

Citogenotoxicidade de amostras de água do Rio Tietê em células meristemáticas radiculares de *Allium cepa*

Cinthia Claudino da Silva¹, Fábio Mesquita do Nascimento^{1*}

RESUMO - Este estudo teve por objetivo avaliar a citogenotoxicidade de amostras de água do Rio Tietê por meio do sistema teste *Allium cepa*. Bulbos de *Allium cepa* foram expostos por 48 horas a amostras de água coletadas no município de Salesópolis-SP (nascente do rio), em Mogi das Cruzes-SP e na cidade de São Paulo (Ponte da Vila Maria, Ponte das Bandeiras e Ponte dos Remédios). Após o período de exposição, foram preparadas lâminas contendo células meristemáticas das extremidades radiculares, a partir das quais se contabilizou a ocorrência de alterações nucleares (micronúcleos e deformações nucleares). Houve formação significativa de alterações nucleares em quatro das cinco amostras. Apenas na amostra proveniente de Salesópolis não houve constatação destas alterações. A amostra proveniente da Ponte das Bandeiras, na cidade de São Paulo, foi a responsável pelo maior número de alterações nucleares observadas. Constatou-se, assim, a citogenotoxicidade de amostras de água do Rio Tietê coletadas desde antes do trecho urbano da cidade de São Paulo sobre células meristemáticas radiculares de *Allium cepa*.

Palavras-chave: alterações nucleares, poluição, Rio Tietê, sistema *Allium cepa*, toxicidade

Citogenicity of samples of the Tietê river on root meristem cells of *Allium cepa*

ABSTRACT - This study aimed to evaluate the genotoxicity of Tietê River water samples using the *Allium cepa* test system. Bulbs of *Allium cepa* were exposed for 48 hours to water samples collected in the city of Salesópolis-SP (east of the river), in Mogi das Cruzes-SP and in the city of São Paulo (Vila Maria, Bandeiras and Remédios bridges). After the exposure period, slides were prepared with meristem cells of the tips of the roots, from which the occurrence of nuclear alterations (micronuclei and nuclear deformations) were recorded. There were significant nuclear alterations in four of the five samples. These alterations were not observed only in the samples from Salesópolis. The sample from Bandeiras bridge, in the city of São Paulo, showed the largest number of nuclear alterations. Therefore, genotoxicity of water samples collected from Tietê River before it passes the city of São Paulo was confirmed on root meristem cells of *Allium cepa*.

Keywords: *Allium cepa* system, nuclear alterations, pollution, Tietê river, toxicity

¹Curso de Ciências Biológicas da Universidade Paulista, São Paulo, SP, Brasil. fmnbio@yahoo.com.br.

*Autor para correspondência.

INTRODUÇÃO

O Rio Tietê nasce no município de Salesópolis, SP, na Serra do Mar, a 1027 m de altitude. Apesar de estar a apenas 22 km do litoral, não consegue vencer as escarpas da Serra do Mar. Por isso, ao contrário da maioria dos rios que correm para o mar, esse rio segue para o interior e percorre 1.100 km pelo interior do Estado de São Paulo até desaguar no lago formado pela barragem de Jupiá, no rio Paraná, no município de Três Lagoas, na divisa com o Mato Grosso do Sul. Muitas das maiores cidades paulistas ficam à margem ou muito perto do rio Tietê. Durante seu percurso banha 62 municípios ribeirinhos e seis sub-bacias hidrográficas (British Council 2008).

O Tietê nem mal se forma e já encontra a região mais industrializada e populosa do Brasil, a Região Metropolitana de São Paulo, onde começa a receber toneladas de lixo e esgoto até chegar à cidade de São Paulo completamente sujo. Após passar pela capital, o Rio Tietê continua recebendo a poluição de rios e córregos que deságuam nele (British Council 2008).

Dentre os poluentes lançados no Tietê, encontram-se diversas substâncias tóxicas, tais como metais pesados, pesticidas, descargas industriais e compostos orgânicos, o que resulta em níveis variáveis de qualidade, níveis estes geralmente baixos principalmente em áreas ocupadas por indústrias ou de grande densidade demográfica (Rodgher et al. 2005). Muitas dessas substâncias têm reconhecida ação mutagênica sobre os organismos.

De acordo com o Relatório de Qualidade das Águas Superficiais da Cetesb (Cetesb 2012), substâncias com potencial mutagênico presentes na superfície das águas do Tietê podem ser provenientes de resíduos industriais ou esgoto urbano. Além disso, os poluentes também chegam ao rio através de águas pluviais que transportam resíduos químicos utilizados na agropecuária e também por descarga acidental de substâncias no rio ou em seus braços. O conhecimento do potencial citogenotóxico de compostos presentes no meio ambiente é uma informação essencial para as agências regulatórias, no que se refere ao estabelecimento de riscos para o homem e o ambiente (Kolling et al. 2006).

Existem diferentes formas de se averiguar o potencial citogenotóxico de poluentes. Uma delas consiste na observação de micronúcleos formados em células expostas a essas substâncias. Os micronúcleos, que correspondem a fragmentos cromossômicos acêntricos ou cromossomos inteiros que não completam a migração anafásica da divisão celular, podem ser detectados mediante técnicas simples de coloração, aparecendo no citoplasma como pequenos fragmentos basófilos (Arias et al. 2007). Em estudos dessa natureza é necessário que a amostra biológica submetida à água contaminada esteja em constante divisão mitótica, objetivando uma melhor identificação de alterações ocorridas ao longo de um ciclo celular. Nesse contexto, o sistema teste de *Allium cepa* tem sido amplamente empregado (Arias et al. 2007, Bagatini et al. 2007, Silva et al. 2011).

Vários outros motivos justificam a escolha do teste de *Allium cepa* para avaliação do potencial citogenotóxico de águas contaminadas, além do fato de esta espécie apresentar

células em constante divisão mitótica. Dentre eles, pode-se ressaltar a facilidade de obtenção do material biológico a ser testado e a rapidez em se obter resultados experimentais. De acordo com Odeigah et al. (1997), o teste de *Allium cepa* é efetivo como bioindicador para qualidade da água de grandes rios. Nesse tipo de teste, as pontas das raízes, que são as primeiras partes da planta expostas a contaminantes, são analisadas em nível microscópico quanto à taxa de alterações nucleares.

Ivanova et al. (2008) ressaltam a importância, nos contextos ambiental, social e de saúde pública, de estudos que caracterizem o problema do despejo de grandes quantidades de poluentes associados a efeitos mutagênicos e carcinogênicos, especialmente responsáveis pelo aumento dos casos de mutações cromossômicas e formações de tumores malignos no homem. Nesse sentido, é importante que tais poluentes sejam constantemente monitorados e avaliados para que se mantenham ou possam alcançar níveis de qualidade aceitáveis.

O governo do Estado de São Paulo tem investido recursos financeiros em um programa de despoluição do Tietê (Sabesp 2012). Este tipo de programa requer, além de tratamento dos efluentes, um monitoramento constante da qualidade das águas do rio. Por se tratar de um rio que atravessa zonas agrícolas, industriais e urbanas, o despejo intencional ou acidental de agentes químicos diversos vai se constituir sempre em uma ameaça à integridade genética dos organismos e ao restabelecimento da vida no rio.

Considerando o exposto acima, esta pesquisa teve por objetivo a avaliação do potencial citogenotóxico das águas coletadas em diversos pontos do Rio Tietê, dentro e fora da cidade de São Paulo, SP, utilizando como organismo-teste a espécie *Allium cepa*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização dos ensaios analisados no presente trabalho, foi efetuada uma coleta de amostras de água, durante o primeiro semestre de 2012 (estação chuvosa), em cinco pontos distintos do Rio Tietê: Salesópolis (nascente do rio), Mogi das Cruzes, Ponte da Vila Maria, Ponte das Bandeiras e Ponte dos Remédios (Figura 1, Tabela 1).



Figura 1. Mapa da região de coleta de amostras de água do rio Tietê

Fonte: <http://www.xumbury.com.br/imagens/pdf-mapariotiete.pdf> (adaptado)

Com exceção de Salesópolis, onde a água foi coletada diretamente por imersão de um galão de 20 L, as amostras de água foram obtidas com o uso de um balde de plástico amarrado a uma corda. Após imerso totalmente na água, o balde era içado e a água armazenada em galões de 20 L. Todas as amostras de água foram utilizadas na mesma semana da realização da coleta.

Tabela 1. Localização dos cinco pontos de coleta de amostras de água do rio Tietê

Pontos de coleta	Localização
Salesópolis (SP): Parque das Nascentes do Rio Tietê	23°34'17,1"S 45°44'9,5"O
Mogi das Cruzes (SP): Ponte próxima ao Clube Náutico Mogiano	23°30'48,42"S 46°12'11,65"O
São Paulo (SP): Ponte da Vila Maria	23°31'38,19"S 46°35'48,60"O
São Paulo (SP): Ponte das Bandeiras	23°31'08,91"S 46°37'48,53"O
São Paulo (SP): Ponte dos Remédios	23°31'12,68"S 46°44'48,80"O

Em cada uma das amostras foram expostos, por um período de 48 horas, dois bulbos de *Allium cepa*. Após esse período, foram removidos pequenos fragmentos das

extremidades das raízes formadas, de aproximadamente 3 mm de comprimento cada, contendo os meristemas radiculares. Esses fragmentos radiculares foram colocados por 24 horas em fixador Carnoy (solução de álcool etílico e ácido acético na proporção de 3:1). Posteriormente, os fragmentos foram transferidos para uma solução de álcool etílico a 70% e mantidos em geladeira até serem analisados.

Para a preparação das lâminas, os meristemas foram imersos em HCl 1N por 20 minutos. Em seguida foram transferidos para uma lâmina onde se adicionaram 3 a 4 gotas de corante azul de toluidina a 0,2% (Coutinho 2008). Com a lamínula posicionada sobre os meristemas, foi feito o esmagamento dos mesmos por suave compressão de uma pinça sobre a lamínula. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico com aumentos de 400x e 1000x. Para cada bulbo foi montada uma lâmina.

Em cada lâmina, procedeu-se a contagem de células com micronúcleos (MN) e deformações nucleares (DN). O total de células radiculares analisadas variou conforme a amostra (Tabela 2). As comparações estatísticas das diferenças numéricas entre as amostras foram feitas a partir do teste exato de Fisher para proporções, com o auxílio do software Minitab[®]. A amostra proveniente de Salesópolis, por se tratar da nascente do rio, constituiu-se no grupo controle.

RESULTADOS

Foi observada a formação de MN e DN em células meristemáticas expostas a 4 das 5 amostras coletadas (Figura 2). A amostra de água proveniente de Salesópolis, nascente do Rio Tietê (amostra controle), foi a única em que não se observou nenhuma dessas alterações. Diversos tipos de DN foram observados, principalmente brotos nucleares e núcleos com bordas irregulares.

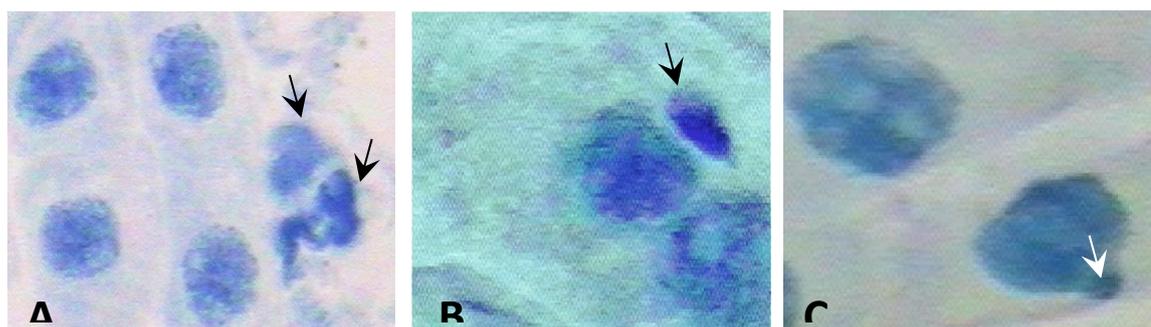


Figura 2. Células meristemáticas radiculares de *Allium cepa* expostas a amostras de água do Rio Tietê. A. Núcleos deformados (setas) ao lado de núcleos normais; B. Micronúcleo; C. Broto nuclear. Aumentos de 1000x.

Tabela 2. Números de células analisadas, de micronúcleos e de núcleos deformados observados em raízes de *Allium cepa* expostas a amostras de água do Rio Tietê. As frequências relativas de micronúcleos e núcleos deformados encontram-se entre parênteses

Amostras	Número de células analisadas	Número de micronúcleos	Número de núcleos deformados
Salesópolis	435	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Mogi das Cruzes	664	10 (1,5%)	30 (4,5%)
Ponte da Vila Maria	485	8 (1,6%)	16 (3,3%)
Ponte das Bandeiras	444	73 (16,4%)	26 (5,9%)
Ponte dos Remédios	493	20 (4,1%)	10 (2,0%)
Total	1493	111 (7,4%)	82 (5,5%)

As frequências de MN e DN por amostra estão apresentadas na Tabela 2 e no gráfico da Figura 3. As quantidades de MN e de DN observados nas células expostas às amostras de água provenientes de Mogi das Cruzes e das pontes da Vila Maria, das Bandeiras e dos Remédios foram estatisticamente significativas quando comparadas ao grupo controle.

As raízes expostas às amostras de água de Mogi das Cruzes e da Ponte da Vila Maria mostraram proporções estatisticamente similares de MN (1,5% e 1,6%, respectivamente) e de DN (4,5% e 3,3%, respectivamente). Em cada uma dessas amostras, a proporção de DN foi significativamente maior que a de MN. Com relação à amostra da Ponte dos Remédios, essas duas amostras apresentaram significativamente menos MN e mais DN (Figura 3). As proporções de MN e de DN para a amostra da Ponte das Bandeiras foram significativamente maiores que todas as demais (16,4% e 4,1%, respectivamente).

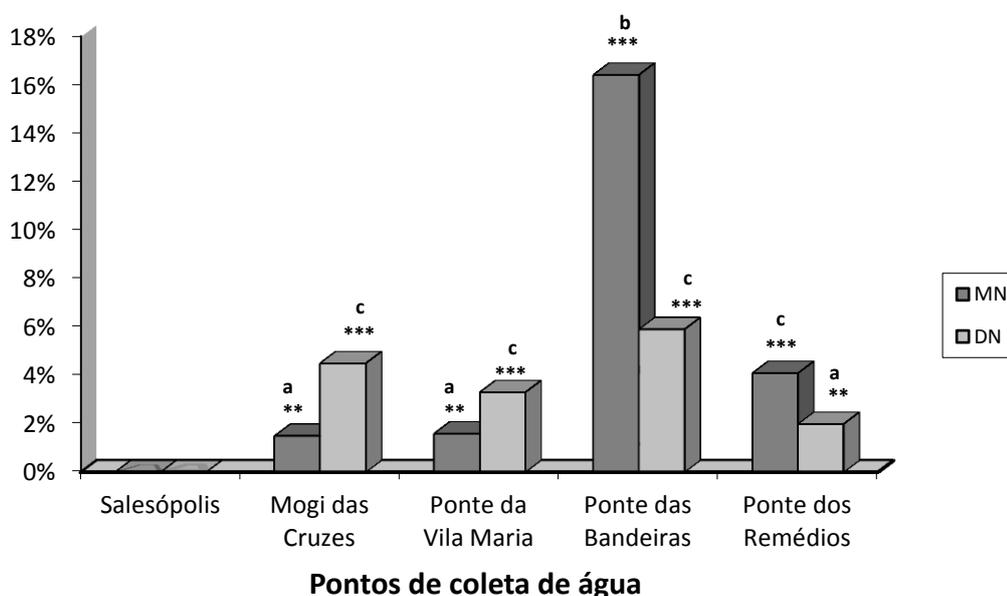


Figura 3. Frequências relativas de micronúcleos (MN) e deformações nucleares (DN) em células meristemáticas de *Allium cepa* expostas às amostras de água do rio Tietê. (**p < 0,05 e ***p < 0,001 em relação ao controle; letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas)

DISCUSSÃO

O sistema teste de *Allium cepa* revelou o potencial citogenotóxico de amostras de água do Rio Tietê, uma vez que a formação de MN e DN em quatro das cinco amostras foi significativa. A presença de MN, especificamente, tem sido considerada por diversos autores como uma forma efetiva e simples de se verificar os efeitos mutagênicos promovidos por substâncias químicas (Leme; Marin-Morales 2009). Isso se deve ao fato de que os MN resultam de danos celulares não reparados e que se tornam evidentes nas células-filhas após a divisão celular.

Do mesmo modo, alterações nucleares caracterizadas por modificações morfológicas no núcleo interfásico estão associadas a alterações cromossômicas induzidas pelos agentes químicos. Por exemplo, a formação de brotos nucleares, tais como aqueles observados no presente trabalho (Figura 2C), pode resultar da eliminação de material genético excedente originado por processos de poliploidização induzidos pela exposição aos poluentes (Leme; Marin-Morales 2009). Modificações nucleares como as lobulações e outras irregularidades no contorno nuclear (Figura 2A) indicam citotoxicidade que leva ao processo de morte celular (Fernandes et al. 2007, Leme et al. 2008).

Outras aplicações desse sistema teste em amostras de águas provenientes de rios poluídos já foram efetuadas. Barbério (2009) e Barbério et al. (2009) encontraram resultados diferentes dos apresentados no presente trabalho em suas análises das águas do Rio Paraíba do Sul, também situado no Estado de São Paulo. Nesses estudos, não foram registradas deformações nucleares tais como as observadas no presente trabalho, e a frequência observada de MN não foi significativa. No entanto, os autores relatam alterações no índice de mitoses e no crescimento das raízes, o que atesta a citotoxicidade dessas águas.

Em outro estudo similar realizado por Amaral et al. (2007) no Rio Tapanhon, também situado no Estado de São Paulo, novamente não se registrou a formação de MN ou DN, ocorrendo apenas alteração no índice de mitoses, que se tornaram aumentadas após exposição às amostras de água. A ausência de MN e DN nas células radiculares de *Allium cepa* nestes dois estudos sugere que deve haver uma diferença qualitativa e/ou quantitativa na composição de poluentes despejados nestes dois rios paulistas em relação ao que se efetua no trecho do Rio Tietê estudado no presente trabalho.

A composição de poluentes existentes nas águas do Tietê não foi diretamente identificada neste estudo, mas foi possível ter acesso a informações sobre esses poluentes a partir do Relatório de Qualidade das Águas Superficiais no Estado de São Paulo (Cetesb 2012). De acordo com esse relatório, a qualidade do Rio Tietê, baseada no IQA (Índice de Qualidade das Águas), é boa nas proximidades da nascente. O mesmo relatório afirma que no período chuvoso de 2012, o rio apresentou qualidade regular e ruim em Mogi das Cruzes, com turbidez elevada e ocorrência de toxicidade aguda. À jusante da Região Metropolitana de São Paulo, a qualidade das águas foi considerada péssima, havendo

registro da presença de metais como chumbo e níquel. De acordo com Egito et al. (2007), metais potencialmente tóxicos resultantes de certas atividades agrícolas e industriais estão entre os contaminantes ambientais mais comuns, e alguns desses metais, como o Ni e o Cr, são reconhecidamente genotóxicos.

Mortatti et al. (2010) estudaram as concentrações de metais pesados em sedimentos de fundo ao longo da bacia do rio Tietê. Em Mogi das Cruzes, os autores registraram ausência de poluição pela maioria dos metais estudados, com exceção do Zn, cuja poluição foi considerada moderada. No trecho médio da bacia, após o rio ter sofrido forte influência urbana da capital paulista, principalmente relacionada aos efluentes domésticos e industriais despejados no rio, os autores reportaram concentrações moderadas Cr, Cu e Ni e elevadas concentrações de Zn.

Estudos de citogenotoxicidade das águas do rio Pitimbu, na cidade de Natal, RN, foram conduzidos por Egito et al. (2007) utilizando o sistema *Allium cepa*. Assim como o Tietê, o Pitimbu também recebe efluentes domésticos e industriais. As autoras registraram efeitos citotóxicos e genotóxicos das amostras de água provenientes de diversos pontos do rio Pitimbu e discutem a ocorrência de tais efeitos como consequência das concentrações elevadas de metais tóxicos (Zn, Pb, Cu, dentre outros). Muito possivelmente essa também seja a causa de boa parte dos efeitos citogenotóxicos registrados no presente trabalho.

Entretanto, não se podem descartar os efeitos de outros parâmetros cujos valores encontram-se alterados nas águas do rio Tietê. De acordo com a Cetesb (2012), a partir de Mogi das Cruzes passam a ser observadas, no Tietê, alterações na condutividade, na turbidez nas concentrações de nitrato, nitrogênio amoniacal e fósforo e na taxa de oxigênio dissolvido, além da elevada presença de bactérias (*Escherichia coli*). Barbério et al. (2009) discute a possibilidade de efeitos citotóxicos associados a níveis elevados de *E. coli* nas águas do Rio Paraíba do Sul.

Pode-se afirmar, portanto, que as águas do rio Tietê no trecho estudado apresentam uma complexa mistura de poluentes, muitos deles notórios pelo potencial citogenotóxico. Uma das grandes vantagens dos ensaios que utilizam bulbos de *Allium cepa* é exatamente a utilidade desse sistema teste no monitoramento dos efeitos citogenotóxicos sinérgicos originados da mistura complexa de poluentes encontrada em águas contaminadas de certos rios (Egito et al. 2007, Barbério et al. 2009).

É interessante notar as variações nos efeitos citogenotóxicos registradas no presente estudo. Os níveis de citogenotoxicidade das águas entre Mogi das Cruzes e a Ponte da Vila Maria são muito semelhantes, como se pode observar pelas proporções similares de formação de MN e de DN nas raízes de *Allium cepa* expostas a essas amostras. No trecho seguinte do rio, entre a Ponte da Vila Maria e a Ponte das Bandeiras, há uma elevação substancial dos efeitos citogenotóxicos, que decaem no próximo trecho, entre a Ponte das Bandeiras e a Ponte dos Remédios. Não foi possível estabelecer uma explicação plausível para essas variações, o que poderá ser feito futuramente a partir de novos estudos.

CONCLUSÃO

O sistema teste de *Allium cepa* se mostra como método eficiente de avaliação da citogenotoxicidade de amostras de água do rio Tietê, especialmente em seu trecho que atravessa a Região Metropolitana de São Paulo. Os resultados confirmam a existência de efeitos citogenotóxicos a partir de amostras de água coletadas em Mogi das Cruzes, os quais se intensificam em um trecho do rio situado nas imediações da Ponte das Bandeiras. Possivelmente tais efeitos citogenotóxicos resultam de uma complexa interação dos diversos poluentes de origem doméstica e industrial que são liberados no Tietê no trecho urbano da cidade de São Paulo.

REFERÊNCIAS

- Amaral AM, Barbério A, Voltoline JC, Barros L. Avaliação preliminar da citotoxicidade e genotoxicidade, da água da bacia do rio Tapanhon (SP- Brasil) através do teste *Allium* (*Allium cepa*). Rev Bras Toxicol. 2007; 20(1 e 2):65-72.
- Arias ARS, Buss DF, Albuquerque C, Inácio AF, Freire MM, Egler M, Mugnai R, Baptista DF. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. Ciênc Saúde Col. 2007; 12(1):61-72.
- Bagatini MD, Silva ACF, Tedesco SB. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. Rev Bras Farmacogn. 2007; 17(3):444 – 447.
- Barbério A. Efeitos citotóxicos e genotóxicos no meristema radicular de *Allium cepa* exposta à água do rio Paraíba do sul – Estado de São Paulo – Regiões de Tremembé e Aparecida [tese de doutorado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2009.
- Barbério, A, Barros L, Voltolini JC, Mello MLS. Evaluation of cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test. Braz J Biol. 2009; 69(3):837-842.
- British Council. Projeto *Rivers of the World* (Rios do Mundo): Rio Tietê, São Paulo. [Internet]. 2008 [acesso em 2012 fev. 8]; Disponível em: http://www.britishcouncil.org/br/rio_tiete_web.pdf.
- Cetesb (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo). Relatório de qualidade das águas superficiais do Estado de São Paulo. [Internet]. 2012 [acesso em 2012 out 13]; Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>.
- Coutinho AP. Métodos e Técnicas em Citologia e Fisiologia. Universidade de Coimbra, Departamento de Botânica, FCTUC. [Internet]. 2008 [acesso em 2011 out 18]; Disponível em: <https://woc.uc.pt/botanica/getFile.do?tipo=2&id=2910>.
- Egito LCM, Medeiros MG, Medeiros SRB, Agnez-Lima LF. Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil. Gen Mol Biol. 2007; 30(2):435-441.
- Fernandes TCC, Mazzeo DEC, Marin-Morales MA. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trixuralin herbicide. Pest Biochem Physiol. 2007;88: 252–259.
- Ivanova E, Staykova T, Velcheva I. Cytotoxicity and genotoxicity of heavy metal and cyanide-contaminated waters in some regions for production and processing of ore in Bulgaria. Bulg J Agric Sci. 2008; 14(2):262-268.
- Kolling D.J, Kratz JM, Barardi CRM, Simões CMO. Padronização *in vitro* da técnica do micronúcleo em células vero para detecção de genotoxicidade [Internet]. In: Anais da 58ª Reunião Anual da

SBPC, Jul 2006; Florianópolis, BR. Florianópolis: SBPC, 2006 [acesso em 2011 dez 28]; Disponível em: http://www.sbpnet.org.br/livro/58ra/senior/resumos/resumo_1406.html.

Leme DM, Angelis DF, Marin-Morales MA. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. *Aquat Toxicol.* 2008; 88:214–219.

Leme DM, Marin-Morales MA. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutat Res.* 2009; 682:71-81.

Mortati J, Hissler C, Probst JL. Distribuição de metais pesados nos sedimentos de fundo ao longo da bacia do Rio Tietê. *Geol. Sér Cient.* 2010; 10(2):3-11.

Odeigah PGC, Nurudeen O, Amund OO. Genotoxicity of oil field wastewater in Nigeria. *Hered.* 1997; 126:161–167.

Rodgher S; Espíndola ELG, Rocha O, Fracácio R, Pereira RHG, Rodrigues RHS. Limnological and ecotoxicological studies in the cascade of reservoirs in the Tietê river (São Paulo, Brazil). *Braz J Biol.* 2005; 65(4):697-710.

Sabesp (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo). Tietê Vivo: Compromisso de todos nós [Internet]. 2012; [acesso em 2012 out 25]. Disponível em: <http://site.sabesp.com.br/site/imprensa/noticias-detalle.aspx?secaold=65&id=4582>.

Silva DSBS, Garcia ACFS, Mata SS, Oliveira B, Estevam CS, Scher R, Pantaleao SM. Genotoxicity and cytotoxicity of *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae, on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Rev Bras Farmacogn.* 2011; 21(1):92-97.