

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**SANDRIELI GONÇALVES**

**TOXICIDADE DE EFLUENTES TÊXTEIS EM CÉLULAS ANIMAIS E VEGETAIS  
PELO TESTE DE MICRONÚCLEOS E ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS  
NUCLEARES**

**DOIS VIZINHOS**

**2021**

**SANDRIELI GONÇALVES**

**TOXICIDADE DE EFLUENTES TÊXTEIS EM CÉLULAS ANIMAIS E VEGETAIS  
PELO TESTE DE MICRONÚCLEOS E ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS  
NUCLEARES**

**Toxicity of textile effluents in animal and plant cells by micronucleus test and  
nuclear morphological changes**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Nédia de Castilhos Ghisi.

Coorientador(a): Marina Wust Vasconcelos.

**DOIS VIZINHOS**

**2021**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**SANDRIELI GONÇALVES**

**TOXICIDADE DE EFLUENTES TÊXTEIS EM CÉLULAS ANIMAIS E VEGETAIS  
PELO TESTE DE MICRONÚCLEOS E ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS  
NUCLEARES**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentada como requisito para obtenção do título de  
Licenciado em Ciências Biológicas da Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 09 de dezembro de 2021

---

Betty Cristiane Kuhn

Doutorado em Genética e Melhoramento  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – campus Dois Vizinhos

---

Ana Paula da Silva

Mestrado em Agroecossistemas  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – campus Dois Vizinhos

---

Marina Wust Vasconcelos

Mestrado em Biotecnologia  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – campus Dois Vizinhos

**DOIS VIZINHOS**

**2021**

Dedico este trabalho à Deus e minha família,  
por toda força e apoio durante a trajetória.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus pela força, fé e saúde concedidas a mim para buscar realizar os objetivos que almejo.

À toda minha família pelo apoio, principalmente aos meus pais por serem meu alicerce e incentivo, por não medirem esforços para sempre me proporcionar o melhor possível. Obrigada por acreditarem no meu potencial, nos meus sonhos e por todo o amor e reconhecimento.

As amizades feitas durante o curso, estas que fizeram desta trajetória mais leve e descontraída, proporcionando a criação de verdadeiros laços afetivos. Em especial, agradeço aos meus colegas de turma e amigos por sempre estarem ao meu lado.

Também sou grata a todo grupo de pesquisa ECOTOXIGEN, que me auxiliaram e contribuíram durante os experimentos.

Agradeço de maneira especial a todos os professores que passaram pela minha vida e me inspiraram, desde a educação infantil até a graduação, certamente todos fizeram a diferença na minha história acadêmica.

Desta forma, não poderia deixar de expressar minha admiração e agradecer carinhosamente a minha orientadora Professora Doutora Nédia de Castilhos Ghisi por ter me recebido e aceitado me orientar. Desde então, não mede esforços para me ajudar em todas as etapas necessárias, sempre com muita compreensão e paciência me transpassando muito conhecimento e calma.

Da mesma maneira, agradeço imensamente a mestra Marina Wust Vasconcelos, minha coorientadora, por ter aceito fazer parte deste projeto, e assim como a professora Nédia, sempre está pronta para sanar as minhas dúvidas e me auxiliar da melhor maneira possível. Certamente o auxílio e incentivo de vocês fazem toda a diferença para mim, só tenho a agradecer por todos os conhecimentos compartilhados.

Por fim, agradeço a UTFPR- DV pelos recursos destinados à minha pesquisa pelo edital nº 24/2020 – COBIODV/DIRGRAD-DV/DIRGE-DV e ao Laboratório de Análises Biológicas e Biologia Molecular (BioMol) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos pelas análises realizadas.

Nothing in Biology Makes Sense except in  
the Light of Evolution (DOBZHANSKY, 1973).

## RESUMO

A indústria têxtil do vestuário e artefatos de tecidos é um dos setores que mais geram empregos no Brasil. Este setor industrial utiliza de muitos recursos hídricos durante o processamento de seus produtos. Desta forma, acaba gerando como resíduo o efluente têxtil que possui muitas substâncias químicas, como os corantes têxteis, responsáveis pela coloração da fibra e metais pesados, como o chumbo, cádmio e mercúrio. O presente estudo buscou analisar a toxicidade do efluente bruto e tratado coletado em uma indústria de jeans. Foram utilizados organismos vegetais e animais como bioindicadores para realizar a avaliação toxicológica. As espécies usadas foram *Allium cepa* (cebola) e *Rhamdia quelen* (jundiá). Nos bioensaios as espécies foram expostas a cinco diluições diferentes (10%, 7,5%, 5,0%, 2,5% e 1,25%) para o efluente bruto e o tratado, o controle negativo para *R. quelen* foi a água disponível na piscicultura, e para *A. cepa* foi a água reconstituída. Neste último, a substância MetilMetanoSulfonato foi o controle positivo. As análises microscópicas para *R. quelen* foram realizadas considerando o número de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares em eritrócitos, para *A. cepa* também foi contabilizado as células em intérfase e divisão mitótica com ou sem anormalidades no núcleo. Os resultados obtidos demonstraram que tanto o efluente bruto, quanto o tratado foram tóxicos, mesmo as análises com *R. quelen* não apresentando diferença significativa, danos genéticos foram observados. Desta forma, os resultados deste estudo demonstram a necessidade emergente de pesquisas acerca de tratamentos eficientes para efluentes têxteis, pois ao ser descartado em ambientes aquáticos pode causar danos irreparáveis sobre a biota aquática e sua biodiversidade.

**Palavras-chave:** indústria têxtil; indicadores biológicos; mutagenicidade; citogenotoxicidade.

## ABSTRACT

The textile industry of clothing and fabric artifacts is one of the sectors that generate the most jobs in Brazil. This industrial sector uses a lot of water resources during the processing of its products. In this way, it ends up generating as waste the textile effluent that has many chemical substances, such as textile dyes, responsible for the coloring of the fiber and heavy metals, such as lead, cadmium and mercury. The present study sought to analyze the toxicity of raw and treated effluent collected in a jeans industry. Plant and animal organisms were used as bioindicators to carry out the toxicological evaluation. The species used were *Allium cepa* (onion) and *Rhamdia quelen* (jundiá). In the bioassays, the species were exposed to five different dilutions (10%, 7.5%, 5.0%, 2.5% and 1.25%) for the raw and treated effluent, the negative control for *R. quelen* was the water available in the fish farm, and for *A. cepa* it was the reconstituted water. In the latter, the substance Methylmethane Sulfonate was the positive control. Microscopic analyzes for *R. quelen* were performed considering the number of micronuclei and nuclear morphological changes in erythrocytes, for *A. cepa* cells in interphase and mitotic division with or without abnormalities in the nucleus were also counted. The results obtained showed that both the raw and the treated effluent were toxic, even the analyzes with *R. quelen* did not show any significant difference, genetic damages were observed. Thus, the results of this study demonstrate the emerging need for research on efficient treatments for textile effluents, as when discarded in aquatic environments, it can cause irreparable damage to aquatic biota and its biodiversity.

**Keywords:** textile industry; biological indicators; mutagenicity; cytogenotoxicity.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>12</b>
2.1 Objetivo principal	12
2.2 Objetivos específicos	12
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>13</b>
3.1 A indústria têxtil e a geração de efluentes	13
3.2 <i>Allium cepa</i> L. como bioindicador de toxicidade	14
3.3 <i>Rhamdia quelen</i> como organismo bioindicador	15
3.4 Teste de Micronúcleo e Alterações Morfológicas Nucleares	16
<b>4 METODOLOGIA</b>	<b>19</b>
4.1 Espécies Bioindicadoras	19
4.2 Efluente têxtil	19
4.3 Controle Positivo	20
4.4 Bioensaios	20
4.4.1 Bioensaio com <i>Allium cepa</i>	20
4.4.2 Bioensaio com <i>Rhamdia quelen</i>	22
4.5 Elaboração e análise das lâminas Análises Estatísticas	23
4.5.1 <i>Allium cepa</i>	23
4.5.2 <i>Rhamdia quelen</i>	25
4.6 Análises Estatísticas	26
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>27</b>
5.1 <i>Allium cepa</i>	27
5.2 <i>Rhamdia quelen</i>	35
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>41</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>42</b>
<b>ANEXO 1</b>	<b>49</b>

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a indústria têxtil do vestuário e artefatos de tecidos é um subsetor que faz parte do setor denominado Indústria de Transformação (ABIT, 2017). A indústria têxtil é um setor muito tradicional, sendo implementado há aproximadamente 200 anos (ABIT, 2021). Desde então, o país se tornou um grande produtor global e referência em vários segmentos da moda. Atualmente, o Brasil é a maior cadeia têxtil completa do ocidente (ABIT, 2020). Desta maneira, este setor tem muita influência na conjuntura socioeconômica do país, segundo dados do Ministério do Trabalho e Emprego, este subsetor é o segundo que mais realiza admissões no país dentro da indústria de transformação, contando com mais de 1,5 milhão de empregados diretos (ABIT, 2021; EMPREGO, 2019).

Desse modo, um dos produtos gerados por este setor industrial é o efluente têxtil, caracterizado por conter substâncias contaminantes, como corantes da cor azul para tingir o jeans, detergentes, ácidos, oxidantes e metais pesados originados a partir dos processamentos realizados até a obtenção do produto têxtil final (HEMACHANDRA; PATHIRATNE, 2016). O tratamento inadequado deste efluente e posteriormente o seu descarte nos rios, tende a gerar poluição em corpos d'água, prejudicando as formas de vida ali presentes e conseqüentemente gerando um desequilíbrio na cadeia trófica através da bioacumulação (LALNUNHLIMI; VEENAGAYATHRI, 2016).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), estabelece sobre as condições e padrões de lançamentos de efluentes na resolução nº 430 de maio de 2011, o artigo 4 relata que para áreas marinhas, estuarinas e em lagos, a concentração do efluente no corpo receptor é estabelecida com base em estudo da dispersão física do efluente no corpo hídrico receptor (BRASIL, 2011). Sendo assim, a resolução considera no artigo 18 que o efluente não deverá conter ou causar efeito tóxico para os organismos aquáticos no corpo receptor. Ainda no primeiro parágrafo deste artigo, é destacado que os critérios de ecotoxicidade previstos devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos aceitos pelo órgão ambiental, realizados no efluente, utilizando organismos aquáticos de pelo menos dois níveis tróficos diferentes (BRASIL, 2011).

Conforme relatam Bastian e Rocco (2009), devido à alta geração de resíduos pela indústria têxtil, os efluentes líquidos tem sido alvo de estudos nos últimos anos

em razão da sua capacidade poluidora. Portanto, se faz necessário o desenvolvimento de novos tratamentos eficazes para estes efluentes, tratamentos que possuam caráter sustentável e rentável, a fim de diminuir o impacto ambiental no ecossistema.

Desta forma é recomendado o biomonitoramento, onde são feitos testes para avaliar a toxicidade em ambientes que podem estar sendo expostos a agentes contaminantes com potencial mutagênico (MA *et al.*, 1995). Dentre estes testes, o teste de *Allium* desenvolvido com a espécie vegetal *Allium cepa* (cebola comum) vem sendo bastante usado para realizar análises genotóxicas por meio das regiões meristemáticas, essas que proporcionam avaliações através do crescimento das radículas e pelas células em divisão celular (BAGATINI; CARLOS; TEDESCO, 2007).

Os peixes também são organismos muito utilizados como bioindicadores, destacando-se nesses o teste do micronúcleo (MN) e alterações morfológicas nucleares (ENAs). Esse teste se trata de uma técnica confiável e rápida, responsável por detectar a presença de substâncias genotóxicas provenientes da contaminação do ambiente em que a espécie vive (BUENO *et al.*, 2017; MARTINS; PAZ; BRENTANO, 2010). O peixe nativo *Rhamdia quelen* (jundiá), foi utilizado neste estudo por ser um organismo sensível a exposição de contaminantes e potencialmente um indicador modelo de toxicidade (LEITEMPERGER *et al.*, 2019). O jundiá vem sendo amplamente usado em estudos de exposição a poluentes, como metais pesados (ROCHA *et al.*, 2018; VICENTINI *et al.*, 2022), agroquímicos (BALDISSERA *et al.*, 2021; SEBEN *et al.*, 2021), fármacos (GOMES, M. F. *et al.*, 2021; PERUSSOLO *et al.*, 2019) e efluentes (BARRETO *et al.*, 2020; DA SILVA *et al.*, 2020). Essa espécie é propensa a sofrer biomagnificação e é bastante consumida pela população sul-americana, fato que causa preocupação considerando as relações dos níveis tróficos (LOSEKANN *et al.*, 2008; ROQUE, 2018).

A vista disso, neste trabalho foram realizados bioensaios para verificar a toxicidade do efluente têxtil de uma indústria de jeans, onde ambas as espécies foram expostas a diferentes diluições, tanto do efluente bruto quanto do tratado. As análises do teste *Allium* ocorreram a partir da contagem das radículas emitidas e da confecção de lâminas com a região meristemática. Para *Rhamdia quelen*, foi analisado considerando micronúcleos e alterações nucleares eritrocitárias.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo principal

Realizar a análise toxicológica de um efluente têxtil adquirido em uma indústria de jeans nas espécies *Allium cepa* (cebola comum) e *Rhamdia quelen* (peixe jundiá).

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a genotoxicidade do efluente têxtil bruto e após tratamento realizado pela empresa, através de análises macroscópicas e microscópicas pela emissão de radículas, divisão mitótica, anormalidades morfológicas nucleares e aberrações cromossômicas em *Allium cepa*, e os micronúcleos e alterações nucleares eritrocitárias em *Rhamdia quelen*.
- Verificar pelos testes de micronúcleos e alterações morfológicas nucleares se há relação entre a exposição ao efluente têxtil e a frequência de anormalidades nucleares;
- Averiguar pelos testes de toxicidade se o tratamento do efluente têxtil realizado pela empresa é eficiente, sendo capaz de eliminar substâncias que podem causar danos genéticos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 A indústria têxtil e a geração de efluentes

A indústria têxtil foi implantada no Brasil após a proclamação da independência, próximo ao período da primeira guerra mundial, mas foi nas últimas décadas, devido ao grande aumento populacional e a maior demanda da prática industrial, que o setor cresceu significativamente (HASSEMER, 2006). Neste contexto, é considerado um dos setores industriais que mais geram problemas ambientais (NATURE CLIMATE CHANGE, 2018). A poluição oriunda é evidenciada de várias formas, através de efluentes líquidos, emissões gasosas, resíduos sólidos, odores, ruídos e visual, visto que o fato das substâncias possuírem cor agrava mais a situação dos aquíferos (MORAES, 1999; KUNZ et al., 2002; DELLAMATRICE, 2005).

Atualmente, a indústria têxtil brasileira gera muitos empregos e possui um grande volume de produção e exportações, sendo de demasiada importância para a economia do país. Porém, os efluentes descartados podem gerar grandes impactos ambientais, dependendo de seu estado de degradação, dos sólidos e solutos e seu potencial tóxico (FUJITA; JORENTE, 2015; ALMEIDA; DILARRI; CORSO, 2016). O processo têxtil é um conjunto de várias operações, dividido em cinco etapas. A primeira etapa é o beneficiamento, onde são produzidas as fibras que serão utilizadas no decorrer do processo. A segunda etapa é a fiação e a terceira a tecelagem e malharia, na qual ocorre a produção do tecido. Posteriormente temos o acabamento, onde o tecido será tingido, amaciado e/ou estampado, e por fim ocorre a confecção (HASSEMER, 2006).

Grande parte do efluente gerado por essa indústria é originado na quarta etapa do processo (o acabamento) em que ocorre o tingimento, onde a fixação na fibra se dá por reações químicas pela insolubilização do corante ou derivados (GOMES DE MORAES; SANCHES FREIRE; DURÁN, 2000). Em diferentes etapas, como na fase de montagem, fixação e o processo de tingimento envolve etapas de lavagem em banhos correntes para que o excesso de corante seja retirado (GUARATINI; ZANONI, 2000). Este procedimento causa um dos grandes problemas ambientais da indústria têxtil, em que cerca de 15% da produção mundial de corantes é descartada, esse dado representa 1,20 toneladas por dia dessas substâncias no

meio ambiente (GUARATINI; ZANONI, 2000). Não foram encontrados dados atualizados sobre a quantidade de corantes descartada.

A maioria dos corantes encontrados nos efluentes oriundos da atividade têxtil são potencialmente tóxicos, carcinogênicos ou mutagênicos tanto para humanos quanto para outras formas de vida. O descarte inadequado dos efluentes no ambiente aquático leva ao desequilíbrio ecológico. A presença dos corantes na água impede a efetividade da atividade fotossintética, onde a luz solar não consegue alcançar as regiões mais profundas, prejudicando a qualidade da água e diminuindo a solubilidade do gás oxigênio, ocasionando uma toxicidade na fauna e flora aquática (LALNUNHLIMI; VEENAGAYATHRI, 2016).

Os autores Hemachandra e Pathiratne (2016) relatam que os corantes têxteis estão entre os maiores poluidores de corpos d'água, eles se encontram nos efluentes gerados pelos procedimentos da indústria têxtil, pode-se encontrar neste efluente outras substâncias químicas com alto teor de toxicidade, como os metais. No Brasil, segundo o Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, está estabelecido na Resolução N° 430, do ano de 2011, que altera e complementa a Resolução N° 357 de 2005, a atribuição da cobrança e fiscalização pelos órgãos estaduais responsáveis, desta forma, confere novos critérios de toxicidade permitidos para os efluentes industriais (BRASIL, 2011; ALMEIDA; DILARRI; CORSO, 2016). Países como os Estados Unidos, Canadá e a União Europeia apresentam mandatos regulatórios e legislações com abordagens de avaliações de efluentes mais rígidas que a do Brasil, onde são realizados testes de toxicidade aquática maior frequência, variando de acordo com a localização geográfica, no caso do Canadá, encontramos uma legislação vigorosa que exige testes agudos mensais e semanais com duas espécies de peixes (NORBERG-KING *et al.*, 2018).

### **3.2 *Allium cepa* L. como bioindicador de toxicidade**

Grant (1999), relata que as plantas superiores são reconhecidas e indicadas para mensurar a toxicidade de ambientes expostos a poluentes. A eficiência do sistema teste destes organismos, é demonstrada em bioensaios realizados para o monitoramento de agentes mutagênicos, através da exposição a substâncias químicas poluidoras (AMARAL *et al.*, 2007; BIANCHI, 2008). A cebola comum (*Allium cepa* L.) é uma planta superior sensível à presença de agentes contaminantes. As

suas raízes são a parte utilizada para realizar o teste biológico, pois ficam expostas no ambiente e possuem grande potencial para indicar genotoxicidade, citotoxicidade e mutagenicidade (CUCHIARA; BORGES; BOBROWSKI, 2012).

Conforme a autora Bianchi (2008), o teste *Allium cepa* foi desenvolvido no ano de 1938 por Levan, que através de seus estudos constatou que a colchicina causou distúrbios no fuso mitótico das células localizadas no meristema do ápice radicular da cebola. Desde então, o teste tem sido utilizado globalmente como referência em pesquisas de monitoramento ambiental e testes de toxicidade (IQBAL *et al.*, 2019). O teste *Allium* tem se mostrado cada vez mais viável para o biomonitoramento de contaminantes, trazendo diversas vantagens por ser um vegetal fácil de ser armazenado e encontrado. Este teste proporciona um bioensaio sensível, simples, rápido e com baixo custo, onde o bioindicador pode ser encontrado durante o ano todo (IQBAL *et al.*, 2019; LEME; MARIN-MORALES, 2009). A cebola possui um pequeno número de cromossomos ( $2n=16$ ) e as suas células estão constantemente em divisão, o seu desenvolvimento radicular é rápido e visível, evidenciando duas linhas de toxicidade respectivamente, parâmetros macroscópicos e microscópicos, este último se trata mais especificadamente, do índice mitótico e aberrações cromossômicas (MONARCA *et al.*, 2000; AMARAL *et al.*, 2007; LEME; MARIN-MORALES, 2009; BARBÉRIO *et al.*, 2009).

### **3.3 *Rhamdia quelen* como organismo bioindicador**

O *Rhamdia quelen*, popular jundiá ou peixe de couro (figura 1), é um teleósteo pertencente a Classe Actinopterygii, que pode atingir o tamanho de aproximadamente 35 cm. A sua distribuição ocorre da América do Sul a América Central, o jundiá possui hábitos noturnos e vive em uma profundidade de até 3 metros, onde se mistura com materiais depositados no fundo dos rios e se destaca pelos delicados movimentos de natação (FERRARO, 2009). Esta espécie é nativa do Brasil, se caracterizando pela facilidade em se habituar a diferentes temperaturas. O jundiá se adapta tanto a ambientes de clima frio, o qual predomina na região sul do país, quanto em épocas que o calor prevalece e a espécie apresenta grande desenvolvimento, mostrando a sua capacidade de resistência a modificações de temperatura (GHISI, 2010).

De acordo com Ferraro (2009), o *Rhamdia quelen* tem preferência alimentar por pequenos peixes, crustáceos e outros organismos que se encontram no

sedimento. Deste modo, conforme relata Roque (2018), eles se tornam suscetíveis a biomagnificação, fenômeno que causa o acúmulo progressivo de determinada substância no organismo, devido ao percurso desta substância na cadeia alimentar (MONTONE, 2015). Desta maneira, Losekann et al., (2008), destaca que a carne do jundiá é bastante consumida popularmente, pois é muito apreciada pela culinária argentina, uruguaia e brasileira. Isso causa grande preocupação devido aos riscos de contaminação por substâncias tóxicas, onde as pessoas estariam suscetíveis a contaminação através do consumo do animal (ROQUE, 2018). Esta espécie apresenta diversas vantagens ao ser utilizada como bioindicadora, pois é facilmente encontrada e adquirida em criadouros e demonstra grande sensibilidade à contaminantes, sendo eficiente aos testes abordados neste trabalho.

**Figura 1 - *Rhamdia quelen***



**Fonte: Autoria própria**

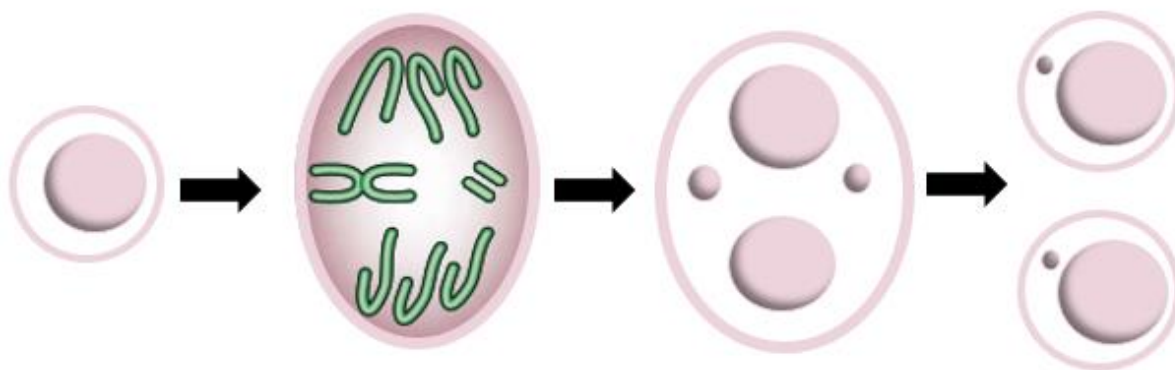
### **3.4 Teste de Micronúcleo e Alterações Morfológicas Nucleares**

De acordo com Roque (2018), o teste de micronúcleo inicialmente foi desenvolvido em 1973 por Heddle e em 1975 por Schmid, com o intuito de avaliar se a estrutura do DNA sofre ações de substâncias químicas. Os estudiosos usavam eritrócitos policromáticos retirados da medula óssea de camundongos, e posteriormente começaram a utilizar células de eritrócitos periféricos, eles buscavam por meio destes estudos assegurar a eficiência de novos produtos. O micronúcleo se



forma a partir de partes de cromossomos ou de cromossomos inteiros, que se quebram e se perdem durante a anáfase na divisão nuclear (figura 2) (FENECH, 2007). Neste caso, as fibras do fuso mitótico, não realizam o transporte das cromátides irmãs e dos fragmentos acêntricos ao polo oposto corretamente e esses ficam para trás. Posteriormente, após a telófase da mitose, os cromossomos que não apresentam dano são englobados pelos núcleos das células filhas normalmente, já os fragmentos que restaram ganham um envoltório nuclear e formam os micronúcleos (SCHMID, 1975).

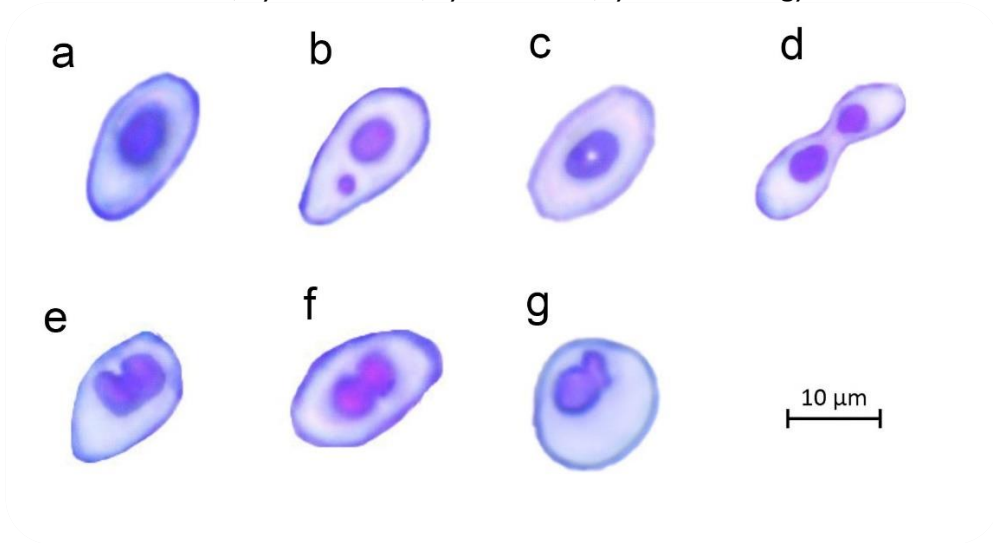
**Figura 2 - Micronúcleos formados a partir de um cromossomo inteiro e de fragmentos de cromossomos acêntricos**



Fonte: Adaptado (FENECH, 2007)

Segundo Fenech (2007), os micronúcleos ocorrem já na primeira divisão celular após a lesão ao DNA. Desta forma, os micronúcleos são ocasionados por danos no DNA provenientes de agentes físicos, químicos e biológicos com efeitos genotóxicos, e além de alterações no fuso mitótico são causadas por alterações como aneugênese e clastogênese (RÉGIS; PESENTI, 2015). As alterações morfológicas nucleares, se tratam de anomalias no núcleo causadas por problemas encontrados na lâmina celular durante a cariocinese (GHISI, 2010). Estas alterações nucleares apresentam diferentes formas (figura 3), onde as principais são: b) micronucleado, c) vacuolado, d) binucleado, e) entalhado, f) em bolha e g) lobado. A contabilização destas alterações complementa o teste do micronúcleo, pois são analisadas com relação a frequência que aparecem, e assim como os micronúcleos são ocasionadas pela ação de agentes genotóxicos (ROQUE, 2018).

Figura 3 – Eritrócitos periféricos da espécie *Rhamdia quelen*: a) normal, b) micronucleado, c) vacuolado, d) binucleado, e) entalhado, f) em bolha e g) lobado.



Fonte: Autoria própria

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Espécies Bioindicadoras

Os testes para verificar a toxicidade do efluente têxtil, foram realizados em uma espécie vegetal e uma animal, sendo: *Allium cepa* L. (cebola comum) e *Rhamdia quelen* (jundiá). Ambos os bioindicadores foram submetidos a testes de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade através do teste de micronúcleo, alterações morfológicas nucleares. No caso da cebola comum, também foram realizadas análises do índice mitótico e aberrações cromossômicas.

A espécie vegetal *A. cepa*, foi adquirida em um supermercado localizado na cidade de Dois Vizinhos – PR, onde foi adquirido cebolas da mesma variedade. A espécie nativa *R. quelen*, foi obtida em piscicultura comercial, os exemplares eram juvenis, de ambos os sexos e mesmo lote.

### 4.2 Efluente têxtil

O efluente testado foi cedido por uma indústria de produção de têxteis (figura 4), localizada no sudoeste do Paraná. Para resguardar todos os envolvidos optou-se, em comum acordo, em manter o sigilo do nome, razão social e CNPJ da empresa.

**Figura 4 - Tanques de tratamento do efluente têxtil, nas dependências da indústria cedente.**



**Fonte: Autoria própria**

O efluente têxtil utilizado passou por um tratamento físico, químico e biológico realizado pela própria empresa, e tanto o efluente tratado quanto o efluente bruto foram submetidos aos testes nas mesmas condições durante os bioensaios. As

diluições para o teste com o bioindicador vegetal foram realizadas em água reconstituída para a espécie animal foi utilizada a água disponível nas dependências da UNEPE piscicultura da UTFPR-DV. As diluições estabelecidas para ambos bioensaios foram de 10%, 7,5%, 5,0%, 2,5% e 1,25%. Para os testes com *Allium cepa* foram utilizados os controles negativo com água reconstituída e positivo com MetilMetanoSulfonato (MMS) diluído em água destilada a 10mg/L.

O efluente bruto apresentava forte coloração azul e odor desagradável devido a quantidade de resíduos presentes em sua composição. Já o efluente tratado, tinha odor menos marcante, mas ainda apresentava coloração azulada e resquícios de jeans. Para a realização dos testes de toxicidade foram realizadas diluições mencionadas anteriormente.

### **4.3 Controle Positivo**

O controle positivo foi utilizado para os testes com *Allium cepa*, se trata da substância Metil Metasulfonato (MMS) da marca Sigma-Aldrich®, ele foi diluído em água destilada a 10mg/L (DIAS *et al.*, 2021). De acordo com Beranek (1990), esta substância é bastante utilizada em estudos sobre os mecanismos de mutagenicidade e carcinogênese em organismos, isto porque se trata de um agente alquilante que possui habilidade de reagir diretamente com o DNA, alterando a sua sequência de bases nitrogenadas.

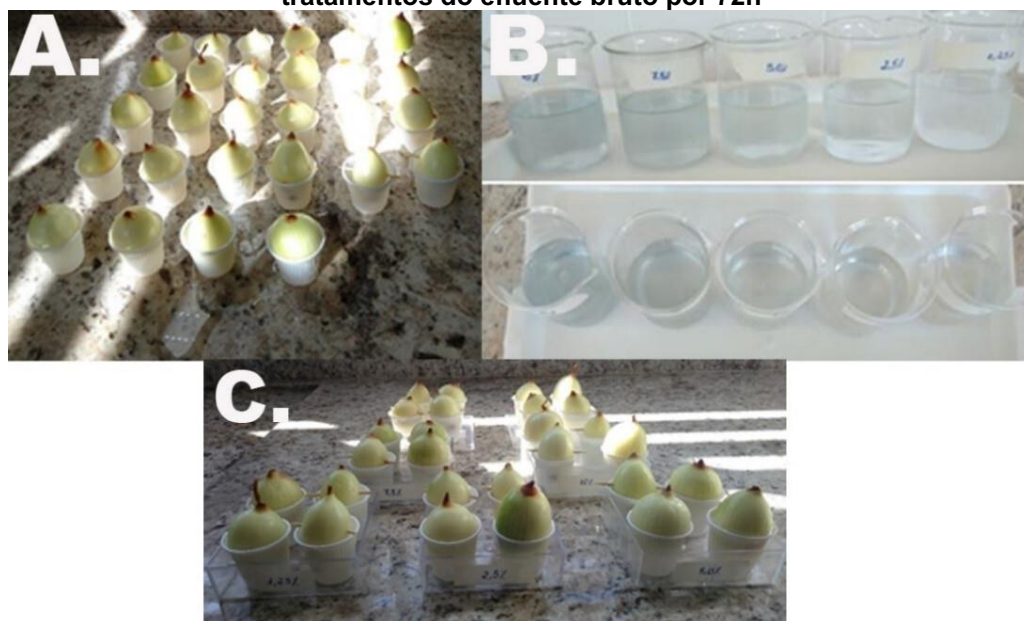
### **4.4 Bioensaios**

#### **4.4.1 Bioensaio com *Allium cepa***

O bioensaio com *A. cepa* foi realizado em duas etapas, primeira etapa (figura 5) e segunda etapa (figura 6), foram realizadas respectivamente com o efluente bruto e tratado utilizando as diluições de 10%, 7,5%, 5,0%, 2,5% e 1,25%. Em todas as etapas foram utilizados o controle positivo com MMS a 10% e negativo com água reconstituída. Os testes seguiram o protocolo estabelecido para bulbo com adaptações (BARBÉRIO, Agnes; VOLTOLINI; RIBEIRO, 2013a), onde foram utilizadas quatro réplicas para cada tratamento, igualmente para controle positivo e

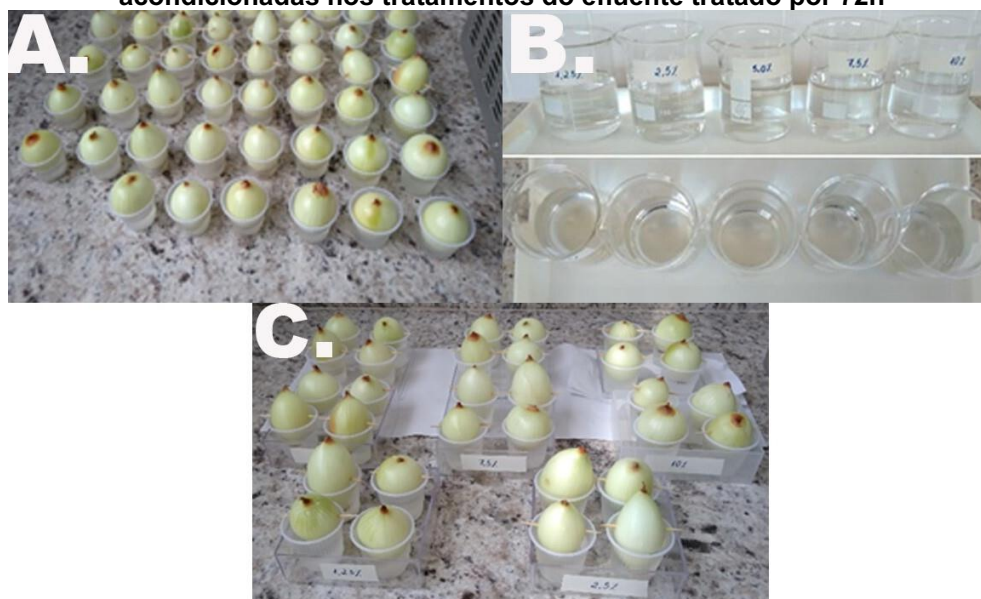
negativo. Inicialmente, as cebolas foram submetidas a indução inicial em água destilada, onde permaneceram por 24h em temperatura ambiente, após este período foram alocadas por mais 72h nos seus tratamentos.

**Figura 5 – Primeira etapa: A) Cebolas em indução inicial por 24h; B) Diluições dos tratamentos de 10%,7,5%, 5,0%, 2,5% e 1,25% da esquerda para direita; C) Cebolas alocadas nos tratamentos do efluente bruto por 72h**



Fonte: Autoria própria

**Figura 6 – Segunda etapa: (A) Cebolas em indução inicial por 24h; (B) Diluições dos tratamentos de 1,25%, 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10% da esquerda para a direita; (C) Cebolas acondicionadas nos tratamentos do efluente tratado por 72h**



Fonte: Autoria própria

Posteriormente, foi realizado o corte de todas as radículas emitidas de cada bulbo com o auxílio de uma tesoura e a contagem do número de raízes. Em seguida,

foram coletadas aleatoriamente 10 radículas de cada bulbo para serem medidas com um paquímetro digital. Após este procedimento, as radículas foram acondicionadas em frascos separados e identificados, sendo utilizado um frasco por bulbo, nestes frascos foi adicionado à solução fixadora Carnoy (3 partes de álcool para 1 parte de ácido acético glacial), onde as radículas permaneceram por um período de aproximadamente 24h sob temperatura ambiente, após este período foram acondicionadas em uma solução fixadora (Carnoy) recém preparada, na qual ficaram armazenadas na geladeira em temperatura de 4°C até a confecção das lâminas.

#### 4.4.2 Bioensaio com *Rhamdia quelen*

Este projeto foi previamente submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (CEUA-UTFPR), sob protocolo de nº 2019-27 (Anexo 1). Após serem adquiridos, os peixes foram levados a UNEPE piscicultura, onde inicialmente foram acondicionados a um banho em solução salina com sal comum (9%) por 20 minutos, da forma que indica Gomes et al., (2000), visando a diminuição do estresse causado pelo deslocamento e evitar doenças que podem acometer a espécie. Em seguida os animais foram aclimatados nas caixas de polietileno no setor da piscicultura da UTFPR-DV, com aeração e temperatura (28°C) controladas, por período mínimo de 5 dias e alimentados 2 vezes ao dia com ração 16% PB com fornecimento controlado de 1,5% da biomassa e renovação da água a cada 24 horas.

Para a determinação da toxicidade, os peixes foram distribuídos em número de 10 indivíduos em caixas de polietileno de 60 litros (figura 7), contendo 6 tratamentos a constar: 10%, 7,5%, 5,0%, 2,5%, 1,25% e 0%. A exposição ao efluente teve duração de 7 dias e foi realizado em triplicata, tendo ao todo 360 animais, onde 180 foram submetidos ao efluente tratado, e posteriormente, 180 para o efluente bruto, a diluição dos tratamentos para ambos foram iguais. A exposição ocorreu de acordo com o método semi-estático, no qual a cada 24 horas a solução recebia troca de 25% de seu volume total, contendo a diluição inicial da substância teste. Os animais foram alimentados diariamente com a oferta de cerca de 5% da massa corporal média dos indivíduos. Posteriormente ao término da exposição, os peixes foram anestesiados com cloridrato de benzocaína (100mg/L) segundo as Diretrizes da Prática de



Eutanásia estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) corroborada pela Resolução normativa nº 44 de 2019, do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal: Peixes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica – II.

**Figura 7 – Distribuição das caixas de polietileno no experimento com a espécie *Rhamdia quelen***



Fonte: Autoria própria

## 4.5 Elaboração e análise das lâminas Análises Estatísticas

### 4.5.1 *Allium cepa*

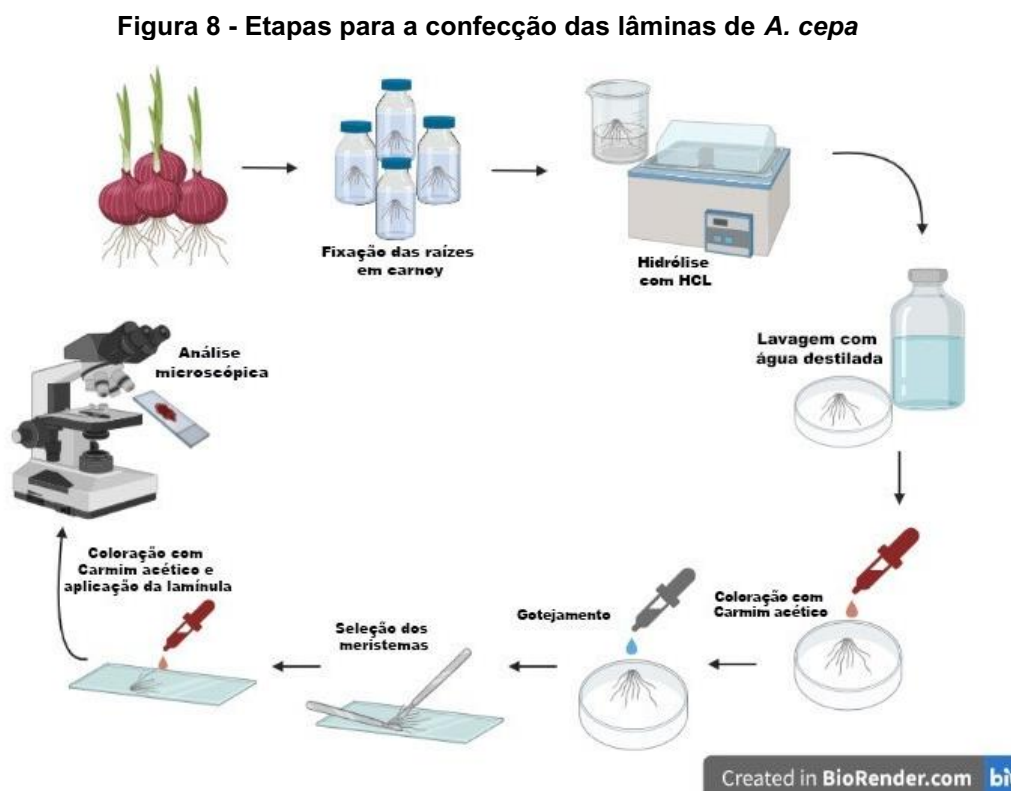
Para a elaboração das lâminas, foram selecionadas algumas radículas de cada bulbo e em seguida, essas passaram por nove etapas conforme mostra o quadro 1 e figura 8.

**Quadro 1 – Etapas necessárias para a elaboração das lâminas**

1- Lavagem das raízes selecionadas com água destilada;
2- Hidrólise com HCl 1N por 10 minutos, em banho-maria à 60°C;
3- Nova lavagem das raízes com água destilada;
4- Corar as raízes com Carmin acético 2% por 10 minutos;
5- Banho com água destilada, por gotejamento;
6- Selecionar as regiões meristemáticas em lâmina, utilizando a pinça, e o bisturi para abrir o meristema;

7- Recoloração com Carmin acético 2% por mais 5 minutos;
8- Inserção da lamínula sobre o material;
9- Esmagar levemente os meristemas.

Fonte: Autoria própria



Fonte: Adaptado (BARBÉRIO, Agnes; VOLTOLINI; RIBEIRO, 2013b)

A análise das lâminas ocorreu através do microscópio de luz, no qual foi realizada a contagem de itens específicos de 1000 células para cada lâmina e seus campos não foram repetidos. Os itens que foram contabilizados para avaliação genotóxica, são referentes aos números de células em interfase e em processo de divisão celular mitótica (com ou sem anormalidades). Também foi contabilizado e identificado em células interfásicas, as anormalidades morfológicas nucleares, em células mitóticas as portadoras de anormalidades (danos na prófase: micronúcleos, perda cromossômica; danos na metáfase: aderências cromossômicas e poliploidias, metáfases, c-metáfases, perdas e quebras de cromossomos; danos na anáfase e telófase: c-anáfase, multipolaridade, pontes e atrasos cromossômicos, aderências e quebras cromossômicas). O índice mitótico foi calculado conforme a fórmula a seguir: Índice mitótico (%) = total de células em divisão/total de células contabilizadasx100.



#### 4.5.2 *Rhamdia quelen*

Para esta etapa, foi retirada uma pequena alíquota de sangue do coração de cada animal anestesiado (figura 9 – A), através de uma seringa previamente heparinizada. Em seguida uma gota de sangue foi transferida para a lâmina de microscópio (figura 9 – B), na qual foi realizado a extensão sanguínea (figura 9 – C). Depois da secagem das lâminas, foi realizada a fixação em etanol 96% por 30 minutos, a coloração por cerca de 7 minutos em Giemsa 10% a diluição em tampão fosfato (pH 6,8). A análise do teste de micronúcleo e das alterações morfológicas nucleares ocorreu em microscópio de luz, e se baseou na taxa de núcleos que apresentaram formas alteradas.

**Figura 9 - A) Sangue sendo retirado do animal; B) Transferência do sangue para a lâmina; C) Realização da extensão sanguínea**



Fonte: Autoria própria

#### **4.6 Análises Estatísticas**

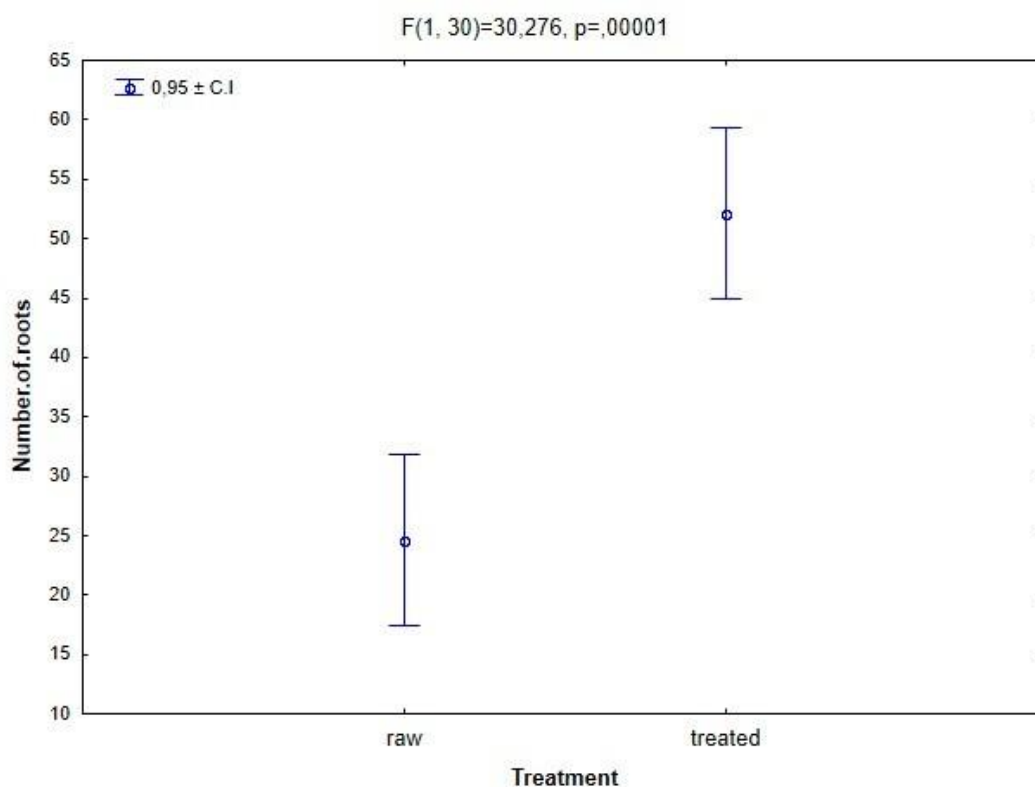
Na sequência os resultados foram primeiramente submetidos às análises de pressupostos, onde a normalidade dos resíduos pode ser averiguada a partir do teste de Shapiro-Wilk e a homocedasticidade por meio do teste de Levene (QUINN; KEOUGH, 2002). Após, foram conduzidas as análises estatísticas de comparação de médias ou medianas, sendo empregada no caso de uma estatística paramétrica, a ANOVA seguida pelo teste de Tukey, ou Kruskal-Wallis seguido pelo teste de múltiplas comparações de medianas, no caso de uma estatística não paramétrica. Esses testes foram realizados pelo programa Software Statistica (STATSOFT, 2011).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 *Allium cepa*

Na análise de emissão de raízes, houve diferença significativa ( $p=,00001$ ) entre o efluente bruto e tratado, onde as cebolas expostas ao efluente tratado apresentaram maior emissão no número de raízes do que as que foram expostas ao efluente bruto (figura 10). Vários estudos, também mostram que outras substâncias com componentes potencialmente tóxicos, como herbicidas (AMAC; LIMAN, 2021), fungicidas (W. AMIN, 2002) e poluentes ambientais (SILVEIRA *et al.*, 2017), assim como, águas residuais de origens diversas, ocasionam a inibição da emissão de radículas, evidenciando os efeitos citotóxicos desses poluentes (KASSA, 2021).

**Figura 10 – Gráfico expondo a análise estatística de emissão de raízes nos tratamentos com o efluente bruto (raw) e tratado (treated)**

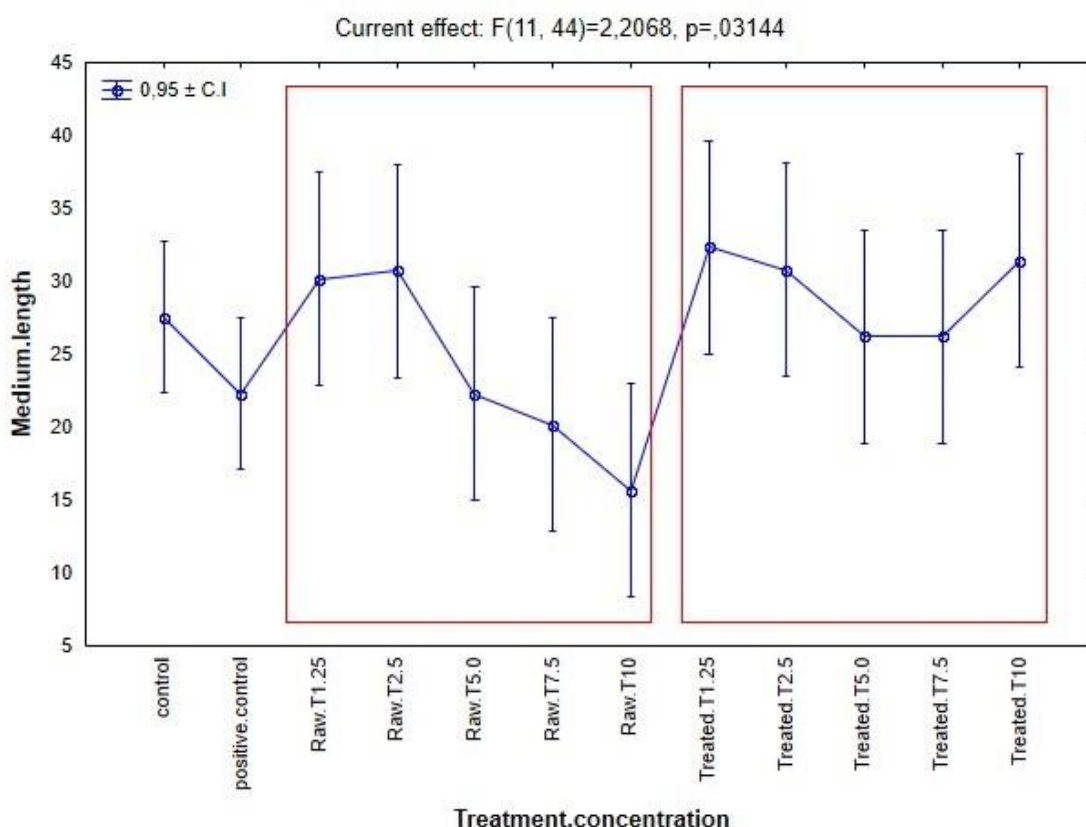


Fonte: Autoria própria

Em relação ao comprimento das raízes, os testes estatísticos iniciais apresentaram diferença significativa ( $p=,03144$ ), porém nas análises posteriores não teve diferença considerável entre os tratamentos e ambos os controles. Ao realizar a comparação entre os tratamentos, nota-se que as três maiores diluições

do efluente bruto apresentaram comportamento semelhante ou pior que o controle positivo (MMS), intensificando com o aumento das concentrações. Desta forma, sugere-se que devido a toxicidade dos componentes encontrados no efluente têxtil, ocorreu a inibição do crescimento radicular nas raízes das cebolas expostas principalmente ao efluente bruto (figura 11).

**Figura 11 – Análise do comprimento médio (mm) das raízes de *A. cepa*, expostas aos tratamentos do efluente bruto (raw) e tratado (treated)**

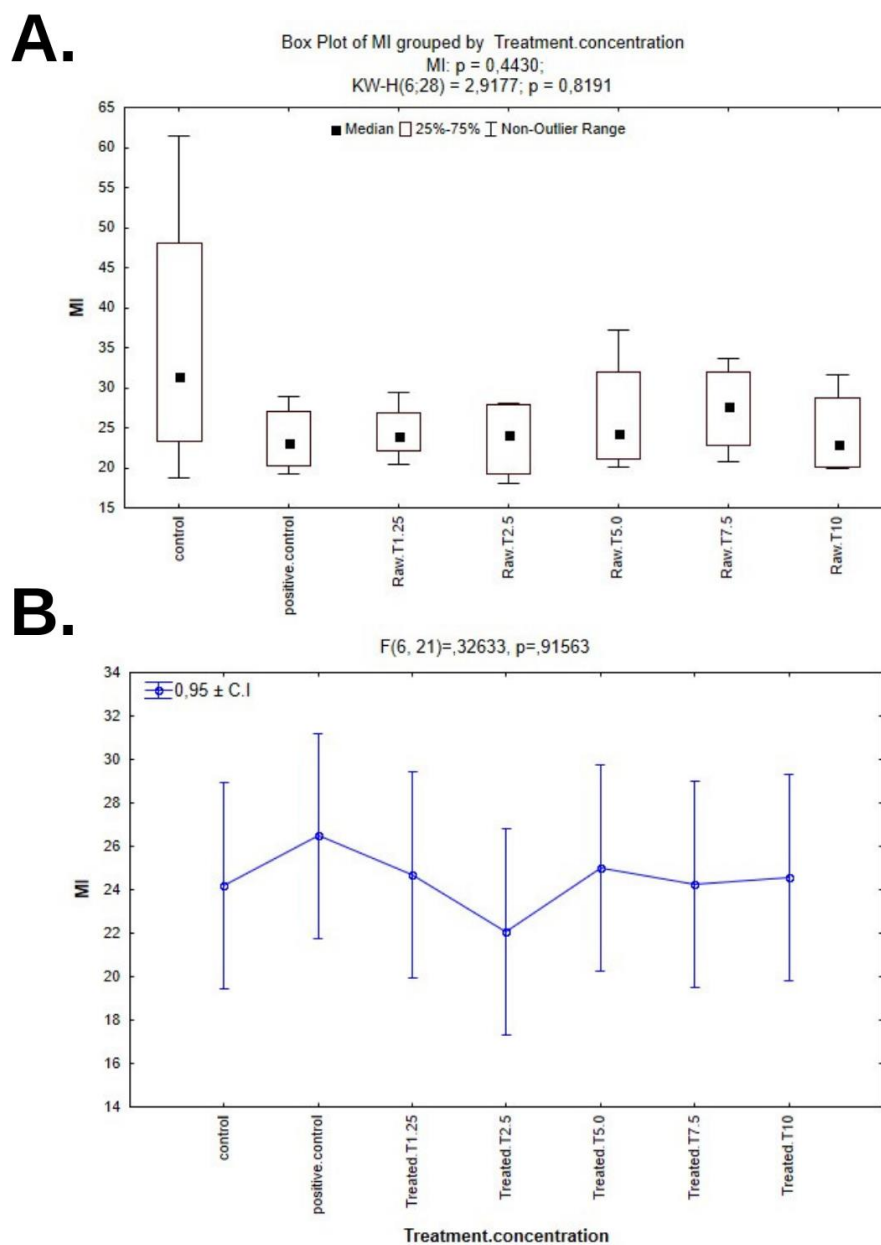


Fonte: Autoria própria

Na avaliação do índice mitótico, tanto o efluente bruto, quanto o tratado, não apresentaram diferença significativa ao comparar com os controles ( $p>0,05$ ) (figura 12). De forma geral, a média do índice mitótico para o efluente bruto foi de 25,27 e 24,12 para o efluente tratado, o controle positivo (MMS) apresentou média de 25,06 e o negativo (água reconstituída) de 29,98. Resultados semelhantes foram relatados em outro estudo com efluente têxtil (KHAN; ANAS; MALIK, 2019a), onde a maior média observada do índice mitótico foi para o controle negativo (água destilada), porém neste mesmo estudo a menor média observada foi para o controle positivo (MMS), ao contrário desse que foi para o efluente tratado, outro estudo relatou que

o efluente tratado causou alterações no índice mitótico devido sua citotoxicidade (WIJEYARATNE; WICKRAMASINGHE, 2020b).

Figura 12 – A) Índice mitótico do efluente bruto (raw); B) Índice mitótico do efluente tratado (treated)

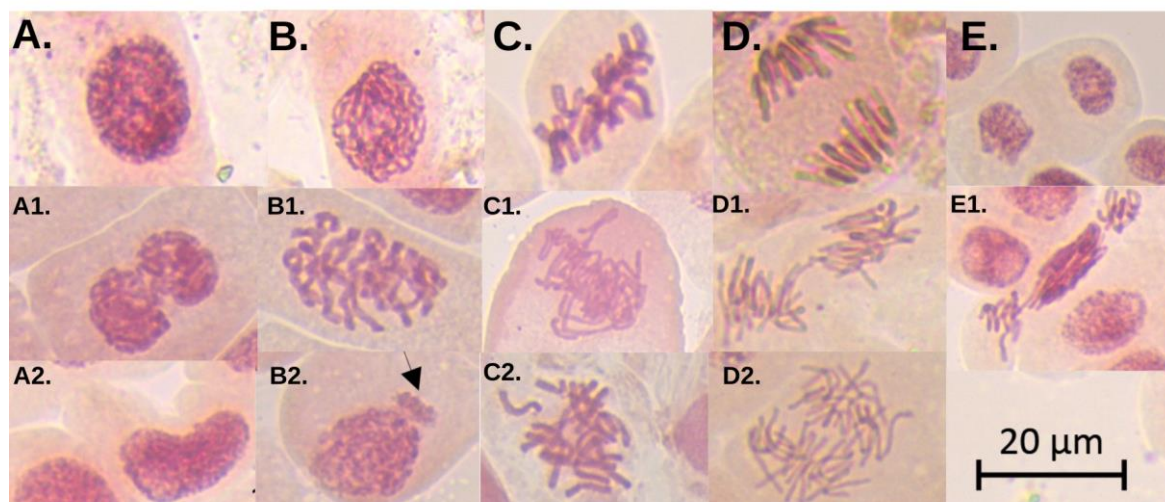


Fonte: Autoria própria

As aberrações cromossômicas (figura 13) são causadas por substâncias genotóxicas capazes de alterar a cariocinese, afetando a divisão e o núcleo celular (TORSHA DAS; SUDIP SENGUPTA; CHATTOPADHYAY, 2021). No efluente bruto, os números de aberrações cromossômicas não apresentaram diferença significativa

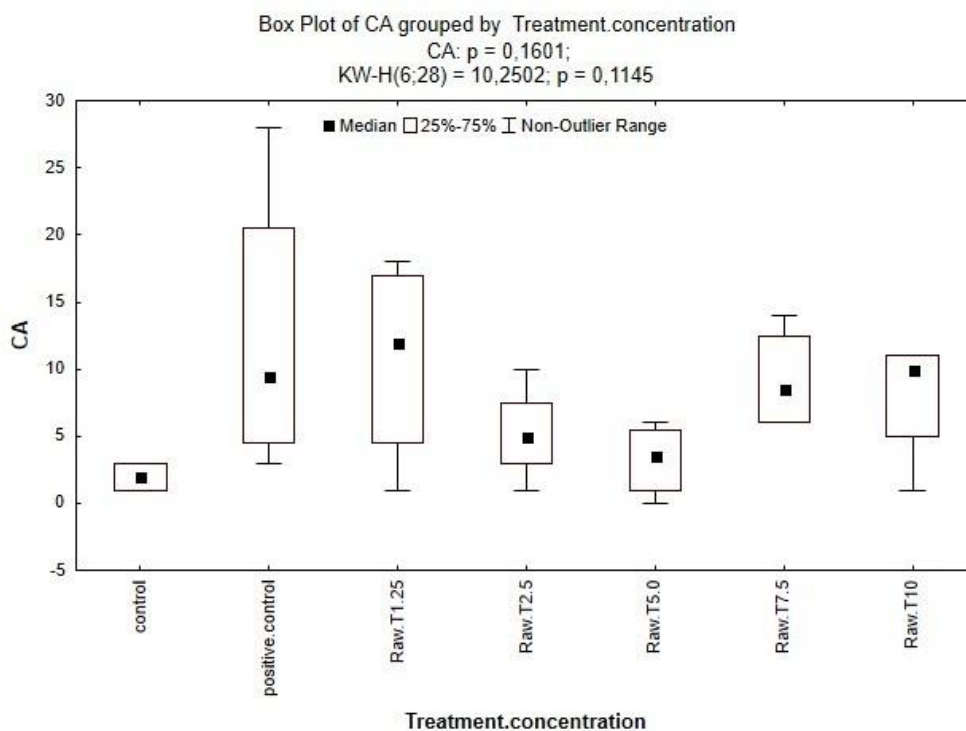
( $p=0,1145$ ) entre as diluições do efluente e os tratamentos controle, como podemos observar no gráfico da figura 14.

**Figura 13 – Aberrações cromossômicas (CA) e anormalidades morfológicas nucleares (NMA) em *Allium cepa*. A) Interfase normal; A1) Núcleo em formato de bolha; A2) Núcleo entalhado; B) Prófase normal; B1) Prófase com aderência entre os cromossomos; B2) Micronúcleo; C) Metáfase normal; C1) C-metáfase com aderência cromossômica; C2) C-metáfase e cromossomos perdidos; D) Anáfase normal; D1) Ponte anafásica; D2) C-anáfase; E) Telófase normal; E1) Irregularidades e perda cromossômica**



Fonte: Autoria própria

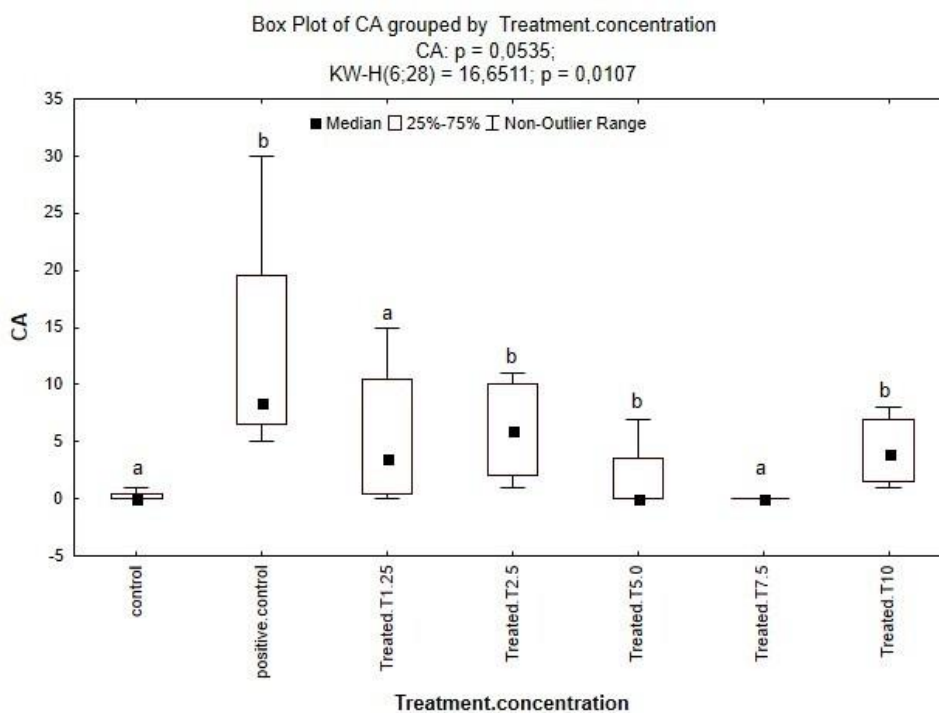
**Figura 14 – Gráfico apresentando os resultados estatísticos sobre as aberrações cromossômicas (CA) para o efluente bruto (raw)**



Fonte: Autoria própria

Ao analisar as aberrações cromossômicas das raízes expostas ao efluente tratado (figura 15), constatou-se que as concentrações de 1,25% e 7,5% se igualaram ao controle negativo, indicando que não ocorreu genotoxicidade a nível estatístico. Já as demais diluições, assim como o controle positivo, apresentaram maior genotoxicidade, isto significa que nessas diluições o efluente é tão genotóxico quanto o controle positivo ( $p=0,0107$ ). Isto pode indicar que o tratamento utilizado pela indústria não degrada todos os componentes tóxicos, podendo gerar substâncias intermediárias.

**Figura 15 – Gráfico apresentando o resultado estatístico sobre as aberrações cromossômicas (CA) para o efluente tratado (treated), letras diferentes mostram diferença significativa**



Fonte: Autoria própria

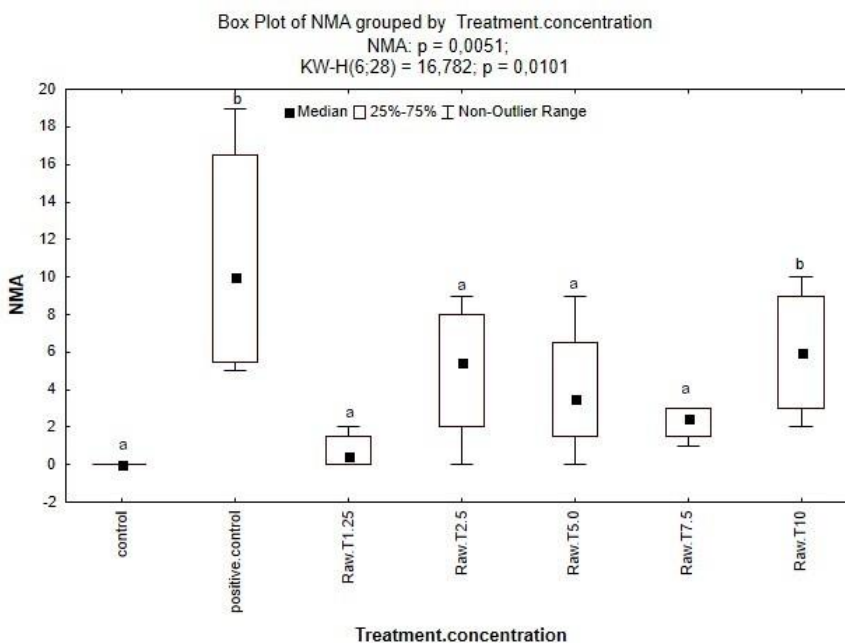
Um estudo realizado com efluente têxtil, registrou anormalidades cromossômicas significativas em diluições do efluente maiores que 20% em diferentes tempos de exposição (6h a 48h), indicando que o efluente era altamente genotóxico (RAHMAN; RAHMAN; NASIRUJJAMAN, 2017). Da mesma forma, outro estudo recente realizado com efluente tratado, retratou a indução de anormalidade cromossômicas em *Allium cepa*, evidenciando a citotoxicidade deste efluente posteriormente ao tratamento (WIJEYARATNE; WICKRAMASINGHE, 2020a). Desta maneira, comparando os resultados obtidos para aberrações cromossômicas entre o efluente bruto e tratado, sugere-se que durante o tratamento realizado no efluente,



formou-se compostos intermediários e contaminantes, capazes de gerar danos genotóxicos e clastogênicos a nível celular, responsáveis pelas aberrações cromossômicas observadas. Esses resultados não foram obtidos conforme o esperado, já que se esperava que a toxicidade do efluente fosse mais expressiva de acordo com o aumento da diluição.

Na figura 16, apresentamos as análises de anormalidades morfológicas nucleares referente as raízes que ficaram sob exposição do efluente bruto. Desta forma, notamos que o controle positivo possui valor maior de anormalidades que os outros tratamentos. Estatisticamente ( $p=0,0101$ ), a diluição de 10% do efluente bruto mostrou-se tão tóxica quanto o controle positivo, evidenciando a mutagenicidade nas células de *Allium cepa*. Há vários estudos evidenciando a toxicidade dos efluentes têxteis, através da comparação do efluente bruto com o tratamento de controle negativo, deste modo, reforça-se que o despejo desse resíduo não deve ser realizado em ambientes naturais, como rios e corpos aquáticos, pois a sua toxicidade implica em danos severos a ecossistemas e a saúde humana, já que seu potencial genotóxico pode levar a condições adversas de saúde, como o desenvolvimento de doenças cancerígenas (DE SANTANA DA SILVA *et al.*, 2018; HEMACHANDRA; PATHIRATNE, 2016; RAHMAN; RAHMAN; NASIRUJJAMAN, 2017).

**Figura 16 – Gráfico apresentando as diferenças estatísticas sobre as anormalidades (NMA) para o efluente bruto (raw), letras diferentes mostram diferença significativa**

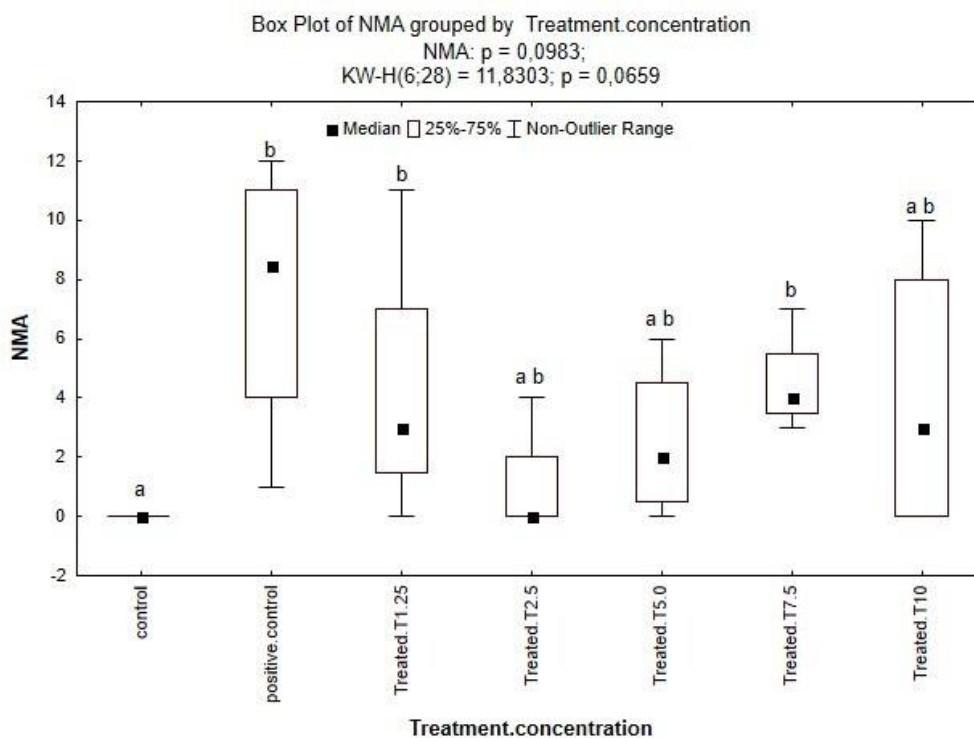


Fonte: Autoria própria



Na figura 17, temos as análises das anormalidades morfológicas nucleares das raízes expostas ao efluente tratado. Pode-se observar que o controle negativo apresentou valor inferior de anormalidades que os demais tratamentos, ao contrário do controle positivo que expressa altos valores, indicando a ocorrência de mutagenicidade. Estatisticamente, o controle positivo, 1,25% e 7,5% apresentaram diferença significativa do controle negativo, indicando que o dano genético foi elevado nessas concentrações, mesmo que o efluente têxtil tenha passado pelo tratamento. Nota-se que para as aberrações cromossômicas, essas concentrações não apresentaram genotoxicidade, porém no caso das anormalidades, o efluente tratado foi significativamente tóxico e mutagênico nessas diluições. Um resultado semelhante foi constatado num estudo de toxicidade com o efluente têxtil tratado, onde os autores avaliaram efeitos citotóxicos e genotóxicos e anormalidades morfológicas nucleares (WIJEYARATNE; WICKRAMASINGHE, 2020b). Outros autores avaliaram padrões de toxicidade do efluente têxtil tratado, podendo concluir, através das análises de citotoxicidade que os tratamentos utilizados são ineficientes em relação a descontaminação de substâncias potencialmente tóxicas (DOMINGUES; DÜSMAN; VICENTINI, 2020).

**Figura 17 – Gráfico apresentando as diferenças estatísticas sobre as anormalidades (NMA) para o efluente tratado (treated), letras diferentes mostram diferença significativa**



Fonte: Autoria própria

De acordo com o que foi observado durante as análises microscópicas, juntamente com os resultados estatísticos do bioensaio com *Allium cepa*, pode-se afirmar que tanto o efluente têxtil bruto, quanto o tratado, ocasionaram lesões celulares durante o ciclo de divisão celular. Foram obtidos resultados que evidenciam a citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade do resíduo industrial utilizado, mesmo após passar pelas etapas de tratamento, indicando que o mesmo não é totalmente eficiente e comprovando que a remoção da cor não condiz com a remoção da toxicidade. É evidente que a demanda por tratamentos que sejam eficientes e capazes de degradar e descontaminar resíduos têxteis é algo emergente, não apenas no Brasil, mas globalmente. Outra questão preocupante é a diluição que os efluentes são despejados na natureza, pois não há um documento oficial que determine uma diluição que não apresente riscos ao ambiente natural e aos organismos vivos.

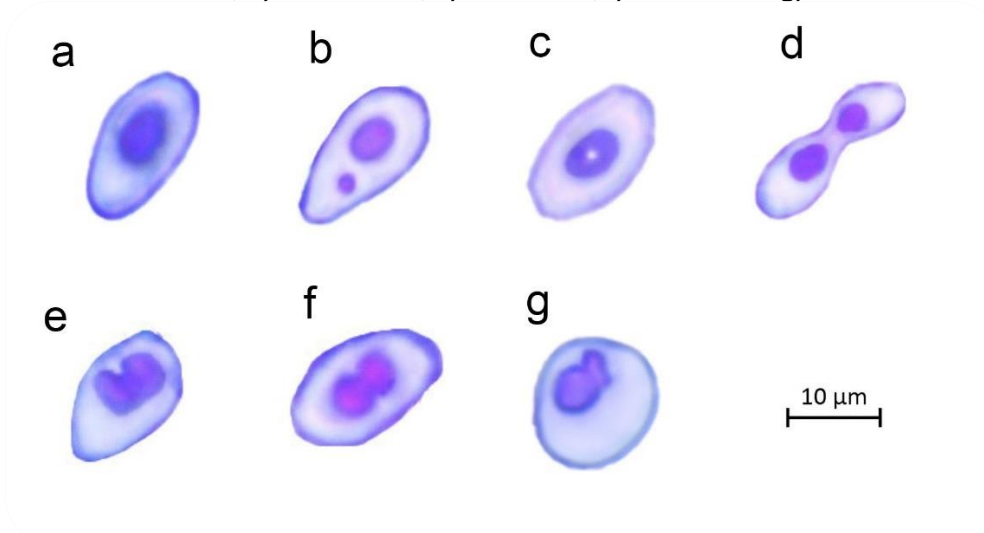
As diluições de 2,5%, 5% e 10% do efluente tratado foram estatisticamente superiores as outras diluições do efluente, se igualando ao controle positivo (MMS) nas análises de aberrações cromossômicas, evidenciando a alta genotoxicidade do efluente. A maior diluição do efluente bruto, sendo 10%, foi significativamente mais tóxica que os demais tratamentos quando avaliado as anormalidades morfológicas nucleares (NMA), assim como 1,5% e 7,5% foram para o efluente tratado, expressando a mutagenicidade tanto do efluente têxtil bruto, quanto do tratado.

Como relatado neste estudo, para algumas variáveis até mesmo a menor diluição do efluente tratado apresentou toxicidade para as células de *A. cepa*, sendo assim, não se pode estabelecer que há uma diluição segura em que este efluente possa ser direcionado a natureza. Contudo, podemos afirmar que o bioindicador vegetal *Allium cepa*, foi altamente sensível para detectar danos citogenéticos e mutações através das aberrações cromossômicas e anormalidades morfológicas nucleares ocasionadas pela exposição ao efluente têxtil utilizado. Os resultados observados em laboratório podem indicar que no ambiente natural, onde os organismos são expostos a diluições do efluente por um período de tempo maior, e sofrem com a variação do nível de água no rio, ocorre a contaminação e consequentemente a toxicidade causando danos em nível celular e genético.

## 5.2 *Rhamdia quelen*

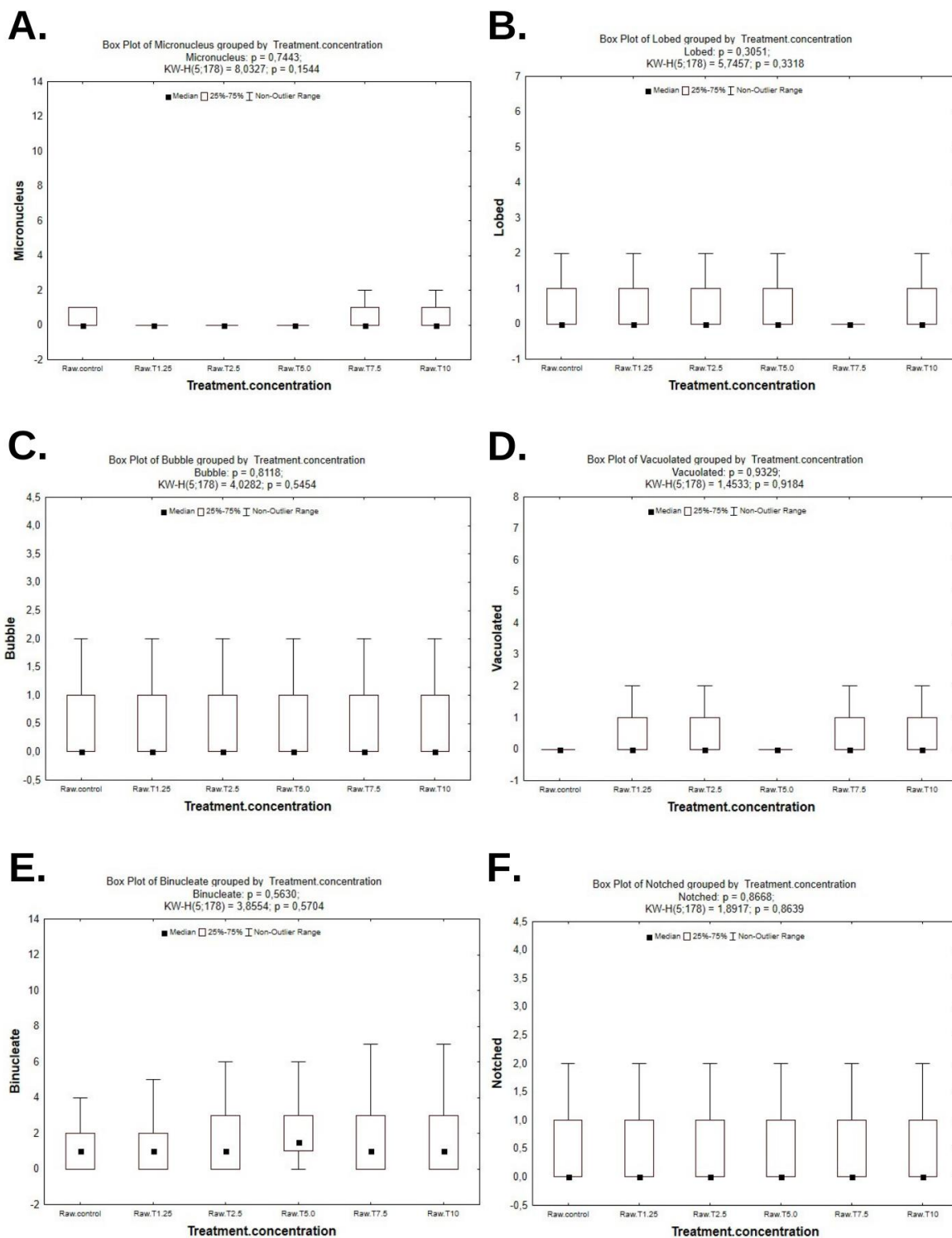
As análises estatísticas demonstraram que não houve diferença significativa na frequência de anormalidades nucleares eritrocitárias (figura 18) entre os organismos expostos ao tratamento controle, o efluente têxtil bruto e o efluente tratado. Desta forma, na figura 19 podemos visualizar os resultados obtidos das análises do efluente bruto, onde os organismos foram expostos as concentrações de 0%, 1,25%, 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10%. Em todas as variáveis os resultados são comparados com o tratamento controle (0%).

**Figura 18 – Eritrócitos periféricos da espécie *Rhamdia quelen*: a) normal, b) micronucleado, c) vacuolado, d) binucleado, e) entalhado, f) em bolha e g) lobado.**



Fonte: Autoria própria

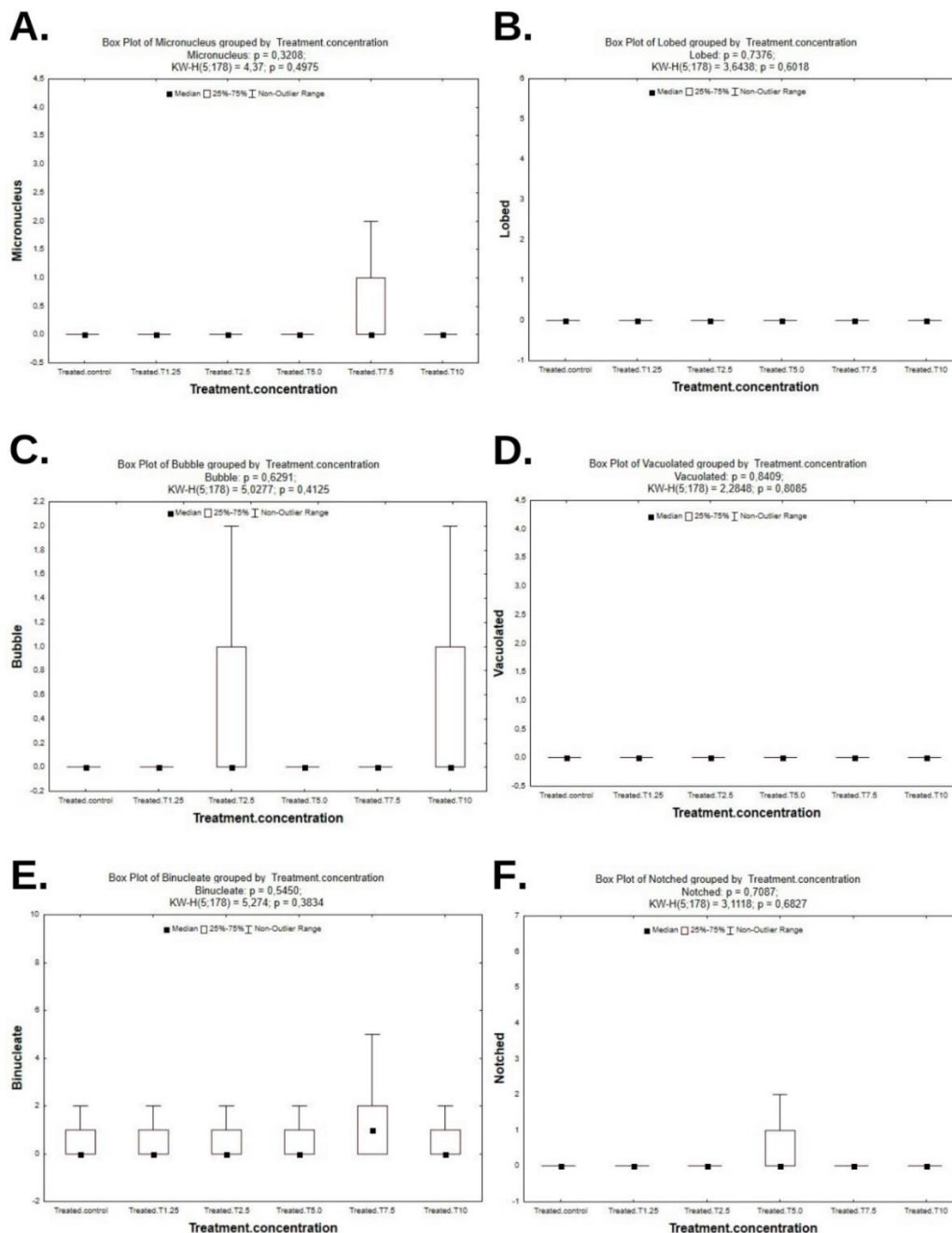
**Figura 19 – Gráficos com as análises das variáveis avaliadas nos peixes *Rhamdia quelen* expostos ao efluente bruto (raw). A) Micronúcleo; B) Lobado; C) Em bolha; D) Vacuolado; E) Binucleado; F) Entalhado**



Fonte: Autoria própria

Com o efluente tratado, seguiu-se o mesmo padrão utilizado para o efluente bruto durante todo o experimento e análises posteriores. Desse modo, ao comparar os resultados das variáveis das anormalidades morfológicas nucleares dos tratamentos com o tratamento controle não foi observado diferença significativa estatisticamente, como pode-se visualizar na figura 20.

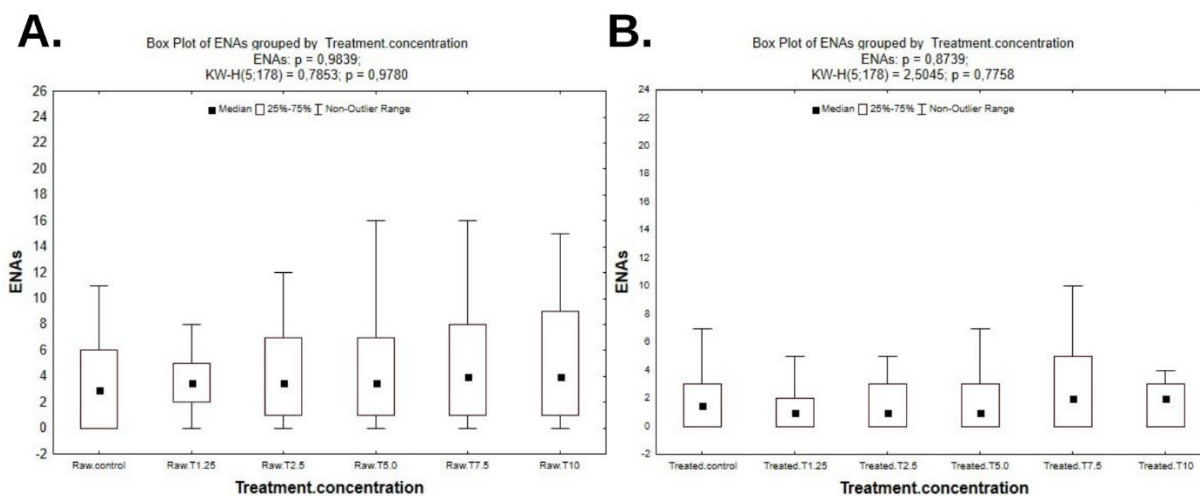
**Figura 20 - Compilado dos gráficos com as análises das variáveis avaliadas nos peixes *Rhamdia quelen* expostos ao efluente tratado (treated). A) Micronúcleo; B) Lobado; C) Em bolha; D) Vacuolado; E) Binucleado; F) Entalhado**



Fonte: Autoria própria

Na figura 21, temos o resultado da comparação entre todas as anormalidades nucleares eritrocitárias (ENAs) encontradas nos indivíduos expostos ao efluente bruto (A) e tratado (B).

**Figura 21 – Análises de todas as células com anormalidades nucleares eritrocitárias (ENAs) entre os tratamentos. A) Anormalidades nucleares – efluente bruto (raw); B) Anormalidades nucleares – efluente tratado (treated)**



Fonte: Autoria própria

As condições de exposição com os dois bioindicadores nos mostram resultados diferentes, isto porque os padrões de bioensaios são distintos para cada organismo. Os peixes foram expostos subcronicamente, ou seja, num período maior de tempo, mas não o suficiente para as respostas refletirem resultados crônicos, também deve-se considerar a atuação do sistema de reparo desses organismos. A avaliação dos eritrócitos é uma análise tradicional para mensurar a toxicidade de poluentes, pois as células eritrocitárias são sensíveis e capazes de indicar a ocorrência de poluição ambiental antes de manifestações externas ao estresse (SULA *et al.*, 2020). Outros estudos com análise eritrocitária relatam que a ausência de células anormais pode ser resultado de um mecanismo de reparação, onde o organismo realiza a eriptose em células danificadas, permanecendo na corrente sanguínea apenas os eritrócitos com menos dano celular (FANALI; STURVE; DE OLIVEIRA, 2021; FARAG; ALAGAWANY, 2018).

Desta forma, não é possível afirmar que o efluente têxtil tratado e bruto não causam lesões genéticas nos organismos aquáticos, em condições reais de exposição, pois os resultados dos tratamentos podem refletir as ações de reparação do organismo dos peixes sob estresse. Além disso, apesar dos tratamentos não apresentarem diferença significativa, durante as análises foram observadas anormalidades morfológicas nucleares, evidenciando a mutagenicidade e

citotoxicidade. As anormalidades notadas com maior frequência foram os micronúcleos e células binucleadas.

Há na literatura estudos semelhantes sobre toxicidade de resíduos poluentes avaliados com este bioindicador ou outros peixes considerados organismos modelos, mas estudos englobando efluentes têxteis e *Rhamdia quelen* são escassos. Em um estudo avaliando a poluição da água de um rio através da genotoxicidade com *Rhamdia quelen*, os autores também não observaram diferenças significativas em relação a frequência de micronúcleos e anormalidades eritrocitárias (VIANA *et al.*, 2018). Outros autores avaliaram a mutagenicidade de água coletada em área rural sem estação de tratamento de esgoto sobre exemplares de *Rhamdia quelen*, e também não tiveram resultados estatísticos significativos para a indução de micronúcleos (DA SILVA SOUZA; DE SOUZA; LASCOLA, 2018).

O efluente têxtil é constituído por uma infinidade de compostos químicos e orgânicos com as mais diversas formulações, desde detergentes, amaciantes, descolorantes e corantes têxteis. Isto indica que este resíduo pode apresentar em sua composição metais pesados, como chumbo, cádmio e cromo, além de compostos orgânicos como álcoois, fenóis, cetonas, amidas, ácidos, aminas aromáticas, entre outros (KHAN; MALIK, 2018). Os metais pesados, como alumínio, mercúrio e chumbo, assim como outras substâncias orgânicas, dependendo o tempo de exposição podem ocasionar lesões agudas e crônicas em níveis celular, genético e biomolecular nos organismos que entram em contato com o efluente contendo esses poluentes (OLUSOLA; SOLOMON, 2018).

Resíduos líquidos que não são facilmente degradáveis e não tem um processo de descontaminação bem estabelecido, ao serem descartados em corpos aquáticos, possuem capacidade de acumulação no ambiente e em organismos que vivem naturalmente naquele habitat, isso conseqüentemente leva ao acúmulo gradual de contaminantes na cadeia alimentar biológica (AKPOR; OTOHINOYI, 2014). Considerando que o impacto ocasionado pelo efluente têxtil não se restringe somente a um nível trófico, a descarga desse material em rios tende a afetar indiretamente os humanos, podendo causar doenças (KHAN; ANAS; MALIK, 2019a). Por isso, após o tratamento do efluente, é necessário realizar o monitoramento do ambiente em que ocorre o despejo desse resíduo para ter controle sobre o potencial de contaminação a nível trófico, bem como realizar análises toxicológicas com diferentes bioindicadores

nos efluentes, mesmo sabendo que raramente isso ocorre é importante ressaltar a necessidade de estudos como esse.

Neste trabalho foi analisado a toxicidade do efluente têxtil em diferentes níveis de organização biológica, sendo em células e tecido. As análises de nível celular e tecidual estão relacionadas com alterações na integridade do material genético, pois alterações cromossômicas foram avaliadas como critério de genotoxicidade, assim como o potencial mutagênico do efluente ao avaliar as anormalidades morfológicas nucleares e eritrocitárias (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; FENECH, 2007; KHAN; ANAS; MALIK, 2019b). Ao considerar que no ambiente aquático os organismos são expostos durante um período superior ao que foi abordado nesta pesquisa, podendo sofrer com variações ambientais que são capazes de interferir na diluição do efluente têxtil, como períodos de estiagem, deve-se levar em conta que outros níveis biológicos podem ser afetados, como vias bioquímicas, órgãos e sistemas.



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise toxicológica do efluente têxtil tratado e bruto com bioindicador *Allium cepa*, indicou que ambos possuem ação citotóxica, genotóxica e mutagênica. Percebeu-se neste bioindicador, um menor número na emissão de raízes no efluente bruto, e maiores valores de anormalidades morfológicas nucleares na diluição de 10% do efluente bruto. Isto pode indicar que diluições com concentrações maiores que 10% podem causar danos genotóxicos. As análises com *Rhamdia quelen* não apresentaram diferenças significativas. Desta forma, não é possível estabelecer uma relação entre a exposição e a frequência de micronúcleos e anormalidades nucleares eritrocitárias, porém as lesões celulares também foram observadas neste bioindicador.

Desta forma, pode-se afirmar que o tratamento realizado pela empresa não é totalmente eficiente e seguro, visando que posteriormente o efluente é descartado em ambientes aquáticos, neste caso, o efluente é disposto em um rio utilizado para o abastecimento público do município de Dois Vizinhos, Paraná. Como consequência desse descarte, o efluente pode vir a causar danos genéticos nos organismos, assim como, desequilíbrio na biota aquática. Mesmo as diluições testadas não apresentando danos aos peixes *Rhamdia quelen*, para *Allium cepa* o efluente testado foi danoso até nas concentrações inferiores a 1,25%, ressaltando a importância de testes de toxicidade com organismos bioindicadores de mais de um nível trófico. Portanto, se faz de extrema necessidade a busca por tratamentos eficientes para atender a demanda deste setor com grande relevância nacional e mundial, também, sugere-se estudos de toxicidade em outros níveis biológicos, além da aplicação de esforços para determinar com precisão as substâncias químicas encontradas no efluente têxtil e a identificação dos compostos intermediários gerados durante os tratamentos, para assim auxiliar na implantação de protocolos eficientes contra a toxicidade.

## REFERÊNCIAS

- ABIT. **Abit - Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção**. 2021. Disponível em: <https://www.abit.org.br/cont/perfil-do-setor>. Acesso em: 17 nov. 2021.
- ABIT, Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecções. **O SETOR TÊXTIL E DE CONFECÇÃO E OS DESAFIOS DA SUSTENTABILIDADE**. Brasília: 2017.
- AKPOR, Oghenerobor Benjamin; OTOHINOYI, D. A. Pollutants in Wastewater Effluents: Impacts and Remediation Processes. **International Journal of Environmental Research and Earth Science**, v. 27, n. 44, p. 249–253, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10162-014-0441-4>
- ALMEIDA, Érica Janaina Rodrigues de; DILARRI, Guilherme; CORSO, Carlos Renato. A indústria têxtil no Brasil: Uma revisão dos seus impactos ambientais e possíveis tratamentos para os seus efluentes. **Conexão água**, v. 1, p. 1–18, 2016.
- AMAC, Eslem; LIMAN, Recep. Cytogenotoxic and forced degradation studies of pendimethalin using root growth, comet assay and LC-MS/MS. **Annals of Clinical and Analytical Medicine**, v. 12, n. Suppl 1, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.4328/ACAM.20343>
- AMARAL, Alexandre De Moraes *et al.* Avaliação preliminar da citotoxicidade e genotoxicidade, da água da bacia do rio Tapanhon (SP- Brasil) através do teste *Allium* (*Allium cepa*). **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 20, n. 1–2, p. 65–72, 2007.
- BAGATINI, Margarete Dulce; CARLOS, Antonio; TEDESCO, Solange Bosio. Divulgação Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 17, n. 3, p. 444–447, 2007.
- BALDISSERA, Matheus D. *et al.* Protective role of rutin dietary supplementation mediated by purinergic signaling in spleen of silver catfish *Rhamdia quelen* exposed to organophosphate pesticide trichlorfon. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 244, p. 109006, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CBPC.2021.109006>
- BARBÉRIO, A. *et al.* Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 3, p. 837–842, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1519-69842009000400010>
- BARBÉRIO, Agnes; VOLTOLINI, Júlio Cesar; RIBEIRO, Monique Cristielli Lombardi. Efeitos mutagênicos da poluição atmosférica em *Tradescantia pallida* no distrito de Moreira César, em Pindamonhangaba, SP. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 19, n. 1, p. 69–79, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.00>
- BARRETO, Luiza Santos *et al.* Urban effluents affect the early development stages

of Brazilian fish species with implications for their population dynamics.

**Ecotoxicology and Environmental Safety**, 188, p. 109907, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2019.109907>

BASTIAN, Elza Yuriko Onishi.; ROCCO, Jorge Luiz Silva. **Guia técnico ambiental da indústria têxtil - Série P + L**. São Paulo: 2009.

BERANEK, David T. Distribution of methyl and ethyl adducts following alkylation with monofunctional alkylating agents. **Mutation Research**, v. 231, p. 11–30, 1990.

BIANCHI, J. **Análise dos Efeitos Citotóxicos, Genotóxicos e Mutagênicos do Inseticida Malation, Utilizando os Sistemas Teste de *Allium cepa* e Células de Mamíferos**. 2008. 165 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de em Ciências Biológicas (biologia Celular e Molecular). Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2008.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA nº 430, 13 de maio de 2011**. Diário Oficial da União, 2011.

BUENO, Ana Paula Mendes *et al.* Teste de micronúcleos em peixes e parâmetros físico-químicos da água da represa Cocais, Minas Gerais. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 3, p. 32–36, 2017.

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

CUCHIARA, Cristina Copstein; BORGES, Clarissa De Souza; BOBROWSKI, Vera Lucia. Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água. **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, v. 6, n. 1, p. 33–38, 2012.

DA SILVA, Cleber Pinto *et al.* Effects of different filtration techniques on quality and toxicology of post treatment effluent from an anaerobic reactor. **Science of The Total Environment**, v. 723, p. 138030, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.138030>

DA SILVA SOUZA, Tatiana; DE SOUZA, Victor Ventura; LASCOLA, Mylena Boeque. Assessment of surface water using *Allium cepa* test and histological analysis in *Rhamdia quelen*. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 7, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S10661-018-6795-Z>

DELLAMATRICE, P. M. **Biodegradação e toxicidade de corantes têxteis e efluentes da Estação de Tratamento de Águas Residuárias de Americana, SP**. 2005. 137 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ecologia de Agroecossistemas, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

DE SANTANA DA SILVA, Jaqueline *et al.* Evaluation of textile laundry effluents and their cytotoxic effects on *Allium cepa*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 28, p. 27890–27898, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S11356-018-2813-5>

DIAS, Marcondes S. *et al.* Cytogenotoxicity and protective effect of piperine and capsaicin on meristematic cells of allium cepa l. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120201772>

DOBZHANSKY, Theodosius. Nothing in Biology Makes Sense except in the Light of Evolution. **The American Biology Teacher**, v. 35, n. 3, p. 125–129, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/4444260>.

DOMINGUES, Giovana; DÜSMAN, Elisângela; VICENTINI, Veronica Elisa Pimenta. Cytotoxicity of Crude and Treated Liquid Effluents from Textile Industry Dyeing Using Bioindicator *Allium cepa* L. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 231, n. 9, p. 448, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04818-1>

EMPREGO, Ministério do Trabalho e. **Evolução de Emprego do CAGED - EEC. 2019**. Disponível em: <http://bi.mte.gov.br/eec/pages/consultas/evolucaoEmprego/consultaEvolucaoEmprego.xhtml#relatorioSetor>. Acesso em: 26 out. 2021.

FANALI, Lara Zácari; STURVE, Joachim; DE OLIVEIRA, Classius. Exposure of *Physalaemus cuvieri* (Anura) to benzo[a]pyrene and  $\alpha$ -naphthoflavone: Morphofunctional effects on hepatic melanomacrophages and erythrocytes abnormalities. **Environmental Pollution**, v. 285, p. 117526, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2021.117526>

FARAG, Mayada Ragab; ALAGAWANY, Mahmoud. Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 279, p. 73–83, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CBI.2017.11.007>

FENECH, Michael. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**, v. 2, n. 5, p. 1084–1104, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.77>

FERRARO, M. V. M. **Avaliação de três espécies de peixes - *Rhamdia quelen*, *Cyprinus carpio* e *Astyanax bimaculatus*, como potenciais bioindicadores em sistemas hídricos através dos ensaios: cometa e dos micronúcleos**. 2009. 189 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

FUJITA, Renata Mayumi Lopes; JORENTE, Maria José. A Indústria Têxtil no Brasil: uma perspectiva histórica e cultural. **ModaPalavra e-periódico**, v. 8, n. 15, p. 153–174, 2015.

GHISI, N. de C. **Avaliação Genotóxica em *Rhamdia quelen* após Contaminação Sub-Crônica com Fipronil**. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós - Graduação em Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

GOMES DE MORAES, Sandra; SANCHES FREIRE, Renato; DURÁN, Nelson. Degradation and toxicity reduction of textile effluent by combined photocatalytic and ozonation processes. **Chemosphere**, v. 40, n. 4, p. 369–373, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00239-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00239-8)

GOMES, Levy de Carvalho *et al.* Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 179–185, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0103-84782000000100029>

GOMES, Monike Felipe *et al.* Sublethal effects of triclosan and triclocarban at environmental concentrations in silver catfish (*Rhamdia quelen*) embryos. **Chemosphere**, v. 263, p. 127985, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.127985>

GRANT, William F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations-a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. **Mutation Research**, v. 426, n. 2, p. 107–112, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(99\)00050-0](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(99)00050-0)

GUARATINI, Cláudia C.I.; ZANONI, Maria Valnice B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71–78, 2000.

HASSEMER, M. E. N. **Oxidação Fotoquímica - UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – Para Degradação de Poluentes em Efluentes da Indústria Têxtil**. 2006. 175 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

HEMACHANDRA, Chamini K.; PATHIRATNE, Asoka. Combination of physico-chemical analysis, *Allium cepa* test system and *Oreochromis niloticus* erythrocyte based comet assay/nuclear abnormalities tests for cyto-genotoxicity assessments of treated effluents discharged from textile industries. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 131, p. 54–64, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.05.010>

IQBAL, Munawar *et al.* Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: A review. **Chemistry International**, v. 5, n. 1, p. 1–80, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.31221/osf.io/z2ynm>

KASSA, Belay Anelay. Cytotoxicity and Genotoxicity evaluation of municipal wastewater discharged into the head of Blue Nile River using the *Allium Cepa* test. **Scientific African**, v. 13, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SCIAF.2021.E00911>

KHAN, Sana; ANAS, Mohammad; MALIK, Abdul. Mutagenicity and genotoxicity evaluation of textile industry wastewater using bacterial and plant bioassays. **Toxicology Reports**, v. 6, p. 193–201, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.02.002>

KHAN, Sana; ANAS, Mohammad; MALIK, Abdul. Mutagenicity and genotoxicity evaluation of textile industry wastewater using bacterial and plant bioassays. **Toxicology Reports**, v. 6, p. 193–201, 2019b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.02.00>

KHAN, Sana; MALIK, Abdul. Toxicity evaluation of textile effluents and role of native soil bacterium in biodegradation of a textile dye. **Environmental Science and**

PERUSSOLO, Maiara C. *et al.* Integrated biomarker response index to assess toxic effects of environmentally relevant concentrations of paracetamol in a neotropical catfish (*Rhamdia quelen*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, p. 109438, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2019.109438>

QUINN, Gerry P.; KEOUGH, Michael J. **Experimental Design and Data Analysis for Biologists**. Cambridge: Cambridge, 2002.

RAHMAN, Md Mahfuzur; RAHMAN, Md Fazlur; NASIRUJJAMAN, Khondokar. A study on genotoxicity of textile dyeing industry effluents from Rajshahi, Bangladesh, by the *Allium cepa* test. **Chemistry and Ecology**, v. 33, n. 5, p. 434–446, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02757540.2017.1316491>.

RÉGIS, I.; PESENTI, E. C. **Teste do Micronúcleo Písceo (MNP) e Alterações Morfológicas Nucleares (AMN) em espécies de peixes**. 2015

ROCHA, Shimelly *et al.* Toxic effects of mercury chloride on silver catfish (*Rhamdia quelen*) spermatozoa. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 2, p. 963–968, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ARE.13543>.

ROQUE, A. de A. **Biomarcadores Genéticos para avaliação dos efeitos do herbicida 2,4-D (Ácido 2,4- Diclorofenoxiacético) sobre o peixe nativo *Rhamdia quelen***. 2018. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2018.

SCHMID, W. The micronucleus test. **Mutation Research**, v. 31, p. 9–15, 1975.

SEBEN, Débora *et al.* Acute Silver Catfish (*Rhamdia quelen*) Exposure to Chlorantraniliprole Insecticide. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology** 2021 **107:5**, v. 107, n. 5, p. 883–888, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S00128-021-03315-3>.

SILVEIRA, Graciele Lurdes *et al.* Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. **Chemosphere**, v. 178, p. 359–367, 2017. Disponível em: <https://www-webofscience.ez48.periodicos.capes.gov.br/wos/wosccc/full-record/WOS:000400879800041>.

STATSOFT, INC. **STATISTICA (data analysis software system), version 10**. Versão 10. 2011.

SULA, Eldores *et al.* Digital light microscopy as a tool in toxicological evaluation of fish erythrocyte morphological abnormalities. **Microscopy Research and Technique**, v. 83, n. 4, p. 362–369, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/JEMT.23422>

TORSHA DAS, Soham Hazra; SUDIP SENGUPTA, Pranab Hazra; CHATTOPADHYAY, Dipayan. Genotoxic effect of saccharin on *Allium cepa* root tips. **Biologia**, v. 76, n. 11, p. 3191–3199, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S11756-021-00871-1>.

VIANA, Lucilene Finoto *et al.* The Response of Neotropical Fish Species (Brazil) on the Water Pollution: Metal Bioaccumulation and Genotoxicity. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 75, n. 3, p. 476–485, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S00244-018-0551-9>

VICENTINI, Maiara *et al.* Effects of cadmium on the female reproductive axis of a Neotropical fish. **Chemosphere**, v. 286, p. 131639, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.131639>

W. AMIN, Amal. Cytotoxicity Testing of Sewage Water Treatment Using *Allium cepa* Chromosome Aberrations Assay. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 5, n. 2, p. 184–188, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.3923/PJBS.2002.184.188>

WIJEYARATNE, W. M.Dimuthu Nilmini; WICKRAMASINGHE, P. G.Minola Udayangani. Chromosomal Abnormalities in *Allium cepa* Induced by Treated Textile Effluents: Spatial and Temporal Variations. **Journal of Toxicology**, v. 2020, 2020a. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/8814196>

WIJEYARATNE, W. M.Dimuthu Nilmini; WICKRAMASINGHE, P. G.Minola Udayangani. Treated Textile Effluents: Cytotoxic and Genotoxic Effects in the Natural Aquatic Environment. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 104, n. 2, p. 245–252, 2020b. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S00128-019-02768-X>