



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIODIVERSIDADE NEOTROPICAL)

EVELYN OLIVEIRA DA SILVA

ALTERAÇÕES NO SISTEMA ANTIOXIDANTE, CITO E GENOTOXICIDADE EM  
ORGANISMOS TERRESTRES CAUSADAS POR LIXIVIADO DE RESÍDUOS  
SÓLIDOS URBANOS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

RIO DE JANEIRO

2022

Evelyn Oliveira da Silva

ALTERAÇÕES NO SISTEMA ANTIOXIDANTE, CITO E GENOTOXICIDADE EM  
ORGANISMOS TERRESTRES CAUSADAS POR LIXIVIADO DE RESÍDUOS  
SÓLIDOS URBANOS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Dissertação submetida como requisito para  
obtenção do título de Mestre em Ciências  
Biológicas (Biodiversidade Neotropical), no  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Biológicas (Biodiversidade Neotropical),  
Instituto de Biociências, Universidade  
Federal do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Dr. Fábio Veríssimo Correia

Coorientador: Dr. Enrico Mendes Saggioro e  
Dra. Camille Ferreira Mannarino

RIO DE JANEIRO

2022

OE93 Oliveira da Silva, Evelyn  
Alterações no sistema antioxidante, cito e  
genotoxicidade em organismos terrestres causadas  
por lixiviado de resíduos sólidos urbanos: uma  
revisão integrativa. / Evelyn Oliveira da Silva. --  
Rio de Janeiro, 2022.  
85

Orientador: Fábio Veríssimo Correia .  
Coorientador: Enrico Mendes Saggioro .  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do  
Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação  
em Ciências Biológicas, 2022.

1. Lixiviado. 2. Resíduos sólidos urbanos. 3.  
Organismos terrestres. 4. Revisão integrativa. I.  
Veríssimo Correia , Fábio , orient. II. Mendes  
Saggioro , Enrico , coorient. III. Título.

Catálogo informatizada pelo(a) autor(a)

RIO DE JANEIRO

2022

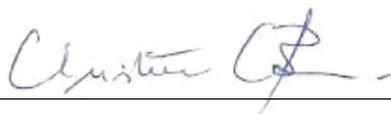
Evelyn Oliveira da Silva

ALTERAÇÕES NO SISTEMA ANTIOXIDANTE, CITO- E GENOTOXICIDADE EM ORGANISMOS TERRESTRES CAUSADAS POR LIXIVIADO DE RESÍDUO SÓLIDO URBANO: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Biodiversidade Neotropical) da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito para obtenção do título de Mestra em Ciências Biológicas.

Aprovada em 17 de março de 2022.

**Banca Examinadora:**



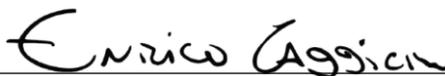
Prof<sup>a</sup>. Dr (a) Christina Wyss Castelo Branco, (UNIRIO)



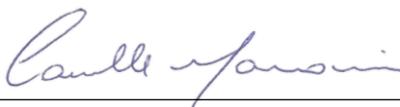
Dr(a) Giselle Gomes, (FIOCRUZ)



Prof. Dr. Fábio Veríssimo Correia, (UNIRIO) Orientador



Prof. Dr. Enrico Mendes Saggioro, (FIOCRUZ) Coorientador



Prof<sup>a</sup>. Dr(a). Camille Ferreira Mannarino, (FIOCRUZ) Coorientador

## AGRADECIMENTO

Primeiro gostaria de agradecer a Deus por possibilitar a minha entrada na pós-graduação e minha família, em especial meu marido Jean, por estar comigo em todos os momentos durante esses dois anos de muita luta e aprendizado.

Gostaria de agradecer aos meus orientadores Fábio, Enrico e Camille, pela confiança, e por estarem presentes em todos os momentos, pelos conselhos, apoio, bronca e pelo carinho, muito, muito obrigada queridos orientadores, que mesmo pela distância física, vocês estiveram presentes pelo *Whatsapp* e pelas ligações.

Também quero agradecer aos professores da pós-graduação em Biodiversidade, e a UNIRIO pelo suporte virtual.

Muito obrigada professoras Christina Wyss Castelo Branco e Natascha Krepsky e as pesquisadoras Giselle Gomes e Rachel Ann Hauser Davis por aceitarem o convite para participarem da banca.

## RESUMO

SILVA, Evelyn Oliveira da. Alterações no sistema antioxidante, cito e genotoxicidade em organismos terrestres causadas por lixiviado de resíduos sólidos urbanos: uma revisão integrativa. Dissertação (Ciências Biológicas - Biodiversidade Neotropical) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, 2022.

O processo de urbanização, desenvolvimento econômico e revolução tecnológica estão associados às mudanças no comportamento do consumo da população mundial, levando ao aumento na produção de resíduos sólidos urbanos (RSUs). Dentro dos problemas que o Brasil enfrenta em relação RSUs, a principal dificuldade é a destinação final inadequada dos resíduos. A decomposição da matéria orgânica dos RSUs geram dois subprodutos, o biogás e o lixiviado, sendo este o a matriz desse estudo, e definido como um líquido de coloração escura com elevada carga orgânica. Diante disso, o objetivo dessa pesquisa é avaliar os efeitos dos lixiviados de resíduos sólidos urbanos em organismos terrestres com base em trabalhos científicos publicados na literatura. Foi realizado um levantamento bibliográfico dos efeitos do lixiviado proveniente de aterros, lixões e incineradores, sobre organismos terrestres, em duas bases de dados para a pesquisa bibliográfica: Web of Science e SCOPUS. Foi encontrado um total de 33 artigos elegíveis, que avaliaram três efeitos, a citotoxicidade (4 artigos), genotoxicidade (26 artigos) e efeitos no sistema antioxidante (12 artigos). Diante dos resultados apresentados pelos artigos, podemos ratificar que o lixiviado oriundo de resíduos sólidos urbanos foram citotóxico para as células vegetais e os animais, e a exposição do ambiente terrestre ao lixiviado representou um potencial risco citotóxico para os organismos edáficos. Os metais e outros poluentes como compostos alifáticos halogenados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e bifenilos clorados, encontrados no lixiviado também foram possíveis responsáveis pela diminuição do índice mitótico nos animais e nas plantas. E, embora sejam considerados micronutrientes essenciais ao metabolismo das plantas, alguns metais podem, quando presentes em altas concentrações, induzir a formação de micronúcleos e reduzir a germinação e o crescimento de raízes. Conclui-se, baseado nos artigos analisados, que o lixiviado foi capaz de gerar estresse oxidativo, acarretando a formação de espécies reativas de oxigênio, induzindo a atividade de enzimas como a catalase e a superóxido dismutase.

## ABSTRACT

SILVA, Evelyn Oliveira da. Changes in the antioxidant system, cytotoxicity and genotoxicity in terrestrial organisms caused by leachate from municipal solid waste: an integrative review. Dissertação (Ciências Biológicas - Biodiversidade Neotropical) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, 2022.

The process of urbanization, economic development and technological revolution are associated with changes in the consumption behavior of the world population, leading to an increase in the production of urban solid waste (MSW). Among the problems that Brazil faces in relation to MSW, the main difficulty is the inadequate final destination of waste. The decomposition of organic matter from MSW generates two by-products, biogas and leachate, which is used as the matrix for this study, defined as a dark colored liquid with a high organic load. Therefore, the objective of this research is to evaluate the effects of urban solid waste leachates on terrestrial organisms based on scientific works published in the literature. A bibliographic survey of the effects of leachate from landfills, dumps and incinerators on terrestrial organisms was carried out in two databases for bibliographic research: Web of Science and SCOPUS. A total of 33 eligible articles were found, which evaluated three effects, cytotoxicity (4 articles), genotoxicity (26 articles) and effects on the antioxidant system (12 articles). In view of the results presented by the articles, we can confirm that the leachate from urban solid waste was cytotoxic to plant cells and animals, and the exposure of the terrestrial environment to the leachate represented a potential cytotoxic risk for edaphic organisms. Metals and other pollutants such as halogenated aliphatic compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons and chlorinated biphenyls found in the leachate were also possible responsible for the decrease in the mitotic index in animals and plants. And, although they are considered essential micronutrients for plant metabolism, some metals can, when present in high concentrations, induce the formation of micronuclei and reduce germination and root growth. It is concluded, based on the analyzed articles, that the leachate was able to generate oxidative stress, causing the formation of reactive oxygen species, inducing the activity of enzymes such as catalase and superoxide dismutase.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|  |    |
|--|----|
| Figura 1: Visão geral dos sistemas de defesa enzimática .....  | 28 |
| Figura 2: Número em porcentagem de artigos selecionados, após procedimento de triagem.....   | 32 |
| Figura 3: Número total de artigos por ano de publicação que analisou o efeito do lixiviado sobre organismos terrestres em três <i>endpoints</i> , citotoxicidade, genotoxicidade e sistema antioxidante. ....  | 32 |
| Figura 4: Quantidade de publicação sobre lixiviado por países. ....  | 33 |
| Figura 5: Número de artigos em cada endpoint por reino Plantae e Animalia. ....  | 34 |
| Figura 6: Aberrações cromossômicas observadas em células de raiz de <i>Allium cepa</i> cultivadas em vários tratamentos de lixiviados de lixo eletrônico. <b>a, b)</b> Cromossomos vagantes e retardatários, <b>c)</b> fragmento de cromossomo; <b>d)</b> anormalidades do fuso na anáfase; <b>e, f)</b> cromossomos pegajosos; <b>g)</b> ponte anáfase; <b>h)</b> C-mitose; <b>i)</b> células fantasmas induzidas pelo tratamento de lixo eletrônico; <b>j)</b> célula mitótica normal.. .... | 48 |

## **LISTA DE TABELAS**

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1: Disposição final de RSU no Brasil e regiões, por tipo de destinação (t/ano e %). .....               | 17 |
| Tabela 2: Variáveis físicas e químicas da composição dos lixiviados em função da idade dos aterros/lixão. .... | 20 |

## **LISTA DE QUADROS**

|   |    |
|---|----|
| Quadro 1: Etapas do procedimento de busca dos artigos científicos nos bancos de dados.....  | 29 |
| Quadro 2 - Etapas do procedimento de seleção e inclusão dos artigos. ....   | 31 |
| Quadro 3: Artigos publicados que avaliaram o efeito de citotoxicidade sobre os organismos, origem do lixiviado, efeito observado e principal resultado. ....        | 35 |
| Quadro 4: Artigos publicados que avaliaram o efeito de genotoxicidade sobre os organismos, origem do lixiviado, efeito observado e principal resultado. ....        | 40 |
| Quadro 5: Artigos publicados que avaliaram o efeito de sistema antioxidante sobre os organismos, origem do lixiviado, efeito observado e principais resultados..... | 55 |

## LISTA DE SIGLAS

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| ABRELPE                       | Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais |
| ABNT                          | Associação Brasileira de Normas Técnicas                                  |
| ALP                           | Fosfatase alcalina  |
| APOX                          | Ascorbato peroxidase  |
| CA                            | Aberrações cromossômicas  |
| CAT                           | Catalase  |
| CE <sub>50</sub>              | Concentração efetiva media  |
| CL <sub>50</sub>              | Concentração letal média  |
| CI <sub>50</sub>              | Concentração de inibição media  |
| DBO                           | Demanda bioquímica de oxigênio  |
| DQO                           | Demanda química de oxigênio   |
| DEs                           | Desreguladores Endócrinos   |
| DL <sub>50</sub>              | Dose letal média  |
| DWL                           | Lixiviado de resíduos de corante  |
| EROs                          | Espécies reativas de oxigênio   |
| GOT                           | Transaminase de ácido glutâmico-oxaloacético                              |
| GPOX                          | Guaiacol peroxidase   |
| GPT                           | Transaminase de ácido glutâmico-pirúvico                                  |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Peróxido de hidrogênio  |
| PCO                           | Oxidação de proteínas   |
| pH                            | Potencial de Hidrogênio   |
| PNC                           | Células picnóticas  |
| PNRS                          | Política Nacional de Resíduos Sólidos                                     |

|      |                                |
|------|--------------------------------|
| POX  | Peroxidase                     |
| MA   | Aberrações mitóticas           |
| MI   | Índice mitótico                |
| MT   | Metalotioneína                 |
| MWL  | Lixiviado de resíduos de metal |
| NMC  | Micronúcleo                    |
| OD   | Oxigênio dissolvido            |
| RSUs | Resíduos sólidos urbanos       |
| SCE  | Trocas de cromátides irmãs     |
| SOD  | Superóxido dismutase           |

## Sumário

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....   | 14 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO .....  | 16 |
| 2.1. DISPOSIÇÃO FINAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS NO BRASIL .....                 | 16 |
| 2.2. LIXIVIADOS .....   | 18 |
| 2.4. ECOTOXICOLOGIA TERRESTRE.....  | 23 |
| 2.4.1. CITOTOXICIDADE .....   | 25 |
| 2.4.2. GENOTOXICIDADE.....  | 25 |
| 2.4.3. SISTEMA ANTIOXIDANTE .....   | 26 |
| 4. OBJETIVOS .....  | 29 |
| 4.1. OBJETIVO GERAL .....   | 29 |
| 4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....   | 29 |
| 5. METODOLOGIA .....  | 29 |
| 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....  | 31 |
| 6.1. CITOTOXICIDADE.....  | 34 |
| 6.2. GENOTOXICIDADE.....  | 39 |
| 6.3. SISTEMA ANTIOXIDANTE .....   | 53 |
| 7. CONCLUSÕES .....   | 65 |
| 8. APONTAMENTOS FUTUROS .....   | 66 |
| 9. REFERÊNCIAS.....   | 67 |
| APÊNDICE A – Listagem dos artigos encontrados no levantamento bibliográfico ..... | 81 |

# 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a população mundial vem crescendo de forma desordenada, atingindo, segundo dados recentes, mais de 7,5 bilhões de pessoas, principalmente em países em desenvolvimento (UNITED NATIONS, 2020). Esta expansão populacional e a concentração dessa população nas grandes cidades estão relacionadas à maior demanda de recursos ambientais (GODECKE et al., 2013).

Concomitantemente, os processos de urbanização, desenvolvimento econômico e revolução tecnológica estão associados às mudanças no comportamento do consumo da população mundial. Como resultado direto desses processos, vem ocorrendo o aumento na produção de resíduos sólidos urbanos (RSUs), tanto em quantidade como em diversidade, principalmente nas metrópoles (RAMOS et al., 2017; GODECKE et al., 2013; GOUVEIA, 2012).

As preocupações relacionadas às possíveis consequências ambientais dos resíduos sólidos intensificaram-se na década de 90, durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento e na Rio-92, quando foram discutidos os impactos do desenvolvimento nos ecossistemas e na saúde da população (GODECKE et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2015). Assim, nas últimas décadas os países desenvolvidos avançaram na questão sobre o gerenciamento dos resíduos sólidos, com o estabelecimento de políticas e legislações mais rigorosas e restritivas, que incentivaram o desenvolvimento e a implementação de tecnologias de tratamento mais sustentáveis na gestão dos RSUs (PNRS, 2010).

No contexto nacional, em 2010 foi promulgada a Lei Federal 12.305 sobre Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), sendo um marco histórico na gestão de resíduos sólidos, consistindo em diretrizes para o planejamento e a gestão dos resíduos no país (PNRS, 2010). Segundo a PNRS, a destinação final ambientalmente adequada dos RSUs deveria inserir a reutilização, reciclagem, compostagem, recuperação e o aproveitamento energético ou outras destinações e, por fim, a disposição final em aterros sanitários ou industriais (PNRS, 2010; ABRELPE, 2018).

De acordo com o diagnóstico anual da Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais (ABRELPE, 2021), em 2020 o país sofreu influência direta da pandemia da COVID-19, tendo alcançado um total de aproximadamente 82,5 milhões de toneladas geradas de RSUs, ou seja, 225.965 toneladas diárias. Logo, cada brasileiro, em média, produziu mais de 1,07 kg/dia de RSUs (ABRELPE, 2021). Dessa maneira, os principais problemas que o Brasil enfrenta em relação RSUs estão relacionadas aos problemas de coleta e transporte; a destinação final inadequada dos resíduos, e a falta de aterros sanitários que atendam toda a população brasileira (CETRULO et al., 2018). Vale ressaltar que as regiões do norte e nordeste são as que apresentam os maiores índices de disposição inadequada de RSUs, com 64,4 e 63,7% respectivamente (ABRELPE, 2021).

Devido à disposição e composição, baseada em matéria orgânica, dos RSUs, o processo de degradação dos mesmos é complexo (FRANCO et al., 2017). Sendo assim, a decomposição da matéria orgânica ocorre simultaneamente com outros processos, gerando o lixiviado, líquido de coloração escura com elevada carga orgânica (HUSSEIN et al., 2019). As características e composição do lixiviado variam de acordo com os resíduos sólidos depositados e com a idade de operação e/ou o encerramento do lixão e aterro (MANNARINO et al., 2013; MARIA, 2013; MARTINS et al., 2010). Os lixiviados podem apresentar concentrações relevantes de metais, compostos como nitratos, fósforo, potássio, ferro, chumbo, cádmio e alumínio (PRZYDATEK, 2019) e compostos emergentes com potencial de desregulação endócrina (IBOR et al., 2020).

Diante disso, o risco de contaminação dos recursos hídricos, superficiais ou subterrâneos pelos lixiviados advindos de resíduos sólidos, tem sido considerado uma grande preocupação ambiental. Estudos indicam a contaminação dos corpos hídricos, provocados pela falta ou ineficiência de tratamento adequado do lixiviado, podendo afetar a biodiversidade aquática e terrestre (ABREU; CUNHA, 2015; JANSE et al., 2015; GAJSKI et al., 2012).

De acordo com Józwiak et al. (2019), aproximadamente 10% do lixiviado flui do aterro/lixão e se infiltra através do terreno contendo componentes dissolvidos formados como os produtos de reações bioquímicas (JÓŻWIAK et al. 2019). Cerca de apenas 0,4% é descarregado em estação de tratamento e gerenciado com segurança, a parte restante chega ao solo e ao lençol freático pela permeabilidade através do depósito do aterro (JÓŻWIAK et al., 2019). A quantidade de lixiviados que se move para o solo, a taxa de permeabilidade e a composição dos mesmos podem diferir, principalmente em relação a idade do aterro, enquanto a taxa de permeabilidade depende da estrutura do substrato e da composição química do resíduo depositado no aterro (JÓŻWIAK et al. 2019; ZHU et al., 2013).

Nesse contexto, os impactos ambientais causados pelo lixiviado nos solos e nos sistemas aquáticos podem resultar no desequilíbrio físico, químico e biológico, afetando os ciclos biogeoquímicos, se acumulando nos organismos edáficos e aquáticos, e, conseqüentemente, acometendo os seres humanos via cadeia alimentar (LANGE, 2012). Nesse sentido, estudos mais aprofundados sobre as possíveis conseqüências do lixiviados no ambiente são necessários, a fim de saber seus potenciais riscos, e estabelecer medidas preventivas que possam atenuar seus prováveis impactos negativos, tendo em vista o potencial de persistência ou de transformação desse efluente (MISHRA et al., 2019; SALES JUNIOR et al., 2021).

Baseado nas características heterogênicas e complexas, os estudos ecotoxicológicos em lixiviado de resíduos sólidos são de grande importância para o conhecimento do grau e das formas de poluição por meio de monitoramento ambiental. Estes estudos permitem avaliar a contaminação ambiental por diversas fontes de poluição, abrangendo uma grande variedade de substâncias biologicamente disponíveis em uma amostra ambiental por meio de um único ensaio (SUZUKI et al., 2013).

De acordo com Niva et al., (2019), os ensaios ecotoxicológicos terrestres, são uma importante ferramenta na avaliação de como substâncias lançadas no ecossistema podem afetar diferentes organismos e populações, fornecendo subsídios para avaliar a qualidade do solo e proteger adequadamente a qualidade ambiental (NIVA et al., 2019). Nesses ensaios, são utilizados organismos bioindicadores dos grandes grupos da cadeia ecológica, capazes de identificar pequenas alterações no ambiente (NIVA et al., 2019; COSTA et al., 2008).

Baseado na literatura atual, diversos estudos têm relatado sobre os efeitos que o lixiviado pode causar nos organismos, como estresse oxidativo, distúrbios na reprodução, perda de mobilidade, diminuição da luminescência, lesão tecidual, desregulação endócrina, inibição de crescimento, genotoxicidade, deformações anatômicas e alterações comportamentais (IBOR et al., 2020; MANNARINO et al., 2013a; OLIVEIRA; SILVA; RIBÉ et al., 2012; TOUFEXI et al., 2013).

Entender a consistência da informação publicada é um desafio, a fim de avaliar os efeitos reais do lixiviado no ambiente terrestre. Os diferentes estudos divergem em suas metodologias, concentrações utilizadas e biomarcadores empregados, dificultando as avaliações de risco e as discussões sobre os reais efeitos desta matriz complexa. Assim, esta revisão tem como objetivo apresentar o atual estado do conhecimento e as lacunas sobre os estudos ecotoxicológicos de lixiviado para biota terrestre, a fim de contribuir para um melhor entendimento dos potenciais riscos do lixiviado e, direcionar futuros estudos de ecotoxicidade, contribuindo para o gerenciamento e políticas públicas sobre o gerenciamento dos RSUs.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. DISPOSIÇÃO FINAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS NO BRASIL**

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), NBR 8419/1992 aterros sanitários são locais ideais para a disposição do RSUs, tendo como base critérios de engenharia e normas operacionais específicas que permitem a confinação segura do resíduo, em termos de controle da poluição e proteção do meio ambiente. No aterro, o resíduo é comprimido por máquinas que diminuem seu volume, por meio do processo de compactação. Após a etapa de compactação, é coberto por uma camada de areia ou pelo próprio solo, diminuindo cheiros, evitando incêndios e impedindo a proliferação de insetos e roedores. Esse processo serve para reduzir o volume de lixo e, assim, aumentar a vida útil do aterro (VIEIRA & DROSTE, 2019). No aterro sanitário, o lixiviado e o biogás são coletados e tratados, uma medida de proteção ambiental e de manutenção da estabilidade do aterro. Ainda assim, a

distância mínima de um aterro sanitário para um curso de água deve ser de 200 m (NBR 8419/1992; VIEIRA & DROSTE, 2019).

Conforme ABNT, NBR 8849/1985, o aterro controlado é uma técnica de disposição de resíduos sólidos urbanos no solo sem tratamento prévio. Os RSUs depositados neste tipo de aterro, recebe uma camada de material inerte na conclusão de cada jornada de trabalho. Apesar disso, o aterro controlado não é o mais indicado, por não possuir o tratamento necessário para os resultantes gerados pela decomposição do resíduo que são causadores de impactos negativos ao meio ambiente (CORRÊA et al., 2019; VIEIRA & DROSTE, 2019).

A expressão lixão ou vazadouro é utilizado para caracterizar uma área a céu aberto que recebe diariamente resíduo sólido de diversos tipos, fontes e composição, sem qualquer ou com poucas medidas de controle operacional e proteção ambiental, onde geralmente nesses locais há pessoas que utilizam esses resíduos para geração de renda (RAMOS et al., 2017).

Segundo o ABRELPE (2021), a maior parte dos RSUs coletados no Brasil teve a disposição em aterros sanitários, com 46 milhões de toneladas enviadas para esses locais, superando a marca dos 60,2% dos resíduos coletados que tiveram destinação adequada no país. No entanto, áreas de disposição inadequada, incluindo lixões e aterros controlados, ainda estão em operação e receberam quase 39,8% do total de resíduos coletados, como está na tabela 1 (ABRELPE 2021).

Tabela 1: Disposição final de RSUs no Brasil e regiões, por tipo de destinação (t/ano e %).

| Região              | Disposição adequada |       | Disposição inadequada |       |
|---------------------|---------------------|-------|-----------------------|-------|
|                     | t/ano               | %     | t/ano                 | %     |
| <i>Norte</i>        | 1.773.93            | 35,6% | 3.209.01              | 64,4% |
| <i>Nordeste</i>     | 6.016.95            | 36,3% | 10.558.66             | 63,7% |
| <i>Centro-Oeste</i> | 2.458.85            | 42,5% | 3.323.97              | 57,5% |
| <i>Sudeste</i>      | 29.542.83           | 73,4% | 10.706.26             | 26,6% |
| <i>Sul</i>          | 6.011.89            | 70,8% | 2.479.48              | 29,2% |
| <i>Brasil</i>       | 45.802.45           | 60,2% | 30.277.39             | 39,8% |

Fonte: adaptada ABRELPE (2021).

Nesse contexto, a falta de locais adequados para disposição final dos RSUs e o lançamento desses resíduos em áreas não apropriadas para o recebimento ainda é um problema enfrentado pelos municípios brasileiros (CORRÊA et al., 2019; COSTA et al., 2016).

Vários estudos os problemas gerados pelos lixões nos locais de disposição final inadequada de resíduos relatam (MISHRA et al., 2019; FONSECA et al., 2013; TSARPALI; DAILIANIS, 2012). Muitas vezes, estes lixões podem estar próximos de núcleos populacionais, gerando a proliferação de vetores responsáveis por doenças, odores e fumaça oriunda de queima dos resíduos e contaminação de solos e corpos hídricos superficiais e subterrâneos, representando assim uma atividade altamente poluidora do meio ambiente e oferecendo graves riscos à saúde pública.

## 2.2. LIXIVIADOS

O processo de degradação dos resíduos sólidos produz dois principais subprodutos: biogás e lixiviado, sendo o lixiviado a matriz desse estudo. O processo de formação do lixiviado é originado pela percolação, de líquidos de fontes externas como água de chuva, escoamento superficial, águas subterrâneas e da água gerada no processo de decomposição dos resíduos orgânicos e da umidade inicial dos resíduos sólidos (KJELDSEN; CHRISTOPHERSEN, 2001; MANNARINO et al., 2013; MARIA, 2013; LUO et al., 2020).

As características do lixiviado variam em função das características dos resíduos dispostos no local, e o estágio de decomposição em que o resíduo se encontra, como também das condições climáticas (HUSSEIN et al., 2019; RIBEIRO et al., 2015). O lixiviado apresenta três principais estágios de decomposição dos compostos orgânicos que influenciarão diretamente na composição desta solução: estágio aeróbio, fase acetogênica e fase metanogênica (LUO et al., 2020; CEMPRE, 2018).

O primeiro estágio denominado de aeróbio, é considerado o mais curto e exotérmico, pois gera uma grande liberação de calor. Esta etapa é caracterizada pela alta concentração de sais de alta solubilidade dissolvidos no efluente, assim como a presença de cloretos de sódio, sais contendo metais e formação de gás carbônico e hidrogênio (CEMPRE, 2018; MANNARINO et al., 2013). A fase de transição começa quando há redução do oxigênio disponível e condições anaeróbias começam a se desenvolver. O aceptor de elétrons é alterado de oxigênio a nitratos e sulfatos, ocorrendo assim o desenvolvimento de compostos intermediários (ácidos voláteis) (MANNARINO et al., 2013).

A fase seguinte, conhecida como acetogênica, é onde inicia a diminuição do oxigênio e há o início do predomínio de microrganismos anaeróbios facultativos. Essa etapa é mais longa e pode ocorrer por alguns anos, onde serão produzidas grandes quantidades de compostos orgânicos simples e de alta solubilidade como, por exemplo, os ácidos graxos voláteis e altos níveis de nitrogênio amoniacal. Nessa etapa, o pH cai para valores entre 4 e 6, caracterizando com o caráter ácido desta mistura e, auxiliando na solubilização de materiais inorgânicos, como os metais (CEMPRE, 2018).

A terceira e última etapa é chamada de metanogênica, os compostos orgânicos formados na fase anterior começam a ser consumidos por bactérias anaeróbias, dando origem a compostos como metano

e gás carbônico (CEMPRE, 2018; MARTINS et al., 2010). O pH que era ácido começa a se tornar neutro chegando a níveis alcalinos posteriormente. Naturalmente, a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) é reduzida e a demanda química de oxigênio (DQO) se eleva. Essas etapas de decomposição ocorrem simultaneamente, pois que coexistem resíduos depositados há muitos anos e outros dispostos recentemente, logo a dinâmica de formação do lixiviado depende de fatores complexos (CEMPRE, 2018; MARTINS et al., 2010).

Na Tabela 2 é possível visualizar as principais variáveis físicas e químicas do lixiviado relacionados com a idade de operação de um aterro/lixão.

Tabela 2: Variáveis físicas e químicas da composição dos lixiviados em função da idade dos aterros/lixão.

| Parâmetros (mg.L <sup>-1</sup> )            | Idade do lixiviado de aterro (anos) |               |         | Faixa mais provável<br>(mg mL <sup>-1</sup> ) |
|---|-------------------------------------|---------------|---------|---|
|   | 0-5                                 | 5-10          | > 20    |   |
| <b>pH *</b>                                 | 3-6                                 | 6-7           | 7,5     | 7,5-8,6                                       |
| <b>DBO</b>                                  | 10.000-25.000                       | 1000-4000     | < 50    |   |
| <b>DQO</b>                                  | 15.000-40.000                       | 10.000-20.000 | < 1.000 | 95-2.100                                      |
| <b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>         | 1.500-4.250                         | 250-700       | < 30    | 0,4-1.800                                     |
| <b>Cl<sup>-</sup></b>                       | 1.000-3.000                         | 500-2.000     | < 100   |   |
| <b>P</b>                                    | 100-300                             | 10-100        | < 10    |   |
| <b>Alcalinidade</b>                         | 8.000-18.000                        | 4.500-6.000   | -       | 750-7.100                                     |
| <b>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></b>          | 500-2.000                           | 200-1.000     | < 50    |   |
| <b>Fe<sup>2+</sup></b>                      | 500-1.500                           | 500-1.000     | < 100   | 0,01-65                                       |
| <b>Zn<sup>2+</sup></b>                      | 100-200                             | 50-100        | < 10    |   |
| <b>Sólidos Totais Dissolvidos<br/>(STD)</b> | 10.000-25.000                       | 5.000-10.000  | < 1.000 | 3.200-14.400                                  |

Fonte: adaptada COSTA 2019.

A classificação do lixiviado como “novo” e “velho” está associado com as suas características físicas e químicas. Durante o funcionamento dos locais de disposição final de resíduos é possível verificar alterações no valor do pH, variável fundamental no controle da solubilidade e mobilidade dos metais e nos processos que ocorrem nos aterros/lixões. O pH do lixiviado tende a aumentar gradualmente com o tempo, sendo assim, os lixiviados são considerados velhos quando apresentam pH maior que 7 (REN et al., 2017; HUSSEIN et al., 2019; SCOTT et al., 2005). Mishra et al., (2019) realizou a caracterização do lixiviado de um aterro na Índia, e encontrou no seu estudo o valor de pH das amostras de lixiviados na faixa de 8,3 a 9,3, assim o aterro foi considerado como “velho”.

A demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e a demanda química de oxigênio (DQO) são variáveis que identificam a recalcitrância da matéria orgânica presente no lixiviado. A DBO avalia a quantidade matéria orgânica biodegradável, que é basicamente determinada pela medição do oxigênio dissolvido (OD) que está sendo utilizado por microrganismos durante a oxidação bioquímica de matéria orgânica. A DQO mede o oxigênio necessário para que os constituintes de resíduos orgânicos oxidem completamente em produtos finais inorgânicos e estima a presença de produtos químicos tóxicos e poluentes oxidáveis (HUSSEIN et al., 2019). Nesse sentido, a relação DBO/DQO é uma medida de biodegradabilidade da matéria orgânica de tal forma que quanto maior seu valor, maior o grau de biodegradabilidade.

Sisinno et al., (2000) realizaram um estudo de caracterização do lixiviado do lixão Morro do Céu, no município de Niterói, RJ, observaram a DBO em uma faixa de 2800 -- 4000 e DQO 5200 -- 11500 ( $\text{mg L}^{-1}$ ). Os autores consideraram, que devido aos altos valores de DBO e DQO o lixiviado apresentou alta quantidade de compostos orgânicos biodegradáveis que podem contribuir para eutrofização no sistema aquático.

Uns dos principais compostos tóxicos presentes no lixiviado, e mais preocupantes do ponto de vista ambiental é o nitrogênio amoniacal (VIEIRA & DROSTE, 2019; MANNARINO et al., 2013), quando em excesso no solo pode causar diversos impactos ambientais negativos, entre os quais destacam-se: contaminação e mortandade da fauna e flora presentes no solo, inibição do metabolismo de microrganismos e fitotoxicidade no solo (VIEIRA & DROSTE, 2019).

No lixiviado bruto, nitrogênio amoniacal está associado à partículas coloidais orgânicas e inorgânicas e na forma de complexos. As condições redutoras do efluente e o pH alcalino levam os íons metálicos a serem complexados na forma de sulfetos, sulfatos, carbonatos e oxihidróxidos e também precipitados em compósitos insolúveis reduzindo consideravelmente a biodisponibilidade dos metais (VIEIRA & DROSTE, 2019).

De acordo com Vieira & Droste, 2019, nos primeiros anos, os aterros jovens produzem um lixiviado com maior potencial poluente, devido à presença de metais em maiores concentrações. Com o passar

dos anos, o índice de nitrogênio amoniacal aumenta devido à hidrólise e fermentação, e menores são as concentrações de matéria orgânica e íons metálicos (VIEIRA & DROSTE, 2019).

Ao estudar o potencial tóxico do lixiviado, em um aterro controlado desativado, localizado na Região Metropolitana de Porto Alegre, no sul do Brasil, Vieira & Droste, 2019 encontraram 36,3 mg L<sup>-1</sup> concentração de nitrogênio amoniacal, concentração considerada alta, de acordo com a Resolução CONAMA 397/2008 (20,0 mg L<sup>-1</sup>). Neste estudo, este foi o único parâmetro encontrado acima do limite permitido pela legislação (VIEIRA & DROSTE, 2019; CONAMA, 2008).

Estudos revelam (MISHRA et al., 2019; OLIVEIRA; PASQUAL, 2004; OLIVERO-VERBEL et al., 2008), que o lixiviado pode apresentar na sua composição concentrações relevantes de metais com potencial toxicológico, como cádmio, chumbo e cobre, além de difícil biodegradação, demonstrando seu elevado potencial de contaminação do meio ambiente (VIEIRA & DROSTE, 2019; MISHRA et al., 2019).

Nos últimos anos algumas substâncias como ftalatos, bisfenol-A (BPA), perfluoroalquil (PFASs), polietoxilatos de alquilfenol (APEs), estrogênios naturais e sintéticos (17 $\beta$ -estradiol, 17 $\alpha$ -etinilestradiol, estrona e estriol), hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), produtos farmacêuticos de cuidados pessoais (PPCP), recipientes para alimentos, retardantes de chamas utilizados em móveis e pavimentos, têm preocupado os cientistas mundialmente, pois podem interferir no sistema endócrino de humanos, de aves e nos organismos terrestres e aquáticos, afetando a saúde, o crescimento e a reprodução (BILA; DEZOTTI, 2007; CHOU et al., 2015; IBOR et al., 2020; STAVREVA et al., 2021). Estas substâncias, que também têm sido encontradas em lixiviado provenientes de RSUs são conhecidas como Desreguladores Endócrinos (DEs) e podem ser provenientes de inúmeras fontes: fármacos, metais, produtos industriais, pesticidas (inseticidas, fungicidas e herbicidas), produtos de cuidados pessoais, hormônios naturais e sintéticos (CHOU et al., 2015; STAVREVA et al., 2021).

Os DEs alcançam o meio ambiente por diferentes vias como por exemplo, resíduos humanos, agricultura ou indústria, podendo chegar às águas superficiais e de subsolo pela percolação dos efluentes e do lixiviado de aterros sanitários (CHOU et al., 2015; SEIBERT et al., 2019; IBOR et al., 2020; STAVREVA et al., 2021). A principal preocupação com a presença desses compostos no lixiviado deve-se à sua persistência em estações convencionais de tratamento de efluentes, o que afeta diretamente a saúde pública (SEIBERT et al., 2019; IBOR et al., 2020; SALES JUNIOR et al., 2021).

Dessa forma, os lixiviados são caracterizados por apresentar concentrações elevadas de compostos orgânicos, amônio e sais inorgânicos, incluindo, em alguns casos, metais (FRANCO et al., 2018; MAIA et al., 2015). Além disso, por apresentar substâncias altamente solúveis, este efluente acaba causando a contaminação dos mananciais e, do solo próximos aos locais de disposição final dos resíduos (MARIA, 2013; MOR et al., 2006).

## 2.4. ECOTOXICOLOGIA TERRESTRE

Nas últimas décadas, as preocupações com a contaminação ambiental aumentaram, pois quase todos os setores econômicos geram resíduos sólidos e uma grande quantidade de substâncias tóxicas vêm sendo lançadas no ambiente (LESTARI; TRIHADININGRUM, 2019). Esses fatos têm sido intensificados não só com o aumento da geração de resíduos, mas também com a dificuldade de tratamento, pois vários materiais perigosos, sobretudo produtos químicos e não biodegradáveis vêm sendo desenvolvidos e introduzidos ao nosso cotidiano e no meio ambiente (SACKEY; KOČÍ; VAN GESTEL, 2020).

Segundo Niva et al., 2019, novas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o intuito de buscar ferramentas que possibilitem avaliar a qualidade do solo, antecipar o desenvolvimento de situações que possam conduzir a contaminações ambientais danosas à saúde humana e aos ecossistemas, minimizando assim os impactos advindos da intervenção antrópica e do manejo inadequado do solo para produção de alimentos.

Atualmente, a avaliação do potencial tóxico do efluente é realizada por meio de análises físicas e químicas, como por exemplo, OD, DQO, pH, nitrogênio amoniacal, fósforo entre outras, que são importantes para conhecer as características do lixiviado. No entanto, somente esses parâmetros não são suficientes para distinguir entre as substâncias que afetam os sistemas biológicos e as que são estáticas no ambiente (PESCI PEREIRA et al., 2018; MAGALHAES; FERRÃO-FILHO, 2008).

Diante desse cenário, a ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos das substâncias químicas naturais ou artificiais sobre os organismos vivos, permitindo a compreensão dos mecanismos de ação e a análise dos efeitos sinérgicos e antagônicos dos poluentes nos seres vivos (MAGALHAES; FERRÃO-FILHO, 2008; COSTA et al., 2008; NIVA et al., 2019; NIEMEYER et al., 2017; COSTA et al., 2008).

Nesse contexto, dentre os métodos de monitoramento, os ensaios ecotoxicológicos terrestres têm sido desenvolvidos com o objetivo de avaliar a exposição aos poluentes exógenos e os efeitos adversos no ambiente através de ensaios utilizando organismos padronizados (LUO et al., 2020). Logo, os ensaios ecotoxicológicos são consideradas ferramentas fundamentais e complementares as variáveis físicas e químicas, uma avaliação ambiental que antecipa possíveis situações de contaminações (NIVA et al., 2019; CANDELLO, 2018).

A abundância e diversidade dos organismos edáficos são parâmetros amplamente usados para avaliar o impacto ambiental de uma variedade de poluentes no solo. Esses organismos podem ser expostos aos contaminantes por contato e/ ou por ingestão direta de partículas do solo (NIVA et al., 2019; CANDELLO, 2018; GHOSH et al., 2017b). Tem sido indicado que os ensaios de ecotoxicidade sejam realizados com organismos de diferentes níveis tróficos, devido à complexidade da composição do lixiviado (GHOSH et al., 2017b). Os bioindicadores terrestres são capazes de apresentar alterações

fisiológicas, morfológicas, genéticas, comportamentais e até mesmo a letalidade quando expostos a determinadas substâncias químicas presentes no ambiente (FRANCO et al., 2018; LUO et al., 2020).

Nesse contexto, para avaliação ecotoxicológica do solo, os organismos mais utilizados são minhocas, principalmente das espécies *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida* (SALES JUNIOR et al., 2021); colêmbolos da espécie *Folsomia cándida*; plantas, principalmente a espécie *Allium cepa* (KWASNIEWSKA et al., 2012; CHANDRA et al., 2005) e a *Lactuca sativa* (VIEIRA & DROSTE, 2019; KLAUCK et al., 2015); camundongo, o mais utilizado é a linhagem *Kunming* (LI et al., 2010; SANG & LI, 2005), microrganismos como, nematóides, ácaros, coleópteros, isópodos, milípedes e centopeias (NIVA et al., 2019). Estes grupos têm sido utilizados devido a sua fácil adaptação em laboratório, ao tempo de geração relativamente curto dessas espécies, a sensibilidade às diversas modificações que ocorrem no solo, podendo ser alterações químicas e estruturais, pelos ensaios relativamente econômicos e pela eficácia da avaliação toxicológica (NIVA et al., 2019; GHOSH et al., 2017a; NIEMEYER et al., 2017).

Segundo Niemeyer et al. (2017), os ensaios ecotoxicológicos terrestres são importantes, pois estão associados a diferentes serviços ecossistêmicos. O ambiente terrestre medeia importantes serviços de suporte do solo, como formação e estabilização do solo, ciclagem de nutrientes e produção primária. Esses serviços são a base para outros tipos de processos que ocorrem no solo, incluindo o fornecimento de bens (alimentos, fibras, combustível e água potável); a regulação do clima, a dispersão de sementes, a qualidade da água; a atenuação natural de poluentes, a prevenção da erosão e a manutenção da biodiversidade (NIEMEYER et al., 2017).

Dessa maneira, mais estudos em ecotoxicologia terrestre têm ganhado força no Brasil devido à crescente conscientização sobre a necessidade de se usar os recursos naturais de forma sustentável (NIVA et al., 2019). Os ensaios ecotoxicológicos no ambiente terrestre podem ser divididos em agudo e crônico, onde a principal diferença entre eles é a fase de vida do organismo, durante a exposição ao efluente (ABNT, 2014). Por meio desses ensaios é possível determinar a concentração/dose que gera ou efeito nos organismos expostos.

Os ensaios de ecotoxicidade aguda têm como principal objetivo medir os efeitos dos agentes tóxicos sobre as espécies durante uma fase da vida do organismo-teste, estimando assim, a dose ou concentração capaz de produzir uma resposta específica, que pode ser a letalidade ou o estado de imobilidade em um período de tempo entre 24 a 96 h, possibilitando determinar a  $CL_{50}$  e  $CE_{50}$  (COSTA et al., 2008; GHOSH et al., 2017b).

Em ensaios crônicos, os organismos são expostos por mais de uma fase da vida do organismo-teste, possibilitando identificar efeitos sub-letais das substâncias nos organismos, eventos pré-morte, como alterações na reprodução, no desenvolvimento de ovos, no crescimento, morfológicas e de maturação. Com isso, os estudos da ecotoxicidade de lixiviados por meio dos bioensaios são de extrema importância,

uma vez que os organismos ficam expostos aos poluentes por diferentes fases da vida (COSTA et al., 2008; GHOSH et al., 2017b; MAGALHAES; FERRÃO FILHO, 2008; MANNARINO et al., 2013).

#### 2.4.1. CITOTOXICIDADE

Os bioensaios citotóxicos têm como finalidade compreender os principais agentes capazes de afetar em nível fisiológico e molecular os organismos expostos ao lixiviado. Assim, se determinada substância é capaz de gerar danos ao DNA, é possível que essa substância tenha um potencial citotóxico para os diferentes tipos de células, tais como animal e vegetal (SALES JUNIOR et al., 2021; ALIMBA; BAKARE, 2016; AKINBOLA et al., 2011). Assim sendo, o DNA é uma ferramenta fundamental para análise do estresse ambiental e, realizar ensaios de cito-genotoxicidade é uma possibilidade a mais de investigar o potencial tóxico das substâncias (LOURENCO, et al., 2011).

O ensaio de citotoxicidade em minhocas, por exemplo, é realizado pela coleta de fluido celômico, parte do componente do esqueleto hidrostático, que atua na comunicação entre o meio interno e externo. Com o papel fundamental na manutenção da homeostase do organismo (KUREK et al., 2007), esse fluido é composto por células denominadas coelomócitos. Os coelomócitos são classificados com base na diferença de estrutura, coloração e composição dos grânulos, podendo ser divididos em eleócitos e amoebócitos. Os eleócitos têm como características o armazenamento de compostos exógenos, acúmulo de metais, detoxificação e regulação do pH. Os amoebócitos, tem a função de eliminar os materiais exógenos, formar granulomas e realizar a coagulação e cicatrização de feridas, sendo esse dividido em hialinos e granulares (LOURENCO, et al., 2011; KUREK et al., 2007).

Essas células estão envolvidas em vários aspectos do sistema imunológico e hormonal das minhocas como a fagocitose, encapsulamento, citotoxicidade e secreção de substâncias (CHOLEWA et al., 2006), sendo portanto, importante na avaliação dos efeitos citotóxicos de agentes tóxicos, principalmente no sistema imune desses organismos (SALES JUNIOR et al., 2021; LOURENCO, et al., 2011).

A citotoxicidade do lixiviado em espécies vegetais tem sido avaliada indiretamente por meio da medida da inibição da germinação, do alongamento de raízes e do crescimento de vegetais. Além destes, a medição de parâmetros como índice mitótico, picnose nuclear, ensaios de troca de cromátide irmã, também têm sido utilizados nesta avaliação, e em função das características destes biomarcadores (AKINBOLA et al., 2011; LI et al., 2008; SANG; LI; XIN, 2006).

#### 2.4.2. GENOTOXICIDADE

Algumas substâncias presentes na composição do lixiviado são consideradas genotóxicas (ALABI & BAKARE, 2011; ALIMBA & BAKARE, 2006;), pois apresentam a capacidade de induzir alterações no

material genético dos organismos expostas. Essas alterações na estrutura, no conteúdo cromossômico (clastogenicidade) ou na sequência de pares de bases do DNA (mutagenicidade), são efeitos biológicos iniciais da carcinogênese (TEWARI ET L., 2006; ALIMBA & BAKARE, 2006).

Os ensaios genotóxicos, tem o objetivo de avaliar os potenciais danos ao DNA, mutações gênicas, cromossômicas estruturais e alterações cromossômicas que são fundamentais na indução de efeitos hereditários (BAKARE et al. 2012).

Dessa forma, os efeitos genotóxicos sobre organismos terrestres é importante para identificar os possíveis riscos que o contato com o lixiviado pode gerar no material genético dos organismos. Essas alterações genéticas podem induzir ao aumento da predisposição a distúrbios associados aos cromossomos, a redução do potencial reprodutivo e a sobrevivência do organismo (TEWARI ET L., 2006; ALIMBA & BAKARE, 2006; SALES JUNIOR et al., 2021).

Dentre os ensaios, temos o teste do micronúcleo que fornece informações primárias, em nível cromossômico sobre os danos no DNA causados por agentes químicos e físicos. Os micronúcleos originam-se de fragmentos cromossômicos acêntricos (efeito clastogênico) ou de cromossomos inteiros que não completam a migração anáfase da divisão celular (efeito aneugênico). O teste cometa é uma técnica rápida e eficiente, é usado para quantificar as lesões e detectar os efeitos do reparo no DNA (TEWARI ET L., 2006; SALES JUNIOR, et al., 2021);

Os ensaios de genotoxicidade com vegetais são importantes, pois as raízes desses vegetais permanecem em contato direto com lixiviado, possibilitando a avaliação das alterações cromossômicas nas células meristemáticas da raiz (CHANDRA et al., 2005; KWASNIEWSKA et al., 2012; BRKANAC et al. 2014). Desta maneira, os ensaios que observam a ação genotóxica das plantas analisam a frequência de aberrações cromossômicas (CA), índice mitótico (MI), micronúcleo ou anormalidades das etapas anáfase-telófase (CHANDRA et al., 2005; BAKARE et al. 2012) e ensaio cometa (BORTOLOTTO et al., 2009).

#### 2.4.3. SISTEMA ANTIOXIDANTE

A avaliação do sistema antioxidante em espécies terrestres tem mostrado ser uma importante ferramenta no estudo dos efeitos do lixiviado em organismos expostos (BAKARE et al., 2012; PRESTES et al., 2020). Os métodos de análise do sistema antioxidante permitem que a exposição seja feita em concentrações subletais (SANG et al., 2010; LI et al., 2010; MANIER et al. 2012).

O principal objetivo do sistema antioxidante é inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres ou das espécies reativas de oxigênio (EROs), que são formados pelo metabolismo celular e a partir de eventos de estresse e, quando em excesso, podem ocasionar a oxidação de moléculas biológicas, como a peroxidação dos lipídios de membrana e danos a proteínas, enzimas, carboidratos e DNA (BARREIROS et al., 2006; BARBOSA et al., 2010).

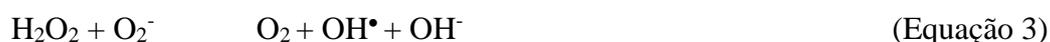
Os mecanismos de geração de radicais livres ocorrem, normalmente, nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma e podem ser favorecidos pelos íons de ferro e cobre. A mitocôndria é a principal fonte geradora de radicais livres, por meio da cadeia transportadora de elétrons, durante a produção de energia a partir da glicose e do oxigênio (BARBOSA et al., 2010). Assim, o termo radical livre seria um átomo ou molécula altamente reativa, que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica, conferindo a ele um não emparelhamento de elétrons e, conseqüentemente, alta reatividade (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

Existem dois grupos de defesa do sistema antioxidante, o enzimático e não enzimático. O sistema enzimático inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPX) e redutase (GR), a principal ação dessas enzimas estão relacionados ao mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de radicais livres e espécies não-radicais envolvidos com a iniciação das reações em cadeia que culminam com a propagação e amplificação do processo e, conseqüentemente, com a ocorrência de danos oxidativos (ROVER et al., 2001; BARBOSA et al., 2010); No grupo dos não-enzimáticos estão presentes, as vitaminas anti-oxidantes C e E, carotenoides e as proteínas não enzimáticas glutathiona reduzida (GSH) e metalotioneína (MT).

No sistema de defesa, a SOD age catalisando a geração de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), controlando a quantidade de radical superóxido (O<sub>2</sub>•) disponível para interação nas demais reações orgânicas. Conseqüentemente, a SOD evita a formação de radicais hidroxila (HO•) (Equação 1), espécie com maior potencial reativo e contra a qual o organismo humano não possui sistema defensivo (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; BARBOSA et al., 2010).



As enzimas CAT e GPx agem com o mesmo objetivo, que é impedir o acúmulo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, essa ação integrada é importante, pois uma vez que essa espécie reativa, por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss, mediante a participação dos metais ferro e cobre, resulta na geração do radical OH• (Equação 2 e 3), contra o qual não há sistema enzimático de defesa, assim seguindo para segunda etapa dessa reação (BARBOSA et al., 2010).



O segundo sistema antioxidante é mais simples, sendo formado pela enzima catalase que atua na dismutação do peróxido de hidrogênio e quebrando-o diretamente para formar água e oxigênio (Equação 4) e um aumento na atividade CAT está relacionado a um aumento na tolerância ao estresse. Ao mesmo

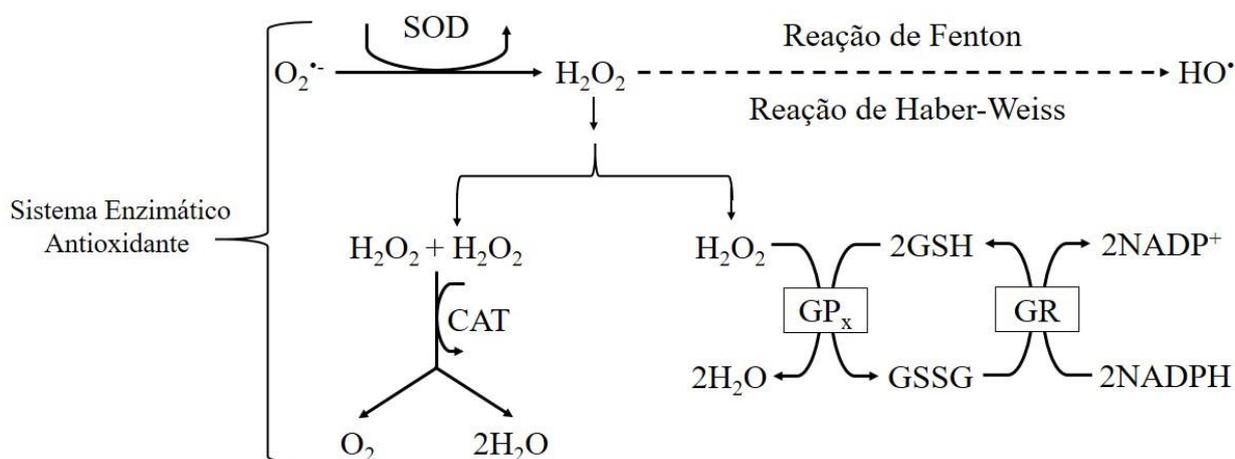
tempo a GPx transforma o mesmo peróxido em duas moléculas de água através do ciclo redox da glutatona (Equação 5).



A glutatona é um dos principais tampões redox nas células aeróbicas e desempenha diversas funções fisiológicas, incluindo regulação redox, conjugação de metabólitos, desintoxicação de xenobióticos, homeostase e sinalização celular que desencadeiam respostas adaptativas. Desse modo, a glutatona e as enzimas que fazem parte do ciclo catalítico deste peptídeo, apresentam associações com alterações dos estados antioxidantes e com o aumento do estresse oxidativo, essas alterações implicam em lesões de DNA gerando processos pré-mutagênicos. Sendo assim, a quantificação de glutatona pode indicar uma possível correlação entre a diminuição das atividades de enzimas antioxidantes, como a glutatona peroxidase, e o aumento nos níveis de bases de DNA lesadas devido ao dano oxidativo. A glutatona redutase, que catalisa a redução dependente de NADPH de GSSG oxidado para a forma reduzida de GSH, está envolvida na defesa contra o estresse oxidativo (ROVER et al., 2001; MARQUES e SOARES, 2011), como apresentado na Figura 1.

Figura 1: Visão geral dos sistemas de defesa enzimática

Fonte: adaptado de BARBOSA et al.(2010).



## **4. OBJETIVOS**

### **4.1.OBJETIVO GERAL**

Avaliar os efeitos de lixiviados de resíduos sólidos urbanos em organismos terrestres com base em trabalhos científicos publicados.

### **4.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar, analisar e compilar os artigos científicos disponíveis em bancos de dados científicos que avaliem os efeitos do lixiviado no sistema antioxidante, cito- e genotoxicidade, em organismos terrestres;
- Avaliar os resultados das exposições dos organismos terrestres à lixiviados de resíduos sólidos e urbanos;
- Identificar os fatores que influenciam na ecotoxicidade, incluindo sistema antioxidante, cito- e genotoxicidade, do lixiviado.

## **5. METODOLOGIA**

Na fase inicial do levantamento bibliográfico dos efeitos do lixiviado, proveniente de aterros, lixões e incineradores, sobre organismos terrestres, foram escolhidas as bases de dados do Web of Science e SCOPUS para a pesquisa bibliográfica. Estas bases foram escolhidas por possuírem um acervo abrangente e suficiente para os objetivos deste trabalho. As buscas foram feitas entre os dias 26 a 30 de abril de 2021 e foram realizadas 32 combinações de palavras-chave, para atingir um maior número de produções até 2021.

As palavras foram combinadas e intercaladas pelos operadores booleanos “AND”, para que aparecessem artigos com as duas combinações, e “ALL FIELDS” para abranger um maior número de produções encontradas”. Os termos de busca utilizados foram: “ecotox\*”, “ecotoxicity”, “ecotoxicology”, “bioassay”, “leachate”, “landfill leachate”, “soil”, “invertebrates”, “soil invertebrates” e “terrestrial”.

As etapas do procedimento de busca dos trabalhos científicos estão ilustradas e resumidas no Quadro 1.

*Quadro 1: Etapas do procedimento de busca dos artigos científicos nos bancos de dados.*

| Etapa | Descrição   |
|-------|---|
| A     | <p><b><u>Pergunta da pesquisa:</u></b><br/>Quais são os principais efeitos observados em organismos terrestre expostos a lixiviados proveniente da disposição final de resíduos sólidos urbanos?</p>  |
| B     | <p><b><u>Bases de dados:</u></b><br/>Web of Science e SCOPUS</p>  |
| C     | <p><b><u>Critério de busca:</u></b><br/>Buscar em: título, resumo e palavra-chave</p> <p>Ano: até 2021</p> <p>Tipo de documento: Artigo científico</p> <p>Idioma: Todos</p>   |
| D     | <p><b><u>Combinações de palavras-chaves e operadores booleanos:</u></b></p> <p>(leachate) AND (ecotox*) AND (soil)<br/> (leachate) AND (ecotox*) AND (soil invertebrates)<br/> (leachate) AND (ecotox*) AND (invertebrates)<br/> (leachate) AND (ecotox*) AND (terrestrial)<br/> (leachate) AND (ecotoxicity) AND (soil)<br/> (leachate) AND (ecotoxicity) AND (soil invertebrates)<br/> (leachate) AND (ecotoxicity) AND (invertebrates)<br/> (leachate) AND (ecotoxicity) AND (terrestrial)<br/> (leachate) AND (ecotoxicology) AND (soil)<br/> (leachate) AND (ecotoxicology) AND (soil invertebrates)<br/> (leachate) AND (ecotoxicology) AND (invertebrates)<br/> (leachate) AND (ecotoxicology) AND (terrestrial)<br/> (leachate) AND (bioassay) AND (soil)<br/> (leachate) AND (bioassay) AND (soil invertebrates)<br/> (leachate) AND (bioassay) AND (invertebrates)<br/> (leachate) AND (bioassay) AND (terrestrial)<br/> (landfill leachate) AND (ecotox*) AND (soil)<br/> (landfill leachate) AND (ecotox*) AND (soil invertebrates)<br/> (landfill leachate) AND (ecotox*) AND (invertebrates)<br/> (landfill leachate) AND (ecotox*) AND (terrestrial)<br/> (landfill leachate) AND (ecotoxicity) AND (soil)<br/> (landfill leachate) AND (ecotoxicity) AND (soil invertebrates)<br/> (landfill leachate) AND (ecotoxicity) AND (invertebrates)<br/> (landfill leachate) AND (ecotoxicity) AND (terrestrial)<br/> (landfill leachate) AND (ecotoxicology) AND (soil)<br/> (landfill leachate) AND (ecotoxicology) AND (soil invertebrates)<br/> (landfill leachate) AND (ecotoxicology) AND (invertebrates)<br/> (landfill leachate) AND (ecotoxicology) AND (terrestrial)<br/> (landfill leachate) AND (bioassay) AND (soil)<br/> (landfill leachate) AND (bioassay) AND (soil invertebrates)<br/> (landfill leachate) AND (bioassay) AND (invertebrates)<br/> (landfill leachate) AND (bioassay) AND (terrestrial)</p> |

Os artigos encontrados passaram por uma triagem (Quadro 3), onde foram selecionados trabalhos escritos em inglês, espanhol e português. Foi definido como critério de inclusão, a abordagem dos efeitos do lixiviado exclusivamente em organismos terrestres, tanto do Reino *Plantae* quanto *Animalia*. Trabalhos que apresentassem efeitos em organismos terrestre e em organismos não terrestres também foram, incluídos nesta revisão.

Quadro 2 - Etapas do procedimento de seleção e inclusão dos artigos.

| <b>Etapa</b> | <b>Descrição</b>   |
|--------------|--|
| <b>E</b>     | <b><u>Triagem</u></b>  |
|              | Eliminação de material duplicado   |
|              | Retirada dos artigos de revisão  |
|              | Leitura do “abstract”  |
|              | Aplicação dos critérios: procura dos efeitos sistema oxidante e cito e genotoxicidade    |
| <b>F</b>     | <b><u>Outras fontes:</u></b>   |
|              | Utilização da bibliografia dos artigos incluídos e de artigos de revisão e dos incluídos |

Não foram definidos critérios quanto a origem do lixiviado. Sendo assim, foram selecionados artigos onde o lixiviado advinha de aterros sanitários e controlados, lixões e incineradores. Além disso, não foi definido o tipo de resíduo disposto em cada sítio de disposição final. Dessa forma, estão presentes nesta revisão, lixiviados resultantes da decomposição de resíduos sólidos urbanos, industriais, eletrônicos e hospitalares.

Como critério de exclusão, foi determinado que revisões bibliográficas não seriam incluídas, entretanto, suas referências foram utilizadas.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final da triagem, foram selecionados 33 artigos elegíveis para esta revisão, dentro de três *endpoints*, a citotoxicidade (4 artigos), genotoxicidade (26 artigos) e sistema antioxidante (12 artigos) (Figura 2). Também foram analisados os ano de publicação (figura 3), país de origem do lixiviado (Figura 4) e reino dos organismos utilizados (*Plantae* ou *Animalia*) (Figura 5). Entre os artigos encontrados, observamos que houve um maior número de artigos que descreveram o efeito de

genotóxicidade (62%), seguindo por efeitos no sistema antioxidante (26%) e por último o efeito de citotoxicidade (12%) causado por exposição a lixiviado (Figura 2).

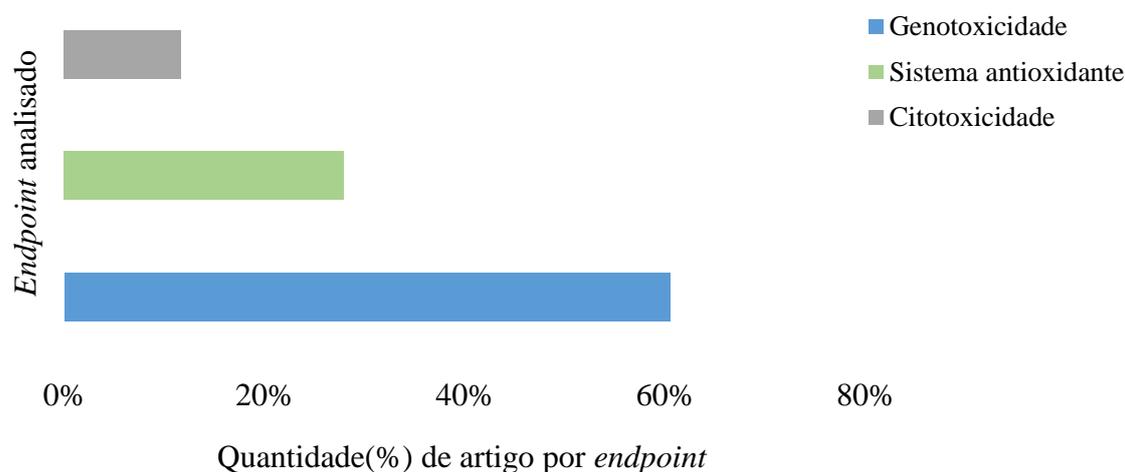


Figura 2: Número em porcentagem de artigos selecionados, após procedimento de triagem.

Quando observamos os anos de publicação dos artigos, verificamos que o ano de 2006 foi o ano que mais artigos foram publicados com cinco trabalhos, seguindo de 2012 com quatro artigos e os anos de 2005, 2018 e 2019 com três artigos cada ano (Figura 3).

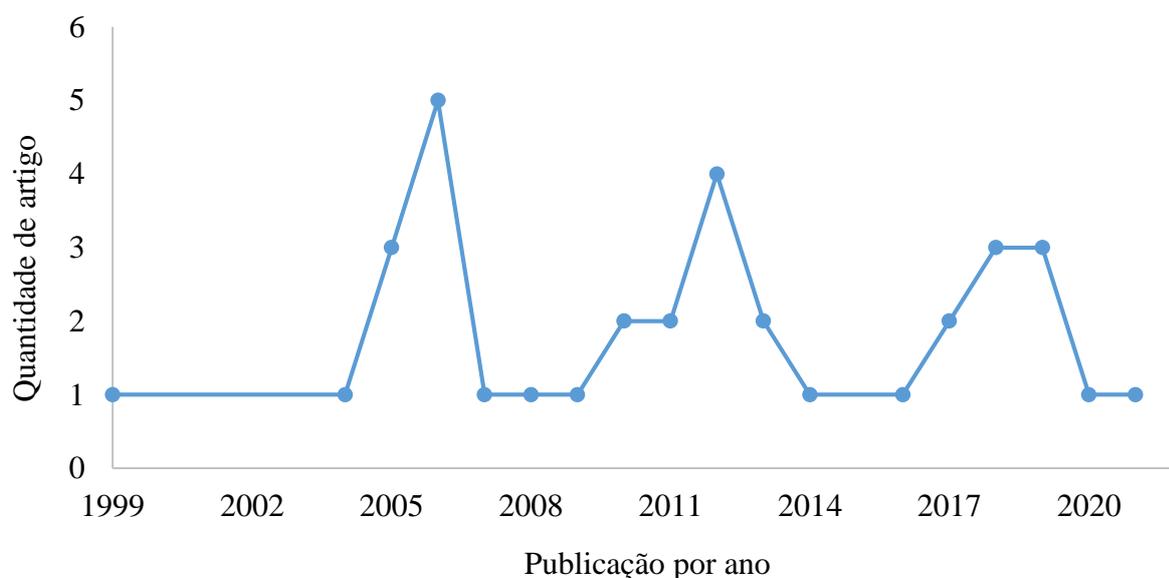


Figura 3: Número total de artigos por ano de publicação que analisou o efeito do lixiviado sobre organismos terrestres em três endpoints, citotoxicidade, genotoxicidade e sistema antioxidante.

O país com maior número de publicações foi a China com 12 artigos, seguido da Nigéria, Índia e Brasil com sete, quatro e três respectivamente e os demais com um artigo apenas (Figura 4).

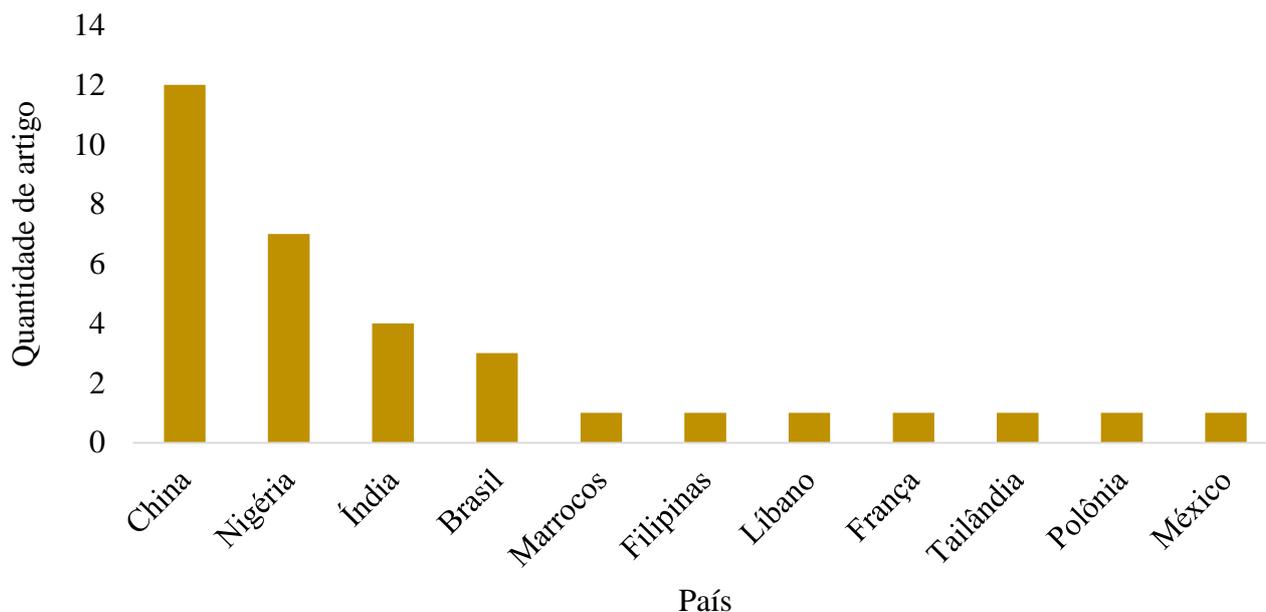


Figura 4: Quantidade de publicação sobre lixiviado por países.

Na figura 5 está representado a quantidade de artigos por reino *Plantae* e *Animalia* para cada *endpoint*. Os artigos que analisaram a genotoxicidade apresentou maior número de artigos utilizando plantas (18) quando para animais (8), os artigos que estudaram citotoxicidade foram os que apresentaram o menor número de artigos e os estudos que analisaram o sistema antioxidante em cinco artigos utilizaram plantas e oito artigos utilizaram os animais como bioindicadores.

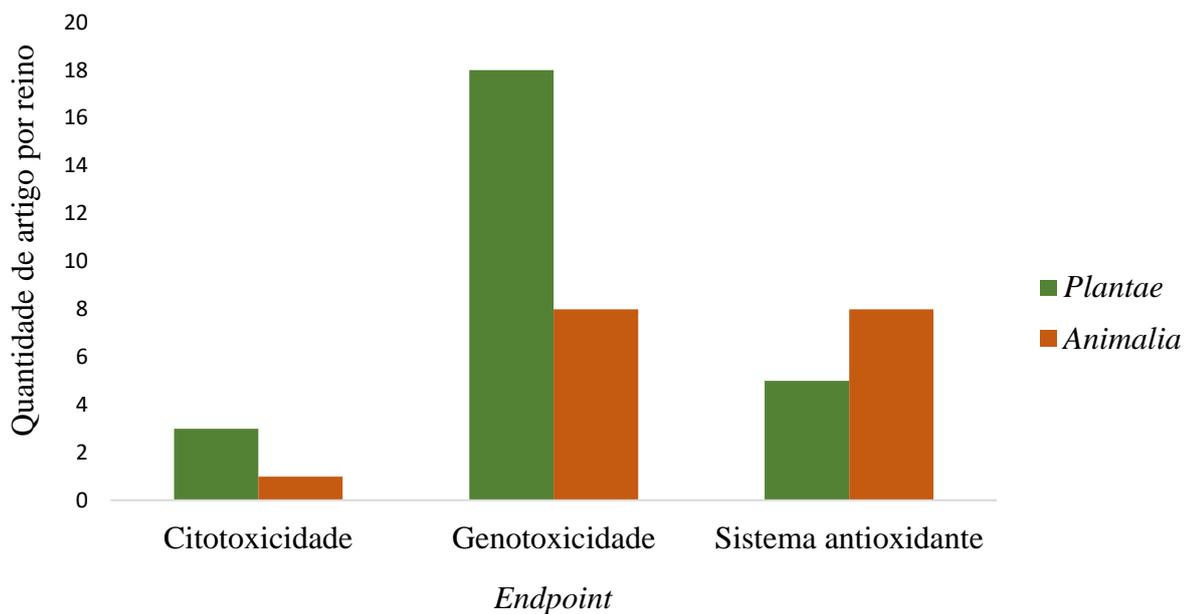


Figura 5: Número de artigos em cada *endpoin* por reino *Plantae* e *Animalia*.

### 6.1. CITOTOXICIDADE

Foram encontrados apenas quatro trabalhos (Quadro 3) que avaliaram a citotoxicidade como efeito, apenas um estudando os efeitos citotóxicos da exposição de lixiviado de aterro em minhocas *Eisenia andrei* (SALES JUNIOR et al., 2021) e três artigos abordando a exposição de plantas a lixiviados (AKINBOLA et al., 2011; LI et al., 2008; SANG et al., 2006).

Quadro 3: Artigos publicados que avaliaram o efeito de citotoxicidade sobre os organismos, origem do lixiviado, efeito observado e principal resultado.

| Nº | Autor                      | País    | Origem do lixiviado    | Organismo                        | Efeito observado                                  | Principal resultado   |
|----|----------------------------|---------|------------------------|----------------------------------|---|---|
| 1  | SALES JUNIOR et al. (2021) | Brasil  | Aterro                 | Minhoca<br><i>Eisenia andrei</i> | Densidade de coelomócitos;<br>Viabilidade celular | Uma redução significativa na densidade celular foi observada em todos os grupos de exposição, exceto no 49º dia, variando de 52 a 97% na concentração de 10,5 mL kg <sup>-1</sup> de lixiviado.<br>Também houve uma diminuição na viabilidade celular na concentração de 10,5 mL kg <sup>-1</sup> , variando de 16 a 42%. |
| 2  | AKINBOLA et al. (2011)     | Nigéria | Incinerador hospitalar | Planta<br><i>Allium cepa</i>     | Análise da divisão celular                        | O lixiviado causou inibição significativa (p < 0,05) do crescimento radícula e na divisão celular concentração-dependente no índice mitótico.   |

|   |                    |       |        |                                    |                    |   |
|---|--------------------|-------|--------|------------------------------------|--------------------|---|
| 3 | LI et al. (2008)   | China | Aterro | Planta<br><i>Triticum aestivum</i> | Células picnóticas | Entre os grupos de exposição, 80 mg L <sup>-1</sup> de lixiviado induziu a formação de células picnóticas após 24, 48 e 72 h de exposição, e as frequências de células picnóticas aumentaram significativamente com o aumento da concentração de lixiviado de 80 para 1600 mg L <sup>-1</sup> . |
| 4 | SANG et al. (2006) | China | Aterro | Planta<br><i>Hordeum vulgare</i>   | Células picnóticas | Entre os grupos de exposição, CODCr 40 mg L <sup>-1</sup> lixiviado induziu a formação de células picnóticas após 24, 48 e 72h de exposição, e as frequências de células picnóticas aumentaram significativamente com o aumento das concentrações de lixiviado.                                 |

No estudo desenvolvido por Sales Junior et al., (2021b), foi avaliado a citotoxicidade pelo fluido celômico das minhocas expostas ao lixiviado, durante 77 dias nas concentrações de 2, 4 e 6 %, correspondentes a 3,5, 7. e 10,5 mg L<sup>-1</sup> de lixiviado, para determinar a densidade de coelomócitos, viabilidade e tipos de células imune de minhocas *Eisenia andrei* (eleócitos e amebócitos) (SALES JUNIOR et al., 2021). Os resultados encontrados pelos pesquisadores indicaram uma variação na densidade celular do grupo controle de 1,0×10<sup>4</sup> a 3,0×10<sup>4</sup> (célula mL<sup>-1</sup>) mg<sup>-1</sup>. Uma redução significativa na densidade celular foi observada em todos os grupos de exposição, exceto no 49º dia, variando de 52 a 97% na dose de exposição de 10,5 mg L<sup>-1</sup> de lixiviado (SALES JUNIOR et al., 2021). Na concentração de lixiviado de 10,5 mg L<sup>-1</sup>, também foi observada uma diminuição variando de 16 a 42% na viabilidade celular. O grupo controle apresentou os maiores níveis de células viáveis ao longo do período de exposição, de 70 a 80%, enquanto a viabilidade celular do grupo exposto à maior concentração de lixiviado variou de 30 a 60%. Ao final de 77 dias, os grupos expostos a 7,0 e 10,5 mg L<sup>-1</sup> das doses de lixiviado exibiram os níveis de células viáveis mais baixos (SALES JUNIOR et al., 2021). Em relação à exposição de 10,5 mg L<sup>-1</sup>, os autores observaram diferenças para todos os tempos de exposição investigados. Vale lembrar, que está concentração de lixiviado é 87% inferior à LC<sub>50</sub> para 14 dias calculada (SALES JUNIOR et al., 2021), podendo ser um ponto crítico para células de minhocas (SALES JUNIOR et al., 2021).

Ao analisar a tipagem celular do sistema imunológico das minhocas, foi verificado que os valores de amebócitos variaram entre 51 e 57% nos grupos expostos ao lixiviado no 7º dia, entre 52 e 67% no 21º dia, entre 62 e 66% no 35º dia, de 43 a 51% no 49º dia, de 50 a 55% no 63º dia e entre 43 e 57% no 77º dia. Esses resultados sugerem a eliminação de materiais exógenos e formação de granulomas durante a maior parte do período de exposição. No 49º dia de exposição, no entanto, um aumento de eleócitos foi observado com o aumento das concentrações de lixiviado. Neste dia, observou-se que os eleócitos atingiram 49, 57 e 52%, para as exposições de 3,5, 7,0 e 10,5 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, sugerindo que os organismos tentaram armazenar compostos exógenos e regular os valores de pH intracelular durante esse período de exposição (SALES JUNIOR et al., 2021). Nesse contexto, estudos com células que participam do sistema imunológico são importantes, pois são células imunocompetentes suspensas e circulantes no fluido celômico, constituindo o esqueleto hidrostático de anelídeos oligoquetas e responsáveis pela homeostase animal (LOURENCO, et al., 2011).

Logo, podemos concluir que os níveis mais altos de amebócitos observados, no estudo SALES JUNIOR et al., (2021) indicam que a exposição ao lixiviado nas concentrações investigadas pode ter resultado em alterações intracelulares, pois os eleócitos geralmente estão presentes em quantidades maiores em comparação com os amebócitos em minhocas saudáveis. Assim o aumento dessa célula pode

ser uma resposta adaptativa das minhocas à contaminação do solo (LOURENCO, et al., 2011; SALES JUNIOR et al., 2021).

O ensaio *Allium cepa* o desenvolvido por Levan (1938), e com suas primeiras adaptações desde 1995, tem sido amplamente utilizado na determinação dos efeitos citotóxicos em vegetais. Seu grande uso é, devido ao conhecimento da duração do ciclo celular da espécie utilizada e da sua reação na presença de muitos agentes mutagênicos conhecidos (BARBÉRIO et al., 2009; FISKESJO, 1997; EVSEEVA et al., 2003).

Ao investigar os efeitos citogenotóxicos do lixiviado SANG et al. (2006), realizaram um bioensaio da ponta da raiz da espécie *Hordeum vulgare*. Os autores utilizaram a demanda química de oxigênio (DQO<sub>Cr</sub>) como uma medida da concentração de lixiviado (40, 80, 160, 320, 640 e 800 mg L<sup>-1</sup>) e foi observado que as células picnóticas (PNC) ocorreram nas pontas das raízes em todas as concentrações de lixiviado testadas após 24, 48 e 72h de exposição, e as frequências de PNC tiveram uma relação positiva com a concentração de tratamento e o tempo de exposição. Os resultados também indicaram que a concentração necessária para produzir o dano citotóxico foi menor nas células com maior tempo de exposição. Assim confirmando que os componentes do lixiviado podem ser cito-genotóxicos nas células vegetais e indicam que a longa exposição ao lixiviado em baixas concentrações no ambiente terrestre pode representar um potencial risco para os organismos (SANG et al., 2006).

Li et al., (2008), realizou um estudo com o lixiviado do aterro municipal de Xingou em Taiwan, uma cidade no norte da China, com a espécie *Triticum aestivum* (trigo), que foi exposta ao lixiviado nas concentrações de 80, 160, 320, 640, 800, 1600 e 3200 mg L<sup>-1</sup> para analisar os efeitos de citotoxicidade.

Os pesquisadores observam, que entre os grupos de exposição, a concentração 80 mg L<sup>-1</sup> de lixiviado induziu a formação de células picnóticas (PNC) após 24, 48 e 72 h de exposição, e as frequências de PNC aumentaram significativamente com o aumento da concentração de lixiviado de 80 para 1600 mg L<sup>-1</sup> (LI et al., 2008).

De acordo com Sang et al., (2006) e Li et al., (2008), após a exposição ao lixiviado, células picnóticas foram observadas nas pontas das raízes de *Hordeum vulgare* e *Triticum aestivum*. Diante disso, a formação da picnose pode resultar na sensibilidade entre essas espécies e nas células radiculares após o tratamento. As características morfológicas nucleolares são indicadores dos processos genético-moleculares mais importantes e são marcadores úteis do metabolismo celular (SANG et al., 2006; LI et al., 2008).

O lixiviado influenciou a formação das trocas de cromátides irmãs (SCE) em pontas de raízes de trigo, a exposição a 80-1600 mg L<sup>-1</sup> de lixiviado por 24 h causou aumentos significativos dependentes da concentração na frequência de SCE em comparação ao controle negativo. No entanto, cromossomos metafásicos dificilmente foram encontrados e nenhum SCE pôde ser pontuado após o trigo ter sido exposto ao lixiviado bruto (LI et al., 2008).

Segundo Li et al., (2008), a ocorrência de SCE pode causar adaptabilidade celular aos ambientes em vez de morte celular. Trocas de cromátides irmãs, resultante na quebra de cromátides e então recombinação de moléculas de DNA entre duas cromátides irmãs, pode influenciar a expressão gênica devido a efeitos posicionais. É possível que a expressão de genes relacionados ao lixiviado possa ocorrer após SCEs, resultando em uma rápida reação de desintoxicação adaptativa (LI et al., 2008).

Diante dos resultados apresentados (SALES JUNIOR et al., 2021; LI et al., 2008; SANG et al., 2006), podemos ratificar que o lixiviado oriundo de resíduos sólidos podem ser citotóxicos nas células vegetais e animais, e a exposição ao lixiviado no ambiente terrestre pode representar um risco potencial citotóxico para os organismos edáficos (AKINBOLA et al., 2011).

Estudos têm apontados (SALES JUNIOR et al., 2021; STAVREVA et al., 2021; IBOR et al., 2020; MISHRA et al., 2019; AKINBOLA et al., 2011) que os componentes presentes na composição do lixiviado são considerados tóxicos e capazes de induzir citotoxicidade, causando efeitos inibitórios sobre o processo fisiológico e celular (AKINBOLA et al., 2011; LI et al., 2008; SANG et al., 2006).

Realizar estudos com foco em analisar a citotoxicidade é de fundamental importância, pois é uma maneira de compreender como ocorrem as alterações celulares nos organismos expostos a substâncias consideradas tóxicas, sendo assim uma ferramenta complementar há outros ensaios de ecotoxicidade (SALES JUNIOR et al., 2021; AKINBOLA et al., 2011; LI et al., 2008; SANG et al., 2006). Embora os ensaios de citotoxicidade com vegetais superiores e animais sejam padronizados, ainda são poucos os trabalhos que utilizam a citotoxicidade em plantas e animais, como observado no baixo número de trabalhos encontrados.

## 6.2. GENOTOXICIDADE

Do total 26 artigos encontrados nessa revisão sobre genotoxicidade (Quadro 4), uma publicação utilizou a minhoca como bioindicador (SALES JUNIOR et al., 2021); oito artigos utilizaram camundongos; e 18 estudos utilizaram espécies do Reino *Plantae*.

Quadro 4: Artigos publicados que avaliaram o efeito de genotoxicidade sobre os organismos, origem do lixiviado, efeito observado e principal resultado.

| Nº | Autor                      | País      | Origem do lixiviado     | Organismo   | Efeito observado  | Principal resultado  |
|----|----------------------------|-----------|-------------------------|---|---|--|
| 1  | SALES JUNIOR et al. (2021) | Brasil    | Aterro                  | Minhoca<br><i>Eisenia andrei</i>                                    | Ensaio cometa   | A exposição ao lixiviado gerou um aumento (7 a 122%) significativo ( $p < 0,05$ ) no dano ao DNA em todos os pontos de tempo de exposição avaliados, exceto no 35º dia.  |
| 2  | ZEGZOUTI et al. (2020)     | Marrocos  | Aterro                  | Planta<br><i>Vicia faba</i>   | Índice mitótico;<br>Micronúcleo   | Houve diminuição na frequência de micronúcleos (3,62-16,32%) em relação ao controle negativo. O índice de mitose seguiu a mesma tendência descrita para a frequência de micronúcleo.   |
| 3  | ALAM et al. (2019)         | Filipinas | Lixão de <i>e-waste</i> | Planta<br><i>Allium cepa</i>  | Índice mitótico; aberrações cromossômicas                               | Foi observado uma diminuição no índice mitótico nas células da raiz de <i>A. cepa</i> após a exposição de 24 e 72 horas. Todas as concentrações de lixiviado de solo com lixo eletrônico ( <i>e-waste</i> ), induziram aberrações cromossômicas. |
| 4  | VIEIRA & DROSTE (2019)     | Brasil    | Aterro                  | Planta<br><i>Lactuca sativa</i> ;<br><i>Lycopersicon esculentum</i> | Índice mitótico;<br>Micronúcleo;<br>Índice de anormalidade cromossômica | Para ambas as espécies estudadas o micronúcleo foi significativamente menor nas diferentes concentrações de lixiviado e no controle positivo do que no controle negativo.  |
| 5  | KHALIL et al. (2018)       | Líbano    | Aterro/<br>Lixão        | Camundongo  | Ensaio cometa   | A análise do ensaio cometa indicou danos significativos ( $p < 0,05$ ) comparáveis ao controle positivo (KMnO <sub>4</sub> ).  |

|    |                          |         |        |  |   |   |
|----|--------------------------|---------|--------|--|---|---|
| 6  | LI et al. (2017)         | China   | Aterro | Planta<br><i>Zea mays</i>              | Índice mitótico;<br>Micronúcleo                           | Dados mostram que o lixiviado nas concentrações de 30% e 50% diminuiu o índice mitótico.  |
| 7  | ALIMBA & BAKARE (2016)   | Nigéria | Lixão  | Camundongo<br><i>Rattus norvegicus</i> | Micronúcleo;<br>Aberrações nuclear                        | A frequência de micronúcleo aumentou significativamente entre 3,47 - 9,12 vezes para Lixiviado Olusosun e entre 3,35- 8,97 vezes para Lixiviado de Aba-Eku nos <i>R. norvegicus</i> tratados com respectivas concentrações de lixiviado de 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 25,0% em relação ao controle negativo. |
| 8  | SRIVASTAVA et al. (2014) | Índia   | Aterro | Planta<br><i>Hordeum vulgare</i>       | Índice mitótico; Aberrações cromossômicas;<br>Micronúcleo | A indução de aberrações cromossômicas e a formação de micronúcleos foram observadas em diferentes concentrações do lixiviado em 7, 17 e 27 h de durações pré-embebição, na fase G1, S e G2 do ciclo celular, respectivamente.   |
| 9  | BAKARE et al. (2012)     | Nigéria | Lixão  | Planta<br><i>Allium cepa</i>           | Índice mitótico; aberrações cromossômicas                 | O índice mitótico diminuiu com o aumento da concentração (exceto na concentração de 10%) dos lixiviados quando comparada com o controle negativo.   |
| 10 | MANIER et al. (2012)     | França  | Aterro | Planta<br><i>Trifolium repens;</i>     | Ensaio cometa   | Houve formação de danos primários ao DNA, na parte aérea de <i>T. repens</i> , isso após um período de exposição de 10 semanas, lesões primárias no DNA aumentaram em comparação ao controle ( $p < 0,05$ ) para 50 e 100% do lixiviado.  |

|    |                           |           |                         |                                    |   |   |
|----|---------------------------|-----------|-------------------------|------------------------------------|---|---|
| 11 | NA ROI-ET et al. (2012)   | Tailândia | Lixão/ caminhão de lixo | Planta<br><i>Epipremnum aureum</i> | Ensaio cometa   | No ensaio cometa, pode-se observar que o padrão de distribuição de DNA mudou de baixa para alta taxa de migração em maior tempo de exposição, ou seja, área da cauda do cometa diretamente relacionada ao tempo de exposição. No baixo gradiente de lixiviados, as quantidades de núcleos danificados foram maiores do que nos de alto gradiente. |
| 12 | KWASNIEWSKA et al. (2012) | Polônia   | Aterro                  | Planta<br><i>Allium cepa</i>       | Índice mitótico; aberrações cromossômicas; Micronúcleos | Todas as amostras de lixiviados afetaram o MI e o efeito foi tempo-dependente. Mesmo um tratamento de 2 h levou a uma diminuição total da atividade mitótica. Os resultados indicam que o tratamento de 24 h causou um efeito mais forte do que o tratamento de 2 h.  |
| 13 | ALABI & BAKARE (2011)     | Nigéria   | Lixão                   | Camundongo<br><i>Swiss albino</i>  | Índice mitótico; Micronúcleos; Aberrações cromossômica  | Houve inibição significativa dose-dependente no índice mitótico nas células do <i>Swiss albino</i> em todas concentrações testadas, exceto em 1 %. As amostras simuladas de lixiviado induziram mais aberrações cromossômica em <i>S. albino</i> expostos ao lixiviado bruto.   |
| 14 | AKINBOLA et al. (2011)    | Nigéria   | Incinerador hospitalar  | Planta<br><i>Allium cepa</i>       | Índice mitótico; aberrações cromossômicas;              | O índice mitótico no controle negativo foi de 8.5. Nos grupos de exposição, houve uma redução concentração-dependente significativa ( $p < 0.05$ ) no MI a partir da exposição de 5% (MI = 3.9) até 30% (MI =   |

|    |                          |        |        |                                    |   |   |
|----|--------------------------|--------|--------|------------------------------------|---|---|
|    |                          |        |        |                                    |   | 0.9). As aberrações cromossômicas observadas nas células da ponta da raiz incluem cromossomos pegajosos, células com distúrbio do fuso, pontes anáfase e células binucleadas.   |
| 15 | LI et al. (2010)         | China  | Aterro | Camundongo                         | Ligações cruzadas DNA-proteína (coeficiente de DPC) | Para o cérebro e o coração, o coeficiente DPC não foi afetado em baixas concentrações de lixiviado (5, 10 e 25%), mas aumentou na concentração de 50% (p <0,01). No rim e no baço, o coeficiente DPC aumentou de maneira dependente da concentração. Para o fígado, o coeficiente DPC aumentou e atingiu o valor máximo na concentração de 10% (233,43% do controle, p <0,01, n = 6). |
| 16 | BORTOLOTTO et al. (2009) | Brasil | Aterro | Planta<br><i>Allium cepa</i>       | Ensaio cometa                                       | Os lixiviados causaram danos ao DNA das células meristemáticas das raízes de <i>A. cepa</i> . O lixiviado não tratado, quando comparado ao grupo controle, causou um aumento significativo nos valores de danos no DNA e frequência do dano no DNA a partir das concentrações de 80 e 60%, respectivamente.   |
| 17 | LI et al. (2008)         | China  | Aterro | Planta<br><i>Triticum aestivum</i> | Micronúcleos;<br>Troca cromátides irmãs             | O lixiviado influenciou na troca cromátides irmãs nas pontas das raízes do trigo. A exposição a 80-1600 mg L <sup>-1</sup> de lixiviado por 24 h causou aumentos significativos na  |

|    |                        |         |        |                                   |   |   |
|----|------------------------|---------|--------|-----------------------------------|---|---|
|    |                        |         |        |                                   |   | frequência da troca cromátides irmãs em comparação ao controle negativo.  |
| 18 | FENG et al. (2007)     | China   | Aterro | Planta<br><i>Vicia faba</i>       | Micronúcleos  | Houve aumentos significativos das frequências de micronúcleos observados nos grupos expostos ao lixiviado em comparação com o grupo negativo ( P < 0,05).                                     |
| 19 | ALIMBA & BAKARE (2006) | Nigéria | Aterro | Camundongo                        | Aberrações cromossômicas  | Em comparação com o controle negativo, as amostras de lixiviados induziram aumentos responsivos à dose no cromossomo anormal e na medula óssea dos camundongos.                               |
| 20 | SANG et al. (2006)     | China   | Aterro | Planta<br><i>Hordeum vulgare</i>  | Índice mitótico;<br>Micronúcleos                                    | Em comparação com o controle, reduções de índice mitótico de 37%, 56% e 70% foram detectadas para a maior concentração de lixiviado nas pontas das raízes por 24, 48 e 72 h, respectivamente. |
| 21 | TEWARI et al. (2006)   | Índia   | Aterro | Camundongo<br><i>Swiss albino</i> | Ensaio cometa   | Houve aumento significativos na dose-resposta nos danos ao DNA nos tecidos do camundongo. Um aumento significativo no comprimento da cauda, na medula óssea e nas células sanguíneas.         |
| 22 | CHANDRA et al. (2005)  | Índia   | Lixão  | Planta<br><i>Allium cepa</i>      | Índice mitótico; aberrações cromossômicas e mitóticas; micronúcleos | Houve inibição significativa no índice mitótico, aberrações cromossômicas/mitóticas e formação de micronúcleos em todos os grupos expostos a lixiviado  |

|    |                            |        |        |   |   |   |
|----|----------------------------|--------|--------|---|---|---|
| 23 | SANG & LI (2005)           | China  | Aterro | Camundongo<br><i>Kunming</i>                          | Índice mitótico; aberrações cromossômicas             | Houve uma diminuição no índice mitótico, induzindo ao atraso mitótico em células de medula óssea de camundongo.   |
| 24 | SRIVASTAVA TE al. (2005)   | Índia  | ----   | Planta<br><i>Vicia faba</i>                           | Índice mitótico                                       | Todas as concentrações testadas diminuíram o índice mitótico de maneira relacionada à concentração; no entanto, inibição significativa ( $p < 0,01$ , $p < 0,001$ ) foi observada apenas com 5% e 10% de lixiviado.   |
| 25 | SANG & LI (2004)           | China  | Aterro | Planta<br><i>Vicia faba</i>                           | Micronúcleo;<br>Índice mitótico;<br>Aberração anáfase | O lixiviado induziu retardo mitótico e diminuíram o índice mitótico nas pontas das raízes de <i>V. faba</i> , assim índice mitótico diminuiu com o aumento das concentrações do lixiviado e mostrou uma diferença estatisticamente significativa entre o controle negativo e os grupos de exposição ao lixiviado. |
| 26 | CABRERA & RODRIGUEZ (1999) | México | Aterro | Planta<br><i>Tradescantia</i> ;<br><i>Allium cepa</i> | Micronúcleo;<br>Índice mitótico                       | O lixiviado coletado na estação seca testou positivo no ensaio micronúcleo para espécie <i>Tradescantia</i> e no ensaio aberração da anáfase da raiz da <i>A. cepa</i> .  |

Sales Junior et al., (2021) avaliaram a genotoxicidade do lixiviado coletado de um aterro sanitário no Brasil, em minhocas da espécie *Eisenia andrei*, pelo ensaio cometa, durante o ensaio crônico em solo com duração de 77 dias (SALES JUNIOR et al., 2021). A exposição ao lixiviado gerou um aumento significativo no dano ao DNA em todos os tempos de exposição, exceto para o 35º dia. Os aumentos observados variaram de 7 a 122 % após a exposição à concentração de lixiviado de 3,5 mL kg<sup>-1</sup>, 48-178 % após a exposição à dose de 7,0 mL kg<sup>-1</sup> e de 9 a 201 % para a concentração de lixiviado de 10,5 mL kg<sup>-1</sup>. No 77º dia, algumas células não exibiam cometa na maior concentração, exibindo uma forma amorfa com seu material genético espalhado aleatoriamente nas lâminas, corroborando o alto potencial genotóxico do lixiviado investigado para as minhocas (SALES JUNIOR et al., 2021).

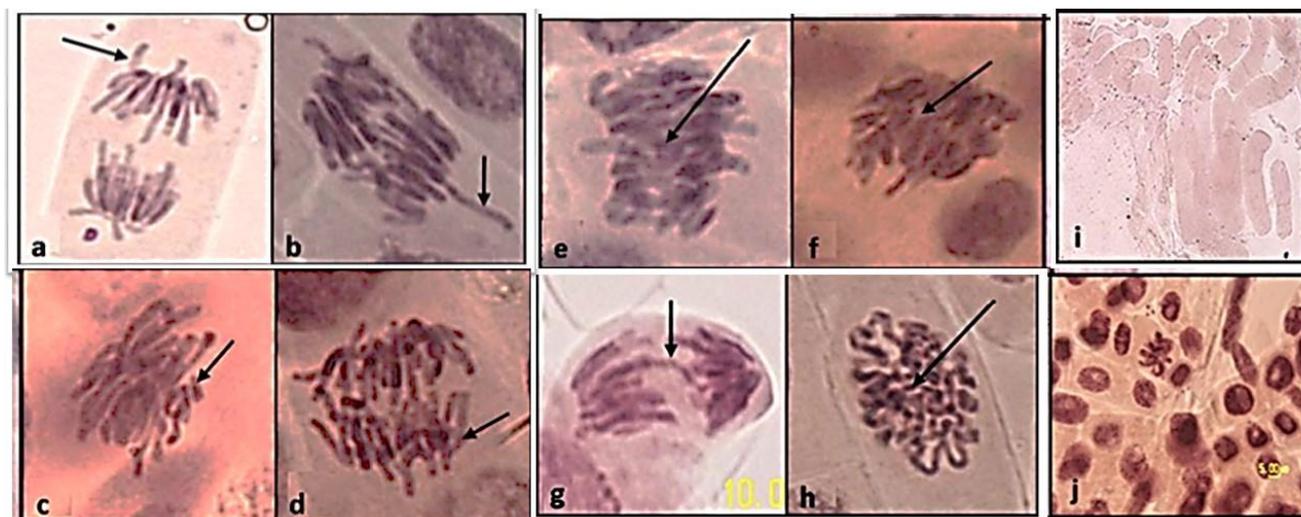
Segundo os autores SALES JUNIOR et al., (2021), o dano ao DNA observado durante os primeiros 7 dias de exposição foi devido a interações de xenobióticos com DNA, pois diversos metais detectados no efluente estudado, como o Cr, Ni, Mn, Fe e Zn, são conhecidos por induzir danos ao DNA, mutações e câncer. Além disso, os compostos fenólicos também são conhecidos por quelar íons metálicos, que por sua vez podem mediar a produção de certas EROS, como óxido nítrico (NO), o radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) e radicais hidroxila (•OH), que pode, por sua vez, causar peroxidação lipídica, afetando as estruturas de proteínas e ácidos nucleicos, levando à substituição de bases, quebra de DNA e, por fim, mutações (SALES JUNIOR et al., 2021).

Durante a pesquisa dessa revisão, foi encontrado dois trabalhos que utilizaram lixiviado proveniente de resíduo eletrônico como matriz de estudo, um localizado na Nigéria (ALABI & BAKARE, 2011) e outro localizado nas Filipinas (ALAM et al. 2019).

Alabi & Bakare, 2011, realizaram um estudo com objetivo de verificar os efeitos genotóxicos de lixiviados brutos de resíduos eletrônicos e simulados nas concentrações de 1%, 5%, 10%, 25%, e 50% (v/v; lixiviado:água destilada), que foram coletados nos principais lixões de dois grandes mercados eletrônicos em Lagos, Nigéria e os camundongos da espécie *Swiss albinon* foi utilizado com bioindicador. Os pesquisadores observaram, que os valores obtidos para os metais (Pb, Cu, Zn, Cd e Cr) nos lixiviados foram maiores em comparação com o controle, e maiores do que o máximo permitido nos níveis da água potável (FEPA 1991; USEPA 2009). Esses valores elevados de metais é um indicativo de contaminação ambiental derivada de dois mercados eletrônicos e suas subsequentes queimas de resíduos (ALABI & BAKARE, 2011). Houve inibição significativa dose-dependente no índice mitótico (MI) em células da medula óssea dos camundongos expostos nas concentrações testadas, exceto em 1 %. O resultado demonstrou que as amostras simuladas de lixiviado induziram mais aberrações cromossômicas (CA) em animais expostos do que lixiviado bruto. Dessa forma, os autores concluíram que os resultados das amostras testadas continham componentes capazes de induzir efeitos clastogênico e aneugênico nos camundongos expostos (ALABI & BAKARE, 2011).

No estudo realizado por Alam et al. (2019), amostras de solo foram coletadas de 3 lixões em Manila, Filipinas. Dois tipos de lixiviado simulados foram utilizados, o primeiro produzido por meio do solo coletado no local e o segundo produzido por meio de produtos eletrônicos descartados no local. O organismo utilizado para a análise *Allium cepa* e no ensaio da determinação do índice mitótico, foi observado uma diminuição nas células da raiz de *A. cepa* após a exposição de 24 e 72 horas para a concentração absoluta (100%) do lixiviado de lixo eletrônico de todos os três locais, bem como do lixiviado simulado de lixo eletrônico. No lixiviado de lixo eletrônico, houve uma tendência semelhante ao observado na exposição de 72 horas ao lixiviado de lixo eletrônico. No entanto, não houve diferença significativa entre os níveis de inibição (ALAM et al. 2019). Todas as concentrações de lixiviado de solo com lixo eletrônico (*e-waste*), assim como de lixiviado simulado de *e-waste*, induziram aberrações cromossômicas como fragmentos, cromossomos vagantes, anáfase e pontes telófases e retardatárias nas células da raiz de *A. cepa* expostas aos lixiviados por 24 e 72 h. A concentração absoluta (100%) de lixiviado de *e-waste* de todos os três locais, induziram porcentagens de aberrações cromossômicas significativamente maiores ( $p < 0.05$ ) do que o controle positivo para 24 h. Para 72 h, o dano cromossômico foi comparável ao controle positivo (ALAM et al. 2019).

Nesse estudo, em especial foi possível observar, que a exposição simulada ao lixo eletrônico resultou nas células fantasmas (Figura 6) no meristema da raiz de *A. cepa*. Essas células fantasma são células mortas em que o contorno é visível, mas o núcleo e as estruturas citoplasmáticas não são coráveis, assim resultam em morte celular ou apoptose (ALAM et al. 2019).



*Figura 6:* Aberrações cromossômicas observadas em células de raiz de *Allium cepa* cultivadas em vários tratamentos de lixiviados de lixo eletrônico. **a, b)** Cromossomos vagantes e retardatários, **c)** fragmento de cromossomo; **d)** anormalidades do fuso na anáfase; **e, f)** cromossomos pegajosos; **g)** ponte anáfase; **h)** C-mitose; **i)** células fantasmas induzidas pelo tratamento de lixo eletrônico; **j)** célula mitótica normal. **Fonte:** Adaptado de ALAM et al. (2019).

Com objetivo de analisar a genotoxicidade do lixiviado coletado no leste de Taiwan, do aterro municipal de resíduos sólidos, onde parte dos resíduos que entrava no aterro era resíduo residencial e outra parte resíduo industrial, Sang & Li, (2005) estudaram as aberrações cromossômicas (CA) em bioensaio de células de medula óssea de camundongos, usando DQO como medida de concentração de lixiviado (SANG & LI, 2005). Amostras mistas coletadas em duas estações diferentes foram definidas como amostra 1 (coletada em fevereiro de 2004) e amostra 2 (coletada em julho de 2004), respectivamente. Assim, os camundongos *Kumming mice* foram expostos ao lixiviado durante 7 dias nas concentrações de 40, 80, 160 e 320 mg DQO L<sup>-1</sup> (SANG & LI, 2005). Os resultados do MI mostraram que, ambas as amostras diminuíram o MI e induziram atraso mitótico em células de medula óssea de camundongo. O índice mitótico diminuiu com o aumento das concentrações de tratamento de lixiviados e mostrou diferença estatisticamente significativa entre o controle negativo e os grupos de exposição ao lixiviado, após exposição a DQO Cr 40, 80, 160 e 320 mg L<sup>-1</sup> de ambas as amostras. Comparado com o controle negativo, foram detectadas reduções do MI de 54 e 38% para as maiores concentrações de lixiviado na medula óssea de camundongo tratada com as amostras 1 e 2, respectivamente (SANG & LI, 2005). Além disso, houve aumento marcante de lacunas de isocromatídeos, quebras de isocromatídeos, quebras de cromátides, cromossomos do anel e frequências trirradiais nos grupos de exposição ao lixiviado, e as frequências de CA aumentaram significativamente com o aumento das concentrações da

amostra 1 de  $\text{COD}_{\text{Cr}}$  40 a 320 mg e de  $\text{DQO L}^{-1}$  80 a 320 mg  $\text{DQO L}^{-1}$  após exposição à amostra 2. Os resultados indicam que os lixiviados de ambas as amostras induziram a formação de CA em formas dependentes da concentração ( $\text{COD}_{\text{Cr}}$ ) (SANG & LI, 2005). De acordo com Li et al., (2010), o lixiviado causa perturbação no status antioxidante em órgãos de camundongos (LI et al., 2010), com isso proteínas e ácidos nucleicos são alvos de radicais livres, porém, há poucas informações sobre as lesões oxidativas dessas macromoléculas em diferentes tecidos e órgãos de camundongos expostos ao lixiviado (LI et al., 2010). Dessa forma, a carbonilação de proteínas é um processo irreversível, não enzimático, que resulta das reações diretas entre proteínas e espécies reativas de oxigênio, ou da reação indireta entre proteínas e outras macromoléculas oxidadas (lipídios ou açúcares) (LI et al., 2010). Assim, as ligações cruzadas DNA-proteína (DPC) são danificadas, devido à presença de radicais livres, que são relativamente persistentes nas células (LI et al., 2010). A oxidação de proteínas é marcada pelo teor de proteína carbonilação e DPC, esta é produzida pelas proteínas e ácidos nucleicos que foram modificados pelos radicais livres e, têm sido usados como índices sensíveis para avaliar a genotoxicidade induzida por produtos químicos (LI et al., 2010).

Diante desse contexto, Li et al., (2010) verificaram DPC no cérebro, coração, rim, fígado e baço de camundongos da espécie *Kunming*, que foram expostos a lixiviado de aterro, localizado na China, em concentrações de 5, 10, 25 e 50% (v/v). Para o cérebro e coração, o coeficiente DPC não foi afetado em baixas concentrações das amostras de lixiviado (5, 10 e 25%), mas foi significativamente aumentado na concentração mais alta de 50% ( $p < 0,01$ ,  $n = 6$ ). No rim e baço, o coeficiente DPC aumentou de forma dependente da concentração após 5, 10 e 25% de exposição ao lixiviado, mas diminuiu na concentração mais alta. Para o fígado, o coeficiente de DPC aumentou e atingiu o valor de pico na concentração de 10% (233,43% do controle,  $p < 0,01$ ,  $n = 6$ ); com o aumento da concentração de exposição o nível diminuiu (180,98 e 153,66% do controle para 25 e 50% de tratamento de lixiviado,  $p < 0,01$ ,  $n = 6$ ) (LI et al., 2010).

Concluiu-se, que as proteínas foram oxidadas e o conteúdo da carbonila na proteína foi acumulado nos órgãos, indicando que o lixiviado de aterro sanitário tem potencial para induzir a formação de radicais livres e que sua quantidade excedeu a capacidade defensiva do sistema antioxidante (LI et al., 2010). Desse modo, as ligações cruzadas DNA-proteína (DPC) foram danificadas devido aos mecanismos oxidativos, que foi um processo mediado por ferro, por exemplo, através da reação de Fenton. Os radicais OH mediados pela reação de Fenton podem atacar o DNA no local onde o ferro foi ligado para produzir DPC (LI et al., 2010).

Desse modo, o efeito da genotoxicidade foi relacionado com a presença de metais e contaminantes orgânicos, como compostos alifáticos halogenados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, bifenilos clorados policíclicos, compostos fenólicos e pesticidas presentes no lixiviado. Essa mistura de compostos gerada é complexa e mais de 200 destes são de natureza perigosa e já foram identificados em lixiviados de aterros e lixões (SALES JUNIOR et al., 2021; KHALIL et al., 2018; ALIMBA & BAKARE, 2016; ALABI & BAKARE, 2011; LI et al., 2010; TEWARI et al., 2006; ALIMBA & BAKARE, 2006). Há vários xenobióticos identificados nos lixiviados que interagem entre si, junto a isso é possível verificar que o lixiviado têm a capacidade potencial de causar efeitos relacionados a carcinogenicidade, mutagenicidade e clastogenicidade (SALES JUNIOR et al., 2021; KHALIL et al., 2018; ALIMBA & BAKARE, 2016; ALABI & BAKARE, 2011; LI et al., 2010).

Um possível mecanismo para a genotoxicidade induzida por lixiviados envolve a formação de radicais livres, seja por auto-oxidação ou por oxidação catalisada por enzimas de compostos orgânicos no lixiviado (LI et al., 2010; LI et al., 2008). Esses radicais livres podem reagir com os lipídios e levar à peroxidação lipídica da membrana celular nos tecidos, causando a quebra da cadeia de DNA pela oxidação da base no DNA e ligação covalente entre o produto da peroxidação lipídica e o DNA (SALES JUNIOR et al., 2021). Os radicais livres também podem reagir com proteínas, afetar as estruturas e funções das enzimas e alterar as propriedades da membrana. Além disso, esses radicais livres podem atacar ácidos nucleicos, especialmente algumas manchas em purinas e piridinas, resultando em substituição de bases e quebra de DNA e, eventualmente, induzir mutações (SANG & LI, 2005).

Diversos estudos utilizam as plantas como bioindicadores do monitoramento ambiental (ZEGZOUTI et al. 2020; ALAM et al. 2019; BRKANAC et al. 2014; KWASNIEWSKA et al., 2012; BAKARE et al. 2012; BORTOLOTTI et al. 2009; CHANDRA et al., 2005), pois os vegetais superiores fornecem parâmetros significativos para avaliar genotoxicidade de misturas complexas, como lixiviado (CHANDRA et al., 2005).

Nesse contexto, ao analisar vinte e dois aterros da Província da Alta Silésia (Polônia) Kwasniewska et al., (2012), realizaram ensaios com *Allium cepa* para verificar o efeito da genotóxicidade, através da avaliação do índice mitótico e frequências de aberrações cromossômicas nos lixiviados dos aterros poloneses. A seleção dos lixiviados para análise dos efeitos citogenéticos foi baseada na toxicidade de amostras e, os lixiviados foram classificados de 1 a 21 (KWASNIEWSKA et al., 2012).

Os resultados apontam que o MI nas células de controle foi de cerca de 12%. O tratamento com controle positivo causou uma redução no MI para cerca de dois a três por cento. Todas as amostras de lixiviados afetaram o MI e o efeito dependeu do tempo de tratamento e pós-incubação. Mesmo um tratamento de 2 h levou a diminuição total da atividade mitótica no caso dos lixiviados 4, 12 e 13. No entanto, uma recuperação do MI foi observada após 24 h de pós-incubação para o lixiviado 12 (KWASNIEWSKA et al., 2012). As aberrações cromossômicas (CA) foram observadas através de

fragmentos e pontes na anáfase e telófase. Essas CA na anáfase / telófase foram observadas após o tratamento com as amostras de lixiviado 4, 8, 12 e 13. No entanto, a frequência de CA foi estatisticamente diferente do controle (sem aberrações cromossômicas) apenas no caso de amostras de lixiviado 4 e 8. A maior frequência de aberrações cromossômicas foi observada em células meristemáticas de *Allium cepa* após o tratamento com a amostra de lixiviado 4 (9,8 %). Entre as CA, anáfases com múltiplas pontes foram muito frequentes após o tratamento com lixiviado 4.

Chandra et al., (2005) também realizaram um estudo com objetivo de avaliar e comparar o potencial genotóxico de lixiviados de dois tipos de resíduos sólidos industriais, um de indústria metalúrgica e outro de uma indústria corante, utilizando a espécie *A. cepa*. Foram coletados cinco amostras aleatórias de resíduos sólidos em diferentes locais de descarte de resíduos a céu aberto de uma indústria metalúrgica que fabrica componentes de lanterna e de uma indústria de corantes que fabrica pigmentos de cromo, ambos situados em áreas urbanas da cidade de Lucknow (Índia). Os autores prepararam três concentrações de ensaios de lixiviados aquosos (2,5%, 5% e 10%) e cinco bulbos de *A. cepa* foram expostos a dois meios de exposição por 48 h juntamente com o controle negativo (CHANDRA et al., 2005).

Os pesquisadores observaram que todas as concentrações de ensaios de lixiviados (2,5–10%) afetaram o MI de maneira dependente da dose. Por outro lado, o declínio do MI foi mais prevalente em células de *A. cepa* tratadas com lixiviado de resíduos de metal (MWL) do que em células de *A. cepa* tratadas com lixiviado de resíduos de corante (DWL). Valores do índice mitótico, foi de  $4,59 \pm 0,69$  ( $P < 0,001$ ) em 10% e  $7,43 \pm 0,84$  ( $P < 0,05$ ) em 5% MWL, enquanto foi de  $8,62 \pm 0,69$  ( $P < 0,05$ ) em 10% e  $9,50 \pm 0,28$  ( $P < 0,05$ ) em 5% DWL (dados obtidos de 4000–5000 células e expressos como média  $\pm$  SE de cinco réplicas.  $P < 0,05$ ;  $P < 0,001$ ). As concentrações correspondentes em meio de solo revelaram menor inibição de MI do que a exposição em meio aquoso. O MI nas células do meristema radicular expostas através do meio do solo foi de cerca de  $6,71 \pm 1,00$  ( $P < 0,001$ ) em 10% MWL, enquanto foi de  $9,12 \pm 0,62$  ( $P < 0,05$ ) com 10% de exposição DWL (CHANDRA et al., 2005).

A indução de aberrações cromossômicas/mitóticas foi observada em um concentração-dependente. Frequências estatisticamente significativas ( $P < 0,05$  ou  $P < 0,001$ ) de aberrações CA / MA foram registradas com 5–10% de lixiviados de ambos MWL e DWL, independentemente da exposição através do solo ou meio aquoso. Além disso, os tipos de aberrações cromossômicas e mitóticas foram semelhantes em células do meristema *A. cepa* expostas a MWL e DWL. Quebras e fragmentos de cromátides eram CA frequentes, enquanto arranjos multipolares, retardatários, pontes e separação desigual de cromossomos no estágio de anáfase da divisão celular foram encontrados para ser MA frequente. No entanto, a porcentagem de aberrações foi maior em MWL do que em células da ponta da raiz de *A. cepa* expostas a DWL (CHANDRA et al., 2005).

A frequência de aberrações foi de 14,21% ( $P < 0,001$ ) em meio aquoso e 8,29% ( $P < 0,001$ ) em meio de solo com MWL de 10%, enquanto foi de 7,81% ( $P < 0,001$ ) em meio aquoso e 4,76% ( $P < 0,05$ ) em meio de solo com 10% de DWL. Ambos os lixiviados industriais induziram significativamente ( $P < 0,05$  ou  $P < 0,001$ ) as células micronucleadas em ambos os meios de exposição, especialmente na concentração ensaios de 10%. A frequência de células micronucleadas foi relativamente maior em células tratadas com MWL (0,33 ( $P < 0,001$ ) em 10% aquoso e 0,14 ( $P < 0,05$ ) em 10% de meio de solo), enquanto DWL foi capaz de induzir apenas 0,13 ( $P < 0,05$ ) micronúcleos em exposição aquosa a 10% (CHANDRA et al., 2005).

Segundo os autores, a inibição do MI pelos lixiviados de MWL e DWL reflete a citotoxicidade que afeta diretamente o crescimento e o alongamento da raiz. Esse declínio do índice mitótico abaixo de 22% em comparação ao controle negativo pode causar efeitos letais no organismo. Isso é causado porque os resíduos da indústria de fabricação de metais e corantes contêm metais e muitos compostos citotóxicos indesejáveis que podem causar morte celular, que pode aparecer como o declínio no MI. Assim, causando a inibição do índice mitótico e também pode ser atribuída ao efeito de produtos químicos ambientais na síntese de DNA / proteína do sistema biológico (CHANDRA et al., 2005).

Vieira & Droste, 2019 utilizaram as sementes das espécies *Lactuca sativa* e *Lycopersicon. esculentum* para analisar o potencial tóxico do lixiviado, nas concentrações de 100, 75 e 50%, de um aterro controlado desativado, localizado na Região Metropolitana de Porto Alegre, no sul do Brasil, os autores classificaram o lixiviado estando na fase metanogênica (VIEIRA & DROSTE, 2019).

Foi observado que o lixiviado bruto reduziu a capacidade germinativa de *L. sativa*, com 86,6% das sementes. Sementes de *L. esculentum* pareceram ser mais sensíveis que as sementes de *L. sativa*. Com o aumento da concentração do lixiviado houve a redução do número de sementes germinadas inibindo completamente a germinação na concentração de 100% e para ambas as espécies estudadas, o MI foi significativamente menor nas diferentes concentrações de lixiviado e no controle positivo do que no controle negativo (VIEIRA & DROSTE, 2019).

Para a *L. esculentum*, os valores de índice anormalidades cromossômicas (CAI) nas concentrações de lixiviado e no controle negativo não diferiram e foram inferiores aos do controle positivo. No entanto, os cromossomos de *Lycopersicon esculentum* são menores, portanto, essa característica complicou a análise de anormalidades cromossômicas para esta espécie vegetal. Além disso, no tratamento com lixiviado bruto (100%), as sementes de *L. esculentum* não germinaram, prejudicando a comparação com outras espécies vegetais. A *Lactuca sativa*, por outro lado, apresentou valores de CAI significativamente maiores nas concentrações de lixiviado e no controle positivo, quando comparado ao controle negativo (VIEIRA & DROSTE, 2019).

A ocorrência de micronúcleo (NMC) em *L. esculentum* foi baixa, sendo que o controle negativo não os apresentou. Em *L. sativa*, foi observada maior frequência de NMC, mesmo registrando MCN no

controle negativo (2,38 NMC). As maiores frequências foram encontradas quando as plantas foram expostas ao lixiviado bruto (4,64 NMC) e ao controle positivo (4,70 NMC). Podemos inferir que os NMCs encontrados no controle negativo se formaram espontaneamente. Porém, para os demais tratamentos, a maior frequência de NMC em relação ao controle mostram o efeito tóxico do lixiviado e do  $\text{CuSO}_4$ (controle positivo) (VIEIRA & DROSTE, 2019).

Diante dos artigos apresentados nessa seção podemos observar que bioensaios com vegetais são sensíveis e simples em comparação com ensaios com animais e são válidos para estudos de monitoramento genotóxico de efluentes como lixiviados. Nesse sentido, os dados mostram em diversos estudos (ZEGZOUTI et al. 2020; ALAM et al. 2019; LI et al., 2017; BRKANAC et al. 2014; KWASNIEWSKA et al., 2012; BAKARE et al. 2012; ROI-ET et al., 2012; BORTOLOTTI et al. 2009; FENG et al., 2007), que a utilização de ensaios com plantas tem corroborado na ratificação de que o lixiviado induz a diminuição no índice mitótico, aumento nas aberrações cromossômicas e na frequência do micronúcleo (VIEIRA & DROSTE, 2019; LI et al., 2017; SRIVASTAVA et al., 2014; AKINBOLA et al., 2011).

Geralmente a amostra bruta do lixiviado induziu mais aberrações e menores índices mitóticos (VIEIRA & DROSTE, 2019; KLAUCK et al., 2013; AKINBOLA et al., 2011), em comparação com o lixiviado simulado ou com menores concentrações. Isso pode ser porque a amostra bruta foi obtida diretamente do lixão/aterro que estava sob a influência direta dos índices de precipitação em oposição à preparação laboratorial da amostra simulada, o que provavelmente a torna mais concentrada (LI et al., 2017; KLAUCK et al., 2013; BAKARE et al. 2012; CABRERA & RODRIGUEZ, 1999).

Os metais e outros poluentes encontrados no lixiviado também são possíveis responsáveis pela diminuição do índice mitótico nas plantas (VIEIRA & DROSTE, 2019; BRKANAC et al. 2014; BAKARE et al. 2012; CHANDRA et al., 2005), pois por mais que sejam considerados micronutrientes essenciais ao metabolismo das plantas, alguns metais podem, quando presentes no ambiente em altas concentrações, ter o potencial de induzir a formação de micronúcleos e reduzir a germinação e o crescimento das raízes (ALARIBE; AGAMUTHU, 2016; BOŻYM, 2020).

Portanto, foi possível verificar que o principal objetivo de realizar os ensaios genotoxicidade nos organismos, é compreender as modificações que as substâncias consideradas tóxicas podem causar no DNA (KWASNIEWSKA et al., 2012).

### 6.3. SISTEMA ANTIOXIDANTE

Dentre o total de publicações na busca realizada, 12 artigos utilizaram as alterações do sistema antioxidante como *endpoint* (Quadro 5), demonstrando uma crescente atenção dada a este tipo de análise. Além disso, um artigo abordou os efeitos do lixiviado no sistema antioxidante em organismos vegetais e animais no mesmo estudo.

Quadro 5: Artigos publicados que avaliaram o efeito de sistema antioxidante sobre os organismos, origem do lixiviado, efeito observado e principais resultados.

Legenda: Fosfatase alcalina (ALP); transaminase de ácido glutâmico-oxaloacético (GOT); transaminase de ácido glutâmico-pirúvico (GPT); ascorbato peroxidase (APOX) e guaiaacol peroxidase (GPOX) metalotioneína(MT); oxidação de proteínas (PCO); superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT); peroxidase (POX).

| Nº | Autor                      | País    | Origem do lixiviado | Organismo                        | Efeito observado   | Principais resultados  |
|----|----------------------------|---------|---------------------|----------------------------------|--------------------|--|
| 1  | SALES JUNIOR et al. (2021) | Brasil  | Aterro              | Minhoca<br><i>Eisenia andrei</i> | SOD/CAT/MT/GSH/GST | Houve aumento nas atividades de SOD e CAT e nas concentrações de MT, juntamente com diminuição da atividade de GST e níveis de GSH.  |
| 2  | OGUNLAJA et al. (2019)     | Nigéria | Lixão               | Camundongo                       | MDA/GSH            | Houve aumento significativo nas concentrações do MDA hepático, a atividade de GSH hepático diminuiu.   |
| 3  | KHALIL et al. (2018)       | Líbano  | Aterro/<br>Lixão    | Camundongo                       | ALP, GOT e GPT     | As atividades enzimáticas médias foram: ALP do fígado variou entre 100 e 257%, a ALP do sangue entre 109 e 160%, a GPT do fígado entre 62 e 98%, a GPT do sangue entre 89 e 100%, a GOT do fígado entre 102 e 160%. e o GOT de sangue entre 514 e 772%. A expressão significativa observada dos níveis de GOT e ALP nos fígados de camundongos expostos é uma indicação das alterações na função hepática. |

|   |                         |         |                        |                                    |                 |  |
|---|-------------------------|---------|------------------------|------------------------------------|-----------------|--|
| 4 | ARUNBABU et al. (2017)  | Índia   | Aterro                 | Planta<br><i>Vigna unguiculata</i> | SOD/CAT/POX/MDA | O nível de MDA não mostra muita variação em concentrações mais baixas de lixiviado, ou seja, até 5%, no entanto, em concentrações mais altas de 10 e 25%, os níveis de MDA aumentaram significativamente e a atividade da SOD aumentou com o aumento na concentração do lixiviado até 5% aos 28 e 54 dias de tratamento. |
| 5 | LI et al. (2017)        | China   | Aterro                 | Planta<br><i>Zea mays</i>          | MDA             | O nível de MDA na <i>Z. mays</i> exposta ao lixiviado na fase de sementes tendeu a diminuir na concentração de 10% e apresentou diferença significativa em relação ao controle, sendo que a diferença significativa ocorreu na concentração superior de 50% do lixiviado.  |
| 6 | AKINTUNDE et al. (2013) | Nigéria | Reciclagem de baterias | Camundongo                         | MDA             | O lixiviado causou um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no nível MDA em dose-dependente.  |
| 7 | ZHU et al. (2013)       | China   | Aterro                 | Planta<br><i>Hordeum vulgare</i>   | SOD/CAT/POX     | Todas as atividades enzimáticas atingiram um valor máximo em 12–24 cm e, em seguida, diminuíram com a distância de penetração. Antes do ponto de 48 cm, as atividades das três enzimas demonstravam uma promoção irregular e distinta.   |

|    |                      |        |        |  |                                     |  |
|----|----------------------|--------|--------|--|-------------------------------------|--|
|    |                      |        |        |  |                                     | <p>Longe da porta de 48 cm, as atividades de SOD e CAT nas mudas de exposição diminuíram gradativamente e a atividade POX ainda era distintamente maior do que o controle.</p> <p>Os resultados indicaram um aumento significativo na atividade de APOX nas raízes da <i>T. repens</i> (<math>p &lt; 0,000</math>) de indivíduos expostos a solos enriquecidos com o lixiviado. <i>E. fetida</i> expostas ao lixiviado puro, foram caracterizadas por uma indução significativa da expressão de MT em relação à exposição ao solo de referência.</p> |
| 8  | MANIER et al. (2012) | França | Aterro | Planta e minhoca<br><i>Trifolium repens</i> ;<br><i>Eisenia fetida</i> | APOX/ GPOX (planta)<br>MT (minhoca) | <p>A ingestão de lixiviado de aterro aumentou os níveis de PCO no cérebro, rins, fígado e baço, mas não afetou o conteúdo no coração.</p>  |
| 9  | LI et al. (2010)     | China  | Aterro | Camundongo   | PCO                                 | <p>Após uma exposição de 5 dias, os níveis de MDA não foram significativamente afetados por todas as concentrações testadas, mas tenderam a diminuir ligeiramente em concentrações mais baixas (2,5-10%). A atividade da SOD tendeu a aumentar com o maior nível de exposição ao lixiviado.</p>  |
| 10 | SANG et al. (2010)   | China  | Aterro | Planta<br><i>Zea Mays</i>  | SOD/CAT/POX /MDA                    |  |

|           |                  |       |        |            |                 |  |
|-----------|------------------|-------|--------|------------|-----------------|--|
| <b>11</b> | LI et al. (2006) | China | Aterro | Camundongo | SOD/CAT/GPX/MDA | A exposição de camundongos machos e fêmeas ao lixiviado, resultou no aumento significativo da peroxidação lipídica, em todos os tratamentos, no cérebro e no fígado. |
| <b>12</b> | LI et al. (2006) | China | Aterro | Camundongo | SOD/CAT/GPX/MDA | A exposição de camundongos machos e fêmeas ao lixiviado, resultou no aumento significativo da SOD/GPX, em todos os tratamentos, no baço, coração e rim.              |

---

Dentre as 12 publicações, 2 utilizaram minhocas como organismo modelo. Neste sentido, MANIER et al. (2012) expôs a espécie *Eisenia fetida* a um lixiviado obtido em um aterro na França. Foi realizado um experimento de microcosmos utilizando como organismos as minhocas e a espécie vegetal *Trifolium repens*, expostos às concentrações de 25, 50 e 100 % de lixiviado. Ao final de 10 semanas de exposição, as minhocas foram coletadas para extração do RNA celular para determinação da expressão gênica de metalotioneína (MT). Foi observado que as minhocas expostas ao lixiviado na concentração de 100 % apresentaram indução significativa na expressão de MT, 1.8 vezes superior ao controle. Esse aumento, não foi dependente da presença ou não de *T. repens* durante o experimento. Para os solos tratados com 25 e 50 % de lixiviado, o aumento na expressão de MT não foi estatisticamente significativo ( $p < 0.05$ ) em relação ao controle negativo (MANIER et al., 2012).

Outro estudo que reportou alterações em enzimas e proteínas do sistema antioxidante em minhocas foi o descrito por Sales Junior et al. (2021b). Neste trabalho, foi utilizado um lixiviado proveniente de um aterro sanitário localizado no Rio de Janeiro, Brasil. Minhocas da espécie *Eisenia andrei* foram expostas em solo durante 77 dias às concentrações de 2, 4 e 6 %, correspondentes a 3.5, 7. e 10.5 mL kg<sup>-1</sup> de lixiviado. A cada duas semanas (7, 21, 35, 49, 63 e 77 dias de exposição), minhocas foram coletadas para determinação da atividade de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) glutathione S-transferase (GST) (SALES JUNIOR et al., 2021).

Ainda no estudo de Sales Junior et al (2021), em relação a CAT, foi observado um aumento na atividade enzimática nos dias 7, 21, 49 e 77, indicando um acúmulo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no meio intracelular. Segundo os autores, o acúmulo de peróxido decorreu por alguma via metabólica distinta a reação de dismutação gerada pela SOD, uma vez que não houve alterações na atividade desta enzima. Dessa forma, este resultado foi associado a interação de metais como Cu, Fe, Mg e Ca, presentes no lixiviado estudado, com processos redox celulares. Além disso, foi observada uma redução na atividade de GST em todos os dias de exposição, exceto para 7 e 21 dias de exposição, comportamento semelhante ao de GSH. Para este tripeptídeo, foi observada uma redução nos dias 21, 35 e 49, e um aumento nos dias 7, 63 e 77. Para os autores, a exposição de minhocas ao lixiviado induziu a ação da GSH junto a CAT na metabolização de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. No entanto, o consumo de GSH não foi reestabelecido pela enzima glutathione redutase (GRd), levando a inibição da GST, uma vez que essa enzima utiliza a GSH como substrato durante seus mecanismos de ação (SALES JUNIOR et al., 2021b). Em sentido contrário ao observado, os níveis de MT aumentaram em todos os tempos de exposição, exceto no 35º dia, devido a presença de metais na matriz e a alta produção de EROs. Por fim, o estudo observou um aumento nos níveis de MDA nos 21, 63 e 77, indicando uma falha do sistema antioxidante mais acentuada ao final da exposição (SALES JUNIOR et al., 2021).

Diversos estudos, utilizaram camundongos para avaliar os efeitos dos lixiviados (OGUNLAJA et al. 2019; KHALIL et al., 2018; LI et al., 2010; LI et al. 2006), pois quando expostos ao contaminante, os camundongos são capazes de absorver as substâncias, chegando a corrente sanguínea e sendo distribuídos para diferentes tecidos e órgãos após a exposição. O cérebro, o coração, o rim, o fígado e o baço são os cinco órgãos mais importantes nos mamíferos, e geralmente usados como modelos para estudar o mecanismo patológico devido ao seu envolvimento na modulação da assimilação, metabolismo, imunidade e doenças. Além disso, os tecidos e órgãos também são as regiões vulneráveis ao estresse oxidativo (KHALIL et al., 2018; LI et al., 2010).

Neste cenário, Li et al. (2006) expuseram camundongos macho e fêmea a um lixiviado coletado em Taiwan, China. Os animais foram expostos durante 7 dias ao lixiviado nas concentrações de 30, 60, 120 e 240 mg DQO L<sup>-1</sup>, correspondentes a 5, 10, 20 e 40 % de lixiviado (LI et al., 2006). Após o período de exposição, foi feita a eutanásia dos indivíduos expostos para retirada do cérebro e fígado, e determinação das atividades de SOD, CAT, glutathione peroxidase (GPx) e dos níveis de peroxidação lipídica. No cérebro, os resultados mostraram que em camundongos macho, as atividades de SOD e GPx aumentaram significativamente ( $p < 0.05$ ) na concentração mais alta (240 mg DQO L<sup>-1</sup>). A atividade da CAT não foi alterada significativamente. Em camundongos fêmea, a atividade de SOD e GPx aumentou significativamente na concentração de 60 mg DQO L<sup>-1</sup> e diminuiu de forma significativa na concentração mais alta. A CAT nas fêmeas permaneceu inalterada em baixas concentrações do lixiviado, assim como as demais enzimas, na concentração de 240 mg DQO L<sup>-1</sup>. A exposição de machos e fêmeas ao lixiviado, resultou no aumento significativo da peroxidação lipídica em todos os tratamentos (LI et al., 2006).

As análises no fígado mostraram que a atividade de SOD e GPx em camundongos macho, aumentou de forma significativa nas concentrações de 120 e 240 mg DQO L<sup>-1</sup>, permanecendo inalteradas nas concentrações inferiores. A catalase, aumentou significativamente em todas os tratamentos a que os machos foram submetidos de forma dependente da concentração. A atividade de SOD e GPx nas fêmeas foram aumentadas significativamente nas concentrações mais baixas (30 e 60 mg DQO L<sup>-1</sup>) e reduzidas nas concentrações mais altas (120 e 240 mg DQO L<sup>-1</sup>). A CAT por sua vez, permaneceu inalterada em baixas concentrações e diminuíram significativamente nas concentrações de 120 e 240 mg DQO L<sup>-1</sup> (LI et al., 2006).

Segundo Li et al., (2006), o mecanismo de toxicidade pode envolver a formação de radicais livres, seguidos de danos oxidativos causados por compostos orgânicos presentes no lixiviado, como: tridecano, hexadecano, heneicosano, pentacosano, cloreto de neopentilo, clorometano, ácido esteárico; fenóis, cresol; benzeno, tolueno, xileno, etilbenzeno. Em condições normais, as células possuem defesas enzimáticas e não enzimáticas para lidar com os radicais livres, como SOD, GPx e CAT. No entanto, o dano oxidativo, pode ocorrer quando o potencial antioxidante é alterado e o estresse oxidativo é

aumentado, logo esse dano induzido por radicais livres tem sido implicado na patogênese de vários estados de lesão e doença (LI et al., 2006).

Com isso, foi possível verificar, que a exposição do lixiviado aumentou os níveis de peroxidação lipídica em cérebros e fígados de camundongos de ambos os sexos, acompanhado por mudanças significativas nas atividades de SOD, GPx e CAT nos órgãos analisados (LI et al., 2006).

Para verificar os efeitos do estresse oxidativo do lixiviado localizado na Nigéria, Ogunlaja et al. (2019) também utilizaram camundongos, durante 21 dias de exposição com as concentrações 50, 30 e 10 % (OGUNLAJA et al. 2019). Os pesquisadores observaram, que os níveis de GSH hepático diminuíram significativamente em 30%, 37% e 44% nos animais expostos a 10%, 30% e 50%, respectivamente, das amostras de lixiviado coletadas aproximadamente 500 m de distância do aterro ( $p < 0,05$ ). Nos animais expostos a 10%, 30% e 50% das amostras de lixiviado coletadas no local do aterro, os níveis de GSH hepático diminuíram significativamente em 31%, 37% e 44%, respectivamente ( $p < 0,05$ ) (OGUNLAJA et al. 2019). Já nas análises de MDA nas concentrações hepáticas houve aumento significativamente em 24%, 47% e 62% nos animais tratados com 10%, 30% e 50%, respectivamente, das amostras de lixiviado coletadas aproximadamente 500 m de distância do aterro ( $p < 0,05$ ). Nos animais expostos a 10%, 30% e 50% das amostras de lixiviado do aterro, os níveis hepáticos de MDA aumentaram significativamente em 17%, 39% e 68%, respectivamente ( $p < 0,05$ ) (OGUNLAJA et al. 2019).

Segundo Ogunlaja et al. (2019) e Li et al., (2006), o lixiviado de aterro municipal induz a peroxidação lipídica e diminui o GSH em camundongos. O aumento dependente da dose no MDA e a diminuição nas concentrações de GSH observados no presente estudo após o tratamento com as amostras de lixiviado foram fundamentais no papel de geração de estresse oxidativo no tecido hepático. Diminuições nos níveis de GSH são importantes fatores geradores de estresse oxidativo, uma vez que, a GSH é o tiol mais abundante nas células e tecidos, capaz de reduzir os metabólitos reativos do oxigênio em metabólitos inativos, assim proteger os tecidos do dano oxidativo (OGUNLAJA et al. 2019). Portanto, quando as condições de estresse oxidativo são estabelecidas, as capacidades de defesa dos tecidos e células contra as espécies reativas de oxigênio tornam-se insuficientes, e conseqüentemente, o declínio no nível de GSH após a exposição ao lixiviado tornará o tecido vulnerável ao dano oxidativo (OGUNLAJA et al. 2019).

A avaliação dos efeitos do lixiviado no sistema antioxidante em vegetais vem apresentando informações importantes quanto as respostas metabólicas decorrentes dessa exposição (ARUNBABU et al., 2017; SANG et al., 2010).

Atualmente, avaliações ecotoxicológicas em vegetais expostos ao lixiviado preconizam a análise dos efeitos fitotóxicos, isto é, avaliação da germinação e desenvolvimento. Esta avaliação, geralmente demanda a exposição de espécies em sua fase adulta, para determinar a atividade de enzimas e proteínas

na biomassa de folhas, caule e raízes (ARUNBABU et al., 2017; ZHU et al., 2013). Por isso, compreende-se os motivos para a escassez de pesquisas nesta temática. Todavia, acredita-se que a avaliação do sistema antioxidante em vegetais, apresenta vantagens importantes no estudo dos efeitos do lixiviado durante a irrigação de plantações e na avaliação da contaminação de ambientes naturais por esse efluente (LI et al., 2017; SANG et al., 2010). Além disso, é relatado que o estresse ambiental em sementes, reduz a taxa de germinação e ainda pode levar à redução no crescimento e no rendimento final da plantação, efeito que pode ser estimado ao analisar as alterações do sistema antioxidante de sementes expostas (LI et al., 2017).

Dentre as enzimas do sistema antioxidante, superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) estas estiveram presente em 3 das 5 publicações que abordavam os efeitos do lixiviado no sistema antioxidante de espécies do Reino *Plantae* (ARUNBABU et al., 2017; SANG et al., 2010; ZHU et al., 2013). A SOD tem como função, transformar o radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), composto que será quebrado pela CAT, produzindo água ( $H_2O$ ) e oxigênio ( $O_2$ ) (SALES JUNIOR et al., 2021). Outro grupo de enzima que atua na quebra de  $H_2O_2$  são as peroxidases (POX), descritas nos trabalhos de Arunbabu et al. (2017), Zhu et al. (2013), Manier et al. (2012) e Sang et al. (2010). Além destes biomarcadores, foi avaliado ainda o efeito de carbonilação de proteínas nas publicações de Zhu et al. (2013) e Sang et al. (2010), e a peroxidação lipídica, por meio da quantificação de malondialdeído (MDA).

As concentrações de 2.5, 5, 10, 20, 50 e 100 % de um lixiviado proveniente de Taiwan, China, geraram alterações enzimáticas de SOD, CAT e POX em mudas (1.4 cm) de *Zea mays* (SANG et al., 2010). Foi observado que independente do tempo de exposição (5 ou 10 dias), a atividade de SOD apresentou tendência a aumentar com o aumento das concentrações de lixiviado, porém, nenhuma diferença significativa ( $p < 0.05$ ) foi encontrada (SANG et al., 2010).

A atividade de CAT variou em função da concentração de lixiviado. Após 5 dias, mudas expostas a concentração de 50 % de lixiviado, atingiram a maior (50%) atividade enzimática dentre as demais concentrações, apresentando níveis 140% superiores ao controle negativo (SANG et al., 2010). A atividade de CAT reduziu com o aumento da concentração de 50 para 100%. Por outro lado, as mudas expostas por 10 dias apresentaram comportamento contrário, onde foi observada a redução da atividade de CAT com o aumento da concentração de lixiviado (SANG et al., 2010). Este fenômeno pode ser causado pelo acúmulo de  $H_2O_2$  no meio intracelular, excedendo a capacidade de metabolização de peróxido pela CAT, levando a inibição da atividade desta enzima (SANG et al., 2010).

A atividade de POX também foi induzida pelo aumento da concentração de lixiviado, atingindo os maiores níveis na exposição de 100 % (SANG et al., 2010). Em 5 dias de exposição, não foram observadas alterações na atividade das peroxidases até a concentração de 50% de lixiviado. No entanto, no tratamento com 100 % de lixiviado foi observado um aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de 155% em

relação ao controle (SANG et al., 2010). Já para mudas expostas durante 10 dias, foi observado aumento significativo ( $p < 0.05$ ) nos tratamentos de 20 a 100% de lixiviado, atingindo uma atividade 186% superior ao controle negativo na exposição mais alta (SANG et al., 2010).

Como o objetivo de observar a ocorrência do estresse oxidativo, em detrimento da possível falha do sistema antioxidante, o mesmo estudo determinou os níveis de MDA e o teor de proteínas carboniladas (PCO), indicativos diretos da peroxidação lipídica e do estresse oxidativo (SANG et al., 2010). Após 5 dias de exposição, os níveis de MDA não foram afetados significativamente pela exposição ao lixiviado, mas tenderam a diminuir entre as exposições de 2.5 e 10% (SANG et al., 2010). Após 10 dias de exposição, os níveis de MDA permaneceram inalterados até o tratamento de 10%, aumentando significativamente e de forma dependente da concentração a partir de 20% de exposição (SANG et al., 2010). Foi observado um aumento de 131% no tratamento com lixiviado bruto (100%) em relação ao controle negativo (SANG et al., 2010).

Em relação a carbonilação de proteínas, foi observado um aumento dependente da concentração a partir do tratamento com 5% de lixiviado, tanto em 5, quanto em 10 dias de exposição (SANG et al., 2010). O nível mais alto de PCO encontrado foi no tratamento com 100% de lixiviado, que atingiu níveis 149 e 185% superiores ao controle negativo, respectivamente para 5 e 10 dias de exposição (SANG et al., 2010). Por fim, os autores afirmam que esses resultados mostram que o lixiviado foi capaz de induzir danos oxidativos significativos, levando a peroxidação lipídica e a oxidação de proteínas no tecido foliar de *Zea mays*.

O crescimento da planta, a homeostase e a defesa contra o estresse estavam altamente relacionados à modulação controlada do nível das espécies reativas de oxigênio (EROs) (SANG et al., 2010). Uma vez que lipídios e proteínas de membrana são os alvos preferidos de EROs em plantas sob estresse ambiental, eles são considerados indicadores confiáveis de modulação controlada dos níveis de EROs e estresse oxidativo (SANG et al., 2010).

Portanto, segundo os autores, os níveis de MDA e o conteúdo de PCO variaram com o tempo de exposição e a concentração, assim os danos oxidativos não foram observados após o tratamento com menores concentrações de lixiviado, mas o estresse ocorreu e tornou-se significativo com o aumento da concentração (SANG et al., 2010).

Outro estudo que observou alterações nos níveis de MDA e espécies reativas de oxigênio (EROs) em *Zea mays*, foi descrito por Li et al. (2017). Exemplares de *Zea mays* foram expostos às concentrações de 2, 10, 20, 30 e 50% de um lixiviado proveniente de Taiwan, China, em dois estágios diferentes; o primeiro durante a imersão de sementes secas, previamente ao segundo estágio, o de germinação (LI et al., 2017).

Durante o processo de imersão, foi observada uma tendência de diminuição dos níveis de MDA no tratamento de 10% ( $p < 0.05$ ) e um aumento concentração-dependente a partir de 20% de lixiviado, sendo

apenas o tratamento de 50% de lixiviado com diferenças significativas em relação ao controle (LI et al., 2017). Os níveis de EROs apresentaram tendência semelhante a observada nos níveis de MDA, isto é, redução significativa nos tratamentos de 2 e 10% e aumento dependente da concentração a partir de 20% (LI et al., 2017).

Diferente do trabalho desenvolvido por Sang et al. (2010), Li et al. (2017) comprovou que a exposição de *Zea mays* ao lixiviado, foi capaz de gerar altos níveis de EROs no meio intracelular, levando ao estresse oxidativo dos organismos expostos, logo a produção excessiva dos níveis de EROs pode exceder a capacidade do sistema antioxidante e até inibir o sistema, resultando em danos significativos às estruturas celulares (LI et al., 2017). Além disso, EROs excessivos atacaram os lipídios e proteínas da membrana e a planta sofreu estresse oxidativo substancial (LI et al., 2017).

Manier et al. (2012) expôs a espécie *Trifolium repens* às concentrações de 25, 50 e 100% de um lixiviado coletado na França. Após 10 semanas de exposição, foi determinada a atividade de ascorbato peroxidase (APOX) e guaiacol peroxidase (GPOX) nos brotos e nas raízes de *T. repens* (MANIER et al., 2012). Foi observado um aumento significativo ( $p < 0.05$ ) na atividade de APOX nas raízes de *T. repens*. Esse aumento foi 1.3, 1.4 e 2 vezes superior ao controle negativo, respectivamente para os tratamentos de 25, 50 e 100%, caracterizando como um aumento dependente da concentração de lixiviado (MANIER et al., 2012). O mesmo não foi observado para os níveis de APOX nos brotos de *T. repens*. Nas concentrações de 25 e 100%, foi observado um aumento de 1.4 e 1.2 vezes em relação ao controle negativo, respectivamente. No entanto, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos e o controle, portanto, não foi possível verificar um aumento na atividade de APOX nos brotos de *T. repens* (MANIER et al., 2012). Em relação aos níveis de GPOX, foi observado um aumento da atividade na parte aérea dos vegetais, em 1.2 vezes na concentração de 25% sem diferença estatística (MANIER et al., 2012). A ausência de diferença estatística entre os tratamentos e o controle negativo também foi observada nas determinações da atividade de GPOX nas raízes, porém, deferentemente das determinações na parte aérea, foi observada uma tendência de aumento da atividade enzimática na concentração de 50% em 1.2 vezes (MANIER et al., 2012). O aumento na atividade de ambas as enzimas foi associado ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (MANIER et al., 2012).

Por meio dos trabalhos aqui apresentados, podemos verificar que o sistema vegetativo pode suportar ao estresse da exposição ao lixiviado em concentrações mais baixas, mas a capacidade de defesa do sistema antioxidante pode diminuir com o aumento da concentração do lixiviado (LI et al., 2017; SANG et al., 2010).

As atividades das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e GPx) foram testadas nas mesmas condições de tratamento. A SOD é uma classe de proteínas que contém metais e catalisa a dismutação de ânions do radical superóxido em  $H_2O_2$  e oxigênio molecular (ZHU et al., 2013; SANG et al., 2010). A elevada

atividade de SOD em plantas sugere que poluentes nas amostras de lixiviado induziram SOD a aumentar a geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ZHU et al., 2013; SANG et al., 2010).

Para a exposição de amostras de baixa concentração, com níveis mais baixos de poluentes, as células vegetais apresentaram efeito protetor endógeno, e as enzimas antioxidantes foram induzidas. Nestas condições, a CAT foi estimulada para eliminar o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que foi produzido. No entanto, com o aumento da concentração e do tempo de exposição, os níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foram maiores devido ao aumento do teor de poluentes, e ultrapassaram a capacidade de eliminação do CAT. Como resultado, a atividade da CAT foi inibida e ocorreram danos oxidativos (LI et al., 2017).

Diante disso, fica evidente que os estudos sobre os efeitos do lixiviado no sistema antioxidante de espécies vegetais está crescendo no meio científico, principalmente com o objetivo de associar a possível toxicidade com componentes específicos desse efluente. Além disso, a avaliação desse sistema permite que sejam observados efeitos subletais, ou seja, previamente a morte dos organismos expostos, e em concentrações mais baixas (SALES JUNIOR et al., 2021). Portanto, é importante determinar a ocorrência de danos oxidativos e as alterações nas atividades de enzimas antioxidantes em plantas para entender a tolerância do sistema vegetal ao estresse ambiental (MANIER et al., 2012; ARUNBABU et al., 2017).

## 7. CONCLUSÕES

O monitoramento da qualidade do lixiviado depende de análises químicas, medições estas que podem identificar os compostos presentes no lixiviado. No entanto, somente, os ensaios de ecotoxicidade são capazes de prever os efeitos biológicos que essas substâncias presentes no lixiviado podem causar na flora e fauna.

Quando observamos os organismos mais utilizados nos ensaios de ecotoxicidade, verificamos que os camundongos tiveram destaque, isso por que estes organismos têm órgãos e sistemas que desempenham funções semelhantes aos seres humanos. Com um comitê de ética bem estabelecido, e ensaios padronizados, se torna mais fácil o manuseio desses organismos em laboratório. Em se tratando do reino *Plantae*, a espécie mais utilizada foi *Allium cepa*, o ensaio com este organismo tem sido realizado desde 1938, atualmente com adaptações e padronização. O ensaio de *A. cepa*, desde que foi desenvolvido, tem sido amplamente utilizado na determinação dos efeitos citotóxicos e genotóxicos em vegetais, devido ao conhecimento da duração do seu ciclo celular e sua reação na presença de muitas substâncias.

Nos artigos que analisaram o efeito de citotoxicidade, somente um trabalho utilizou a minhoca como bioindicador, assim nesse estudo, foi observado que a exposição ao lixiviado resultou em alterações intracelulares, devido à redução significativa na densidade celular e viabilidade celular das minhocas.

Nos artigos que utilizaram as plantas, os pesquisadores analisaram as células picnóticas e verificaram que a exposição ao lixiviado produziram um dano citotóxico nas células com maior tempo de exposição, logo, o lixiviado é citotóxico para células vegetais.

Todos os estudos que investigaram o *endpoint* genotoxicidade, observaram que a exposição ao lixiviado induz aumentos nas frequências de micronúcleos, aberrações cromossômicas e diminui o índice mitótico tanto nos animais quanto nas plantas.

Baseado nos artigos analisados, concluiu-se que o lixiviado é capaz de gerar estresse oxidativo, acarretando a formação de espécies reativas de oxigênio, induzindo a atividade de catalase e superóxido dismutase. Por outro lado, foi observada a redução dos níveis de glutathione, indicando um possível efeito deletério no ciclo redox da glutathione. O sistema vegetativo é capaz de suportar ao estresse da exposição ao lixiviado em concentrações mais baixas, mas a capacidade de defesa do sistema antioxidante pode diminuir com o aumento da concentração do lixiviado.

Isto posto, conclui-se que baseado nos artigos analisados nessa revisão, foi possível verificar que o lixiviado causa citotoxicidade, genotoxicidade, e conseqüentemente o estresse oxidativo nos organismos expostos a esse efluente em diferentes concentrações.

## 8. APONTAMENTOS FUTUROS

No cenário mundial e com base nos resultados obtidos neste estudo, é crescente a preocupação com a toxicidade do lixiviado, mas torna-se necessário criar estratégias de baixo custo e eficazes para o tratamento do lixiviado antes deste chegar ao ambiente terrestre. Mais estudos com o *endpoint* citotoxicidade devem ser realizados para a melhor compreensão da ação do lixiviado em nível celular, assim como também se deve ampliar a realização de ensaios ecotoxicidade com diferentes organismos edáficos. É importante realizar uma revisão bibliográfica com outros *endpoints*, para melhor compreensão desse efluente em outros organismos terrestres. Com isso, seria possível realizar uma comparação entre os organismos terrestres e aquáticos.

Ensaio de ecotoxicidade em plantas, incluindo *Allium cepa*, *Vicia faba*, *Arabidopsis thaliana*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum* e *Tradescantia*, já são padronizados e têm vantagens para monitoramento e triagem *in vivo*. Mas como observado nesse trabalho de revisão, os estudos que utilizam plantas com bioindicadores ainda são minoria quando comparado com os estudos de outros animais, assim recomenda-se a utilização do reino *Plantae* e espécies neotropicais nos futuros estudos de ecotoxicidade com lixiviado.

## 9. REFERÊNCIAS

ABREU, C. H. M.; CUNHA, A. C. Qualidade da Água em Ecossistemas Aquáticos Tropicais Sob Impactos Ambientais no Baixo Rio Jari-AP: Revisão Descritiva. ***Biota Amazônia***, v. 5, n. 2, p. 119–131.

ABRELPE – Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais.

Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil – 2018, 2019, 2020 e 2021.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). NBR 8849/1985 Apresentação de projetos de aterros controlados de resíduos sólidos urbanos. 1985.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). NBR 8419/1992 Apresentação de projetos de aterros sanitário de resíduos sólidos urbanos. 1992.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). NBR 15537: ecotoxicologia terrestre: ecotoxicidade aguda: método de ensaio para minhocas. Rio de Janeiro, 2014.

AKINBOLA, T. I. et al. Hospital waste incinerator bottom ash leachate induced cyto-genotoxicity in *Allium cepa* and reproductive toxicity in mice. ***Toxicology and Industrial Health***, v. 27, n. 6, p. 505–514, 2011.

ALABI, O. A., & BAKARE, A. A. (2011). Genotoxicity and mutagenicity of electronic waste leachates using animal bioassays. ***Toxicological & Environmental Chemistry***, 93(5), 1073–1088. doi:10.1080/02772248.2011.561949

ALALARIBE, F. O .; AGAMUTHU, P. Nutrient value of landfill leachate on the growth of *Brassica rapa L.Malaysian*. ***Journal of Science.***, 29(2): 119-128(2010).

ALAM, Z. F., RIEGO, A. J. V., SAMSON, J. H. R. P., & VALDEZ, S. A. V. The assessment of the genotoxicity of e-waste leachates from e-waste dumpsites in Metro Manila, Philippines. ***International Journal of Environmental Science and Technology***. v.16, p.737-754, 2019. doi:10.1007/s13762-018-1719-6

ALIMBA, C. G.; BAKARE, A.; LATUNJI, C.A.; Municipal landfill leachates induced chromosome aberrations in rat bone marrow cells. ***African Journal of Biotechnology***. v. 5 n. 22 (2006)

ALIMBA, C. G.; BAKARE, A. A. In vivo micronucleus test in the assessment of cytogenotoxicity of landfill leachates in three animal models from various ecological habitats. ***Ecotoxicology***, v. 25, n. 2, p. 310–319, 2016.

APHA/AWWA/WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 23<sup>a</sup> ed.: ***American Public Health Association***, American Water Works Association, Water Environment Federation. EUA, 2017.

ARUNBABU, V.; INDU, K.S.; RAMASAMY, E.V. Leachate pollution index as an effective tool in determining the phytotoxicity of municipal solid waste leachate. **Waste Management**, v. 68, 2017, p. 329-336. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.012>.

BAKARE, A. A.; ADEYEMI A. O.; ADEYEMI, A.; ALABI, O. A.; OSIBANJO, O.; (2012) Cytogenotoxic effects of electronic waste leachate in *Allium cepa*. **Caryologia**, 65:2, 94-100, DOI: 10.1080/00087114.2012.709786

BADERNA, D. et al. A combined approach to investigate the toxicity of an industrial landfill's leachate: Chemical analyses, risk assessment and in vitro assays. **Environmental Research**, v. 111, n. 4, p. 603–613, 21 set. 2011.

BARSZCZ, L. B. BELLATO, F. C.; BENASSI, R. F.; MATHEUS, D. R. Avaliação ecotoxicológica de efluentes tratados por alagados construídos. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 24, n. 6, p. 1147–1156, dez. 2019.

BARBÉRIO, A.; Barros, L. ; Voltolini, J. C. ; MELLO, M. L. S. . Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the brazilian river Paraíba do Sul with the *Allium cepa* test. **Brazilian Journal of Biology** (Online) , v. 69, p. 837-842, 2009.

BARBOSA, K. B.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R DE C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição** [online]. 2010, v. 23, n. 4. pp. 629-643. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>>.

BARREIROS, A.L. B.S.; DAVID, J.P.J.M.; DAVID, J.P.J.M.; Estresse oxidativo: relação entre Geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, 29 (2006), pp. 113-123

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651–666, jun. 2007.

BORTOLOTTI, T.; BERTOLDO, J. B.; SILVEIRA, F. Z.; DEFAVERI, T. M.; SILVANO, J.; PICH, C.T.; Evaluation of the toxic and genotoxic potential of landfill leachates using bioassays. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 28, n.2, 2009, p. 288-293. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.05.007>.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–54, 1976.

BRASIL. Lei 12.305. Política Nacional de Resíduos Sólidos. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. 2010 a. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=636>>. Acesso em: 5 jun. 2020.

BRKANAC SR, VUJČIĆ V, CVJETKO P, BAKOVIĆ V, OREŠČANIN V. Removal of landfill leachate toxicity and genotoxicity by two treatment methods. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2014 Mar; 65(1):89-99. doi: 10.2478/10004-1254-65-2014-2431.

\_\_\_\_\_. Resolução CONAMA no 357. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2005.

\_\_\_\_\_. Resolução CONAMA nº 430. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente -CONAMA. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2011.

CABRERA, G.L.; RODRIGUEZ, D.M.G.; Genotoxicity of leachates from a landfill using three bioassays. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. v. 426, n. 2,1999, p. 207-210. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(99\)00069-X](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(99)00069-X).

CANDELLO, F.P.; GUIMARÃES, J.R.; NOUR, E.A.A. *Earthworm avoidance* behavior to antimicrobial sulfadiazine on tropical artificial soil. *Ecotoxicology And Environmental Contamination*, v. 13, p. 69-75, 2018.

CETRULO, T. B. MARQUES, R. C.; CETRULO, N. M.; PINTO, F. S.; MOREIRA, R. M.; MENDIZÁBAL-CORTÉS, A. D.; MALHEIROS, T. F.; Effectiveness of solid waste policies in developing countries: A case study in Brazil. *Journal of Cleaner Production*, v. 205, p. 179– 187, dez. 2018.

CHANDRA, S.; CHAUHAN, L.K.S.; MURTHY, R.C.; SAXENA, P.N.; PANDE, P.N.; GUPTA, S.K.; Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. *Science of The Total Environment*, v. 347, n. 1–3, 2005, p. 46-52. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.01.002>.

CHAMORRO, S.; BARATA, C.; PIÑA, B.; CASADO, M.; SCHWARZ, A.; SÁEZ, K.; VIDAL, G. Toxicological analysis of acid mine drainage by water quality and land use bioassays. *Mine Water Environment*, v 37, p. 88 – 97. 2018.

CHELLIAPAN, S.; ARUMUGAM, N.; MD. DIN, M. F.; KAMYAB, H.; EBRAHIMI, S. S.; Chapter 11 - Anaerobic treatment of municipal solid waste landfill leachate. In: SINGH, L.; YOUSUF, A.; MAHAPATRA, D. M. (Eds.). **Bioreactors**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 175–193.

CHEN, Y.-C. Effects of urbanization on municipal solid waste composition. **Waste Management**, v. 79, p. 828–836, set. 2018.

CHOU, P.H.; LIN, Y. L.; CHEN, K. Y.; Exploring potential contributors to endocrine disrupting activities in Taiwan's surface waters using yeast assays and chemical analysis. **Chemosphere**, v. 138, p. 814–820, 1 nov. 2015.

CHOLEWA, J.; GRAHAM, P. F.; REILLY, M. O'.; STĄŻRZENBAUM, S. R.; MORGAN, A. J.; PŁYTYCZ, B.; Autofluorescence in eleocytes of some earthworm species. **Folia Histochemica et Cytobiologica**, v. 44, n.1, p. 1897-5631, 2006.

COLOMBO, A.; MÓDENES, A. N.; TRIGUEROS, D. E. G.; DE MEDEIROS, B. L.; MARIN, P.; MONTE BLANCO, S. P. D.; HINTERHOLZ, C. L.; Toxicity evaluation of the landfill leachate after treatment with photo-Fenton, biological and photo-Fenton followed by biological processes. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 54, n. 4, p. 269–276, 21 mar. 2019.

CORREIA, V. M. S.; DE AQUINO, M. D.; THOMAZ, A. C. F.; CORREIA, M. L. V.; Estudo de caso: aspectos e impactos perceptíveis na localização de lixões municipais utilizando a ferramenta M-MACBETH. **Revista DAE**, v. 66, n. 211, p. 35–49, 2018.

CORRÊA, B. R.; PASSOS, B. V.; RODRIGUES, D. J. D.; NARDEZ, E.; CAMARGO, I. F.; OLIVEIRA, M. B.. Aterro controlado em Presidente Prudente (SP). **Revista Geografia em Atos** (GeoAtos online), n. 14, v. 7, p. 203-221, 2019.

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

COSTA, T. G. A.; IWATA B. D. F.; DE CASTRO, C. P.; COELHO, J. V.; CLEMENTINO G. E. D S.; CUNHA L. M.; Impactos ambientais de lixão a céu aberto no Município de Cristalândia, Estado do Piauí, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, v. 3, n. 4, p. 79, 2016.

COSTA, A. M.; ALFAIA, R. G. DE S. M.; CAMPOS, J. C. Landfill leachate treatment in Brazil – An overview. **Journal of Environmental Management**, v. 232, p. 110–116, 2019.

COSTA, I. M.; FERREIRA DIAS, M. Evolution on the solid urban waste management in Brazil: A portrait of the Northeast Region. **Energy Reports**, The 6th International Conference on Energy and Environment Research - Energy and environment: challenges towards circular economy. v. 6, p. 878–884, 1 fev. 2020.

CUNHA, D. L. DA.; MUYLAER, S.; NASCIMENTO, M. T. L.; DA SILVA, G. G. M.; FONSECA, E. M.; BILA, D. M.; SARCINELLI, P. N.; LARENTIS, A. L.; Atividade estrogênica de desreguladores endócrinos em águas superficiais do município de Santa Maria Madalena, Sudeste do Brasil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 26, n. 1, p. 21–28, fev. 2021.

DE OLIVEIRA MESQUITA, F.; PEDROSA, D. F.; BATISTA, O. R.; ANDRADE, E. M. Translocation factor of heavy metals by *elephant grass* grown with varying concentrations of landfill leachate. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 32, p. 43831–43841, 1 ago. 2021.

DE PAULI, A. R.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; DALL’OGLIO, I. C.; TRIGUEROS, D. E. G.; New insights on abatement of organic matter and reduction of toxicity from landfill leachate treated by the electrocoagulation process. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 6, p. 5448–5459, 1 dez. 2017.

ENVIRONMENT CANADA – Biological test methods. Test for measuring emergence and growth of terrestrial plants exposed to contaminants in soils. **Environmental Protection Series**, EPS 1/RM/45. Ottawa, Ontario, 159 p. 2005b.

EVSEEVA, T. I.; GERAS’KIN, S. A.; SHUKTOMOVA I. I.; Genotoxicity and toxicity assay of water sampled from a radium production industry storage cell territory by means of *Allium*-test. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 68, n. 3, 2003, p. 235-248, ISSN 0265-931X, [https://doi.org/10.1016/S0265-931X\(03\)00054-7](https://doi.org/10.1016/S0265-931X(03)00054-7).

FERREIRA, A.L.A.; E MATSUBARA, L.S.; Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira** [online]. 1997, v. 43, n. 1. pp. 61-68. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0104-42301997000100014>>. Epub 23 Out 2000. ISSN 1806-9282. <https://doi.org/10.1590/S0104-42301997000100014>.

FISKESJÖ, G. *Allium* Test for Screening Chemicals: Evaluation of Cytologic Parameters. In W. Wang, J. W. Gorsuch, & J. S. Hughes (Eds.), **Plants for Environmental Studies** (pp. 308-333). (1997). Boca Raton, New York: CRC Lewis Publishers. <http://dx.doi.org/10.1201/9781420048711.ch11>

FENG S.; WANG, X.; WEI, G.; PENG P.; YANG Y.; CAO Z.; Leachates of municipal solid waste incineration bottom ash from Macao: Heavy metal concentrations and genotoxicity. **Chemosphere**, v. 67, n. 6, 2007, p. 1133-1137, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.11.030>.

FONSECA, M. D.; CARVALHO, G. C.; CORRÊA, M. M.; DE HOLANDA, R. M.; Os riscos relacionados ao ambiente e à atividade de coleta de resíduos sólidos urbanos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 5, p. 96–100, 2013.

FRANCO, H. A.; MARQUES, M. R. C. ; MARTINS, G. M. O. ; MUSSEL, Y. L. ; THODE FILHO, S. Ecotoxicological evaluation of the application of landfill leachate on the germination of cabbage (*Brassica oleracea var. capitata*). **Revista Eletrônica Em Gestão, Educação E Tecnologia Ambiental**, v. 21, p. 45, 2017.

FRANCO, H. A.; THODE FILHO, S.; PEREZ, D. V.; MARQUES, M. R. DA C. Avaliação do potencial de impacto do lixiviado de Aterro sanitário sobre organismos aquáticos. **Gaia Scientia**, v. 12, n. 3, 28 dez. 2018.

GAJSKI, G.; OREŠČANIN, V.; GARAJ-VRHOVAC, V. Chemical composition and genotoxicity assessment of sanitary landfill leachate from Rovinj, Croatia. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 78, p. 253–259, 1 abr. 2012.

GARBO, F.; PIVATO, A.; MANACHINI, B.; MORETTO, C. G.; LAVAGNOLO, M. C.; Assessment of the ecotoxicity of phytotreatment substrate soil as landfill cover material for insitu leachate management. **Journal of Environmental Management**, v. 231, p. 289–296, fev. 2019.

GODECKE, M. V.; NAIME, R. H.; FIGUEIREDO, J. A. S. O consumismo e a geração de resíduos sólidos urbanos no Brasil. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 8, n. 8, p. 1700–1712, 11 jan. 2013.

GHOSH, P.; GUPTA, A.; THAKUR, I. S. Combined chemical and toxicological evaluation of leachate from municipal solid waste landfill sites of Delhi, India. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 12, p. 9148–9158, jun. 2015.

GHOSH, P.; THAKUR, I. S.; KAUSHIK, A. Bioassays for toxicological risk assessment of landfill leachate: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 141, p. 259–270, jul. 2017a.

GHOSH, P.; THAKUR, I. S.; KAUSHIK, A. Bioassays for toxicological risk assessment of landfill leachate: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 141, p. 259–270, 1 jul. 2017b.

GOMES, G. Avaliação dos fatores de interferência no ensaio in vitro Yeast Estrogen Screen (YES) para análise de estrogénicidade em amostras ambientais, compostos orgânicos e misturas. 2020.p.161 Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - **Universidade do Estado do Rio de Janeiro** (UERJ).

GOUVEIA, N. Resíduos sólidos urbanos: impactos socioambientais e perspectiva de manejo sustentável com inclusão social. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 6, p. 1503–1510, jun. 2012.

HUSSEIN, M.; YONEDA, K.; MOHD. ZAKI, Z.; OTHMAN, N'A.; AMIR, A. Leachate characterizations and pollution indices of active and closed unlined landfills in Malaysia. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 12, p. 100232, 1 dez. 2019.

IBOR, O. R.; ANDEM AB, ENI G, ARONG GA, ADEOUGN AO, ARUKWE A. Contaminant levels and endocrine disruptive effects in *Clarias gariepinus* exposed to simulated leachate from a solid waste dumpsite in Calabar, Nigeria. **Aquatic Toxicology**, v. 219, p. 105375, 1 fev. 2020.

JANSE, J. H.; KUIPER, J.J.; WEIJTERS, M.J.; WESTERBEEK, E.P.; JEUKEN, M.H.J.L.; BAKKENES, M.; ALKEMADE, R.; MOOIJ, W.M.; VERHOEVEN, J.T.A.; GLOBIO-Aquatic, a global model of human impact on the biodiversity of inland aquatic ecosystems. **Environmental Science & Policy**, v. 48, p. 99–114, 1 abr. 2015.

JÓŹWIAK M.M.A., KOŹŁOWSKI R., ŹELEZIK M. Zooremediation of leachates from municipal waste using *Eisenia fetida* (SAV.) **Environ. Pollut.**, 254 (2019), p. 112871, 10.1016/j.envpol.2019.07.039.

KHALIL C.; HAGEH, C. A.; KORFALI S. I.; KHNAYZER, R. S.; Municipal leachates health risks: Chemical and cytotoxicity assessment from regulated and unregulated municipal dumpsites in Lebanon, **Chemosphere**, v. 208, 2018, p 1-13, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.151>.

KLAUCK, C.R, RODRIGUES, M.A.S, SILVA, L.B. Evaluation of phytotoxicity of municipal landfill leachate before and after biological treatment. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 2, p. 57–62, maio 2015.

KJELDSEN, P.; CHRISTOPHERSEN, M. Composition of leachate from old landfills in Denmark. **Waste Management & Research**, v. 19, n. 3, p. 249–256, 1 jun. 2001.

KUREK, A.; HOMA, J.; KAUSCHKE, E.; PLYTYCZ, B.; Characteristics of coelomocytes of the stubby earthworm, *Allolobophora chlorotica* (Sav.) **Eur. J. Soil Biol.**, 43 (2007), pp. S121-S126, 10.1016/j.ejsobi.2007.08.051

KWASNIEWSKA, J., NAŁĘCZ-JAWECKI, G., SKRZYPCZAK, A., PŁAZA, G.A., MATEJCZYK, M.; An assessment of the genotoxic effects of landfill leachates using bacterial and plant tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 75, 2012, p. 55-62, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.08.020>.

LANGE, C. N. Contaminação do solo e mobilidade de AS, CD, MO, PB ZN em colunas de solo franco arenoso com cinza de carvão. (Mestrado em Tecnologia Nuclear)--- **Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares**, 2012.

LESTARI, P.; TRIHADININGRUM, Y. The impact of improper solid waste management to plastic pollution in Indonesian coast and marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 149, p. 110505, 1 dez. 2019.

LI, G.; SANG, N.; WANG, Q.; Oxidative damage induced in brains and livers of mice by landfill leachate. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 65, n. 1, 2006, p. 134-139. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.06.011>.

LI, G.; SANG, N.; GUO, D.; Oxidative damage induced in hearts, kidneys and spleens of mice by landfill leachate, **Chemosphere**, v. 65, n. 6, 2006, p. 1058-1063, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.02.056>.

LI, G. et al. Effect of landfill leachate on cell cycle, micronucleus, and sister chromatid exchange in *Triticum aestivum*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 155, n. 1–2, p. 10–16, 26 jun. 2008.

LI, G.; CHEN J.; YAN, W.; SANG, N.; A comparison of the toxicity of landfill leachate exposure at the seed soaking and germination stages on *Zea mays L.* (maize). **Journal of Environmental Sciences**, v. 55, 2017, p. 206-213. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.06.031>.

LI, H.; HAN, M.; HOU, L.; LI, G.; SANG, N.; Landfill leachate ingestion induces protein oxidation and DNA–protein crosslinks in mouse viscera. **Journal of Hazardous Materials**. v. 174, n. 1–3, 2010, p. 54-58. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.09.015>.

LOURENÇO, JI.; PEREIRA, RO.; SILVA, AC.; MORGADO, JM.; CARVALHO, FP.; OLIVEIRA, JM.; MALTA, MP.; PAIVA, AA.; MENDO, AS.; GONÇALVES, FJ.; Genotoxic endpoints in the earthworms sub-lethal assay to evaluate natural soils contaminated by metals and radionuclides. **Journal of Hazardous Materials** 186 (2011) 788–795.

LUO, H.; ZENG Y.; CHENG Y.; HE D.; PAN, X.; Recent advances in municipal landfill leachate: A review focusing on its characteristics, treatment, and toxicity assessment. **Science of The Total Environment**, v. 703, p. 135468, 10 fev. 2020.

MAGALHAES, D.; FERRÃO-FILHO, A.; A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **O ecologia Brasiliensis**, ISSN 1981-9366, Vol. 12, Nº. 3, 2008 (Ejemplar dedicado a: Monitoramento biológico em ecossistemas aquáticos continentais), v. 12, 1 out. 2008.

MAIA, I. S.; RESTREPO, J. J. B.; CASTILHOS JUNIOR, A. B. D.; DE FRANCO, D.; Avaliação do tratamento biológico de lixiviado de aterro sanitário em escala real na Região Sul do Brasil.

**Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 20, n. 4, p. 665–675, dez. 2015.

MANNARINO, C. F.; MOREIRA J.C.; FERREIRA, J.A.; ARIAS, A.R.; Assessment of impacts of combined treatment of solid urban waste landfill leachate and sewage on aquatic biota.

**Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 11, p. 3235–3243, nov. 2013.

MANIER, N., BRULLE, F., CURIEUX, F. LE, VANDENBULCKE, F., DERAM, A.; Biomarker measurements in *Trifolium repens* and *Eisenia fetida* to assess the toxicity of soil contaminated with landfill leachate: A microcosm study, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 80, p. 339-348, 2012, ISSN 0147-6513.

MARIA, M. A.; LANGE, L. C.; Caracterização de lixiviado de aterro sanitário e industrial. **Hydro** (São Paulo), v. 76, p. 48-53, 2013.

MARQUES, T. C. L. L. de S. e M.; SOARES, Â. M. Antioxidant system of ginseng under stress by cadmium. **Scientia Agricola** [online]. 2011, v. 68, n. 4. pp. 482-488. Epub 22 Sept 2011. ISSN 1678-992X. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162011000400014>.

MARTINS, C. L.; CASTILHOS JÚNIOR, A. B. DE; COSTA, R. H. R. DA. Desempenho de sistema de tratamento de lixiviado de aterro sanitário com recirculação do efluente. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 15, n. 4, p. 401–410, dez. 2010.

MISHRA, S.; TIWARY, D.; OHRI, A.; AGNIHOTRI, A. K.; Impact of Municipal Solid Waste Landfill leachate on groundwater quality in Varanasi, India. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 9, p. 100230, out. 2019.

MOR, S.; RAVINDRA, K.; DAHIYA, R.P.; CHANDRA, A.; Leachate Characterization and Assessment of Groundwater Pollution Near Municipal Solid Waste Landfill Site. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 118, n. 1, p. 435–456, 1 jul. 2006.

NASCIMENTO, V. F.; SOBRAL, A. C.; DE ANDRADE, P. R.; OMETTO J. P. H. B.; Development and challenges in Brazilian municipal solid waste management. *Revista Ambiente & Água*, v. 10, n. 4, p. 889–902, dez. 2015.

NIEMEYER, J. C.; CHELINHO, S.; SOUSA, J. P. Soil ecotoxicology in Latin America: current research and perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 36, n. 7, 1795-1810, 2017. DOI: 10.1002/etc.3792.

NIVA, C. C. Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas / Cintia Carla Niva, George Gardner Brown, editores técnicos. – Brasília, DF : *Embrapa*, 2019.

OGUNLAJA, A.; ABARIKWU, S. O.; OTUECHERE, C. A.; OSHORO, O. O.; Characterization of leachates from waste landfill sites in a religious camp along Lagos-Ibadan expressway, Nigeria and its hepatotoxicity in rats. *Chemosphere*, v. 217, 2019, p. 636-645. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.042>.

OLIVEIRA, S. DE; PASQUAL, A. Evaluation of indicative parameters of pollution for liquid effluent of a sanitary landfill. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 9, n. 3, p. 240–249, set. 2004.

OLIVERO-VERBEL, J.; PADILLA-BOTTET, C.; DE LA ROSA, O. Relationships between physicochemical parameters and the toxicity of leachates from a municipal solid waste landfill. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 70, n. 2, p. 294–299, 1 jun. 2008.

PESCI PEREIRA, C.; PEREIRA, C. T.; GOMES, G.; QUINTAES, R. B.; BILA, D. M.; CAMPOS, J. C.; Evaluation of reduction estrogenic activity in the combined treatment of landfill leachate and sanitary sewage. *Waste Management*, v. 80, p. 339–348, out. 2018.

PRZYDATEK, G. The analysis of the possibility of using biological tests for assessment of toxicity of leachate from an active municipal landfill. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 67, p. 94–101, abr. 2019.

RAMOS, N. F.; GOMES, J. C. ; CASTILHOS JR, A. B. ; GOURDON, R. . Desenvolvimento de ferramenta para diagnóstico ambiental de lixões de resíduos sólidos urbanos no Brasil. *Engenharia Sanitária E Ambiental* (ONLINE), v. 22, p. 1233-1241, 2017.

REN, Y.; FERRAZ, F.M.; YUAN, Q.; Landfill Leachate Treatment Using Aerobic Granular Sludge. **Journal of Environmental Engineering** v. 143, p. 1-7, 2017.

RIBÉ, V. et al. Ecotoxicological assessment and evaluation of a pine bark biosorbent treatment of five landfill leachates. **Waste Management**, v. 32, n. 10, p. 1886–1894, out. 2012.

RIBEIRO, E. F.; BUSS, M. V.; MENEZES, J. C. S. DOS S. Tratamento do chorume de aterro de resíduos sólidos urbanos utilizando um coagulante à base de Tanino, tratamento biológico e ozonização. **Revista de Engenharia Civil IMED**, v. 2, n. 2, p. 37–42, 1 set. 2015.

ROVER JÚNIOR, L., HOEHR, F.N., VELLASCO, P.A., KUBOTA, T.L. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova** [online]. 2001, v. 24, n. 1 pp. 112-119. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000100019>>.

SACKEY, L. N. A.; KOČÍ, V.; VAN GESTEL, C. A. M. Ecotoxicological effects on *Lemna minor* and *Daphnia magna* of leachates from differently aged landfills of Ghana. **Science of The Total Environment**, v. 698, p. 134295, 1 jan. 2020.

SALES JUNIOR, S. F.; AMARAL, I. C. C.; MANNARINO, C. F.; HAUSER-DAVIS, R.A; TAVEIRA PARENTE, C. E. ; CORREIA, F. V. ; SAGGIORO, E. M. Long-term landfill leachate exposure modulates antioxidant responses and causes cyto-genotoxic effects in *Eisenia andrei* earthworms. **Environmental Pollution**, v. 287, p. 117351, 2021.

SANG, N.; LI, G.; Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. v. 560, n. 2, 2004, p. 159-165, <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2004.02.015>.

SANG, N; LI, G.; Chromosomal aberrations induced in mouse bone marrow cells by municipal landfill leachate. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 20, l. 1, 2005, p. 219-224, <https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.02.001>.

SANG, N.; LI, G.; XIN, X. Municipal landfill leachate induces cytogenetic damage in root tips of *Hordeum vulgare*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 63, n. 3, p. 469–473, 2006.

SANG, N.; HAN, M.; LI, G.; HUANG, M.; Landfill leachate affects metabolic responses of *Zea mays* L. seedlings. **Waste Management**, v. 30, n. 5, 2010, p. 856-862. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.01.023>.

SCOTT, J. BEYDOUN, D.; AMAL, R.; LOW, G.; CATTLE, J.; Landfill Management, Leachate Generation, and Leach Testing of Solid Wastes in Australia and Overseas. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 35, n. 3, p. 239–332, 23 mar. 2005.

SEIBERT, D.; QUESADA, H.; BERGAMASCO, R.; BORBA, F. H.; PELLEZ, L.; Presence of endocrine disrupting chemicals in sanitary landfill leachate, its treatment and degradation by Fenton based processes: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 131, p. 255–267, nov. 2019.

SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C.; DUFRAYER, M. C.; MOREIRA, J.C.; PAUMGARTTEN, F.J.; Toxicity Evaluation of a Municipal Dump Leachate Using *Zebrafish* Acute Tests. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 64, n. 1, p. 107–113, 1 jan. 2000.

SRIVASTAVA, A. K., KUMAR, R. R., & SINGH, A. K. Cell cycle stage specific application of municipal landfill leachates to assess the genotoxicity in root meristem cells of barley (*Hordeum vulgare*). **Environmental Science and Pollution Research**, 21(24), 2014, 13979–13986. doi:10.1007/s11356-014-3298-5

STAVREVA, D. A., COLLINS, M., MCGOWAN, A., VARTICOVSKI, L., RAZIUDDIN, R., BRODY, D. O., ZHAO, J., LEE, J., KUEHN, R., DEHARENG, E., MAZZA, N., PEGORARO, G., HAGER, G. L., Mapping multiple endocrine disrupting activities in Virginia rivers using effect-based assays. **Science of The Total Environment**, v. 773, p. 145602, jun. 2021.

SUZUKI, L. Y.; BATISTA, A. D.; KURODA, E. K. Estudos ecotoxicológicos de lixiviado de aterro sanitário antes e após várias etapas do tratamento. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 9, n. 11, 10 nov. 2013.

TEWARI A, GUPTA S.K.; DNA damage in bone marrow and blood cells of mice exposed to municipal sludge leachates. **Environ Mol Mutagen**. 2006 May; 47(4):271-6. doi: 10.1002/em.20203.

TOUFEXI, E. et al. Environmental and human risk assessment of landfill leachate: An integrated approach with the use of cytotoxic and genotoxic stress indices in mussel and human cells. **Journal of Hazardous Materials**, v. 260, p. 593–601, set. 2013.

TSARPALI V, DAILIANIS S. Investigation of landfill leachate toxic potency: an integrated approach with the use of stress indices in tissues of mussels. ***Aquat Toxicol.*** 2012 Nov 15;124-125:58-65. doi: 10.1016/j.aquatox.2012.07.008. Epub 2012 Jul 31. PMID: 22898235.

UNITED NATIONS. *World Population Prospects 2019 - Volume II: Demographic Profiles.* [s.l.] UN, 2020.

VIEIRA, C.; DROSTE, A.; Biomonitoring to evaluate the toxic potential of urban solid waste landfill leachate. ***Revista Ambiente & Água*** [online]. 2019, v. 14, n. 2 Available from: <<https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2326>>. Epub 01 Apr 2019.

ZEGZOUTI, Y.; AGUELMOUS, A.; KHADRA, A.; BOUTAFDA, A.; EL FELS, L.; HASSANI, L. A. I.; HADEK, M. EL.; HAFIDI, M.; Genotoxicity evaluation of different types of leachate treated with *Aspergillus flavus* using *Vicia faba* micronucleus. ***Environmental Technology & Innovation.*** v. 18, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100656>.

ZHU, N., KU T., LI, G., SANG, N. Evaluating biotoxicity variations of landfill leachate as penetrating through the soil column. ***Waste Management,*** v. 33, n. 8, 2013. Pages 1750-1757, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.02.018>.

APÊNDICE A – Listagem dos artigos encontrados no levantamento bibliográfico

- ALABI, O. A., & BAKARE, A. A. (2011). Genotoxicity and mutagenicity of electronic waste leachates using animal bioassays. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 93(5), 1073–1088. doi:10.1080/02772248.2011.561949
- ALAM, Z. F., RIEGO, A. J. V., SAMSON, J. H. R. P., & VALDEZ, S. A. V. The assessment of the genotoxicity of e-waste leachates from e-waste dumpsites in Metro Manila, Philippines. *International Journal of Environmental Science and Technology*. v.16, p.737-754, 2019. doi:10.1007/s13762-018-1719-6
- ALIMBA, C. G.; BAKARE, A.; LATUNJI, C.A.; Municipal landfill leachates induced chromosome aberrations in rat bone marrow cells. *African Journal of Biotechnology*. v. 5 n. 22 (2006)
- ALIMBA, C. G.; BAKARE, A. A. In vivo micronucleus test in the assessment of cytogenotoxicity of landfill leachates in three animal models from various ecological habitats. *Ecotoxicology*, v. 25, n. 2, p. 310–319, 2016.
- AKINTUNDE, J. K.; OBOH, G.; AKINDAHUNSI, A. A.; Testicular membrane lipid damage by complex mixture of leachate from municipal battery recycling site as indication of idiopathic male infertility in rat. *Interdiscip Toxicol*. 2013; Vol. 6(4): 192–197. doi: 10.2478/intox-2013-0028
- AKINBOLA, T. I. et al. Hospital waste incinerator bottom ash leachate induced cyto-genotoxicity in *Allium cepa* and reproductive toxicity in mice. *Toxicology and Industrial Health*, v. 27, n. 6, p. 505–514, 2011.
- ARUNBABU, V.; INDU, K.S.; RAMASAMY, E.V. Leachate pollution index as an effective tool in determining the phytotoxicity of municipal solid waste leachate. *Waste Management*. v. 68, 2017, p. 329-336. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.012>.
- BAKARE, A. A.; ADEYEMI A. O.; ADEYEMI, A.; ALABI, O. A.; OSIBANJO, O.; (2012) Cytogenotoxic effects of electronic waste leachate in *Allium cepa*. *Caryologia*, 65:2, 94-100, DOI: 10.1080/00087114.2012.709786.
- BORTOLOTTO, T.; BERTOLDO, J. B.; SILVEIRA, F. Z.; DEFAVERI, T. M.; SILVANO, J.; PICH, C.T.; Evaluation of the toxic and genotoxic potential of landfill leachates using bioassays. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 28, n.2, 2009, p. 288-293. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.05.007>.

CABRERA, G.L.; RODRIGUEZ, D.M.G.; Genotoxicity of leachates from a landfill using three bioassays. ***Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis***. v. 426, n. 2, 1999, p. 207-210. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(99\)00069-X](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(99)00069-X).

CHANDRA, S.; CHAUHAN, L.K.S.; MURTHY, R.C.; SAXENA, P.N.; PANDE, P.N.; GUPTA, S.K.; Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. ***Science of The Total Environment***, v. 347, n. 1–3, 2005, p. 46-52. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.01.002>.

FENG S.; WANG, X.; WEI, G.; PENG P.; YANG Y.; CAO Z.; Leachates of municipal solid waste incineration bottom ash from Macao: Heavy metal concentrations and genotoxicity. ***Chemosphere***, v. 67, n. 6, 2007, p. 1133-1137, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.11.030>.

KWASNIEWSKA, J., NAŁĘCZ-JAWECKI, G., SKRZYPCZAK, A., PŁAZA, G.A., MATEJCZYK, M.; An assessment of the genotoxic effects of landfill leachates using bacterial and plant tests. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, v. 75, 2012, p. 55-62, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.08.020>.

LI, G.; SANG, N.; WANG, Q.; Oxidative damage induced in brains and livers of mice by landfill leachate. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, v. 65, n. 1, 2006, p. 134-139. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.06.011>.

LI, G.; SANG, N.; GUO, D.; Oxidative damage induced in hearts, kidneys and spleens of mice by landfill leachate, ***Chemosphere***, v. 65, n. 6, 2006, p. 1058-1063, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.02.056>.

LI, G. et al. Effect of landfill leachate on cell cycle, micronucleus, and sister chromatid exchange in *Triticum aestivum*. ***Journal of Hazardous Materials***, v. 155, n. 1–2, p. 10–16, 26 jun. 2008.

LI, H.; HAN, M.; HOU, L.; LI, G.; SANG, N.; Landfill leachate ingestion induces protein oxidation and DNA–protein crosslinks in mouse viscera. ***Journal of Hazardous Materials***. v. 174, n. 1–3, 2010, p. 54-58. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.09.015>.

LI, G.; CHEN J.; YAN, W.; SANG, N.; A comparison of the toxicity of landfill leachate exposure at the seed soaking and germination stages on *Zea mays L.* (maize). ***Journal of Environmental Sciences***, v. 55, 2017, p. 206-213. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.06.031>.

MANIER, N., BRULLE, F., CURIEUX, F. LE, VANDENBULCKE, F., DERAM, A.; Biomarker measurements in *Trifolium repens* and *Eisenia fetida* to assess the toxicity of soil contaminated with landfill leachate: A microcosm study, ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, v. 80, p. 339-348, 2012, ISSN 0147-6513.

NA ROI-ET, V.; CHIEMCHAISRI, W.; CHIEMCHAISRI, C.; YAMAMOTO, K.; (2012). Assessment of genotoxicity of landfill leachate by comet assay using golden pothos (*Epipremnum aureum*). ***International Journal of Environmental Technology and Management***, 15(3/4/5/6), 247. doi:10.1504/ijetm.2012.049226

OGUNLAJA, A.; ABARIKWU, S. O.; OTUECHERE, C. A.; OSHORO, O. O.; Characterization of leachates from waste landfill sites in a religious camp along Lagos-Ibadan expressway, Nigeria and its hepatotoxicity in rats. ***Chemosphere***, v. 217, 2019, p. 636-645. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.042>.

SALES JUNIOR, S. F.; AMARAL, I. C. C.; MANNARINO, C. F.; HAUSER-DAVIS, R.A; TAVEIRA PARENTE, C. E. ; CORREIA, F. V. ; SAGGIORO, E. M. Long-term landfill leachate exposure modulates antioxidant responses and causes cyto-genotoxic effects in *Eisenia andrei* earthworms. ***Environmental Pollution***, v. 287, p. 117351, 2021.

SANG, N.; LI, G.; Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba*. ***Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis***. v. 560, n. 2, 2004, p. 159-165, <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2004.02.015>.

SANG, N; LI, G.; Chromosomal aberrations induced in mouse bone marrow cells by municipal landfill leachate. ***Environmental Toxicology and Pharmacology***, v. 20, l. 1, 2005, p. 219-224, <https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.02.001>.

SANG, N.; LI, G.; XIN, X. Municipal landfill leachate induces cytogenetic damage in root tips of *Hordeum vulgare*. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, v. 63, n. 3, p. 469–473, 2006.

SANG, N.; HAN, M.; LI, G.; HUANG, M.; Landfill leachate affects metabolic responses of *Zea mays* L. seedlings. ***Waste Management***. v. 30, n. 5, 2010, p. 856-862. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.01.023>.

SRIVASTAVA, R., TEWARI, A., CHAUHAN, L. K. S., KUMAR, D., GUPTA, S. K. Ecotoxicological Evaluation of Municipal Sludge. ***Alternatives to Laboratory Animals***, 33(1), 2005, 21–27.

doi:10.1177/026119290503300105

SRIVASTAVA, A. K., KUMAR, R. R., & SINGH, A. K. Cell cycle stage specific application of municipal landfill leachates to assess the genotoxicity in root meristem cells of barley (*Hordeum vulgare*). ***Environmental Science and Pollution Research***, 21(24), 2014, 13979–13986. doi:10.1007/s11356-014-3298-5 .

KHALIL C.; HAGEH, C. A.; KORFALI S. I.; KHAYZER, R. S.; Municipal leachates health risks: Chemical and cytotoxicity assessment from regulated and unregulated municipal dumpsites in Lebanon, ***Chemosphere***, v. 208, 2018, p 1-13, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.151>.

TEWARI A, GUPTA S.K.; DNA damage in bone marrow and blood cells of mice exposed to municipal sludge leachates. ***Environ Mol Mutagen***. 2006 May; 47(4):271-6. doi: 10.1002/em.20203.

VIEIRA, C.; DROSTE, A.; Biomonitoring to evaluate the toxic potential of urban solid waste landfill leachate. ***Revista Ambiente & Água*** [online]. 2019, v. 14, n. 2 Available from: <<https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2326>>. Epub 01 Apr 2019.

ZEGZOUTI, Y.; AGUELMOUS, A.; KHADRA, A.; BOUTAFDA, A.; EL FELS, L.; HASSANI, L. A. I.; HADEK, M. EL.; HAFIDI, M.; Genotoxicity evaluation of different types of leachate treated with *Aspergillus flavus* using *Vicia faba* micronucleus. ***Environmental Technology & Innovation***. v. 18, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100656>.

ZHU, N., KU T., LI, G., SANG, N. Evaluating biotoxicity variations of landfill leachate as penetrating through the soil column. ***Waste Management***, v. 33, n. 8, 2013. Pages 1750-1757, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.02.01>

