controle positivo (trifuralina), efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE), amostras

de água coletadas a montante e jusante do lançamento do efluente da ETE no rio receptor e ao efluente contaminado com cromo.



A: Interfase normal; **A1:** Interfase com micronúcleo (seta); **A2:** Interfase com broto (seta); **A3:** Interfase com núcleo lobulado; **B:** Prófase normal; **C:** Metáfase normal; **C1:** C-metáfase; **D:** Anáfase normal; **D1:** Anáfase com ponte cromossômica (seta); **E:** Telófase normal; **E1:** Telófase com perdas cromossômicas (seta); **E2:** Telófase com quebra cromossômica (seta).

5. CONCLUSÃO

Com os resultados aqui apresentados, podemos inferir que, para o organismo teste *L. sativa*, com relação ao ensaio de germinação, não foram evidenciados resultados fitotóxicos para esse bioindicador, para nenhuma amostra testada, em nenhum dos períodos analisados (chuvoso e seco).

Os ensaios de alongamento da radícula e do hipocótilo, realizados no período chuvoso com *L. sativa*, mostraram que somente o efluente contaminado com Cr foi fitotóxico. Contudo, para o período seco, foi observada fitotoxicidade, pelo teste de alongamento da radícula, para o efluente da ETE, para a amostra coleta a jusante do lançamento do efluente da ETE no Ribeirão dos Toledos e para o efluente

contaminado com Cr. Esses resultados demonstraram que existem diferentes níveis de sensibilidade entre os parâmetros avaliados, o que comprova que a avaliação por diferentes biomarcadores é uma estratégia interessante para ser usada biomonitoramento ambiental. Também foi comprovado por esses testes que o efluente contaminado com cromo, mesmo após uma alta diluição, causou inibição do crescimento radicular e do hipocótilo de *L. sativa*.

Pelos ensaios de citotoxicidade realizados com o organismo teste *A. cepa*, foi possível observar, para o período chuvoso, um potencial citotóxico para o ponto a jusante do descarte do efluente no corpo hídrico. Por esses resultados, é possível inferir que o tratamento realizado pela ETE pode não ter sido eficiente para a remoção de compostos com características citotóxicas presentes no efluente, ou que também existe no local uma possível contaminação difusa, derivada de lançamentos de esgotos clandestinos, ou até um possível carreamento, pelas chuvas intensas do período, de contaminantes urbanos das margens do rio, para o corpo d'água. Para a amostra do efluente contendo cromo, foi observado citotoxicidade, com índices mitóticos notavelmente baixos.

Os resultados de genotoxicidade e mutagenicidade, avaliados pelos ensaios com células meristemáticas de *A. cepa*, mostraram que o tratamento realizado pela ETE Toledos I está sendo eficiente para a remoção de substâncias genotóxicas e mutagênicas do seu efluente. Foi observado por esses ensaios que o efluente contaminado com cromo apresentou um significativo potencial mutagênico.

Esse estudo comprovou a importância do monitoramento ambiental de rios que sofrem interferências de ETES, bem como de áreas urbanas de seu entorno.

Os organismos vegetais *L. sativa* e *A. cepa* demonstraram diferentes sensibilidades para a avaliação das amostras, reforçando a importância da avaliação com diferentes biomarcadores e bioindicadores para um melhor diagnóstico das condições ambientais. O presente estudo demonstrou ainda que a implementação dos estudos com bioensaios vegetais, complementam os dados de análises químicas, constituindo uma metodologia válida para a avaliação da real qualidade dos efluentes gerados nas ETES, bem como de ambientes aquáticos.

6. REFERÊNCIAS

- ABERA, S.; ZEYINUDIN A.; KEBEDE B.; DERIBEW A.; ALI S.; ZEMENE E. Bacteriological analysis of drinking water source. **Microbiology Research**, v. 5, n. 18, p. 2638-2641, 2011.
- ALBURQUEQUE, A.; MONTE, M.M. **Série GUIAS TÉCNICOS: Reutilização de Águas Residuais**. Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, Lisboa, n. 14, 2010.
- ALJALOOD, A. A. **Reuse of wastewater for irrigation in Saudi Arabia and its effect on soil and plant**. World Congress of Soil Science. Brisbane, Australia, 2010.
- ANA (Agência Nacional de Águas - Brasil). **Cuidando das águas: soluções para melhorar a qualidade dos recursos hídricos/Agência Nacional de Águas**. Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente, Brasília: ANA, 2011.
- ANA (Agência Nacional de Águas - Brasil). **Atlas Esgotos: Despoluição de Bacias Hidrográficas**. Brasília: ANA, 2017.
- ANDRADE, L.F.; DAVIDE, L.C.; GEDRAITE, L.S. The effect of cyanide compounds, fluorides and inorganic oxides present in spent pot Liner on germination and root tip cells of *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Lavras, v. 73, n. 4, p. 626-631, 2010.
- ARAGÃO, F.B.; ANDRADE-VIEIRA, L.F.; FERREIRA, A.; COSTA, A.V.; QUEIROZ, V.T.; PINHEIRO, P.F. Phytotoxic and cytotoxic effects of Eucalyptus essential oil on *Lactuca sativa* L. **Allelopathy Journal**, Lavras, v. 35, n. 2, p. 259-272, 2015.
- ARCHELA, E.; CARRARO, A.; FERNANDES, F.; BARROS, F. N. O.; ARCHELA, S. R. Considerações sobre a geração de efluentes líquidos em centros urbanos. **Geografia**, Londrina, v. 12, n. 1, p. 517-525, 2003.
- ASHBOLT, J, N. Microbial contamination of drinking water and disease outcomes in developing regions Toxicology. **Elsevier**, v. 198, p. 229–238, 2004.
- AZZOLINI, C, J.; FRINHANI, D. M. E.; FABRO, F. L. Águas industriais: controle físico-químico e biológico do efluente e medida da eficiência do tratamento na agroindústria. **Unoesc & Ciência – ACET**, Santa Catarina, v. 2, n. 1, 2012.
- BERTONCINI, E. I. Tratamento de Efluentes e Reúso da Água no Meio Agrícola. Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária. **Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 152-169, 2008.
- BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E.L.G.; MARIN - MORARES, M.A. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 826-833, 2011.

CARVALHO, A. R.; OLIVEIRA, M. V. C. **Princípios básicos do saneamento do meio**. 10 ed. São Paulo: Senac São Paulo, 2010. 400 p.

Portal do Governo do Estado de São Paulo, CIIAGRO – Centro Integrado de Informações agrometeorológicas, 2019. Disponível em: <http://www.ciiagro.sp.gov.br>. Acesso em: 10 de dezembro de 2020.

CHANG, A. C.; GRANATO, T. C.; PAGE, A. L. A. Methodology for Establishing Phytotoxicity Criteria for Chromium, Copper, Nickel, and Zinc in Agricultural Land Application of Municipal Sewage Sludges. **Journal of Environment Quality**, v. 21, n. 4, p. 521-536, 1992.

CHAUHAN, L.K.S.; SAVENA, P.M.; GUPTA, S.K. Cytogenetics effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *A. cepa*. **Environment and Experiment Botany**, v. 42, p. 181-189, 1999.

CHRISTOFIDIS, D. Água, ética, segurança alimentar e sustentabilidade ambiental. **Bahia Análise & Dados**, v. 13, p. 371-382, 2003.

CLAXTON, L. D.; HOUK, V. S.; HUGHES, T. J. Genotoxicity of industrial wastes and effluents. **Mutation Research**, v. 410, n. 3, p. 237-43, 1998.

COSTA, J. B. **Avaliação ecotoxicológica de efluente de tratamento secundário de esgoto sanitário após desinfecção com ácido peracético, cloro, ozônio e radiação ultravioleta**. 2007. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental). Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2007.

COSTA, P. H. M.; SILVA, C. C. P.; ROCHA, M. A. C. Efeitos do cromo hexavalente sobre o crescimento de raízes e ciclo celular no meristema da ponta da raiz de *Allium cepa*. **Biota Amazônica open jornal system**, v. 6, n. 3, p. 40-44, 2016.

CUNHA, M. B. **AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE DISTINTOS TIPOS DE EFLUENTES MEDIANTE ENSAIOS DE TOXICIDADE AGUDA UTILIZANDO ARTEMIA SALINA E LACTUCA SATIVA**. 2011. TCC (Graduação em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2011.

DAE- Departamento de Água e Esgoto Santa Bárbara d'Oeste. **Bacias Hidrográficas**. Disponível em: <http://www.daesbo.sp.gov.br/bacias/>. Acessado em 8 de novembro de 2018.

DAE- Departamento de Água e Esgoto Santa Bárbara d'Oeste. **Esgoto - ETE Toledos I**. Disponível em: <http://www.daesbo.sp.gov.br/bacias/>. Acessado em 9 de novembro de 2018.

DEARFIELD, K.L.; CIMINO, M.C.; MCCARROLL, N.E.; MAUER, I.; VALCOVIC, L.R. Genotoxicity risk assessment a proposed classification strategy. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 521, p. 121-135, 2002.

DIAS, V.G. **Radiação ultravioleta e ozônio aplicado como métodos alternativos de desinfecção de efluentes secundários de esgoto sanitário**. 2001. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento). Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2001.

FENT, K. Ecotoxicological effects at contaminated sites. **Toxicology**, v. 205, p. 223–240, 2004.

FENT, K. Ecotoxicology of organotin compounds. **Critical Reviews Toxicology**, v. 26, p.1–117,1996.

FERNANDES, T.C.C. **Investigação dos efeitos tóxicos, mutagênicos e genotóxicos do herbicida trifluralina, utilizando *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus* como sistemas-testes**. 2005. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, 2005.

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

FREITAS, A.S., CUNHA, I.M.F., ANDRADE-VIEIRA, L.F., TECHIO, V.H. Effect of SPL (Spent Pot Liner) and its main components on root growth, mitotic activity and phosphorylation of Histone H3 in *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Lavras, v. 124, p. 426-434, 2016.

GIORGETTI, L.; TALOUIZTE, H.; MERZOUKI, M.; CALTAVUTURO, L.; GERI, C.; FRASSINETTI, S. Genotoxicity evaluation of effluents from textile industries of the region Fez-Boulmane, Morocco: A case study. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 2275–2283, 2011.

GRANT WF. Chromosome aberrations assay in A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene- Tox Programme. **Mutation Research**, v. 99, p. 273-291,1982.

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

GRANT, W. F. Higher plant assays for the detection of genotoxicity in air polluted environments. **Ecosystem Health**, v. 4, n. 4, p. 210-229, 1998.

GRISOLIA, K. C.; OLIVEIRA, B. B. A.; BONFIM, H.; KLAUTAU-GUIMARÃES, N. M. Genotoxicity evaluation of domestic sewage in a municipal wastewater treatment plant. **Genetics and Molecular Biology**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 334-338, 2005.

HOSHINA, Márcia Miyuki. **Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de efluentes de refinaria de petróleo, por meio dos sistemas testes de *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus***. 2005. Dissertação (mestrado em

Biologia Celular e Molecular) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, 2005.

ISO- International Organization for Standardization. Soil Quality-determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora. **Part 2: Effects of Chemicals on the Emergence of Higher Plants**, Geneva, Switzerland (ISSO 11269-2), 1995.

JAVED, M.; USMANI, N. An overview of the adverse effects of heavy metal contamination on fish health. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 89, n. 2, 389–403, 2017.

JÚNIOR, G.C.S. **Pós-tratamento e desinfecção de efluentes de reatores UASB e de lagoas de estabilização visando ao uso agrícola**. 2012. Dissertação (Doutorado em Engenharia Civil) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

KHAN, N.; HUSSAIN, S. T.; SABOOR A.; JAMILA N.; KIM, K. S. Physiochemical investigation of the drinking water sources from Mardan, Khyber Pakhtunkhwa. **International Journal of Physical Sciences**, Pakistan, v. 8, n. 33, p. 1661- 1671, 2013.

KÚRAS, M.; NOWAKOWSKA, J.; SLIWINSKA, E.; PILARSKI, R.; ILASZ, R.; TYKARSKA, T.; GULEWICZ, K. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium test* induced by barck water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd) DC. **Chemosphere**, Oxford, v. 107, p. 211-221, 2006.

LAZAROVA, V.; SAVOYE, P.; JANEX, M. L.; BLATCHLEY, E. R.; POMMEPUY, M. Advanced wastewater disinfection technologies: state of the art and perspectives. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 4/5, p. 203-213, 1999.

LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 682, p. 71–81, 2009.

LÉO, L.F.R. **Investigação da Toxicidade, Tratabilidade e formação de subprodutos tóxicos em efluentes clorados de lagos de estabilização com e sem pós-tratamento**. 2008. Dissertação (Doutorado em Engenharia Hidráulica) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MARINHO, O. E. L.; TONETTI, L. A.; STEFANUTTI, R.; FILHO, C. B. Application of Reclaimed Wastewater in the Irrigation of Rosebushes. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 224, n. 1669, 2013.

MATSUMOTO, S. T.; MARIN-MORALES, M.A. Mutagenic Potential Evaluation of the Water of a River That Receives Tannery Effluent Using the *Allium cepa* Test System. **Cytologia**, v. 69, n. 4, p. 399-408, 2004.

MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTI, M. I. A.; DIAS, A. L.; FONSECA, I. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 1, p. 148-158, 2006.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering. Treatment, disposal, and reuse.** 3 ed. Singapore: McGraw-Hill, Inc. International Edition, 1991. 1334p.

MOREIRA, I. N. **Caracterização da acumulação de elementos potencialmente tóxicos em alface (*Lactuca sativa* L.).** 2018. Tese (Engenharia Agrônômica) - Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa.

OECD **Guidline for test testing of chemicals proposals for Updating Guidline 208.** TG/Administrators/Jukka/Plant tests/208, 2003.

OLIVI, P.; COSTA, R. C.; BOTTA, M. R. C.; ESPINDOLA, L. G. E. A Toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

PALMIERI, M. J.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; CAMPOS, J. M.; DOS SANTOS, G. L.; DAVIDE, L. C. Cytotoxicity of Spent Pot Liner on *Allium cepa* root tip cells: A comparative analysis in meristematic cell type on toxicity bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Lavras, v. 9, n. 133, p. 442-447, 2016.

PARK, S. Y.; CHOI, J. Cytotoxicity, genotoxicity and ecotoxicity assay using human cell and environmental species for the screening of the risk from pollutant exposure. **Environment International**, v. 33, n. 6, p. 817–822, 2007

PEREIRA, P. M. et al. **Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular.** Revista Agro ambiental online, v. 7, n. 1, p. 36-43, 2013. Disponível em: <http://www.agroambiente.ufrr.br>. Acesso em: 8 agosto 2019.

Portal do Governo do Estado de São Paulo, CIIAGRO – Centro Integrado de Informações agrometereológicas, 2019.

PROSAB – Rede Cooperativa de Pesquisas. **Reúso das águas de esgoto sanitário, inclusive desenvolvimento de tecnologias de tratamento para esse fim: Tratamento e Utilização de Esgotos Sanitários.** Recife, 2006.

RAJASULOCHANA, P.; PREETHY, V. Comparison on efficiency of various techniques in treatment of waste and sewage water – A comprehensive review. **Resource-Efficient Technologies**, v. 2, p. 175-184, 2016.

Relatório Mundial das Nações Unidas sobre Desenvolvimento dos Recursos Hídricos, 2016.

RELATÓRIO MUNDIAL DAS NAÇÕES UNIDAS SOBRE DESENVOLVIMENTO DOS RECURSOS HÍDRICOS 2018. **SOLUÇÕES BASEADAS NA NATUREZA PARA A GESTÃO DA ÁGUA**, 2018.

ROULEAU, S.; LESSARD, P.; BELLEFLEUR, D. Behaviour of a small wastewater treatment Plant during rain events. *Can. J. Civ. Eng.* 24 (5), p.790-798, 1997.

SINGER, P. C. Humic substances as precursors for potentially harmful disinfection byproducts. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 9, p. 25-30, 1999.

SPERLING, M. V. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. ed. Minas Gerais: 1996.

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, p. 171–179, 1996.

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

SRINIVASAN, V.; LAMBIN, E. F.; GORELICK, S. M.; THOMPSON, B. H.; ROZELLE, S. The nature and causes of the global water crisis: Syndromes from a meta-analysis of coupled human-water studies. **Water resources Research**, v. 48, 2012.

SRIVASTAVA, S.; JAIN, R. In-situ monitoring of chromium cytotoxicity in sugarcane. **Journal of Environmental Biology**, v. 32, n. 6, p. 759-763, 2011.

TURKOGLU, S.; Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2035-2041, 2008.

United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO). **The United Nations World Water development Report**, 2003.

United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO). **The United Nations World Water development Report: Leaving no one behind**, 2019.

UNITED NATIONS EDUCATIONAL, SCIENTIFIC AND CULTURAL ORGANIZATION - UNESCO. **Water for a sustainable world. Paris, 2015**. Disponível em: <http://unesdoc.unesco.org/images/0023/002318/231823E.pdf>. Acesso em: 21 out. 2018.

United States of Environmental Protection Agency (USEPA). **Ecological Effects Test Guidelines: Seed Germination/root Elongation Toxicity Test**, (OPPTS850.4200), 1996.

WHO 2003a. **Quantifying selected major risks to health**. The World Health Report, 2002. World Health Organization, Geneva.

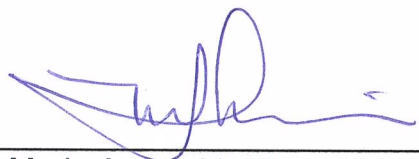
YU, X. Z.; FENG, Y. X.; LIANG, Y. P. Kinetics of phyto-accumulation of hexavalent and trivalent chromium in rice seedlings. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 128, p. 72–77, 2018.

YU, X. Z.; LIN, Y. J.; FAN, W. J.; LU, M. R. The role of exogenous proline in amelioration of lipid peroxidation in rice seedlings exposed to Cr(VI). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 123, p. 106-112, 2017.

ZAGATTO P. A; BARTOLETTI E. (EDS). **ECOTOXICOLOGIA AQUÁTICA: PRINCÍPIOS E APLICAÇÕES**. 2 ED. RIMA, SÃO CARLOS, 2008.

GABRIELLY CRISTINE MARTINS

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE EFLUENTES DE ESTAÇÃO DE
TRATAMENTO DE ESGOTO DA CIDADE DE SANTA BÁRBARA
D'OESTE



Maria Aparecida Marin Morales
(Orientadora)



Laís Roberta Deroldo Sommaggio
(Co-orientadora)



Gabrielly Cristine Martins