

## **GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE *ASPERGILLUS NIDULANS* COMO PARÂMETRO PREDITIVO DE CITOGENOTOXICIDADE PARA AMOSTRAS DE ÁGUAS**

David Teixeira Guidoti<sup>1</sup>

Daniela Granella Gomes Guidoti<sup>2</sup>

Leandro Eduardo da Silva Oliveira<sup>3</sup>

Proteção de ecossistemas e habitats

### *Resumo*

O crescimento desordenado de cidades, o uso não-sustentável de recursos hídricos, atividades extrativistas, poluentes e o aquecimento global, são componentes da recente crise hídrica e de seu impacto na manutenção da vida nos diferentes ecossistemas e na saúde única. A qualidade comprometida da água causa riscos à saúde humana e dos organismos nas mais diferentes e intrincadas relações ecológicas. O emprego de sistemas testes eficazes e acessíveis torna-se cada vez mais necessário para avaliar o potencial de risco de recursos hídricos. Nesse sentido, *Aspergillus nidulans* (Ascomycota), é um organismo modelo há mais de 50 anos, empregado em diversos estudos de genética de eucariotos. O fungo possui um sofisticado mecanismo de regulação da expressão de genes que controlam o desenvolvimento vegetativo. Assim, a análise da germinação de conídios constitui uma importante ferramenta para avaliar a bioatividade de diferentes alvos de estudo. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi verificar o potencial citogenotóxico de água de cinco bacias do município de Fernandópolis, São Paulo, na germinação de conídios de *A. nidulans* e, validar o uso desse bioensaio como parâmetro preditivo de citogenotoxicidade de amostras ambientais. O teste de citogenotoxicidade indicou aumento significativo de conídios mortos para o ponto B e de malformados em todos os pontos analisados, evidenciando potenciais riscos à saúde humana e ambiental e a necessidade de intervenções para mitigar a poluição. A germinação de conídios de *A. nidulans* se mostrou um potencial bioindicador de citogenotoxicidade de amostras ambientais.

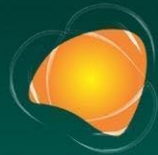
**Palavras-chave:** citotoxicidade; genotoxicidade; mutagenicidade; ecotoxicologia; saúde ambiental.

---

<sup>1</sup> Prof. Dr. na Universidade do Estado de Minas Gerais - UEMG, unidade Frutal - Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas - DCAB, davidguidoti@live.com

<sup>2</sup> Doutora em Biologia Comparada pela Universidade Estadual de Maringá - UEM, danielaguidoti@live.com

<sup>3</sup> Químico pela Universidade Camilo Castelo Branco, campus Fernandópolis, leandro-quimico@outlook.com



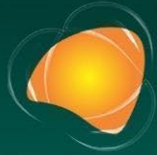
## INTRODUÇÃO

No Brasil, mais de 80% da população vive em cidades, o que resulta em problemas como impermeabilização do solo, ocupação de áreas de proteção dos rios, desmatamento e aumento de resíduos nos corpos hídricos (Christofidis; Assumpção; Kligerman, 2019). Deflúvios superficiais urbanos afetam a qualidade da água, transportando sedimentos, nutrientes, matéria orgânica, microrganismos, hidrocarbonetos, metais pesados e substâncias tóxicas. Superfícies como ruas e telhados são grandes fontes de poluição para o escoamento urbano, resultando em águas pluviais contaminadas, cuja qualidade depende do tipo de ocupação da bacia (Freitas, 2013).

A poluição de águas superficiais gera impactos ambientais complexos. Estudos sobre o diagnóstico ambiental dessas águas são relevantes, pois, essas podem ser contaminadas por múltiplos agentes (Guedes, 2011), oriundos de resíduos sanitários, industriais, agrícolas e até domésticos que entram nos rios por descarga aquosa direta (White; Rasmussen, 1998; Vargas; Ducatti; Horn., 2001; White; Claxton, 2004).

Segundo Matsumoto *et al.* (2006), muitos mutágenos, como metais pesados, podem ser encontrados nessas águas e são capazes de induzir tumores em humanos e animais experimentais, além de contaminantes como hidrocarbonetos de petróleo e fitossanitários que podem gerar efeitos tóxicos diretos, quando liberados em ambientes aquáticos (Fleeger; Carman; Nisbet, 2003). Além disso, ensaios com amostras de efluentes industriais revelam que estas misturas complexas podem incluir potenciais agentes carcinogênicos, não identificados e não regulamentados (Claxton; Houk; Hughes, 1998; Ohe; Watanabe; Wakabayashi, 2004).

A análise da genotoxicidade é um parâmetro importante para avaliar o risco genético para os seres humanos e toda a biota da área de exposição. A detecção e o entendimento das propriedades desses agentes permitem avaliar os efeitos deletérios para os organismos (Dallegrave, 2006). Portanto, a avaliação de efluentes torna-se necessária, quanto à possibilidade de contaminação ambiental causada por resíduos que podem, além de degradar o ambiente, desencadear um efeito direto na saúde humana e ambiental, pela presença de compostos tóxicos, citogenotóxicos, mutagênicos e/ou carcinogênicos.



*Aspergillus nidulans* (Ascomycota), é um modelo biológico consagrado em estudos de genética de eucariotos. O fungo possui um sofisticado mecanismo de regulação da expressão de genes que controlam o desenvolvimento vegetativo (Guidoti, Guidoti; Rocha, 2020). Segundo Sousa *et al.* (2009), *A. nidulans* é uma alternativa eficaz na avaliação de mutagenicidade por ser uma célula eucariótica com mecanismos genéticos e celulares mais complexos que a *Salmonella thyphimurium*, utilizada no teste de Ames. Apesar de limitações envolvidas no uso de fungos como uma alternativa para mamíferos, incluindo diferenças no ambiente molecular e genético, *A. nidulans* permite uma rápida triagem da atividade biológica dos agentes, da mesma forma que o teste de Ames.

Diante disso, o objetivo do presente foi verificar o potencial citogenotóxico de água de cinco bacias do município de Fernandópolis, São Paulo, na germinação de conídios de *A. nidulans* e, validar o uso desse bioensaio como parâmetro preditivo de citogenotoxicidade de amostras ambientais.

## METODOLOGIA

### Localização, características dos pontos de amostragem e coleta de amostras

O trabalho foi conduzido em cinco bacias hidrográficas urbanas (bacias A, B, C, D e E) do município de Fernandópolis, São Paulo, todas localizadas entre as latitudes 20°14'34,04" e 20°18'24,04" Sul e longitudes 50°12'26,07" e 50°17'35,00" Oeste (figura 1), sendo que cada bacia corresponde a um ponto de coleta.

O clima da região de Fernandópolis, de acordo com a classificação de Köppen, é subtropical úmido, Aw, com inverno seco e ameno e verão quente e chuvoso (Rolim *et al.*, 2007). De acordo com o balanço hídrico climatológico normal ponderado do município de Fernandópolis, a precipitação média anual é de 1.321 mm, com oito meses de deficiência hídrica e o mês de agosto o de maior déficit hídrico (Lima *et al.*, 2009). Os solos que ocorrem na área urbana, de acordo com Oliveira *et al.* (1999) *apud* Vanzela (2012), são do grupo PVA1 (Argissolos Vermelhos-Amarelos) e PVA10 (Argissolos Vermelhos-Amarelos, Argissolos Vermelhos distróficos e Latossolos Vermelhos).

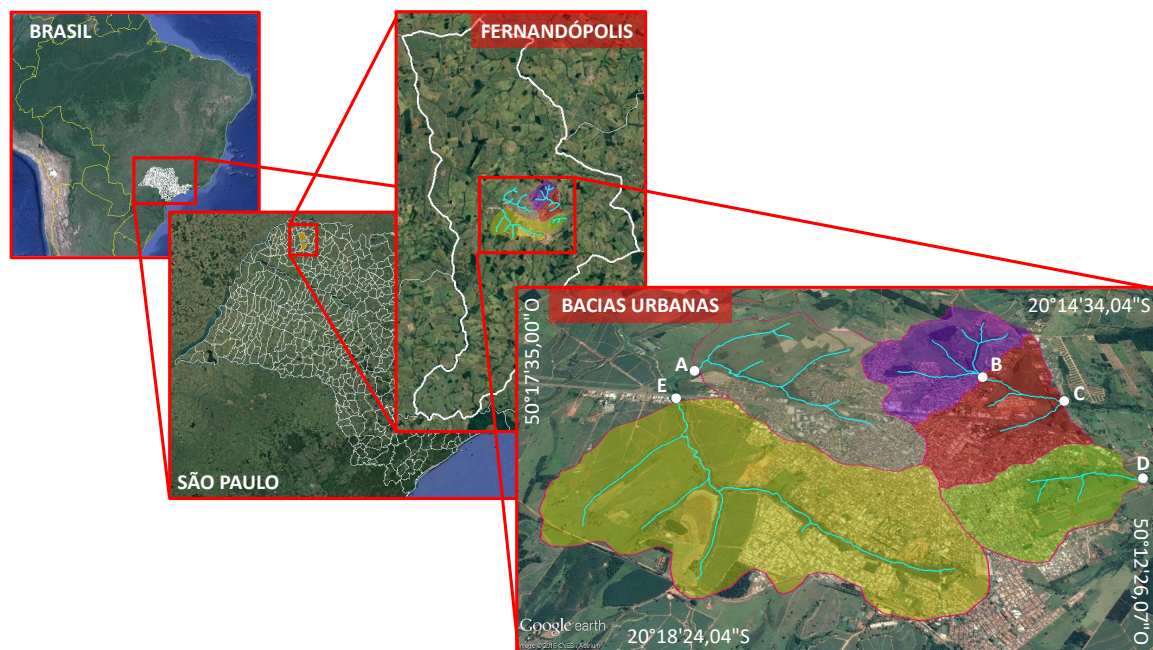


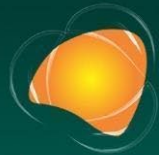
Figura 1. Bacias hidrográficas urbanas localizadas no município de Fernandópolis, Noroeste Paulista. A, B, C, D e E: pontos de coleta. Fonte: Google Earth (2016).

As amostras de água de cada ponto foram coletadas, em garrafas estéreis, a meia profundidade e no eixo central dos cursos d'água no mês de abril de 2015. As coletas foram realizadas no período vespertino, com tempo bom, temperatura média de 28°C, umidade relativa do ar entre 39-83%, com precipitação média anual de 1.321mm (CIIAGRO, 2016).

### **Análise de citogenotoxicidade na germinação de conídios de *Aspergillus nidulans***

A linhagem utilizada foi a *biA1methG1 – biA1* (I) requisito para biotina e *methG1* (IV) requisito para metionina, de conídios com coloração verde, crescimento e esporulação normais, gentilmente cedida pela Universidade de Glasgow, Escócia. O crescimento da linhagem foi feito em meio completo (MC) sólido, preparado conforme Pontecorvo *et al.* (1953) e Clutterbuck (1974).

Foram coletados conídios de colônias de cinco dias cultivadas em MC sólido a 37°C em Tween 80 (0,01%) e filtrados em lâ de vidro. Para o controle negativo, foi utilizada água destilada; o controle positivo, com água destilada, foi irradiado com luz UV por dez segundos (0,24 mJ/cm<sup>2</sup>) para indução



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

de mutação e morte. Suspensões de esporos foram tratadas por 2h com as amostras de água dos cinco pontos de coleta, sendo 100 µL de suspensão para 1 mL de água dos diferentes pontos em estudo.

As suspensões de conídios ( $\approx 500 \times 10^4$  esporos mL<sup>-1</sup>) foram inoculadas em MC líquido. Em seguida, 100 µL de suspensão de cada condição foram transferidas para lâminas de microscopia em câmara úmida e incubados a 37°C por sete horas. Após o período de incubação, três lâminas de cada condição foram analisadas em microscópio óptico, (aumento final de 200x), por meio de captura de imagem (Canon EOS Rebel 3TI), com adaptador SLR/DSLR NDPL-2 (2x). Em cada leitura, foram analisados, randomicamente, 200 conídios e calculadas as porcentagens de conídios germinados, mortos e malformados.

No ensaio da germinação, a estimativa de sobrevivência considera vivos os conídios em botão e germinados; e mortos os conídios dormentes e embebidos; a estimativa de malformados considera os conídios com morfologia e crescimento anormal do segundo tubo de germinação (figura 2).

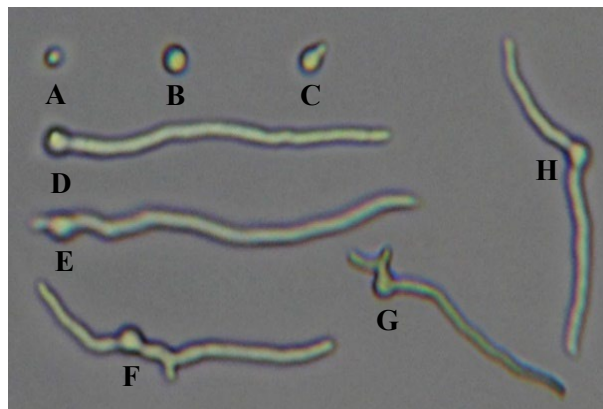
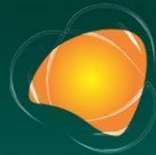


Figura 2. Fases da germinação de conídios de *Aspergillus nidulans* e morfologia de conídios malformados. Aumento final de 200x com adaptador SLR/DSLR NDPL-2 (2x). A. Dormente; B. Embebido; C. Botão; D e E. Germinados; F, G e H. Malformados. (Guidoti, Guidoti e Rocha, 2020).

Os resultados da análise de germinação de conídios de *A. nidulans* podem ser interpretados em duas situações: quando ocorre um aumento do número de conídios mortos sem alteração do número de conídios malformados, há indicação de que a substância analisada é citotóxica, enquanto que o concomitante aumento do número de conídios mortos e malformados indica que a substância teste é citogenotóxica.



Os resultados dos ensaios de toxicidade e citogenotoxicidade foram submetidos à comparação de médias, utilizando como referência o erro padrão da média (EPM), conforme Graveter e Wallnau (1995), e analisados por meio de Anova (One-Way), com  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o período de sete horas de incubação, os conídios geminados, malformados e mortos foram contabilizados para cada tratamento e foi realizada a análise de variância (ANOVA One-Way,  $p < 0,05$ ) das médias de conídios mortos e malformados apresentados na figura 3.

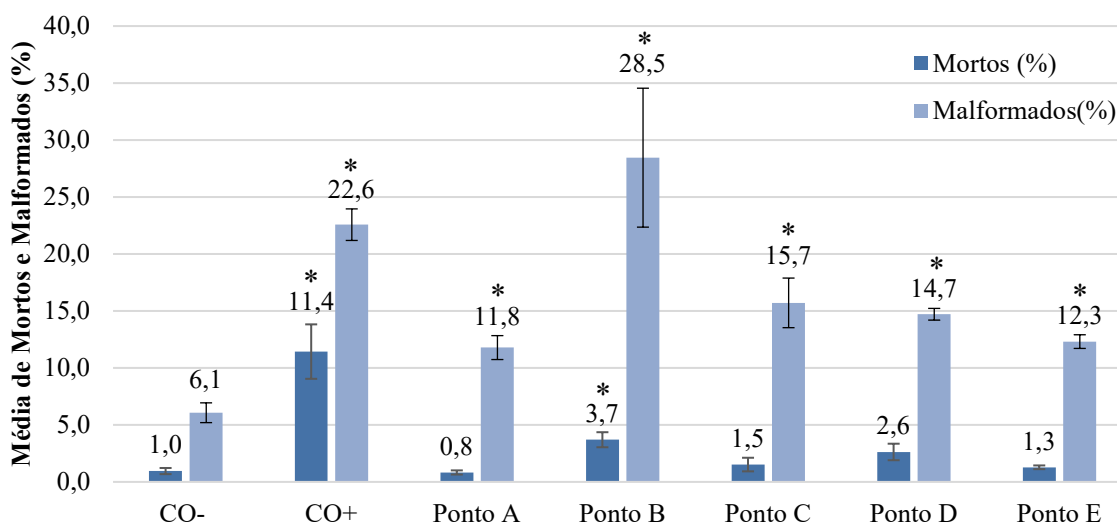
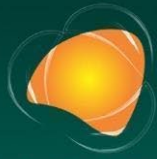


Figura 3. Porcentagens de conídios mortos e malformados de *Aspergillus nidulans*, tratados com amostra de águas das cinco diferentes bacias hidrográficas de Fernandópolis - SP. CO<sup>-</sup>: controle negativo com água. CO<sup>+</sup>: controle positivo com água (irradiado com UV). \*Significativamente diferente do controle negativo (ANOVA one-way,  $p < 0,05$ ).

A porcentagem de conídios mortos no ponto B foi significativamente maior em relação ao controle negativo, indicando que essa amostra apresentou efeito citotóxico, na forma e no tempo de tratamento empregados. A análise de conídios malformados mostrou um expressivo aumento no ponto B (28,5%) quando comparado ao controle negativo (6,1%), superando, inclusive, o controle positivo (22,6%) que utilizou luz ultravioleta para indução de mutação. A luz ultravioleta é um comprovado



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

agente mutagênico que promove a formação de dímeros entre pirimidinas adjacentes no DNA (Blagoev *et al.*, 2006). Em *A. nidulans* mesmo em dose mínima, é capaz de causar danos ao genoma, diminuindo a viabilidade e aumentando significativamente a frequência de mutação (Palioto; Palioto; Rocha, 2010).

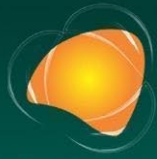
O aumento de conídios malformados foi constatado, ainda, no ponto C (15,7%), seguido dos pontos D, E e A (14,7%, 12,3% e 11,8%, respectivamente), todos significativamente maiores que o controle negativo, indicando efeito genotóxico dessas amostras sobre os conídios em germinação.

Os pontos analisados recebem águas urbanas, rurais e/ou do parque industrial do município de Fernandópolis, como é o caso do ponto E, que também recebe água lixiviada do campo experimental da Universidade Brasil. A contaminação por solventes orgânicos de origem comercial ou industrial, detergentes, produtos fitossanitários, entre outros, podem contribuir para o efeito citotóxico do ponto B e genotóxico de todos os pontos ensaiados.

Resíduos industriais perigosos contêm substâncias orgânicas e/ou inorgânicas que oferecem preocupação quanto sua liberação na natureza, pela possibilidade de gerarem uma diversidade de problemas ambientais, em resultado de sua biodegradação (Kaewsarn; Yu, 2001; Yan; Viraghavan, 2001; Bansal, 1996). Substâncias inorgânicas podem ser bioacumulativas na cadeia alimentar, afetando diferentes ecossistemas e, também, a saúde humana (Bakkaloglu *et al.*, 1998; Yetis *et al.*, 1998).

O ponto B, em que ocorreu o maior aumento do número de conídios mortos e malformados, recebe água lixiviadas de um cafezal e dos bairros residenciais que o circundam. Agroquímicos utilizados no combate a pragas e doenças poderiam promover a citogenotoxicidade detectada pelo bioindicador empregado. Além disso, segundo Bolelli *et al.*, (2020), a ausência de mata ciliar facilita a entrada desses componentes químicos, o que pode resultar na citogenotoxicidade observada no presente trabalho, pois, quando há vegetação ripária, ocorre a redução significativa da possibilidade de contaminação das águas de rios por sedimentos, resíduos agrícolas, industriais e domésticos, conduzidos pelo escoamento superficial da água no terreno (Bolelli *et al.*, 2020).

Defensivos agrícolas podem conter, em sua composição, moléculas oxidantes que podem formar radicais livres nos sistemas biológicos (Luz; Santos; Melo, 2003). Radicais livres são moléculas altamente instáveis, que reagem com as estruturas celulares modificando a estrutura de lipídios e proteínas de membrana, alterando a permeabilidade da célula (Andrade Júnior *et al.*, 2005). Estas



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

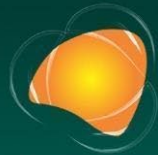
alterações podem chegar ao núcleo celular e atingir o DNA, acarretando danos que podem desencadear distúrbios graves como o câncer (Ferreira; Matsubara, 1997). Além disso, vários agrotóxicos foram submetidos a testes e se revelaram potencialmente genotóxicos (Bolognesi *et al.*, 2003).

Quando lançados no ambiente, os agrotóxicos são capazes de interagir com o organismo vivo, causando múltiplas alterações que podem gerar graves desequilíbrios ecológicos, dependendo do grau de contaminação e do tempo de exposição (Younes; Galal-Gorchev, 2000). Além disso, aproximadamente 20% de todos os pesticidas conhecidos são suspeitos de serem carcinogênicos e ainda, podem afetar o sistema imunológico, ou apresentar atividade teratogênica e mutagênica (Ecobichon, 1996).

*Aspergillus nidulans* é um importante organismo utilizado no estudo da genética dos eucariotos (Osmani; Mirabito, 2004). Um exemplo clássico do emprego de *A. nidulans* como sistema teste em toxicologia genética é o sistema metionina, desenvolvido por Lilly (1965), que permite analisar o efeito mutagênico de agentes físicos ou químicos em *A. nidulans*, baseado na reversão do caráter requerimento para independência de metionina. Em trabalho anterior, Guidoti; Guidoti; Rocha (2020), realizaram um ensaio empregando o desenvolvimento vegetativo, que inclui a germinação de conídios de *A. nidulans*, como parâmetro preditivo de citogenotoxicidade e/ou antígenotoxicidade de substâncias testes, utilizando a bromelina, que foi amplamente testada por outros bioensaios.

Segundo Sousa *et al.* (2009), *Aspergillus nidulans* é uma ferramenta eficaz na triagem da bioatividade de agentes sobre o material genético, do mesmo modo que o teste de Ames. Em seu trabalho, esses pesquisadores utilizaram *A. nidulans* como organismo teste para avaliar o efeito genotóxico de mercúrio associado à purificação do ouro. Os resultados evidenciaram que o uso de *A. nidulans* representa uma avaliação rápida e eficiente dos riscos ecotoxicológicos, assim como constatado no presente trabalho, por meio da análise preditiva de parâmetros citológicos no desenvolvimento vegetativo em *A. nidulans*. Diante disso, o emprego de *A. nidulans* pode identificar os potenciais riscos ambientais induzidos por um único agente químico (Zucchi *et al.*, 2005, Miyamoto *et al.*, 2007, Salvador *et al.*, 2008, Stoll *et al.*, 2008), assim como misturas heterogêneas. O uso de sistemas biológicos para avaliação da genotoxicidade ambiental, fornece uma visão sobre o aumento das taxas de mutação no *pool* genético dos organismos (Lewis; Daniels; Chancy, 2006).





## CONCLUSÕES

O potencial citotóxico mostrado pelo aumento de conídios mortos no ponto B e o potencial genotóxico, com o aumento do número de malformados em todas as bacias analisadas, indicam potenciais riscos à saúde humana e ambiental e a necessidade de intervenções para mitigar a poluição. Assim, é essencial que estratégias de manejo sustentável e restauração ambiental sejam implementadas para proteger as bacias hidrográficas e garantir a qualidade da água, preservando a biodiversidade e a saúde. Vale destacar ainda, que o presente trabalho foi pioneiro em empregar parâmetros preditivos citológicos na germinação de conídios de *Aspergillus nidulans* para avaliar o potencial citogenotóxico em análises ecotoxicológicas.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE JÚNIOR., D. R.; SOUZA, R. B.; SANTOS, S. A.; ANDRADE, D. R. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 1, 2005.
- BAKKALOGLU, I.; BUTTER, T. J.; EVISON, L. M.; HOLLAND, F. S.; HANCOCK, I. C. Screening of various types biomass for removal and recovery of heavy metals (Zn, Cu, Ni) by biosorption, sedimentation and desorption. **Water Science and Technology**, [s.l.], v. 38, p. 269-277, 1998.
- BANSAL, O. P. Heavy metal pollution of soils and plants to sewage irrigation. **Indian Journal of Environmental Health**, [s.l.], v. 40, p. 51-57, 1996.
- BLAGOEV, K. B., ALEXandrova, B. S., GOODWIN, E. H.; BISHOPA, A. R. Ultraviolet light induced changes in DNA dynamics may enhance TT-dimer recognition. **DNA Repair**, [s.l.], v. 5, n. 7, p. 863-867, 2006.
- BOLELLI, T. M.; RUEZZENE, C. B.; VALADÃO, C. C.; BUENO, L. O.; MAUAD, F. F. Quais os efeitos da vegetação ripária nativa sobre o aporte de fósforo nos corpos hídricos: uma revisão da literatura científica. **XIV Encontro Nacional de Engenharia de Sedimentos**, Campinas: São Paulo, 2020.
- BOLOGNESI, C.; BONATTI, S.; DEGAN, P.; GALLERANI, E.; PELUSO, M.; RABBONI, R.; ROGGIERI, P.; ABBONDANDOLO, A. Genotoxic activity of glyphosate and its technical



formulation Roundup. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Baltimore, v. 45, n. 5, p. 1957-1962, 2003.

CHRISTOFIDIS, D.; ASSUMPÇÃO, R. S. F. V.; KLIGERMAN, D. C. The historical evolution of urban drainage: from traditional drainage to harmony with nature. **Saúde Debate**, Rio de Janeiro, v. 43, n. especial 3, p. 94-108, 2019.

CIIAGRO – Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas. Disponível em: <http://www.ciiagro.org.br/janeladofruticultor/mmeteorologico.php>. Acesso em: 11 out. 2024.

CLAXTON, L. D.; HOUK, V. S.; HUGHES, T. J. Genotoxicity of industrial wastes and effluents. **Mutation Research**, [s.l.], v. 410, p. 237-243, 1998.

CLUTTERBUCK, A. J. *Aspergillus nidulans*, In: KING, R.C. (ed.). **Handbook of Genetics**. New York: Plenum Publishing, 1974.

ECOBICHON, D. J. **Toxicology - The basic science of poisons**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1996.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 1, p. 61-68, 1997.

FLEEGER, J. W.; CARMAN, K. R.; NISBET, R. M. Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. **The Science of the Total Environment**, [s.l.], v. 317, p. 207-233, 2003.

FREITAS, F. R. S. 2013. **Avaliação progressiva da qualidade da água do escoamento superficial de uma bacia fechada de drenagem urbana**. 53f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2013.

GOOGLE EARTH - Digital Globe. Longmont: DigitalGlobe, 2016.

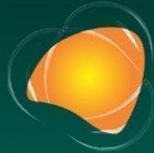
GRAVETTER, F. J., WALLNAU, L. **Statistics for the Behavioral Sciences**. Wallingford: West Publishing Co, 1995.

GUEDES, J. A. Poluição de rios em áreas urbanas. **Ateliê Geográfico**, Goiânia, v. 5, n. 2, p. 212-226, 2011.

GUIDOTI, D. T.; GUIDOTI, D. G. G.; ROCHA, C. L. M. S. C. Vegetative development predictive parameters of mutagenesis and antimutagenesis in *Aspergillus nidulans*. **Revista de Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v.15, n. 2, p.16-25, 2020.

LEWIS, M. A.; DANIELS, C. B.; CHANCY, C. A. Microbial genotoxicity as an environmental indicator for near-coastal sediment pore waters. **Environmental Toxicology**, [s.l.], v. 21, p. 193-204, 2006.

LILLY, L. J. An investigation of the suitability of the suppressors of methG1 in *Aspergillus nidulans* for the study of induced and spontaneous mutations. **Mutation. Research**, [s.l.], v. 2, p. 192-195, 1965.



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

LIMA, F. B.; VANZELA, L. S.; MARINHO, M. A.; SANTOS, G. O. Balanço hídrico climatológico normal ponderado para o município de Fernandópolis - SP. **Anais do Congresso Brasileiro de Agrometeorologia**, Belo Horizonte, v. 16, 2009.

LUZ, N. B.; SANTOS, H. P.; MELO, G. W. Avaliação da resposta espectral de folhas de aveia preta (*Avena strigosa*) cultivadas em diferentes solos da serra gaúcha, com adição de cobre e matéria orgânica. **Anais do Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Belo Horizonte, v. 11, p. 2343-2349, 2003.

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

MIYAMOTO, C. T.; SANT'ANNA, J. R.; FRANCO, C. C.; CASTRO-PRADO, M. A. Genotoxicity (mitotic recombination) of the cancer chemotherapeutic agents cisplatin and cytosine arabinoside in *Aspergillus nidulans*. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 45, p. 1091-1095, 2007.

OHE, T.; WATANABE, T.; WAKABAYASHI, K. Mutagens in surface waters: a review. **Mutation Research**, [s.l.], v. 567, p. 109-149, 2004.

OSMANI, S. A.; MIRABITO, P. M. The early impact of genetics on our understanding of cell cycle regulation in *Aspergillus nidulans*. **Fungal Genetics and Biology**, [s.l.], v. 41, n. 4, p. 401-410, 2004.

PALIOTO, N. F.; PALIOTO, G. F.; ROCHA, C. L. M. S. C. Efeito mutagênico de baixa dose de ultravioleta no sistema methG1 em *Aspergillus nidulans*. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 14, p. 49-54, 2010.

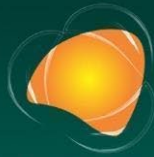
PONTECORVO, G.; ROPER, J. A.; CHEMMONS, L. M.; MACDONALD, K. D.; BUFTON, A. W. J. The genetics of *Aspergillus nidulans*, **Advanced Genetics**, [s.l.], v. 5, p. 141-238, 1953.

ROLIM, G. S.; CAMARGO, M. B. P.; LANIA, D. G.; MORAES, J. F. L. Classificação climática de Köppen e de Thornthwaite e sua aplicabilidade na determinação de zonas agroclimáticas para o Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 711-720, 2007.

SALVADOR, M. J.; ZUCCHI, T. D.; SCHINOR, E. C.; DIAS, D. A.; ZUCCHI, O. L. A. D.; POLI, P.; ZUCCHI, T. M. A. D. Genotoxic potentials of natural products detected by a short-term test using diploid strains of *Aspergillus nidulans*. **The Open Mycology Journal**, [s.l.], v. 2, p. 48-54, 2008.

SOUSA G. D.; ZUCCHI T. D.; ZUCCHI F. D.; MILLER, R. G.; ANJOAS R. M. A; POLI, P.; ZUCCHI, T. M. A. D. *Aspergillus nidulans* as a biological system to detect the genotoxic effects of mercury fumes on eukaryotes. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 8, p. 404-413, 2009.

STOLL, L. B.; CREMONES, F. C. A.; PIRES, L. T. A.; ZUCCHI, T. D.; ZUCCHI, T. M. A. D. Induction of mitotic crossing-over in diploid strains of *Aspergillus nidulans* using low-dose X-rays. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 7, p. 467-475, 2008.



- VANZELA, L. S. Evolução da paisagem do município de Fernandópolis - SP. *In: Prefeitura de Fernandópolis. (org.). Fernandópolis: nossa história, nossa gente. v. II. São Paulo: Anglo S/A, 2012.*
- VARGAS, V. M. F.; DUCATTI, A.; HORN, R. C. Diagnóstico de mutagênese ambiental e sua aplicabilidade em ecotoxicologia. *In: TUCCI, C. E. M.; MARQUES, D. M. L. M. (ed.). Avaliação e controle da drenagem urbana. Porto Alegre: ABRH, 2001.*
- WHITE, P. A.; CLAXTON, L. D. Mutagens in contaminated soil: a review. **Mutation Research**, [s.l.], v. 567, p. 227-345, 2004.
- WHITE, P. A.; RASMUSSEN, J. B. The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. **Mutation Research**, [s.l.], v. 410, p. 223-236, 1998.
- YAN, G.; VIRARAGHAVAN, T. Heavy metal removal in a biosorption column by immobilized *M. rouxii* biomass. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 78, p. 243-249, 2001.
- YETIS, U.; ÖZCENGİZ, G.; DILEK, F. B.; ERGEN, N.; ERBAY, A.; DÖLEK, A. Heavy Metal biosorption by white-rot fungi. **Water Science and Technology**, [s.l.], v. 38, p. 323-330, 1998.
- YOUNES, M.; GALAL-GORCHEV, H. Food Chemistry. **Toxicology**, Philadelphia, v. 38, 2000.
- ZUCCHI, T. D.; ZUCCHI, F. D.; POLI, P.; MELO, I. S.; ZUCCHI, T. M. A short-term test adapted to detect the genotoxic effects of environmental volatile pollutants (benzene fumes) using the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. **Journal of Environmental Monitoring**, [s.l.], v. 7, p. 598-602, 2005.