

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

VICTÓRIA ALICE DIVINO DIAS

**BIOENSAIOS E MONITORAMENTO DA TOXICIDADE DE UM LIXIVIADO E
EFLUENTES EM UM ATERRO SANITÁRIO CLASSE II**

ALFENAS/MG

2023

VICTÓRIA ALICE DIVINO DIAS

**BIOENSAIOS E MONITORAMENTO DA TOXICIDADE DE UM LIXIVIADO E
EFLUENTES EM UM ATERRO SANITÁRIO CLASSE II**

Dissertação/Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Sandro Barbosa
Coorientador: Prof. Dr. Fábio Krummow

ALFENAS/MG

2023

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Dias, Victória Alice Divino .

Bioensaios e monitoramento da toxicidade de um lixiviado e efluentes em um aterro sanitário classe II / Victória Alice Divino Dias. - Alfenas, MG, 2024.

64 f. : il. -

Orientador(a): Sandro Barbosa.

Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2024.

Bibliografia.

1. Ecotoxicologia. 2. Efluentes. 3. Águas subterrâneas. 4. Águas superficiais. 5. Allium cepa L.. I. Barbosa, Sandro, orient. II. Título.

VICTÓRIA ALICE DIVINO DIAS

“Bioensaios aplicados ao monitoramento da toxicidade de efluentes e lixiviados provenientes de um aterro sanitário classe II ”

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Ambientais.

Aprovada em: 14 de julho de 2023.

Prof. Dr. Sandro Barbosa

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Dra. Laiane Corsini Rocha

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Prof. Dr. Geraldo Alves da Silva

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)



Documento assinado eletronicamente por **Sandro Barbosa, Professor do Magistério Superior**, em 14/07/2023, às 15:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1033124** e o código CRC **D25B5A29**.

Dedico este trabalho à minha família e amigos que me fizeram acreditar que era possível, desde que eu acreditasse em mim mesma.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora por me guiarem na direção certa e iluminar o caminho durante essa jornada. Aos meus familiares: minha mãe (Margarida), meu pai (Dênio) e meu irmão (Gabriel) por serem meu norte, me empurrarem na direção dos meus sonhos e por todo seu amor incondicional e sua paciência infinita, me mostrando que com um pouco mais de dedicação é possível voar alto; meu primo (Gustavo) pelas conversas e conselhos quando mais precisei. Ao meu namorado, Lucas Scarton, pelo amor, carinho, cuidado, paciência e, especialmente, por estar comigo nos momentos mais difíceis e angustiantes, me distraíndo e mostrando que com um pouco mais de persistência eu conseguiria.

Ao meu orientador, professor Dr. Sandro Barbosa, pela oportunidade e confiança depositada em mim desde o primeiro dia, por todos os ensinamentos acadêmicos e pelos não acadêmicos que, com certeza, levarei comigo sempre, e por me incentivar nos momentos certos nos quais eu não sabia que precisava.

Às irmãs que a vida me presenteou (Letícia, Luiza, Marcele, Natália e Gabriela) pelo ombro para desabafar e chorar e pela ajuda quando pensei em desabar, me mostrando que eu não estava sozinha e tem uma luz no final do túnel.

Aos amigos e colegas do BIOGEN por toda a ajuda durante os experimentos e pelos conselhos oferecidos ao longo dessa estrada, pelas risadas e desabafos e por me mostrarem que trabalhar em um laboratório, seja de jaleco em um calor de 30° ou durante a madrugada, pode ser alegre e divertido junto das pessoas certas. Às professoras que tanto colaboraram e auxiliaram neste trabalho, Dra. Raquel Sampaio Jacob e Dra. Lucilaine Valéria de Souza Santos, sem vocês o resultado não seria o mesmo.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001; à empresa Alfenas Ambiental Ltda pelo apoio financeiro e fornecimento das amostras; à empresa Engequisa pelo acompanhamento durante as coletas e pela ajuda nas análises.

E a todos aqueles que, estando longe ou perto, direta ou indiretamente, me ajudaram a chegar aonde estou hoje.

“Um cientista no seu laboratório não é apenas um técnico: é, também, uma criança colocada à frente de fenômenos naturais que impressionam como se fossem um conto de fadas.”

(Marie Curie)

RESUMO

Com o depósito de resíduos nos aterros, um lixiviado é formado, o chorume, que pode causar diversos impactos ambientais, desde contaminação do lençol freático até mutações na macro e microbiota. A fim de monitorar e avaliar esse efluente, são utilizadas diversas técnicas, mas as mais comuns são os testes ecotoxicológicos, pois com eles é possível se ter um panorama de como aquele efluente pode impactar o ambiente ao seu redor. Assim, objetivou-se mostrar os impactos que o chorume pode causar ao ambiente ao seu redor e quais os possíveis efeitos causados por ele à macro e microbiota, utilizando como biotestes *Allium cepa* L. para os testes de toxicidade crônica e *Aliivibrio fischeri* para os testes de toxicidade aguda. Neste estudo realizado no aterro sanitário regional no sul de Minas Gerais, amostras foram coletadas e diluídas em diferentes concentrações para avaliar os efeitos na germinação de *Allium cepa* L. e na viabilidade de *Aliivibrio fischeri*. As sementes expostas ao chorume tiveram sua germinação inibida e os demais parâmetros reduzidos, enquanto as amostras de águas superficiais e subterrâneas apresentaram resultados constantes. O chorume mostrou-se tóxico em altas concentrações para *Allium cepa* L. e *Aliivibrio fischeri*, enquanto as águas não indicaram toxicidade relacionada ao aterro sanitário. Em um segundo estudo utilizou biotestes com *Allium cepa* L. e *Aliivibrio fischeri* para avaliar a toxicidade de efluentes e águas superficiais. Foi observado que a germinação e o crescimento de *Allium cepa* L. foram influenciados pelo índice pluviométrico e pelas concentrações das amostras. A diluição das amostras contaminadas melhorou a germinação, indicando a possibilidade de reduzir os efeitos negativos dos efluentes por meio desse método de tratamento. O teste com *Aliivibrio fischeri* mostrou toxicidade no chorume, enquanto as águas apresentaram resultados não tóxicos ou inconclusivos. A diluição das amostras em altos níveis de pluviosidade e baixa capacidade de operação resultou em menor impacto nos parâmetros fitotécnicos, indicando maior eficácia do tratamento.

Palavras-chave: Ecotoxicologia; efluentes; água subterrânea; água superficial; *Allium cepa* L., *Aliivibrio fischeri*.

ABSTRACT

With the disposal of waste in landfills, leachate is formed, which can cause various environmental impacts, from contaminating the groundwater to mutations in the macro and microbiota. To monitor and assess this effluent, various techniques are used, but the most common ones are ecotoxicological tests, as they provide an overview of how this effluent can impact the surrounding environment. Thus, the objective was to demonstrate the environmental impacts of chorume and its potential effects on the macro and microbiota, using *Allium cepa* L. as chronic toxicity tests and *Aliivibrio fischeri* for acute toxicity tests. In this study conducted at the regional landfill in southern Minas Gerais, samples were collected and diluted at different concentrations to evaluate their effects on the germination of *Allium cepa* L. and the viability of *Aliivibrio fischeri*. Seeds exposed to chorume had their germination inhibited, and other parameters reduced, while samples of surface and groundwater showed consistent results. Chorume was found to be toxic at high concentrations for both *Allium cepa* L. and *Aliivibrio fischeri*, whereas water samples did not indicate toxicity related to the landfill. In a second study, biotests with *Allium cepa* L. and *Aliivibrio fischeri* were used to assess the toxicity of effluents and surface waters. It was observed that the germination and growth of *Allium cepa* L. were influenced by precipitation levels and sample concentrations. Diluting contaminated samples improved germination, indicating the possibility of reducing the negative effects of effluents through this treatment method. The *Aliivibrio fischeri* test showed toxicity in chorume, while water samples yielded non-toxic or inconclusive results. Diluting samples under high precipitation levels and low operating capacity resulted in less impact on phytotechnical parameters, indicating greater treatment effectiveness.

Keywords: Ecotoxicology; effluent; underground water; surface water; *Allium cepa* L.; *Aliivibrio fischeri*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1	ATERRO SANITÁRIO E SEUS LIXIVIADOS.....	12
2.2	TOXICIDADE DO LIXIVIADO E AS FORMAS DE MONITORAMENTO..	14
2.2.1	Tratamento biológico.....	16
2.2.2	Tratamento físico-químico.....	16
2.3	BIOTESTES E O MONITORAMENTO DE LIXIVIADOS DE ATERROS SANITÁRIOS.....	17
2.3.1	Bioteste bacteriano.....	18
2.3.2	Bioteste com plantas.....	19
	ARTIGO I: TOXICIDADE DE EFLUENTES E LIXIVIADOS PROVENIENTES DE UM ATERRO SANITÁRIO POR MEIO DE ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS.....	22
	ARTIGO II: COMPORTAMENTO SAZONAL DE BIOTESTES SUBMETIDOS A TOXICIDADE DE EFLUENTES DE UM ATERRO SANITÁRIO CLASSE II.....	44
	REFERÊNCIAS.....	59

1 INTRODUÇÃO GERAL

O padrão de vida nos países em desenvolvimento está melhorando e a tecnologia que aporta a grande produção industrial influencia no aumento exponencial de consumo dos indivíduos. Com o desenvolvimento tecnológico, os produtos que não a acompanham, acabam se tornando obsoletos e são descartados aumentando cada vez mais o volume de resíduos sólidos, não somente resíduos domésticos, mas também de origem industrial e comercial sofre esse aumento. Infelizmente, em muitos casos o descarte é feito de forma inadequada não havendo a separação correta dos tipos de resíduos acarretando a sua mistura nos locais do descarte final. O destino desses resíduos tem sido discutido, tanto na esfera governamental quanto nas instituições de ensino e pesquisa, partindo da preocupação do dano que podem causar ao meio ambiente e a saúde humana (Sydney *et al*, 2020).

Segundo a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico realizada pelo Instituto Brasileiro de Estatística e Geografia (IBGE) e analisada por Consoni *et al*, (2018), os principais destinos dos resíduos sólidos urbanos são os aterros sanitários, aterros controlados e lixões. De acordo com a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), instituída pela Lei Federal nº 12.305/2010 (Brasil, 2010), depois de esgotadas todas as possibilidades de tratamento e recuperação dos resíduos por processos tecnológicos disponíveis e economicamente viáveis, não há outra possibilidade que não a disposição final ambientalmente adequada em aterros sanitários, de modo a evitar danos ou riscos à saúde pública e minimizar os impactos ambientais negativos.

Nesses locais de disposição final, a matéria orgânica presente nos resíduos sólidos, predominantemente em condições anaeróbias, decompõe-se gerando líquidos percolados ou lixiviados (chorume) e biogás (Consoni *et al.*, 2018). O chorume é um efluente de difícil biodegradação, com características físicas, químicas e biológicas variáveis e com elevado potencial de causar a contaminação do solo, das águas subterrâneas e superficiais (Amorim *et al*, 2018). O lixiviado contém alta carga poluidora que se caracteriza por possuir elevados valores de Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), além de apresentar metais provenientes da decomposição de embalagens metálicas e pilhas (Ye *et al*, 2019). Por conta de todos os fatores apresentados faz-se necessário um monitoramento constante do chorume a fim de prevenir a

contaminação dos solos e copos d'água.

Inúmeros testes ecotoxicológicos, além de diversos outros métodos biológicos e físico-químicos (Luo *et al*, 2020), podem ser utilizados para determinar o melhor método de tratamento e, com isso, o tempo de exposição do organismo ao agente tóxico, nesse caso o efluente em questão, para que o organismo teste possa sofrer efeito adverso (Rebolledo *et al*, 2020). Segundo o artigo 18 da Resolução CONAMA Nº 430 de 2011 (Brasil, 2011):

o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de ecotoxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

E ainda nesse mesmo artigo, o parágrafo 1º esclarece que os critérios de ecotoxicidade devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos aceitos pelo órgão ambiental, realizados no efluente, utilizando organismos aquáticos de pelo menos dois níveis tróficos diferentes. Contudo, quando os parâmetros físico-químicos não são confiáveis, é recomendado o uso de testes fitotóxicos (Hoss *et al*, 2021), os bioensaios, como testes suplementares, pois consistem em testes importantes tendo em vista o potencial bioacumulador que muitos organismos têm e seu potencial em transferir substância dentro das cadeias tróficas. Além disso, os bioensaios são ferramentas que validam os tratamentos de efluentes tradicionais e em desenvolvimento.

Dentre os diversos tipos de tratamento existentes, o tratamento primário é realizado *in situ*, nas dependências do aterro em questão, e é composto por um sistema que conjuga uma lagoa anaeróbia e outra aeróbia. Em seguida, esse chorume tratado é coletado pela empresa terceirizada e levado para tratamento na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) do município de Alfenas. Após este processo o efluente tratado é lançado na represa do lago de Furnas, no mesmo município, que atualmente é classificada como Classe II de acordo com Resolução Conama 357 de março de 2005 (Brasil, 2005). Assim, uma avaliação ecotoxicológica abrangente é de extrema importância para verificar possíveis danos a biota que habita nas regiões ao redor do corpo receptor.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos fitotóxicos e citotóxicos das amostras de chorume bruta e tratada e das águas superficiais e subterrâneas adjacentes ao aterro sanitário localizado na região sul do Estado de Minas Gerais. Para a realização dos ensaios foram utilizados os organismos-teste

Allivibrio fischeri e *Allium cepa* L. Além de caracterizar o efeito ecotoxicológico das amostras de chorume não tratado e tratado e das águas superficiais e subterrâneas próximas ao aterro sanitário, analisar os efeitos macro e microscópios das amostras em bioensaios com as amostras e de avaliar os aspectos físico-químicos de todas as amostras de chorume e de águas superficiais e subterrâneas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ATERRO SANITÁRIO E SEUS LIXIVIADOS

Os aterros sanitários são instalações que recebem resíduos sólidos urbanos e que atendem o objetivo de tratar estes resíduos que são potencialmente tóxicos ao ambiente e também a saúde humana (Graupmann *et al*, 2019).

Especificamente no Brasil, existem três tipos de destinação dos resíduos: (1) aterros sanitários; (2) aterros controlados; (3) lixões. Os lixões por possuírem um sistema de disposição a céu aberto e sem controle das variáveis de risco, são potencialmente geradores de resíduos tóxicos que são responsáveis pela contaminação dos lençóis freáticos. Os aterros controlados possuem problemas parecidos com os lixões diferindo em relação a cobertura de terra que envolve os resíduos (Graupmann *et al*, 2019). Já os aterros sanitários compreendem uma forma segura de disposição dos resíduos, pela especificação em locais apropriados como pela implementação de sistemas de impermeabilização, drenagem, cobertura diária e final e tratamento dos efluentes líquidos e gasosos gerados (Lopes; Silva, 2020; Martildes *et al*, 2020).

No Brasil, a classificação dos aterros sanitários é regida pela Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 431/2011 (Brasil, 2011), que estabelece critérios para a disposição final de resíduos sólidos urbanos. De acordo com essa resolução, os aterros sanitários no Brasil são classificados em duas categorias:

1) Aterro Classe I: São aterros sanitários destinados à disposição final de resíduos sólidos urbanos, ou seja, resíduos não perigosos provenientes das atividades domésticas, comerciais, institucionais e de serviços públicos. Essa classe também inclui resíduos de serviços de saúde que não apresentam risco biológico ou químico significativo.

2) Aterro Classe II: Essa classe é destinada aos aterros sanitários destinados à disposição final de resíduos de serviços de saúde que apresentam risco biológico ou químico significativo, como resíduos infectantes, materiais perfurocortantes, produtos químicos corrosivos, radioativos, entre outros. Esses aterros requerem medidas adicionais de segurança e controle para lidar com os riscos associados a esses resíduos.

É importante ressaltar que a classificação dos aterros sanitários no Brasil

pode variar em cada estado ou município, uma vez que eles podem estabelecer regulamentos adicionais ou critérios específicos para a disposição final dos resíduos sólidos. Em Minas Gerais, a classificação dos aterros sanitários segue a regulação estadual, que é baseada na resolução da Secretaria de Estado do Meio ambiente e Desenvolvimento Sustentável (SEMAD) nº 2.722/2019. De acordo com essa resolução (Minas Gerais, 2019), o aterro sanitário regional é considerado de classe II, pois abrange um local de deposição final de resíduos, em sua maioria, não perigosos, vindo de residências, comércio, instituições e serviços públicos, porém também pode receber resíduos com riscos biológicos de moderados a consideráveis.

Para a instalação de aterros sanitários, são necessários que sejam realizadas a impermeabilização total do local que receberá os resíduos sólidos, bem como a instalação de redes para coleta e tratamento do chorume, material que reúne todas as impurezas líquidas e tóxicas do lixo, o qual se torna o principal problema dos aterros sanitários pelo seu potencial tóxico. Ressalta-se que os gases que fluem do aterro sanitário são captados e tratados e a qualidade e a quantidade dos resíduos sólidos depositados também são monitoradas (Lopes; Silva, 2020).

As características dos lixiviados de aterros municipais podem ser afetadas por muitos fatores, como idade do aterro, tipo de resíduo e composição (Moody & Townsend, 2017), hidrogeologia local, variação climática sazonal, diluição por chuva, precipitação e grau de decomposição dentro aterro sanitário (Han *et al*, 2016; Mandal *et al*, 2017). Com base na idade, os lixiviados de aterros convencionais são comumente classificados em três categorias: (1) jovem (< 5 anos); (2) intermediário (5 – 10 anos); maduro (> 10 anos).

À medida que a idade do aterro aumenta, os parâmetros do lixiviado, como por exemplo, pH, Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO) e relação DBO/DQO, mudam significativamente. Por exemplo, as concentrações de DBO e DQO diminuem com o aumento da idade do aterro, provavelmente devido à degradação de resíduos orgânicos em lixiviados (Torretta *et al*, 2017). As composições dos lixiviados variam não apenas com a idade do aterro, mas também variam de lugar para lugar, levando a grandes flutuações nos valores de parâmetros de caracterização representativos (Luo *et al*, 2020).

A composição dos lixiviados de aterros sanitários é extremamente heterogênea e variável, dependendo dos estágios de evolução dos resíduos, ou seja, o tempo de deposição daquele resíduo (Naveen *et al*, 2017). Os poluentes

derivados de lixiviados são divididos em quatro grupos: (1) matéria orgânica dissolvida (HAN *et al.*, 2016); (2) macro componentes orgânicos, como amônia, sódio, potássio, cálcio, magnésio e outros (Anand *et al.*, 2022); (3) metais pesados (Luo *et al.*, 2019) e (4) compostos xenobióticos orgânicos como fenóis e pesticidas (Luo *et al.*, 2020; Hamid *et al.*, 2018). A maioria dos poluentes acima tem caráter acumulativo, ameaçador e possui efeitos prejudiciais sobre o crescimento de organismos aquáticos, na ecologia e alimentação nas cadeias tróficas, levando assim a enormes problemas de saúde pública, por exemplo, efeitos cancerígenos, toxicidade aguda e genotoxicidade (Budi *et al.*, 2016).

Estudos sobre a avaliação toxicológica dos lixiviados de aterros sanitários têm buscado compreender os efeitos adversos desses líquidos no meio ambiente e na saúde humana (Ghosh *et al.*, 2017; Baderna *et al.*, 2019; Klauck *et al.*, 2017). Essas avaliações têm utilizado uma variedade de métodos, incluindo ensaios de toxicidade aguda (Hernández-García, *et al.*, 2019) e crônica em organismos aquáticos (Luo *et al.*, 2020), bem como estudos epidemiológicos em populações expostas (Gupta *et al.*, 2017). Essas pesquisas têm demonstrado que os lixiviados podem apresentar potencial toxicidade para organismos aquáticos, com efeitos adversos sobre peixes, invertebrados e microrganismos. Além disso, a exposição humana a esses lixiviados pode representar riscos à saúde, especialmente em casos de exposições ocupacionais ou comunitárias.

2.2 TOXICIDADE DO LIXIVIADO E AS FORMAS DE MONITORAMENTO

Em aterros sanitários, a degradação da matriz de resíduos geralmente ocorre através de vários processos biológicos e químicos seguindo quatro vias: (1) fase aeróbica inicial; (2) fase acidogênico anaeróbico; (3) fase metanogênica; e (4) fase de estabilização (Mandal *et al.*, 2017).

A primeira fase consiste em uma degradação inicial nos resíduos após sua disposição no aterro sanitário, quando microrganismos aeróbios presentes no ambiente consomem o oxigênio e iniciam o processo de decomposição (Lebron *et al.*, 2021). A partir disso, conforme a quantidade de oxigênio disponível diminui, a decomposição passa para uma fase anaeróbica. Nessa fase, microrganismos anaeróbicos, como bactérias metanogênicas, degradam a matéria orgânica em condições de baixo teor de oxigênio (Miao *et al.*, 2019). A terceira fase ocorre em aterros que já estão mais maduros, sendo uma fase de extrema importância pois

com presença de microrganismos metanogênicos degradando a matéria orgânica, podem liberar gases nocivos ao efeito estufa (metano) podendo causar um grande impacto no ambiente, logo uma estrutura apropriada para a captação desses gases é de extrema importância (Lebron *et al*, 2021). A fase de estabilização é uma etapa da degradação de resíduos em que ocorre a redução significativa da atividade biológica e da biodegradabilidade dos materiais presentes (Mandal *et al*, 2017). Essa fase é caracterizada pela diminuição da decomposição da matéria orgânica e pela estabilização química e física dos resíduos.

Conforme as fases de degradação da matriz de resíduos vão ocorrendo, a quantidade de resíduos gerados é afetada principalmente por precipitação, nível de chuvas, evapotranspiração, infiltração de águas nos lençóis freáticos, desgaste da compactação do aterro sanitário (Miao *et al*, 2019). A qualidade dos lixiviados de aterros é geralmente caracterizada por diversos parâmetros físico-químicos como pH, suspensão sólidos (SS), DBO, DQO amônia ($\text{NH}_4^+ \text{-N}$), nitrogênio total (TN), cloreto, fósforo, metais pesados e alcalinidade (Bhatt *et al*, 2017).

Embora os aterros sanitários modernos sejam projetados para eliminar ou minimizar o impacto adverso do descarte de resíduos urbanos, a geração de lixiviados ainda é motivo de preocupação, ameaçando a integridade do solo, águas superficiais e subterrâneas (Luo *et al*, 2019) devido à existência de substâncias tóxicas como metais pesados, contaminantes e nitrogênio amoniacal (Baiju *et al*, 2018).

Para atender a rígidos padrões de qualidade para haver a descarga direta em corpos d'água ou sistema de esgoto, várias abordagens e tecnologias têm sido propostas e testadas para tratar lixiviados altamente poluídos, dentre elas tratamentos biológicos (usado para a remoção de efluentes com altas concentrações de substâncias orgânicas), tratamentos anaeróbios (é amplamente utilizado para o tratamento de águas residuais, especialmente no tratamento de chorume de aterro) e um combinado de tratamentos, no qual foi comprovado ser mais efetivo e eficiente do que tratamentos individuais (Chen *et al*, 2018; Luo *et al*, 2020).

De acordo com as especificações de cada instalação, um tipo de tratamento é recomendado. Existem diversos tipos de tratamento de chorume, por exemplo, biológico, físico-químico, entre outros (Torretta *et al*, 2017).

2.2.1 Tratamento biológico

É um método de tratamento do chorume de aterros sanitários que se baseia na atividade de microrganismos para remover contaminantes orgânicos presentes no efluente, sendo um tipo de tratamento simples e mais rentável e possui uma maior eficiência na remoção de matéria orgânica (Miao *et al*, 2019).

Dentro desse tratamento, pode-se listar a utilização de processos aeróbios e anaeróbios. Dos processos aeróbios, o mais comum são as lagoas de chorume, nas quais os microrganismos aeróbios utilizam o oxigênio dissolvido para decompor a matéria orgânica presente no chorume (Luo *et al*, 2020). É importante garantir a aeração adequada para fornecer oxigênio suficiente aos microrganismos e permitir uma decomposição eficiente dos compostos orgânicos; essas lagoas são constantemente monitoradas a fim de evitar um grande impacto ambiental (Iqbal *et al*, 2021), como a contaminação de lençóis freáticos. O processo anaeróbio é amplamente utilizado para o tratamento de águas residuais, especialmente no tratamento de chorume de aterro sanitário (Smaoui *et al*, 2018).

Acredita-se que as maiores eficiências de remoção de contaminantes em lixiviados são obtidas usando um processo de tratamento combinado de remoção de ar com outros métodos físico-químicos e biológicos, como coagulação e floculação (Chen *et al*, 2018; Smaoui *et al*, 2020).

2.2.2 Tratamento físico-químico

É extensivamente aplicado na remoção de resíduos não biodegradáveis, compostos orgânicos, amônia e metais pesados de lixiviados de aterros devido à sua capacidade, simplicidade e custo barato (Wijekoon *et al*, 2022). Durante a precipitação química, íons dissolvidos na solução são convertidos em uma fase de sólidos insolúveis através de reações químicas, e os precipitados formados podem ser separados por sedimentação ou filtração (Wu *et al*, 2018). As desvantagens desse tipo de tratamento incluem: baixa remoção de COD efluência; a sensibilidade ao pH; alta dose de precipitante obrigatório e a geração de lodo necessário para disposição posterior.

A água residual desses tratamentos pode contaminar solos e águas subterrâneas não apenas nas proximidades do aterro, mas também a alguma distância, causando problemas ambientais e de saúde humana (Baderna *et al*, 2019). Os componentes presentes no chorume, se não tratados corretamente antes de serem descartados nos corpos d'água, podem causar danos à saúde humana. O

lixiviado é geralmente tóxico, mutagênico, genotóxico e estrogênico in vitro, e esses efeitos podem ser medidos nas células expostas a níveis de concentrações já baixos, confirmando o grave perigo deste efluente para a saúde humana (Teng *et al*, 2021).

2.3 BIOTESTES E O MONITORAMENTO DE LIXIVIADOS DE ATERROS SANITÁRIOS

Os ensaios ecotoxicológicos são ferramentas fundamentais para avaliar os efeitos dos agentes químicos e materiais no meio ambiente e nos organismos vivos. Esses testes são realizados para identificar e quantificar os impactos potenciais de substâncias químicas, efluentes industriais, resíduos e outros compostos no ecossistema. Esses ensaios abrangem uma ampla gama de organismos, desde micro-organismos até plantas, animais e até mesmo ecossistemas completos. Os ensaios ecotoxicológicos podem ser realizados em diferentes níveis de organização biológica, desde organismos individuais até comunidades e ecossistemas completos (Iqbal *et al*, 2019). Essas avaliações fornecem informações cruciais para a tomada de decisões e a implementação de medidas de proteção ambiental, auxiliando na identificação de riscos, na seleção de tecnologias de tratamento e no desenvolvimento de estratégias de gestão ambiental.

Segundo Ghosh *et al* (2017), é necessária uma abordagem multi-espécies para avaliar um lixiviado, de preferência um exemplo de cada cadeia trófica, com pelo menos dois organismos, pois só assim será possível fazer uma avaliação completa do efeito daquele lixiviado no ambiente ao seu redor. Para uma avaliação biológica referente a qualidade do lixiviado, requer a exposição de organismos vivos a diferentes concentrações de um tóxico potencial e observação dos efeitos no comportamento e sobrevivência dos organismos; e estabelecer se, ou em que concentração, um produto químico tem efeito nocivo (Abbas *et al*, 2018).

Os biotestes são uma ferramenta importante para determinar a taxa de toxicidade do chorume, o líquido resultante da decomposição de resíduos em aterros sanitários. Esses testes envolvem a exposição de organismos vivos, como micro-organismos, crustáceos, plantas, peixes ou, ao chorume, a fim de avaliar os efeitos tóxicos que ele pode causar (Alalwan *et al*, 2020). Os organismos são expostos a diferentes concentrações de chorume e observados quanto a efeitos como mortalidade, inibição de crescimento inicial e até danos em nível celular (Zegzouti *et*

al, 2020).

Com base nos resultados desses biotestes, é possível determinar a toxicidade do chorume e avaliar seu potencial impacto sobre os organismos e os ecossistemas aquáticos. Essas informações são essenciais para a gestão adequada do chorume e a implementação de medidas de controle e tratamento adequadas. Segundo Luo *et al* (2020), em outras revisões, os biotestes mais usados para determinar a toxicidade do chorume de um aterro sanitário: (1) bioteste bacteriano; (2) bioteste com plantas, sendo os mais utilizados, entre outros.

2.3.1 Bioteste bacteriano

O ensaio de bioluminescência bacteriana foi introduzido em 1969 e posteriormente, modificado em técnica de bioluminescência enzimática. A reação bioluminescente catalisada por enzimas *in vitro* foi proposto como um teste de toxicidade em 1990, seguido de imobilização em gel de amido (Abbas *et al*, 2018). Os testes bioluminescentes utilizam bactérias luminosas marinhas típicas ou organismos isolados do ambiente a serem testados e geneticamente modificados em cepas luminescentes. O princípio subjacente desse ensaio é a correlação das mudanças nos atributos cinéticos da reação bioluminescente com a toxicidade da substância-teste (Stoudenmire *et al*, 2019). Atualmente, os biotestes que utilizam bactérias naturais bioluminescentes como *Aliivibrio fischeri*, *Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas leiognathi* são amplamente utilizados para testes de toxicidade.

Ensaio de inibição bioluminescente usando a bactéria marinha *Aliivibrio fischeri* são amplamente utilizados para avaliar diferentes classes de poluentes, como pesticidas, metais pesados, nanopartículas, fenóis e derivados, efluentes industriais, água de rio, esgoto municipal, lixiviado de aterro, entre outros (Abbas *et al*, 2018). Por exemplo, na avaliação da toxicidade do lixiviado, *A. fischeri* apresentou alta sensibilidade à presença de compostos orgânicos (Ghosh *et al*, 2017; Qiu *et al*, 2022) e mostrou melhor resposta quando comparado a outros ensaios usando bactérias (Luo *et al*, 2020; Barbieri *et al*, 2019).

Usando bactérias luminescentes, uma investigação ecotoxicológica preliminar foi realizada em diferentes lixiviados de aterros sanitários tradicionais e sustentáveis (Baderna *et al*, 2019). Foi descoberto que a toxicidade do lixiviado pode depender de forma confiável da concentração de amônia e a toxicidade do lixiviado foi

consideravelmente menor em aterros sanitários onde a amônia foi degradada (Ghosh *et al*, 2017).

Apesar de ser um teste mais barato e muito utilizado, somente com essa bactéria não é possível fazer uma análise completa de um determinado lixiviado, pois são necessários mais organismos-teste de cadeias tróficas distintas para poder determinar se o lixiviado é tóxico e se está afetando o ecossistema ao redor (Abbas *et al*, 2018).

2.3.2 Biotestes com plantas

Os sistemas de plantas foram estabelecidos para serem simples, sensíveis, econômicos e eficaz para avaliação toxicológica de lixiviados de aterros sanitários (Ghosh *et al*, 2017). Muitas espécies de plantas têm uma ampla gama de aplicações como indicadores de efeitos citogenéticos e mutagênicos de agentes ambientais poluentes físicos e químicos (Iqbal *et al*, 2019).

Dentre os testes realizados com plantas, o teste de *Allium cepa* L. é considerado um excelente apresentador de teste biológico in vivo, pois com as raízes crescendo em contato direto com a substância de interesse, possibilita a detecção de possíveis danos ao DNA e os resultados podem ser generalizados para diversas biodiversidades animal e vegetal (Iqbal *et al*, 2019). A aplicação de *A. cepa* L. não se deve apenas à sensibilidade para detectar mutagênicos, mas também à possibilidade de avaliar vários endpoints genéticos, desde mutações pontuais até anormalidades cromossômicas (CA) em células meristemáticas (Alderete *et al*, 2021), além de anormalidades estruturais (Haq *et al*, 2021).

A. cepa L. vem sendo muito utilizada devido ao conhecimento da duração do seu ciclo celular e sua reação na presença de vários agentes mutagênicos conhecidos e, com base nos efeitos clastogênicos e aneugênicos, o mecanismo de ação do agente tóxico sobre o material genético também pode ser avaliado (Gupta *et al*, 2022). O índice Mitótico (IM) é um parâmetro muito importante para a avaliação da toxicidade e é baseado no número de células em divisão no ciclo celular e, mais importante, os pesquisadores usam como um indicador de citotoxicidade (Iqbal *et al*, 2019).

Em um estudos feitos para correlacionar a inibição do ciclo celular com a presença de flavonoides, fenóis, metais pesados, entre outros compostos (Eckert *et al*, 2022; Kalefetoğlu Macar, 2021; Kumar *et al*, 2021; Maselli *et al*, 2015; Iqbal, 2016)

mostraram que, para o ensaio de *Allium cepa* L., houve uma diminuição no número de células em divisão e o percentual de índice mitótico sofreu uma redução por conta do aumento das concentrações dos efluentes e extratos as quais foram expostas, indicando citotoxicidade.

Sabe-se que os resultados do teste de *Allium cepa* L. estão bem correlacionados com os dados obtidos de sistemas procarióticos e eucarióticos (Iqbal *et al*, 2019; Leme & Marin-Morales, 2008), o que explica o motivo desse bioteste ser tão empregado nos estudos de ecotoxicologia. Além de ser de baixo custo, o resultado pode ser observado tanto macro quanto microscopicamente, mostrando muito bem o efeito causado por determinado contaminante.

Artigo I: TOXICIDADE DE EFLUENTES E LIXIVIADOS PROVENIENTES DE UM ATERRO SANITÁRIO POR MEIO DE ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS

Autores: Victória Alice Divino Dias, Arthur Arnoni Ochiutto, Thaina Menegheti Nemeh, João Vítor Calvelli Barbosa, Antônio Rodrigues Cunha Neto, Raquel Sampaio Jacob, Lucilaine Valéria de Souza Santos, Fábio Kummrow, Sandro Barbosa.

Este artigo atende às normas do periódico *Water, Air and Soil Pollution*, para submissão.

Resumo

Nos últimos anos, tem havido um preocupante aumento no descarte de lixo, o que representa um desafio significativo para a sustentabilidade ambiental e a qualidade de vida das comunidades em todo o mundo. O descarte incorreto do lixo representa uma grave ameaça ao meio ambiente, contaminando solos, rios e oceanos, e comprometendo a saúde pública. O objetivo desse trabalho foi avaliar os possíveis efeitos do chorume tratado e não tratado e as águas superficiais e subterrâneas adjacentes ao aterro sobre aspectos macro e microscópicos da germinação e crescimento de *Allium cepa* L. e a viabilidade ou sobrevivência de *Aliivibrio fischeri*. As amostras foram coletadas no aterro sanitário regional localizado na região Sul do Estado de Minas Gerais e levadas ao laboratório e diluídas nas concentrações de 25, 50, 75 e 100% e aplicados em 30 sementes de *Allium cepa* L. foram colocadas para germinar em uma estufa BOD por 10 dias. Analisou-se os parâmetros de porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de parte aérea, alongamento de raiz, índice mitótico e anormalidades cromossômicas. Para os testes de toxicidade aguda foi utilizada a bactéria *Aliivibrio fischeri*. Observou-se que o comportamento das sementes de *Allium cepa* L. expostas às águas superficiais e subterrâneas se mantiveram constantes, enquanto aquelas expostas ao chorume tiveram sua germinação inibida e conseqüentemente os outros parâmetros também foram reduzidos. Para a *Aliivibrio fischeri*, o chorume mostrou-se tóxico, enquanto para as amostras de águas superficiais e subterrâneas apresentou-se um efeito de hormesis. Conclui-se que o chorume, em altas concentrações mostrou-se tóxico tanto para a *Allium cepa* L. quanto para a *Aliivibrio fischeri*, enquanto as águas superficiais e subterrâneas não obtiveram um resultado alarmante, mas sim constante, não indicando toxicidade advinda do empreendimento do aterro sanitário.

Palavras-chave: Citotoxicidade, lixiviado, *Allium cepa* L., *Aliivibrio fischeri*.

Abstract

In recent years, there has been a concerning increase in waste disposal, which represents a significant challenge for environmental sustainability and the quality of life in communities worldwide. Improper waste disposal poses a serious threat to the environment by contaminating soils, rivers, and oceans, thereby compromising public health. The aim of this study was to assess the potential effects of treated and untreated landfill leachate, as well as adjacent surface and groundwater, on macroscopic and microscopic aspects of germination and growth of *Allium cepa* L., and the viability or survival of *Aliivibrio fischeri*. Samples were collected from the regional landfill located in the southern region of the state of Minas Gerais, Brazil, and transported to the laboratory. They were diluted to concentrations of 25, 50, 75, and 100%, and applied to 30 seeds of *Allium cepa* L., which were germinated in a BOD incubator for 10 days. Parameters such as germination percentage, germination speed index, shoot length, root elongation, mitotic index, and chromosomal abnormalities were analyzed. Acute toxicity tests were conducted using the bacterium *Aliivibrio fischeri*. It was observed that the behavior of *Allium cepa* L. seeds exposed to surface and groundwater remained consistent, whereas those exposed to landfill leachate had inhibited germination, and consequently, other parameters were also reduced. For *Aliivibrio fischeri*, leachate proved toxic, whereas surface and groundwater samples exhibited a hormetic effect. In conclusion, leachate at high concentrations showed toxicity to both *Allium cepa* L. and *Aliivibrio fischeri*, whereas surface and groundwater samples did not show alarming but rather consistent results, indicating no toxicity originating from the landfill operation.

Keywords: Cytotoxicity, leachate, *Allium cepa* L., *Aliivibrio fischeri*.

INTRODUÇÃO

O consumo nos países em desenvolvimento tem aumentado exponencialmente nas últimas décadas devido ao crescimento da produção industrial de novas tecnologias, o que ocasiona descarte de resíduos. Os riscos de poluição do solo para os ecossistemas nas áreas próximas estão especialmente ligados aos efeitos de contaminação dos aterros de resíduo sólido que podem ser advindos de indústria ou residências (GRAUPMANN *et al.*, 2019). A geração crescente de resíduos sólidos urbanos (RSU), sua destinação correta bem como o manejo dos passivos ambientais que eles geram, requisitam ações fundamentais de gestão, e os aterros sanitários são até o momento uma opção de significativo impacto ambiental, devido à sua proximidade com áreas habitadas e áreas de preservação, mais ainda vigente e necessária (RANI *et al.*, 2020).

Instalações de descarte de terra geralmente criam algum risco, uma vez que descartar produtos perigosos e/ou resíduos dentro ou sobre a terra inevitavelmente resulta na liberação de substâncias perigosas para o meio ambiente. Embora os aterros modernos sejam instalações altamente projetadas para eliminar ou minimizar o impacto adverso de resíduos, a geração de lixiviados ainda é um grande problema para os aterros sanitários porque esses lixiviados podem representar uma ameaça significativa para solo, águas superficiais e águas subterrâneas (LUO *et al.*, 2020).

Segundo Consoni *et al.* (2018), a matéria orgânica contida nos resíduos sólidos, predominantemente em condições anaeróbicas, decompõe-se gerando líquidos percolados ou lixiviados (chorume) e biogás. O chorume é um percolado que possui grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos que concede ao lixiviado alta toxicidade, elevada carga orgânica e baixa biodegradabilidade e seu manejo inadequado pode torná-lo um potencial poluidor do solo e da água (SANTOS *et al.*, 2021; AMORIN *et al.*, 2018).

Com o avanço da tecnologia industrial, milhares de compostos orgânicos potencialmente nocivos são lançados no meio ambiente podendo alterar ciclos biológicos, devido a sua toxicidade e potencialidades carcinogênicas e mutagênicas (CUNHA *et al.*, 2021). O chorume, que é o resultado da deposição de resíduos sólidos em um aterro sanitário por exemplo, se não monitorado constantemente, pode causar um impacto negativo ao ambiente devido ao seu alto grau de componentes orgânicos tóxicos, causando a contaminação de lençóis freáticos e corpos d'água, interferindo no ecossistema da região e causando problemas de

saúde a população que vive em torno desse aterro (LUO *et al.*, 2020).

A avaliação dos aspectos físico-químicos dos efluentes é de extrema importância para se verificar se está sendo seguido os parâmetros que a lei ambiental implementa, monitorar a qualidade da água ao redor do aterro, detectar poluentes em excesso que podem prejudicar o ecossistema local, além de planejar e implementar medidas de controle (LUO *et al.*, 2020). Tratamentos físico-químicos têm se mostrado adequados não apenas para remoção de substâncias refratárias de chorume estabilizado, mas também como uma etapa de refinamento para chorume tratado biologicamente (AFTAB *et al.*, 2019).

Segundo Fernandes Azevedo *et al.* (2012) nos estudos de ecotoxicidade, avaliam-se os efeitos causados ao organismo-teste, por meio da exposição de organismos representativos do ambiente às várias concentrações do efluente ou da substância potencialmente tóxica a ser testada, por um período determinado. Os testes de toxicidade podem ser agudos ou crônicos, cada um objetivando avaliar situações e parâmetros diferentes, mas obtendo respostas que podem se complementar (REBOLLEDO *et al.*, 2020). Diferentes espécies- modelo são utilizadas em biotestes em plantas, incluindo alface (*Lactuca sativa* L.), rúcula (*Eruca sativa* Mill.) e cebola (*Allium cepa* L.) (KLAUCK *et al.*, 2015). Esses testes auxiliam a prever o possível impacto ambiental e suas consequências no meio ambiente.

Nesse contexto, objetivo desse trabalho foi avaliar os possíveis efeitos o chorume tratado e não tratado e as águas superficiais e subterrâneas adjacentes ao aterro sobre aspectos macro e microscópicos da germinação e crescimento de *Allium cepa* L. e a viabilidade ou sobrevivência de *Aliivibrio fischeri*, além de avaliar os aspectos físico-químicos das amostras.

MATERIAL E MÉTODOS

ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DOS EFLUENTES E ÁGUAS

Foram coletados 5 litros de amostra de cada ponto (Figura 1) e realizado as químicas segundo o método Standard para análise de águas e esgoto; Método Nº1060 e norma ABNT NBR 9898 - Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos em corpos receptores.

CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL

O aterro regional está localizado na região Sul do Estado de Minas Gerais ($21^{\circ}30'50''S 45^{\circ}55'21''W$). O empreendimento comporta 4.500 toneladas de resíduos por mês produzindo 1.200.000,00 litros de lixiviado. Esse lixiviado é encaminhado para uma lagoa anaeróbia e, em seguida, após receber um tratamento de diluição, é encaminhado para uma lagoa de chorume facultativo.

O aterro recebe resíduos sólidos urbanos de 11 cidades e municípios diferentes onde vive uma população de aproximadamente 258.857 habitantes (IBGE, 2021).

COLETA DA AMOSTRA

As coletas foram obtidas em um aterro sanitário regional, localizado na região Sul do Estado de Minas Gerais ($21^{\circ}30'50''S 45^{\circ}55'21''W$), em agosto de 2021 em 07 pontos diferentes: montante superficial (MSP), jusante superficial (JSP), ponto de montante subterrâneo (PMM1), ponto de jusante subterrâneo 1 e 2 (PMJ01 e PMJ02), lagoa não tratada (CA) e lagoa tratada (CF) (Tabela 1). Os pontos de coleta se distribuem em todo o empreendimento do aterro sanitário (Figura 1), pegando o Córrego da Laje ($21^{\circ}31'00''S 45^{\circ}55'29''W$) e alguns pontos subterrâneos adjacentes ao aterro, além das duas lagoas de chorume ($21^{\circ}30'55''S 45^{\circ}55'29''W$). Os tratamentos utilizados no experimento foram constituídos das diluições dessas amostras e foram aplicados em biotestes com *Allium cepa* L. e de *Aliivibrio fischeri*.

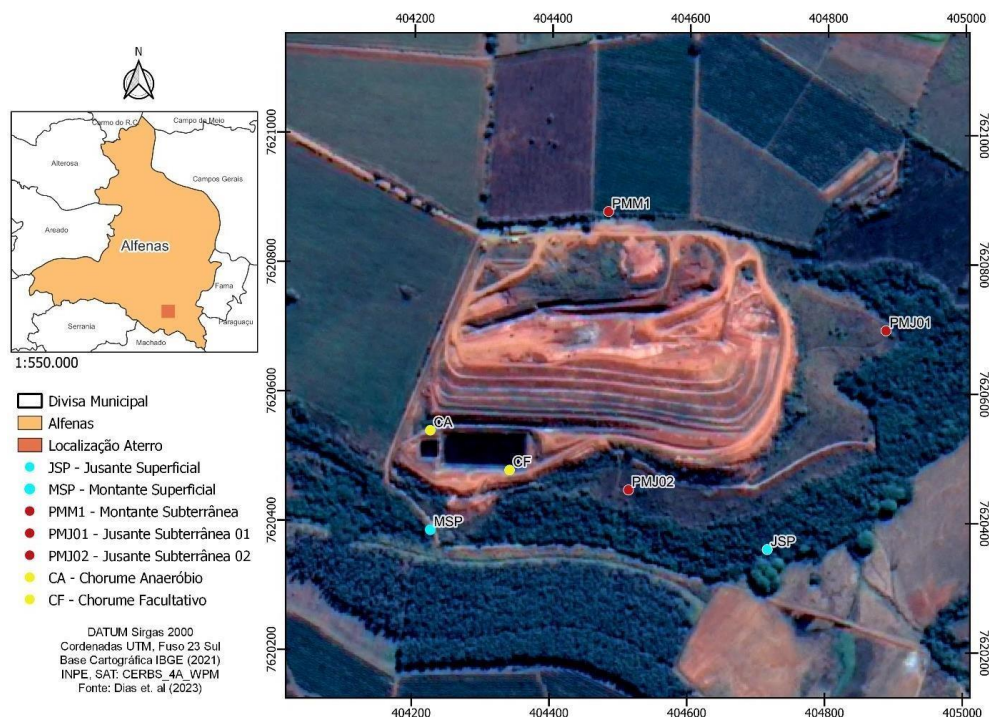


Figura 1: Aterro sanitário, localizado no Sul de Minas Gerais. Na figura estão os 7 pontos de coleta das amostras. MSP – Montante Superficial (21°31'00"S 45°55'29"W); JSP – Jusante Superficial (21°31'01"S 45°55'12"W); PMM1 – Ponto de Monitoramento de Montante Subterrâneo 1 (21°30'44"S 45°55'20"W); PMJ01 – Ponto de Monitoramento do Jusante Subterrâneo 1 (21°30'44"S 45°55'20"W); PMJ02 – Ponto de Monitoramento do Jusante Subterrâneo 2 (21°30'58"S 45°55'19"W); CB – Chorume Bruto (21°30'55"S 45°55'29"W); CT – Chorume Tratado (21°30'57"S 45°55'25"W). Fonte: Autor.

TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICA

Para todos os testes foram feitas três repetições (em placa de Petri 6,5x 6,5 cm), contendo 30 sementes de “Baia periforme”, e.g. *Allium cepa* L., por repetição. Em seguida foram colocadas 3 ml de solução coletada em cada ponto amostral (águas superficiais, águas subterrâneas e chorume) em diferentes concentrações de diluição (0%, 25%, 50%, 75% e 100%), conforme descrito por Amâncio *et al.* (2021) e Simões *et al.* (2013), com adaptações. Foram avaliados os parâmetros de primeira contagem de germinação (24 horas), porcentagem germinação (%G) Índice de Velocidade de Germinação (IVG) calculado através da equação I (SIMÕES *et al.*, 2013).

$$IVG = \frac{N_1}{1} + \frac{N_2}{2} + \dots + \frac{N_n}{n} \quad (I)$$

Onde N_n = número total de sementes germinadas; n = intervalo de tempo.

Para avaliação de comprimento radicular (AR) e comprimento de parte aérea (CPA), dez mudas foram selecionadas em cada placa, e as medidas foram feitas no décimo dia da germinação. Os experimentos foram realizados em estufa tipo B.O.D com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h, durante 10 dias.

TESTE DE TOXICIDADE AGUDA

Para a realização dos testes com *Aliivibrio fischeri*, antes chamada de *Vibrio fischeri* (URBANCZYC *et al.* 2007), foi utilizada a Norma Técnica NBR 15411-3: Ecotoxicologia Aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (ABNT, 2006) e seguindo o protocolo estabelecido pelo software (MICROTOX® Omni Software, versão 4.1) do próprio equipamento MICROTOX®. As bactérias liofilizadas foram, igualmente, obtidas da SDI e ficaram armazenadas na temperatura de -20°C. Cada ampola de bactéria contém uma cultura de 10^8 células. A toxicidade aguda (CE_{50}) foi determinada a partir de nove diluições, em medições da luminescência da bactéria em 30 minutos. Para

determinar o efeito tóxico, o software realiza comparação, em função da luz emitida, entre a amostra em suas diversas diluições e a solução controle. Quanto menos luz emitida, maior a toxicidade da amostra. Logo, a toxicidade relativa da amostra é expressa como a porcentagem de inibição comparada ao controle (STOLTE *et al.*, 2012). Esse valor é dado pela porcentagem da diluição inicial (% v/v) da matriz aquosa analisada. Foi determinada a taxa de inibição metabólica, expressa como inibição da luminescência, de bactérias liofilizadas expostas a diferentes diluições das amostras durante os intervalos de tempo de 5, 15 e 30 minutos.

TESTE DE CITOGENÉTICA

Avaliações citogenotóxicas foram realizadas concomitantemente com testes de fitotoxicidade, nos quais sementes de *Allium cepa* L. foram colocadas nas mesmas condições experimentais descritas anteriormente. Após a protrusão radicular, foram coletadas pontas radiculares, fixadas em Carnoy e armazenado a -18°C. Preparações citológicas foram feitas utilizando o método de esmagamento, conforme descrito por Amâncio *et al.* (2021), com adaptações; 4000 células/tratamento foram avaliadas para determinar o índice mitótico e a ocorrência de anormalidades cromossômicas. As alterações cromossômicas e nucleares quantificadas foram: micronúcleo, ponte anáfase, ponte telófase, C-metáfase, stickness, cromossomo atrasado em anáfase, cromossomo atraso em telófase e núcleo lobular.

Para as análises genotoxicidade foram avaliados o índice mitótico (IM), utilizando a equação II e a frequência de anormalidade cromossômica (AC) através da equação III (AMÂNCIO *et al.*, 2021):

$$IM (\%) = \frac{\text{Número total de células em divisão}}{\text{Número total de células analisadas}} \times 100 \text{ (II)}$$

$$AC (\%) = \frac{\text{Número total de células com anormalidades}}{\text{Número total de células em divisão}} \times 100 \text{ (III)}$$

ANÁLISE DE DADOS

Os dados fitotécnicos foram analisados a partir do software Fiji-ImageJ e obtidos seus valores para cada tratamento. O delineamento experimental foi

inteiramente casualizado composto por fatorial duplo correspondente aos pontos de amostragem e as diluições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste Regressão para ajuste de modelo a 5% de significância utilizando o software Sisvar (FERREIRA, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas análises físico-químicas das amostras coletadas no aterro e pode-se observar que em todos os ensaios realizados, os resultados encontram-se dentro do limite aceitável, segundo a Resolução CONAMA nº 430/11 (BRASIL, 2011) que dispõe sobre condições, parâmetros, padrões e diretrizes para o lançamento de efluentes em corpos de água. O chorume bruto não tratado (CB) analisado apresentou alta condutibilidade, uma alta carga de cloretos e alta taxa de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Demanda Química de Oxigênio (DQO), mas o que se destaca é seu pH alcalino (>8). O chorume tratado (CT), assim como o CB, possui cargas de metais pesados e condutibilidade, DBO e DQO, porém alguns parâmetros foram bem abaixo do valor máximo permitido, não sendo possível a detecção exata.

A relação entre DBO e DQO é usada como uma indicação da biodegradabilidade da matéria orgânica em uma amostra. Quanto maior a proporção de DBO em relação à DQO, maior é a biodegradabilidade e menor é a presença de compostos orgânicos não biodegradáveis (LUO *et al.*, 2020). Essa relação é útil para avaliar a capacidade de um efluente ou água residual de ser tratado biologicamente, uma vez que microrganismos aeróbios requerem matéria orgânica biodegradável para realizar o processo de tratamento (ANAND *et al.*, 2022).

Em relação às águas superficiais do montante e jusante (MSP e JSP, respectivamente), o JSP apresentou níveis consideráveis de DBO e DQO e de *E. coli*. Já o MSP dos níveis detectados dos ensaios, em sua maioria, foi bem baixo (BRASIL, 2011), não tendo uma medição exata, o que indica que apesar de onde está localizado, os tratamentos utilizados nas lavouras ao redor não fazem tanto efeito naquele ponto (Tabela 1).

Tabela 1: Análises físicoquímicas das amostras coletadas no aterro sanitário no dia 13/08/2021. MSP – Montante Superficial; JSP – Jusante Superficial; PMM1 – Ponto de Monitoramento de Montante Subterrâneo 1; PMJ01 – Ponto de Monitoramento do Jusante Subterrâneo 1; PMJ02 – Ponto de Monitoramento do Jusante Subterrâneo 2; CB – Chorume; CT – Chorume Tratado. Fonte: Engequisa.

Ensaios	CB	CT	JSP	MSP	PMM1	PMJ01	PMJ02	Unidade	Método	Conama nº0 430/2011	Conama nº357/2005
Agentes Tensoativos	1.34	<0.10	<0.10	<0.10	<0.0005	<0.0005	<0.0005	mg/L	SM 5540 C	(-)	(-)
Cádmio Total	0.0031	0.0016	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005	mg/L	SM-3120B	0,2 mg/L	0,001 mg/L
Chumbo Total	0.065	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	mg/L	SM-3120 B	0,5 mg/L	0,01 mg/L
Cloretos	5.66	3.56	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	mg/L	SM 4500-CI B	1 mg/L	250 mg/L
Cobre Solúvel	0.065	0.018	<0.005	<0.005	0.039	0.07	0.039	mg/L	SM-3120 B	1 mg/L	0,009 mg/L
Condutividade	39900	15880	18.06	17.39	57.8	28	59.8	µS/cm	SM 2510 B	(-)	(-)
Cromo Total	0.57	0.026	<0.01	<0.1	0.037	0.021	0.037	mg/L	SM-3120 B	1 mg/L	0,05 mg/L
DBO	2291	869	9	<2,0				mg/L O2	SM 5210 B	5 dias a 20°C até 120 mg/L	5 dias a 20°C até 3 mg/L O2
DQO	5728	2172	23	<5,0				mg/L O2	SM 5220 D	(-)	(-)
Escherichia coli	<1	<1	130	73	<1	4	<1,0	UFC/100 mL	SM 9213 D	(-)	(-)
Fósforo Total	18.78	11.96	<0.01	<0.01				mg/L	SM 3120B	(-)	0.02
Níquel total	0.18	0.094	<0.01	<0.01				mg/L	SM-3120B	2 mg/L	0,025 mg/L
Nitrato	<1,0	<1,0	9.27	6.12	<1,0	<1,0	<1,0	mg/L NO3	SM 4500 NO3- E	(-)	10 mg/L
Nitrogênio Amoniacal	975	138	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	mg/L N-NH3	SM 4500NH3 F	20 mg/L	H-7,5->3,7/ pH=8->1,0
pH	8.84	7.99	6.98	6.95	6.08	6.17	6.05	--	SM 4500 H+ B	5,0 a 9,0	6,0 a 9,0
Sólidos sedimentáveis	0.3	0.7						mL/L	SM 2540 F	(-)	(-)
Temperatura da Amostra	26.2	24.3						°C	SM 2550 B	<40°C	<40°C
Zinco Total	0.56	0.1	<0.01	<0.01	0.08	0.08	<0.01	mg/L	SM-3120 B	5 mg/L	0,18 mg/L
Nível d'água					10	1	9.4	m	(-)	(-)	(-)
Nitrito					<0.03	<0.03	<0.03	mg/L NO2	SM 4500-NO2 B	(-)	1 mg/L
Clorofila-a			<0,1	5.3				mg/m3	SM 10200 H	(-)	10µg/L
Densidade de cianobactérias			<1,0	<1,0				Células/mL	SMEWW 10200 A-F	(-)	20000 cel/mL
Óleos e graxas		15000	<10	<10				mg/L	SM 5520 B	100 mg/L	toleram-sc iridescências
Oxigênio dissolvido			6.37	6.32				mg/L O2	SM 4500-O G	(-)	não <6 mg/L O2
Alumínio Total		0.6						mg/L	SM-3120 B	(-)	0,01 mg/L
Arsênio total		0.059						mg/L	SM-3120B	0,5 mg/L	0,01 mg/L
Bário total		0.17						mg/L	SM-3120B	5 mg/L	0,7 mg/L
Cianeto total		<0.02						mg/L	SM 4500-CN	1 mg/L	0,005 mg/L
Cobalto total		0.019						mg/L	SM-3120B	(-)	0,05 mg/L
Cobre total		0.013						mg/L	SM-3120 B	(-)	(-)
Cromo hexavalente		<0.01						mg/L	SM 3500 Cr	0,1 mg/L	(-)
Estanho total		<0.5						mg/L	SM-3120B	4 µg/L	0,063 µg/L
Fenóis		0.23						mg/L	SM 5530 D	0,5 mg/L	0,003 mg/L
Ferro Solúvel		5.7						mg/L	SM-3120 B	15 mg/L	0,3 mg/L
Lítio total		<0.1						mg/L	SM-3120 B	(-)	2,5 mg/L
Mercurio total		<0.0002						mg/L	SM-3112 B	0,01 mg/L	0,0002 mg/L
Prata total		<0.01						mg/L	SM-3120B	0,1 mg/L	0,01 mg/L
Selênio total		<0.01						mg/L	SM-3120 B	0,3 mg/L	0,01 mg/L
Vanádio total		0.11						mg/L	SM-3120 B	(-)	0,1 mg/L
Sólidos em suspensão		330						mg/L	SM 2540 D	(-)	500 mg/L
Boro total		1.69						mg/L	SM-3120B	5 mg/L	0,5 mg/L

Dos resultados obtidos para o parâmetro de porcentagem de germinação (%G) pode-se afirmar que interação entre as categorias (águas superficiais, águas subterrâneas e chorume) com as concentrações foram significativas (Figura 2). O agrupamento das águas mostrou-se constante se comparado ao agrupamento dos chorumes. A lagoa de chorume não tratado bruto reduz mais que a lagoa de chorume tratado (Figura 2-C). Pode-se notar que quanto maior o tempo de contato com o lixiviado, menor será a germinação (Figura 2).

Como podemos observar na Tabela 1, o chorume apresenta uma variedade de compostos que podem prejudicar a germinação das sementes. Primeiro, os compostos tóxicos presentes no chorume podem prejudicar ou matar os embriões e as raízes das plantas, impedindo a germinação. Além disso, o excesso de nitratos e outros nutrientes pode estimular o crescimento de fungos ou outros microrganismos que vão competir com as sementes pelos nutrientes, o que pode explicar a diferença entre os dois chorumes (CT e CB) (KLAUCK *et al.*, 2015) (Figura 2- C).

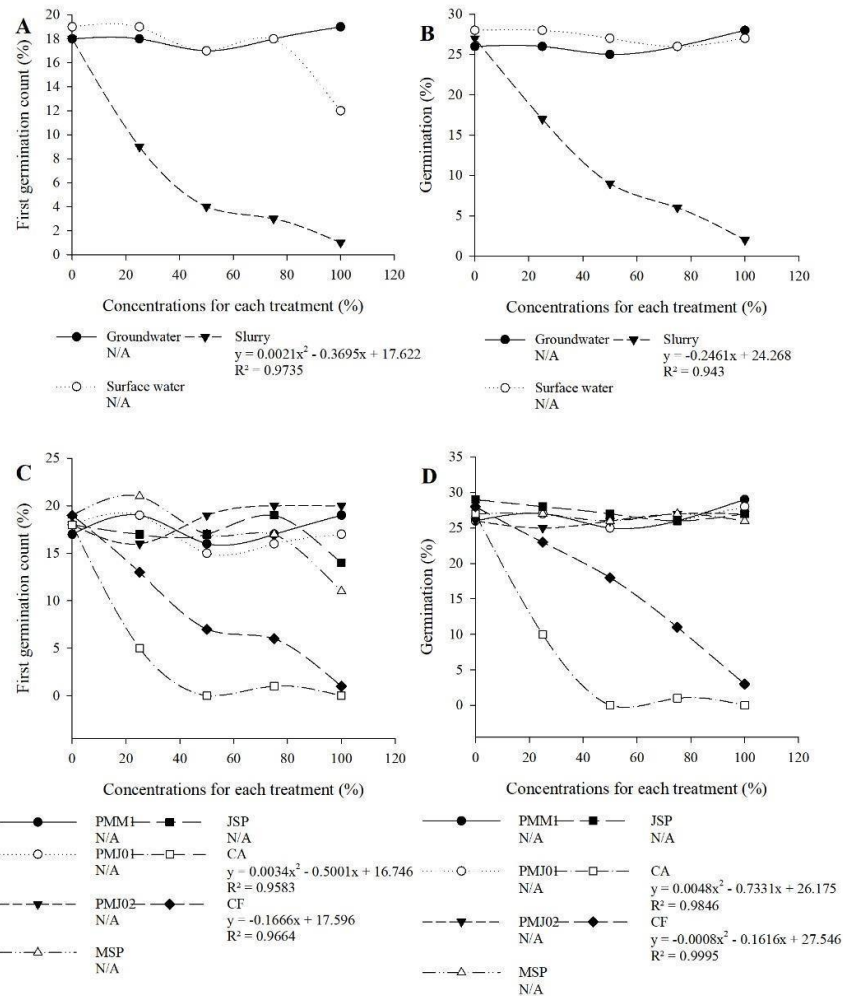


Figura 2: Contagem de Germinação inicial e final de sementes de *Allium cepa* L. expostas ao lixiviado. A: Primeira contagem de germinação (categoria x concentração). B: porcentagem de germinação final (categoria x concentração). C: Primeira contagem de germinação (pontos x concentração). D: porcentagem de germinação (pontos x concentrações). MSP – Montante Superficial; JSP – Jusante Superficial; PMM1 – Ponto de Monitoramento de Montante Subterrâneo 1; PMJ01 – Ponto de Monitoramento do Jusante Subterrâneo 1; PMJ02– Ponto de Monitoramento do Jusante Subterrâneo 2; CB – Chorume; CT – Chorume Tratado.

Pode-se perceber que as sementes de *Allium cepa* L. que foram expostas ao grupo das águas superficiais possuem uma leve tendência em reduzir a velocidade de germinação a partir da concentração de 50%. Há um atraso de germinação nesse mesmo grupo, mas não é suficiente a ponto de não haver germinação (Figura 3).

As águas superficiais e subterrâneas, em comparação com a água destilada (controle), apresentam macro e micronutrientes que podem acelerar o desenvolvimento da semente e sua velocidade de germinação, por exemplo a presença de cobre e cloretos (Tabela 2) (ANAND *et al.*, 2022). Embora tenha observado uma redução do IVG, na concentração real, pode ser relacionado a contaminação pelas lavouras circundantes, visto que nessa terra há plantações de

batata e café. Em contrapartida, não foi observado o mesmo para aquelas sementes expostas às águas subterrâneas, o que indica que não há contaminação do lençol freático.

Um resultado semelhante foi observado por Brkanac *et al.* (2014) em que o efluente do aterro sanitário, quando em contato com o bioteste em altas concentrações, causou a redução da germinação e do alongamento de raiz e parte aérea. Nesse estudo, o chorume em concentrações maiores que 5% inibiram a germinação das sementes de *Allium cepa* L., causando uma mutação, inibindo a proliferação celular e, conseqüentemente, reduzindo o crescimento inicial e atrasando ou impedindo a germinação.

Outro estudo realizando utilizando *Allium cepa* L. exposto a um lixiviado (SHARMA *et al.*, 2021) mostrou que com essa exposição, a concentrações altas, houve a inibição da germinação e o crescimento inicial e proliferação celular foi prejudicado, tendo uma redução em todos os parâmetros analisados (fitotécnicos e citotécnicos).

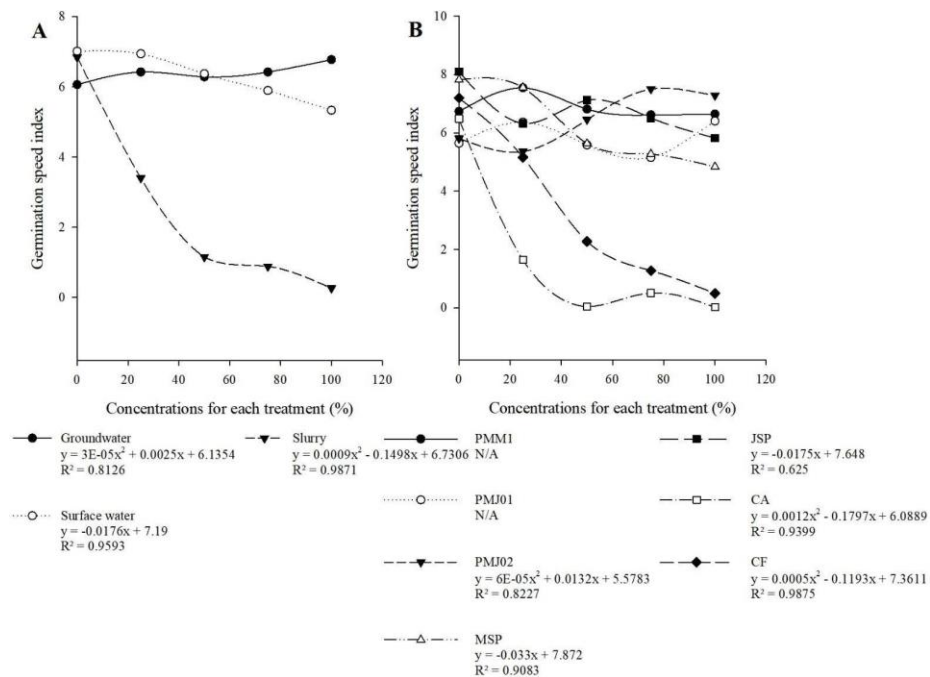


Figura 3: Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Allium cepa* L. expostas às amostras. A: interação entre grupo x concentração. B: interação pontos x concentração. MSP – Montante Superficial; JSP – Jusante Superficial; PMM1 – Ponto de Monitoramento de Montante Subterrâneo 1; PMJ01 – Ponto de Monitoramento do Jusante Subterrâneo 1; PMJ02 – Ponto de Monitoramento do Jusante Subterrâneo 2; CB – Chorume; CT – Chorume Tratado.

A partir da germinação, embora haja uma perda no vigor da semente, notou-se o estímulo do desenvolvimento dos parâmetros morfológicos com relação a raiz.

Observa-se que no agrupamento grupo x concentração houve um comportamento semelhante (Figura 4).

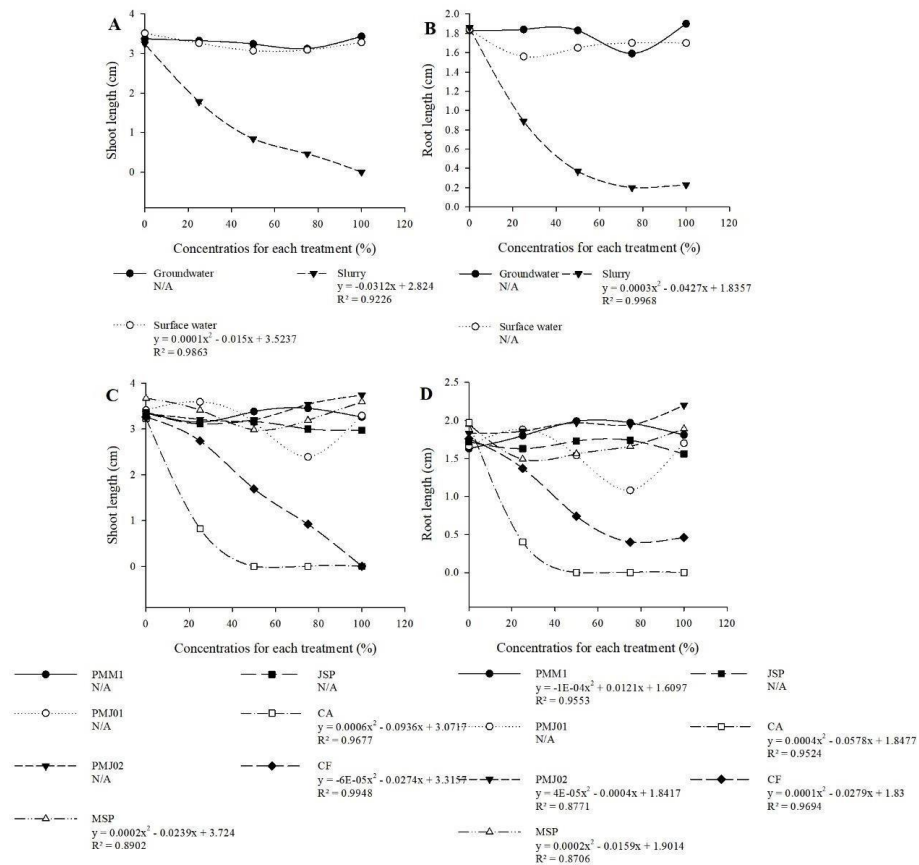


Figura 4: Alongamento de raiz e comprimento de parte aérea de *Allium cepa* L. A: Comprimento de parte aérea (grupos x concentração). B: Alongamento de raiz (grupo x concentração). C: Comprimento de parte aérea (pontos x concentração). D: Alongamento de raiz (pontos x concentração). MSP – Montante Superficial; JSP – Jusante Superficial; PMM1 – Ponto de Monitoramento de Montante Subterrâneo 1; PMJ01 – Ponto de Monitoramento do Jusante Subterrâneo 1; PMJ02 – Ponto de Monitoramento do Jusante Subterrâneo 2; CB – Chorume; CT – Chorume Tratado.

Uma vez que as sementes de *Allium cepa* L. germinaram (Figura 5), a raiz é o primeiro órgão de contato com o contaminante, absorvendo o mesmo. Dessa forma, o contaminante pode romper a parede celular, o que pode prejudicar a proliferação celular e o alongamento da raiz, além de causar danos aos vasos condutores, podendo prejudicar o desenvolvimento da raiz (IQBAL *et al.*, 2018). Apesar de os dados das sementes expostas às águas serem constantes, individualmente, o ponto de monitoramento de montante subterrâneo (PMM1), ponto de monitoramento de jusante subterrâneo 2 (PMJ02) e MSP tendem a aumentar o alongamento da raiz. Anand *et al.* (2022) mostrou que a presença de substâncias (cloretos, fenóis e nitratos) pode aumentar o nível de atividade celular, conseqüentemente, o alongamento da raiz.



Figura 5: Plântulas de *Allium cepa* L. expostas as amostras nas diluições de 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente. A) agrupamento de águas superficiais. B) agrupamento de águas subterrâneas. C) chorume bruto (CB). D) chorume tratado (CT).

Em relação a parte aérea, as sementes expostas às águas superficiais mostraram uma leve redução em seus parâmetros. Na maior concentração é semelhante ao controle. Se analisar individualmente, o montante superficial (MSP) é o ponto que influencia essa redução inicial para as águas superficiais, enquanto para as sementes expostas às águas subterrâneas, analisando individualmente, o PMJ02 é o responsável por essa redução, também. Ressalta-se que a diminuição do crescimento das radículas nos biotestes está relacionada à presença de metabólitos moderadamente fitotóxicos, incapazes de impedir a germinação das sementes, mas limitam o desenvolvimento de suas radículas (ALDANA *et al.*, 2021).

Em relação ao chorume, pode-se afirmar que quanto maior a concentração em que as sementes são expostas, mais afetada será o seu desenvolvimento (Figura 5 C-D) devido as quantidades de nutrientes presentes em sua composição (Tabela 2). Dependendo da quantidade desses nutrientes, o desenvolvimento da planta pode ser favorecido ou não (GUERREIRO- RODRÍGUEZ *et al.*, 2014). Em um estudo comparativo com águas superficiais (MEDEIROS *et al.*, 2018) comparou como um lixiviado nas proximidades de uma bacia hidrográfica poderia alterar essas águas e mostrou que em altas concentrações de *E. coli*, DBO e DQO podem alterar os parâmetros fitotécnicos de um organismo, limitando a germinação e, conseqüentemente, seu crescimento e desenvolvimento.

O CE_{50} é o teste de concentração de amostra que causa um efeito de redução a 50% dos parâmetros avaliados no tempo de exposição e nas condições do teste. Partir das análises das equações ajustadas para os parâmetros avaliados (Tabela 3), foi possível obter o CE_{50} do CA e CF. Para todas as variáveis o CA foi mais tóxico, uma vez que já nas menores concentrações, como por exemplo 16,50% para o comprimento de parte aérea, existe a inibição das variáveis em 50% quando comparadas ao controle. O chorume presente na lagoa anaeróbia gera mais toxicidade nas menores concentrações uma vez que ele é o efluente bruto advindo da produção do aterro, enquanto o chorume presente na lagoa tratada é a consequência do tratamento de efluentes residuais já que o sistema usa o processo de digestão anaeróbia para decompor os materiais biodegradáveis no efluente (LUO *et al.*, 2020).

Tabela 3: Valores de CE_{50} para as variáveis fitotécnicas. CB – Chorume Bruto; CT – Chorume Tratado.

Variável	Valor CE_{50}	Resultado CB (%)	Resultado CT (%)
Primeira contagem germinação	<50%	17,40	51,17
Germinação	<50%	20,05	65,98
IVG	<50%	17,79	39,73
Comprimento parte aérea	<50%	16,50	53,14
Alongamento de Raiz	<50%	19,09	39,19

Para as sementes expostas em águas superficiais, em 100%, houve uma redução em relação as demais (Figura 6). Para aquelas em contato com o chorume, o Índice Mitótico (IM), quando expostas às outras concentrações, é menor que aquelas que são controle. Já entre as maiores concentrações, são iguais (75 e 100%), mas diferem daquelas expostas as menores concentrações (25 e 50%) por apresentarem menor IM.

O chorume é uma solução de compostos nitrogenados e pode afetar a divisão celular da cebola porque ele é rico em nitratos e outras substâncias que podem estimular a divisão celular. O excesso de nitratos pode, no entanto, interferir na regulação normal do crescimento celular elevar à distorção e anormalidade celular

(GUERREIRO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2014). Além disso, o chorume também pode conter contaminantes tóxicos que podem prejudicar o desenvolvimento normal das células e afetar negativamente a divisão celular.

Para a divisão celular normal, o IM deve ser igual ao controle e IM menor que o controle indica a anormalidade na divisão celular (ANAND *et al.*, 2022). O valor mais alto de IM também é uma indicação de crescimento anormal, como proliferação e crescimento descontrolado versus controle negativo (IQBAL *et al.*, 2018). As águas residuais industriais e municipais não tratadas causaram efeitos letais e subletais e a diminuição do índice mitótico (ANAND *et al.* 2022).

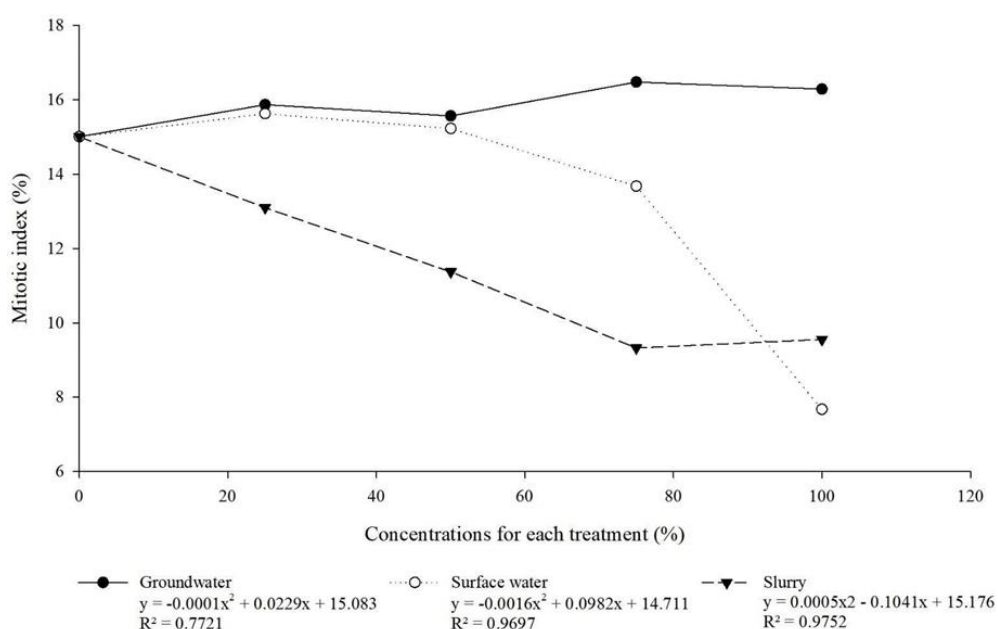


Figura 6: Índice Mitótico (IM) das pontas de raiz de *Allium cepa* L. coletas dia 24 de agosto de 2021.

Observando a Figura 7 as pontas de raiz expostas ao chorume foram as que tiveram uma maior frequência de anormalidades (C-metáfase e *stickness*). As pontas de raiz de *Allium cepa* L. expostas às águas, tanto superficiais quanto subterrâneas, ocorreu anormalidades, o que se deve a processos naturais da própria planta. O que se destaca são aquelas em contato com o chorume, pois devido a presença de metais pesados, compostos nitrogenados e orgânicos, a frequência de anormalidades é maior por conta de se tratar de um contaminante e não a um processo natural.

É relatado que a metáfase com *stickness* perde sua aparência normal e é visto com uma "superfície" pegajosa causando aglomeração cromossômica. A presença desse tipo de anormalidade reflete o efeito tóxico na cromatina, que

geralmente leva à morte celular irreversível (IQBAL *et al.*, 2018). Além disso, a segregação tardia de cromossomos, C- metáfases e pontes em anáfases sugerem o efeito sobre montagem de microtúbulos. Os microtúbulos desempenham funções centrais papel durante o crescimento e ciclo mitótico, como cromossoma migração, estrutura celular e formação da parede celular (TAYACHEW, 2019).

As C-metáfases são indícios de agentes aneugênicos (substâncias ou compostos que afetam o processo de divisão celular e, como resultado, podem levar a alterações na estrutura ou na quantidade de cromossomos em uma célula), pois fornecem a inativação completa do fuso mitótico celular (BHAT *et al.*, 2019).

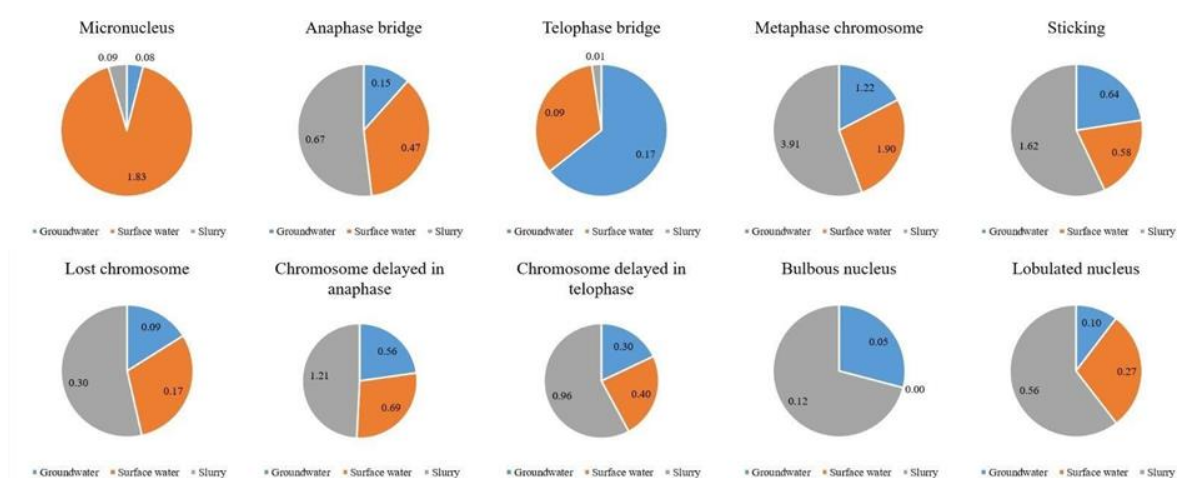


Figura 7: Anormalidades cromossômicas (AC) nos grupos de células expostas ao lixiviado, às águas superficiais e águas subterrâneas.

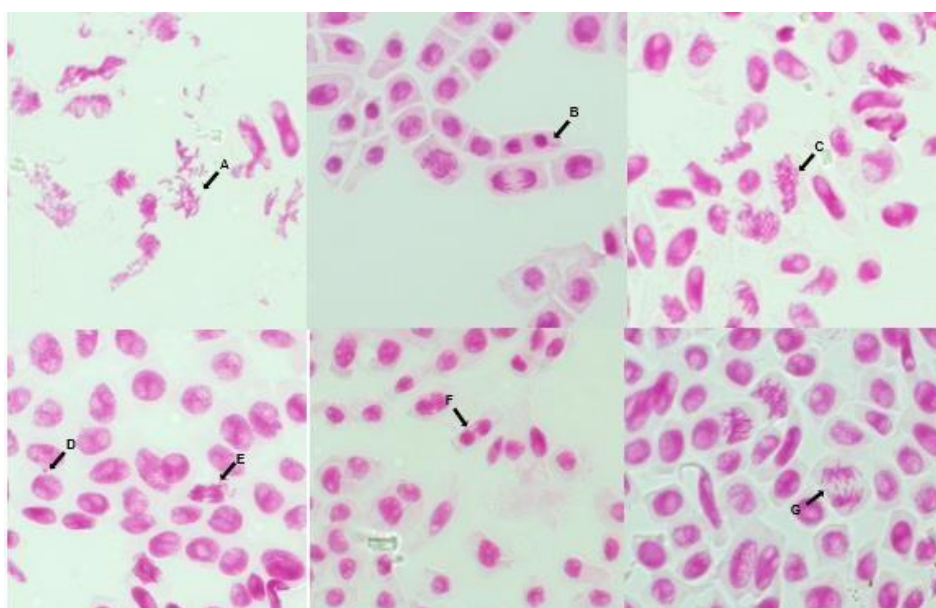


Figura 8: Anormalidades Cromossômicas. A: Metáfase com cromossomo em C; B: Cromossomo atrasado na telófase; C: Aderência; D: Micronúcleo; E: Cromossomo atrasado na anáfase; F: Ponte na telófase; G: Ponte na anáfase.

De forma a complementar aos ensaios já realizados foram utilizados outros ensaios utilizando um microrganismo *Aliivibrio fischeri*, através do equipamento MICROTOX. Nos ensaios verificou-se que para as amostras de CB e CT encontrou-se toxicidade em que a diluição de 31,83% da amostra para CB e 14,33% para o CT já foi suficiente para causar a toxicidade em 50% da comunidade microbiana presente.

Os resultados observados sugerem que esses efluentes são tóxicos uma vez que se observa também a Tabela 4, que a unidade de toxicidade (UT) para esses dois foram de 3,37 e 7,01, respectivamente, para CB e CT, o que classifica os efluentes como tóxicos.

Os resultados corroboram com os estudos realizados por Qiu (QIU *et al.*, 2016) estudou a toxicidade do lixiviado do aterro após tratamento. *Aliivibrio fischeri*, zebrafish (larvas e embriões) foram utilizados para avaliação de toxicidade. Os resultados dos testes de toxicidade mostraram que a toxicidade aguda do lixiviado do aterro foi significativo, 3,41 UT para *Aliivibrio fischeri*, verificando a toxicidade do efluente.

Nos tempos de exposição da bactéria nas amostras de MSP, JSP, PMM1, PMJ01 e PMJ02 foi verificado o efeito de hormese. Hormese é uma relação dose-resposta bifásica caracterizada por estimulação de baixa dose e inibição de alta dose (GAO *et al.*, 2021). Alguns estudos (DE VASCONCELOS *et al.*, 2017; IOELE *et al.*, 2016) sugerem que a hormesis é um sinal de toxicidade, mas que não é possível afirmar com clareza se há toxicidade ou não por se tratar de um resultado inconclusivo.

Tabela 4: Valores CE₅₀ para a bactéria *Aliivibrio fischeri* expostas às amostras coletas no aterro sanitário.

Amostras	Tempo de exposição	CE₅₀	UT	Classificação
CA	30	31,86	3,378	Tóxico
CF		14,43	7,083	Tóxico
JSP	30	-	-	Hormesis
MSP	30	-	-	Hormesis
PMM1	30	-	-	Hormesis
PMJ01	30	-	-	Hormesis
PMJ02	30	-	-	Hormesis

Os resultados obtidos nesse estudo corroboram com os estudos realizados pelos autores citados (LUO *et al.*, 2020; IQBAL *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2022; MEDEIROS *et al.*, 2018; ANAND *et al.*, 2022), no qual o efluente de um aterro sanitário é tóxico e se não for constantemente monitorado, o impacto que pode causar a área ao redor dele e à saúde das pessoas pode aumentar consideravelmente. Apesar desses resultados, mais análises deverão ser feitas para acompanhar esse efluente ao longo do tempo, conferindo se os parâmetros se mantiveram.

CONCLUSÃO

A partir dos dados gerados, pode-se concluir que, nas sementes sujeitas às amostras de chorume, em altas concentrações, há uma influência negativa nos parâmetros de fitotoxicidade, enquanto nos parâmetros de citotoxicidade houve um aumento nas anormalidades cromossômicas e uma leve redução no índice mitótico. Já as sementes submetidas às amostras de águas superficiais e subterrâneas adjacentes ao aterro, os parâmetros de fitotoxicidade se mantiveram constantes. Em relação aos parâmetros de citotoxicidade, o Índice Mitótico (MI) nas águas subterrâneas foi constante para aquelas sujeitas às amostras de águas superficiais, houve uma queda nesse MI.

Os resultados das análises feitas na bactéria *Aliivibrio fischeri* corroboram com os resultados das outras análises feitas, pois mostram que há toxicidade no chorume tratado e não tratado e que nas águas adjacentes ao aterro, não foi indicado toxicidade. Mesmo com esses resultados, é importante frisar o quanto necessário é o monitoramento do aterro sanitário para que não haja impactos negativos na área ao redor.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de expressar sua sincera gratidão à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro fornecido por meio da bolsa de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCA).

REFERÊNCIAS

- ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS) NBR 15411. Ecotoxicologia Aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente), 2006.
- AFTAB, Bilal et al. Targeted removal of organic foulants in landfill leachate in forward osmosis system integrated with biochar/activated carbon treatment. **Water research**, v. 160, p. 217- 227, 2019.
- ALDANA PERDOMO, Yair et al. Evaluación del manejo y disposición final de los residuos orgánicos en el marco de los (PGIRS) de los municipios que componen la provincia de la sabana centro de Cundinamarca. 2021.
- AMÂNCIO, Bárbara Christina Silva et al. Allelopathic activity of different *Byrsonima* spp. leaf extracts on *Lactuca sativa* L. bioassay. **Biologia**, v. 76, n. 11, p. 3201-3209, 2021.
- AMORIM, Ana Maria Pereira Barreto, et al. Eficiência de um sistema piloto utilizando áreas alagadas no pós-tratamento do lixiviado gerado no Aterro Sanitário de Curitiba, Curitiba, Paraná, Brasil. *Engenharia Sanitaria e Ambiental* 23.3 (2018): 535-542.
- ANAND, N.; PALANI, Sankar Ganesh. A comprehensive investigation of toxicity and pollution potential of municipal solid waste landfill leachate. **Science of The Total Environment**, v. 838, p. 155891, 2022.
- BHAT, Sartaj Ahmad et al. Biomonitoring of genotoxicity of industrial wastes using plant bioassays. **Bioresource Technology Reports**, v. 6, p. 207-216, 2019.
- BRASIL. Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005. Conselho Nacional de Meio Ambiente.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 413, de 24 de novembro de 2011. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 29 nov. 2011. Seção 1, p. 106.
- BRKANAC, Sandra et al. Removal of landfill leachate toxicity and genotoxicity by two treatment methods. **Arhiv za higijenu rada i toksikologiju**, v. 65, n. 1, p. 89-98, 2014.
- CONSONI, Ângelo José et al. Disposição final de lixo & Legislação e Licenciamento Ambiental. Lixo Municipal: Manual de Gerenciamento Integrado. CEMPRE, p. 241-282 e 305-345. 2018. Disponível em: <http://cempre.org.br/upload/Lixo_Municipal_2018.pdf>.
- CUNHA, Gabriela Nobre; PASQUALETTO, Antonio. Impactos socioeconômicos e ambientais do transporte ao processamento da cana-de-açúcar na Região Norte de Goiás. **COLÓQUIO-Revista do Desenvolvimento Regional**, v. 18, n. 4, out/dez, p. 301-322, 2021.
- DE VASCONCELOS, E. C.; DALKE, C. R.; DE OLIVEIRA, C. M. R. Influence of select antibiotics on *Vibrio fischeri* and *Desmodesmus subspicatus* at $\mu\text{g L}^{-1}$

concentrations. **Environmental Management**, v. 60, p. 157-164, 2017.

FERNANDES AZEVEDO, Bruna *et al.* Toxic effects of mercury on the cardiovascular and central nervous systems. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, 2012.

FERREIRA, Daniel Furtado. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs: Sisvar. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

GAO, Qing *et al.* Investigations on the influence of energy source on time-dependent hormesis: A case study of sulfadoxine to *Aliivibrio fischeri* in different cultivation systems. **Science of The Total Environment**, v. 775, p. 145877, 2021.

GRAUPMANN, O., Martins, M. A., Consul, M., & Cechin, L. (2019). Análise da resistência à compressão de concretos com adição de cinza de aterro sanitário. *Matéria* (Rio de Janeiro), 24.

GUERRERO-RODRÍGUEZ, D. *et al.* Phytotoxic effect of landfill leachate with different pollution indexes on common bean. **Water, air, & soil pollution**, v. 225, p. 1-7, 2014.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo Brasileiro 2021. Minas Gerais, 2021.

IOELE, Giuseppina; DE LUCA, Michele; RAGNO, Gaetano. Acute toxicity of antibiotics in surface waters by bioluminescence test. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 12, n. 3, p. 220-226, 2016.

IQBAL, Munawar *et al.* Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: a review. **Chemistry International**, v. 5, n. 1, p. 1-80, 2019.

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, p. 57-62, 2015.

LUO, Hongwei *et al.* 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, 2020.

MEDEIROS, Waneska Maria Vasconcelos; SILVA, Carlos Ernando da; LINS, Ruceline Paiva Melo. Avaliação sazonal e espacial da qualidade das águas superficiais da bacia hidrográfica do rio Longá, Piauí, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 13, 2018.

QIU, Aifeng *et al.* Evaluation of the treatment process of landfill leachate using the toxicity assessment method. **International journal of environmental research and public health**, v.13, n. 12, p. 1262, 2016.

RANI, Aishwarya *et al.* Treatment of urban municipal landfill leachate utilizing garbage enzyme. **Bioresource Technology**, v. 297, p. 122437, 2020

REBOLLEDO, Uriel Arreguin *et al.* Effect of salinity and temperature on the acute and chronic toxicity of arsenic to the marine rotifers *Proales similis* and *Brachionus ibericus*. *Marine Pollution Bulletin*, v. 157, p. 111341, 2020.

SANTOS, J. P. M., Neto, L. C. P., Freitas, M. S., Malpass, G. R. P., Ferreira, D. C., & de Castro, C. M. (2021). Tratamento eletroquímico de chorume empregando diferentes eletrodos. *Research, Society and Development*, 10(15), e447101522102-e447101522102.

SHARMA, Pooja; PURCHASE, Diane; CHANDRA, Ram. Residual pollutants in treated pulp paper mill wastewater and their phytotoxicity and cytotoxicity in *Allium cepa*. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 43, n. 5, p. 2143-2164, 2021.

SIMÕES, Mateus Salomão *et al.* Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas**, v. 26, n. 3, p. 29-36, 2013.

STOLTE, S.; STEUDT, S.; AREITIOAURTENA, O.; PAGANO, F.; THÖMING, J.; STEPNOWSKI, P.; IGARTUA, A. Ionic liquids as lubricants or lubrication additives: An ecotoxicity and biodegradability assessment. *Chemosphere*, 89, 1135–1141, 2012.

TAYACHEW, Admas. ASSESSMENT OF CYTOTOXICITY AND GENOTOXICITY POTENTIAL OF EFFLUENT FROM BAHIR DAR TANNERY USING ALLIUM CEPA. 2019. Tese de Doutorado.

URBANCZYC H., AST J.; HIGGINS M.; CARSON J., DUNLAP P. Reclassification of *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio salmonicida* and *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Aliivibrio logei* com. nov., *Aliivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v.57, p. 2823–2829, 2007.

ARTIGO II: COMPORTAMENTO SAZONAL DE BIOTESTES SUBMETIDOS A TOXICIDADE DE EFLUENTES DE UM ATERRO SANITÁRIO

Resumo

O biomonitoramento é essencial para avaliar a saúde ambiental e a exposição a substâncias tóxicas, utilizando biotestes com plantas e bactérias como *Allium cepa* L. e *Aliivibrio fischeri*. Esses biotestes permitem identificar e quantificar agentes tóxicos, avaliar a eficácia de tratamentos e mitigação, além de analisar os impactos ambientais de diferentes fontes de poluição. A partir do biomonitoramento, os efluentes e águas superficiais possuem efeito fitocitogenotóxicos? O uso dos biotestes *Allium cepa* L. e *Aliivibrio fischeri* foram eficientes no monitoramento? Foram realizadas três repetições em placas de Petri, contendo 30 sementes de *Allium cepa* L. por repetição. Em seguida, foram adicionados 3 ml da solução coletada de cada ponto amostral (águas superficiais e chorume) em diferentes concentrações de diluição. No sétimo dia da germinação, foram selecionadas dez plântulas em cada placa para avaliar o comprimento radicular (CR) e o comprimento de parte aérea (CPA). Os experimentos foram conduzidos em uma estufa tipo B.O.D, com temperatura de 20°C e um fotoperíodo de 12 horas, ao longo de 7 dias. A toxicidade aguda de *Aliivibrio fischeri* (CE₅₀) foi determinada a partir de nove diluições, em medições da luminescência da bactéria em 30 minutos. Delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de médias utilizando o método de Skott-Knott. O estudo constatou que a germinação e o crescimento de *Allium cepa* L. foram influenciados pelo índice pluviométrico e pelas concentrações das amostras. A diluição das amostras contaminadas resultou em melhorias na germinação, indicando a possibilidade de reduzir o efeito negativo dos efluentes através desse método de tratamento. O teste com *Aliivibrio fischeri* mostrou toxicidade nas amostras de chorume bruto e tratado, enquanto as águas apresentaram resultados não tóxicos ou inconclusivos. A pluviosidade desempenhou um papel importante na diluição das amostras e na interação entre as amostras e as condições climáticas. Nos biotestes de *Allium cepa* L. e *Aliivibrio fischeri*, a diluição das amostras em altos níveis de pluviosidade e capacidade de operação baixos resultou em menor efeito nos parâmetros fitotécnicos, indicando maior eficácia do tratamento, enquanto baixos níveis de pluviosidade e capacidade máxima do aterro resultaram em efeitos mais significativos, demonstrando a importância da diluição para reduzir o impacto das amostras e melhorar o tratamento.

Palavras-chave: Chorume, ensaios ecotoxicológicos, *Allium cepa* L., *Aliivibrio fischeri*, biomonitoramento

Abstract

Biomonitoring is essential for assessing environmental health and exposure to toxic substances, using biotests with plants and bacteria such as *Allium cepa* L. and *Aliivibrio fischeri*. These biotests allow for the identification and quantification of toxic agents, assessment of treatment and mitigation efficacy, and analysis of environmental impacts from different pollution sources. From biomonitoring, do effluents and surface waters exhibit phytocytogenotoxic effects? Were the biotests with *Allium cepa* L. and *Aliivibrio fischeri* effective in monitoring? Three repetitions were conducted in Petri dishes, each containing 30 *Allium cepa* L. seeds per repetition. Subsequently, 3 ml of the collected solution from each sampling point (surface waters and leachate) was added at different dilution concentrations. On the seventh day of germination, ten seedlings were selected from each plate to assess root length (RL) and shoot length (SL). Experiments were conducted in a B.O.D incubator at 20°C with a 12-hour photoperiod over 7 days. The acute toxicity of *Aliivibrio fischeri* (EC50) was determined from nine dilutions, measuring bacterial luminescence over 30 minutes. The experimental design used was completely randomized, and data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and mean comparison using the Skott-Knott method. The study found that germination and growth of *Allium cepa* L. were influenced by rainfall and sample concentrations. Dilution of contaminated samples resulted in improved germination, indicating the potential to mitigate the negative effects of effluents through this treatment method. Testing with *Aliivibrio fischeri* showed toxicity in both raw and treated leachate samples, while waters showed non-toxic or inconclusive results. Rainfall played a significant role in sample dilution and interaction with climatic conditions. In the biotests with *Allium cepa* L. and *Aliivibrio fischeri*, dilution of samples under high rainfall and low landfill operation capacity resulted in less impact on phytotechnical parameters, indicating greater treatment efficacy, whereas low rainfall and maximum landfill capacity resulted in more significant effects, highlighting the importance of dilution in reducing sample impact and improving treatment.

Keywords: Leachate, ecotoxicological assays, *Allium cepa* L., *Aliivibrio fischeri*, biomonitoring.

INTRODUÇÃO

O biomonitoramento é uma abordagem científica crucial para avaliar e acompanhar a saúde ambiental e a exposição de organismos vivos a substâncias químicas e poluentes permitindo identificar e quantificar a presença de agentes tóxicos, monitorar a saúde de populações animais e vegetais, bem como avaliar a eficácia dos tratamentos utilizados e em relação a medidas de mitigação (BHAT *et al.*, 2019). Essas informações são essenciais para identificar eventuais vazamentos, lixiviação de substâncias tóxicas, presença de gases poluentes e outros impactos ambientais negativos decorrentes da decomposição dos resíduos depositados (LOPES; SILVA, 2020). Porém, mesmo com todas as precauções, os aterros

sanitários podem apresentar riscos ambientais se não forem devidamente monitorados, por isso está prática contínua fornece informações sobre a eficácia das práticas existentes (PARVIN; TAREQ, 2021).

Também utilizados no monitoramento, biotestes com planta-modelos como por exemplo *Allium cepa* L. (cebola), têm sido utilizados como prática para testar e relatar a toxicidade de efluentes industriais e residenciais (IQBAL *et al.*, 2019, 2020; CHEN *et al.*, 2019; BHATT *et al.*, 2017). A *Allium cepa* L. é comumente usada em sistemas de biomonitoramento quando relacionadas com testes de fitotoxicidade (parâmetros germinativos e de crescimento inicial), citotoxicidade (índice mitótico) e genotoxicidade (anormalidades cromossômicas) (ANAND *et al.*, 2022; MAZZEO *et al.*, 2018).

Outro tipo de biomonitoramento empregado a fim de quantificar a toxicidade de efluentes é o bioteste com *Aliivibrio fischeri*. Anteriormente conhecida como *Vibrio fischeri*, *Aliivibrio fischeri* é um organismo procarioto marinho bioluminescente que possui a capacidade de emitir luz quando exposto a certas substâncias ou condições ambientais (ABBAS *et al.*, 2018). Essa bactéria é amplamente utilizada em estudos de toxicidade de efluentes industriais, residenciais e agrícolas, bem como na avaliação da qualidade da água em diferentes ambientes, incluindo rios, lagos, estuários e áreas costeiras (IQBAL *et al.*, 2019).

O biomonitoramento, através dos biotestes de toxicidade, também oferecem a possibilidade de identificar e avaliar a eficácia de medidas de remediação e tratamento de efluentes tóxicos (BHAT *et al.*, 2019). Com base nos resultados obtidos pelos biotestes, é possível desenvolver estratégias mais eficientes para minimizar ou neutralizar os impactos negativos desses efluentes no meio ambiente (MAZZEO *et al.*, 2018; CHOWDHARY *et al.*, 2022).

A utilização dos biotestes tem sido aplicada para monitorar a eficácia de tratamentos de efluentes, avaliar a contaminação por metais pesados, pesticidas, poluentes orgânicos e compostos emergentes (CASTRO *et al.*, 2019), e ainda, esse biomonitoramento é frequentemente utilizado em estudos de ecotoxicologia para avaliar os efeitos de misturas complexas de substâncias e analisar os impactos ambientais de diferentes fontes de poluição (WANG & WANG, 2021).

Dadas as informações apresentadas e a necessidade de estudos de monitoramento em empreendimentos com potencial poluidor, o objetivo com este trabalho foi realizar um biomonitoramento sazonal dos efluentes e águas superficiais adjacentes de um aterro sanitário classe II. A partir do biomonitoramento, os efluentes e águas superficiais possuem efeito fitocitogenotóxicos? O uso dos biotestes *Allium cepa* L. e *Aliivibrio fischeri* foram eficientes no monitoramento?

MATERIAL E MÉTODOS

ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Foram coletados 5 litros de amostra de cada ponto e realizado as análises físico-químicas segundo o método Standard para análise de águas e esgoto; Método Nº1060 e norma ABNT NBR 9898 - Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores.

CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL

O aterro regional está localizado na região Sul do Estado de Minas Gerais (21°30'50"S 45°55'21"W). O empreendimento comporta 4.500 toneladas de resíduos por mês produzindo 1.200.000,00 litros de lixiviado. Esse lixiviado é encaminhado para uma lagoa anaeróbia e, em seguida, após receber um tratamento de diluição, é encaminhado para uma lagoa facultativa.

O aterro recebe resíduos sólidos urbanos de 11 cidades e municípios diferentes onde vive uma população de aproximadamente 258.857 habitantes (IBGE, 2021). As coletas foram obtidas em um aterro sanitário regional, localizado na região Sul do Estado de Minas Gerais (21°30'50"S 45°55'21"W) nos meses de agosto, outubro e dezembro de 2021 e nos meses de fevereiro, abril e junho de 2022, nos pontos de montante superficial (MSP), jusante superficial (JSP) e nas lagoas de chorume bruto (CB) e de chorume tratado (CT). Os pontos de coleta se distribuem em todo o empreendimento do aterro sanitário, pegando o Córrego da Laje (21°31'00"S 45°55'29"W) e as duas lagoas de chorume (21°30'55"S 45°55'29"W). Os tratamentos utilizados no experimento foram constituídos das diluições dessas amostras e foram aplicados em biotestes com *Allium cepa* L. e de *Aliivibrio fischeri*.

TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICA

Para todos os testes foram feitas três repetições (em placa de Petri 6,5x 6,5 cm), contendo 30 sementes de “Baia periforme”, e.g. *Allium cepa* L., por repetição (Figura 1). Em seguida foram colocadas 3 ml de solução coletada em cada ponto amostral (águas superficiais e chorume) em diferentes concentrações de diluição (0%, 25%, 50%, 75% e 100%), conforme descrito por Amâncio *et al.* (2021) com adaptações.

Foram avaliados os parâmetros de porcentagem germinação (%G):

$$IVG = \frac{N_1}{1} + \frac{N_2}{2} + \dots + \frac{N_n}{n} \quad (I)$$

Índice de Velocidade de Germinação (IVG) calculado através da equação I. Onde N_n = número total de sementes germinadas; n = intervalo de tempo.

Para avaliação de comprimento radicular (CR) e comprimento de parte aérea (CPA), dez mudas foram selecionadas em cada placa, e as medidas foram feitas no sétimo dia da germinação. Os experimentos foram realizados em estufa tipo B.O.D com temperatura de 20°C e fotoperíodo de 12h, durante 7 dias.

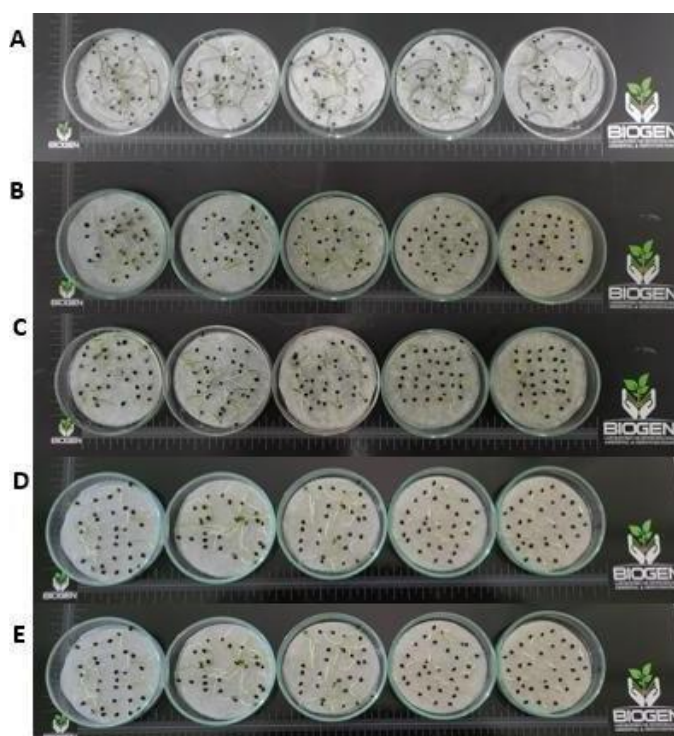


Figura 1: Bioteste de *Allium cepa* L. submetidas as diferentes amostras do mês. A– Agosto/2021; B– outubro/2021; C– dezembro/2021; D– fevereiro/2022; E– abril/2022.

TESTE DE TOXICIDADE AGUDA

Para a realização dos testes com *Aliivibrio fischeri*, antes chamada de *Vibrio fischeri* (URBANCZYC *et al.* 2007), foi utilizada a Norma Técnica NBR 15411-3: Ecotoxicologia Aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (ABNT, 2006) e seguindo o protocolo estabelecido pelo software (MICROTOX® Omni Software, versão 4.1) do próprio equipamento MICROTOX®. As bactérias liofilizadas foram, igualmente, obtidas da SDI e ficaram armazenadas na temperatura de -20°C. Cada ampola de bactéria contém uma cultura de 10⁸ células. A toxicidade aguda (CE₅₀) foi determinada a partir de nove diluições, em medições da luminescência da bactéria em 30 minutos. Para determinar o efeito tóxico, o software realiza comparação, em função da luz emitida, entre a amostra em suas diversas diluições e a solução controle. Logo, a toxicidade relativa da amostra é expressa como a porcentagem de inibição comparada ao controle (STOLTE *et al.*, 2012). Esse valor é dado pela porcentagem da diluição inicial (% v/v) da matriz aquosa analisada.

ANÁLISE DE DADOS

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado composto por fatorial duplo correspondente aos pontos de amostragem e as diluições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de médias utilizando Skott-Knott através do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do monitoramento realizado foi possível constatar o comportamento da amostra em relação a germinação de *Allium cepa* L. (Fig. 2-A). Quando se discute biomonitoramento de uma amostra ambiental, diz respeito a como essa amostra se encontra no ambiente, ou seja, em sua forma bruta (100%) e o que acontece com ela ao longo de um determinado tempo. Pode-se observar que nos meses nos quais houve germinação nas concentrações de 100% foi porque houve um aumento no índice pluviométrico da região e, conseqüentemente, houve uma diluição do chorume, devido ao aumento do índice de pluviosidade, reduzindo o efeito do efluente e aumentando a eficácia do tratamento, o que possibilitou a germinação (Figura 2-B).

Enquanto que nos meses nos quais não houve germinação nas concentrações de 100%, foi caracterizado um período de seca no qual o índice pluviométrico está mais baixo que em outros meses (Figura 2-B). Por conta dessa condição, o chorume fica mais concentrado e lagoa acaba por trabalhar em sua capacidade máxima e, por conseguinte, a eficiência do tratamento é reduzida (Figura 2-C).

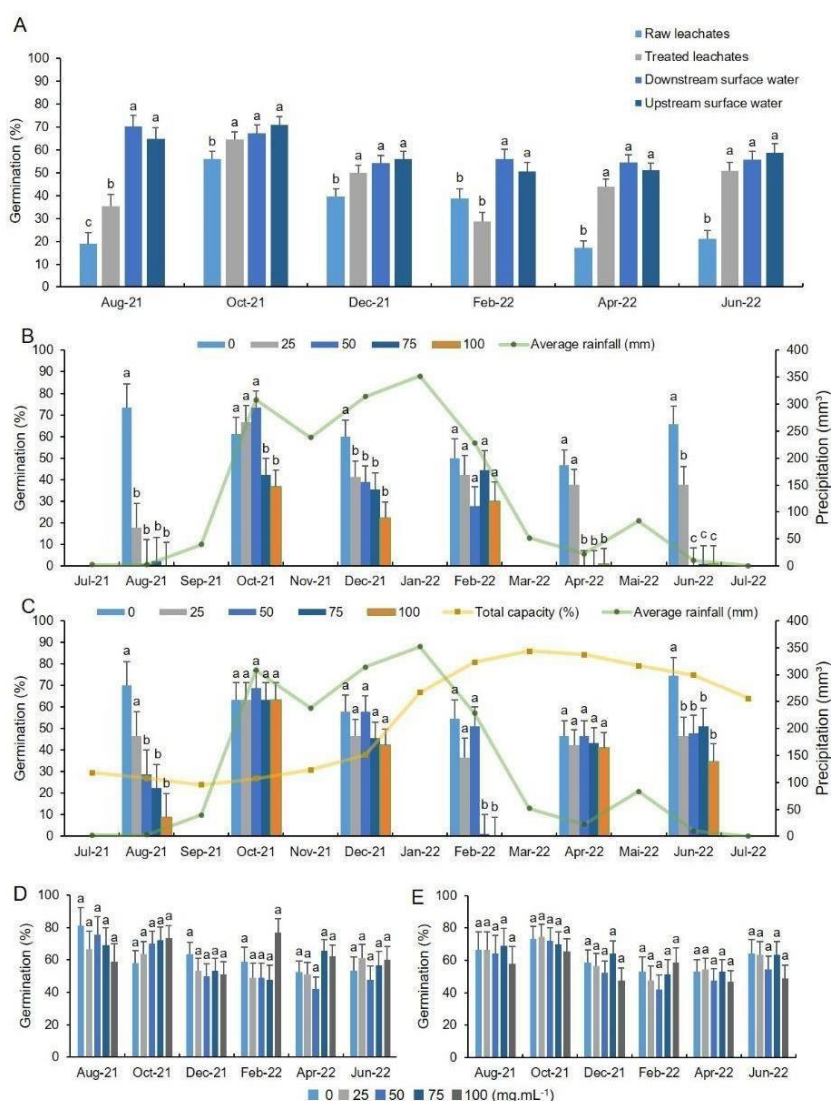


Figura 2: Porcentagem de Germinação (%Germinação) referente as amostras coletadas: A – comparação de média bimestral dos tratamentos com 5% de significância; B – comparação das médias das concentrações de diluições 0,25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Raw leachate (RL); C – comparação das médias das concentrações das diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Treated leachate (TL); D – comparação das médias das concentrações das diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Downstream surface water (DSW); E – comparação das médias das concentrações das diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Upstream surface water (USW).

O Índice de Velocidade de Germinação (GSI) (Figura 3) foi o parâmetro mais

sensível, pois é possível mostrar o comportamento das diluições das amostras e em como é possível se chegar a um método de tratamento que se aproxime mais do controle (0%). Nas concentrações de 50% foi viável de ser o mais perto do controle ao diluir a amostra, o que pode causar uma redução de efeito na mesma possibilitando a germinação das sementes de *Allium cepa* L. (Figura 3B-E).

Esse resultado sugere que se um possível método de tratamento reduzir os efeitos inibitórios e promover a germinação poderia ser alcançado através da diluição das amostras contaminadas. Ao diluir a amostra em 50%, os efeitos negativos sobre as sementes são reduzidos o suficiente para permitir que elas germinem. Porém apesar da melhoria na germinação observada nas concentrações de 50%, ainda não se alcançou o nível do controle (0%). Isso significa que mesmo com o aumento dos níveis de pluviosidade, e mesmo o aterro operando em sua capacidade mínima, a presença da substância continua a impactar negativamente o processo de germinação.

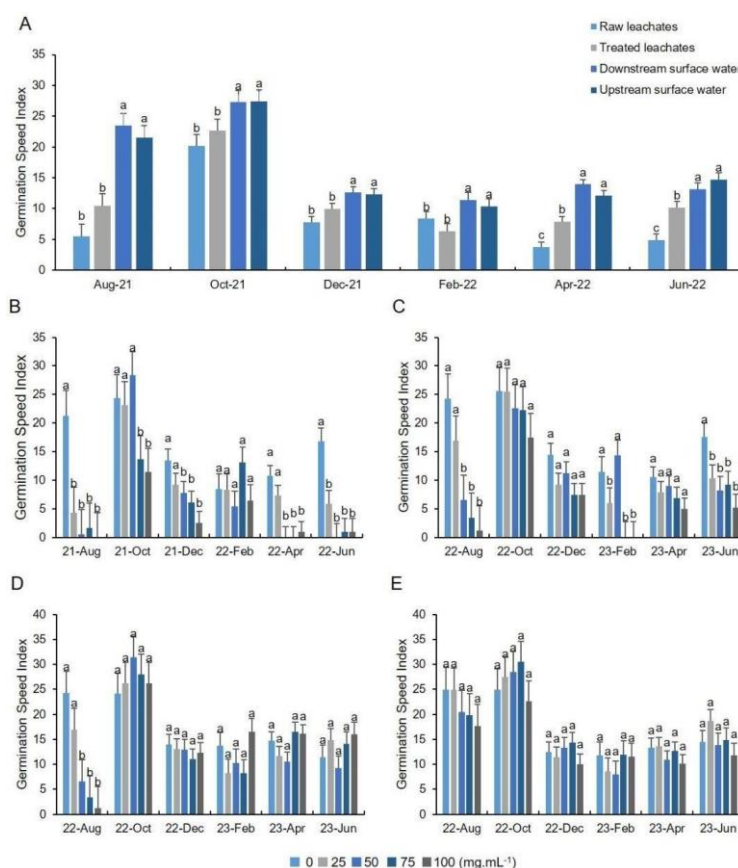


Figura 3: Índice de Velocidade de Germinação (GSI) referente as amostras coletadas: A – comparação de média bimestral dos tratamentos com 5% de significância; B – comparação das médias das concentrações de diluições 0,25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Raw leachate (RL); C – comparação das médias as concentrações das diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Treated leachate (TL); D – comparação das médias das concentrações das diluições 0, 25, 50, 75

e 100%, respectivamente, de Downstream surface water (DSW); E – comparação das médias das concentrações das diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Upstream surface water (USW).

Em relação as concentrações, uma vez que há uma precipitação da amostra, a mesma dilui até apresentar um comportamento semelhante ao controle. Luo *et al.* (2020) relaciona os tipos de tratamento de acordo com a idade do lixiviado no aterro: em caso de um lixiviado maduro (>10 anos), alguns dos tratamentos mais eficazes são o de precipitação natural, troca iônica e osmose reversa, sendo estes os mais favoráveis para haver diluição e filtração do lixiviado.

Outro fator que pode contribuir para o favorecimento do tratamento é o tamanho da área na qual a lagoa está localizada (COSTA *et al.*, 2019), quanto menor a área da lagoa, maior será o efeito do lixiviado e, por consequência, menos eficaz será o tratamento. O mesmo ocorre quando a lagoa é maior, então quanto maior a lagoa, menor será o efeito e a eficácia de tratamentos será maior, barateando os custos do mesmo.

Com relação ao alongamento de raiz (AR) e comprimento de parte aérea (CPA), pode-se observar que nos meses em que houve tem um índice de pluviosidade alto (Figura 2-B), a germinação ocorreu e, por conseguinte, houve AR e CPA (Figura 3-A). Analisando as amostras de chorume bruto (CB) (Figura 3-B), ao longo dos meses, nota-se que não houve germinação nas concentrações mais altas (50, 75 e 100%), logo não houve AR ou CPA, e esse comportamento se manteve ao longo dos meses de biomonitoramento. O comportamento das amostras de CT (Figura 3-C) também se manteve o mesmo, mostrando que mesmo com o índice de pluviosidade alto ou baixo, o bioteste de *Allium cepa* L. sofreu um efeito quando exposta ao efluente em suas concentrações mais altas.

Percebe-se que nos tratamentos montante superficial (MSP) e jusante superficial (JSP) (Figura 3-D e 3-E, respectivamente) foram semelhantes em seu comportamento ao longo do biomonitoramento, o que pode indicar que apesar do local onde está inserido o córrego, não sofreu alterações do empreendimento do aterro. Apesar da possível presença de cloretos e cobre solúvel, que é comum para esse tipo de amostra (AMORIN *et al.*, 2018), mesmo em baixas concentrações e ao longo do tempo, a amostra pode começar a sofrer efeitos que interferem em sua qualidade.

É importante destacar que a redução no crescimento das radículas nos testes biológicos (Figura 3-A) está associada à presença de metabólitos moderadamente fitotóxicos. Embora esses metabólitos não sejam capazes de impedir a germinação das sementes, eles têm o efeito de restringir o desenvolvimento das radículas (ALDANA *et al.*, 2021).

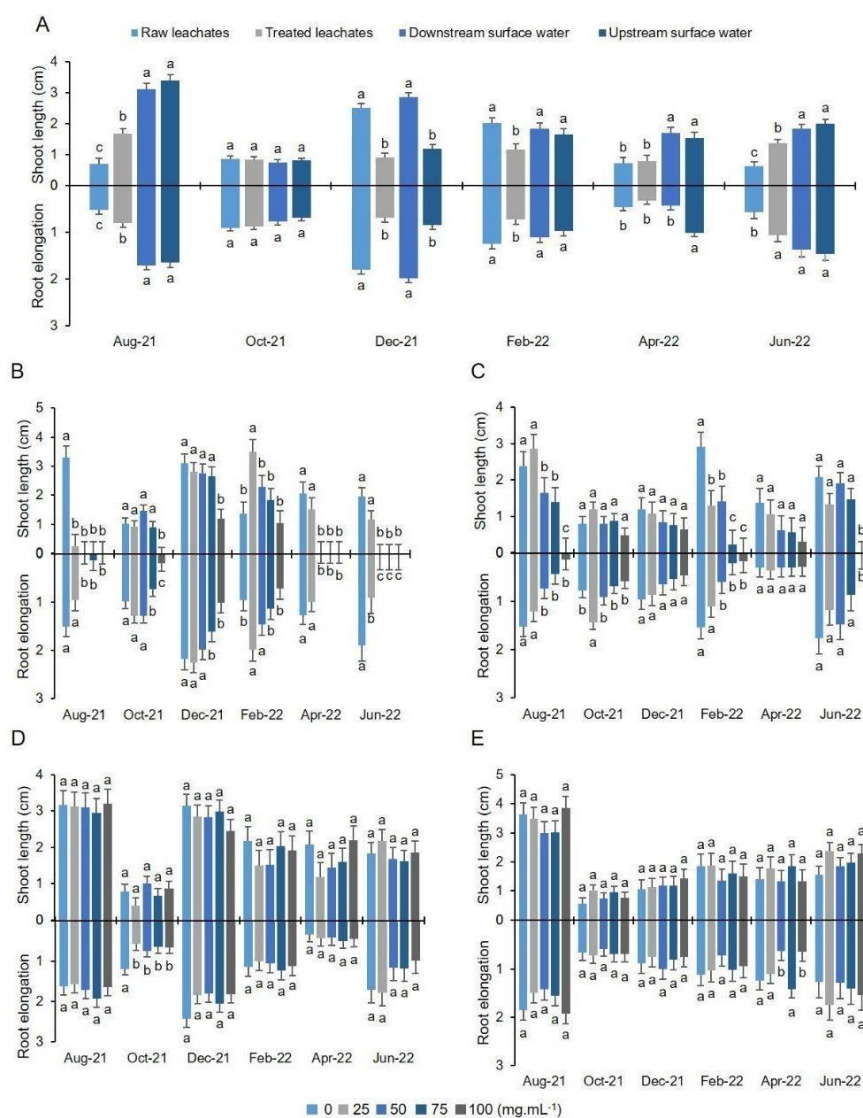


Figura 4: Crescimento de Raiz e Crescimento de Parte Aérea referente as amostras coletadas: A – comparação de média bimestral dos tratamentos com 5% de significância; B – comparação das médias das concentrações de diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Raw leachate (RL); C – comparação das médias das concentrações das diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Treated leachate (TL); D – comparação das médias das concentrações das diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Downstream surface water (DSW); E – comparação das médias das concentrações das diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Upstream surface water (USW).

Uma plântula normal é aquela que possui sua morfologia bem desenvolvida, ou seja, com parte aérea e raiz (Figura 5). Alguns fatores podem contribuir para a alteração dessa morfologia, tais como, fotoperíodo, presença ou ausência de

nutrientes, estresse abiótico e biótico e temperatura (SMAOUI *et al.*, 2018).

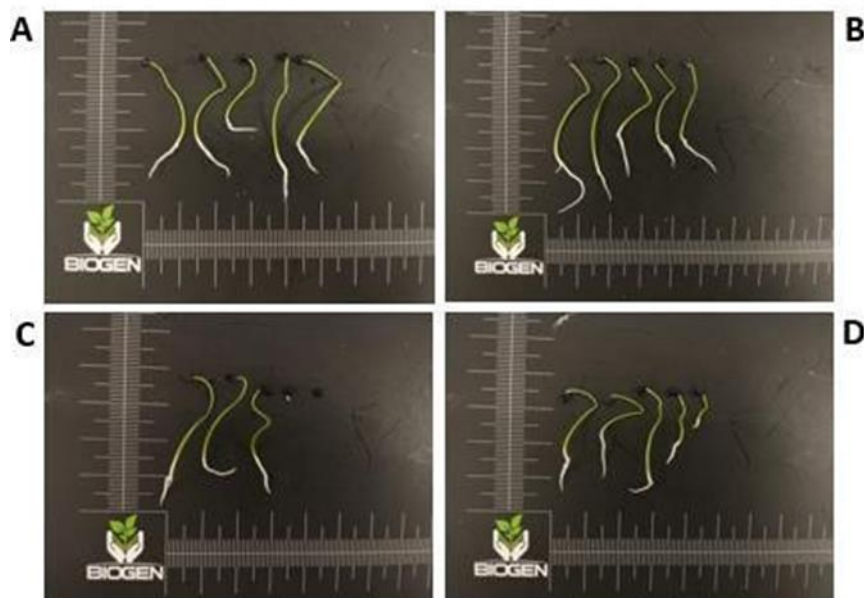


Figura 5: Fotos referentes a amostra do mês de fevereiro/2022. Representação de plântulas normais e anormais. A - Upstream surface water (USW); B – Downstream surface water (DSW); C - Raw leachate (RL); D –Treated leachate (TL).

Em um estudo comparativo utilizando águas superficiais (ALDANA *et al.*, 2021), foi investigado o impacto de um lixiviado próximo a uma bacia hidrográfica nos parâmetros fitotécnicos de um organismo. Os resultados indicaram que altas concentrações de *E. coli*, DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e DQO (Demanda Química de Oxigênio) podem afetar o crescimento da planta, restringindo a germinação e, conseqüentemente, prejudicando seu desenvolvimento. Essa descoberta demonstra como a presença desses nutrientes em níveis elevados pode favorecer alterações negativas na morfologia e no desempenho das plantas (MEDEIROS *et al.*, 2018), ainda mais se expostos ao longo do tempo (Figura 6-A).

Pode-se observar que na Figura 6 B-E, no mês de fevereiro houve um aumento no número de plântulas normais (NS) devido ao alto índice de pluviosidade registrado em janeiro (Figura 1-B) e isso fez com que as sementes de *Allium cepa* L. submetidas a amostra de 100%, que foram mais diluídas, aumentassem os parâmetros fitotécnicos, conseqüentemente, mantendo a normalidade das plântulas.

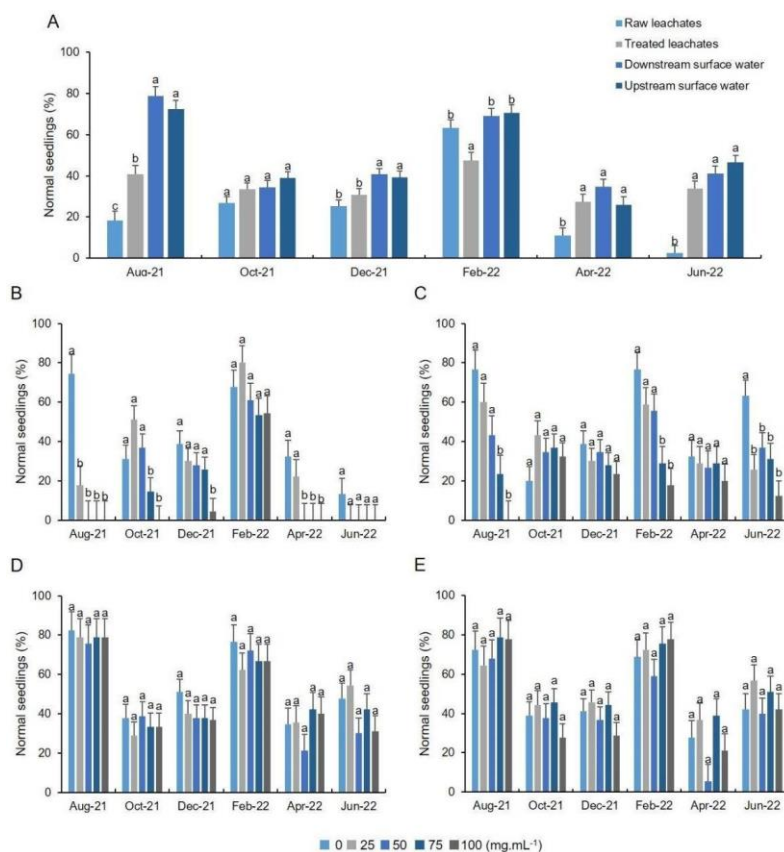


Fig. 6: Número de Plantas Normais (NS) referente as amostras coletadas: A – comparação de média bimestral dos tratamentos com 5% de significância; B – comparação das médias das concentrações de diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Raw leachate (RL); C – comparação das médias as concentrações das diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Treated leachate (TL); D – comparação das médias das concentrações das diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Downstream surface water (DSW); E – comparação das médias das concentrações das diluições 0, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente, de Upstream surface water (USW).

Foi constatado que para os testes de *Aliivibrio fischeri* (Tabela 1), o CB e CT foram tóxicos para todos os meses com as concentrações nos intervalos de 17,39% a 55,37% e de 14,43% a 84,22%, respectivamente. Já para as águas (MSP e JSP), nos meses avaliados, os resultados se mostraram não tóxicos ou inconclusivos (hormesis). Nos meses nos quais o índice de pluviosidade está mais alto (Fig. 2-B), os efluentes CB e CT foram mais diluídos, o que pode explicar a diferença de CE_{50} .

O *Aliivibrio fischeri* é um organismo bioluminescente, o que significa que em condições normais ele emite luz. No entanto, quando exposto a substâncias tóxicas, a bioluminescência é reduzida. Em alguns casos, observa-se o fenômeno da hormesis nesse teste. Hormesis é um fenômeno biológico que descreve a resposta de um organismo a um estímulo de baixa intensidade que, em níveis mais altos, seria prejudicial ou tóxico (GAO *et al.*, 2021). No contexto do teste com o organismo marinho *Aliivibrio fischeri*, a hormesis refere-se à observação de uma resposta

positiva ou de estímulo à medida que a concentração de uma substância tóxica aumenta até um certo ponto, seguida por uma diminuição da resposta à medida que a concentração continua a aumentar (QIU *et al.*, 2016).

Em baixas concentrações da substância tóxica, pode ocorrer um aumento na bioluminescência do *Aliivibrio fischeri*, o que indica uma resposta adaptativa do organismo (GAO *et al.*, 2021). No entanto, à medida que a concentração da substância tóxica continua a aumentar, a bioluminescência diminui novamente.

A ocorrência da hormesis nesse tipo de teste destaca a importância de considerar a dose ou concentração ao avaliar os efeitos de substâncias tóxicas em organismos vivos. É um lembrete de que não é sempre que uma dose maior de uma substância tóxica resultará em efeitos proporcionais de toxicidade, e que respostas adaptativas podem ocorrer em níveis de exposição mais baixos.

Tabela 1: Valores de CE_{50} para o teste de toxicidade aguda de *Aliivibrio fischeri*, no tempo de exposição de 30 minutos. CB – Chorume bruto; CT – Chorume tratado; MSP – Montante superficial; JSP – Jusante superficial; UT – Unidade de Toxicidade.

		CB	CT	MSP	JSP
Agosto/2021	CE_{50}	31,86	14,43	-	-
	UT	3,37	7,08	-	-
	Classificação	Tóxico	Tóxico	Hormesis	Hormesis
Outubro/2021	CE_{50}	54,53	36,67	-	>100
	UT	2,09	1,12	-	-
	Classificação	Tóxico	Tóxico	Hormesis	Não tóxico
Dezembro/2021	CE_{50}	55,37	25,63	>100	>100
	UT	1,86	3,01	-	-
	Classificação	Tóxico	Tóxico	Não tóxico	Não tóxico
Fevereiro/2022	CE_{50}	28,46	57,24	-	-
	UT	3,71	1,74	-	-
	Classificação	Tóxico	Tóxico	Hormesis	Hormesis
Abril/2022	CE_{50}	22,02	84,22	>100	-
	UT	2,34	0,89	-	-
	Classificação	Tóxico	Tóxico	Não tóxico	Hormesis
Junho/2022	CE_{50}	17,39	21,75	-	-
	UT	5,75	3,65	-	-
	Classificação	Tóxico	Tóxico	Hormesis	Hormesis

O biomonitoramento permitiu avaliar de forma direta e sensível os efeitos da substância na germinação das sementes (BHAT *et al.*, 2019). Essa abordagem forneceu informações sobre o impacto da substância em diferentes concentrações, identificando os níveis em que ocorreram alterações na taxa de germinação.

Além disso, ao incorporar o índice de pluviosidade ao estudo, foi possível considerar a variabilidade das condições climáticas ao longo do período de experimentação. A pluviosidade desempenha um papel importante na disponibilidade de água, na qual vai diluindo a amostra (100%). Ao analisar os dados de pluviosidade em conjunto com os resultados do biomonitoramento, tornou-se possível avaliar como a interação entre as amostras em estudo e as condições climáticas afetou os parâmetros fitotécnicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que, para os biotestes de *Allium cepa* L. e *Aliivibrio fischeri*, em altos níveis de pluviosidade e capacidade de operação baixos, as amostras (100%) apresentaram um efeito menor nos parâmetros fitotécnicos, e a eficácia do tratamento foi maior. Enquanto nos meses nos quais os níveis de pluviosidade estão

mais baixos e o aterro trabalha em sua capacidade máxima, o efeito fitotécnico das amostras foi maior e mais significativo, apontando que quanto mais diluída é a amostra, menor será o efeito nos parâmetros avaliados e mais eficaz será o tratamento.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de expressar sua sincera gratidão à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro fornecido por meio da bolsa de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCA).

REFERÊNCIAS

ABBAS, Mazhar et al. *Vibrio fischeri* bioluminescence inhibition assay for ecotoxicity assessment: a review. **Science of the Total Environment**, v. 626, p. 1295-1309, 2018.

ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS) NBR 15411. Ecotoxicologia Aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente), 2006.

ALALWAN, Hayder A.; KADHOM, Mohammed A.; ALMINSHID, Alaa H. Removal of heavy metals from wastewater using agricultural byproducts. **Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua**, v. 69, n. 2, p. 99-112, 2020.

ALDERETE, Bárbara Lopes et al. Evaluation of toxicity and mutagenicity of a synthetic effluent containing azo dye after advanced oxidation process treatment. **Chemosphere**, v. 263, p. 128291, 2021.

ALDANA PERDOMO, Yair *et al.* Evaluación del manejo y disposición final de los residuos orgánicos en el marco de los (PGIRS) de los municipios que componen la provincia de la sabanacentro de Cundinamarca. 2021.

AMÂNCIO, Bárbara Christina Silva *et al.* Allelopathic activity of different *Byrsonima* spp. leaf extracts on *Lactuca sativa* L. bioassay. **Biologia**, v. 76, n. 11, p. 3201-3209, 2021.

AMORIM, Ana Maria Pereira Barreto et al. Eficiência de um sistema piloto utilizando áreas alagadas no pós-tratamento do lixiviado gerado no Aterro Sanitário de Curitiba, Curitiba, Paraná, Brasil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 23, p. 535-542, 2018.

ANAND, N.; PALANI, Sankar Ganesh. A comprehensive investigation of toxicity and pollution potential of municipal solid waste landfill leachate. **Science of The Total Environment**, v. 838, p. 155891, 2022.

BARBIERI, Maria Vittoria et al. Evaluation of the occurrence and fate of pesticides in a typical Mediterranean delta ecosystem (Ebro River Delta) and risk assessment for aquatic organisms. **Environmental Pollution**, v. 274, p. 115813, 2021.

BADERNA, Diego; CALONI, Francesca; BENFENATI, Emilio. Investigating landfill leachate toxicity in vitro: A review of cell models and endpoints. **Environment International**, v. 122, p. 21-30, 2019.

BAIJU, Archa et al. Combined heterogeneous Electro-Fenton and biological process for the treatment of stabilized landfill leachate. **Journal of environmental management**, v. 210, p.328- 337, 2018.

BHATT, Arpita H. et al. Estimating landfill leachate BOD and COD based on rainfall, ambient temperature, and waste composition: Exploration of a MARS statistical approach. **Environmental Technology & Innovation**, v. 8, p. 1-16, 2017.

BRASIL. Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da União, Brasília**, DF, 18 mar. 2005. Seção 1, p. 58-63.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 413, de 24 de novembro de 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 29 nov. 2011. Seção 1, p. 106.

BRASIL. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 3 ago. 2010.

BUDI, Setia et al. Toxicity identification evaluation of landfill leachate using fish, prawn and seed plant. **Waste Management**, v. 55, p. 231-237, 2016.

CASTRO, Ana Margarida et al. Evaluation of the potential toxicity of effluents from the textile industry before and after treatment. **Applied Sciences**, v. 9, n. 18, p. 3804, 2019.

CONSONI, Ângelo José et al. Disposição final de lixo & Legislação e Licenciamento Ambiental. Lixo Municipal: Manual de Gerenciamento Integrado. **CEMPRE**, p. 241-282 e 305-345. 2018.

CHEN, Weiming *et al.* Degradation of refractory organic contaminants in membrane concentrates from landfill leachate by a combined coagulation-ozonation process. **Chemosphere**, v. 217, p. 411-422, 2019.

CHEN, Weiming et al. Enhanced degradation of refractory organics in concentrated landfill leachate by Fe⁰/H₂O₂ coupled with microwave irradiation. **Chemical Engineering Journal**, v. 354, p. 680-691, 2018.

CHOWDHARY, Pankaj *et al.* Detection and identification of hazardous organic pollutants from distillery wastewater by GC-MS analysis and its phytotoxicity and genotoxicity evaluation by using *Allium cepa* and *Cicer arietinum* L. **Chemosphere**, v. 297, p. 134123, 2022.

COSTA, Alyne Moraes; ALFAIA, Raquel Greice de Souza Marotta; CAMPOS, Juacyara Carbonelli. Landfill leachate treatment in Brazil—An overview. **Journal of environmental management**, v. 232, p. 110-116, 2019.

DANFORTH, Cloelle *et al.* An integrative method for identification and prioritization of constituents of concern in produced water from onshore oil and gas extraction. **Environment international**, v. 134, p. 105280, 2020.

ECKERT, Giovana Laís et al. The chemical composition of different leaf extracts of *Lantana fucata* Lindl. influences its cytotoxic potential: a study using the *Allium cepa* model. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 289, p. 115003, 2022.

FERREIRA, Daniel Furtado. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects

split plot type designs: Sisvar. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

GAO, Qing *et al.* Investigations on the influence of energy source on time-dependent hormesis: A case study of sulfadoxine to *Aliivibrio fischeri* in different cultivation systems. **Science of The Total Environment**, v. 775, p. 145877, 2021.

GHOSH, Pooja; THAKUR, Indu Shekhar; KAUSHIK, Anubha. Bioassays for toxicological risk assessment of landfill leachate: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 141, p. 259-270, 2017.

GRAUPMANN, Olaf *et al.* Análise da resistência à compressão de concretos com adição de cinza de aterro sanitário. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 24, 2019.

GUPTA, Anshu; PAULRAJ, R. Leachate composition and toxicity assessment: an integrated approach correlating physicochemical parameters and toxicity of leachates from MSW landfill in Delhi. **Environmental technology**, v. 38, n. 13-14, p. 1599-1605, 2017.

GUPTA, Asmita *et al.* Risk assessment of a municipal extended aeration activated sludge treatment plant using physico-chemical and *in vitro* bioassay analyses. **Environmental Technology & Innovation**, v. 26, p. 102254, 2022.

HAMID, Hanna; LI, Loretta Y.; GRACE, John R. Review of the fate and transformation of per and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in landfills. **Environmental Pollution**, v. 235, p. 74-84, 2018.

HAN, Zhiyong *et al.* A review of groundwater contamination near municipal solid waste landfill sites in China. **Science of the Total Environment**, v. 569, p. 1255-1264, 2016.

HAQ, Izharul; KALAMDHAD, Ajay S. Phytotoxicity and cyto-genotoxicity evaluation of organic and inorganic pollutants containing petroleum refinery wastewater using plant bioassay. **Environmental Technology & Innovation**, v. 23, p. 101651, 2021.

HERNÁNDEZ-GARCÍA, Andrea *et al.* Wastewater-leachate treatment by microalgae: Biomass, carbohydrate and lipid production. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 174, p. 435-444, 2019.

HOSS, Louise *et al.* Evaluation of the phytotoxicity of landfill leachate treated with a Rotating Biological Reactor. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 27, p. 47-53, 2022.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo Brasileiro 2021. Minas Gerais, 2021.

IQBAL, Munawar *et al.* Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: a review. **Chemistry International**, v. 5, n. 1, p. 1-80, 2019.

IQBAL, Munawar. Vicia faba bioassay for environmental toxicity monitoring: a review.

Chemosphere, v. 144, p. 785-802, 2016.

KALEFETOĞLU MACAR, Tuğçe. Investigation of cytotoxicity and genotoxicity of abamectin pesticide in *Allium cepa* L. **Environmental Science and Pollution Research**, v.28, p. 2391- 2399, 2021.

KLAUCK, Cláudia Regina et al. Toxicity elimination of landfill leachate by hybrid processing of advanced oxidation process and adsorption. **Environmental Technology & Innovation**, v. 8, p. 246-255, 2017.

KUMAR, Vineet et al. Detection and characterization of refractory organic and inorganic pollutants discharged in biomethanated distillery effluent and their phytotoxicity, cytotoxicity, and genotoxicity assessment using *Phaseolus aureus* L. and *Allium cepa* L. **Environmental Research**, v. 201, p. 111551, 2021.

LEBRON, Yuri Abner Rocha et al. A survey on experiences in leachate treatment: common practices, differences worldwide and future perspectives. **Journal of Environmental Management**, v. 288, p. 112475, 2021.

LEME, Daniela Morais; MARIN-MORALES, Maria Aparecida. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water— a case study. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v.650, n. 1, p. 80-86, 2008.

LOPES, Renata Costa; SILVA, Raquel Naiara Fernandes. Uso de lógica booleana na triagem de áreas aptas para a implantação de aterro sanitário no Município de Campina Verde, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, v. 7, n. 16, p.487-499, 2020.

LUO, Hongwei et al. 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, 2020.

LUO, Hongwei et al. Review of leaching behavior of municipal solid waste incineration (MSWI) ash. **Science of the total environment**, v. 668, p. 90-103, 2019.

MANDAL, Pubali; DUBEY, Brajesh K.; GUPTA, Ashok K. Review on landfill leachate treatment by electrochemical oxidation: Drawbacks, challenges and future scope. **Waste Management**, v. 69, p. 250-273, 2017.

MARTILDES, Jéssica Araújo Leite et al. Avaliação do método de tratamento de lixiviado do Aterro Sanitário de Campina Grande-PB, Brasil/Evaluation of the leachate treatment method at the Landfill in Campina Grande-PB, Brazil. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 20365-20375, 2020.

MASELLI, Bianca de S. et al. Ecotoxicity of raw and treated effluents generated by a veterinary pharmaceutical company: a comparison of the sensitivities of different standardized tests. **Ecotoxicology**, v. 24, p. 795-804, 2015.

MAZZEO, Dânia EC *et al.* Bioassays used to assess the efficacy of biodegradation.

Toxicity and biodegradation testing, p. 215-239, 2018.

MEDEIROS, Waneska Maria Vasconcelos; SILVA, Carlos Ernando da; LINS, Ruceline Paiva Melo. Avaliação sazonal e espacial da qualidade das águas superficiais da bacia hidrográfica do rio Longá, Piauí, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 13, 2018.

MIAO, Lei et al. Recent advances in nitrogen removal from landfill leachate using biological treatments—A review. **Journal of environmental management**, v. 235, p. 178-185, 2019.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado do Meio ambiente e Desenvolvimento Sustentável (SEMAD) nº 2.722/2019. Dispõe sobre procedimento para emissão e pagamento do DAE para renovação do registro anual, exercício de 2019 e emissão de certificado de registro Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=47823>>. Acesso em: 21/05/2023.

MOODY, Chris M.; TOWNSEND, Timothy G. A comparison of landfill leachates based on waste composition. *Waste Management*, v. 63, p. 267-274, 2017. NAVEEN, B. P. et al. Physico-chemical and biological characterization of urban municipal landfill leachate. **Environmental Pollution**, v. 220, p. 1-12, 2017.

PARVIN, Fahmida; TAREQ, Shafi M. Impact of landfill leachate contamination on surface and groundwater of Bangladesh: a systematic review and possible public health risks assessment. **Applied water science**, v. 11, n. 6, p. 100, 2021.

QIU, Shu-Qing et al. Chemical characteristics and toxicological effects of leachates from plastics under simulated seawater and fish digest. **Water Research**, v. 209, p. 117892, 2022.

REBOLLEDO, Uriel Arreguin et al. Effect of salinity and temperature on the acute and chronic toxicity of arsenic to the marine rotifers *Proales similis* and *Brachionus ibericus*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 157, p. 111341, 2020.

SMAOUI, Yosr et al. Improvement of anaerobic digestion of landfill leachate by using coagulation-flocculation, Fenton's oxidation and air stripping pretreatments. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 37, n. 3, p. 1041-1049, 2018.

SMAOUI, Yosr; BOUZID, Jalel; SAYADI, Sami. Combination of air stripping and biological processes for landfill leachate treatment. 2020.

STOLTE, S.; STEUDT, S.; AREITIOAURTENA, O.; PAGANO, F.; THÖMING, J.; STEPNOWSKI, P.; IGARTUA, A. Ionic liquids as lubricants or lubrication additives: An ecotoxicity and biodegradability assessment. *Chemosphere*, 89, 1135–1141, 2012. STOUDEMIRE, Julie L. et al. Mutagenesis of *Vibrio fischeri* and Other Marine Bacteria Using Hyperactive Mini-Tn 5 Derivatives. **Microbial Transposon Mutagenesis: Protocols and Applications**, p. 87-104, 2019.

SYDNEY, Eduardo Bittencourt et al. Current developments and challenges of green

technologies for the valorization of liquid, solid, and gaseous wastes from sugarcane ethanol production. **Journal of Hazardous Materials**, p. 124059, 2020.

TENG, Chunying et al. Characterization and treatment of landfill leachate: A review. **Water research**, v. 203, p. 117525, 2021.

TORRETTA, Vincenzo et al. Novel and conventional technologies for landfill leachates treatment: A review. **Sustainability**, v. 9, n. 1, p. 9, 2016.

URBANCZYC H., AST J.; HIGGINS M.; CARSON J., DUNLAP P. Reclassification of *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio salmonicida* and *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Aliivibrio logei* com. nov., *Aliivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v.57, p. 2823–2829, 2007.

WANG, Jianlong; WANG, Shizong. Toxicity changes of wastewater during various advanced oxidation processes treatment: An overview. **Journal of Cleaner Production**, v. 315, p. 128202, 2021.

WIJEKOON, Prabuddhi et al. Progress and prospects in mitigation of landfill leachate pollution: Risk, pollution potential, treatment and challenges. **Journal of hazardous materials**, v. 421, p. 126627, 2022.

WU, Simiao et al. Enhancing recovery of magnesium as struvite from landfill leachate by pretreatment of calcium with simultaneous reduction of liquid volume via forward osmosis. **Science of the total environment**, v. 610, p. 137-146, 2018.

YE, Wenyuan et al. Sustainable management of landfill leachate concentrate through recovering humic substance as liquid fertilizer by loose nanofiltration. **Water research**, v. 157, p. 555-563, 2019.

ZEGZOUTI, Yassine et al. Genotoxicity evaluation of different types of leachate treated with *Aspergillus flavus* using *Vicia faba* micronucleus. **Environmental Technology & Innovation**, v. 18, p. 100656, 2020.