

Uso do bioensaio com *Allium cepa* L. e análises físico-químicas e microbiológicas para avaliação da qualidade do Rio da Ilha, RS, Brasil

Allium cepa L. bioassay and physicochemical and microbiological analysis to evaluate the water quality of the Ilha River, RS, Brazil

Zimmermann Prado Rodrigues, Gabriela; Dalzochio, Thaís; Gehlen, Günther

Universidade Feevale – ERS- 239, 2755, CEP: 93525-075 Novo Hamburgo, Rio Grande do Sul, Brasil.
gabizpr@gmail.com

Recibido: 10 de julio de 2015

Aceptado: 13 de septiembre de 2016

Resumo. O estudo avalia a toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e análises físico-químicas e microbiológicas de amostras de águas coletadas em dois pontos (nascente e foz) do Rio da Ilha - um dos principais afluentes do Rio dos Sinos, RS, Brasil - em dois períodos: inverno (2014) e verão (2015), através do bioensaio com *Allium cepa* que fornece esses dados através da mensuração das raízes dos bulbos, índice mitótico e presença de aberrações cromossômicas. Os resultados demonstraram níveis de citotoxicidade principalmente na foz do rio, e alguns parâmetros (DBO₅, fósforo, alumínio, chumbo, ferro, níquel e coliformes termotolerantes) acima da legislação estabelecida, mesmo a região sofrendo pouco impacto de origem antrópica.

Palavras- chave: Rio da Ilha; *Allium cepa*; Citotoxicidade; Biomonitoramento

Abstract. This study evaluates the toxicity, cytotoxicity, genotoxicity and physicochemical and microbiological analysis of water samples collected at sites (source and mouth) of the Ilha River –one of the main tributaries of the Sinos River, RS, Brazil - in winter (2014) and summer (2015), by *Allium cepa* bioassay which provided the data by measuring the roots of the bulbs, mitotic index and presence of chromosomal aberrations. The results show levels of cytotoxicity especially at the mouth of the river, and some parameters (DBO₅, phosphorus, aluminum, lead, iron, nickel and fecal coliforms) above the limits established by the Brazilian legislation, despite the localization of the region in an area under minor anthropic impact.

Keywords: Ilha River; *Allium cepa*; Cytotoxicity; Biomonitoring.

Introdução

A água representa o principal constituinte de todos os organismos vivos, no entanto, o crescimento populacional associado à intensa utilização de água acarreta na geração de fontes poluidoras (Santos e Mohr 2013), como principalmente o lançamento indiscriminado de esgotos domésticos, controle inadequado dos efluentes industriais e práticas agrícolas errôneas (Morães e Jordão 2002). Cabe ressaltar também, que o uso e manejo do solo em áreas agrícolas acarretam em alterações na qualidade das águas superficiais (Andrade et al. 2007). Feitosa e Manoel Filho (2000) relatam que nessas situações, o uso de fertilizantes e pesticidas constituem os principais contaminantes.

Frente à intensa poluição dos corpos hídricos buscam-se estratégias eficazes para a identificação do quão poluídos estão os rios (Almeida e Schwarzbald 2003), visto que estes são unidades fundamentais das bacias hidrográficas

e ecossistemas contínuos que interagem com os terrestres adjacentes, de tal maneira que as características físicas e químicas das águas estão diretamente relacionadas às áreas drenadas (Payne 1986). Um controle ineficiente na qualidade e tratamento das águas pode acarretar em vários problemas relacionados à saúde da população (Santos e Mohr 2013). A Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos está localizada a nordeste do Estado do Rio Grande do Sul, entre as coordenadas geográficas de 29° 20' a 30° 10' de latitude Sul e de 50° 15' a 51° 20' de longitude Oeste (Fundação Estadual de Proteção Ambiental - FEPAM 2009), sendo um dos rios mais impactados da bacia do Guaíba e do Brasil (Fontanella et al. 2008; Rechenmacher 2010). O Rio da Ilha é um dos principais afluentes do Rio dos Sinos, estando localizado no trecho médio da bacia, no município de Taquara, e sendo caracterizado por baixa densidade populacional, uso do

solo predominantemente rural com pequenas propriedades, drenando uma área de 318 km², que representa 8,6 % da bacia.

As análises físico-químicas e microbiológicas determinam características necessárias para o monitoramento ambiental (Santos e Mohr 2013). No entanto, além dessas análises, a utilização integrada a outros testes como bioensaios, pode fornecer dados mais precisos sobre os efeitos tóxicos dos contaminantes na biota aquática e possibilitar a aplicação precoce de medidas para a preservação do ambiente dos organismos que nele vivem (Lacerda 2009).

O teste de toxicidade com a espécie *Allium cepa* L. foi introduzido por Levan em 1938 (Fiskesjö 1985), e tem sido utilizado como ferramenta para o biomonitoramento ambiental (Leme e Marin-Morales 2009). O teste apresenta uma correlação de 82 % com testes de carcinogenicidade em roedores devido à sua alta sensibilidade (Leme e Marin-Morales 2007), e superioridade em relação a outros organismos teste (Arraes e Longhin 2012). O seu número reduzido de cromossomos de grande tamanho (2n=16) e muitas células em divisão (Ateeq et al. 2002) facilitam a observação de mutações resultantes da ação de compostos químicos, ambientais e radioativos, que também podem alterar o ciclo celular (Vieira e Vicentini 1997). Neste contexto, o objetivo do estudo foi avaliar a qualidade da água do Rio da Ilha através do bioensaio com *A. cepa* e análises físico-químicas e microbiológicas da água em duas estações do ano (inverno e verão) a fim de verificar o potencial tóxico, citotóxico e genotóxico de substâncias presentes na água.

Materiais e métodos

Amostragem

As amostras de água foram coletadas em dois pontos do Rio da Ilha: nascente (20° 33' 21.16"S; 50° 37' 45.55"O) e foz (29° 40' 56.42"S; 50° 44' 22.86" O) nos meses de julho de 2014 (inverno) e março de 2015 (verão), e realizadas de acordo com o *Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA 1998). Todas as amostras foram acondicionadas em recipiente térmico, preservadas com gelo e transportadas ao laboratório num período não superior a três horas após a coleta.

Análise de parâmetros físico-químicos e microbiológicos

Foram analisados os seguintes parâmetros: demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅), ni-

trogênio amoniacal, fósforo total, sólidos suspensos, alumínio, chumbo, cobre, cromo, ferro, níquel, zinco, coliformes totais e coliformes termotolerantes, pela Central Analítica da Universidade Feevale, credenciada junto à FEPAM. A análise dos parâmetros e sua comparação com os valores de referência da Resolução 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), serve para auxiliar na avaliação da qualidade da água coletada em cada ponto de amostragem em cada período.

Bioensaios

Para a realização do estudo, 30 bulbos de *A. cepa* foram colocados em água da torneira durante 48 horas para estimular o crescimento radicular (Arraes e Longhin 2012). Posteriormente, os mesmos foram expostos às amostras de águas coletadas no Rio da Ilha durante 48 horas (Silva e Nascimento 2013), sendo que um grupo considerado controle foi mantido em água da torneira pelo mesmo período. Para análise de toxicidade, após o período de exposição, as três maiores raízes de cada bulbo foram medidas para observação de possível inibição do crescimento das raízes por contaminantes (Fiskesjö 1995).

Quanto à análise de citotoxicidade e genotoxicidade, utilizou-se o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002). Brevemente, quatro raízes de cada bulbo foram coletadas, fixadas em solução Carnoy durante 6 horas e armazenadas em etanol 70 % a 4 °C para posterior preparo das lâminas. Para a preparação das lâminas as raízes foram lavadas em água destilada, submetidas à hidrólise ácida (HCl 1 N), lavadas novamente, coradas em orceína acética 1 % e então montadas em lâmina através de esmagamento manual, conservando-as em geladeira até a análise.

Foram utilizadas duas raízes de cada bulbo para a preparação das lâminas. A avaliação da citotoxicidade foi registrada a partir do número de células em divisão a cada 1000 células (Silva et al. 2010). A genotoxicidade foi avaliada através da frequência de aberrações cromossômicas em 100 células em anáfase ou telófase (Dias et al., 2013). As aberrações foram consideradas de acordo com Tedesco e Laughinghouse (2012).

Para a análise estatística dos dados, foi utilizada a análise de variância ANOVA, seguida do teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0.05$.

Resultados

A *tabela 1* mostra os parâmetros físico-químicos e microbiológicos medidos para ambos os locais amostrados. Foram observados valores de ferro, alumínio e coliformes termotolerantes acima do limite estabelecido pelo CONAMA para águas de classe I nos dois pontos em ambos os períodos de coleta, além do aumento de chumbo nos dois pontos da coleta de inverno, e na nascente do rio na coleta de verão, de níquel na nascente do rio na coleta de verão, de DBO₅ na foz (inverno) e nascente (verão), e de cobre na nascente do rio na coleta de verão. Para a análise de toxicidade não foram encontradas diferenças significativas entre os pontos

e grupo controle em ambos os períodos amostrados (*Tabela 2*). Quanto à análise de genotoxicidade não foram encontradas aberrações cromossômicas em nenhuma das amostras. Quanto à análise de citotoxicidade, na coleta de inverno, foi observada uma diminuição significativa do índice mitótico para a foz do Rio da Ilha quando comparado ao controle e nascente ($p < 0.05$) (*Figura 1*), enquanto que na coleta de verão, houve um aumento significativo do índice mitótico para ambos os pontos amostrados em comparação ao grupo controle ($p < 0.001$) (*Figura 2*). A *figura 3* mostra as células encontradas durante a análise microscópica.

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos e microbiológicos de amostras de águas superficiais coletadas em dois pontos do Rio da Ilha em julho de 2014 (inverno) e março de 2015 (verão), em comparação com valores limitantes estabelecidos pelo CONAMA para águas de classe I.

Parâmetro	Unidade	Inverno		Verão		Legislação (CONAMA)
		Ilha nascente	Ilha foz	Ilha nascente	Ilha foz	
DBO ₅	mg O ₂ L ⁻¹	<5	12,0	6,0	n.d.	3
DQO	mg O ₂ L ⁻¹	5,2	16,2	6,1	12,4	-
Fósforo total	mg L ⁻¹	0,09	0,10	n.d.	0,10	0,1
Nitrogênio amoniacal	mg L ⁻¹	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,7
Sólidos suspensos totais	mg L ⁻¹	5,7	12,3	15,8	43,4	-
Alumínio	mg L ⁻¹	1,600	1,977	1,57	1,30	0,1
Chumbo	mg L ⁻¹	0,043	0,037	0,012	0,007	0,01
Cobre	mg L ⁻¹	n.d.	n.d.	0,011	n.d.	0,009
Cromo total	mg L ⁻¹	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,05
Ferro	mg L ⁻¹	1,685	2,713	1,212	2,462	0,3
Níquel	mg L ⁻¹	0,010	0,008	0,038	n.d.	0,025
Zinco	mg L ⁻¹	0,008	0,006	0,047	0,064	0,18
Coliformes totais	NMP/100 mL	2490	9320	11194	15531	-
Coliformes termotolerantes	NMP/100 mL	980	4260	738	1553	200

n.d.- Não detectado pelo método.

Tabela 2. Comprimento (cm) das raízes de *Allium cepa* expostas às amostras de águas superficiais coletadas em dois pontos do Rio da Ilha em julho de 2014 (inverno) e março de 2015 (verão). Dados expressos como média±desvio padrão.

	Verão	Inverno
Controle	2,62±0,49	3,76±1,41
Ilha nascente	2,53±0,49	4,77±0,47
Ilha foz	2,98±0,37	4,48±1,04

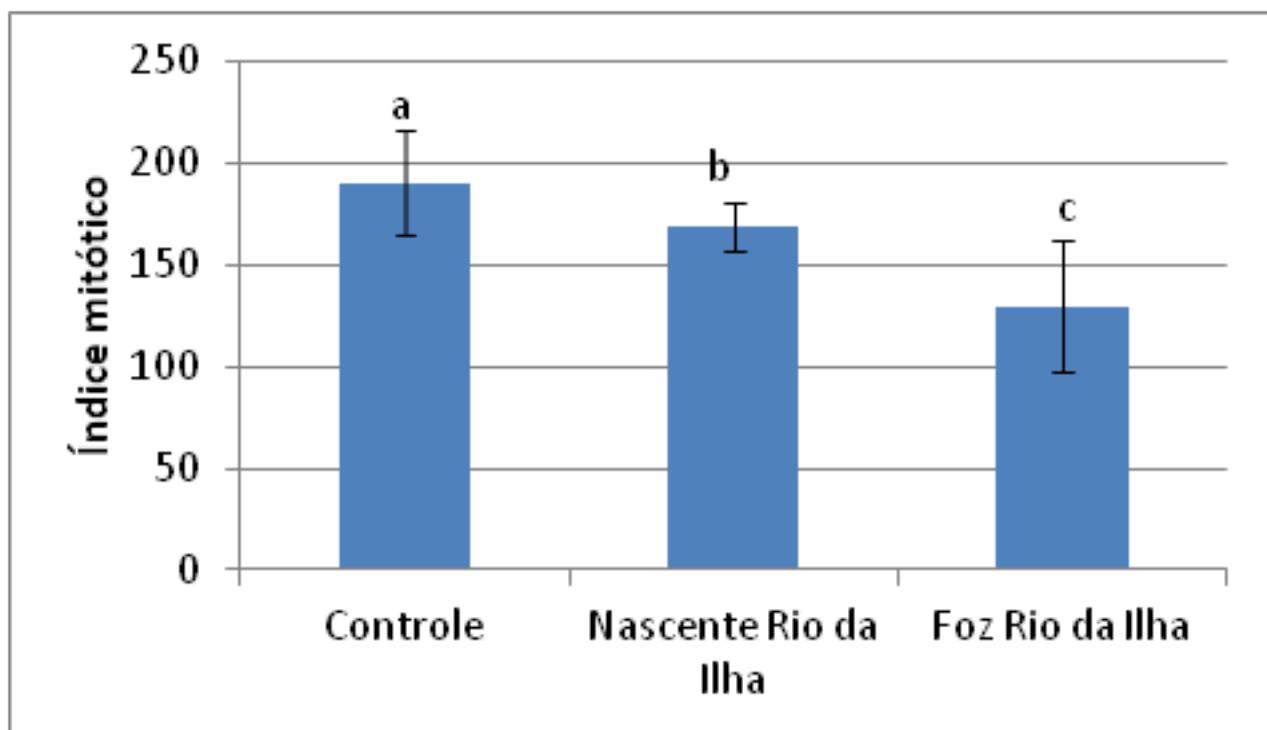


Figura 1. Índice mitótico em 1000 células em meristemáticas de *Allium cepa* expostas às amostras de águas superficiais coletadas em dois pontos do Rio da Ilha em julho de 2014 (inverno). Dados expressos como média±desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

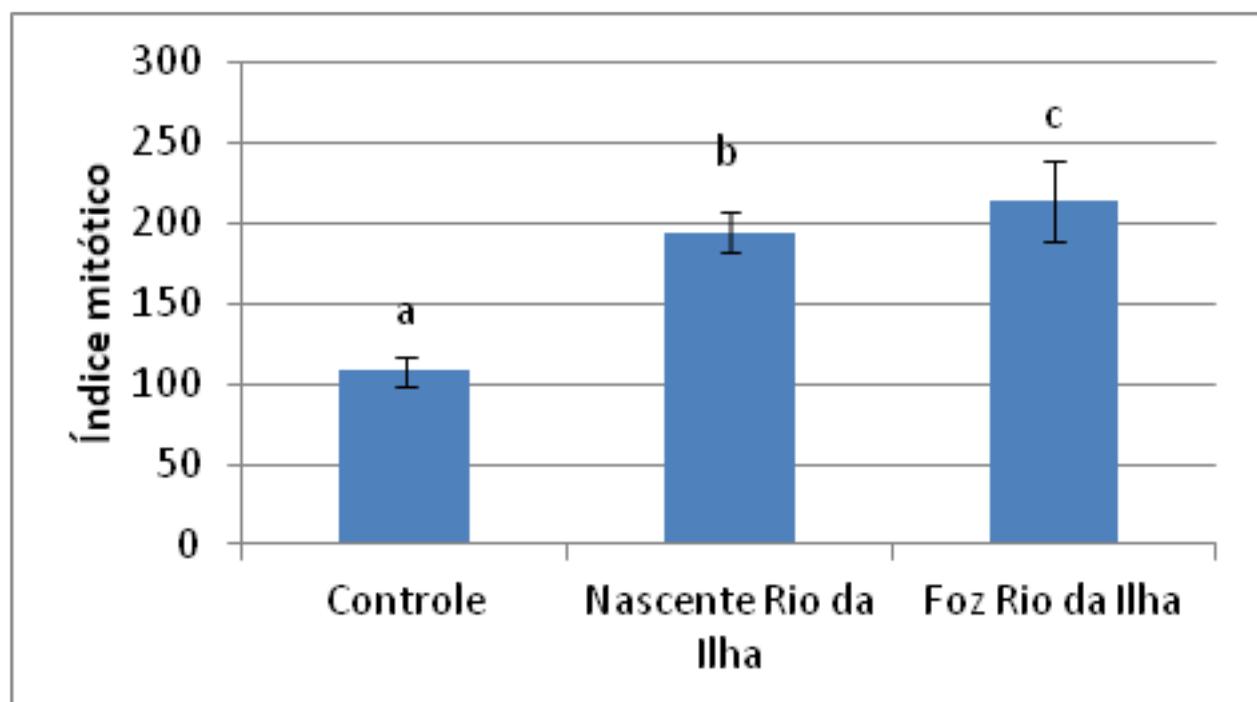


Figura 2. Índice mitótico em 1000 células em meristemáticas de *Allium cepa* expostas às amostras de águas superficiais coletadas em dois pontos do Rio da Ilha em março de 2015 (verão). Dados expressos como média±desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

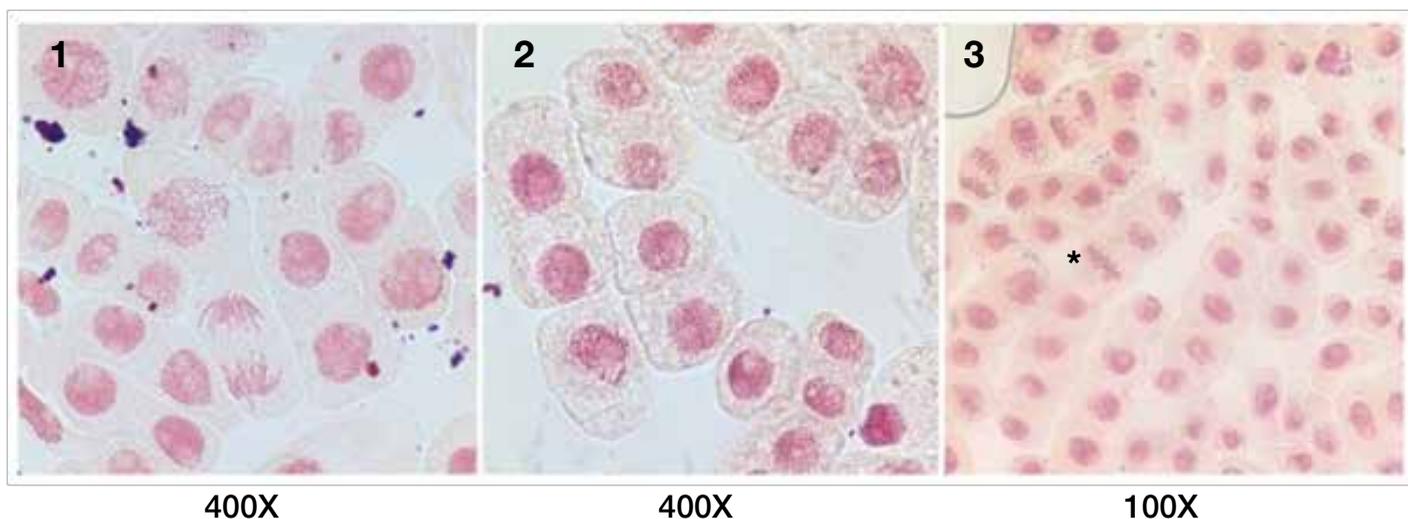


Figura 3. Células normais de *Allium cepa* visualizadas em microscópio óptico e fotografadas pelo próprio autor (1- Células em anáfase; 2- Células em interfase; 3- imagem de um campo em menor aumento com células em metáfase (*) e outras fases da divisão celular)

Discussão

De acordo com a Portaria N° 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde (Brasil 2011), água potável é aquela água para o consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade e não ofereça riscos à saúde. Essas condições são alteradas por fontes poluidoras como o lançamento indiscriminado de esgotos domésticos, controle inadequado dos efluentes industriais e práticas agrícolas inadequadas (Moraes e Jordão 2002). A resolução N° 357/ 2005 do CONAMA, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água, classifica as águas doces em Classes 1, 2, 3 e 4, sendo a classe 1 destinada ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado, e classe 4 somente à navegação. Tendo em vista que para o trabalho foram realizadas coletas no Rio da Ilha em duas estações, mais coletas com uma menor periodicidade seriam necessárias para avaliar o nível de coliformes termotolerantes e assim, classificá-lo.

Para melhor embasamento dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos, foram consultados os dados de pluviosidade da região (através do Accuweather), e verificou-se que a incidência de chuva foi maior nos dez dias que antecederam à coleta de verão (94,5 mm) do que nos dez dias que antecederam à coleta de inverno (79,1 mm), o que pode justificar os va-

lores diminuídos de metais na coleta de verão quando comparados a de inverno. Sánchez-Chardi et al. (2008), afirmam que metais em elevadas concentrações possuem efeitos nocivos, como alta toxicidade, genotoxicidade, e também um efeito carcinogênico em humanos e animais de laboratório, destaca-se que os maiores valores de metais observados foram na coleta de inverno. Ressalta-se também um aumento considerável dos níveis de coliformes totais e termotolerantes em ambas as coletas quando comparados com o estudo realizado por Fontanella et al. (2008), onde cinco pontos do Rio da Ilha foram amostrados. Quanto à DBO₅ (que é definida como a quantidade de oxigênio necessária para oxidar a matéria orgânica biodegradável sob condições aeróbicas, em 05 dias) em elevadas concentrações num corpo de água, são provocados por despejos de origem predominantemente orgânica (Macedo, 2010).

Em relação aos resultados obtidos a partir do bioensaio com *A. cepa*, o presente estudo obteve resultados similares a outros estudos quanto à ausência de aberrações cromossômicas (Barberio et al. (2009) analisaram amostras de água do Rio Paraíba do Sul (São Paulo), Amaral et al. (2007) usaram amostras do Rio Tapanhon (também no Estado de São Paulo), Junior et al. (2007) coletaram amostras de um arroio de Estância Velha, RS). Em contrapartida, outros autores encontraram aberra-

ções cromossômicas em rios conhecidamente poluídos, como Silva e Nascimento (2013) que avaliaram a citogenotoxicidade de amostras do Rio Tietê (importante rio do Estado de São Paulo e exemplo de poluição hídrica), e Oliveira et al. (2012) que avaliaram a genotoxicidade da água do Rio dos Sinos, com pontos de coleta nos município de Novo Hamburgo e São Leopoldo.

Apesar do Rio da Ilha não ter demonstrado resultados genotóxicos, apresentou dados significativos de citotoxicidade no período amostral de inverno na foz do Rio da Ilha, corroborando com dados da literatura que também foram realizados na bacia do Rio dos Sinos (Junior et al. 2007; Nunes et al. 2011). Na coleta de verão, houve um aumento significativo do índice mitótico em ambos os pontos do rio quando comparados ao grupo controle, a literatura sugere que o aumento do índice mitótico possa ser tão prejudicial quanto à diminuição (Odeigah et al. 1997; Marcano et al. 2004; Chandra et al. 2005), inclusive podendo gerar uma proliferação celular desordenada e, eventualmente, a formação de tumores (Leme e Marin- Morales 2009).

De modo geral, a foz do Rio da Ilha foi o ponto que mais obteve dados de citotoxicidade nos períodos amostrados, o que pode ser justificado pela maior proximidade aos impactos antropogênicos. Além disso, mesmo que não tenham sido encontrados dados de genotoxicidade e toxicidade, as análises físico-químicas e microbiológicas demonstraram alguns parâmetros elevados em ambos os pontos e períodos amostrados. A avaliação deste recurso hídrico faz-se relevante por sua proximidade ao principal rio da região, no entanto, outros estudos são necessários a fim de verificar a origem ou possibilidade desses compostos serem edáficos.

Agradecimentos: ao apoio financeiro e estrutural da Universidade Feevale e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

Referências

Almeida M.A.B., Schwarzbald, A. Avaliação sazonal da qualidade da água do arroio da Cria. Montenegro –RS, com aplicação de um índice de qualidade de água (IQA). Revista Brasileira de Recursos Hídricos. 2003;8(1):81-97.

Amaral A.M., Barbério A., Voltolini J.C., Barros L. Avaliação preliminar da citotoxicidade e genotoxicidade da água da bacia do Rio Ta-

panhon (SP – Brasil) através do teste *Allium cepa*. Revista Brasileira de Toxicologia. São Paulo, 2007;20(1):65-72.

Andrade E.M., Araújo L.F.P., Rosa M.F., Disney W., Alves A.B. Seleção dos indicadores da qualidade das águas superficiais pelo emprego da análise multivariada. Engenharia Agrícola. 2007;27(3):683-690.

American Republic Health Association (APHA), American water works association, water environmental federation. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 20th Ed. Washington, D.C.; AWWA, WEF, 1998.

Arraes A.I.O.M., Longhin S.R. Otimização de ensaio de toxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* como organismo teste. Encyclopedia Biosphere. 2012;8(14):1958.

Ateeq B., Farah M.A., Ali M.N., Ahmad W. Clastogenicity of pentachlorophenol, 2-4 D and butachlor evaluated by *Allium* root tip test. Mutation Research. 2002;514(1):105-113.

Barbério A., Barros L., Voltolini J.C., Mello M.L.S. Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the Brazilian river Paraíba do Sul with the *Allium cepa* test. Brazilian Journal of Biology. 2009;69(3):837-842.

Brasil, Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade, Diário Oficial da União, 2011.

Chandra S., Chauhan L.K.S., Murthy R.C., Saxena P.N. Pand from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. Total Environ. 2005;346:56-9.

Dias N.S, Silva T.C., Filho G.P.B., Badreddine J.F., Matozinho H.H.S., Resende, M.R., Gomes, F.O. Estudo dos efeitos mutagênicos e citotóxicos do confrei (*Symphytum officinale*) no ciclo celular de *Allium cepa*. Revista Eletrônica de Farmácia. 2013;10(3):20-9.

Feitosa F.A.C., Manoel Filho J. Hidrogeologia – conceitos e aplicações. 2th ed. Fortaleza: CRPM/ REFO; LABHID- UFPE, 2000.

Fiskesjö G. *Allium* test: In vitro toxicity testing protocols, Methods in Molecular Biology. 1995;43:119-127.

Fiskesjö G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. Hereditas. 1985;102(1):99-112.

Fontanella A.C., Coutinho A., Perry C., Rheinheimer C., Schneck F., Lob G., Mattei G., Silva, J., Mahfus J., Tallini K., Amaral, K.F, Vasconcelos, M., Bergmann M., Langone P., Pereira, R., Silva R.R.V., Ávila T., Soldatelli V., Hartz S.M., Rodrigues G.G., Guerra T. Diagnóstico ambiental da bacia hidrográfica do Rio da Ilha, Taquara, Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Biociências. 2008;7(1):23- 41.

Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler (FEPAM). [em linea] 2009. [Consulta: 3 de junho 2015]. Disponível em: <http://www.fepam.rs.gov.br>.

Guerra M., Souza, M.J. Como observar cromossomos – Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. 1ª Edição, FUNPEC, Ribeirão Preto. 2012.

Junior H.M., Silva J., Arenzon A., Portela C.S., Ferreira I.C.F.S., Henriques J.A.P. Evaluation of genotoxicity and toxicity of water and sediment samples from a Brazilian stream influenced by tannery industries. Chemosphere. 2007;67(6):1211-7.

Lacerda L.D., Santos J.A., Lopes, D.V. Fate of copper in intensive shrimp farms: bioaccumulation and deposition in pond sediments. Brazilian Journal of Biology. 2009;69(3):851-8.

Leme D.M., Marin- Morales, M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. Mutation Research, 2009;682(1):71-81.

Leme D.M., Marin- Morales, M.A. Avaliação da qualidade de águas impactadas por petróleo por meio de sistema teste biológico (*Allium cepa*) – Um estudo de caso. 4º Congresso Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento em Petróleo e Gás, Campinas. 2007.

Macedo J.C. Qualidade das águas do Rio dos Sinos, 2010.

Marcano L., Carruyo I., Del Campo A., Montiel X. Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. Environmental Research. 2004;94(2):221-6.

Moraes D.S.L., Jordão B.Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. Revista Saúde Pública. 2002;36(3):370-4.

Nunes E.A., Lemos C.T., Gavronski L., Moreira T.N., Oliveira N.C.D., Silva J. Genotoxic assessment on river water using different biological systems. Chemosphere, 2011;84(1):47-53.

Odeigah P.G.C., Nurudeen O., Amaund O.O. Genotoxicity of oil field wastewater in Nigeria. Hereditas. 1997;126(2):161-7.

Oliveira J. P. W., Santos R. N., Pibernat C. C., Boeira J. M. Genotoxicity and physical chemistry analysis of Waters from Sinos River (RS) using *Allium cepa* and *Eichhornia crassipes* as bioindicators. BBR – Biochemistry and Biotechnology Reports. 2012;1(1):15-22.

Payne A.I. The ecology of tropical lakes and Rivers. Chichester: John Wiley and Sons. 1986.

Rechenmacher C., Siebel A.M., Goldoni A., Klauck C.R., Sartori T., Rodrigues M.T., Rodrigues M.A.S., Gehlen G., Ardenghi P.G., Silva L.B. A multibiomarker approach in rats to assess the impact of pollution on Sinos River, Southern Brazil. Brazilian Journal of Biology. 2010;70(4):1223-1230.

Sánchez-Chardi A., Marques C.C., Gabriel S.I., Capela- Silva F., Cabrita A.S., López- Fuster M.J., Nadal J., Mathias M.L. Haematology, genotoxicity, enzymatic activity and histopathology as biomarkers of metal pollution in the shrew *Crocidura russula*. Environmental Pollution. 2008;156(3):1332-1339.

Santos R.S., Mohr T. Saúde e qualidade da água: Análises microbiológicas e físico-químicas em águas subterrâneas. Revista contexto e saúde. 2013;13(24/25):26-53.

Silva C.C., Nascimento F.M. Citogenotoxicidade de amostras de água do Rio Tietê em células meristemáticas radiculares de *Allium cepa*. Atas de saúde ambiental. 2013;1(1):26-35.

Silva L.P., Bosso A.A., Cardoso S.C. Avaliação da Citotoxicidade da Própolis em Células Meristemáticas de *Allium cepa*, UNOPAR Científica Ciências Exatas e Tecnológicas. 2010;9(1):67-70.

Tedesco Solange Bosio, Laughinghouse I.V. Bioindicator of genotoxicity: the *Allium cepa*

test. INTECH Open Access Publisher. 2012, p. 138- 156.

Vieira D., Vicentini V.E.P. Estudo do efeito mutagênico do floxacina em *Allium cepa*. Genet Mol Biol Supplement. 42° Congresso Nacional de Genética, Goiânia, Brasil. 1997.