



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS DA SAÚDE E BIOLÓGICAS**

Cinthia Silva dos Santos Vieira

**INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE E CITOGENOTOXICIDADE DA
FULIGEM ORIUNDA DA QUEIMA DA CANA-DE-AÇÚCAR MEDIANTE
OS BIOENSAIOS GENÉTICOS *Allium cepa* L. e *Lactuca sativa* L.**

Petrolina

2021



CINTHIA SILVA DOS SANTOS VIEIRA

**INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE E CITOGENOTOXICIDADE DA
FULIGEM ORIUNDA DA QUEIMA DA CANA-DE-AÇÚCAR MEDIANTE
OS BIOENSAIOS GENÉTICOS *Allium cepa* L. e *Lactuca sativa* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação Ciências da Saúde e Biológicas da Universidade Federal do Vale do São Francisco, *campus* Petrolina-PE, como requisito para obtenção de título de Mestre em Ciências, com ênfase na linha de pesquisa: Saúde, Sociedade e Ambiente.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patricia Avello Nicola

Coorientador interno: Prof. Dr. Acácio Figueiredo Neto

Coorientadora externa: Prof.^a Dr.^a Kyria Cilene de Andrade Bortoleti

Petrolina

2021

V658i Vieira, Cinthia Silva dos Santos
Investigação da toxicidade e citogenotoxicidade da fuligem oriunda da queima da cana-de-açúcar mediante os bioensaios genéticos *Allium cepa* L. e *Lactuca sativa* L. / Cinthia Silva dos Santos Vieira. – Petrolina - PE, 2021.
xi, 45 f.: il.; 29 cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde e Biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Petrolina-PE, Petrolina-PE, 2021.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Patricia Avello Nicola.

1. Poluição atmosférica. 2. Alteração cromossômica. 3. Germinação – Petrolina (PE). 4. Cana-de-açúcar – Fuligem – Vale do São Francisco. 5. Saúde ambiental e humana. I. Título. II. Nicola, Patricia Avello. III. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 363.7392

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PÓS GRADUAÇÃO CIÊNCIAS DA SAÚDE E BIOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

CINTHIA SILVA DOS SANTOS VIEIRA

INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE E CITOGENOTOXICIDADE DA FULIGEM
ORIUNDA DA QUEIMA DA CANA-DE-AÇÚCAR MEDIANTE OS BIOENSAIOS
GENÉTICOS *Allium cepa* L. e *Lactuca sativa* L.

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências, com ênfase na linha de pesquisa: Saúde, Sociedade e Ambiente, pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovada em: 15 de setembro de 2021

Banca Examinadora

Patrícia Avello Nicola

Patrícia Avello Nicola (17 de September de 2021 11:28 ADT)

Patrícia Avello Nicola, Doutora
Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf

Ana Christina Brasileiro Vidal

Ana Christina Brasileiro Vidal (1 de October de 2021 10:29 ADT)

Ana Christina Brasileiro Vidal, Doutora
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Cheila Natay Galindo Bedor

Cheila Natay Galindo Bedor (1 de October de 2021 14:19 ADT)

Cheila Natay Galindo Bedor, Doutora
Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf

À minha avó, **Maria Pequena** (*in memoriam*), que sempre será um exemplo de garra e força para mim.

AGRADECIMENTOS

À Deus, Autor e Consumador da minha fé, que me deu forças para chegar ao fim de mais uma etapa da minha vida.

À minha mãe, Ivonete, por todo o seu amor e compreensão. Essa conquista faz parte do esforço que a senhora fez para me criar sozinha e me possibilitar estudar e me tornar alguém que ama a Ciência. “Te amo, mamis”.

Ao meu esposo, Charles, pelo seu companheirismo e carinho nos momentos difíceis, pelo seu amor, cuidado, por sempre me incentivar e tornar tudo mais leve. Amo você. À minha família, por sempre torcer por mim e vibrar com as minhas conquistas. Alegro-me muito em poder orgulhar vocês.

Ao meu sogro, Cecílio, por todo o seu cuidado comigo e por se disponibilizar a me ajudar nas várias tentativas de coleta do material do trabalho (risos).

Ao Laboratório de Bromatologia da UNIVASF, na pessoa do professor Mário Queiroz e daqueles que me ajudaram na obtenção do material de estudo. O altruísmo existe na Pesquisa e posso provar através das pessoas que me ajudaram na fase inicial do trabalho. Certamente, nunca esquecerei desse laboratório.

À Matheus e ao professor Dráulio, do laboratório de Bioquímica do Cemafauna Caatinga, pela ajuda, ainda na parte inicial do trabalho.

À Fabrício e a Samara pela disponibilidade de me ajudar em parte do experimento. Fico feliz em ver que a tendência em ajudar os colegas de laboratório permanece no “Laboratório MCGmol”.

À Palloma, minha amiga, que me apoiou e me incentivou durante o mestrado, mesmo estando longe, também cursando uma pós-graduação.

Ao meu grupo da Pós-Graduação, Ívina, Izabella, Thaiana, Thaís e Modesto, por serem companhias maravilhosas, conselhos necessários e ajuda na hora certa.

À Igreja Batista Missionária, pelas orações e por ser um lugar onde encontro refúgio e paz.

Ao meu coorientador, Acácio, pela sua vontade de ver o andamento do projeto e me auxiliar no desenvolvimento de um esquema experimental no início do trabalho.

À minha coorientadora, Kyria Bortoleti, por continuar seguindo comigo nessa jornada científica. Mesmo estando a muitos quilômetros de distância e também estando engajada em outras atividades de pesquisa, sempre mostrou-se solícita para me ajudar no que fosse necessário e me encorajar sempre.

À minha orientadora, Patricia Nicola, que me mostrou uma humanidade gigantesca. Aceitou o desafio de encarar a interdisciplinaridade que a Pós-Graduação sugere, com toda a coragem e dedicação que só ela tem, mesmo com a sua agenda surreal (risos).

Ao Cemafauna Caatinga, nas pessoas da professora Patricia Nicola e do professor Luiz Cezar, por me permitirem utilizar da infraestrutura necessária para a realização do trabalho.

Ao Programa de Pós Graduação Ciências da Saúde e Biológicas, em nome da coordenadora, Patrícia Nicola, da administração da pós, dos professores e de toda a minha turma pela solicitude e atenção.

À UNIVASF, pela estrutura e a oportunidade de realizar a minha graduação e pós-graduação sem precisar me deslocar para outra cidade.

À CAPES, pelo incentivo ao desenvolvimento da pesquisa no país.

RESUMO

A produção de cana-de-açúcar no Vale do São Francisco é uma atividade bastante rentável e tem tomado uma proporção cada vez maior na região, devido às favoráveis condições de plantio da cultura, como clima e sistema de irrigação. Contudo, essa prática é uma das responsáveis pela poluição atmosférica, decorrente da queima da palha da cana-de-açúcar no período de safra. O material oriundo dessa queima apresenta uma elevada carga de compostos químicos, os quais estão relacionados com processos carcinogênicos e mutagênicos, como é o caso dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Além disso, a fuligem afeta muitas regiões nas redondezas da indústria, a ressaltar os municípios próximos e as plantações agrícolas. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo investigar a toxicidade e citogenotoxicidade da fuligem resultante da queima de cana-de-açúcar, mediante o bioensaio com *Lactuca sativa* e *Allium cepa*, respectivamente. Sementes de alface e de cebola foram germinadas em placas de Petri, contendo 0,25 g, 0,5 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g de fuligem, MMS (metilmetano-sulfonato 4×10^{-4} Mv) e herbicida Trifluralina (0,84 ppm de princípio ativo) (ambos controles positivos) e água ultrapura (controle negativo). Decorrido o período de exposição, foram anotados a quantidade de sementes germinadas e a medição das raízes, para obtenção do índice de fitotoxicidade. Para o ensaio de citogenotoxicidade, 20 raízes de cebola foram coletadas, medidas, fixadas em Carnoy e utilizadas na preparação das lâminas por esmagamento seguindo o método de Feulgen. Os resultados mostraram a influência da fuligem sobre a taxa de germinação de sementes de alface, onde a maior redução na germinação, foi observada na quantidade de 3,0 g (30,83%) em comparação ao controle negativo (96,67%). De igual modo, foi observado na germinação de cebola. Os dados de crescimento das raízes em alface corroboraram os resultados da germinação absoluta, demonstrando interferência no tamanho das raízes de todos os tratamentos testados, o que indica a ação tóxica da fuligem. Em relação ao ensaio citogenotóxico com cebola, foi observada redução no índice mitótico para todos os tratamentos de fuligem, o que indica ação citotóxica. Foi notada ainda, ação genotóxica da fuligem, de modo que todas as quantidades testadas, com exceção da menor quantidade [0,25g (0,39%)], tiveram um aumento no índice de alterações cromossômicas em comparação ao controle negativo. O presente trabalho demonstrou que a utilização de organismos-teste na avaliação de poluentes atmosféricos é imprescindível para compreender os tipos de danos que tais podem causar nos organismos expostos e no ambiente.

Palavras-chave: Poluição atmosférica. Alteração cromossômica. Germinação.

ABSTRACT

Sugarcane production in the São Francisco Valley is a very profitable activity and has taken an increasing proportion in the region, due to the favorable conditions for planting the crop, such as climate and irrigation system. However, this practice is one of those responsible for atmospheric pollution, resulting from the burning of sugarcane straw during the harvest period. The material from this burning has a high load of chemical compounds, which are related to carcinogenic and mutagenic processes, such as polycyclic aromatic hydrocarbons. In addition, soot affects many regions in the vicinity of the industry, highlighting nearby municipalities and agricultural plantations. In this sense, the present work aimed to investigate the phytotoxicity and cytogenotoxicity of the soot resulting from the burning of sugarcane, through the bioassay with *Lactuca sativa* and *Allium cepa*, respectively. Lettuce and onion seeds were germinated in Petri dishes, containing 0.25 g, 0.5 g, 1.0 g, 2.0 g and 3.0 g of soot, MMS (methylmethanesulfonate 4×10^{-4} Mv) and Trifluralin herbicide (0.84 ppm of active ingredient) (both positive controls) and ultrapure water (negative control). After the exposure period, the amount of germinated seeds and the measurement of the roots were noted, to obtain the phytotoxicity index. For the genotoxicity test, 20 onion roots were collected, measured, fixed in Carnoy and used in the preparation of the blades by crushing following the method of Feulgen. The results reduced the influence of soot on the germination rate of lettuce seeds, where the greatest reduction in germination was observed in the amount of 3.0 g (30.83%) compared to negative control (96.67%). Likewise, it was observed in onion germination. The root growth data in lettuce corroborated the absolute germination results, demonstrating interference in the size of the roots of all tested treatments, which indicates the toxic action of the soot. Regarding the cytogenotoxic assay with onion, a reduction in the mitotic index was observed for all soot treatments, which indicates a cytotoxic action. The genotoxic action of the soot was also noted, so that all quantities tested, except for the smallest amount [0,25 g (0,39%)]. The present work demonstrated that the use of test organisms in the evaluation of air pollutants is essential for understanding the types of damage they can cause to exposed organisms and to the environment.

Keywords: Atmospheric pollution. Chromosome alteration. Germination.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1-** Fuligem obtida a partir de processo de incineração em forno mufla.....23
- Quadro 1-** Classificação qualitativa da fitotoxicidade, segundo Paradelo et al. (2008).....25
- Figura 2-** Alterações cromossômicas observadas em células meristemáticas de *Allium cepa*, utilizadas como parâmetros de citogenotoxicidade da fuligem oriunda da queima da cana-de-açúcar.....31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Análise da fitotoxicidade de diferentes quantidades de fuligem resultantes da queima da cana-de-açúcar mediante o bioensaio com *Lactuca sativa*, considerando a classificação proposta por Paradelo et al. (2008).....27

Tabela 2- Análise da citogenotoxicidade e mutagenicidade de diferentes quantidades de fuligem resultantes da queima da cana-de-açúcar mediante o bioensaio com *Allium cepa*.....29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGROVALE	Agro Indústrias do Vale do São Francisco S.A.
CEMAFAUNA	Centro de Manejo de Fauna da Caatinga
CN	Controle Negativo
CV	Cultivar
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
GA	Germinação Absoluta
HPA	Hidrocarboneto Policíclico Aromático
HVASF	Herbário Vale do São Francisco
IAC	Índice de Alteração Cromossômica
IG	Índice de Germinação
IM	Índice Mitótico
IMut	Índice de Mutagenicidade
IPCS	<i>International Programme on Chemical Safety</i> ; Programa Internacional de Segurança Química
MMS	<i>Methylmethane sulfonate</i> ; Metil Metano Sulfonato
NECMOL	Núcleo de Ecologia Molecular
OECD	<i>Organization for Economic Cooperation and Development</i> ; Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
PM	<i>Particulate Matter</i> ; Material Particulado
RIDE	Rede Integrada de Desenvolvimento Econômico
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i> ; Espécies Reativas de Nitrogênio
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> ; Espécies Reativas de Oxigênio
RRG	<i>Relative Root Growth</i> ; Porcentagem relativa do crescimento das raízes
RSG	<i>Relative Seed Germination</i> ; Porcentagem relativa de sementes germinadas
TRI	Trifluralina
UNEP	<i>United Nation Environment Programme</i> ; Programa Ambiental das Nações Unidas
UNIVASF	Universidade Federal do Vale do São Francisco

USEPA	<i>US Environmental Protection Agency</i> ; Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
VCMR	Variação do Comprimento Médio da Raiz
WRN	<i>Neutral Red Uptake</i> ; Absorção do Vermelho Neutro
WST-A	<i>Water-Soluble Tetrazolium Salt</i> ; Sal de Tetrazólio Solúvel em Água

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 ATIVIDADE ÁLCOOL-AÇUCAREIRA NO VALE DO SÃO FRANCISCO	16
3.2 A QUEIMA DA CANA-DE-AÇÚCAR E SEUS EFEITOS À SAÚDE AMBIENTAL E HUMANA.....	17
3.3 BIOENSAIOS GENÉTICOS VEGETAIS.....	19
4. METODOLOGIA	21
4.1 COLETA E PROCESSAMENTO DA CANA-DE-AÇÚCAR	21
4.2 OBTENÇÃO DA FULIGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR	22
4.3 BIOENSAIOS COM <i>Lactuca sativa</i> e <i>Allium cepa</i>	23
4.3.1 Ensaio de fitotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i>	23
4.3.2 Ensaio com <i>Allium cepa</i>	25
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
6. CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS	37

1. INTRODUÇÃO

No Vale Submédio São Francisco, as cidades de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA) lideram uma RIDE (Rede Integrada de Desenvolvimento Econômico), denominada Polo Petrolina-Juazeiro, em conjunto com os municípios Lagoa Grande, Santa Maria da Boa Vista e Orocó (PE), Casa Nova, Curaçá e Sobradinho (BA), configurando um dos principais polos de fruticultura irrigada no Brasil (OLIVEIRA, 2015). Com a implantação dos perímetros de irrigação, é apontado como o maior centro produtor de manga e uvas finas de mesa do país, contribuindo com 70% e 80% das exportações brasileiras destas culturas, bem como movimenta o comércio local com a atividade de pequenos produtores da região (JESUS DA SILVA; LIMA, 2016).

Outra atividade relevante nessa região é a de empresa álcool-açucareira, a qual tem um papel significativo na geração de empregos e de lucros (RIBEIRO; AZEVEDO, 2016). Contudo, essa atividade também vem acompanhada de diversos impactos ambientais, os quais ainda necessitam de uma maior atenção, como é o caso da poluição atmosférica, ocasionada no período de queima da cana-de-açúcar (ŠKAREK, et al., 2007).

A poluição pode ser definida como uma alteração capaz de promover a degradação de um ecossistema, por meio da remoção ou introdução, direta ou indireta, de substâncias resultantes de atividades antrópicas, como as atividades de diversas indústrias, produção de automóveis e a queima florestal que causam efeitos deletérios aos recursos biológicos e riscos à saúde humana (CHAPMAN, 1996; BRAGA et al., 2001). A poluição atmosférica é ocasionada pela persistência de substâncias na atmosfera, cuja elevada quantidade é capaz de prejudicar a existência natural dos organismos vivos e interferir no desenvolvimento humano (BAI et al., 2018).

O processo da queima da cana-de-açúcar é um dos responsáveis pela produção de HPAs (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos) e, conseqüentemente, poluição atmosférica (TFOUNI; TOLEDO, 2007). Esses compostos são oriundos da combustão de matéria orgânica, combustível fóssil, indústrias petroquímicas, incêndios florestais, entre outras fontes, e apresentam uma capacidade de absorção bastante rápida por alguns órgãos dos animais, como pele, pulmões e intestino (MEIRE et al., 2007), sendo estes já associados à processos carcinogênicos e mutagênicos (BERNARDO et al., 2016). Em adição, a queima da cana acarreta

dispersão rápida de fuligem, por se tratar de transporte de material particulado fino atmosférico, a qual pode alcançar longas distâncias, a depender da precipitação (FREITAS; SOLCI, 2009).

Os efeitos deletérios que contaminantes atmosféricos podem causar aos organismos expostos ainda não são bem difundidos, tornando necessária a realização de pesquisas envolvendo, por exemplo, o emprego de ensaios genéticos para a avaliação da toxicidade, citogenotoxicidade e mutagenicidade.

Entre eles, os bioensaios vegetais são amplamente empregados como ferramentas no diagnóstico e monitoramento ambiental, com destaque para os sistemas-testes com *Lactuca sativa* L (alface) e *Allium cepa* L. (cebola), ambos indicados por órgãos ambientais (USEPA, 1996; GRANT, 1999; OECD, 2006). O bioensaio com alface analisa o potencial fitotóxico da amostra testada, mediante avaliação da germinação e do crescimento radicular (VALERIO; GARCIA; PEINADO, 2007), enquanto que o ensaio com cebola mostra-se eficiente na identificação dos efeitos dos contaminantes em nível de ciclo celular e cromossômico (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Diante do exposto, o presente trabalho avaliou os possíveis potenciais fitotóxico, citogenotóxico e mutagênico da fuligem resultante da queima da cana-de-açúcar, matéria-prima da indústria álcool-açucareira, inferindo sobre os diversos danos à saúde humana e ambiental desta atividade no polo Petrolina-PE e Juazeiro-BA e cidades circunvizinhas.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial fitotóxico e citogenotóxico de fuligem, oriunda da queima da cana-de-açúcar em condições laboratoriais utilizando *Lactuca sativa* e *Allium cepa* como organismos-teste.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Estimar o nível de toxicidade dos compostos químicos presentes na fuligem obtida, mediante a determinação do Índice de Germinação (IG) e da Variação do Comprimento Médio das Raízes (VCMR) em *L. sativa*;
- ✓ Identificar uma possível ação citogenotóxica e mutagênica dos constituintes químicos presentes na fuligem em análise, pela estimativa do Índice Mitótico (IM), Índice de Alteração Cromossômica (IAC) e frequência de micronúcleos em células meristemáticas e F1 de *A. cepa*;
- ✓ Utilizar os ensaios de fitotoxicidade e citogenotoxicidade como parâmetros importantes na avaliação dos efeitos adversos à saúde humana e ambiental ocasionados por contaminante atmosférico.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ATIVIDADE ÁLCOOL-AÇUCAREIRA NO VALE DO SÃO FRANCISCO

No âmbito econômico brasileiro, a cana-de-açúcar é uma das culturas mais expressivas, sendo sua expansão relatada após a Segunda Guerra Mundial, com o surgimento de várias indústrias canavieiras (SZMRECSÁNYI; MOREIRA, 1991). Atualmente, o Brasil encontra-se em primeiro lugar no ranking de produtores de cana-de-açúcar em nível mundial, devido a sua produção durante praticamente todo o ano nas regiões Norte-Nordeste e Centro-Sul do país (NACHILUK, 2021).

O Norte e Nordeste brasileiro são responsáveis por cerca de 10% da produção álcool-açucareira; nessas regiões, há um predomínio do corte manual da cana-de-açúcar (RIBEIRO, 2008). Esse tipo de prática está relacionado ao pequeno investimento tecnológico para a atividade e, também, pelas características geográficas e topográficas desses locais, com alta declividade, o que dificulta a mecanização da colheita (LIMA, 2021).

O Vale do São Francisco atrai diversos investidores no ramo da agricultura, devido à possibilidade de plantio na área, propiciado pela incidência solar e a umidade favorável, além do sistema de irrigação. Considerando essas características locais, além do baixo custo de infraestrutura, a produção de cana-de-açúcar torna-se rentável na região (SOARES et al., 2003).

A única indústria sucroalcooleira do semiárido brasileiro está localizada no município de Juazeiro-BA, onde apresenta alguns produtos oriundos da produção de cana-de-açúcar. Devido as atividades desenvolvidas pela empresa, o município de Juazeiro-BA teve destaque no segmento de geração de empregos no interior do Nordeste (SOARES et al., 2003; NOTÍCIAS AGRÍCOLAS, 2019).

No polo Petrolina-PE e Juazeiro-BA, os problemas ocasionados pela persistência do material particulado no ambiente são sentidos pela população. Em decorrência disso, medidas judiciais contra a queima da cana-de-açúcar foram consideradas com intuito de minimizar esses danos. Em 2020, uma decisão liminar do Tribunal de Justiça de Pernambuco determinou a suspensão da queima da cana-de-açúcar pela indústria álcool-açucareira da região, haja vista os diversos danos ambientais e às complicações respiratórias ocasionadas, principalmente, pelo agravo à saúde de pessoas acometidas pela COVID-19, em meio a Pandemia (MOREIRA, 2020). Contudo, essa liminar foi derrubada após a empresa recorrer da decisão em 2ª instância e o desembargador responsável, alegar que não havia prejuízos decorrentes da continuação das atividades da empresa (COELHO, 2020).

3.2 A QUEIMA DA CANA-DE-AÇÚCAR E SEUS EFEITOS À SAÚDE AMBIENTAL E HUMANA

Ao longo do tempo, as atividades antrópicas têm apresentado a necessidade do aperfeiçoamento e/ou inovação tecnológica em diferentes áreas, as quais, inevitavelmente, geram o aumento da quantidade de resíduos produzidos. Essa necessidade parte do crescimento populacional, do intuito de gerar bem-estar e comodidade, além de buscar maneiras de sanar problemas caracterizados pelo conglomerado formado nas grandes cidades e suprir demandas da população. Em contrapartida, medidas de conservação para o meio ambiente, muitas vezes não acompanham essa evolução da modernização humana (POTT; ESTRELA, 2017).

A queima de biomassa, motores de automóveis, usinas termoelétricas, indústrias, entre outras, são fontes potenciais de poluição atmosférica (CANÇADO et al., 2006). Essas atividades geram o acúmulo de contaminantes no ecossistema, o qual pode ocasionar efeitos deletérios nos sistemas fisiológicos e genéticos dos organismos expostos, sendo tóxicos à saúde humana e ambiental (MATSUMOTO et al., 2006; VENTURA et al., 2008).

Dentre as fontes de poluição atmosférica, pode-se destacar a colheita manual de cana-de-açúcar, a qual é adotada por algumas indústrias álcool-açucareiras por seu baixo custo e por aumentar a quantidade do teor de açúcar devido à evaporação da água; entretanto, este processo baseia-se na queima da palha da cana-de-açúcar, tendo como produto uma fuligem dispersa no ambiente, provocando bastante prejuízos econômicos, sociais e ambientais (DE ANDRADE et al., 2010).

Os transtornos são acentuados durante o período de safra da cana-de-açúcar, o qual corresponde aos meses de maio à novembro, época com baixos índices pluviométricos. Esse fato é determinante no aumento dos problemas de saúde relacionados ao sistema respiratório humano, pois os particulados atmosféricos encontram-se concentrados na atmosfera, o que é evidenciado pela elevada ocorrência de internações em unidades de saúde (MACHIN; NASCIMENTO, 2018).

A fuligem gerada carrega diversos compostos oriundos da combustão, tais como óxido de nitrogênio, dióxido de carbono, monóxido de carbono, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, entre outros (JIMENEZ et al., 2006). Os efeitos que cada um desses compostos pode ocasionar precisam ser melhor investigados, devido à provável interação sinérgica, antagônica ou aditiva dos mesmos (BONETTA et al., 2019).

De acordo com Loureiro (2005), a Resolução CONAMA nº 003 de 28/06/90 aponta que a presença de dióxido de enxofre, partículas totais em suspensão, partículas inaláveis, fumaça, monóxido de carbono, ozônio e dióxido de nitrogênio definem os padrões de qualidade do ar; assim, o aumento desses parâmetros pode afetar a saúde ambiental e humana, sendo os mesmos considerados como poluentes atmosféricos.

No México, ao se comparar um grupo de trabalhadores envolvidos no corte da cana-de-açúcar em relação a um grupo controle, foi possível identificar uma maior frequência de micronúcleos e anormalidades nucleares nas células epiteliais da mucosa oral dos indivíduos expostos às cinzas da queima de cana-de-açúcar. Tal dado reforça a informação que os componentes resultantes desse processo de combustão causam danos ao DNA dos indivíduos expostos, tornando esses trabalhadores mais susceptíveis a desenvolverem algumas doenças, como o câncer (MARTÍNEZ-VALENZUELA, 2015).

3.3 BIOENSAIOS GENÉTICOS VEGETAIS

Com o aumento da densidade populacional global, a poluição ambiental tem se agravado, de maneira a deixar um alerta sobre as consequências que os agentes poluentes podem ocasionar à saúde ambiental e humana, uma vez que as fontes difusas ou pontuais de poluição têm a capacidade de alterar consideravelmente características ambientais e dos organismos (RODRIGUES et al., 2013).

Neste sentido, os testes ecotoxicológicos mostram-se como importantes ferramentas na avaliação do potencial tóxico de substâncias químicas e dos efeitos deletérios das condições ambientais adversas sobre os organismos em diferentes níveis tróficos. Desta forma, eles fornecem suporte ao estabelecimento de limites para produtos químicos comerciais no ambiente e, conseqüentemente, ao diagnóstico de qualidade ambiental, bem como embasam decisões na gestão e recuperação de áreas contaminadas (CAMPAGNA-FERNANDES et al., 2016).

Os bioensaios são realizados seguindo recomendações nacionais e internacionais e diferentes organismos procarióticos e/ou eucarióticos são comumente utilizados no biomonitoramento ecotoxicológico, entre eles, leveduras, bactérias, animais e vegetais (ANDRADE-VIEIRA et al., 2012; PRIAC et al., 2017). Em termos gerais, os ensaios com procariotos detectam agentes que induzem mutação gênica e danos primários ao DNA, enquanto que as análises com eucariotos identificam danos de grande extensão, variando de mutações gênicas a danos cromossômicos (LEME; MARIN-MORALES, 2009; SOUSA; VICCINI, 2011)

Os bioensaios com vegetais destacam-se pela sensibilidade, baixo custo, rapidez, fácil acessibilidade e manuseio (FISKESJÖ, 1985; LEME; MARIN-MORALES, 2009; ANDRADE et al., 2010); são usados para avaliar os efeitos biológicos de substâncias simples ou compostas em organismos complexos, identificando a atuação destes compostos em nível tóxico, citogenotóxico, mutagênico e/ou carcinogênico (LEME; MARIN-MORALES, 2009). Estes bioensaios apresentam uma boa correlação, quando comparados a outros sistemas testes, principalmente com o de mamíferos, notando-se uma correlação de 82% em relação ao teste de carcinogenicidade em roedores. Além disso, apresentam praticamente a mesma sensibilidade do sistema-teste de algas e linfócitos humanos (FISKESJO, 1985; MAURO et al., 2014; PALMIERI et al., 2016).

Cucumis sativus L. (pepino), *Raphanus* spp L. (rabanete), *Trifolium pratense* L. (trevo vermelho), *Triticum aestivum* L. (trigo) e *Lactuca sativa* L. (alface) são as principais espécies vegetais recomendadas para testes de fitotoxicidade pelo USEPA (*US Environmental Protection Agency*; Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) (USEPA, 1996) e OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*; Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) (OECD, 2006).

O bioensaio com sementes de *L. sativa* é definido como estático e pode ser usado para avaliar a toxicidade aguda (ANDRADE et al., 2010). É um teste que permite a análise do efeito tóxico dos contaminantes pela taxa de germinação de sementes e pelo desenvolvimento das plântulas, seja pela medição do comprimento da raiz ou avaliação da parte aérea (RIVETTA et al., 1997; MUHAMMAD et al., 2006; BAGUR-GONZÁLEZ et al., 2011; NUNES et al., 2014; SILVEIRA et al., 2014). Esta aplicação está associada ao elevado número de sementes, germinação rápida e homogênea, o alto grau de contato com a substância em estudo, crescimento linear das raízes, a elevada sensibilidade, alta tolerância a diferentes condições de cultivo e os grandes cromossomos de alface ($2n=18$) (MATOBA, 2007; CAMPOS et al., 2008; CAMPAGNA-FERNANDES et al., 2016).

Diante desta ampla versatilidade e aplicabilidade, o bioensaio com *L. sativa* tem sido utilizado na avaliação de solo que sofre com influência de agrotóxicos (SOUSA et al., 2014), de água receptora de efluentes industriais (LYU et al., 2018), de poluentes ambientais (SILVEIRA et al., 2017) e da dosagem de agentes químicos (BELZ et al., 2018).

Por sua vez, os ensaios citogenéticos têm sido amplamente usados na avaliação de compostos químicos, em condições *in vivo* e/ou *in vitro*, mediante a identificação de alterações do Índice Mitótico (IM), o Índice de Alterações Cromossômicas (IAC) e frequência de micronúcleos e quebras cromossômicas (IMut), como parâmetros de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade respectivamente. Em adição, essas alterações permitem identificar ação aneugênica dos compostos estudados, a qual compromete a separação das cromátides durante a divisão celular, e/ou clastogênica, que promove quebras no material genético (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Para avaliação citogenotóxica, as espécies mais utilizadas são *Allium cepa* L. (cebola), *Zea mays* L. (milho), *Vicia faba* L. (faveira), *Tradescantia* L., *Nicotiana*

tabacum L. (tabaco), *Crepis capillaris* L. (almeirão) e *Hordeum vulgare* L. (cevada) (SOUSA; VICCINI, 2011). Dentre essas plantas, o sistema-teste *A. cepa* tem sido indicado pela USEPA (*US Environmental Protection Agency*; Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos), IPCS (*International Programme on Chemical Safety*; Programa Internacional de Segurança Química) e UNEP (*United Nation Environment Programme*); Programa Ambiental das Nações Unidas) como um ensaio eficiente para análise genotóxica em diferentes tipos de amostras (GRANT, 1999), uma vez que as raízes crescem em contato direto com a substância de interesse (efluente, toxina, compostos químicos, entre outros), permitindo prever possíveis danos ao DNA eucariótico (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; TEDESCO; LAUGHINGHOUSE, 2012).

De acordo com alguns autores, a alta sensibilidade em detectar uma ampla variedade de contaminantes ambientais de *A. cepa* também está relacionada à algumas características que são próprias da espécie, como a presença de cromossomos grandes, com número reduzido ($2n=16$) e morfologia bem definida, permitindo a fácil identificação de alterações cromossômicas; apresenta um crescimento radicular rápido, grande quantidade de células em divisão, elevada tolerância a diferentes condições de cultivo, disponibilidade durante todo o ano, baixo custo e fácil manuseio (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; LEME; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008; LEME; MARIN-MORALES, 2009).

O bioensaio com *A. cepa* tem sido utilizado na avaliação das características genotóxicas de extrato de plantas (TEIXEIRA et al., 2003; AKINBORO; BAKARE, 2007; NEVES et al., 2014; ALMEIDA et al., 2016;), fármacos (NEFIC et al., 2013; ONWUAMAH et al., 2014), mas principalmente em estudo de avaliação de poluição ambiental, incluindo análise de herbicidas (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007), metais pesados (OLIVEIRA; SANTOS; BOEIRA, 2012), efluentes agrícolas, domésticos e industriais (UKAEGBU; ODEIGAH, 2009; PEREIRA, 2016) e monitoramento da qualidade da água (ATHANÁSIO et al., 2014).

4. METODOLOGIA

4.1 COLETA E PROCESSAMENTO DA CANA-DE-AÇÚCAR

Ponteiras da espécie *Saccharum officinarum* L., a cana-de-açúcar, foram coletadas manualmente, com auxílio de facões e foices, em uma área experimental localizada no *Campus* Ciências Agrárias - UNIVASF, Petrolina/PE (09°19'12,0" S 40°33'44,3" W), no período de dezembro de 2019. A espécie encontra-se registrada no Herbário Vale do São Francisco (HVASF), com o número de tombo 24230. Considerando a quantidade de material coletado, as ponteiros de cana foram trituradas em triturador forrageiro, no setor de produção do *campus* Ciências Agrárias – UNIVASF, resultando em pequenas partículas da cana-de-açúcar, as quais foram armazenadas em saco tipo *nylon*.

Tal material foi transportado para o Laboratório de Citogenética, localizado no Núcleo de Ecologia Molecular (NECMOL) do Centro de Manejo de Fauna da Caatinga (CEMAFAUNA) – UNIVASF, onde foi submetido à secagem em estufa à 55°C por 72h e armazenado em recipiente de plástico coberto com papel filme à temperatura ambiente.

4.2 OBTENÇÃO DA FULIGEM DE CANA-DE-AÇÚCAR

O material seco foi moído em forrageira com filtro, resultando em partículas bem pequenas, as quais foram incineradas em forno mufla, seguindo o protocolo do Documento 236- Procedimentos para Análise Lignocelulósica- EMBRAPA (MORAIS et al., 2010), com algumas modificações descritas a seguir. O pó foi submetido ao forno mufla à uma temperatura de 250°C por 30 minutos, com rampa de aquecimento de 8°C por minuto, obtendo-se a fuligem (Figura 1). Por fim, o material obtido foi armazenado em potes plásticos vedados com parafilme à temperatura ambiente, para utilização posterior nos testes de toxicidade e citogenotoxicidade.

Figura 1. Fuligem obtida a partir de processo de incineração da cana-de-açúcar em forno mufla.



Fonte: Cinthia Silva (2020)

4.3 BIOENSAIOS COM *Lactuca sativa* e *Allium cepa*

4.3.1 Ensaio de fitotoxicidade com *Lactuca sativa*

Com o intuito de verificar uma possível ação tóxica da fuligem obtida, sementes de alface cv. Cinderela foram expostas à diferentes quantidades de fuligem (0,25 g, 0,5 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g), bem como ao controle negativo (água ultrapura) e positivos [Herbicida Trifluralina (0,84 ppm de princípio ativo), droga de ação aneugênica] e [Methylmethane sulfonate; Metil metano sulfonato (4×10^{-4} Mv), droga de ação clastogênica], totalizando oito tratamentos.

Para cada tratamento, o número de 120 sementes foi disposto em três placas de Petri (40 sementes/placa; três repetições) forradas com tecido *voile* (tratamento com a fuligem) ou papel de filtro (controles negativo e positivos), contendo as respectivas quantidades de fuligem umedecidas com 10 mL de água destilada e os controles negativo e positivos. Tais placas de Petri foram mantidas à 25°C por 72h; após esse período, o número de sementes germinadas foi anotado e o comprimento médio de 20 raízes germinadas, selecionadas aleatoriamente, foi medido.

A partir desses dados, foram calculadas a Germinação Absoluta (GA) e o Índice de Germinação (IG), sendo este último utilizado para a classificação da fitotoxicidade (PARADELO et al., 2008). Para obtenção da GA, a seguinte equação foi aplicada:

$$\% GA = \frac{\text{Número de sementes germinadas}}{\text{Número de sementes totais}} \times 100$$

Por sua vez, o cálculo do IG foi realizado a partir da quantificação da RSG (*Relative Seed Germination*; Porcentagem Relativa de Germinação de Sementes) e da RRG (*Relative Root Growth*; Porcentagem Relativa do Crescimento das Raízes), segundo Tiquia et al. (1996) e com modificações propostas por Vasconcelos et al. (2013). Para o cálculo da % RSG, utilizou-se a equação abaixo:

$$\% RSG = \frac{\bar{N}_{SG,T}}{\bar{N}_{SG,CN}} \times 100$$

Onde, $\bar{N}_{SG,T}$ significa o número médio de sementes germinadas nos respectivos tratamentos, enquanto que $\bar{N}_{SG,CN}$ refere-se ao número médio de sementes germinadas no controle negativo.

Para calcular a % RRG, a equação abaixo foi aplicada:

$$\% RRG = \frac{\bar{C}_{R,T}}{\bar{C}_{R,CN}} \times 100$$

Onde, $\bar{C}_{R,T}$ é o comprimento médio das raízes do tratamento e $\bar{C}_{R,CN}$ é o comprimento médio das raízes do controle negativo.

Após obtenção dos valores de % RSG e % RRG, o % IG foi calculado através da seguinte equação:

$$\% IG = \frac{(\% RSG) \times (\% RRG)}{100}$$

Para a classificação da fitotoxicidade, o índice de germinação foi usado seguindo a classificação de Paradelo et al. (2008), conforme apresentado no Quadro 1.

Quadro 1. Classificação qualitativa da fitotoxicidade, segundo Paradelo et al. (2008).

IG %	CLASSIFICAÇÃO
> 100	Estimula a germinação
> 80	Não fitotóxico
50 - 80	Fitotoxicidade moderada
< 50	Alta fitotoxicidade

Legenda: IG - Índice de Germinação.

4.3.2 Ensaio com *Allium cepa*

O potencial tóxico, citogenotóxico e mutagênico da fuligem foi testado com o organismo-teste *A. cepa*. Para isso, a quantidade de 150 sementes de cebola cv. Vale Ouro IPA-11 foi germinada em placas de Petri com diferentes quantidades de fuligem (0,25 g, 0,5 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g) e com os controles positivos e o negativo, conforme descrito no ensaio com *L. sativa*.

Após 72h de exposição aos tratamentos, a quantidade de sementes germinadas foi anotada e o número de 20 raízes germinadas foram coletadas aleatoriamente, medidas, fixadas em Carnoy (etanol: ácido acético; 3:1; v:v) por 6h à 8h à temperatura ambiente e, posteriormente, estocadas a – 20°C até o momento de confecção das lâminas.

A preparação das lâminas ocorreu de acordo com o procedimento sugerido por Fiskejö (1985), com adaptações propostas por Fernandes, Mazzeo e Marin-Morales (2007). As raízes foram retiradas do fixador, cujo excesso foi removido com o auxílio de papel filtro. Em seguida, estas raízes foram lavadas em água destilada, hidrolisadas em HCl 1N à 60°C por 10 minutos, sendo posteriormente lavadas e coradas com Reativo de Schiff por 2h, em local escuro. Decorrido este tempo, as raízes foram lavadas novamente em água destilada e colocadas sobre uma lâmina limpa e identificada.

Com o auxílio de um bisturi, as regiões de tecido meristemático e de células da F1 foram identificadas e dispostas sobre a lâmina para a realização da contagem celular. Para contraste celular, uma gota de carmim acético 2% foi posta sobre o material, o qual foi recoberto com uma lamínula e ligeiramente esmagado, de modo a espalhar as células, sem comprometer a sua integridade celular. Em seguida, as lâminas foram flambadas e montadas com Entellan. A análise das lâminas foi realizada em microscópio óptico, de modo a facilitar a identificação e contagem de anomalias celulares.

Neste bioensaio, a germinação absoluta e a variação do comprimento médio das raízes foram usados como parâmetros para avaliar a toxicidade, o índice mitótico e o índice de alterações cromossômicas em células meristemáticas para análise da cito e genotoxicidade, respectivamente, e, por fim, a frequência de micronúcleos e quebras cromossômicas em células da F1 permitiram a avaliação do índice de mutagenicidade.

O valor da germinação absoluta foi calculado pela razão entre o número de sementes germinadas e o número total de sementes expostas à germinação em cada tratamento. Por sua vez, a variação do comprimento médio das raízes foi obtida a partir da seleção aleatória e medição do comprimento de 20 raízes, extraído-se assim a média do comprimento da raiz por tratamento. Para o teste citogenotóxico e mutagênico, os índices mitóticos, de alterações cromossômicas e de mutagenicidade foram obtidos a partir da análise de 1000 células/lâmina (500 células meristemáticas e 500 células da F1), sendo realizada a leitura de dez lâminas/tratamento, totalizando 10000 células/tratamento.

As imagens das alterações cromossômicas foram capturadas mediante o uso do microscópio de epifluorescência Leica DM2500 acoplado a câmera Leica DFC345 FX e software Leica LASX, sendo otimizadas para melhor brilho e contraste com o Adobe Photoshop CS4 (Adobe Systems Incorporated).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para os bioensaios com *L. sativa* e *A. cepa*, foram avaliados oito tratamentos (cinco diferentes quantidades da fuligem, um controle negativo e dois controles positivos). Os valores de frequência foram transformados usando a fórmula ($\arcseno \sqrt{\%}$). A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, enquanto a

homogeneidade foi testada por ANOVA/Levene's. Após esta análise, o Teste-T (paramétrico) e o Mann-Whitney (não paramétrico) foram aplicados para avaliar a germinação absoluta e variação do comprimento médio das raízes em ambos os bioensaios, bem como para verificar o IM, IAC e IMut obtidos no bioensaio com *A. cepa*, mediante o software Statistica 8.0 ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os parâmetros analisados e a classificação da fitotoxicidade da fuligem da cana-de-açúcar (0,25 g; 0,5 g; 1,0 g; 2,0 g e 3,0 g), segundo Paradelo et al. (2008), utilizando as sementes de alface, encontram-se sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1. Análise da fitotoxicidade da fuligem resultante da queima da cana-de-açúcar mediante o bioensaio com *Lactuca sativa*, considerando a classificação proposta por Paradelo et al. (2008).

TRATAMENTO	%GA	VCMR (cm)	%RSG	%RRG	%IG	FITOTOXICIDADE
CN	96.67	1,69 ± 0,41	-	-	-	Ausente
MMS	58.33*	0,51 ± 0,07*	60.53	27.17	16.45	Alta
TRI	24.17*	0,45 ± 0,13*	24.83	24.46	6.07	Alta
0.25 g	79.17*	0,48 ± 0,20*	81.74	25.54	20.88	Alta
0.5 g	71.67*	0,40 ± 0,11*	73.98	21.74	16.08	Alta
1.0 g	74.17*	0,38 ± 0,08*	76.56	21.74	16.64	Alta
2.0 g	65.83*	0,42 ± 0,14*	68.29	24.46	16.7	Alta
3.0 g	30.83*	0,28 ± 0,06*	32.07	15.76	5.06	Alta

Legenda: Dados demonstrados em porcentagem ou em média e desvio padrão. CN - Controle Negativo; MMS – Metil Metano Sulfonato; TRI - Herbicida Trifluralina; GA – Germinação Absoluta; VCMR – Variação do Comprimento Médio das Raízes; RSG - Porcentagem Relativa de Germinação das Sementes; RRG - Porcentagem Relativa de Crescimento das Raízes; IG - Índice de Germinação; (-) não se aplica; *. Diferente significativamente do CN ($p < 0,05$).

Considerando a germinação absoluta, notou-se uma redução na taxa de germinação das sementes de alface sob influência das quantidades de fuligem

testadas, a qual variou entre 79,17 (0,25 g de fuligem) – 30,83% (3,0 g de fuligem), em relação ao controle negativo (96,67%) ($p < 0,05$) (Tabela 1). Similarmente, os valores de variação do comprimento médio das raízes mostraram uma diminuição no tamanho das raízes germinadas para todos os tratamentos, variando entre 0,48 (0,25 g de fuligem) – 0,28 cm (3,0 g de fuligem), frente ao controle negativo (1,69 cm) ($p < 0,05$) (Tabela 1). Assim, ambos os parâmetros apontam toxicidade da fuligem sobre as sementes de *L. sativa*, principalmente para o tratamento de 3,0 g, sendo a ação tóxica diretamente proporcional ao aumento da quantidade do material particulado testado (Tabela 1).

Esta toxicidade da fuligem é corroborada pelos valores do índice de germinação (IG) obtidos, sendo estes calculado em função da Porcentagem Relativa de Germinação de Sementes (RSG) e Porcentagem Relativa do Crescimento das Raízes (RRG). Tais índices variaram de 20,88 (0,25 g de fuligem) a 5,06% (3,0 g de fuligem), valores classificados como altamente fitotóxicos (PARADELO et al. 2008) (Tabela 1), enfatizando que a fuligem resultante da queima da cana-de-açúcar influencia inibindo a germinação de sementes e o crescimento das raízes recém germinadas em alface.

Ao contrário do exposto em alguns trabalhos (DE SOUSA et al., 2017; DA COSTA et al., 2018) sobre o benefício das cinzas para o desenvolvimento inicial das plantas, no presente estudo, os resultados da germinação em fuligem apontaram uma interferência negativa no crescimento das raízes de *L. sativa*. Mtisi; Gwenzi (2019) observaram um resultado semelhante ao avaliar a biodisponibilidade de metais e a fitotoxicidade de cinzas de carvão em *L. sativa*, demonstrando que maiores taxas de cinzas de carvão aplicadas no solo (50% e 75%) reduziram o comprimento das raízes, frente às menores taxas de aplicação (5% - 25%).

Para o bioensaio com *A. cepa*, considerando o cálculo da germinação absoluta, os tratamentos de 0,25 g, 0,5 g e 3,0 g mostraram uma redução significativa na taxa de germinação, notando-se os valores de 28,67%, 40,67% e 34,67%, respectivamente ($p < 0,05$), frente ao controle negativo (56,67%) (Tabela 2), indicando que a fuligem estaria inibindo a germinação das sementes. Entretanto, em relação à variação do comprimento médio das raízes, foi notado um aumento do tamanho das raízes submetidas ao tratamento com 0,25 g (1,14 cm), frente ao controle negativo (0,82 cm) ($p < 0,05$), sugerindo que a fuligem estaria estimulando o crescimento em *A. cepa*.

Tabela 2. Análise da citogenotoxicidade e mutagenicidade de diferentes quantidades de fuligem resultantes da queima da cana-de-açúcar mediante o bioensaio com *Allium cepa*.

TRATAMENTO	%GA	VCMR (cm)	IM	IAC	Imut
CN	56,67	0,82 ± 0,29	21,41 ± 8,38	0,21 ± 0,18	0,00 ± 0,00
MMS	52,67	0,93 ± 0,47	11,66 ± 4,14	0,89 ± 0,33*	0,11 ± 0,09*
TRI	30,0*	0,62 ± 0,21*	15,59 ± 4,00	1,70 ± 0,59*	0,19 ± 0,19*
0.25 g	28,67*	1,14 ± 0,39*	6,18 ± 2,06*	0,39 ± 0,38	0,10 ± 0,10
0.5 g	40,67*	0,87 ± 0,27	6,29 ± 2,73*	0,41 ± 0,16*	0,11 ± 0,12
1.0 g	55,33	0,77 ± 0,19	9,84 ± 6,14*	0,82 ± 0,69*	0,17 ± 0,16
2.0 g	48,00	0,84 ± 0,19	6,50 ± 3,70*	0,61 ± 0,33*	0,30 ± 0,28
3.0 g	34,67*	0,69 ± 0,14	6,93 ± 2,64*	0,66 ± 0,36*	0,40 ± 0,35

Legenda: Dados demonstrados em porcentagem ou em média e desvio padrão. CN - Controle Negativo; MMS – Metil Metano Sulfonato; TRI - Herbicida Trifluralina; GA – Germinação Absoluta; VCMR – Variação do Comprimento Médio das Raízes; IM – Índice Mitótico; IAC – Índice de Alteração Cromossômica; IMut – Índice de Mutagenicidade; *. Diferente significativamente do Controle Negativo ($p < 0,05$).

Desta forma, o bioensaio com *A. cepa* ressaltou diferentes respostas em nível de toxicidade do material particulado em análise, em comparação com *L. sativa*, a qual se mostrou mais sensível aos efeitos fitotóxicos da fuligem avaliada, conforme revelado pelos menores valores de VCMR (Tabelas 1 e 2). Em termos gerais, a interferência negativa das substâncias tóxicas sobre o crescimento das raízes, denominados efeitos subletais, ocorre em baixas concentrações e nesse caso, o estudo das mesmas, permite o estabelecimento de concentrações tóxicas que podem causar danos ao organismo teste (CAMPAGNA-FERNANDES et al., 2016). Em alface, a sensibilidade pode estar relacionada a rápida germinação das sementes, alta proliferação, crescimento linear das raízes, bem como a capacidade de analisar simultaneamente a ação de vários compostos, favorecendo a obtenção e análise dos resultados (GRANT, 1994; ARAGÃO et al., 2017).

O ensaio com *L. sativa* também é utilizado para a detecção/avaliação de aleloquímicos com uso promissor de bioherbicida, tendo como principal parâmetro

explorado o alongamento da raiz (CAMPOS et al., 2008), um indicador válido e sensível de toxicidade ambiental (RATSCH; JOHNDRO, 1986). Entretanto, considerando as características intrínsecas da espécie, a aplicação desse bioensaio tem sido recomendado como bioindicador para determinar a fitotoxicidade de amostras de água e sedimento (PRIAC et al., 2017), de metais (BAGUR-GONZÁLEZ et al., 2011), extratos e óleos vegetais (SOUZA; VICCINI, 2011; ANDRADE-VIEIRA et al., 2014), estresses ambientais, a exemplo de altas concentrações salinas (CAMPAGNA-FERNANDES et al., 2016), medicamentos (REDE et al., 2019), bem como material particulado atmosférico, conforme revelado pelo presente trabalho.

Contudo, as respostas dos testes de toxicidade e ecotoxicidade dependem do(s) bioensaio(s) indicador(es) utilizado(s), os parâmetros aplicados em cada ensaio, a exemplo da germinação absoluta, índice de germinação, variação do comprimento médio das raízes, e do grupo tóxico investigado. Tal fato está relacionado às diferenças naturais intrínsecas dos organismos testes, afetando diretamente à sensibilidade dos mesmos aos compostos químicos em análise, a qual pode variar entre diferentes grupos taxonômicos, inclusive espécie (WANG; FREEKMARK, 1995).

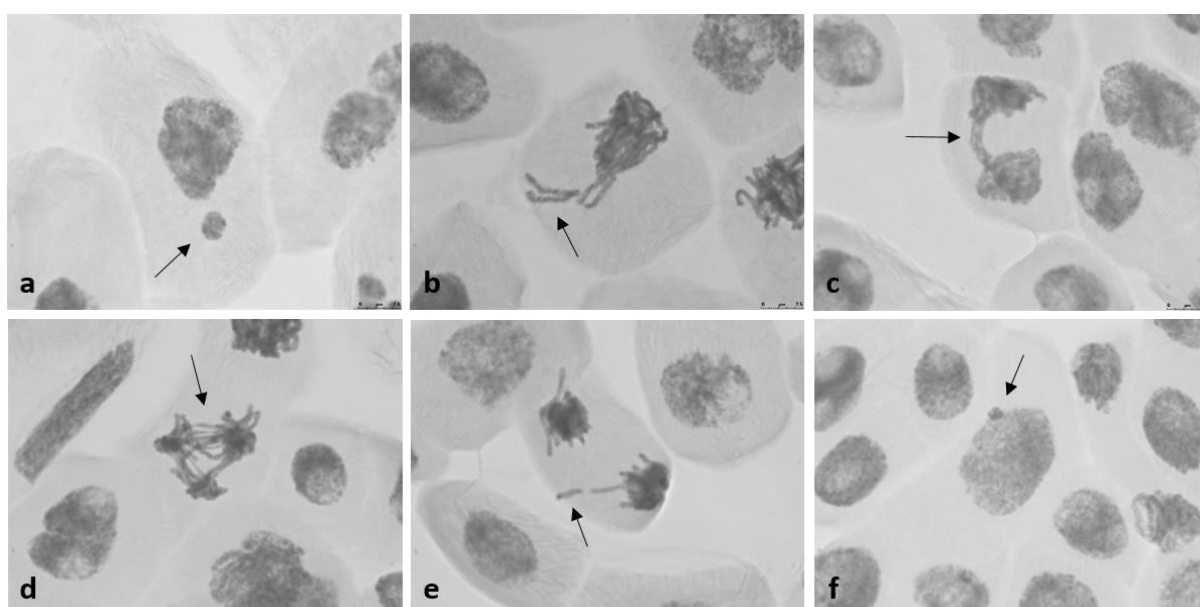
Entre cultivares de *L. sativa*, por exemplo, foi notado que quatro cultivares comerciais da França [Appia (A), Bataria dorée de printemps (B), Grosse blonde pousseuse (GBP) e Kinemontepas (K)] mostraram diferentes respostas de índice de germinação após suas sementes serem expostas à amostras de efluentes industriais tratados, verificando-se uma escala de sensibilidade B > K > GBP > A (PRIAC et al., 2017). Por sua vez, ao analisar extrato metanólico e hexânico de *Solanum lycocarpum* St.-Hill, *L. sativa* mostrou-se mais sensível aos testes de toxicidade e citogenotoxicidade em comparação com *A. cepa* (CHIAVEGATTO et al., 2017).

Embora esteja sendo aplicado para avaliar efeitos das substâncias químicas em nível de ciclo celular e cromossômico, identificando ações citogenotóxicas e mutagênicas (SOUZA; VICCINI, 2011; ANDRADE-VIEIRA et al., 2014), no presente estudo, o bioensaio com *L. sativa* não mostrou dados satisfatórios e reprodutíveis (resultados não mostrados). Assim, a análise citogenotóxica e mutagênica da fuligem foi realizada mediante o sistema-teste com *A. cepa*, ressaltando a importância da utilização de diferentes modelos.

Em termos de citotoxicidade, uma ação citotóxica da fuligem foi ressaltada nas células meristemáticas de *A. cepa*, devido à diminuição do índice mitótico (IM) para todos os tratamentos da fuligem, frente ao controle negativo (21,41%) ($p < 0,05$), sendo

o menor (6,18%) e maior índice mitótico (9,84%) anotados para os tratamentos com 0,25 g e 1,0 g de fuligem, respectivamente (Tabela 2). Por sua vez, um aumento significativo dos índices de alterações cromossômicas foi visualizado para todas as quantidades de fuligem testadas [0,5 g (0,41%), 1,0 g (0,82%), 2,0 g (0,61%) e 3,0 g (0,66%)], com exceção de 0,25 g (0,39%), em comparação ao controle negativo (0,21%) ($p < 0,05$), (Tabela 2), sendo encontrados Micronúcleos (MN), pontes, quebras e perdas cromossômicas e anáfase multipolar, predominantemente (Figura 2).

Figura 2. Alterações cromossômicas observadas em células meristemáticas de *Allium cepa*, utilizadas como parâmetros de citogenotoxicidade da fuligem oriunda da queima da cana-de-açúcar.



Legenda: Setas indicativas. **a.** Micronúcleo. **b.** Perda cromossômica. **c.** Ponte telofásica. **d.** Anáfase multipolar. **e.** Quebra cromossômica. **f.** Broto nuclear. Fonte: Cinthia Silva (2021).

Por fim, quanto ao índice de mutagenicidade, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) em nenhum dos tratamentos quando comparados ao controle negativo (Tabela 2), contudo é notório uma maior frequência de micronúcleos em células da F1 de todas as quantidades testadas [0,25 g (0,10%), 0,5 g (0,11%), 1,0 g (0,17%), 2,0 g (0,30%) e 3,0 g (0,40%)], em comparação ao controle negativo (0,00%).

Diante desses resultados, as análises em nível de ciclo celular e cromossômico com o bioensaio com *A. cepa* revelaram que as quantidades de fuligem testadas apresentam ação citogenotóxica, corroborando com trabalhos anteriores envolvendo a toxicidade de material particulado (SILVA et al., 2012; PARK et al., 2018). Uma ação genotóxica foi revelada pelo aumento da frequência de micronúcleos em células-mãe

de grão de pólen de *Tradescantia pallida*, expostas às partículas oriundas de resíduos da queima de cana-de-açúcar, cujos autores afirmaram ser tão tóxicas quanto as partículas derivadas de combustíveis fósseis (SILVA et al., 2012).

Por sua vez, uma atividade citotóxica de material particulado resultante da queima de biomassa de palha de arroz e de caule de pinhão foi comprovada pela diminuição da viabilidade das linhagens celulares do epitélio das vias aéreas humana (A549, H292, BEAS-2B e SAEC), pelos ensaios de WRN (*Neutral Red Uptake*; Absorção do Vermelho Neutro) e WST-A (*Water-Soluble Tetrazolium Salt*; Sal de Tetrazólio Solúvel em Água), suportando a ligação entre a exposição de partículas finas e efeitos adversos à saúde humana sugerida por estudos toxicológicos e epidemiológicos (PARK et al., 2018).

De acordo com LEME; MARIN-MORALES (2009), a diminuição do índice mitótico pode indicar a presença de alterações derivadas da ação das substâncias químicas no crescimento e desenvolvimento dos organismos expostos, sendo o índice mitótico e o crescimento da raiz correlacionados (TAIZ; ZEIGER, 2006). Entretanto, no presente trabalho, não foi possível relacionar o declínio do índice mitótico e a redução da variação do comprimento médio da raiz e germinação absoluta em *A. cepa*, conforme notado em estudos de citotoxicidade envolvendo amostras ambientais e de extratos vegetais (SOUSA; VICCINI, 2011; ARAGÃO et al., 2017; CHIAVEGATTO et al., 2017). Em termos gerais, a diminuição do índice mitótico pode ser explicada pela interferência no processo de mitose, impedindo o início da prófase e, conseqüentemente, a divisão celular (SOUSA; VICCINI, 2011). Por sua vez, a redução da variação do comprimento médio da raiz em *A. cepa* pode ter sido ocasionada por modificações do alongamento celular durante processo de desenvolvimento e diferenciação vegetal (HARASHIMA; SCHNITTGER, 2010).

Em termos de alterações cromossômicas, estas podem ser induzidas por diferentes compostos químicos, os quais levam a quebras de DNA, inibição da síntese de DNA e replicação de DNA alterado, por exemplo. Neste trabalho, um elevado índice de alteração cromossômica foi notado em células meristemáticas de *A. cepa*.

É fato que as partículas finas no ambiente atmosférico são extremamente importantes devido aos seus impactos na mudança climática e seus efeitos prejudiciais à saúde ambiental e humana. Por serem geradas por diferentes caminhos, sua composição química depende da fonte de origem e das condições físico e químicas do processo de combustão. A queima da palha da cana-de-açúcar libera na

atmosfera diversos poluentes, tais como: material particulado fino (PM_{2,5}) e grosso (PM₁₀), gases como monóxido (CO) e dióxido de carbono (CO₂), ésteres de ácidos graxos, hidrocarbonetos alifáticos e, principalmente, metais e HPAs (ZAMPERLINI et al., 1997; ARBEX et al., 2004; DE ANDRADE et al., 2010; INÁCIO; BRANDÃO, 2016).

De acordo com a literatura, a fuligem contém elevadas quantidades de metais de transição, como Fe, Cu, Zn, Si, Mn, Ti e Co, os quais são associados a ocorrência de erros de DNA mediados pelo desequilíbrio das ROS (*Reactive Oxygen Species*; Espécies Reativas de Oxigênio) e RNS (*Reactive Nitrogen Species*; Espécies Reativas de Nitrogênio) gerando estresse oxidativo (KNAAPEN et al., 2002; VALKO et al., 2006; PHAM-HUY et al., 2008; BONETTA et al., 2009; TUNG MUNNITHUM et al., 2018). Alguns desses metais (Ti e Mn) já foram relacionados a indução da formação de MN em *Tradescantia* exposta à fuligem resultante da queima da cana-de-açúcar (SILVA et al., 2012), o que pode ser extrapolado para as pontes, quebras e perdas cromossômicas encontradas no presente trabalho, enfatizando a genotoxicidade deste material.

Os HPAs são encontrados tanto na fase gasosa quanto particulada, sendo esta última, constituinte da principal fração inalada do aerossol (ZAMPERLINI et al. 1997). As plantas podem incorporar os HPAs mediante captação foliar, pela deposição seca de partículas nas partes aéreas da planta ou por via úmida, através de precipitação (WANG et al., 2011). Assim, a maior quantidade desses compostos estão presentes em vegetais folhosos, ao invés de raízes, o que pode ser explicado pela exposição ao ambiente externo (TUTEJA et al., 2011).

Entretanto, Nóbrega et al. (2021) analisaram a interferência do benzo(a)pireno (HPA) sobre *L. sativa*, constatando a presença deste contaminante nas folhas e, com maior incidência, nas raízes, relacionando-a com a inibição do crescimento das raízes de alface. Tal fato permite a suposição que o declínio da germinação absoluta e da variação do comprimento médio da raiz em alface e cebola notados neste trabalho pode estar associado a presença desses hidrocarbonetos na fuligem testada.

Cavallaro et al. (2018) avaliaram a influência de material particulado sobre populações da espécie *Inga edulis* M. através de biomonitoramento passivo na cidade de Joinville-SC e verificaram que as populações localizadas mais próximas à zona industrial (fonte de poluição) apresentaram maior concentração de material particulado (60% a mais) sobre suas folhas em detrimento às populações encontradas em áreas sem interferência industrial. Além disso, as populações das áreas afetadas

pela poluição, apresentaram danos morfológicos e anatômicos, resultando em prejuízos no crescimento da planta.

Estudos anteriores sugerem três principais tipos de doenças ocasionadas pela exposição aos HPAs presentes na fuligem, doenças respiratórias, disfunções cardiovasculares e o câncer, cujos mecanismos estão atrelados a formação de adutos de DNA, metilação de DNA, modificação de histonas, estresse oxidativo e efeitos genotóxicos por quebras da fita de DNA (NIRANJAN; THAKUR, 2017).

A fuligem da cana-de-açúcar tem sido uma das principais causas responsáveis pela alta incidência de doenças respiratórias na região de Araraquara (SP/Brasil) (ZAMPERLINI et al. 1997). A queima da cana-de-açúcar contribui consideravelmente para os problemas ambientais e de saúde que a população de diversas cidades enfrentam. Essa prática geralmente, é realizada no período noturno, o que devido às condições climáticas, facilita a dispersão da fumaça e conseqüentemente, afeta negativamente a qualidade do ar (RIBEIRO; PESQUERO, 2010).

A maior parte dos trabalhadores envolvidos na queima e no corte da cana são jovens, entre 20 e 40 anos, com baixa ou sem escolaridade e que enfrentam uma jornada de trabalho intensa. Apesar da pouca idade, as doenças e as conseqüências dessa atividade são notórias, como é o caso de doenças respiratórias, ocasionadas pelo excesso de fumaça inalada durante a queima (MATOS et al., 2018). Em um estudo realizado com trabalhadores rurais de uma usina sucroalcooleira em São Paulo-SP para compreender a causa dos afastamentos por doenças ocupacionais, foi observada a frequência de algumas doenças, tais como, doenças do sistema osteomuscular e do tecido conjuntivo e doenças do sistema respiratório (CECCATO et al., 2014).

Em um estudo sobre a relação da ocorrência de danos genéticos em sangue periférico e de mucosa oral de crianças residentes em locais próximos e distantes de um complexo industrial petroquímico, foi notado que quanto menor a distância dos locais ao foco de poluição atmosférica, maiores foram os danos ao DNA das crianças, ou seja, ações genotóxicas e mutagênicas foram mais frequentes próximo ao complexo petroquímico (LEMOS et al., 2020). Esse trabalho demonstra que o volume de material particulado e a qualidade do ar interferem diretamente nos danos que o poluente pode ocasionar aos organismos expostos.

Em suma, a utilização dos organismos-teste *A. cepa* e *L. sativa* em conjunto é indicada pelo fato de ambas as espécies apresentarem alta sensibilidade à poluentes

ambientais (SILVEIRA et al., 2017). Contudo, para avaliação do potencial citogenotóxico e mutagênico, nota-se que *A. cepa* apresenta resultados mais satisfatórios (YILDIZ et al., 2009; LAUGHINGHOUSE et al., 2012; ISSA et al., 2020). Já a utilização de *L. sativa* apresenta maior expressividade quando diz respeito à análise de fitotoxicidade (MARASCHIN-SILVA; AQÜILA, 2006; CHARLES et al., 2011; TIGRE et al., 2012).

6. CONCLUSÃO

Diante do presente estudo, constatou-se a eficiência dos bioensaios com sistemas-vegetais para a elucidação dos efeitos que poluentes ambientais podem ocasionar aos organismos expostos, considerando ainda, a escolha dos sistemas-teste adequados a cada estudo.

A fitotoxicidade e citogenotoxicidade da fuligem resultante da queima de cana-de-açúcar comprovada neste estudo evidencia a ação de compostos químicos tóxicos ao ambiente e as consequências do seu acúmulo aqui discutidas, ressaltam a importância do controle de emissão dessas partículas frente à saúde humana e ambiental.

REFERÊNCIAS

- AKINBORO, A.; BAKARE, A. A. **Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn.** Journal of Ethnopharmacology, v. 112, n. 3, p. 470-475, 2007.
- ALMEIDA, P. M.; ARAÚJO, S. S.; SANTOS, I. R. M. R.; MARIN-MORALES, M. A.; BENKO-ISEPPON, A. M.; SANTOS, A. V.; RANDAU, K. P.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C. **Genotoxic potential of leaf extracts of *Jatropha gossypifolia* L.** Genetics and molecular research: GMR, v. 15, n. 1, 2016.
- ANDRADE-VIEIRA, L. F.; BOTELHO, C. M.; LAVIOLA, B. G.; PALMIERI, M. J.; PRAÇA-FONTES, M. M. **Effects of *Jatropha curcas* oil in *Lactuca sativa* root tip bioassays.** Anais Da Academia Brasileira de Ciências, v. 86, n. 1, p. 373–382, 2014.
- ANDRADE-VIEIRA, L. F.; DE CAMPOS, J. M.; DAVIDE, L. C. **Effects of Spent Pot Liner on mitotic activity and nuclear DNA content in meristematic cells of *Allium cepa*.** Journal Environmental Management, v. 107, p. 140-146, 2012.
- ANDRADE, L. F.; DAVIDE, L. C.; GEDRAITE, L. S. **The effect of cyanide compounds, fluorides, aluminum, and inorganic oxides present in spent pot liner on germination and root tip cells of *Lactuca sativa*.** Ecotoxicology Environmental Safety, v. 73, n. 4, p. 626-631, 2010.
- ARAGÃO, F. B.; QUEIROZ, V. T.; FERREIRA, A.; COSTA, A. V.; PINHEIRO, P. F.; CARRIJO, T. T.; ANDRADE-VIEIRA, L. F. **Phytotoxicity and cytotoxicity of *Lepidaploa rufogrisea* (Asteraceae) extracts in the plant model *Lactuca sativa* (Asteraceae).** Revista de Biología Tropical, San José, v. 65, n. 2, p. 435-443, 2017.
- ARBEX, M. A.; CANÇADO, J. E.; PEREIRA, L. A.; BRAGA, A. L.; SALDIVA, P. H. **Queima de biomassas e efeito sobre a saúde.** Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 30, n. 2, p. 158-75, 2004.
- ATHANÁSIO, C.G.; PRÁ, D.; RIEGER, A. **Water Quality of Urban Streams: The *Allium cepa* Seeds/Seedlings Test as a Tool for Surface Water Monitoring.** Scientific World J, p.1-7, 2014.
- BAGUR-GONZÁLEZ, M. G.; ESTEPA-MOLINA, C.; MARTÍN-PEINADO, F.; MORALES-RUANO, S. **Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal (loid) s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site.** Journal of soils and sediments, v. 11, n. 2, p. 281-289, 2011.
- BAI, L.; WANG, J., MA, X., LU, H. **Air Pollution Forecasts: An Overview.** International Journal Environmental Research and Public Health, v. 15, n. 4, p. 780, 2018.

BELZ, R. G.; PATAMA, M.; SINKKONEN, A. **Low doses of six toxicants change plant size distribution in dense populations of *Lactuca sativa***. *Science of the Total Environment*, p. 510-523, 2018.

BERNARDO, D. L.; BARROS, K. A.; SILVA, R. C.; PAVÃO, A. C. **Carcinogenicidade de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos**. *Química Nova*, v. 39, n. 7, p. 789-794, 2016.

BONETTA, S.; BONETTA, S.; SCHILIRÒ; CERETTI, E.; FERETTI, D.; COVOLO, L.; VANNINI, S.; VILLARINI, M.; MORETTI, M.; VERANI, M.; CARDUCCI, A. L.; BAGORDO, F.; DE DONNO, A.; BONIZZONI, S.; BONETTI, A.; PIGNATA, C.; CARRARO, E.; GELATTI, U. **Mutagenic and genotoxic effects induced by PM_{0.5} of different Italian towns in human cells and bacteria: The MAPEC_LIFE study**. *Environmental Pollution*, v. 245, p. 1124-1135, 2019.

BONETTA, S.; GIANOTTI, V.; BONETTA, S.; GOSETTI, F.; ODDONE, M.; GENNARO, M. C.; CARRARO, E. **DNA damage in A549 cells exposed to different extracts of PM_{2.5} from industrial, urban and highway sites**. *Chemosphere*, v. 77, n. 7, p. 1030–1034, 2009.

BRAGA, A.; PEREIRA, L. A. A.; BÖHM, G. M.; SALDIVA, P. **Poluição atmosférica e saúde humana**. *Revista USP*, n. 51, p. 58-71, 2001.

CAMPAGNA-FERNANDES, A. F.; MARIN, E. B.; PENHA, T. H. F. L. **Application of root growth endpoint in toxicity tests with lettuce (*Lactuca sativa*)**. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, v. 11, n. 1, p. 27-32, 2016.

CAMPOS, J. M. S.; DAVIDE, L. C.; SOARES, G. L. G.; VICCINI, L. F. **Mutagenic effects due to allelopathic action of fern (*Gleicheniaceae*) extracts**. *Allelopathy Journal*, v. 22, n. 1, p. 143-152, 2008.

CANÇADO, J. E. D.; BRAGA, A.; PEREIRA, L. A. A.; ARBEX, M. A.; SALDIVA, P. H. N.; SANTOS, U. D. P. **Repercussões clínicas da exposição à poluição atmosférica**. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 32, n. Supl 1, p. S5-S11, 2006.

CAVALLARO, R.; JÚNIOR, J. C. F. M.; BONATTI-CHAVES, M.; RENNER, G. D. R. **Avaliação do efeito da poluição atmosférica em populações urbanas de *Inga edulis* Mart.(Fabaceae) por meio do método de biomonitoramento passivo**. *Caderno de Publicações Univag*, n. 08, 2018.

CECCATO, A. D. F.; JUNIOR, L. C. S. C.; CUISSI, R. C.; MONTESCHI, M.; OLIVEIRA, N. G.; PADOVANI, C. R.; RAMOS, E. M. C.; RAMOS, D. **Absenteísmo por doença ocupacional de trabalhadores rurais no setor canavieiro**. *Cadernos de Saúde Pública* [online], v. 30, n. 10, p. 2169-2176, 2014.

CHAPMAN, D. **Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring**. 2ª edição. E&FN Spon, p. 609, 1996.

CHARLES, J.; SANCEY, B.; MORIN-CRINI, N.; BADOT, P.M.; DEGIORGI, F.; TRUNFIO, G.; CRINI, G. **Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated**

industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 74, n. 7, p. 2057–2064, 2011.

CHIAVEGATTO, R. B.; CHAVES, A. L. A.; SILVA, I. C. A.; DOS SANTOS LIMA, L. A. R.; TECHIO, V. H. **Cytotoxic and genotoxic effects of *Solanum lycocarpum* St.-Hil (Solanaceae) on the cell cycle of *Lactuca sativa* and *Allium cepa*.** Acta Scientiarum. Biological Sciences, v. 39, n. 2, p. 201-210, 2017.

COÊLHO, S. N. **Agravo de instrumento Nº - 0012052-48.2020.8.17.9000, 24/08/2020.** 3ª Promotoria de Justiça de Defesa da Cidadania de Petrolina.

Disponível em:

<https://pje.tjpe.jus.br:443/2g/Processo/ConsultaDocumento/listView.seam?x=20082416375799600000012457561>. Acesso em: 05 ago. 2021.

DA COSTA, R. S.; PINTO, A. F. D. B. P.; DA SILVA CAMPELO, M. E.; DE SOUZA, J. W. N.; DE MIRANDA PINTO, C.; AMORIM, A. V. **Crescimento e fisiologia de melancia submetida a doses de cinzas de bagaço de cana.** Revista Brasileira de Agricultura Irrigada, v. 12, n. 5, p. 2897-2906, 2018.

DE ANDRADE, S. J.; CRISTALE, J.; SILVA, F. S.; ZOCOLO, G. J.; MARCHI, M. R. **Contribution of sugar-cane harvesting season to atmospheric contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Araraquara city, Southeast Brazil.** Atmospheric Environment, v. 44, n. 24, p. 2913-2919, 2010.

DE SOUSA, P. G. R.; DA SILVA, L. S.; ALCÂNTARA, P. F.; DE MENEZES COSTA, C. P.; COSTA, R. N. T. **Desenvolvimento inicial do mamoeiro sob doses de cinzas vegetais e cobertura morta em sistema orgânico.** Revista Brasileira de Agricultura Irrigada, v. 11, n. 6, p. 1804, 2017.

FERNANDES, T.C.C.; MAZZEO, D.E.C.; MARIN-MORALES, M. A. **Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide.** Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 88, n. 3, p. 252-259, 2007.

FISKEJÖ, G. **The *Allium*-test as a standard in environmental monitoring.** Hereditas. v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.

FREITAS, A. M.; SOLCI, M. C. **Caracterização do MP10 e MP2,5 e distribuição por tamanho de cloreto, nitrato e sulfato em atmosfera urbana e rural de Londrina.** Química Nova. 2009, v. 32, n. 7, p. 1750-1754, 2009.

GRANT, W. F. **The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens.** Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, v. 310, n. 2, p. 175–185, 1994.

GRANT, W. 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. Amsterdam, v. 426, n. 2, p. 107-112, 1999.

HARASHIMA, H.; SCHNITTGER, A. **The integration of cell division, growth and differentiation**. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 13, n. 1, p. 66–74, 2010.

INÁCIO, D. A. S.; BRANDÃO, B. A. **Toxicologia Forense: Intoxicação por Monóxido de Carbono em Carbonizados**. *Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics*, v. 5, n. 3, p. 314-327, 2016.

ISSA, M.; CHANDEL, S.; SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K.; YADAV, S. S.; KUMARI, A. **Appraisal of phytotoxic, cytotoxic and genotoxic potential of essential oil of a medicinal plant *Vitex negundo***. *Industrial Crops and Products*, v. 145, 112083, 2020.

JESUS DA SILVA, T. J.; LIMA, J. R. F. **A competitividade das exportações de manga e uva do Vale Submédio do São Francisco**. *Revista de Política Agrícola*, v. 25, n. 4, p. 152-164, 2016.

JIMENEZ, J.; WU, C. F.; CLAIBORN, C.; GOULD, T.; SIMPSON, C. D.; LARSON, T.; LIU, L. J. S. **Agricultural burning smoke in eastern Washington—part I: Atmospheric characterization**. *Atmospheric Environment*, v. 40, n. 4, p. 639-650, 2006.

KNAAPEN, A. M.; SHI, T.; BORM, P. J. A.; SCHINS, R. P. F. **Soluble metals as well as the insoluble particle fraction are involved in cellular DNA damage induced by particulate matter**. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v. 234/235, n. 1, p. 317–326, 2002.

LAUGHINGHOUSE, H. D.; PRÁ, D.; SILVA-STENICO, M. E.; RIEGER, A.; FRESCURA, V. D. S.; FIORE, M. F.; TEDESCO, S. B. **Biomonitoring genotoxicity and cytotoxicity of *Microcystis aeruginosa* (Chroococcales, Cyanobacteria) using the *Allium cepa* test**. *Science of the Total Environment*, v. 432, p. 180–188, 2012.

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

LEME, D. M.; ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. **Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells**. *Aquatic Toxicology*, v. 88, n. 4, p. 214-219, 2008.

LEMOS, A. T.; DE LEMOS, C. T.; CORONAS, M. V.; DA ROCHA, J. R.; VARGAS, V. M. F. **Integrated study of genotoxicity biomarkers in schoolchildren and inhalable particles in areas under petrochemical influence**. *Environmental Research*, 2020.

LIMA, J. R. T. **Colheita mecanizada da cana-de-açúcar: O que nos revelam os especialistas do setor sobre as motivações e impeditivos da sua adoção na realidade canavieira de Alagoas?** *Estudos Sociedade e Agricultura*, Rio de Janeiro, v. 29, n. 1, p. 219-245, 2021.

LOUREIRO, Luciana Neves. **Panorâmica Sobre Emissões Atmosféricas Estudo De Caso: Avaliação Do Inventário Emissões Atmosféricas da Região Metropolitana Do Rio de Janeiro Para Fontes Móveis**. 2005. 171 f. Tese (Doutorado em Engenharia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

LYU, J.; PARK, J; PANDEY, L. K.; CHOI, S.; LEE, H.; DE SAEGER, J.; DEPUYDT, S.; HAN, T. **Testing the toxicity of metals, phenol, effluents, and receiving waters by root elongation in *Lactuca sativa* L.** Ecotoxicology Environmental Safety, v. 149, p. 225-232, 2018.

MACHIN, A. B.; NASCIMENTO, L. F. C. **Efeitos da exposição a poluentes do ar na saúde das crianças de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil**. Cadernos de Saúde Pública, v. 34, 2018.

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. **Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae)**. Acta Botanica Brasilica, v. 20, p. 61-69, 2006.

MARTÍNEZ-VALENZUELA, C.; ANA, R. R.- Q.; ENRIQUE, M.; STEFAN, M. W.; OMAR, A.-M.; ARLENE, M. R.; MARÍA, E. C.- S., RUBÉN, F.- G., ISABEL, R. R.; MARIO, C. **Cytogenetic biomonitoring of occupationally exposed workers to ashes from burning of sugar cane in Ahome, Sinaloa, México**. Environmental toxicology and pharmacology, v. 40, n. 2, p. 397-401, 2015.

MATOBA, H.; MIZUTANI, T.; NAGANO, K.; HOSHI, Y.; UCHIYAMA, H. **Chromosomal study of lettuce and its allied species (*Lactuca spp.*, Asteraceae) by means of karyotype analysis and fluorescence in situ hybridization**. Hereditas, v. 144, n. 6, p. 235-243, 2007.

MATOS, P. F.; FRATARI, M. F.; CARVALHO, R. G. **Fim do corte manual da cana-de-açúcar na microrregião de Ituiutaba (MG) e os impactos para os trabalhadores**. Caminhos de Geografia, v. 19, n. 65, p. 194-203, 2018.

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

MAURO, M. O.; PESARINI, J. R.; MARIN-MORALES, M. A.; MONREAL, M. T. F. D.; MANTOVANI, M. S.; OLIVEIRA, R. J. **Evaluation of the antimutagenic activity and mode of action of the fructooligosaccharide inulin in the meristematic cells of *Allium cepa* culture**. Genetics and Molecular Research, v. 13, n. 3, p. 4808–4819, 2014.

MEIRE, R. O.; AZEREDO, A.; TORRES, J. P. M. **Aspectos ecotoxicológicos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos**. Oecologia brasiliensis, v. 11, n. 2, p. 188-201, 2007.

MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. F.; MARCONCINI, J. M. **Procedimentos para Análise Lignocelulósica. Documentos, 236.** Campina Grande: Embrapa Algodão, p. 54, 2010.

MOREIRA, F. J. **Processo nº 0003988-05.2020.8.17.3130**, 13/08/2020. 3ª Promotoria de Justiça de Defesa da Cidadania de Petrolina. Disponível em: <https://pje.tjpe.jus.br:443/1g/Processo/ConsultaDocumento/listView.seam?x=2008131156489560000063997391>, 2020. Acesso em: 16 jul. 2021.

MTISI, M.; GWENZI, W. **Evaluation of the phytotoxicity of coal ash on lettuce (*Lactuca sativa* L.) germination, growth and metal uptake.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 170, p. 750-762, 2019.

MUHAMMAD, J.; DEOG, B.L.; KWANG, Y.J.; MUHAMMAD, A.; SHEONG, C.L.; EUI, S.R. **Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetables species.** Journal Central European Agriculture, v. 7, p. 273-282, 2006.

NACHILUK, K. **Alta na Produção e Exportações de Açúcar Marcam a Safra 2020/21 de Cana.** Análises e Indicadores do Agronegócio, São Paulo, v. 16, n. 6, jun. 2021, p. 1-5. Disponível em: <http://www.iea.agricultura.sp.gov.br/out/TerTexto.php?codTexto=15925>. Acesso em: 18 ago. 2021.

NEFIC, H.; MUSANOVIC, J.; METOVIC, A.; KURTESHI, K. **Chromosomal and nuclear alterations in root tip cells of *Allium cepa* L. induced by alprazolam.** Medical Archives, v. 67, n. 6, p. 388, 2013

NEVES, E. S.; FERREIRA, P. M. P.; LIMA, L. H.; PERON, A. P. **Action of aqueous extracts of *Phyllanthus niruri* L.(Euphorbiaceae) leaves on meristematic root cells of *Allium cepa* L.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 86, n. 3, p. 1131-1137, 2014.

NIRANJAN, R.; THAKUR, A. K. **The Toxicological Mechanisms of Environmental Soot (Black Carbon) and Carbon Black: Focus on Oxidative Stress and Inflammatory Pathways.** Frontiers in Immunology, v. 8, 2017.

NÓBREGA, J. A.; ROSA, L. S.; CARVALHO, J. C.; GUERRINO, P. S. P.; BOTERO, E. R. **Efeitos da interação entre hidrocarbonetos policíclicos aromáticos contaminantes e o sistema fotossintético da alface (*Lactuca sativa*, L.).** Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, v. 4, n. 2, p. 1582-1593, 2021.

NUNES, J. V. D.; DE MELO, D.; NÓBREGA, L. H. P.; LOURES, N. T. P.; SOSA, D. E. F. **Atividade alelopática de extratos de plantas de cobertura sobre soja, pepino e alface.** Revista Caatinga, v. 27, n.1, p. 122-130, 2014.

OECD. **Terrestrial plant test: Seedling emergence and seedling growth test.** Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline 208, 2006.

OLIVEIRA, Júnior Varela. **Cooperação intermunicipal abrangente? O caso da RIDE Petrolina Juazeiro**. 2015. 271 f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento Urbano) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2015.

OLIVEIRA, J. P. W.; SANTOS, R. N.; BOEIRA, J. M. **Genotoxicidade e análises físico-químicas das águas do rio dos Sinos (RS) usando *Allium cepa* e *Eichhornia crassipes* como bioindicadores**. BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports, v. 1, n. 1, p. 15-22, 2012.

ONWUAMAH, C. K.; EKAMA, S. O.; AUDU, R. A.; EZECHI, O. C.; POIRIER, M. C.; ODEIGAH, P. G. C. **Exposure of *Allium cepa* root cells to zidovudine or nevirapine induces cytogenotoxic changes**. PloS one, v. 9, n. 3, p. 1-7, 2014.

PALMIERI, M.J.; ANDRADE-VIEIRA, L.F.; TRENTO, M.V.C.; ELEUTÉRIO, M. W. F. E.; LUBER, J.; DAVIDE, L. C.; MARCUSSI, S. **Cytogenotoxic effects of Spent Pot Liner (SPL) and its main components on human leukocytes and meristematic cells of *Allium cepa***. Water Air Soil Pollution, v. 227, n. 5, p. 156, 2016.

PARADELO, R.; MOLDES, A. B.; RODRÍGUEZ, M.; BARRAL, M. T. **Relationship between heavy metals and phytotoxicity in composts relación entre metales pesados y fitotoxicidad em composts**. CYTA - Journal of Food, v. 6, n. 2, p. 143-151, 2008.

PARK, M.; JOO, H. S.; LEE, K.; JANG, M.; KIM, S. D.; KIM, I.; BORLAZA, L. J. S.; LIM, H.; SHIN, H.; CHUNG, K. H.; CHOI, Y.-H.; PARK, S. G.; BAE, M.-S.; LEE, J.; SONG, H.; PARK, K. **Differential toxicities of fine particulate matters from various sources**. Scientific reports, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2018.

PEREIRA, I. F. M. **Genotoxicidade como parâmetro de monitoramento ambiental do Rio São Francisco no Polo Petrolina (PE) / Juazeiro (BA)**. Dissertação (Dissertação em Genética) - UFPE, Recife, 2016.

PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. **Free radicals, antioxidants in disease and health**. International journal of biomedical science: IJBS, v. 4, n. 2, p. 89, 2008.

POTT, C. M.; ESTRELA, C. C. **Histórico ambiental: desastres ambientais e o despertar de um novo pensamento**. Estudos avançados, v. 31, n. 89, p. 271-283, 2017.

PRIAC, A.; BADOT, P.-M.; CRINI, G. **Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: focus on germination and root elongation test parameters**. Comptes Rendus Biologies, v. 340, n. 3, p. 188-194, 2017.

RATSCH, H. C.; JOHNDRO, D. **Comparative toxicity of six test chemicals to lettuce using two root elongation test methods**. Environmental monitoring and assessment, v. 6, n. 3, p. 267-276, 1986.

REDE, D.; SANTOS, L. H.; RAMOS, S.; OLIVA-TELES, F.; ANTÃO, C.; SOUSA, S. R.; DELERUE-MATOS, C. **Individual and mixture toxicity evaluation of three**

pharmaceuticals to the germination and growth of *Lactuca sativa* seeds. Science of the total environment, v. 673, p. 102-109, 2019.

RIBEIRO, K. A.; AZEVEDO, E. A. **Projetos de responsabilidade social: Um estudo de caso sobre a empresa Agrovale em Juazeiro-BA.** Revista Desenvolvimento Social, v. 17, n. 1, p. 123-146, 2016.

RIBEIRO, H.; PESQUERO, C. **Queimadas de cana-de-açúcar: Avaliação de efeitos na qualidade do ar e na saúde respiratória de crianças.** Estudos Avançados [online]. 2010, v. 24, n. 68, pp. 255-271, 2010.

RIBEIRO, H. **Queimadas de cana-de-açúcar no Brasil: Efeitos à saúde respiratória.** Revista Saúde Pública, v. 42, n. 2, p. 370-376, 2008.

RIVETTA, A.; NEGRINI, N.; COCUCCI, M. **Involvement of Ca²⁺-calmodulin in Cd²⁺ toxicity during the early phases of radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination.** Plant, Cell & Environment, v. 20, n. 5, p. 600-608, 1997.

RODRIGUES, L. C. A.; BARBOSA, S.; PAZIN, M.; MASELLI, B. S.; BEIJO, L. A.; KUMMROW, F. **Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.17, n.10, p.1099–1108, 2013.

NOTÍCIAS AGRÍCOLAS. **Cultura da cana-de-açúcar é destaque na geração de empregos em Juazeiro da Bahia.** 21 de jun. de 2019. Disponível em: <<https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/sucroenergetico/237562-cultura-da-cana-de-acucar-e-destaque-na-geracao-de-empregos-em-juazeiro-da-bahia.html#.YS5p645KjIU>> Acesso em: 31 de ago. 2021.

O.E.C.D. **Terrestrial plant test: Seedling emergence and seedling growth test.** Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline 208, 2006.

SILVA, I. C.; PERON, M. C. C.; ARBEX, M. A.; LICHTENFELS, A. J. F. C.; LOBO, D. J. A.; GIOCONDO, M. P.; MACCHIONE, M.; SAIKI, M.; SALDIVA, P. H. N.; SOARES, C. P. **Micronucleus formation induced by biomass burning particles derived from biomass burning induced high micronucleus frequency in *Tradescantia pallida* assay (TRAD-MN).** Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology, 2012.

SILVEIRA, G. L.; LIMA, M. G.; REIS, G. B.; PALMIERI, M. J.; ANDRADE-VIERIA, L. F. **Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L.** Chemosphere, v. 178, p. 359-367, 2017.

SILVEIRA, B. D.; HOSOKAWA, R. T.; NOGUEIRA, A. C.; WEBER, V. P. **Atividade alelopática de *Araucaria angustifolia* (bertol.) kuntze na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L.** Ciência Florestal, v. 24, n. 1, p. 79-85, 2014.

ŠKAREK, M.; JANOŠEK, J.; ČUPR, P.; KOHOUTEK, J.; NOVOTNÁRYCHESTKÁ, A.; HOLOUBEK, I. **Evaluation of genotoxic and non-genotoxic effects of organic**

air pollution using in vitro bioassays. Environment International, v. 33, p. 859-866, 2007.

SOARES, J. M.; VIEIRA, V. D. S.; GOMES JÚNIOR, W. F.; de ARAÚJO FILHO, A. A. **Agrovale, uma experiência de 25 anos em irrigação da cana-de-açúcar na região do Submédio São Francisco.** Embrapa Semiárido-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2003.

SOUSA, D. T.; NOCITI, L. A. S.; CASTRO, L. H. S. **Resíduos de agrotóxicos no solo sobre a germinação e crescimento de alface (*Lactuca sativa*) e rabanete (*Raphanus sativus*).** Nucleus, v. 11, n. 2, 2014.

SOUSA, S. M.; VICCINI, L. F. **Cytotoxic and genotoxic activity of *Achillea millefolium* L., Asteraceae, aqueous extracts.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 21, n. 1, p. 98–104, 2011.

SZMRECSÁNYI, T.; MOREIRA, E. P. **O desenvolvimento da agroindústria canaveira do Brasil desde a Segunda Guerra Mundial.** Estudos avançados, v. 5, n. 11, p. 57-79, 1991.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** Universitat Jaume I, v. 1, 2006.

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D. **Bioindicator of genotoxicity: the *Allium cepa* test.** Rijeka: InTech Publisher. p. 137–56, 2012.

TEIXEIRA, R. O; CAMPAROTO, M. L.; MANTOVANI, M. S.; VICENTINI, V. E. P. **Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in vitro and in vivo assays.** Genetics and Molecular Biology, v. 26, n. 4, p. 551-555, 2003.

TIGRE, R. C.; SILVA, N. H.; SANTOS, M. G.; HONDA, N. K.; FALCÃO, E. P. S.; PEREIRA, E. C. **Allelopathic and bioherbicidal potential of *Cladonia verticillaris* on the germination and growth of *Lactuca sativa*.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 84, p. 125–132, 2012.

TIQUIA, S. M.; TAM, N. F.; HODGKISS, I. J. **Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter.** Environmental Pollution, v. 93, n. 3, p. 249–256, 1996.

TFOUNI, S. A. V.; TOLEDO, M. C. F. **Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in cane sugar.** Food control, v. 18, n. 8, p. 948-952, 2007.

TUNGMUNNITHUM, D.; THONGBOONYOU, A.; PHOLBOON, A.; YANGSABAI, A. **Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview.** Medicines, v. 5, n. 3, p. 93, 2018.

TUTEJA, G.; ROUT, C.; BISHNOI, N. R. **Quantification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Leafy and Underground Vegetables: A case study Around**

Panipat City, Haryana, India. Journal of Environmental Science and Technology, v. 4, n. 6, p. 611-620, 2011.

USEPA. **Ecological effects test guidelines (OPPTS 850.4200): Seed germination/Root elongation toxicity test.** US Environmental Protection Agency, Office of Toxic Substances, Washington, D.C., 1996.

UKAEGBU, M. C.; ODEIGAH, P. G. C. **The genotoxic effect of sewage effluent on *Allium Cepa*.** Report and Opinion, v. 1, n. 6, p. 36-41, 2009.

VALERIO, M. E.; GARCIA, J. F.; PEINADO, F. M. **Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L.).** Science of the Total Environment, Amsterdam, v. 378, p. 63–66, 2007.

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. **Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer.** Chemo-Biological Interactions, v. 160, n. 1, p. 1–40, 2006.

VASCONCELOS, U.; OLIVEIRA, F. J. S.; FRANÇA, F. P. **Raw glycerol as cosubstrate on the pahs biodegradation in soil.** Canadian Journal of Pure & Applied Sciences, v. 7, n. 1, p. 2203-2209, 2013.

VENTURA, M. D.; ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. **Mutagenic and genotoxic effects of the Atrazine herbicide in *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae) detected by the micronuclei test and the comet assay.** Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 90, p. 42–51, 2008.

WANG, Y. C.; QIAO, M.; LIU, Y. X.; ARP, H. P. H.; ZHU, Y. G. **Comparison of polycyclic aromatic hydrocarbon uptake pathways and risk assessment of vegetables from waste-water irrigated areas in northern China.** Journal of Environmental Monitoring, v. 13, n. 2, p. 433-439, 2011.

WANG, W. C.; FREEMARK, K. **The Use of Plants for Environmental Monitoring and Assessment.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 30, n. 3, p. 289–301, 1995.

YILDIZ, M.; CIĞERCI, İ. H.; KONUK, M.; FATİH FIDAN, A.; TERZI, H. **Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays.** Chemosphere, v. 75, n. 7, p. 934–938, 2009.

ZAMPERLINI, G. C. M.; SILVA, M. R. S.; VILEGAS, W. **Identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in sugar cane soot by gas chromatography-mass spectrometry.** Chromatographia, v. 46, n. 11-12, p. 655–663, 1997.