

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE UM EFLUENTE INDUSTRIAL DE RECICLAGEM DE PAPELÃO UTILIZANDO *Danio rerio* E *Allium cepa*

Edson Franco de Sá Júnior ¹, Odilon Teixeira Melo ², Ricardo Luvizzoto Santos ³

¹ Programa de Pós-graduação em Sustentabilidade de Ecossistemas. Universidade Federal do Maranhão. Av. dos Portugueses, 1966, São Luís, CEP 65080-805, MA. E.mail: edsonfrancojr@hotmail.com

² Laboratório de Oceanografia Química, Departamento de Oceanografia e Limnologia. Universidade Federal do Maranhão. Av. dos Portugueses, 1966, São Luís, CEP 65080-805, MA. E.mail: melo@ufma.br

³ Laboratório de Ecotoxicologia, Departamento de Oceanografia e Limnologia. Universidade Federal do Maranhão. Av. dos Portugueses, 1966, São Luís, CEP 65080-805, MA. * E.mail: luvizotosantos@ufma.br

RESUMO

Indústrias que usam grande volume de água em seus processos e terminam por descartar seus efluentes no ambiente sem o devido tratamento têm potencial de poluir os ecossistemas aquáticos. Os ensaios ecotoxicológicos têm sido empregados tanto na caracterização desses efluentes quanto na avaliação da eficiência dos processos de tratamento de efluentes industriais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade do efluente de uma indústria de papelão reciclado próxima ao manguezal na bacia hidrográfica do Tibiri, São Luís, MA, utilizando ensaios agudos com *Danio rerio* e *Allium cepa*. As análises foram feitas no período de junho a outubro de 2010 quando foram determinados o pH, condutividade, DBO e DQO do efluente. Houve diferença na composição química quando o sistema de tratamento (aeração) não estava em funcionamento. Os ensaios com *A. cepa* foram feitos nestas duas situações e revelaram maior toxicidade do efluente quando lançado sem o tratamento. Por outro lado, o efluente não foi tóxico para *D. rerio* em ambas as situações. A toxicidade detectada no ensaio com *A. cepa* sugere a necessidade de se avaliar a composição química desses efluentes bem como a toxicidade para outras espécies que habitam os bosques dos manguezais adjacentes à indústria.

Palavras-chave: Cebola, ecotoxicologia, paulistinha.

Abstract

Ecotoxicological evaluation of a recycled pasteboard industry effluent located at São Luís (MA) using *Danio rerio* and *Allium cepa* as test organisms

Industries that use large amounts of water for their processing have the potential to pollute ecosystems through the discharge of their wastewater into the environment. Ecotoxicological assays have been used in toxicity assessment of such effluents. In addition, efficiency in industrial effluent treatment processes can be evaluated through toxicity tests. The aim of this work was to evaluate effluent toxicity from a recycled pasteboard industry located adjacently to the mangrove of Tibiri's basin, São Luís, (MA), using acute assays with *Danio rerio* and *Allium cepa*. Analysis of pH, conductivity, BOD and COD were carried out from June to October and showed differences when the aeration system was turned off. Ecotoxicological tests with *A. cepa* were conducted during both situations and showed higher toxicity when the aeration was absent. On the other hand, the effluent seems not to be toxic to *D. rerio*. Due to toxicity detected on *A. cepa* assay, more studies are necessary to evaluate chemical composition of such effluents and toxicity to other species that live in mangroves that receive such effluents.

Keywords: Ecotoxicology, onion, zebrafish.

INTRODUÇÃO

O aumento do crescimento demográfico e da industrialização no século XX causada pela revolução industrial trouxe benefícios ao homem e à sociedade.

Novos produtos químicos e bens de consumo passaram a ser produzidos em grande quantidade dando mais conforto e praticidade. No entanto, esse desenvolvimento proporcionou impactos ambientais promovendo lentas e, muitas vezes, irreversíveis

modificações (Bohrer, 1995). De fato, uma grande diversidade de compostos orgânicos e inorgânicos encontrados nas águas, seja por lançamento accidental ou não, é resultante do despejo de água de uso doméstico e industrial. Os rios, mares e lagos são o destino final dos efluentes de milhares de indústrias em todo o mundo, sendo que os resíduos sólidos e líquidos inerentes aos processos produtivos passaram a ser encontrados no meio ambiente trazendo riscos tanto para os seres humanos, quanto para a biota desses ecossistemas. É fundamental que os recursos hídricos apresentem condições físicas e químicas adequadas para a sobrevivência das comunidades aquáticas, entre elas, que contenham substâncias essenciais à vida e que estejam livres de outras substâncias que possam produzir efeitos deletérios aos organismos que compõem as cadeias alimentares (Braga *et al.*, 2005).

A clássica abordagem de avaliação ambiental consiste em medir a quantidade do contaminante presente e relacioná-la com os dados obtidos com testes em laboratório. A grande limitação dessa abordagem é que somente para poucos compostos químicos tem sido possível definir o nível tóxico para os organismos. O real cenário de exposição abrange grande variedade de organismos e complexa mistura de contaminantes (Hacon, 2004). Tanto os efeitos, quanto os padrões de acumulação são diferentes e dependem do balanço entre as taxas de assimilação e as taxas de metabolização e eliminação, sendo inclusive, influenciados pela presença de outros fatores, tanto bióticos quanto abióticos. Portanto, para a avaliação ambiental, a estratégia mais eficiente é o uso integrado tanto das análises físicas e químicas, quanto toxicológicas (Bertoletti *et al.*, 1992; Costan *et al.*, 1993).

Uma das vantagens dos estudos ecotoxicológicos é o fato de que estes detectam o efeito dos poluentes nos organismos permitindo uma avaliação rápida em áreas com prováveis problemas ambientais, prevenindo assim futuras mudanças nos níveis de organização superiores. Os efeitos tóxicos de determinada amostra podem ser avaliados por meio de variáveis biológicas como letalidade, imobilidade, alterações no desenvolvimento, crescimento, reprodução, metabolismo e comportamento dos organismos-teste, sendo que os efeitos medidos podem ser expressos por critérios quantificáveis como: número de organismos mortos, ovos produzidos, redução no crescimento ou outros parâmetros metabólicos; ou ainda qualitativamente, por mudanças no comportamento dos organismos (Aragão & Araújo, 2006). O princípio fundamental

no qual todos os testes de toxicidade estão baseados é o reconhecimento de que a resposta de um organismo vivo à presença (exposição) de agentes tóxicos é dependente, sobretudo, da concentração (nível de exposição) a esse agente e do tempo de exposição (Adams & Rowland, 2003).

Com relação aos efluentes, normalmente são constituídos por uma mistura de substâncias, sendo que os testes de toxicidade permitem observar o efeito tóxico total do efluente permitindo detectar as possíveis interações (efeitos combinados) entre os componentes. Nestes casos, ensaios toxicológicos utilizando *Allium cepa* (cebola) apresentam metodologia simples, rápida e de baixo custo, e além disso, têm sido utilizados para investigar efeitos deletérios de diversas substâncias químicas, efluentes líquidos e amostras ambientais, sendo que seu uso foi recomendado por diversas agências internacionais de proteção ambiental para verificação preliminar do nível de toxicidade de misturas complexas (Fiskesjö, 1985). El-Shahaby *et al.* (2003) e Leme & Marin-Morales (2009) consideraram o teste com *A. cepa* o mais adequado para detecção preliminar de toxicidade/genotoxicidade ambiental, os quais representam riscos diretos ou indiretos para a população humana.

Por outro lado, ensaios agudos com peixes têm sido amplamente utilizados por diversas agências de controle ambiental, sendo que no Brasil, a ABNT através da NBR 15088 (ABNT, 2011) estabeleceu a norma para a determinação da toxicidade aguda para peixes: *Danio rerio* (paulistinha) e *Pimephales promelas*. Por várias razões as espécies de peixes têm atraído o interesse em estudos de avaliação de respostas biológicas e bioquímicas a contaminantes ambientais. Peixes podem ser encontrados facilmente e possuem importante papel ecológico em cadeias alimentares aquáticas devido à sua função como carreadores de energia dos baixos aos altos níveis tróficos (Corsi *et al.* 2003). Além disso, representam um importante recurso pesqueiro para diversas regiões do planeta.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar o efluente de uma indústria de reciclagem de papelão através de análises químicas e ecotoxicológicas a fim de identificar possíveis impactos que possam vir a ser causados ao ambiente que recebe este efluente.

MATERIAIS E MÉTODOS

A indústria de reciclagem de papelão está localizada no Distrito Industrial de São Luís, MA. O efluente é lançado no sub-afluente do riacho da

Ribeira, o qual pertence à bacia hidrográfica do Tibiri. A indústria não produz papel branco, sendo que toda produção é direcionada à reciclagem de papel e papelão para a confecção de caixas. Segundo dados fornecidos pela indústria, no processo de fabricação há uso de produtos como: cola alcalina, polímeros catiônicos, anti-espumante, anilina e outros produtos químicos (não informados) para a reprodução do papel, sendo que há utilização de água de poço durante o processo, com vazão média de 70 m³hora⁻¹. O efluente gerado é direcionado para os tanques de decantação (três tanques de alvenaria), sendo que após a decantação, o líquido é bombeado para duas lagoas onde ocorre a aeração do efluente até ser lançado no ambiente.

A coleta do efluente para análise dos parâmetros químicos foi realizada com auxílio de frascos de polietileno de 0,5 L os quais foram completamente cheios (sem ar) e armazenados em caixas de isopor com gelo até serem transportadas ao Laboratório de Oceanografia Química da Universidade Federal do Maranhão para análises de pH, condutividade elétrica, DQO e DBO, segundo Standard Methods (APHA, 2012). As coletas das amostras foram feitas nos meses de junho, agosto, setembro e outubro de 2010. No mês de junho, não houve aeração nas lagoas de tratamento em função do mau funcionamento dos equipamentos. O efluente foi coletado no emissário da indústria de reciclagem de papelão sempre no período da manhã.

Para a coleta e transporte das amostras destinadas aos ensaios ecotoxicológicos, foram utilizados frascos de polietileno de 5 L cheios totalmente (sem ar) os quais foram armazenados em caixas de isopor com gelo até serem transportadas ao Laboratório de Ecotoxicologia da UFMA, onde as amostras foram filtradas em papel filtro qualitativo e em seguida utilizadas nos ensaios com peixes (nos meses de junho, agosto, setembro e outubro) segundo (ABNT, 2011). Nos meses de junho e outubro as amostras também foram submetidas a ensaios com *A. cepa* segundo método descrito por Fiskesjö (1993).

Nos ensaios com peixes, foram utilizados indivíduos juvenis com comprimento total entre 1,0 e 2,0 centímetros, os quais foram obtidos de uma piscicultura ornamental localizada na cidade de São Luís, MA. Os lotes de peixes foram aclimatados por 7 dias em aquários com capacidade para 80 L sob aeração constante, pH de 7,8 ± 0,6, temperatura entre 24 e 26°C e fotoperíodo de 12 horas luz, sendo alimentados diariamente, em três porções, com ração comercial para peixes. Trocas parciais de 50 % da água foram realizadas diariamente

para evitar o acúmulo de amônia, sendo que a limpeza do aquário para retirada de fezes e restos alimentares foi realizada por sifonamento. Após o período de aclimação, os lotes dos peixes foram avaliados quanto a sensibilidade através de ensaios utilizando NaCl como substância de referência nas concentrações: 9,6; 10,2; 10,8; 11,4 e 12 g L⁻¹.

Para os ensaios de ecotoxicidade, um grupo de peixes ficou exposto ao efluente (100 %), enquanto que outro foi mantido em água de abastecimento (poço artesiano) do Laboratório de Ecotoxicologia (controle), a mesma utilizada durante o período de aclimação. Os testes foram feitos em recipientes de vidro com capacidade de 1,2 L. Foram preparadas cinco réplicas contendo 5 peixes cada, obedecendo-se a relação máxima de 1 grama de organismo por litro de água. Os testes foram realizados em regime estático, com aeração e sem alimentação por um período de 48 horas (ABNT, 2011) e fotoperíodo de 12 horas. As variáveis pH, oxigênio, temperatura e condutividade elétrica foram verificadas diariamente.

Para o teste com *A. cepa* foram utilizados bulbos e cebola pequena de tamanho uniforme, os quais foram adquiridos no mercado local. As cebolas foram limpas removendo-se os catáfilos externos ressecados com auxílio de pinças e em seguida foram colocadas para enraizar sobre tubos de vidro contendo o efluente nas diluições 100, 50, 10, 5 e 1 %, além do controle negativo (água de diluição) e do controle positivo (sulfato de cobre 0,54 mg L⁻¹). Foram utilizados 12 bulbos para cada tratamento os quais foram mantidos por um período de 72 h em câmara germinadora sob temperatura de 25 °C no escuro. Duas vezes ao dia, foram restabelecidos os volumes das amostras dos tubos de ensaio com solução correspondente a cada diluição.

Após as 72 horas foi verificado o crescimento radicular de cada cebola medindo-se individualmente cada raiz com auxílio de uma régua milimétrica, descartando-se a maior e a menor raiz medida. Da mesma forma, descartou-se os bulbos de cada solução que apresentaram a maior e a menor inibição. Para o cálculo da inibição radicular utilizou-se a seguinte equação:

$$\text{Inibição Radicular} = (MC - MT) \times 100 \times MC^{-1}$$

Onde:

MC = Média aritmética do grupo controle

MT = Média aritmética do tratamento

Os resultados de inibição radicular foram submetidos a análises de variância fatorial seguida do teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Os resultados das análises químicas do efluente estão apresentados na Tabela 1. O pH variou de 7,2 a 6,3 (média de 6,6), sendo que a condutividade elétrica variou de 1.050 a 856 (média de 937,5 $\mu\text{S cm}^{-1}$), revelando que o efluente possui uma característica levemente ácida a neutra, porém com alta condutividade, indicando grande quantidade de íons. Os valores de DQO variaram de 1.100 mg L^{-1} a 200 mg L^{-1} (média de 771,2 mg L^{-1}), sendo que para DBO variaram de 811 mg L^{-1} a 160 mg L^{-1} (média de 572,2 mg L^{-1}), indicando uma alta demanda química e bioquímica por oxigênio. Na coleta do dia 4 de agosto, os valores de DQO e DBO estiveram mais baixos quando comparados com os outros meses devido a diminuição da atividade da indústria naquele período, segundo relato do técnico responsável. Cabe ressaltar que no mês de junho os aeradores das lagoas de tratamento não foram acionados, cujos efeitos puderam ser observados nos valores significativamente ($p < 0,05$) mais elevados de DQO e DBO.

Tabela 1. Valores de pH, condutividade elétrica (CE), demanda química de oxigênio (DQO) e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) do efluente coletado entre os meses de junho e outubro. * indica valor significativamente diferente (teste t de Student, $p < 0,05$) em relação à média dos meses em que o sistema de tratamento estava funcionando.

| Coletas | pH | CE ($\mu\text{S cm}^{-1}$) | DQO (mg L^{-1}) | DBO (mg L^{-1}) |
|------------|-----|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 02/06/2010 | 6,9 | 856 | 1100* | 811* |
| 04/08/2010 | 6,5 | 877 | 200 | 160 |
| 19/08/2010 | 6,3 | 1050 | 890 | 470 |
| 16/09/2010 | 7,2 | 900 | 820 | 718 |
| 23/09/2010 | 6,4 | 1050 | 892 | 704 |
| 01/10/2010 | 6,3 | 892 | 725 | 570 |

Com relação aos ensaios ecotoxicológicos com peixes, os resultados dos ensaios de sensibilidade (Tabela 2) indicaram que os lotes de peixes apresentaram sensibilidade considerada normal para a realização dos ensaios, segundo Castro (2008) e Santos (2009).

Todos os ensaios foram considerados válidos considerando os parâmetros de qualidade de água

Tabela 2. Valores de CL₅₀(48h) de NaCl (g L^{-1}) para três lotes de *Danio rerio* utilizados em ensaios ecotoxicológicos nos meses de junho a setembro de 2010.

| | Junho | Agosto | Setembro | Média |
|------------------------|-------|--------|----------|-------|
| CL ₅₀ (48h) | 10,28 | 9,79 | 9,08 | 9,95 |
| Limite Inferior | 10,05 | 9,27 | 9,05 | 9,06 |
| Limite Superior | 10,52 | 10,35 | 10,01 | 10,29 |

(ABNT, 2011) e o fato de não ter sido observada mortalidade de peixes nos frascos controle. O efluente não apresentou toxicidade aguda para peixes, sendo que em nenhum ensaio foi observada mortalidade de *D. rerio*.

Com relação à sensibilidade dos lotes de *Allium cepa*, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) tanto nos controles positivos (sulfato de cobre), quanto nos controles negativos (água de diluição) entre os dois meses avaliados (junho e outubro), indicando que os lotes de cebolas apresentaram sensibilidade semelhante.

Foi detectada toxicidade do efluente para *A. cepa* sendo que no mês de junho houve uma diferença significativa no crescimento das raízes quando comparado ao controle nos tratamentos 100, 50 e 10 % (Tabela 3) e nestes casos, esta inibição foi semelhante ($p < 0,05$) à observada no grupo submetido à substância de referência (sulfato de cobre). No mês de outubro, foi observada inibição significativa ($p < 0,05$) somente nas cebolas submetidas às amostras de efluente bruto e 50% de diluição.

Tabela 3. Porcentagem de inibição do crescimento radicular de bulbos de cebola. * Indica valores significativamente diferentes (ANOVA, Tukey $p < 0,05$).

| | 02/06/2010 (Sem aeração) | 01/10/2010 (Com aeração) |
|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Controle | 0 | 0 |
| CuSO ₄ | 62,1 * | 53,1 * |
| 100 % | 86,9 * | 51,9 * |
| 50 % | 67,9 * | 44,8 * |
| 10 % | 56,1 * | 18,4 |
| 5 % | 20,5 | 16,0 |
| 1 % | 19,3 | 11,2 |

DISCUSSÃO

Os efluentes de fábricas de celulose e papel são conhecidos por conterem diferentes substâncias químicas, e com isso, apresentam alto potencial de toxicidade aos seres vivos aquáticos, mesmo após tratamento. A toxicidade dos efluentes tratados

de fábricas de celulose e papel pode ocorrer em três diferentes situações: 1) quando há presença de compostos no efluente que não são totalmente removidos na estação de tratamento; 2) deficiência do tratamento resultando na liberação de compostos tóxicos que deveriam ser removidos; e 3) geração de compostos tóxicos na própria estação de tratamento.

As análises químicas do efluente da indústria de reciclagem de papelão revelaram que apesar do pH apresentar níveis considerados normais (CONAMA, 2011), foram encontrados altos valores de condutividade, DBO e DQO. Os valores de DBO do efluente indicam que há grande quantidade de matéria orgânica biodegradável oriunda do processo. O mesmo acontece com os valores de DQO que são maiores que os da DBO. De fato, segundo Silva *et al.*, (2003), esse resultado é normal em função do grande número de compostos serem preferencialmente oxidados por via química do que por via biológica. Altos índices de DBO e DQO podem promover a diminuição e até a eliminação do oxigênio presente nas águas, sendo que nessas condições, os processos aeróbicos de degradação orgânica podem ser substituídos pelos anaeróbicos ocasionando, por exemplo, produção de sulfetos. Nestes casos, as contaminações por efluentes contendo altas demandas por oxigênio podem levar a um cenário de risco para as comunidades que habitam os corpos receptores destes efluentes. No caso da indústria de reciclagem de papelão em questão, utiliza-se somente tratamento primário e secundário do efluente, acarretando no lançamento de resíduos líquidos e sólidos (lodo proveniente do tanque de sedimentação) ainda com grande carga poluidora. Além disso, apresenta deficiência nos sistemas de aeração das lagoas conforme constatado no mês de junho.

Diversos estudos têm demonstrado a ecotoxicidade de efluentes de indústrias de celulose e papel (Ali & Sreekrishnan, 2001) cujos efeitos têm sido demonstrado em diferentes organismos-teste como microalgas (Oanh & Bengtsson, 1995; Sponza, 2003), dafnideos (Onikura *et al.*, 2008), ouriços (Cherr *et al.*, 1987; Kinae *et al.*, 1981) e peixes (Belknap *et al.*, 2006). Neste estudo, não foi observada a toxicidade aguda em *D. rerio*, cabendo ressaltar que a sensibilidade observada para este peixe é similar à observada por outros autores (Castro, 2008; Santos, 2009), indicando que os lotes utilizados nos testes não apresentavam condições anormais de sensibilidade às substâncias químicas. Por outro lado, foi verificada toxicidade para *A. cepa* nos dois meses avaliados.

Segundo Matsumoto & Marin-Morales (2004), as células da raiz de *A. cepa* constituem um sistema conveniente tanto para parâmetros macroscópicos (crescimento e deformidade), quanto para parâmetros microscópicos (aberrações cromossômicas). Segundo Fiskesjö (1993), a raiz é comumente a parte da planta que entra em contato com os poluentes do solo ou da água. A observação do crescimento radicular tem mostrado que a cebola é bastante sensível quanto a presença de contaminantes ambientais (substâncias solúveis em água), além de evidenciar um cenário de poluição ambiental e contaminação por substâncias químicas em ecossistemas aquáticos.

Smaka-Kincl *et al.* (1996), verificaram que resíduos industriais causaram uma diminuição do crescimento das raízes expostas, demonstrando uma redução significativa do crescimento em relação ao controle. Da mesma forma, Fiskesjö (1988), avaliando amostras de um rio em pontos localizados após uma indústria, mostrou claramente a restrição do crescimento das raízes devido a exposição às altas concentrações de compostos químicos.

Neste estudo, foi observada uma maior inibição radicular nos bulbos das amostras oriundas do mês em que as lagoas não estavam recebendo aeração (junho), com inibição significativa do crescimento das raízes mesmo quando diluídas 10 vezes. Por outro lado, na análise do mês de outubro, a amostra quando diluída 10 vezes não apresentou toxicidade quando comparada ao controle, sugerindo que a utilização de aeradores na estação de tratamento diminui a toxicidade do efluente. De fato, foi observada a diminuição da demanda por oxigênio (DBO e DQO) quando a lagoa estava sendo aerada indicando que o processo é mais eficaz, tanto na degradação de resíduos quanto na redução da toxicidade. Esses resultados reforçam a necessidade das plantas industriais incrementarem seus sistemas de tratamento de efluentes, como ficou demonstrado que uma técnica simples como a aeração pode reduzir significativamente a toxicidade do efluente.

A toxicidade é um efeito danoso de um agente químico sobre um organismo vivo, e o mecanismo de intoxicação depende da concentração, composição e propriedades dos agentes químicos. Além disso, depende das características intrínsecas dos organismos expostos e da duração da exposição. O fato de se ter observado toxicidade nas cebolas e não nos peixes, sugere que a mistura de compostos do efluente analisado, aparentemente, tem maior efeito nos vegetais, sendo necessário utilizar métodos mais específicos de investigação. A técnica do TIE (Toxicity Identification Evaluation) permite

identificar o composto ou grupo de compostos dentro do efluente causador da toxicidade, permitindo assim, tomadas de ações rápidas e direcionadas para redução dessa toxicidade (Rumbold & Snedaker, 1999; Elphick *et al.*, 2005). Neste caso, esta indústria de reciclagem de papelão, tendo o conhecimento dos compostos ou grupos de compostos tóxicos, poderia tomar medidas mitigadoras mais eficientes a fim de diminuir a toxicidade dos resíduos dos processos.

CONCLUSÃO

O efluente da indústria de reciclagem de papelão apresentou toxicidade para *A. cepa* indicando a necessidade de melhorias no sistema de tratamento, sendo que, apesar de não conseguir eliminar totalmente, a utilização de aeradores nas lagoas de tratamento diminui significativamente a toxicidade do efluente. Apesar de não ter sido observada toxicidade aguda em *D. rerio*, é importante que se avalie a toxicidade crônica destes efluentes para espécies de peixes, principalmente as de ocorrência natural nos corpos receptores da região.

REFERÊNCIAS

- ABNT. 2011. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Ecotoxicologia Aquática –Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes. NBR 15088. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas. 22 p.
- ADAMS, W.J., & ROWLAND, C.D. 2003. Aquatic toxicology test methods. In: D.J. HOFFMAN, B. RATTNER, G.A. BURTON, & J. CAIRNS (Eds.), Handbook of Ecotoxicology. Boca Raton: CRC. 1290 p
- ALI, M., & SREEKRISHNAN, T. 2001. Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: a review. Adv. Environ. Res., 5(2): 175–196. [http://doi.org/10.1016/S1093-0191\(00\)00055-1](http://doi.org/10.1016/S1093-0191(00)00055-1)
- APHA. 2012. American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater | Clc (22nd ed.). Washington: Water Environment Federation, Port City Press.
- ARAGÃO, M.A., & ARAÚJO, R.P.A. 2006. Métodos de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos. Em: P.A. Zagatto & E. Bertoletti (Eds.), Ecotoxicologia Aquática. Princípios e Aplicações. São Carlos: RiMa. 464 p.
- BELKNAP, A.M., SOLOMON, K.R., MACLATCHY, D.L., DUBÉ, M.G., & HEWITT, L.M. 2006. Identification of compounds associated with testosterone depressions in fish exposed to bleached kraft pulp and paper mill chemical recovery condensates. Environ. Toxicol. Chem., 25(9): 2322–2333. <http://doi.org/10.1897/05-638R.1>
- BERTOLETTI, E., NIPPER, M.G., & MAGALHÃES, N.P. 1992. Precisão de testes de toxicidade com *Daphnia* I. Ambiente, 6(1): 55–59.
- BOHRER, M.B.C. 1995. Biomonitoramento das lagoas de tratamento terciário dos efluentes líquidos industriais. 469 p. Tese (Doutorado), Universidade Federal de São Carlos.
- BRAGA, B., HESPANHOL, I., CONEJO, J.G.L., MIERZWA, J.C., BARROS, M.T.L., SPENCER, M., EIGER, S. 2005. Introdução à Engenharia Ambiental. O desafio do desenvolvimento sustentável (2a. ed.). São Paulo: Pearson Prentice Hall. 318 p.
- CASTRO, A.A.A.S. de. 2008. Avaliação ecotoxicológica de efluentes industriais utilizando *Danio rerio* Hamilton-Buchanan, 1822 (TELEOSTEI, CYPRINIDAE). 64 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Disponível em: <http://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/12481>.
- CHERR, G.N., SHENKER, J.M., LUNDMARK, C., & TURNER, K.O. 1987. Toxic effects of selected bleached kraft mill effluent constituents on the sea urchin sperm cell. Environ. Toxicol. Chem., 6(7): 561–569. <http://doi.org/10.1002/etc.5620060708>
- CONAMA. 2011. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução no. 430 de 13 de maio de 2011. BRASIL: Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>.
- CORSI, I., MARIOTTINI, M., SENSINI, C., LANCINI, L., & FOCARDI, S. 2003. Fish as bioindicators of brackish ecosystem health : integrating biomarker responses and target pollutant concentrations. Oceanol. Acta, 26(1): 129–138. [http://doi.org/10.1016/S0399-1784\(02\)01237-9](http://doi.org/10.1016/S0399-1784(02)01237-9)
- COSTAN, G., BERMINGHAM, N., BLAISE, C., & FERARD, J.F. 1993. Potential ecotoxic effects probe (PEEP): A novel index to assess and compare the toxic potential of industrial effluents. Environ. Toxic. Water, 8(2): 115–140. <http://doi.org/10.1002/tox.2530080202>
- ELPHICK, J.R., BAILEY, H.C., HINDLE, A., & BERTOLD, S.E. 2005. Aeration with carbon dioxide-

- supplemented air as a method to control pH drift in toxicity tests with effluents from wastewater treatment plants. *Environ. Toxicol. Chem.*, 24(9): 2222-2225. <http://doi.org/10.1897/04-360R1.1>
- EL-SHAHABY, A.O., ABDEL-MIGID, H.M., SOLIMAN, M.I., & MASHALY, I.A. 2003. Genotoxicity screening of industrial wastewater using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. *Pakistan J. Biol. Sci.*, 6(1): 23–28.
- FISKESJÖ, G. (1985). The *Allium* Test as standard in environmental Monitoring. *Hereditas*, 102: 99–112.
- FISKESJÖ, G. (1988). The *Allium* test — an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mut. Res-Fund. Mol. M.*, 197(2): 243–260. [http://doi.org/10.1016/0027-5107\(88\)90096-6](http://doi.org/10.1016/0027-5107(88)90096-6)
- FISKESJÖ, G. 1993. *Allium* test I: A 2–3 day plant test for toxicity assessment by measuring the mean root growth of onions (*allium cepa* L.). *Environ. Toxic. Water*, 8(4): 461–470. <http://doi.org/10.1002/tox.2530080410>
- HACON, S. de S. 2004. Avaliação e gestão do risco ecotoxicológico à saúde humana. In F.A. Azevedo & A.A. da M. Chasin (Eds.), *As bases toxicológicas da ecotoxicologia*. São Carlos: RiMa/Intertox. 322 p.
- KINAE, N., HASHIZUME, T., MAKITA, T., TOMITA, I., & KIMURA, I. 1981. Kraft pulp mill effluent and sediment can retard development and lyse sea urchin eggs. *B. Environ. Contam. Tox.*, 27(1): 616–623. <http://doi.org/10.1007/BF01611072>
- LEME, D.M., & MARIN-MORALES, M.A. 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutat. Res.*, 682(1): 71–81. <http://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>
- MATSUMOTO, S.T., & MARIN-MORALES, M.A. 2004. Mutagenic potential evaluation of the water of a river that receives tannery effluent using the *Allium cepa* Test System. *Cytologia*, 69(4): 399–408. doi.org/10.1508/cytologia.69.399
- OANH, N. T. K., & BENGTTSSON, B.-E. (1995). Toxicity to *Microtox*, micro-algae and duckweed of effluents from the Bai Bang paper company (BAPACO), a Vietnamese bleached kraft pulp and paper mill. *Environ. Pollut.*, 90(3): 391–399. [http://doi.org/10.1016/0269-7491\(95\)00008-F](http://doi.org/10.1016/0269-7491(95)00008-F)
- ONIKURA, N., KISHI, K., NAKAMURA, A., & TAKEUCHI, S. 2008. A screening method for toxicity identification evaluation on an industrial effluent using Chelex-100 resin and chelators for specific metals. *Environ. Toxicol. Chem.*, 27(2): 266–271. <http://doi.org/10.1897/07-327R.1>
- RUMBOLD, D., & SNEDAKER, S. 1999. Sea-surface microlayer toxicity off the Florida Keys. *Mar. Environ. Res.*, 47(5): 457–472. [http://doi.org/10.1016/S0141-1136\(98\)00131-7](http://doi.org/10.1016/S0141-1136(98)00131-7)
- SANTOS, P. I. M. dos. 2009. Avaliação da toxicidade aguda do inseticida metomil e o seu efeito sobre a atividade da acetilcolinesterase do peixe *Danio rerio*. 65 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Disponível em: <http://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/12489>
- SILVA, F.F.da, FREITAS, P.S.L.de, BERTONHA, A., REZENDE, R., GONÇALVES, A.C. A., & DALLACORT, R. 2003. Variação da carga orgânica do efluente de fecularia de mandioca. *Acta Scientiarum: Agronomy*, 25(1), 161–165. <http://doi.org/10.4025/actasciagron.v25i1.2596>
- SMAKA-KINCL, V., STEGNAR, P., LOVKA, M., & TOMAN, M.J. 1996. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. *Mutat. Res-Genet. Tox.*, 368(3-4): 171–179. [http://doi.org/10.1016/S0165-1218\(96\)90059-2](http://doi.org/10.1016/S0165-1218(96)90059-2)
- SPONZA, D.T. 2003. Application of toxicity tests into discharges of the pulp-paper industry in Turkey. *Ecotox. Environ. Safe.*, 54(1): 74–86. [http://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00024-6](http://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00024-6)