

**Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Programa de Pós-Graduação em Genética**

Ilka Fernanda Mendes Pereira

**Genotoxicidade como parâmetro de monitoramento
ambiental do Rio São Francisco no Polo Petrolina (PE) /
Juazeiro (BA)**

**Recife
2017**

Ilka Fernanda Mendes Pereira

**Genotoxicidade como parâmetro de monitoramento
ambiental do Rio São Francisco no Polo Petrolina (PE) /
Juazeiro (BA)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre em Genética.

Orientador: Ana Christina Brasileiro-Vidal

Coorientador: Kyria Cilene de Andrade Bortoleti

Recife

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Pereira, Ilka Fernanda Mendes

Genotoxicidade como parâmetro de monitoramento ambiental do Rio São Francisco no Polo Petrolina (PE)/ Juazeiro (BA)/ Ilka Fernanda Mendes Pereira- 2017.

88 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Ana Cristina Brasileiro-Vidal

Coorientadora: Kyria Cilene de Andrade Bortoleti

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Genética. Recife, 2017.

Inclui referências e anexos

1. Água- poluição 2. Ecossistemas 3. Toxicidade- testes I. Brasileiro-Vidal, Ana Cristina (orient.) II. Bortoleti, Kyria Cilene de Andrade (coorient) III. Título

628.168

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2018-203

Elaborado por Elaine C. Barroso CRB4/1728

ILKA FERNANDA MENDES PEREIRA

**GENOTOXICIDADE COMO PARÂMETRO DE MONITORAMENTO AMBIENTAL
DO RIO SÃO FRANCISCO NO POLO PETROLINA (PE)/JUAZEIRO (BA)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética, Área de Concentração Biologia Molecular, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Genética.

Aprovado em: 23/02/2017

BANCA EXAMINADORA

Dra. Ana Christina Brasileiro Vidal
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Neide Santos
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Maria Betânia Melo de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Raquel Pedrosa Bezerra
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dedico...

A minha família

Aos meus pais, João Mendes e Aldina Carvalho

Ao meu esposo Fernando Vanraij

Aos meus irmãos Icaro Guilherme e Iuri Mendes

*Por toda dedicação, amor e paciência em todos os momentos
da minha vida, vocês são tudo que eu tenho e meu maior tesouro.*

AGRADECIMENTOS

Á meu **Deus**, pela sua graça e bondade que me alcançam a cada dia;

Aos meus pais, **João e Aldina**, meus maiores exemplos de força, garra, determinação e responsabilidade;

À **Fernando Vanraj**, meu apoio e porto seguro, que me compreende, me acompanha, me incentiva e acredita mais em mim que eu mesma;

Aos meus irmãos **Icaro e Iuri** e demais familiares de Juazeiro/BA ou Paraibano/MA, que próximos ou distantes, estão sempre presentes torcendo para que alcance os meus objetivos;

À **Ana Christina**, minha orientadora pelos ensinamentos e dedicação;

À **Kyria Bortoleti, Tia Ana e Carlos Alberto**, por me acolher, escutar e incentivar. Obrigada por esse coração maravilhoso que ajuda todo mundo e por estar sempre fazendo o bem as pessoas. Só Deus para retribuir isso;

À **Carolline Pires e Erlânia Siqueira** por serem os meus melhores presentes de Recife, não há nada que retribua o abrigo, o carinho e todas as outras coisas que fizeram por mim;

À **Laysla Motta e Cinthia Silva**, parceiras de campo e de bancada. Obrigada por toda ajuda e dedicação;

Aos meus **companheiros de Cemafauna Caatinga**, Débora, Elianderson, Jayane, Keyla, Helen, Palloma, Araújo, Ingrid, Matheus e Jadilson que fazem dos meus dias mais leves e alegres;

Ao **peçoal do LGBV** que sempre me recebem com carinho, Vanessa Sousa, Rafaela, Emanuelle, Lívia e Artemisa;

Aos **Professores, Draulio Costa, Patricia Nicolla e Augusto** por todas as contribuições dadas a este trabalho;

Ao **Cemafauna e Embrapa Semiárido**, pela infraestrutura para realização de parte deste trabalho;

Aos **professores do Programa de Pós-graduação em Genética**, pela contribuição na minha formação nessa difícil jornada;

À **FACEPE**, pela bolsa concedida.

Recebam, meu muito obrigada!

RESUMO

Petrolina (PE) e Juazeiro (BA) destacam-se pelo desenvolvimento industrial, urbano e prática intensiva da agricultura irrigada. Tais atividades geram resíduos que comprometem a sanidade do rio São Francisco, principal recurso hídrico da região. O presente trabalho avaliou o potencial tóxico de possíveis contaminantes presentes nas águas e sedimentos do rio, em duas áreas [(A1/Juazeiro) e A2/Petrolina]], receptoras de efluentes antropogênicos, nas estações de estiagem (EE) e chuvosa (EC) em agosto/2015 e março/2016, respectivamente. Amostras foram coletadas em triplicata em cada área, em três pontos de amostragem: à montante (M), no despejo (E) e à jusante (J) do efluente. Variáveis hidroquímicas foram medidas *in situ* e concentrações de nutrientes e metais pesados em laboratório. Sementes de *Allium cepa* L. foram submetidas às amostras coletadas e aos controles. Em relação à toxicidade, observou-se uma diminuição do índice de germinação nas amostras de água [(MA1; 64,7%); (EA2; 61,3%); (JA2; 60,7%)] e sedimento [(MA2; 68%); (JA2; 57,6%)], bem como no comprimento médio das raízes na maioria dos tratamentos analisados, exceto para amostra de água à JA2 (0,77 cm) e sedimento à MA1 (0,67 cm) e MA2 (0,70 cm). A citotoxicidade foi observada para três amostras de sedimento na EE (JA2; 7,70%) e EC (EA2; 19,77% e JA2; 18,03%). Alterações genotóxicas foram observadas em amostras de água na EE [(EA1; 1,02%); (JA1; 0,91%); (JA2; 0,84%)] e EC (EA2; 0,96%) e todas amostras de sedimento da EE (A1) e EC (A2), assim como no sedimento à MA2 (1,13%). Índices mutagênicos foram visualizados apenas à MA1 (0,22%) e no EA1 (0,29%) durante a EE. Sugere-se que a interação entre nutrientes e metais pesados (Ni, Pb, Cu, Fe, Zn, Mn e Cr), das amostras analisadas sejam responsáveis pelas alterações no material genético de *A. cepa*.

Palavras-chave: Biomonitoramento. Ecossistemas aquáticos. Semiárido.

ABSTRACT

Petrolina and Juazeiro, municipalities located in State of Pernambuco and Bahia, respectively, stand out for their industrial and urban development along with intensive irrigated agriculture practices. However, such activities damage the water quality in the São Francisco River, the main water resource to the region. This research evaluated the toxic potential of possible contaminants that have been found in water and sediments collected from different sites (A1/Juazeiro and A2/Petrolina) in the São Francisco river in August 2015 and March 2016. The sampled areas receive anthropogenic effluents during both dry (EE) and raining seasons (EC). Which area was sampled in triplicate in three different spots related to the source of the wastewater: upstream (M), downstream (J), and in the source (E). Hydro chemical variables were measured *in situ* and nutrients and heavy metals concentration were obtained in laboratory. *Allium cepa* L. seeds were cultivated with the collected samples and control. Regarding to the toxicity, it was observed a drop in the germination index in the seeds submitted to water samples [(MA1; 64,7%); (EA2; 61,3%); (JA2; 60,7%), sediments [(MA2; 68%); (JA2; 57,6%)], as well as roots' average length in most of the treatments analyzed. Although, water samples JA2 (0,77 cm), and sediments samples MA1 (0,67 cm) and MA2 (0,70 cm) have been found as exceptions. Toxicity has been noticed in three sediment samples EE (JA2; 7,70%) and EC (EA2; 19,77%, and JA2; 18,03%). Genotoxic effects have been identified in water samples EE [(EA1; 1, 02%); (JA1; 0,91%); (JA2 (0,84%)]], and EC (EA2; 0,96%) and in all sediment samples from EE (A1) and EC (A2), as well as sediment sample MA2 (1,13%). Mutagenic index was visualized only in MA1 (0, 22%) and EA1 (0, 29%) during dry season. We suggest that interaction between nutrients and heavy metals (Ni, Pb, Cu, Fe, Zn, Mn, and Cr) from the analyzed samples are responsible for the alterations in the *A. cepa*'s genetic material.

Key-words: Biomonitoring. Aquatic ecosystem. Semi-arid.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Organismos considerados bioindicadores. (A) *Daphnia magna*. Fonte: kalmeijer.net; (B) Ephemeroptera. Fonte: Click Ciência; (C) *Astyanax bimaculatus*. Fonte: Geiza Rodrigues; (D) Exemplar de *Allium cepa* L. Fonte: banggood.com.. **30**

Figura 2. Alterações cromossômicas observadas em *Allium cepa* L. após exposição à amostras de água do reservatório Entremontes (Parnamirim – PE). (A) Perda cromossômica; (B) ponte anafásica; (C) micronúcleo. Fonte: Ilka Mendes. **36**

Figura 3. Localização geográfica das áreas de estudo situadas em Juazeiro/BA [Área 1 (efluente urbano-agrícola)] e Petrolina/PE [Área 2 (efluente urbano e industrial)], bem como dos três pontos de amostragem em cada área (à montante, no despejo e à jusante do efluente, da esquerda para direita, respectivamente), ao longo do rio São Francisco. Fonte: Google Earth. **38**

Figura 4. Representação da amostragem realizada em três pontos de coleta (Montante, Efluente e Jusante) nas duas áreas em estudo situadas em Juazeiro/BA (Área 1) e Petrolina/PE (Área 2). **39**

Figura 5. Representação da amostragem compostas realizada em cada um dos três pontos de coleta (Montante, Efluente e Jusante) nas duas áreas em estudo situadas em Juazeiro/BA (Área 1) e Petrolina/PE (Área 2). **40**

Figura 6. Alterações cromossômicas encontradas em células meristemáticas de *Allium cepa* após exposição às amostras de água e sedimento coletadas no rio São Francisco. A. Broto nuclear (Água; Área 1). B. Micronúcleos (Água; Área 1). C. Metáfase com perda cromossômica (Sedimento; Área 1). D. Anáfase com quebras cromossômicas (Água; Área 1); E. Anáfase final com quebras cromossômicas (Sedimento; Área 1); F. Telófase com pontes e quebra cromossômicas (Sedimento; Área 2). **53**

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Parâmetros físicos e químicos e análise de nutrientes das amostras de água avaliados *in situ* nas áreas A1 (efluente urbano-agrícola) e A2 (efluente urbano e industrial) de despejo de efluentes no rio São Francisco em Juazeiro – BA e Petrolina – PE, nas estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016), em comparação à resolução CONAMA 357/2005. **46**
- Tabela 2.** Quantificação de metais pesados presentes nas amostras de água e sedimento em duas áreas de amostragem do rio São Francisco [A1 (efluente urbano-agrícola) e A2 (efluente urbano e industrial)], localizadas em Juazeiro – BA e Petrolina – PE, respectivamente, durante as estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016), em comparação à resolução CONAMA 357/2005 (água) e 454/2012(sedimento). **50**
- Tabela 3.** Avaliação do teste de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade em células meristemáticas de *Allium cepa* L., após exposição às amostras de água e sedimento coletadas no rio São Francisco na área 1 (A1) composta por efluente urbano-agrícola em Juazeiro – BA, nas estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016). **51**
- Tabela 4.** Avaliação do teste de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade em células meristemáticas de *Allium cepa* L., após exposição às amostras de água e sedimento coletadas no rio São Francisco na área 2 (A2) composta por efluente urbano-industrial em Petrolina-PE, nas estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016). **54**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Item	Definição
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANA	Agência Nacional de Águas
APHA	<i>American Public Health Association</i> ; Associação Americana de Saúde Pública
Cd	Cádmio
CE	Condutividade Elétrica
CBHSF	Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EAA	Espectrometria de Absorção Atômica
EC	Estação Chuvosa
EE	Estação de Estiagem
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
IAC	Índice de Alterações Cromossômicas
IG	Índice de Germinação
IM	Índice Mitótico

IMt	Índice de Mutagenicidade
IPA	Instituto Agrônomo de Pernambuco
IPCS	Programa Internacional de Segurança Química
INEMA	Instituto do Meio Ambiente e Recursos Hídricos
MMA	Ministério do Meio Ambiente
MMS	Metil Metano sulfonato
MN	Micronúcleos
Mn	Manganês
Ni	Níquel
pH	Potencial hidrogeniônico
OD	Oxigênio Dissolvido
RIDE	Região Integrada de Desenvolvimento Econômico
TDS	Sólidos Totais Dissolvidos
UNEP	<i>United Nations Environment Programme;</i> Programa Ambiental das Nações Unidas
UNIVASF	Universidade Federal do Vale do São Francisco
USEPA	<i>US Environmental Protection Agency;</i> Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
VCMR	Valor do Comprimento Médio das Raízes
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1 A ÁGUA E SUA DISTRIBUIÇÃO NO TERRITÓRIO BRASILEIRO	15
2.2 A BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO SÃO FRANCISCO	16
2.3 O POLO PETROLINA (PE) / JUAZEIRO (BA).....	18
2.4 POLUIÇÃO E MONITORAMENTO AMBIENTAL	21
2.4.1 Análise das propriedades físicas e químicas da água e sedimento	25
2.4.2 O uso de bioindicadores	29
2.4.3 Bioensaios genéticos.....	31
2.4.3.1 O sistema teste <i>Allium cepa</i> L.	34
3 OBJETIVOS	37
3.1 OBJETIVO GERAL	37
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
4.1 ÁREAS DE ESTUDO E DELINEAMENTO AMOSTRAL	38
4.2 DETERMINAÇÃO DO PERFIL FÍSICO-QUÍMICO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA....	40
4.3 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE METAIS PESADOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E SEDIMENTO	40
4.4 BIOENSAIO COM <i>Allium cepa</i> L.	41
5 RESULTADOS	44
5.1 PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS AVALIADOS <i>IN SITU</i> E CONCENTRAÇÕES DE NUTRIENTES NAS AMOSTRAS DE ÁGUA	44
5.2 ANÁLISE DA PRESENÇA DE METAIS PESADOS NAS AMOSTRAS DE ÁGUA E SEDIMENTO	45
5.3 AVALIAÇÃO DOS ENSAIOS UTILIZANDO O SISTEMA-TESTE <i>Allium cepa</i> L. ...	48
6 DISCUSSÃO	55
7 CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS	65
ANEXOS.....	80
CURRÍCULO LATTES	84

1 INTRODUÇÃO

Representantes do principal polo de fruticultura irrigada da região Nordeste, as cidades de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA), margeadas pelo rio São Francisco, apresentam aproximadamente 500.000 habitantes e merecem destaque por sua crescente urbanização, desenvolvimento industrial e prática intensiva de agricultura irrigada.

Entretanto, tais cidades são consideradas também os maiores centros de impactos sobre as águas do rio São Francisco. Os principais poluentes gerados são oriundos de indústrias alimentícias, químicas e/ou farmacêuticas, bem como de efluentes domésticos e agrícolas, uma vez que em busca de alternativas que gerem um aumento da produção e combate às pragas e doenças nas culturas, os agricultores adotam o uso intensivo de adubos químicos e defensivos agrícolas. Estes são conhecidos por causarem impactos negativos para o solo, lençol freático, ecossistemas aquáticos e saúde humana.

Embora exista uma legislação pertinente relacionada à concentração máxima de compostos presentes na água e sedimento, a contaminação dos ecossistemas aquáticos é um assunto ainda não tratado com a importância necessária, já que os compostos inseridos por tais atividades são potencialmente tóxicos e possuem a capacidade de acumular-se nos tecidos dos organismos vivos causando danos ao DNA dos mesmos. Ao atingirem os corpos hídricos, tais substâncias podem ainda comprometer a qualidade da água, torná-la imprópria para atividades de agricultura, piscicultura e inviabilizar seu uso para consumo humano.

Diferentes ferramentas podem ser utilizadas para diagnóstico e monitoramento ambiental, a exemplo do uso de bioensaios genéticos, os quais

refletem o impacto de um contaminante e/ou mistura de contaminantes ao DNA dos organismos vivos. Nesse contexto, o sistema-teste *Allium cepa* L. tem sido indicado como um ensaio eficiente para a avaliação em curto prazo de poluentes ambientais e, em particular, de poluentes aquáticos. É amplamente utilizado por sua eficiência, baixo custo, fácil manuseio e boa correlação com outros sistemas testes. Além disso, é um teste completo que permite avaliar o potencial tóxico, citogenotóxico e mutagênico em nível cromossômico da substância testada mediante a germinação das sementes, avaliação do crescimento radicular, índice de divisão celular e observação de alterações cromossômicas durante o ciclo celular.

Diante da importância e intensa exploração do rio São Francisco pela comunidade local e circunvizinha para os diversos fins, é extremamente necessário o biomonitoramento deste ecossistema, mediante a correlação do perfil físico e químico da água e sedimento com ensaios de genotoxicidade, em diferentes épocas do ano (estação de estiagem e chuvosa), refletindo os impactos causados na saúde ambiental pelos compostos inseridos. Dessa forma, o presente trabalho teve por finalidade analisar o potencial tóxico, citogenotóxico e mutagênico de possíveis contaminantes presentes nas águas e sedimentos do rio São Francisco, no Polo Petrolina/Juazeiro, mediante a utilização do sistema-teste *A. cepa*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A ÁGUA E SUA DISTRIBUIÇÃO NO TERRITÓRIO BRASILEIRO

A água é um recurso mineral essencial à vida de todos os organismos, estando sua qualidade e quantidade relacionada à manutenção da saúde humana, ao desenvolvimento social e econômico das sociedades (Chenoweth, 2008; Tundisi, 2008).

O Brasil é detentor de 13% das reservas de água do mundo, bem como do maior volume de água disponível para consumo humano. Entretanto, a distribuição geográfica e o uso desse recurso para diversos fins não acontecem de maneira uniforme e equitativa, observando-se uma exploração não sustentável dessa reserva (Barros e Amin, 2008; Bulhões *et al.*, 2009), além de crises de abastecimento hídrico enfrentadas por muitas regiões brasileiras (ANA, 2015a).

Por exemplo, na região hidrográfica amazônica, onde se encontra o menor contingente populacional (cerca de 5% da população brasileira) e uma menor demanda de água, a disponibilidade hídrica nacional atinge o volume de cerca de 80% do total; enquanto que, nas regiões hidrográficas banhadas pelo Oceano Atlântico onde se concentram 45,5% da população do país, estão disponíveis apenas 2,7% dos recursos hídricos do Brasil (ANA, 2015b).

A região Nordeste do Brasil, por sua vez, concentra cerca de 3% do volume hídrico existente no país, o qual se encontra distribuído na bacia hidrográfica do rio São Francisco (63%), bacia do rio Parnaíba (15%) e em açudes de grande porte e aquíferos profundos localizados em poços tubulares perfurados (22%) (Brito *et al.*, 2007). Essa baixa quantidade de água reflete no fenômeno da seca, observada na região do Submédio São Francisco, a qual afetou, nos anos de 2012 e 2013, quase

10 milhões de pessoas e mais de 1,2 mil municípios da região semiárida (Teixeira *et al.*, 2014).

Além dessa variação na distribuição geográfica, as atividades antrópicas, como a prática da agricultura, o crescimento populacional, a urbanização e a industrialização, exercem alta pressão sobre os ambientes aquáticos devido ao aumento da demanda de água para suprir as necessidades dessas atividades (Nunes e Amin, 2008). A irregularidade na distribuição do uso da água no Brasil é notória, cerca de 55% da vazão de água retirada é feita pela irrigação, seguida do abastecimento humano (22%), industrial (15%), animal (6%) e humano rural (2%) (ANA, 2016).

2.2 A BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO SÃO FRANCISCO

A bacia hidrográfica do rio São Francisco representa cerca de 8% do território nacional, sendo habitada por mais de 18 milhões de pessoas (MMA, 2004; CBHSF, 2015). Com nascente na Serra da Canastra (MG) e foz no Oceano Atlântico através da divisa entre os Estados de Alagoas e Sergipe, apresenta uma área de drenagem de 639.219 Km² (7,5% do país) e extensão de 2.700 Km, abrangendo 508 municípios e sete Unidades de Federação como Bahia com maior parte dos seus municípios inseridos (48,2%), Minas Gerais (36,8%), Pernambuco (10,9%), Alagoas (2,2%), Sergipe (1,2%), Goiás (0,5%) e Distrito Federal (0,2%), motivo pelo qual é conhecido como o rio da Integração Nacional (MMA, 2006; CBHSF, 2016).

Considerando a grande dimensão territorial, o curso do rio e a variação de altitudes, esta bacia encontra-se dividida em quatro regiões: Alto, Médio, Submédio e Baixo São Francisco. De acordo com estas regiões, pode-se observar a caatinga

ou o cerrado como tipos de vegetação predominantes, clima úmido, árido ou semiárido, assim como temperaturas médias oscilando de 18° a 27 °C (MMA, 2004; ANA, 2016; CBHSF, 2016). Os índices pluviais variam entre a nascente e foz do rio São Francisco, com irregularidades do regime de chuvas concentrado em quatro meses (fevereiro-maio) associada a uma grande variabilidade interanual (Cirilo *et al.*, 2010) e evaporação de 2.000 mm/ano no semiárido (Moura *et al.*, 2007). Nota-se, por exemplo, uma média pluviométrica mais alta na Serra da Canastra (MG) (1.900 mm) e mais baixa no semiárido nordestino (450 mm) (MMA, 2004)

Do ponto de vista histórico, econômico e social, é incontestável a importância da bacia hidrográfica do rio São Francisco para o país. Em toda sua extensão, suas águas são utilizadas para consumo humano, geração de energia, transporte, aproveitamento na indústria e agropecuária (ANA, 2015b). Cerca de 77% do total de demanda consuntiva de água é retirada para irrigação, seguida das demandas urbana (11%), industrial (7%), animal (4%) e rural (1%) (CBHSF, 2015).

Apesar de toda sua importância, a referida bacia vem sofrendo um acelerado e contínuo processo de degradação ambiental. A exacerbada expansão do uso de suas águas, a ocorrência de longos períodos de estiagem, a degradação das suas nascentes, o desmatamento da mata ciliar, o assoreamento do rio e de seus tributários e a contaminação de suas águas por efluentes urbanos, agrícolas e industriais são problemas reais que atualmente têm afetado a sua saúde ambiental (Zellhuber, 2007; Buzelli e Cunha-Santino, 2013).

Em termos gerais, as cidades mais populosas são as que mais contribuem para o lançamento de esgoto doméstico na bacia; entre elas, pode-se citar a Região Metropolitana de Belo Horizonte (MG; Alto São Francisco), Barreiras (BA; Médio São Francisco), Petrolina e Juazeiro (PE e BA, respectivamente; Submédio São

Francisco) e Arapiraca (AL; Baixo São Francisco). Em relação à poluição industrial, as regiões do Alto e o Submédio São Francisco destacam-se como polo nesta atividade, principalmente a sub-bacia do rio das Velhas, que possui aproximadamente 3.125 indústrias, sendo 50% potencialmente poluentes. Por sua vez, a agricultura irrigada apresenta polos em todas as regiões fisiográficas, ressaltando-se o Médio e Submédio São Francisco que representam 77% da área irrigada da bacia (ANA, 2005).

2.3 O POLO PETROLINA (PE) / JUAZEIRO (BA)

Dentre as regiões da bacia hidrográfica do rio São Francisco, o Submédio São Francisco é a segunda maior região (155.637 Km²), estando limitada pelo reservatório de Sobradinho (Remanso/BA) e Paulo Afonso (BA), com clima semiárido e caatinga como vegetação predominante (CBHSF, 2016). Em 440 Km de extensão, esta região abrange 218 municípios, sendo os principais Juazeiro e Paulo Afonso (BA), assim como Petrolina, Ouricuri, Salgueiro, Serra Talhada e Arcoverde (PE) (Rodrigues *et al.*, 2004).

As cidades de Petrolina e Juazeiro estão localizadas às margens do rio São Francisco, no extremo oeste de Pernambuco e Norte da Bahia, possuindo 293.962 e 197.965 habitantes, respectivamente, segundo o Censo 2010 (IBGE, 2016). Tais cidades lideram uma RIDE (Região Integrada de Desenvolvimento Econômico), denominada Polo Petrolina-Juazeiro, em conjunto com os municípios de Lagoa Grande, Santa Maria da Boa Vista e Orocó (PE), Sobradinho, Casa Nova e Curaçá (BA), abrigando juntas aproximadamente 700.000 habitantes em uma região com 34.947,8 Km² (Cruz, 2012; MI, 2016).

Os primeiros projetos irrigados na RIDE Petrolina-Juazeiro surgiram no final da década de 60, utilizando como principal fonte hídrica o rio São Francisco. Atualmente, essa RIDE é considerada o polo de fruticultura irrigada de maior sucesso da região Nordeste (Ortega e Sobel, 2010), com cerca de 100.000 hectares de área plantada, incluindo áreas públicas e privadas (Vital *et al.*, 2011). Entretanto, vale ressaltar que o padrão de atividade agrícola adotado na região se encontra embasado em um modelo de produção do agro-hidronegócio de monocultura em grandes áreas, as quais geralmente são antecedidas pelo desmatamento e, conseqüentemente, comprometem a biodiversidade (Carneiro *et al.*, 2015).

Entre as frutíferas cultivadas na região, destacam-se as culturas de manga, uva, goiaba, banana, coco e acerola, as quais conseguiram se desenvolver bem no âmbito da agricultura irrigada, ganhando assim destaque no cenário nacional e internacional (Lima e Miranda, 2001). Estima-se que aproximadamente 90% da manga exportada pelo Brasil (Lima *et al.*, 2013), bem como 95% das uvas de mesa são provenientes do Submédio do Vale do São Francisco (Dias *et al.*, 2016).

Paralelamente à ampliação e consolidação da agricultura nesta região, um crescimento econômico e populacional foi observado em ambas as cidades, possibilitando o avanço e a expansão de outras atividades relacionadas ao agronegócio, ao crescimento do comércio, de serviços e de indústrias, aumentando assim a demanda por trabalhadores e empregos formais e gerando uma transformação do espaço regional (Araújo e Silva, 2013; Ferreira, 2015). Além disso, destaca-se o mercado turístico nas vinícolas da região, apontada como a segunda maior região vitivinícola do Brasil e responsável por 15% da produção

nacional. A viticultura tem empregado de forma direta e indireta aproximadamente 30.000 pessoas (VINHOVASF, 2011).

Adicionalmente, diante da crescente urbanização, expansão industrial e prática intensiva da agricultura irrigada, Petrolina e Juazeiro são apontadas como os maiores centros de geração de impacto sobre a qualidade das águas na região, concentrando aproximadamente 42% da carga potencial poluente advindos das indústrias alimentícias, químicas e/ou farmacêuticas (Rodrigues *et al.*, 2004). Como exemplos, citam-se: (1) efluentes de curtumes, cujas cargas poluentes são passíveis de conter substâncias orgânicas tóxicas e metais pesados (cloretos, sulfetos e cromo) (Thorstensen, 1997; Godecke *et al.*, 2012); (2) despejos de resíduos urbanos, a exemplo do esgotamento municipal com ausência de tratamento adequado, e (3) a própria atividade agrícola, com especial referência aos perímetros irrigados para produção de frutas com fins de exportação, com uso indiscriminado de fertilizantes e agrotóxicos.

Com o objetivo de identificar e classificar os principais agrotóxicos comercializados na região, entre 2007 e 2011, foi constatado que dos 108 agrotóxicos comercializados, aproximadamente 81% dos produtos utilizados variam de extremamente a medianamente tóxicos; destes, cerca de 44% são muito perigosos para o meio ambiente, como por exemplo o Folisuper, que é o agrotóxico mais aplicado na região. Entre os agrotóxicos mais citados, cerca de 77% são potencialmente carcinógenos e 31% potencialmente pré-carcinógenos (Bedor *et al.*, 2007).

Já existem relatos de um expressivo número de casos de intoxicação por estas substâncias (Bedor *et al.*, 2009), com sua possível associação à ocorrência de defeitos congênitos na região (Silva *et al.*, 2010), bem como à contaminação de

mananciais e mortandade de peixes (MMA, 2006), decorrentes possivelmente do uso, das condições de armazenamento e descarte de recipientes vazios dos pesticidas utilizados (Ferracini *et al.*, 2001; Bedor *et al.*, 2009; Pinheiro e Adissi, 2014). Tais produtos químicos são geralmente aplicados de seis a oito vezes em cada uma das duas estações de crescimento anual. Seus efeitos tóxicos nocivos podem afetar diferentes grupos de pessoas, como trabalhadores, vizinhos, visitantes, consumidores de produtos, pescadores e outros que dependem das fontes de água expostas (Pinheiro e Adissi, 2014).

Nesse contexto, sabendo que a qualidade da água é influenciada por características naturais da região (cobertura vegetal, topografia), por atividades desenvolvidas ao redor da mesma, bem como pelo uso, ocupação e manejo do solo (Ribeiro *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2013), há a necessidade de estudar e monitorar os efluentes lançados nos recursos hídricos com o objetivo de entender sua capacidade de afetar os organismos e impactar o meio ambiente (Mazzeo e Marin-Morales, 2015), uma vez que os ecossistemas aquáticos sofrem os maiores impactos em termos de poluição, pois são o destino final de muitos contaminantes (Manzano *et al.*, 2015).

2.4 POLUIÇÃO E MONITORAMENTO AMBIENTAL

A poluição pode ser definida como uma alteração ambiental promovida pela presença de uma ou mais substâncias no ecossistema, cuja composição química ou quantidade é capaz de impedir o funcionamento dos processos naturais e produzir efeitos indesejáveis ao ambiente e à saúde humana (Chapman, 1996; Lee, 2005).

O crescimento das atividades antrópicas não tem sido acompanhado pela implementação ou melhoria da infraestrutura de saneamento básico e de descarga de resíduos nem pela avaliação da qualidade da água lançada pelos efluentes. Dessa forma, pode-se afirmar que a contaminação dos ecossistemas aquáticos tem se tornado um subproduto das atividades pelas quais estes são explorados (Enderlein e Williams, 1996; Reza e Singh, 2010). O reconhecimento do perigo gerado por esses poluentes e a busca pelo controle da poluição é o primeiro passo para mitigação dos impactos por eles causados. Entretanto, embora exista uma legislação pertinente, esta ainda é ineficaz na fiscalização e na localização de fontes de poluição (Lacerda e Malm, 2008).

Tais fontes de poluição podem ser subdivididas em dois tipos, pontuais ou difusas. As fontes pontuais são aquelas onde é possível identificar o local de contaminação, a exemplo de fossas de esgotos domésticos ou industriais. Por sua vez, as fontes difusas não podem ser facilmente identificadas, pois não possuem um ponto de origem específico, citando-se os poluentes decorrentes do uso de fertilizantes na agricultura (Sodré, 2012). A identificação de ambas as fontes de poluição fornece importantes informações em programas de monitoramento ambiental, possibilitando a criação de políticas públicas para preservação e manutenção da qualidade do ambiente (Melo *et al.*, 2009).

A contínua exposição ambiental a agentes químicos com potencial de toxicidade tem gerado grande preocupação para o biomonitoramento de ecossistemas aquáticos e terrestres (Silva *et al.*, 2003a). Deve-se levar em consideração ainda a importância da sazonalidade. Em geral, durante os períodos de estiagem, a poluição aquática se agrava, uma vez que a quantidade de água dos rios diminui drasticamente, sendo insuficiente para diluir os poluentes que estes

ambientes recebem. Por outro lado, se os ambientes marginais do rio se apresentam contaminados, este recurso hídrico poderá receber essa carga poluidora das margens, durante os períodos chuvosos.

Vale salientar que, associado às descargas, a construção de barragens e represas, o desvio do curso natural dos rios, o desmatamento da mata ciliar e a introdução de espécies exóticas também têm causado significativas alterações ambientais, influenciando na qualidade da água e na biodiversidade aquática, por meio da desestruturação do ambiente físico, químico e biológico. Essas mudanças têm sido apontadas como as principais causas da extinção inexorável do rio São Francisco (Siqueira-Filho *et al.*, 2013).

Em termos gerais, a poluição do meio ambiente se dá pela presença de misturas complexas que pode desencadear efeitos tóxicos, diferentes daqueles já conhecidos para as substâncias isoladas. Este fenômeno, definido como efeitos combinados, deriva da associação de moléculas de mesma ação ou de ação diferente que interagem, resultando em infinitas possibilidades de efeitos, a exemplo de respostas aditivas (somatória de efeitos das substâncias), sinérgicas (potencialização dos efeitos individuais) ou antagonista (diminuição dos efeitos de uma ou até de todas as substâncias envolvidas na mistura) (Ping *et al.*, 2012).

O nível de toxicidade está associado à disponibilidade e persistência do contaminante na água e/ou sedimento de fundo dos corpos d'água, devido aos componentes formados durante o seu processo de degradação (Matsumoto *et al.*, 2006; Ventura *et al.*, 2008). Assim, quando se enfoca na presença de contaminantes em um corpo hídrico, é necessário remeter a dois sistemas distintos, mas em profunda interação: a água (fase líquida) e o sedimento (fase sólida) (Azevedo, 2003).

Os núcleos de sedimentos refletem a história da poluição em uma dada bacia hidrográfica. Servem como habitat natural para organismos aquáticos, como caramujos, mexilhões ou plantas e refletem os processos biológicos, físicos e químicos que ocorrem nesse ecossistema. Além disso, podem se tornar uma fonte secundária de poluição ao serem erodidos, transportados ou quando há mudanças das condições ambientais, as quais podem facilmente disponibilizar os contaminantes de um compartimento para o outro do reservatório (Brils, 2008) mediante a ressuspensão, reações de adsorção/desorção, reação de redução/oxidação e degradação de organismos (Pekey *et al.*, 2004; Araújo *et al.*, 2006; Suares *et al.*, 2010).

Apesar dos ecossistemas apresentarem grande capacidade depurativa, os impactos são bem desastrosos (George *et al.*, 2002). O acúmulo de contaminantes pode gerar efeitos deletérios nos sistemas fisiológicos e genéticos na comunidade de organismos aquáticos exposta, alcançando diferentes níveis tróficos e, conseqüentemente, alterando a estrutura populacional de um determinado ecossistema (Fracácio *et al.*, 2000; Matsumoto *et al.*, 2006; Ventura *et al.*, 2008). Uma vez alcançando os corpos hídricos, tais poluentes comprometem a qualidade da água e sedimento podendo, até mesmo, torná-la imprópria para o consumo humano e/ou inviabilizando seu uso nas atividades de piscicultura (Lima *et al.*, 2009; Suares *et al.*, 2010).

Adicionalmente, certos poluentes são capazes de interagir com o material genético dos organismos, produzindo alterações em sua estrutura e função (Arenzon *et al.*, 2011), que podem ser reversíveis ou não, as quais são denominadas genotóxicas e mutagênicas, respectivamente (Preedy *et al.*, 2012). Entre os compostos com ação genotóxica e/ou mutagênica, podemos citar os

hidrocarbonetos aromáticos, metais pesados e pesticidas, que podem causar alterações na replicação e transcrição, nas fibras do fuso acromático, danos ao DNA dos organismos expostos, como quebras do DNA, formações de micronúcleos e alterações cromossômicas estruturais e numéricas (Parry *et al.*, 2002; Frenzilli *et al.*, 2009). Além disso, podem ser gerados efeitos secundários decorrentes da resposta do organismo a estes compostos, como por exemplo as modificações ocorridas no material genético induzidas por diferentes mecanismos de reparo (Cameron, 2011; Dusman *et al.*, 2012), além de alterações em marcas epigenéticas como metilação do DNA, modificações de histonas e expressão de microRNAs (Baccarelli e Bollati, 2009; Bitto *et al.*, 2014).

Nesse contexto, a poluição de um recurso hídrico afeta primeiramente as características físicas e químicas do corpo d'água e, posteriormente, destrói a comunidade aquática, de forma sistemática, comprometendo a cadeia alimentar e a saúde pública. Logo, os programas de monitoramento para ecossistemas aquáticos têm associado diferentes metodologias na análise de toxicidade ambiental, como as análises físicas, químicas e biológicas, gerando informações que subsidiem ações para minimizar a poluição (Isidori *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2011; Buzelli e Cunha-Santino, 2013).

2.4.1 Análise das propriedades físicas e químicas da água e sedimento

Os impactos da ação antrópica sobre ambientes aquáticos podem ser acompanhados pela avaliação e monitoramento de parâmetros físicos e químicos dos corpos d'água (Donadio *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2009). Para a avaliação de um corpo hídrico, é necessário primeiramente classificá-lo de acordo com seus usos preponderantes, conforme a legislação em vigor, Resolução CONAMA

357/2005. Paralelamente, os dados encontrados para qualidade, mediante a caracterização físico-química e/ou bacteriológica, devem ser comparados com os limites sugeridos pela citada resolução, verificando se o ambiente apresenta ou não condições satisfatórias para assegurar o uso da sua água (Oliveira *et al.*, 2010).

Os parâmetros físicos [CE (Condutividade Elétrica), cor, temperatura e turbidez] e químicos [DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), DQO (Demanda Química de Oxigênio), OD (Oxigênio Dissolvido), nitrogênio total e amoniacal, fósforo, pH, TDS (Sólidos Totais Dissolvidos), entre outros] têm sido amplamente utilizados (Oliveira, 2012; Athanásio *et al.*, 2014; Braga e Lopes, 2015), fornecendo dados importantes para o entendimento dos resultados sobre a exposição dos organismos-teste ao recurso avaliado, principalmente quando aplicados conjuntamente aos testes biológicos.

A temperatura influencia em vários processos que ocorrem nos ecossistemas aquáticos, a exemplo da cinética das reações químicas, da atividade microbiológica e das características físicas do meio (Pereira, 2004; CETESB, 2009; Parron *et al.*, 2011). Corpos de água apresentam variações de temperatura sazonais e diurnas como parte do regime climático normal, sendo influenciada por fatores como latitude, altitude, estação do ano, período do dia, taxa de fluxo e profundidade. Entretanto, despejos industriais e usinas termoeletricas são capazes de causar elevação da temperatura dos mesmos, podendo comprometer a vida dos organismos endêmicos do local (CETESB, 2009). Altas temperaturas são responsáveis, por exemplo, pela diminuição do teor de oxigênio dissolvido, aumento da taxa metabólica, alteração no metabolismo do peixe através da diminuição da afinidade da hemoglobina com o oxigênio e alteração na taxa alimentar (CETESB, 2009; Ferreira, 2009). Podem ainda aumentar a solubilidade

e, portanto, a toxicidade de certos compostos, como metais pesados, além de influenciar o limite de tolerância de um organismo (Bhadja e Vaghela, 2013)

A turbidez está relacionada com a redução da transparência da água, induzida pela presença de materiais em suspensão, que interferem na passagem de luz através deste fluido, variando de acordo com sazonalidade, atividade biológica na coluna de água e escoamento superficial (Bartram e Ballance, 1996; CETESB, 2009). Os esgotos domésticos e industriais, assim como as atividades de mineração, também elevam a turbidez das águas (CETESB, 2014), proporcionando à redução de fotossíntese de plantas aquáticas, principalmente do fitoplâncton e das macrófitas submersas (CETESB, 2009).

Por sua vez, as variações do pH em um corpo hídrico determinam o tipo de fauna e flora que habitam o local, exercendo efeitos sobre a fisiologia das espécies, uma vez que a maior parte das atividades metabólicas é altamente dependente dele (Osibanjo *et al.*, 2011). Além disso, podem contribuir na precipitação de elementos tóxicos, a exemplo dos metais pesados (Piveli e Kato, 2005; Parron *et al.*, 2011).

Os metais pesados são os elementos naturais que têm um peso atômico elevado e uma densidade pelo menos cinco vezes superior à água (Tchounwou, 2012). O Chumbo (Pb), cádmio (Cd), zinco (Zn), mercúrio (Hg), arsênio (As), prata (Ag), cromo (Cr), cobre (Cu), Ferro (Fe) e os elementos do grupo da platina são exemplos de metais pesados que ocorrem naturalmente no ambiente e estão presentes em concentrações variáveis em todos os ecossistemas. Por outro lado, a exposição ambiental a níveis excessivos desses elementos, oriundos de resíduos municipais, pesticidas, fertilizantes, incineração de produtos, resíduos de minas metálicas, indústrias de fundição e derramamento de petroquímicos, tem sido

ligada à degradação da qualidade do solo, redução da produtividade de culturas e má qualidade dos produtos agrícolas. Adicionalmente, relata-se que os metais pesados afetam praticamente todos os sistemas orgânicos, incluindo cardiovascular, nervoso, renal, gastrintestinal, sistemas respiratórios, causando também diferentes tipos de câncer (Singh *et al.*, 2011; Wuana e Okieimen, 2011; Tchounwou, 2012).

Entre os metais acima citados, o Cd, Cr, Hg, Ni (Níquel), Pb e, em menor grau, o Cu e Zn são destacados por serem potencialmente tóxicos, podendo ser bioacumulados na flora e fauna aquática e atingir os seres humanos (Pereira, 2004). Chiba *et al.* (2011) demonstraram a presença de altos níveis de metais em tecidos de macroinvertebrados bentônicos, especialmente Zn, Cr e Ni; enquanto que, Abdel-Mohsien e Mahmoud (2015) observaram elevadas concentrações de Pb, Cd e Cr em *Oreochromis niloticus*, evidenciando a bioacumulação destes compostos em organismos aquáticos. Ainda, existem relatos da associação entre indução de câncer de pulmão e exposições crônicas ao Ni (Carmona *et al.*, 2011) ou Cr (Khezami e Capart, 2005), bem como entre neurotoxicidade em adultos e embriões e o contato com o Mn (Lima *et al.*, 2011).

Devido às propriedades como adsorção e acumulação, a concentração de metais nos sedimentos, normalmente, é maior do que na água (Carmo *et al.*, 2011). Consequentemente, diferentes trabalhos têm utilizado a análise de água e sedimento em conjunto (Egito *et al.*, 2007; Rodrigues *et al.*, 2013; Factori *et al.*, 2014), a fim de fornecer uma abordagem mais completa da realidade do ambiente em estudo, já que os sedimentos são depositados no fundo e constituem depósitos autóctones dos compostos inseridos no local, uma vez que o fluxo de água e a

drenagem podem transportar quantidade de materiais de uma região para outra ao longo do rio (Saeed e Shaker, 2008).

Vale ressaltar que cada corpo d'água tem características peculiares, uma vez que as variáveis de cada ambiente são determinadas em grande parte pela climática, geomorfologia, geoquímica e condições da bacia de drenagem (Bartram e Ballance, 1996; Pereira, 2004). Além disso, um corpo hídrico deve ser avaliado utilizando uma rede de pontos de amostragem, levando em consideração a influência da sazonalidade, a direção do fluxo, a descarga e o tempo, pois tais fatores alteram sua dinâmica e influenciam nos resultados (Bartram e Ballance, 1996; Almeida e Schwarzbald, 2003). Dessa forma, por meio destas avaliações, torna-se possível realizar um bom monitoramento ambiental, para se estimar as tendências de impactos ambientais ou de padrões de contaminação (Chapman, 1996). No entanto, é necessário relacionar os resultados encontrados nas análises da água e do sedimento com a segurança ambiental e com os possíveis efeitos sobre os organismos vivos.

2.4.2 O uso de bioindicadores

Os indicadores biológicos ou bioindicadores correspondem aos organismos que respondem de maneira eficiente à presença ou ausência de um contaminante, contribuindo para a identificação e fornecimento de dados sobre as condições ambientais (Frontalini e Coccioni, 2011). Para ser classificado como bioindicador, um organismo vivo deve atender a algumas características, como por exemplo, ter uma boa distribuição geográfica, ser bem definido taxonomicamente e apresentar características ecológicas bem reconhecidas (Johnson, 1993; Correia *et al*, 2014). Nesse sentido, destacam-se organismos vivos como o microcrustáceo *Daphnia*

magna (Rodrigues *et al.*, 2007), macroinvertebrados bentônicos, como insetos aquáticos das ordens Ephemeroptera, Trichoptera e Plecoptera, moluscos da classe Gastropoda e minhocas d'água da classe Oligochaeta (Goulart e Callisto, 2003; Piedras *et al.*, 2006; Monteiro *et al.*, 2008), peixes como *Astyanax bimaculatus* e *Oreochromis niloticus* (Lins *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2010; Bucker e Conceição, 2012) e plantas superiores como *Allium cepa* L. (Braga e Lopes, 2015) (Figura 1). Os organismos bioindicadores são selecionados por sua capacidade de concentrar e bioacumular componentes químicos em níveis superiores aos encontrados no meio ambiente, promovendo o transporte nos vários níveis da cadeia alimentar (Moulis e Thevénot, 2010).

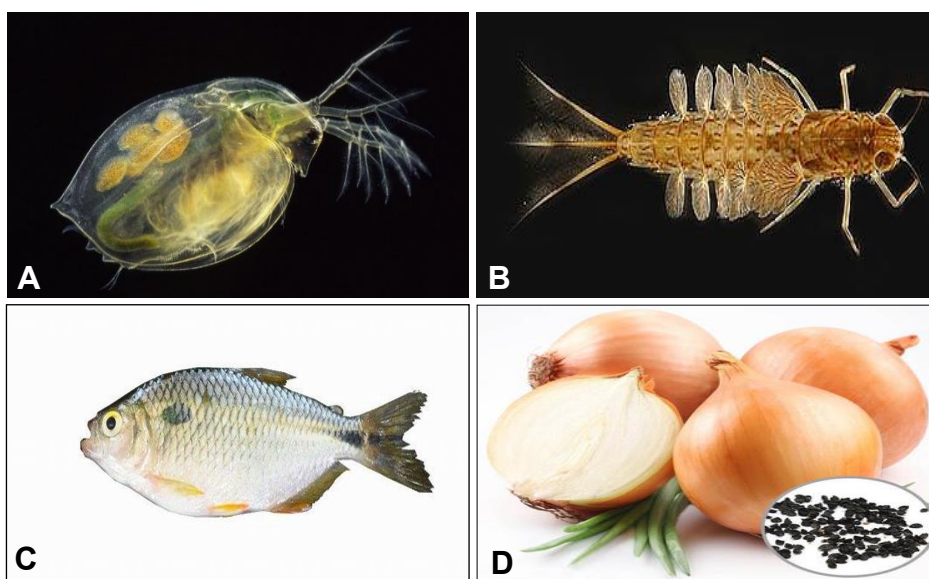


Figura 1. Organismos considerados bioindicadores. (A) *Daphnia magna*. Fonte: kalmeijer.net; (B) Ephemeroptera. Fonte: Click Ciência; (C) *Astyanax bimaculatus*. Fonte: Geiza Rodrigues; (D) Exemplar de *Allium cepa* L. Fonte: banggood.com.

Diferentes organismos também podem ser utilizados em bioensaios para determinar o grau ou efeito biológico de uma dada substância ou composto químico em um determinado tempo (Lee, 2005). Uma grande variedade de testes de toxicidade *in vivo* e *in vitro* pode ser utilizada para avaliação ambiental, permitindo assim que uma mesma análise seja realizada em diferentes organismos e que os

dados obtidos sejam paralelamente comparados, obtendo-se uma abordagem mais robusta (Araújo *et al.*, 2016).

2.4.3 Bioensaios genéticos

Os bioensaios genéticos são testes realizados em organismos vivos, buscando detectar agentes com capacidade de afetar o genoma dos organismos expostos. Tais testes, combinados com as análises físicas e químicas, contribuem para a avaliação dos diferentes tipos de riscos que a contaminação ambiental promove sobre os organismos (Zegura *et al.*, 2009), a exemplo da toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e/ou mutagenicidade.

A toxicidade é avaliada quando um composto possui a capacidade de atravessar a membrana celular, provocando algum distúrbio aos organismos com os quais entra em contato, sejam alterações no comportamento, crescimento, reprodução e, inclusive, a morte (Arenzon *et al.*, 2011). Por outro lado, quando esses compostos são capazes de desencadear o início de uma cascata de morte celular ou alterar o índice de multiplicação celular, independentemente de qual mecanismo seja acionado, são denominados de citotóxicos (Rode, 2008).

Por sua vez, o termo genotoxicidade refere-se à capacidade de agentes mutágenos interagirem com o DNA e/ou componentes celulares (fibras do fuso) e suas enzimas (topoisomerasas), causando danos em sua estrutura, na replicação e segregação cromossômica. Essas lesões são passíveis de correção pelos mecanismos de reparo do DNA nas células (Dearfield *et al.*, 2002; Nielsen *et al.*, 2008; Araújo *et al.*, 2015; Ahmad, 2016). Já a mutagenicidade é designada para indução de alterações permanentes e transmissíveis na estrutura do material

genético das células ou organismos (ECHA, 2014; Araújo *et al.*, 2015), a qual pode ocorrer em nível gênico ou cromossômico (Dearfield *et al.*, 2002).

A depender do sistema biológico utilizado, organismos procariotos ou eucariotos, os bioensaios genéticos são capazes de identificar desde agentes que induzem a mutação genética e lesões primárias no DNA a alterações cromossômicas. Não é à toa que os testes de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade usando microorganismos, plantas e mamíferos têm sido aplicados isolada ou conjuntamente para resultados mais conclusivos.

Por este motivo, os testes de aberrações cromossômicas, anormalidades nucleares, presença de micronúcleos (MN), alteração na expressão gênica e indução de estresse oxidativo, por exemplo, têm se mostrado eficientes para a avaliação dos impactos que agentes estressores podem promover no ecossistema (Kang *et al.*, 2014) e na saúde humana (Sakly *et al.*, 2013), uma vez que a maioria dos agentes mutagênicos podem levar ao aumento da taxa de ploidia e formação de aberrações que são causas de muitas doenças genéticas humanas, além de gerarem danos cromossômicos e alterações em oncogenes ou genes supressores de tumores em células somáticas, já relacionados a câncer em humanos e em animais experimentais (FDA., 2003; Clare., 2012). Dentre os bioensaios genéticos utilizados para diagnóstico e monitoramento ambiental podem ser citados como exemplos o teste de micronúcleo, o ensaio cometa e o teste de Ames.

O teste do micronúcleo é considerado o mais utilizado na avaliação de agentes químicos (Silva *et al.*, 2003b), podendo ser aplicado *in vivo* e *in vitro* utilizando eritrócitos de peixes (Cavas e Ergene-Gozukara, 2005; Ossana e Salibián, 2013; Araujo *et al.*, 2016), medula óssea, linfócitos ou linhagens celulares (Volders *et al.*, 2011) de mamíferos (Bueno *et al.*, 2000; Mitkovska *et al.*, 2012) e

plantas superiores como *Vicia faba* L., *Zea mays* L. e *Allium cepa* L. (Ma *et al*, 1995; Caritá e Marin-Morales, 2008; Leme *et al.*, 2008; Barbério, 2013). Esse teste permite observar danos citogenéticos mediante a formação de micronúcleos, resultantes da perda e/ou quebra de cromossomos que não conseguiram migrar adequadamente para o núcleo principal, demonstrando assim os efeitos aneugênicos (aqueles que comprometem a disjunção dos cromossomos durante a divisão celular) e/ou clastogênicos (aqueles que promovem quebras no material genético), respectivamente, da substância ou composto estudado (Fenech, 2000; Silva *et al.*, 2003b; Rim e Kim, 2015).

O ensaio cometa apresenta alta sensibilidade a diferentes agentes químicos e permite detectar danos ao DNA em células eucarióticas (Olive e Banath, 2006; Speit e Rothfuss, 2012). As quebras no DNA são identificadas em formato de uma estrutura em cometa, cujo tamanho da cauda é proporcional ao dano sofrido pelo material genético (Collins, 2004). Este pode ser aplicado em animais, a exemplo de espécies marinhas e dulcícolas, em cultura celular, bem como em plantas (Silva *et al.*, 2003b; Frenzilli *et al*, 2009; Bianchi *et al.*, 2015).

O teste de Ames utiliza linhagens de *Salmonella typhimurium* ou *Escherichia coli* para identificação de substâncias que produzem danos diretos ao material genético da célula levando a mutações. Cada estirpe usada é geneticamente diferente e permite detectar um produto químico mutagênico. (Lah *et al.*, 2005; Lah *et al.*, 2008). É um ensaio de mutação reversa bacteriana de curto prazo, onde estirpes com mutações preexistentes deixam as bactérias incapazes de sintetizar o aminoácido histidina e, portanto, incapazes de crescer e formar colônias. Porém quando um agente mutagênico é adicionado ao meio, ocorre a formação de colônias que revertem a mutação. Tais colônias ocorrem

normalmente de forma relacionada com a dose do mutágeno exposto (Mortelmans, 2000; Tejs, 2008; Samiei *et al.*, 2015).

2.4.3.1 O sistema teste *Allium cepa* L.

O bioensaio com *Allium cepa* L., proposto por Levan (1938) e adaptado por Fiskesjo (1985), tem sido apontado como um excelente modelo genético na avaliação de poluentes ambientais (Rank e Nielsen, 1993; Smaka-Kincl *et al.*, 1996; Leme e Marin-Morales, 2006; Barbério, 2013; Pathiratne *et al.*, 2015) e, em particular, de poluentes aquáticos (Migid *et al.*, 2007).

A USEPA (*US Environmental Protection Agency* - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos), o IPCS (*International Programme on Chemical Safety* - Programa Internacional de Segurança Química), UNEP (*United Nations Environment Programme* - Programa Ambiental das Nações Unidas) indicam este sistema-teste como um ensaio eficiente para análise e monitoramento de genotoxicidade ambiental (Cabrera e Rodriguez, 1999; Grant, 1999; Khan *et al.*, 2011). Ele permite avaliar o potencial tóxico da substância testada, mediante avaliação do crescimento radicular e dos danos causados ao DNA, observando-se a presença de alterações cromossômicas, micronúcleos e distúrbios no ciclo mitótico (Leme e Marin-Morales, 2009; Soumya *et al.*, 2016).

De acordo com alguns autores, a alta sensibilidade em detectar uma ampla variedade de contaminantes ambientais é devida às características próprias da espécie, como a presença de: (1) cromossomos grandes, com morfologia bem definida e número reduzido ($2n = 16$), permitindo a fácil observação de alterações cromossômicas; (2) crescimento radicular rápido; (3) grande quantidade de células em divisão; (4) elevada tolerância a diferentes condições de cultivo; (5)

disponibilidade durante todo o ano; (6) baixo custo e (7) fácil manuseio (Fiskesjo, 1985, Fiskesjo, 1988; Fernandes *et al.*, 2007; Leme e Marin-Morales, 2009; Nefic *et al.*, 2013). Adicionalmente, apresenta boa correlação e alta sensibilidade quando comparado a outros sistemas-teste, principalmente com o de mamíferos, notando-se uma correlação de 82% em relação ao teste de carcinogenicidade em roedores. Além disso, o bioensaio com *A. cepa* tem praticamente a mesma sensibilidade do sistema-teste de algas e linfócitos humanos (Fiskesjo, 1985; Leme *et al.*, 2008; Tedesco e Laughinghouse, 2012).

A multifuncionalidade deste bioensaio possibilita avaliar a toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade em nível cromossômico, bem como as propriedades aneugênicas e/ou clastogênicas (Matsumoto *et al.*, 2006; Leme e Marin-morales, 2009; Tedesco e Laughinghouse, 2012). Este sistema-teste possibilita investigar a toxicidade a partir da germinação e crescimento das raízes de *A. cepa*, citotoxicidade por meio do IM (Índice Mitótico), genotoxicidade através de determinadas AC (Alterações Cromossômicas) (Figura 2) e mutagenicidade pela presença de MN (micronúcleos) (Bagatini *et al.*, 2007; Egito *et al.*, 2007; Marin-Morales *et al.*, 2008; Leme e Marin-Morales, 2009).

A indução dessas alterações está diretamente relacionada à ação dos compostos químicos sobre o material genético. Por exemplo, as pontes (Figura 2B) e quebras cromossômicas são indicadoras de ação clastogênica (relacionada a quebras cromossômicas) das substâncias, enquanto que perdas, atrasos (Figura 2A) e aderências cromossômicas e C-metáfases refletem a aneugenicidade (relacionada a problemas nas fibras do fuso) dos compostos (Leme e Marin-Morales, 2009; Nefic *et al.*, 2013). Por sua vez, o micronúcleo (Figura 2C) pode ser resultante de ambos os efeitos, originando-se tanto a partir de fragmentos de

cromossomas acêntricos quanto de cromossomos inteiros por um erro durante o processo de segregação na anáfase, não conseguindo assim retornar ao núcleo principal (Fenech, 2000; Leme *et al.*, 2008; Nefic *et al.*, 2013).

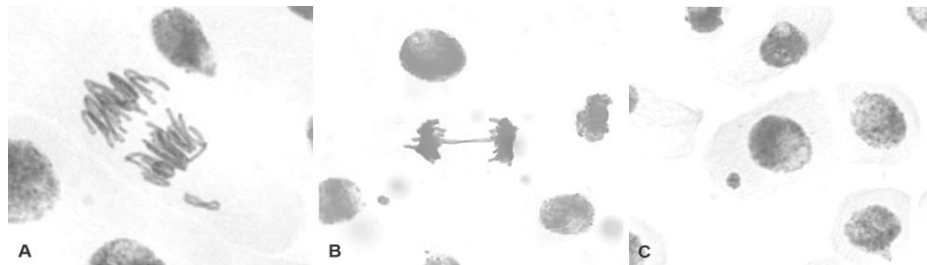


Figura 2. Alterações cromossômicas observadas em *Allium cepa* L. após exposição à amostras de água do reservatório Entremontes (Parnamirim – PE). (A) Perda cromossômica; (B) ponte anafásica; (C) micronúcleo. Fonte: Ilka Mendes.

Diante desta ampla versatilidade e aplicabilidade, o bioensaio com *A. cepa* tem sido utilizado na avaliação das características genotóxicas de extrato de plantas (Akinboro e Bakare, 2007; Neves *et al.*, 2014; Almeida *et al.*, 2016), fármacos (Nefic *et al.*, 2013; Onwuamah *et al.*, 2014), herbicidas (Fernandes *et al.*, 2007; Ventura-Camargo e Marin-Morales, 2016), metais pesados (Steinkellner *et al.*, 1998; Palácio *et al.*, 2005; Carruyo *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2013), efluentes agrícolas, domésticos e industriais (Ukaegbu e Odeigah, 2009; Olorunfemi *et al.*, 2011; Teena *et al.*, 2016) e monitoramento da qualidade da água (Barbério, 2013; Athanásio *et al.*, 2014; Gomes *et al.*, 2014).

Entretanto, poucos estudos têm sido realizados avaliando a presença de poluentes em recursos hídricos na região do semiárido nordestino (Bezerra *et al.*, 2013; Pereira, 2015), onde os mesmos são fundamentais para o abastecimento de populações e estão sujeitos à influência antrópica e poluição de regiões adjacentes. Dessa forma, ainda são precários dados que forneçam informações sobre a real condição do rio São Francisco, principalmente utilizando um monitoramento contínuo da qualidade de água e/ou levantamento da fauna e biodiversidade aquática.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o potencial tóxico, citogenotóxico e mutagênico de possíveis contaminantes presentes nas águas e sedimentos do rio São Francisco, no Polo Petrolina/Juazeiro (Submédio São Francisco), receptor de efluentes industriais, urbanos e agrícolas, mediante a utilização de bioensaios genéticos com o organismo teste *A. cepa*, para fins de diagnóstico e monitoramento ambiental.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estimar a toxicidade, citogenotoxicidade e mutagenicidade em nível cromossômico dos possíveis contaminantes presentes nas amostras de água e sedimento coletadas no rio São Francisco mediante testes com *A. cepa*.
2. Traçar o perfil da qualidade da água do rio São Francisco com a determinação de variáveis hidroquímicas (pH, temperatura, oxigênio dissolvido, turbidez, salinidade, condutividade elétrica, sólidos totais dissolvidos, entre outros).
3. Traçar o perfil da concentração dos nutrientes nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato e fósforo total na água do rio São Francisco.
4. Investigar a presença de metais pesados na água e sedimento coletados no recurso hídrico São Francisco.
5. Realizar inferências sobre possíveis contaminantes e suas respectivas ações aneugênicas e/ou clastogênicas, mediante comparação entre ensaios de genotoxicidade e mutagenicidade e os perfis físico-químico e de metais pesados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ÁREAS DE ESTUDO E DELINEAMENTO AMOSTRAL

As áreas de estudo foram determinadas pela observação *in loco* de dois efluentes constituídos por resíduos urbano-agrícola denominada Área 1 (A1) (S 09° 25. 211'; W 040°27.993') e por resíduos urbano-industrial de um curtume nomeada como Área 2 (A2) (S 09° 24339'; W 040 °28. 059'), localizados nas cidades de Juazeiro - BA e Petrolina – PE, respectivamente (Figura 3), as quais apresentam o rio São Francisco como uma divisa natural.

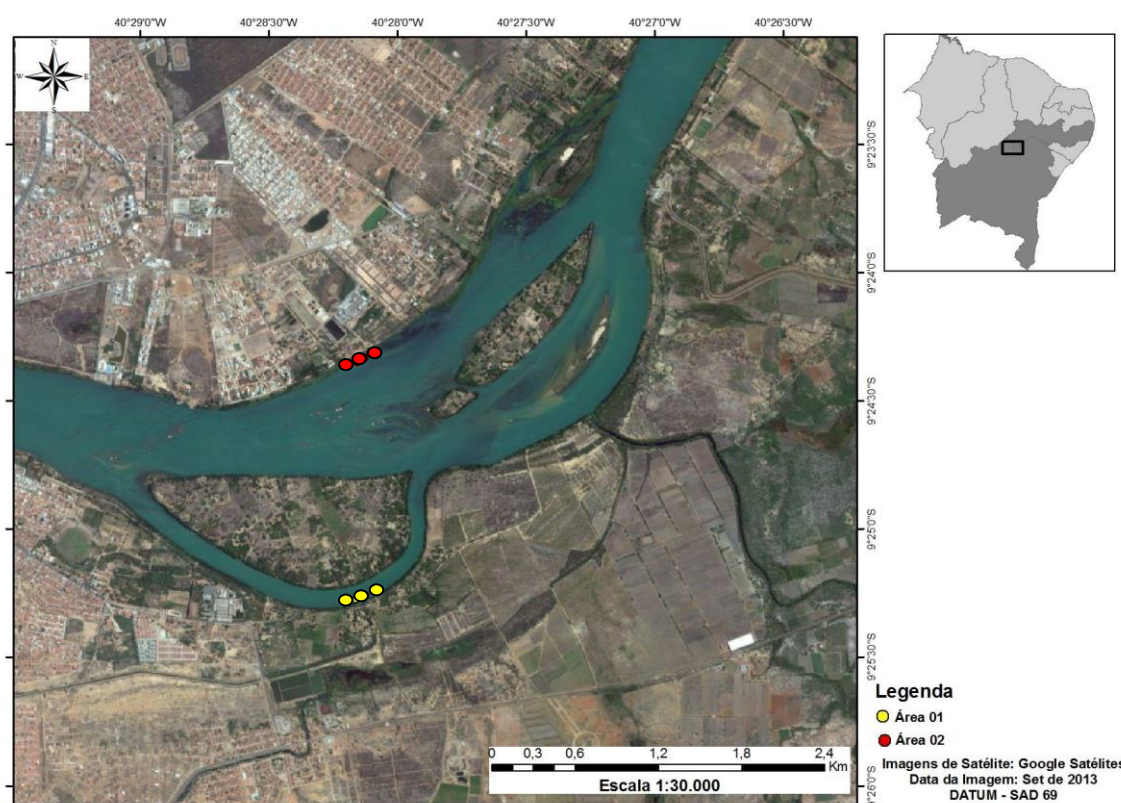


Figura 3. Localização geográfica das áreas de estudo situadas em Juazeiro/BA [Área 1 (efluente urbano-agrícola)] e Petrolina/PE [Área 2 (efluente urbano-industrial)], bem como dos três pontos de amostragem em cada área (à montante, no despejo e à jusante do efluente, da esquerda para direita, respectivamente), ao longo do rio São Francisco. Fonte: Google Earth.

As coletas de água e sedimento foram realizadas durante a estação de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (Março/2016), cujas precipitações médias foram

estimadas em 1,6 mm e 84,4 mm para a cidade de Juazeiro (IPA, 2015), bem como 1,26 mm e 110,6 mm para Petrolina (INEMA, 2015), nos trimestres junho-agosto/2015 e janeiro-março/2016, respectivamente.

Ao longo de cada área, foram definidos três pontos de amostragem de água e sedimento distantes em aproximadamente 100 m: à montante do efluente (M), no local de despejo do efluente (E) e à jusante do efluente (J) (Figura 4). Em cada ponto, as amostras de água foram coletadas superficialmente (CETESB, 1987), enquanto que as coletas das amostras de sedimento foram realizadas de acordo com a norma de amostragem de resíduos sólidos de amostras compostas da ABNT NBR 10007:2004 (ABNT, 2004), utilizando o amostrador do tipo Van Veen.

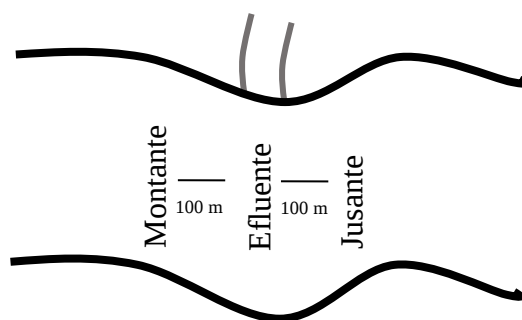


Figura 4. Representação da amostragem realizada em três pontos de coleta (Montante, Efluente e Jusante) nas duas áreas em estudo situadas em Juazeiro/BA (Área 1) e Petrolina/PE (Área 2).

Em cada um dos três pontos de amostragem, a água e sedimento foram coletados em triplicatas. Cada triplicata foi constituída por amostras compostas de três locais distantes em 10 m, ao longo da largura do rio (Figura 5). As amostras, contendo aproximadamente 1 L de água e 1,5 Kg de sedimento, foram acondicionadas em recipientes plásticos (água) e potes de vidro (sedimento), previamente higienizados. Os recipientes com as amostras de água e sedimento foram mantidos a 4 ± 2 °C e transportados para o laboratório, onde foram armazenados e conservados em temperatura de 4 °C.

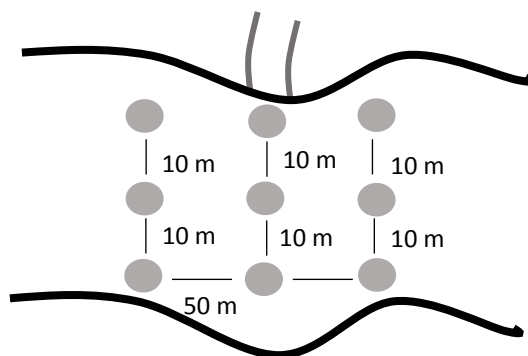


Figura 5. Representação da amostragem composta realizada em cada um dos três pontos de coleta (Montante, Efluente e Jusante) nas duas áreas em estudo situadas em Juazeiro/BA (Área 1) e Petrolina/PE (Área 2).

4.2 DETERMINAÇÃO DO PERFIL FÍSICO-QUÍMICO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA

As variáveis hidroquímicas [temperatura, CE (Condutividade Elétrica) ($\mu\text{S}/\text{cm}$), TDS (Sólidos Totais Dissolvidos) (mg/L), OD (Oxigênio Dissolvido) (mg/mL) e pH foram medidas *in situ* utilizando sonda portátil multiparâmetro HANNA previamente calibrada. Por sua vez, a concentração de ortofosfato foi determinada seguindo-se recomendações do *Standard Methods* (APHA, 2001), enquanto que as análises de teor de nitrito e nitrato foram realizadas de acordo com Bendschneider e Robinson (1952) e APHA (2005), respectivamente. Por fim, a determinação do nitrogênio amoniacal foi feita utilizando-se kit colorimétrico da marca HACH®.

4.3 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE METAIS PESADOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E SEDIMENTO

A quantificação de metais nas amostras de água foi realizada conforme a metodologia 3030E do *Standard Methods Analysis Water and Wastewater* (APHA, 2012), enquanto que, para a avaliação do sedimento foi utilizado o método USEPA

3050Bm (USEPA, 1998), conforme descrito por Campos *et al.* (2005). Ambas as amostras foram analisadas em triplicatas, com concentrações de metais determinadas por EAA (Espectrometria de Absorção Atômica).

4.4 BIOENSAIO COM *Allium cepa* L.

Para avaliação da água e sedimento, sementes de cebola cultivar Vale-Ouro IPA 11, procedentes da EMBRAPA semiárido, foram germinadas em placas de Petri (50 sementes por placa) com papel de filtro umedecido com 15 mL das amostras de água e placas de Petri com, aproximadamente, 27 g do sedimento coletados cobertos por tecido *voil*, respectivamente. Para os experimentos controles, uma quantidade de sementes similar foi germinada em água ultrapura (CN, controle negativo), bem como em herbicida Trifluralina (0,84 ppm de princípio ativo) e em MMS (Metilmetanosulfonato, 4×10^{-4} M), compostos de ação aneugênica e clastogênica, respectivamente, os quais foram utilizados como CP (controles positivos).

Dessa forma, para cada estação, duas áreas de amostragem foram analisadas (A1 e A2), em três pontos de coleta (à montante, no efluente e à jusante do efluente), em dois materiais (água e sedimento), resultando em 12 tratamentos ($2 \times 3 \times 2$), além dos tratamentos controles (Água Ultrapura, Trifluralina e MMS), totalizando 15 tratamentos.

Após 72 h de exposição aos tratamentos, as raízes germinadas foram coletadas, medidas, fixadas em Carnoy (etanol: ácido acético 3:1, v/v) por 6 a 8 h à temperatura ambiente e estocadas a - 20 °C, até o momento da confecção das lâminas. Para a preparação das lâminas, as raízes foram lavadas três vezes em água destilada (5 min, cada), hidrolisadas em HCl 1N a 60 °C por 10 min e coradas

com o Reativo de Schiff por 2 h, em local escuro. Em seguida, as raízes já coradas foram esmagadas em uma gota de carmim acético 2%, flambadas e montadas com Bálsamo do Canadá. A análise foi feita em microscópio de luz, para identificação e contagem das anormalidades celulares. Cinco lâminas por réplica foram preparadas, com o intuito de estimar o IM (Índice Mitótico), o IAC (Índice de Alterações Cromossômicas) e o IMt (Índice de Mutagenicidade). Assim, o número de 15 lâminas foi analisado em cada tratamento, com uma contagem de 500 células por lâmina, totalizando uma contagem de 7.500 células por tratamento.

A toxicidade foi avaliada através do IG (Índice de Germinação), calculado pela média da razão entre o número de sementes germinadas e o número total de sementes expostas à germinação.

A análise da citotoxicidade foi realizada através da frequência do IM, calculado pela média razão entre o número de células em divisão e o número total de células analisadas multiplicado por 100.

Para os efeitos genotóxicos, o IAC foi calculado pela média da razão entre o número de alterações cromossômicas observadas (C-metáfases, aderências cromossômicas, anáfases multipolares, pontes cromossômicas, poliploidia, quebras e perdas cromossômicas e micronúcleos nas diferentes fases da mitose) e o número total de células analisadas multiplicado por 100.

Na análise dos efeitos mutagênicos em nível cromossômico, a ocorrência de micronúcleos presentes nas células da região F1 (aproximadamente 1 cm acima da região meristemática) foi verificada, sendo o IMt aferido pela média da razão entre o número de células com micronúcleos e o número total de células observadas multiplicado por 100.

Para análise estatística, em cada estação, foi realizado um delineamento inteiramente casualizado, em um arranjo multifatorial $2 \times 3 \times 2$ (duas áreas de amostragem x três pontos de coleta x dois materiais), além dos controles negativo e positivos, totalizando 15 tratamentos estatísticos. Para o teste de toxicidade, foram utilizadas três repetições referentes às três réplicas de coleta, cuja unidade experimental consistiu de uma placa de Petri com 50 sementes. Para os testes de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade, foram utilizadas 15 repetições, cuja unidade experimental consistiu de uma lâmina (500 células analisadas), sendo cinco lâminas provenientes de cada uma das réplicas de coleta. Os valores de frequência foram transformados usando a fórmula ($\arcseno \sqrt{\%}$) e analisados por meio do programa Statistica (versão 7.0). Os testes de Shapiro-Wilk e Levene foram utilizados para verificar a distribuição normal dos dados e homogeneidade das variâncias, respectivamente. Posteriormente, para os dados com distribuição normal, foi realizada a análise de variância (ANOVA *one-way*) seguido de um teste a posteriori de Tukey ($p < 0,05$) e, para amostras com distribuição não normal, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS AVALIADOS *IN SITU* E CONCENTRAÇÕES DE NUTRIENTES NAS AMOSTRAS DE ÁGUA

Os valores dos parâmetros físicos e químicos das amostras de água coletadas nas áreas 1 e 2 (A1 e A2), durante as estações de estiagem (EE) e chuvosa (EC), mostraram-se dentro dos limites sugeridos pela Resolução CONAMA 357/2005 (Tabela 1).

Entretanto, na A1, os valores de Condutividade Elétrica [CE: 264,5 (EE); 114,6 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (EC)], de Sólidos Totais Dissolvidos [TDS: 130 (EE); 60 mg/L (EC)] e turbidez [53,8 (EE); 94,6 UNT (EC)] mostraram-se mais expressivos no EA1 (área 1 no local de despejo do efluente), em relação à MA1 (à montante do efluente da área 1) e JA1 (à jusante do efluente da área 1), durante as estações. Adicionalmente, tais dados permitiram identificar uma redução da CE e TDS na estação chuvosa, bem como um aumento da turbidez, o qual se estendeu às amostras MA1 e JA1 (Tabela 1).

Similarmente ao observado para os parâmetros físicos e químicos da água, as concentrações de nitrito e nitrato (Tabela 1) também se enquadraram nos padrões sugerido pela resolução vigente (10,0 mg/L e 1,0 mg/L N, respectivamente) nas duas estações analisadas. Contudo, pode-se notar que a presença do nitrato foi mais expressiva nas amostras à JA1 (3,50 mg/L) na estação de estiagem, bem como em MA1 (3,16 mg/L) durante a estação chuvosa (Tabela 1). Em relação ao fósforo, foram encontrados teores acima do proposto pela resolução (até 0,05 mg/L) nas amostras de água coletadas no EA1 (1,01 mg/L) e JA1 (0,11 mg/L) no período de estiagem, assim como em EA1 (0,09 mg/L) durante a estação chuvosa (Tabela 1).

Para a amônia, os valores mostraram-se acima do sugerido pela resolução [2,0 mg/L N ($7,5 < \text{pH} \leq 8,0$)] no EA1, tanto na estação de estiagem (8,8 mg/L) como na chuvosa (2,64 mg/L), fato não observado para as demais amostras cujos teores apresentaram-se conforme sugerido pela resolução (Tabela 1).

Por sua vez, na A2, não foram detectados altos teores de nutrientes nos pontos de amostragem em ambas as estações, entretanto foi possível observar um aumento da turbidez em todos os pontos desta área durante a estação chuvosa, bem como de nitrato nas amostras coletas no MA2 (4,23 mg/L) e EA2 (1,67 mg/L) e amônia no MA2 (0,72mg/L) e JA2 (0,96 mg/L) (Tabela 1).

5.2 ANÁLISE DA PRESENÇA DE METAIS PESADOS NAS AMOSTRAS DE ÁGUA E SEDIMENTO

As concentrações de metais pesados presentes nas amostras de água e sedimento coletadas no rio São Francisco foram listadas na Tabela 2, enfatizando os valores limítrofes estipulados pela Resolução CONAMA 357/2005 (água) e CONAMA 454/2012 (sedimento).

Nas águas, os valores de Ni e Cu apresentaram-se acima dos limites estabelecidos pela resolução vigente ($\leq 0,025$ e $\leq 0,009$ mg/L, respectivamente), em todos os pontos de coleta da A1 em ambas as estações, com exceção das amostras JA1 (0,01 mg/L) durante a estação chuvosa, cujos teores de Ni estavam dentro do esperado. Por sua vez, a presença de Cr mostrou-se dentro do indicado pela resolução assumida no presente trabalho (Tabela 2).

Tabela 1. Parâmetros físicos e químicos e análise de nutrientes das amostras de água avaliados *in situ* nas áreas A1 (efluente urbano-agrícola) e A2 (efluente urbano-industrial) de despejo de efluentes no rio São Francisco em Juazeiro – BA e Petrolina – PE, nas estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016), em comparação à resolução CONAMA 357/2005

Pontos de coleta		Temp (°C)		OD (mg/L)		pH		CE (µS/cm)		TDS (mg/L)		Turbidez (UNT)		Nitrato (mg/L)		Nitrito (mg/L)		Fósforo (mg/L)		Amônia (mg/L)	
		EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC
A1	M	23,7	26,4	9	7,3	8,5	7,9	65	78,1	33	40	4,8	77,2	0	3,16	0	0	0	0	0,24	0,24
	E	23,7	26,5	6,6	7,1	8,1	7,7	264,5	114,6	130	60	53,8	94,6	0	1,7	0,09	0	1,01	0,09	8,8	2,64
	J	23	26,7	8	6,7	8,2	7,8	71	103	34	52	6,3	80,9	3,5	0,69	0,03	0	0,11	0,02	1,08	1,2
A2	M	23,2	26,6	8,3	6,1	7,9	7,6	69,3	83,4	35	41	7,7	59,6	0	4,23	0	0,2	0	0	0,24	0,72
	E	23,3	27,2	7,9	6,2	8,3	7,5	66	83,2	33	42	6,1	71,8	0	1,67	0,02	0	0	0	0,24	0,24
	J	23,5	27,5	7,3	6,7	8,1	6	67,3	80,5	34	40	19,0	80	3,15	2	0	0,01	0	0	0,12	0,96
CONAMA 357/2005				> 5 mg/L		6 a 9		--		Valor máximo: 500		até 100 UNT		10,0 mg/L N		1,0 mg/L N		até 0,05 mg/L		2,0 mg/L N (7,5 < pH ≤ 8,0) 1,0 mg/L N (8,0 < pH ≤ 8,5)	

Legenda: A1 (Área 1); A2 (Área 2); M (Montante); E (Efluente); J (Jusante); EE (Estação de Estiagem); EC (Estação Chuvosa); OD (Oxigênio Dissolvido); pH (potencial Hidrogeniônico); CE (Condutividade Elétrica); TDS (Sólidos Totais Dissolvidos); - (Valor não especificado pela resolução adotada).

Em se tratando dos teores de Pb, as amostras de água da A1 apresentaram-se durante a estação de estiagem, conforme sugerido pela resolução adotada ($\leq 0,01$ mg/L), exceto para a amostra do EA1 (0,02 mg/L). Por sua vez, para a estação chuvosa, foram detectados valores acima da resolução à MA1 (0,02 mg/L) e no EA1 (0,03 mg/L) (Tabela 2).

Não foram notados valores de Fe acima da resolução ($\leq 0,03$ mg/L) durante a estação de estiagem, para as amostras analisadas, contrariamente ao observado para a estação chuvosa, onde todas as amostras coletadas mostraram valores elevados deste metal [MA1 (1,54 mg/L), EA1 (1,50 mg/L), JA1 (1,34 mg/L)].

Com relação a A2, os teores de Ni e Cu apresentaram-se acima dos limites propostos pela resolução em todos os pontos amostrados, exceto para a amostra coleta no JA2 (0,02 mg/L) na estação chuvosa, assim como observado para a A1. Por sua vez, o Cr apresentou-se elevado durante a estação de estiagem onde as amostras coletadas à M (0,06 mg/L) e à J do efluente (0,07 mg/L) apresentaram acima dos limites apresentados na resolução ($\leq 0,05$ mg/L), enquanto o Pb apresentou-se acima dos limites sugeridos apenas em MA2 (0,02 mg/L) e EA2 (0,03 mg/L) durante a estação chuvosa. Já o Zn e Mn apresentaram-se dentro dos padrões indicados pela resolução ($\leq 0,18$ mg/L; $\leq 0,1$ mg/L, respectivamente) em todas as amostras coletadas (A1 e A2) e em ambos períodos estacionais (Tabela 2).

Com relação às amostras dos sedimentos avaliadas, os teores dos metais pesados encontram-se normais em comparação aos limites estabelecidos pela resolução CONAMA 454/2012 (Tabela 2), com exceção do Cr em todos os pontos

amostrados na A1 durante a estação chuvosa, cujos teores foram 154, 31 e 43 mg/Kg nas coletas realizadas em MA1, EA1 e JA1, respectivamente.

Em termos gerais, para sedimento na A1, as concentrações de metais analisados foram maiores na estação chuvosa, com exceção do Pb para MA1 cujos valores foram 0,6 mg/Kg e 0,1 mg/Kg nas estações de estiagem e chuvosa, respectivamente (Tabela 2).

Comparando-se as duas áreas (A1 e A2), notou-se que as menores concentrações de todos os metais em estudo foram encontradas para JA1 durante a estação de estiagem. O sedimento amostrado em JA2, por sua vez, apresentou a maior concentração dos mesmos, com exceção do Mn, cuja concentração encontrava-se mais elevada em EA2 (Tabela 2). Entretanto, na estação chuvosa, a situação foi contrária; as amostras de sedimento JA1 e JA2 apresentaram as maiores e menores concentrações de metais pesados, respectivamente.

5.3 AVALIAÇÃO DOS ENSAIOS UTILIZANDO O SISTEMA-TESTE *Allium cepa* L.

Na Área 1 (A1), uma ação tóxica foi revelada mediante a redução do IG pela amostra de água MA1 (64,7%) frente ao CN (89,7%) (Tabela 3), bem como pela diminuição da VCMR notada para as amostras de água [(MA1, 0,59 cm); (EA1, 0,61 cm); (JA1, 0,63 cm)] e sedimento [(EA1, 0,55 cm); (JA1, 0,65 cm)], em comparação ao CN (0,71 cm), durante a estação de estiagem. Esta redução de VCMR também foi visualizada para a amostra de água JA1 (0,29 cm), em relação ao CN (0,38 cm), na estação chuvosa; contrariamente, nesta estação, o crescimento das raízes foi estimulado pelas amostras de água (MA1, 0,45 cm) e de sedimento (MA1, 0,50 cm) (Tabela 3)

Em termos de citotoxicidade, para as amostras de água e sedimento, os índices mitóticos não se mostraram divergentes, em comparação ao CN ($p < 0,05$), nas duas estações avaliadas. Por sua vez, em relação ao CN (0,27%), o aumento do IAC evidenciou uma ação genotóxica para as amostras EA1 (1,02%) e JA1 (0,91%), assim como para todas as amostras de sedimento [MA1 (0,95%), EA1 (0,94%) e JA1 (0,83%)] durante a estação de estiagem. Por outro lado, na estação chuvosa, a presença de genotoxicidade foi observada apenas para amostra de água EA1 (0,96%) em comparação ao CN (0,38%) (Tabela 3).

Quando analisadas individualmente, houve ainda o aumento significativo de alterações cromossômicas para a presença de micronúcleo nas amostras de água coletadas no EA1 (0,66%) e à JA1 (0,58%) (Anexo 1) durante a estação de estiagem, bem como na amostra de sedimento provenientes de MA1 (0,78%) em relação ao CN (0,15%) (Anexo 2).

Considerando o IMt, para todas as coletas realizadas nesta área, foi observada uma alta frequência de MN em células da região F1 expostas às amostras de água MA1 (0,22%) e EA1 (0,29%), em comparação ao CN (0,01%), durante a estação de estiagem (Tabela 3).

Tabela 2. Quantificação de metais pesados presentes nas amostras de água (A) e sedimento (S) em duas áreas de amostragem do rio São Francisco [A1 (efluente urbano-agrícola) e A2 (efluente urbano-industrial)], localizadas em Juazeiro – BA e Petrolina – PE, respectivamente, durante as estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016), em comparação à resolução CONAMA 35/2005 (água) e 454/2012(sedimento).

Pontos de coleta	Ni				Pb				Fe				Zn				Cu				Mn				Cr				
	A		S		A		S		A		S		A		S		A		S		A		S		A		S		
	(mg/L)	(mg/L)	(mg/Kg)	(mg/Kg)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/Kg)	(mg/Kg)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/Kg)	(mg/Kg)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/Kg)	(mg/Kg)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/Kg)	(mg/Kg)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/Kg)	(mg/Kg)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/Kg)	(mg/Kg)	
	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	
M	0,03	0,05	2,8	3	0	0,02	0,6	0,1	0,22	1,54	4099,7	4591,8	0	0,01	12,8	27,9	0,01	0,02	3	5,1	0,07	0,03	47,9	112	0,03	0	4,2	154	
A1	E	0,03	0,06	2	3,3	0,02	0,03	0,5	2,1	0,14	1,5	2224,6	4642,0	0,04	0,02	13,8	41,9	0,02	0,02	2,1	5,5	0,08	0,05	20,2	64,8	0,05	0	0,2	131
J	0,05	0,01	0,8	4,9	0	0,01	0,1	1,4	0,15	1,34	1297,4	6296,3	0,04	0	4,4	58,1	0,02	0,01	0,8	9,1	0,07	0,02	16	176	0,04	0	0	43	
M	0,05	0,05	2,1	1,1	0	0,02	0,6	0,1	0,15	2,03	2387,9	1925,4	0	0,01	9,3	21,6	0,03	0,02	2,5	2,2	0,07	0,04	27	47,1	0,06	0	3	16	
A2	E	0,05	0,06	5,4	4,9	0,01	0,03	0,8	2,7	0,18	1,26	6006,0	7901,4	0,03	0,01	22,3	18,9	0,03	0,02	4,9	7	0,06	0,05	92,6	101	0,05	0	0,1	24
J	0,04	0,02	11	0,9	0,01	0,01	2,6	0	0,12	1,04	7296,3	1366,3	0,01	0,01	61,8	9,7	0,03	0,01	15,3	1,8	0,07	0,03	81,3	48,1	0,07	0	6,7	7,8	
CONAMA	≤0,025		18		≤0,01		35		≤0,3		-		≤0,18		123		≤0,009		35,7		≤0,1		-		≤0,05		37,3		

Legenda: A (Água); S (Sedimento); A1 (Área 1); A2 (Área 2); M (Montante); E (Efluente); J (Jusante); EE (Estação de Estiagem); EC (Estação Chuvosa); Ni (Níquel); Pb (Chumbo); Fe (Ferro); Zn (Zinco); Cu (Cobre); Mn (Manganês) e Cr (Cromo). – (Valor não especificado pela resolução CONAMA 454/2012).

Tabela 3. Avaliação do teste de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade em células meristemáticas de *Allium cepa* L., após exposição às amostras de água e sedimento coletadas no rio São Francisco na área 1 (A1) composta por efluente urbano-agrícola em Juazeiro – BA, nas estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016).

ÁREA1											
TRATAMENTO		TOXICIDADE				CITOTOXICIDADE		GENOTOXICIDADE		MUTAGENICIDADE	
		IG (%)		VCMR (cm)		IM (%)		IAC (%)		Imt (%)	
		EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC
ÁGUA	CN	89,7	75,3	0,71 ± 0,08	0,38 ± 0,12	16,02 ± 5,16	13,23 ± 3,20	0,27 ± 0,23	0,38 ± 0,33	0,01 ± 0,05	0,00 ± 0,00
	MMS	84,5	81,3	0,71 ± 0,10	0,36 ± 0,07	14,00 ± 4,31	14,12 ± 4,92	1,29 ± 0,59	1,72 ± 1,10	0,30 ± 0,33	0,12 ± 0,16
	Trifluralina	70,5	45,3	0,31 ± 0,08	0,28 ± 0,11	15,56 ± 2,78	10,52 ± 2,19	1,17 ± 0,69	0,57 ± 0,47	0,16 ± 0,14	0,06 ± 0,09
	Montante	64,7	72,7	0,59 ± 0,15	0,45 ± 0,10	19,11 ± 6,53	16,39 ± 3,84	0,56 ± 0,35	0,90 ± 0,57	0,22 ± 0,18	0,04 ± 0,10
	Efluente	77,3	77,3	0,61 ± 0,10	0,40 ± 0,10	16,82 ± 3,24	12,93 ± 2,96	1,02 ± 0,48	0,96 ± 0,65	0,29 ± 0,25	0,04 ± 0,10
	Jusante	83,3	70,7	0,63 ± 0,11	0,29 ± 0,10	20,62 ± 4,23	13,47 ± 3,03	0,91 ± 0,64	0,52 ± 0,32	0,17 ± 0,25	0,00 ± 0,00
SEDIMENTO	CN	89,7	75,3	0,71 ± 0,08	0,38 ± 0,12	16,02 ± 5,16	13,23 ± 3,20	0,27 ± 0,23	0,38 ± 0,33	0,01 ± 0,05	0,00 ± 0,00
	MMS	84,5	81,3	0,71 ± 0,10	0,36 ± 0,07	14,00 ± 4,31	14,12 ± 4,92	1,29 ± 0,59	1,72 ± 1,10	0,30 ± 0,33	0,12 ± 0,16
	Trifluralina	70,5	45,3	0,31 ± 0,08	0,28 ± 0,11	15,56 ± 2,78	10,52 ± 2,19	1,17 ± 0,69	0,57 ± 0,47	0,16 ± 0,14	0,06 ± 0,09
	Montante	74,7	79,3	0,67 ± 0,15	0,50 ± 0,13	18,13 ± 3,63	13,08 ± 3,48	0,95 ± 0,70	0,79 ± 0,64	0,22 ± 0,40	0,00 ± 0,01
	Efluente	72,0	80,7	0,55 ± 0,17	0,43 ± 0,13	12,39 ± 3,83	11,93 ± 3,18	0,94 ± 0,66	0,80 ± 0,58	0,22 ± 0,29	0,02 ± 0,06
	Jusante	84,0	73,3	0,65 ± 0,21	0,40 ± 0,10	14,98 ± 3,07	13,56 ± 1,96	0,83 ± 0,46	1,02 ± 0,98	0,04 ± 0,04	0,00 ± 0,00

Legenda: CN - Controle negativo (Água Ultrapura); CP - Controle Positivo (MMS – Metanometilsulfonato; Tri – Herbicida Trifluralina); IG (Índice de Germinação); IM (Índice Mitótico); IAC (Alterações Cromossômicas) e IMt (Índice de Mutagenicidade). Médias em negrito indicam significância ($p < 0,05$) em comparação ao CN pelo teste de Tukey ($< 0,05$) ou Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Considerando a A2 (Tabela 4), a toxicidade foi notada através da diminuição do IG pelas amostras de água coletadas no EA2 (61,3%) e à JA2 (60,7%), bem como nas amostras de sedimento obtidas à MA2 (68%) e à JA2 (56,7%), em relação ao CN (89,7%), durante a estação de estiagem. Levando-se em consideração a VCMR, uma ação tóxica também foi enfatizada pela redução do comprimento das raízes para as amostras de água EA2 (0,53 cm) e de sedimento JA2 (0,42 cm), frente ao CN (0,71 cm). Por sua vez, durante a estação chuvosa, visualizou-se um aumento na VCMR para as amostras de sedimento EA2 (0,50 cm) e JA2 (0,51 cm), em comparação ao CN (0,38 cm) (Tabela 4).

Como parâmetro de citotoxicidade, notou-se uma redução do IM para as amostras de sedimento JA2 (7,70%; estação de estiagem) e de água JA2 (9,83%; estação chuvosa), comparando-se aos respectivos CNs (16,02% e 13,23%). Contrariamente ao descrito acima, durante a estação chuvosa, uma ação citotóxica foi observada através do aumento do IM, em comparação ao CN (13,23%), para as amostras de sedimento EA2 (19,77%) e JA2 (18,03%) (Tabela 4).

O aumento do IAC para as amostras de água coletadas à JA2 (0,84%) e sedimento à MA2 (1,13%), durante a estação de estiagem, evidenciaram os efeitos genotóxicos das mesmas, sendo os valores significativamente maiores que o CN (0,27%). Situação similar foi visualizada no período chuvoso, onde os três pontos de amostragem de sedimento MA2 (1,22%), EA2 (1,22%) e à JA2 (1,85%) apresentaram genotoxicidade em relação ao CN (0,38%) (Tabela 4).

Ao analisar a presença de alterações cromossômicas individualmente na região meristemática, a ocorrência de micronúcleos foi visualizada para a amostra JA2 (0,56%) durante a estação de estiagem, bem como nas coletas de sedimento realizadas à MA2 (0,65%) e EA2 (0,96%), durante a estação chuvosa. Por outro

lado, na análise das células da região F1, nenhum indício de mutagenicidade foi notado para as amostras coletadas em ambas as estações desta área (Tabela 4).

De forma geral, diferentes tipos de alterações cromossômicas ou nucleares foram observados em ambas áreas (A1 e A2) nas duas estações avaliadas em células meristemáticas de *A. cepa*, a exemplo presença de broto nuclear (Figura 6A), micronúcleos (Figura 6B), perdas (Figura 6C) e quebras cromossômicas (Figura 6D-F), após serem expostas as amostras de água e sedimento coletadas nas A1 e A2 (Anexos 1-4).

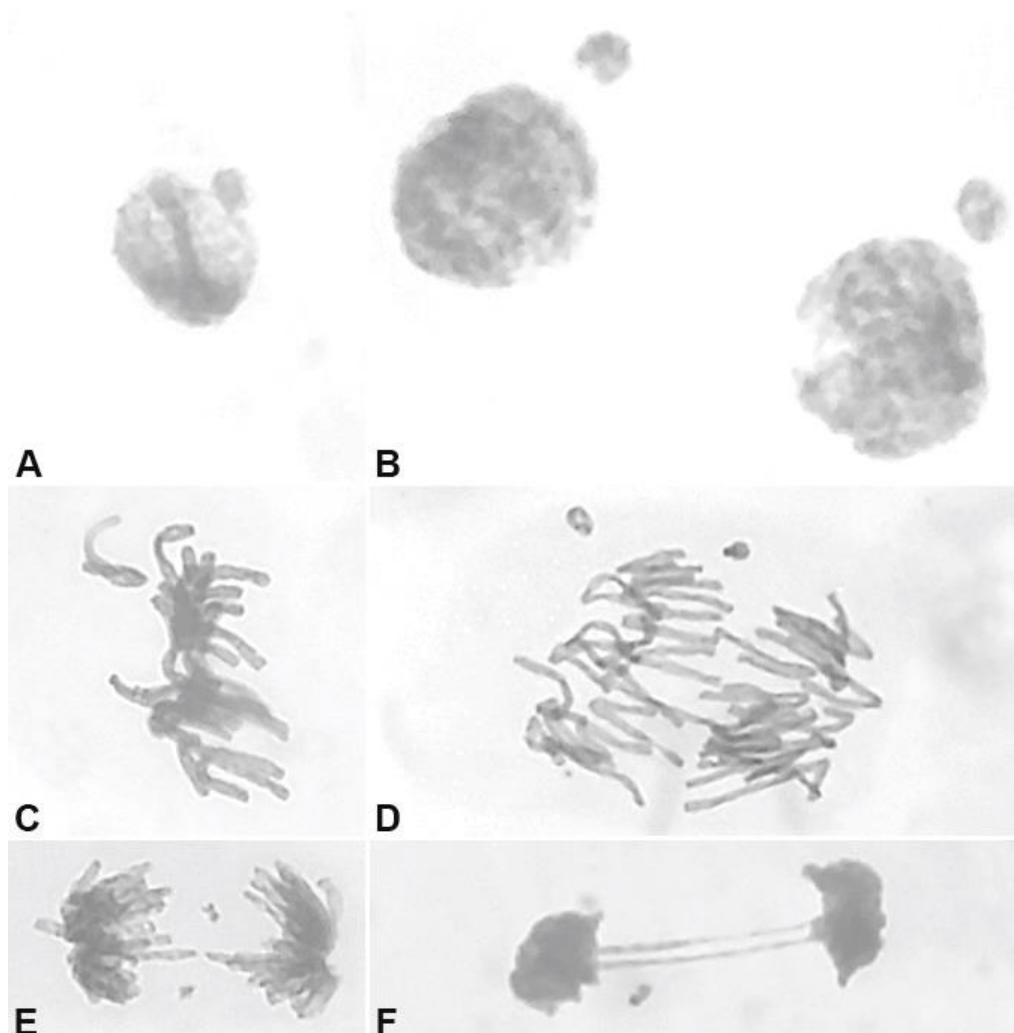


Figura 6. Alterações cromossômicas encontradas em células meristemáticas de *Allium cepa* após exposição às amostras de água e sedimento coletadas no rio São Francisco. A. Broto nuclear (Água; Área 1). B. Micronúcleos (Água; Área 1). C. Metáfase com perda cromossômica (Sedimento; Área 1). D. Anáfase com quebras cromossômicas (Água; Área 1); E. Anáfase final com quebras cromossômicas (Sedimento; Área 1); F. Telófase com pontes e quebra cromossômicas (Sedimento; Área 2).

Tabela 4. Avaliação do teste de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade em células meristemáticas de *Allium cepa* L., após exposição às amostras de água e sedimento coletadas no rio São Francisco na área 2 (A2) composta por efluente urbano-industrial em Petrolina-PE, nas estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016).

ÁREA 2											
TRATAMENTO		TOXICIDADE				CITOTOXICIDADE		GENOTOXICIDADE		MUTAGENICIDADE	
		IG (%)		VCMR (cm)		IM (%)		IAC (%)		Imt (%)	
		EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC	EE	EC
ÁGUA	CN	89,7	75,3	0,71 ± 0,08	0,38 ± 0,12	16,02 ± 5,16	13,23 ± 3,20	0,27 ± 0,23	0,38 ± 0,33	0,01 ± 0,05	0,00 ± 0,00
	MMS	84,5	81,3	0,71 ± 0,10	0,36 ± 0,07	14,00 ± 4,31	14,12 ± 4,92	1,29 ± 0,59	1,72 ± 1,10	0,30 ± 0,33	0,12 ± 0,16
	Trifluralina	70,5	45,3	0,37 ± 0,08	0,28 ± 0,11	15,56 ± 2,78	10,52 ± 2,19	1,17 ± 0,69	0,57 ± 0,47	0,16 ± 0,14	0,06 ± 0,09
	Montante	68,0	72,7	0,66 ± 0,14	0,41 ± 0,17	20,41 ± 6,71	10,99 ± 2,33	0,58 ± 0,40	0,43 ± 0,48	0,03 ± 0,07	0,02 ± 0,09
	Efluente	61,3	78,7	0,53 ± 0,18	0,44 ± 0,12	19,20 ± 7,62	11,18 ± 2,63	0,56 ± 0,53	0,70 ± 0,45	0,09 ± 0,10	0,00 ± 0,00
	Jusante	60,7	76,7	0,77 ± 0,21	0,43 ± 0,12	17,94 ± 5,04	9,83 ± 2,24	0,84 ± 0,50	0,80 ± 0,63	0,02 ± 0,06	0,02 ± 0,07
SEDIMENTO	CN	89,7	75,3	0,71 ± 0,08	0,38 ± 0,12	16,02 ± 5,16	13,23 ± 3,20	0,27 ± 0,23	0,38 ± 0,33	0,01 ± 0,05	0,00 ± 0,00
	MMS	84,5	81,3	0,71 ± 0,10	0,36 ± 0,07	14,00 ± 4,31	14,12 ± 4,92	1,29 ± 0,59	1,72 ± 1,10	0,30 ± 0,33	0,12 ± 0,16
	Trifluralina	70,5	45,3	0,37 ± 0,08	0,28 ± 0,11	15,56 ± 2,78	10,52 ± 2,19	1,17 ± 0,69	0,57 ± 0,47	0,16 ± 0,14	0,06 ± 0,09
	Montante	68,0	76,7	0,70 ± 0,18	0,45 ± 0,10	15,53 ± 4,13	12,86 ± 1,76	1,13 ± 1,19	1,22 ± 0,94	0,17 ± 0,20	0,00 ± 0,02
	Efluente	72,0	76,7	0,77 ± 0,19	0,50 ± 0,17	12,43 ± 3,8	19,77 ± 3,57	0,69 ± 0,56	1,53 ± 1,04	0,04 ± 0,08	0,04 ± 0,05
	Jusante	56,7	80	0,42 ± 0,15	0,51 ± 0,12	7,70 ± 3,81	18,03 ± 3,51	0,39 ± 0,31	1,85 ± 1,36	0,05 ± 0,13	0,10 ± 0,17

Legenda: CN - Controle negativo (Água Ultrapura); CP - Controle Positivo (MMS – Metanometilsulfonato; Tri – Herbicida Trifluralina); IG (Índice de Germinação); IM (Índice Mitótico); IAC (Alterações Cromossômicas) e IMt (Índice de Mutagenicidade). Médias em negrito indicam significância ($p < 0,05$) em comparação ao CN pelo teste de Tukey ($< 0,05$) ou Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

6. DISCUSSÃO

No presente trabalho, o bioensaio com *A. cepa* permitiu a identificação de potencial tóxico, citogenotóxico e mutagênico de substâncias contidas na água e sedimento coletados no rio São Francisco, bem como foram notadas variações nos parâmetros físicos e/ou químicos em ambas as áreas analisadas durante as estações de estiagem e chuvosa.

Esse potencial tóxico está diretamente relacionado aos efeitos isolados e/ou combinados da ação dos contaminantes que, ao interagirem com o material vivo, produzem alterações em sua estrutura e função (Arenzon *et al.*, 2011; Ping *et al.*, 2012). Assim, pode-se sugerir que os potenciais toxicológicos observados estão relacionados às respostas isoladas, aditivas, sinérgicas ou antagonistas da presença de metais pesados encontrados nas duas estações e em ambas as áreas de estudo, uma vez que de forma geral, o excesso de metais em plantas causa alteração na estrutura e permeabilidade da membrana (Patra *et al.*, 2004; Shanker *et al.*, 2005; Sharma e Dhiman, 2013), sendo capazes de induzir quebras cromossômicas, formação de micronúcleos em sistemas-teste, ligações cruzadas entre DNA-DNA e DNA-proteína, alterações de formação de fusos mitóticos e indução de trocas entre cromátides irmãs (Knasmüller *et al.*, 1998; Chandra *et al.*, 2005; Egito *et al.*, 2007).

Nesse contexto, a amostra de água coletada no despejo do efluente urbano-agrícola (EA1) destacou-se com o maior número de parâmetros alterados, indicando altos índices de toxicidade ambiental, principalmente devido a presença do Ni, Cu, Pb, Fe e Cr e das concentrações de nutrientes, com ênfase para o fósforo e amônia.

Embora dentro dos limites estabelecidos pela resolução CONAMA 357/2005, os altos valores de CE, TDS e turbidez encontrados em ambas as estações para o EA1 estão relacionados à própria composição do efluente (CETESB, 2014), formado principalmente pelo lançamento de esgoto com resíduos sólidos sem tratamento da cidade de Juazeiro/BA (Oliveira *et al.*, 2015) e resíduos agrícolas das áreas irrigadas, uma vez que esgotos e efluentes industriais aumentam a concentração de TDS no ambiente aquático (Barbosa *et al.*, 2010). Tais dados corroboram ainda com o IQA (índice de Qualidade da Água) descrito anteriormente para esta área, o qual variou entre “Regular, Péssimo e Ruim”, em 11 das 12 amostras realizadas, ressaltando assim a influência dos despejos realizados pelo município (Peres, 2012).

As principais fontes antropogênicas do fósforo, além da ocupação desordenada do solo e desmatamento, são as emissões das indústrias que utilizam ácido fosfórico e sais de fosfatos como matéria-prima, como no caso das indústrias de fertilizantes e organofosforados (Osibanjo *et al.*, 2011; Quevedo e Paganini, 2011). Associado ao P, os citados produtos agrícolas apresentam em sua constituição teores de Cu, os quais também estão presentes em resíduos municipais (CETESB, 2013a) e em fungicidas, bactericidas e algicidas utilizados na piscicultura para controle da floração de algas e crescimento de organismos aquáticos indesejados (Who, 1998; Mahajan e Sood, 2007; Sampaio *et al.*, 2013).

Por sua vez, o Ni pode ter suas concentrações elevadas no meio ambiente em decorrência da incineração e reciclagem de produtos, acúmulo de resíduos urbanos e domésticos, bem como de despejos de efluentes industriais (Cempel e Nikel, 2006; CETESB, 2013a), similarmente ao notado para o Pb (Soni *et al.*, 2015) e Fe. Este último metal é encontrado de forma natural no ambiente; entretanto, suas

concentrações são elevadas por meio dos efluentes industriais, principalmente nas estações chuvosas devido ao carreamento de solos e erosão das margens (CETESB, 2009), conforme notado para os pontos de amostragem na A1. Logo, levando em consideração a ocorrência das atividades supracitadas no entorno da A1, é justificável a presença destes metais nas amostras de água coletadas.

Diferentes autores têm ressaltado alterações na germinação e crescimento da raiz devido à presença de metais pesados, os quais podem atuar inibindo a germinação e o crescimento, conforme visualizado em MA1 na estação de estiagem, ou estimulando esses parâmetros (Aydinalp e Marionova, 2009) durante a estação chuvosa. Tal ação pode ser decorrente da atividade do Ni (Liu *et al.*, 1994; Mesi e Kopliku, 2014), Cu (Palácio *et al.*, 2005; Yildiz *et al.*, 2009; Geremias *et al.*, 2010; Moraes *et al.*, 2015; Qin *et al.*, 2015), Pb (Lerda, 1992; Wierzbicka, 1998) e Cr (Liu *et al.*, 1992; Espinoza-Quinones *et al.*, 2009; Datta *et al.*, 2011; Nematshahi *et al.*, 2012), ressaltando assim a ação dose-dependente desses metais os quais podem atuar isolada ou conjuntamente, potencializando a resposta aditiva ou sinérgica aos contaminantes (Ping *et al.*, 2012).

Estes efeitos combinados também fornecem suporte para o aumento da frequência de alterações cromossômicas, uma vez que os metais apresentam efeitos adversos a nível cromossômico. O Ni tem a capacidade de substituir o Mg em interações com o DNA, aumentar a condensação da cromatina, promover a metilação do DNA e modificações de histonas, reagir com proteínas e aminoácidos presentes na cromatina e induzir a formação de ligações cruzadas (*crosslinking*) entre aminoácidos e proteínas no DNA (Costa *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1995; Baccarelli e Bollati, 2009; Hou *et al.*, 2012).

Alguns trabalhos relataram que o Pb é capaz de causar interação com as proteínas de ligação ao DNA, com proteínas supressoras de tumor e ainda gerar alterações genéticas através da inibição da síntese e reparo do DNA (Tchounwou *et al.*, 2012). Por sua vez, existem relatos que o Ni, mesmo em baixas concentrações não citotóxicas, possa interagir com outros metais como Fe, Cr e Zn interagir com o DNA levando a efeitos genotóxicos nas células expostas e/ou induzir a formação de micronúcleo pela inibição dos mecanismos de reparo (Godet *et al.*, 1996; Hartwig, 2000; Chandra *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2011). Tais associações podem também justificar a frequência elevada de micronúcleos em MA1 e EA1, confirmando uma ação mutagênica para esta área durante a estação de estiagem.

Ao analisar os dados referentes às amostras de sedimento, verificou-se altos índices de metais pesados na estação chuvosa para EA1, em comparação aos outros pontos de coleta. Essas informações levantam a suposição que o sinergismo entre esses metais possa ser responsável pelas ações tóxica, citotóxica e genotóxica observadas. O Fe, por exemplo, é capaz de aumentar a toxicidade do Zn em solos (Luo e Rimmer, 1995) e sua associação com o Cu aumentam o estresse oxidativo, causando danos ao DNA e à divisão celular (Egito *et al.*, 2007; Qin *et al.*, 2015).

Na A2, além de Ni, Cu, Pb e Fe, a presença de elevados valores de Cr durante a estação de estiagem está provavelmente relacionada à atividade do curtimento de couro, cujos resíduos compõem o efluente em três possíveis estados de oxidação, cromo bi, tri e hexavalente (CETESB, 2013b). O Cr, por sua vez, induz alterações na frequência de anomalias cromossômicas, micronúcleos, quebras e

pontes cromossômicas (Castro e Sousa *et al.*, 2017, Matsumoto and Marin-Morales 2004; Matsumoto *et al.* 2006) como observado à JA2 durante a estação seca.

Metais como Fe e Cu causam efeitos indiretos devido ao aumento do estresse oxidativo levando a citotoxicidade, assim como a danos ao DNA, conforme notado para JA2 durante a estação chuvosa (Knasmuller *et al.*, 1998, Steinkellner *et al.*, 1998, Chandra *et al.*, 2005, Egito, 2007). Em adição, o acúmulo de Cu afeta a expressão de α -tubulina, levando a despolimerização dos microtúbulos (Qin *et al.*, 2015), similarmente ao relatado para o Cr (Eleftheriou *et al.*, 2012) e Pb. Este último metal compete com Ca^{2+} nos locais de ligação da proteína calmodulina, alterando o movimento dos cromossomos através da regulação e controle da despolimerização e polimerização dos microtúbulos, bem como a regulação e controle da síntese de RNA e o comportamento nucleolar durante a interfase (Chao *et al.*, 1984; Li e Sun, 1991; Kursula e Majava; 2007; Jiang *et al.*, 2014).

Por outro lado, na A2, as amostras não induziram IMt significativos, sugerindo que as anormalidades mitóticas observadas nas células meristemáticas das coletas de água e sedimento foram reparadas (Martins *et al.*, 2016). Logo, não pode ser descartada a suposição de que a interação destes metais tenha acarretado uma resposta antagonista, diminuindo os efeitos de uma ou até de todas as substâncias envolvidas na mistura (Ping *et al.*, 2012).

As amostras de sedimento apresentaram altos índices de metais pesados na amostra JA2 durante a estação de estiagem, provavelmente acarretando na redução do índice mitótico (IM) e dificultando a observação de alterações cromossômicas em materiais com baixo índice de divisão celular.

Nota-se ainda, a ausência de genotoxicidade e/ou mutagenicidade nas amostras de sedimento com baixo IM (EA2 e JA2) e presença desses parâmetros

em amostras com valores de IM mais altos (EA2 e JA2) como observado durante a estação chuvosa, onde o aumento do IM possibilitou o aumento do IAC, demonstrando que tanto o aumento ou quanto a diminuição dos diferentes índices pode ser usado como parâmetros no biomonitoramento ambiental (Fernandes *et al.*, 2007). Entretanto, vale ressaltar que de acordo com os resultados encontrados por diferentes autores acredita-se que os efeitos citotóxicos não necessariamente estão associados a efeitos genotóxicos (Gomes *et al.*, 2014; Oliveira *et al.*, 2011).

Em se tratando de sedimento, apesar das concentrações de metais pesados terem sido encontradas dentro dos limites propostos pela resolução CONAMA 454/2012 para ambas as áreas, com exceção do Cr para a A1, foi observada uma ação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica nas áreas avaliadas.

Todavia, é válido salientar que ambos os estados da Bahia e de Pernambuco não possuem uma resolução própria para tratar da qualidade da água e sedimento. Isso pode ser considerado um problema, uma vez que as regiões estão localizadas em um bioma exclusivamente brasileiro apresentando características específicas principalmente em relação aos tipos de solo, clima e vegetação (Cesar *et al.*, 2014).

Adicionalmente, as referências utilizadas para elaboração das resoluções não se baseiam em organismos biológicos e não inferem sobre a biodisponibilidade do composto. Esse fato pode levar a uma subestimação do problema ambiental, uma vez que a tolerância ao estresse por metais e suas respectivas concentrações são os fatores capazes de determinar se um dado composto pode ser considerado um contaminante ou micronutriente em um ambiente específico (Vargas *et al.*, 2008; Kranner e Colville, 2011; Costa *et al.*, 2012).

A observação de potencial tóxico nas amostras de água coletadas à montante do despejo dos efluentes destaca a existência de fontes difusas de poluição, cujos contaminantes são carregados, lixiviados e distribuídos irregularmente ao longo deste recurso hídrico. Os impactos a montante e o funcionamento dessas áreas não podem ser considerados isoladamente, mas sim como sendo parte de um processo contínuo ao longo de todo o rio (Salomons, 2005). Além disso, a capacidade de renovação, depuração e vazão do rio devem ser consideradas uma vez que diante dessas características seu autopoder de mistura já foi relatado (Peres, 2012)

Vale ressaltar ainda a necessidade de compreensão entre a contaminação dos sedimentos e o seu risco real para o funcionamento do ecossistema, já que sedimentos que não cumprem uma série de diretrizes de qualidade causam efeitos adversos à comunidade bentônica no campo ou em testes de toxicidade de laboratório, devido à toxicidade de combinação ou à presença de compostos não identificados (Brils, 2008). Os efeitos dos produtos químicos sobre a biota aquática dependem da concentração, toxicidade, solubilidade, biodisponibilidade, duração da exposição, bem como da sensibilidade dos organismos expostos (Connon *et al.*, 2012).

Um fator preponderante para intensificação dos impactos ocasionados pelas atividades geradoras de resíduos poluidores é o desmatamento da mata ciliar, uma vez que esta atua como barreira no escoamento superficial da água, que arrasta elementos oriundos de áreas agrícolas e urbanas, reduzindo assim a contaminação dos cursos d'água por fertilizantes, herbicidas, inseticidas, fungicidas e outros subprodutos das atividades humanas (Nascimento, 2001; Oliveira *et al.*, 2015). Essa carga poluente contribui para o agravamento do potencial tóxico,

citogenotóxico e mutagênico encontrado na água e/ou sedimento do rio São Francisco, interferindo drasticamente na quantidade e qualidade da água disponível para a população. Este fato é apontado como um dos principais problemas de saúde humana, tornando-a imprópria para a comunidade aquática, e para o consumo humano.

A maneira com que os metais atuam diretamente em nível ciclo celular, mediante ações aneugênicas e clastogênicas (Liu *et al.*, 1996; Yildiz *et al.*, 2009), levam a perdas cromossômicas, quebras cromossômicas, brotos nucleares, formação de pontes anafásicas, micronúcleos, entre outras, acarretando em IAC significativos em células expostas às amostras compostas por estes contaminantes, a exemplo de EA1 em ambas as estações, JA1 e JA2 na estação seca.

A presença de contaminantes é refletida na redução da biodiversidade e da abundância das espécies, macroinvertebrados bentônicos, por exemplo, bioacumulam metais em seus tecidos, tem sua diversidade, abundância e biomassa reduzida (Chiba *et al.*, 2011, Ishadi *et al.*, 2014). Além disso, estes contaminantes são capazes de causar alterações histopatológicas branquiais nos peixes mesmo com parâmetros dentro dos limites sugeridos pela resolução (Deacon e Mize, 1997; Cantanhede *et al.*, 2014). Metais pesados atuam sobre peixes causando redução no crescimento, reprodução e sobrevida bem como aumento de anomalias de desenvolvimento, alterações enzimáticas, hematológicas e epiteliais (Mazon *et al.*, 2012, Afshan *et al.*, 2014; Hook *et al.*, 2014).

Nesse contexto, o presente estudo ratifica a importância da implementação de programas de revitalização e preservação do rio São Francisco, programas de monitoramento e gestão ambiental com o desenvolvimento de ações de educação

ambiental e conscientização da população local, bem como a implementação de políticas públicas que garantam o desenvolvimento econômico e social, mas respeitando os princípios de sustentabilidade ambiental.

7 CONCLUSÕES

1. As amostras de água e de sedimento coletadas nas áreas A1 (efluente urbano-agrícola) e A2 (efluente urbano-industrial) de despejo de efluentes no rio São Francisco em Juazeiro - BA e Petrolina - PE, nas estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016), apresentaram de forma geral potencial tóxico, citogenotóxico e mutagênico.
2. As variáveis hidroquímicas da água apresentam-se dentro dos limites propostos pela resolução CONAMA 357/2005 para água doce classe II nas duas áreas avaliadas em ambos os períodos de amostragem.
3. A concentração dos nutrientes nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato e fósforo total nas áreas de amostragem apresentam-se dentro dos limites propostos pela resolução CONAMA 357/2005.
4. De forma geral, as áreas 1 e 2 apresentam níveis elevados de metais pesados (Ni, Pb, Fe, Cu), acima do proposto pela resolução em vigor para amostras de água durante as duas estações, enquanto para o sedimento apenas a A1 apresentou níveis de Cr elevados para os três pontos de amostragem (montante, efluente e jusante) durante a estação chuvosa.
5. Os efluentes em foco apresentam-se como fontes pontuais de poluição, as quais juntamente com outras fontes pontuais e difusas e o desmatamento da mata ciliar, têm acarretado a desestruturação física e comprometido à saúde ambiental do rio São Francisco.
6. Os dados obtidos reforçaram que a descarga de resíduos industriais, urbanos e/ou agrícolas, mediante a acumulação dos poluentes nos rios, propicia um aumento da toxicidade, citogenotoxicidade e mutagenicidade (a nível cromossômico) nos organismos expostos aos contaminantes.

REFERÊNCIAS

- Abdel-Mohsien HS e Mahmoud MAM (2015) Accumulation of Some Heavy Metals in *Oreochromis niloticus* from the Nile in Egypt: Potential Hazards to Fish and Consumers. *J Environ Prot* 6:1003-1013.
- ABNT (2004) Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR – 10007 – Procedimento para amostragem de resíduos sólidos. Rio de Janeiro, 21p.
- Afshan S, Safaqt Ali, Ameen US e Ahmad R (2014) Effect of Different Heavy Metal Pollution on Fish. *Res J Chem Env Sci* 2:74-79.
- Ahmad P (2016) Plant Metal Interaction: Emerging Remediation Techniques. 1ª edição. Elsevier, 652 pp.
- Akinboro A e Bakare AA (2007) Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. *J Ethnopharmacol* 112:470-475.
- Almeida MAB e Schwarzbald A (2003) Avaliação sazonal da qualidade das águas do Arroio da Cria Montenegro, RS com aplicação de um índice de qualidade de água (IQA). *Rev Bras Recur Hídric* 8:81-97.
- Almeida PM, Araújo SS, Santos IRMR, Marin-Morales MA, Benko-Iseppon AM, Santos AV e Brasileiro-Vidal AC (2016) Genotoxic potential of leaf extracts of *Jatropha gossypifolia* L. *Genet Mol Res* 15:1-8.
- ANA (2005) Agência Nacional de Águas. Panorama da Qualidade das Águas Superficiais no Brasil. Brasília, 152pp.
- ANA (2015a) Agência Nacional de Águas. Regiões Hidrográficas Brasileiras. Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil, Edição Especial 1:164.
- ANA (2015b) Agência Nacional de Águas. Crise Hídrica. Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil, 1:31.
- ANA(2016) Agência Nacional de Águas, <http://www2.ana.gov.br/Paginas/portais/bacias/SaoFrancisco.aspx> (20 de Abril de 2016)
- APHA (2001) American Public Health Association. Standard methods for the Examination of water and wastewater, 20th ed. Washington, Port City Press. 1:34-38.
- APHA (2005) American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed. Washington, USA.
- APHA (2012) American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and watwater. 22td ed. AWWA, Washington, 1496p.
- Araújo RPA, Botta-paschoal CMR, Silvério PF, Almeida FV, Rodrigues PF, Umbuzeiro GA, Jardim WF e Mozeto AA (2006) Application of toxicity identification evaluation to sediment in a highly contaminated water reservoir in southeastern Brazil. *Environ Toxicol Chem* 25:206-212.
- Araujo SS, Benko-Iseppon AM e Brasileiro-Vidal AC (2015) Genotoxicity and Mutagenicity Assays for Selection of Chemical Compounds with Therapeutic Potential: A Short Commentary. *Biochem Anal Biochem* 4:1-3.
- Araujo SS, Fernandes TCC, Marin-Morales MA, Brasileiro-Vidal AC e Benko-Iseppon AM (2016) Mutagenicity, Genotoxicity and Cytotoxicity Assays of Medicinal Plants: First Step for Drug Development 130-153 In: Duarte MCT e Rai M (2016) Therapeutic Medicinal Plants From Lab to the Market. Taylor e Francis Group, LLC 407pp.
- Araújo GJF e Silva MM (2013) Crescimento econômico no semiárido brasileiro: o caso do polo frutícola Petrolina/Juazeiro Caminhos de Geografia 14:246-264.

- Arenzon A, Neto TJP e Gerber W (2011) Manual sobre Toxicidade em Efluentes Industriais. SENAI de Artes Gráficas, Porto Alegre, 42pp.
- Athanásio CG, Prá D e Rieger A (2014) Water Quality of Urban Streams: The *Allium cepa* Seeds/Seedlings Test as a Tool for Surface Water Monitoring. Scientific World J 1-7.
- Aydinalp C e Marinova S (2009) The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*). Bulg J of Agri Sci 15:347-350.
- Azevedo FA (2003) Toxicologia do Mercúrio. São Carlos: Rima, 292p.
- Baccarelli A e Bollati V (2009) Epigenetics and environmental chemicals. Curr Opin Pediatr 21:243-251.
- Barros FGN e Amin MM (2008) Água: um bem econômico de valor para o Brasil e o mundo. Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional G&DR 4:75-108.
- Bhadja P e Vaghela A (2013) Effect of temperature on the toxicity of some metals to *Labeo bata*. Inter J Adv Life Sc 6:252-254.
- Bagatini MD, Silva ACF e Tedesco SB (2007) Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. Rev Bras Farmacogn 17:444-447.
- Barbério A (2013) Bioassays with Plants in the Monitoring of Water Quality. InTech, Water Treatment 317-334pp.
- Barbosa JS, Cabral TM, Ferreira DN, Agnez-Lima LF e Batistuzzo de Medeiros SR. (2010). Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73:320-325.
- Bartram J e Ballance R (1996) Water Quality Monitoring - A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programmes. Published on behalf of United Nations Environment Programme and the World Health Organization, 348pp.
- Bedor CNG, Ramos LO, Rego MAV, Pavão AC e Augusto LGS (2007) Avaliação e reflexos da comercialização e utilização de agrotóxicos na região do submédio do Vale do São Francisco. Rev Baiana Saúde Pública 31:68-76.
- Bedor CNG, Ramos LO, Pereira PJ, Rego MAV, Pavao AC e Augusto LGS (2009) Vulnerabilidades e situações de riscos relacionados ao uso de agrotóxicos na fruticultura irrigada. Rev Bas Epidemiol 12:39-49.
- Bendschneider K e Robinson RJ (1952) A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. J Mar Res 11:87-96.
- Bezerra, *et al* (2013) Potencial mutagênico dos poluentes na água do açude Epitácio pessoa em Boqueirão e Cabaceiras, PB, utilizando o teste *Allium cepa*. Rev de Biol e Farm 9:1-9.
- Bianchi E, Goldoni A, Trintinaglia L, Lessing G, Silva CEM, Nascimento CA, Ziulkoski AL, Spilki FR e Silva, LB (2015) Evaluation of genotoxicity and cytotoxicity of water samples from the Sinos River Basin, Southern Brazil. Braz J Biol 75:68-74.
- Bitto A, Pizzino G, Irrera N, Galfo F e Squadrito F (2014) Epigenetic modifications due to heavy methals exposure in children living in polluted areas. Curr Genomics 15:464-468.
- Braga JRM e Lopes DM (2015) Citotoxicidade e genotoxicidade da água do rio Subaé (Humildes, Bahia, Brasil) usando *Allium cepa* L. como bioindicador. Rev Ambient Água 10:130-140.

- Brils J (2008) Sediment monitoring and the European water framework directive. *Ann Ist Super Sanita* 3:218-223.
- Brito LTdeL, Silva AdeS, Porto ER (2007) Disponibilidade de água e gestão dos recursos hídricos. In: Brito LTdeL, Moura MSde, Gama GFB (Org.). *Potencialidades da água de chuva no Semiárido brasileiro*. 1ed. Petrolina, PE: Embrapa Semiárido 1:15-32.
- Bucker A e Conceição MB (2012) Genotoxicity evaluation of tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to waters from two sites of Itajaí-Açu River (SC, Brazil). *J Braz Soc Ecotoxicol* 7:51-56.
- Bueno AMS, Pereira CAB e Rabello-Gay MN (2000) Environmental Genotoxicity Evaluation Using Cytogenetic End Points in Wild Rodents. *Environ Health Persp* 108:1165-1169.
- Bulhões B, Mendes S e Almeida F (2009) Fatos e tendências. *Agencia Nacional de Águas* 1-36.
- Buzelli GM e Cunha-Santino MB (2013) Análise e diagnóstico da qualidade da água e estado trófico do reservatório de Barra Bonita, SP. *Rev Ambient Água* 8:186-205.
- Cabrera GL e Rodriguez DMG (1999) Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. *Mutat Res* 426:211-214.
- Caritá R e Marin-Morales MA (2008) Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. *Chemosphere* 72:722-5.
- Cameron KS, Buchner V e Tchounwou PB (2011) Exploring the Molecular Mechanisms of Nickel-Induced Genotoxicity and Carcinogenicity: A Literature Review. *Rev Environ Health* 26: 81-92.
- Campos ML, Silva FN, Neto AEF, Guilherme LRG, Marques JJ e Antunes AS (2005) Determinação de cádmio, cobre, cromo, níquel, chumbo e zinco em fosfatos de rocha. *Pesq Agropec Bras* 40:361-367.
- Cantanhede SM, Medeiros AM, Ferreira FS, Ferreira JRC, Ferreira LMC, Alves LMC, Cutrim MVJ e Santos DMS (2014) Uso de bioindicador histopatológico em brânquias de *Centropomus undecimalis* (Bloch 1972) na valiação da qualidade da água do Parque Ecológico Laguna Jansen, São Luis-MA. *Arq Bras Med Vet Zootec* 66: 593-601.
- Carmo CA, Abessa DMS e Neto JGM (2011) Metais em águas, sedimentos e peixes coletados no estuário de São Vicente-SP, Brasil. *Mundo Saúde*, 35: 64-70.
- Carmona ER, Creus A e Marcos R (2011) Genotoxic effects of two nickel-compounds in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res* 718:33-37.
- Carneiro FF, Rigotto RM, Giraldo LA, Friedrich K e Burigoa C (2015) Dossiê ABRASCO uma alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. *Expressão Popular* 01: 624pp.
- Carruyo I, Fernández Y, Marcano L, Montiel X e Torrealba Z (2008) Correlation of Toxicity with Lead Content in Root Tip Cells (*Allium cepa* L.). *Biol Trace Elem Res* 125:276-285.
- Castro e Sousa JM, Peron AP, Silva e Sousa L, Holanda MM, Vieira Lima AM, Oliveira VA, Silva FCC, Lima LHGM, Matos LA, Dantas SMMM, Aguiar RPS, et al. (2017) Cytotoxicity and genotoxicity of Guaribas river water (Piauí, Brazil), influenced by anthropogenic action. *Environ Monit Assess* 189:301.

- Cavas T e Ergene-Gozukara, S (2005) Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* following exposure to petroleum refinery and chromium processing plant effluents. *Aquat Toxicol* 74:264-271.
- Clare G. (2012) The in vitro mammalian chromosome aberration test. *Methods Mol Biol* 817:69-91.
- Collins AR (2004) The Comet Assay for DNA Damage and Repair. *Molecular Biotechnology* 26:249-261.
- CBHSF (2015) Plano de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco 2016-2025. Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco.
- CBHSF (2016) Comitê da bacia Hidrográfica do Rio São Francisco, <http://cbhsaofrancisco.org.br/a-bacia/> (20 de Dezembro de 2016)
- Cempel M e Nikel G (2006) Nickel: A Review of Its Sources and Environmental Toxicology. *Polish J of Environ Stud* 15:375-382.
- Cesar R, Sousa MA, Polivanov H, Barroso E, Alvaro T, Colonese J, Egler S e Castilhos Z (2014) Disposição terrestre de sedimentos de dragagem: ecotoxicidade, biodisponibilidade de metais e estudo de caso em Belford Roxo (RJ). *Geociências* 33:416-428.
- Chenoweth J (2008) A re-assessment of indicators of national water scarcity. 33:16p.
- Chiba WAC, Passerini, MD e Tundisi, JG (2011) Metal contamination in benthic macroinvertebrates in a sub-basin in the southeast of Brazil *Braz. J Biol* 71:391-399.
- CETESB (1987) Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Guia de coleta e preservação de amostras de água. Coord. Edmundo Garcia Agudo (*et al.*). São Paulo.
- CETESB (2009) Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo: significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem. Secretaria do Meio Ambiente, 44pp.
- CETESB (2013a) Companhia Ambiental Do Estado De São Paulo. Níquel e seus compostos, laboratorios.cetesb.sp.gov.br/wpcontent/uploads/sites/47/2013/11/niquel.pdf (7 de fevereiro de 2016)
- CETESB (2013b) Companhia Ambiental Do Estado De São Paulo. Cromo, <http://laboratorios.cetesb.sp.gov.br/wpcontent/uploads/sites/47/2013/11/cromio.pdf> (7 de fevereiro de 2016)
- CETESB (2014) Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Águas superficiais – Variáveis de qualidade das águas. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. 2014. <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/Águas-Superficiais/34-Variáveis-de-Qualidade-das-Águas> (10 de Fevereiro de 2016)
- Chandra S, Chauhan LKS, Murthy RC, Saxena PN, Pande PN e Gupta SK (2005) Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. *Sci Total Environ* 347:46- 52.
- Chao S, Suzuki Y, Zysk JR e Cheung WY (1984) Activation of Calmodulin by Various Metal Cations as a Function of Ionic Radius. *Mol Pharmacol* 26:75-82.
- Chapman D (1996) Water Quality Assessments - A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring. 2ª edição. E&FN Spon, 609pp.
- Cirilo JA, Montenegro SMGL, Campos JNB (2010) A questão da água no semiárido Brasileiro. In: Bicudo CEdeM, Tundisi JG, Scheuenstuhl MCB (Org.). Águas do Brasil análises estratégicas. 1ed. São Paulo: Instituto de Botânica 1:81-91.

- CONAMA (2005) Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de Março de 2005. <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf> (20 de fevereiro de 2016)
- CONAMA (2005) Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº 454, de 01 de Novembro de 2012. <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=693> (20 de fevereiro de 2016)
- Connon RE, Geist J e Werner I (2012) Effect-Based Tools for Monitoring and Predicting the Ecotoxicological Effects of Chemicals in the Aquatic Environment . Sensors (Basel) 12:12741-12771.
- Correia LO, Júnior SS, Carneiro PLS e Bezerra MA (2014) Evaluation of the use of *Leptodactylus ocellatus* (Anura: Leptodactylidae) frog tissues as bioindicator of metal contamination in Contas River, Northeastern Brazil. An Acad Bras de Ciênc 4:1549-1561.
- Costa L, Sousa MV e Dellamatrice PM (2009) Avaliação da qualidade da água de um açude através de bioensaios, usando bioindicadores de qualidade ambiental. In: V Congresso de Pesquisa e Inovação Tecnológica da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica, Belém. Anais do IV Congresso de Pesquisa e Inovação Tecnológica da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica.
- Costa M, Salnikow K, Cosentino S, Klein CB, Huang X e Zhuang Z (1994) Molecular Mechanisms of Nickel Carcinogenesis. Environ Health Persp 112:127-130.
- Costa TC, Brito KCG, Rocha JAV, Leal KA, Rodrigues MLK, Minella JPG , Matsumoto ST e Vargas VMF (2012) Runoff of genotoxic compounds in river basin sediment under the influence of contaminated soils. Ecotoxicol Environ Saf 75:63-72.
- Cruz PFS (2012) Os desafios da gestão local e das políticas de desenvolvimento territorial no Polo Petrolina (PE) - Juazeiro (BA): Dinamismo Econômico x Desigualdades Sócio Espaciais. In: I Seminário de Desenvolvimento Regional, Estado e Sociedade, Rio de Janeiro, 17pp.
- Datta JK, Bandhyopadhyay A, Banerjee A e Mondal NK (2011) Phytotoxic effect of chromium on the germination, seedling growth of some wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under laboratory condition. J Agr Tech 7:395-402.
- Deacon JR e Mize SV (1997) Effects of Water Quality and Habitat on Composition of Fish Communities in the Upper Colorado River Basin Fact Sheet FS-122-97
- Dearfield KL, Cimino MC, Mccarroll NE, Mauer I e Valcovic LR (2002) Genotoxicity risk assessment: a proposed classification strategy. Mutat Res 521:121-135.
- Donadio NMM, Galbiatti JA e Paula RCde (2005) Qualidade da água de nascentes com diferentes usos do solo na Bacia Hidrográfica do Córrego Rico, São Paulo, Brasil. Rev Bras Eng Agric Ambient 25:115-125.
- Dias M, Santos H, Pezella M e Marchezini F (2016) São Francisco Valley: Vitivini culture activities in the brazilian unthinkable semiarid climate and its challenges. Int J of Bus and Manag 10:1-13.
- Dourado PLR, Rocha MP, Roveda LM, Junior JLR , Cândido LS , Cardoso CAL, Marin-Morales MA , Oliveira KMP e Grisolia AB (2017) Genotoxic and mutagenic effects of polluted surface water in the midwestern region of Brazil using animal and plant bioassays Geneti Mol Biol 40:123-133.

- Dusman E, Berti AP, Soares LC e Vicentini VEP (2012) Principais agentes mutagênicos e carcinogênicos de exposição humana. SaBios: Rev Saúde e Biol 7:66-81.
- ECHA (European Chemicals Agency) (2014) Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment, Chapter R.7a: Endpoint specific guidance, 37pp.
- Egito LCM, Medeiros MG, Medeiros SRB e Agnez-Lima LF (2007) Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu River, northeastern/RN Brazil. Genet Mol Biol 30:435-44.
- Eleftheriou EP, Adamakis IDS e Melissa P (2012) Effects of hexavalent chromium on microtubule organization, ER distribution and callose deposition in root tip cells of *Allium cepa* L. Protoplasma 249:401-416.
- Enderlein RE e Williams P (1996) Water Quality Requirements. In: Bartram J e Ballance R (eds) Water Quality Monitoring - A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programmes. Published on behalf of United Nations Environment Programme and the World Health Organization, 348pp.
- Espinoza-Quinones *et al* (2009) Inhibition Effect on the *Allium cepa* L. Root Growth When Using Hexavalent Chromium-Doped River Waters Bull. Environ Contam Toxicol 82:767-771.
- Factori R, Leles SM, Novakowski GC, Rocha CLSC e Thomaz SM (2014) Toxicity and genotoxicity of water and sediment from streams on dotted duckweed (*Landoltia punctata*). Braz J Biol 74:769-778.
- FDA. U.S. Food and Drug Administration. Redbook 2000: IV.C.1.b In vitro Mammalian Chromosomal Aberration Test (2003) Disponível em: <http://www.fda.gov/>. Acessado em: 18 de Dezembro de 2016
- Fenech M (2000) The in vitro micronucleus technique. Mutat Res 455:81-95.
- Fernandes TCC, Mazzeo DEC, Marin-Morales, MA (2007) Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. Pest Biochem Physiol 88:252-259.
- Ferracini VL, Pessoa, MCPY, Silva AS e Spadotto, CA (2001) Análise de risco de contaminações das águas subterrâneas e superficiais da região de Petrolina/PE e Juazeiro/BA. Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente 11:1-16.
- Ferreira, LC (2015) Inserção do bipolo Petrolina/Juazeiro no agronegócio e a invisibilidade da agricultura familiar perante as políticas públicas: um estudo de caso. Re Ciênc. Empres UNIPAR, Umuarama, 16:283-301.
- Ferreira PMF, Barbosa JM, Santos EL, Lima MR, Cabral GAL (2009) Efeito da temperatura sobre a taxa metabólica da Carpa-comum (*Cyprinus carpio* linnaeus, 1758). Rev Bras Eng Pesca 4:1-10.
- Fiskesjo G (1985) The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. Hereditas 102:99-112.
- Fiskesjo G (1988) The *Allium* test - an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. Mutat Res 197:243-260.
- Fracácio R *et al* (2000) Abordagem ecotoxicológica. In: Espíndola ELG, Silva, J. SV, Marinelli CE e Abdon MM(Eds.) A Bacia Hidrográfica do Rio do Monjolinho. Rima. São Carlos 150-162p.
- Freitas LA, Rambo CL, Franscescon F, Barros AFP, Lucca GS, Siebel AM;

- Scapinello J; Lucas EM e Magro JD (2017) Coal extraction causes sediment toxicity in aquatic environments in Santa Catarina, Brazil. *Rev Ambient Água* 12: 591-604.
- Frenzilli G, Nigro M e Lyons BP (2009) The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. *Mutat Res* 681:80-92.
- Frontalini F e Coccioni R (2011) Benthic foraminifera as bioindicators of pollution: A review of Italian research over the last three decades. *Rev Micropaleontol* 54:115-127.
- George I, Crop P e Servais P (2002) Fecal coliform removal in wastewater treatment plants studied by plate counts and enzymatic methods. *Water res* 36:2607-2617.
- Geremias R, Fattorini D, Valfredo TDF e Pedrosa RC (2010) Bioaccumulation and toxic effects of copper in common onion *Allium cepa* L. *Chem Ecol* 26:19-26.
- Godecke MV, Rodrigues MAS e Naime RH (2012) Resíduos de curtumes: estudo das tendências de pesquisa. *REGET* 7:1357-1378.
- Godet F, Babut M, Burnel D, Veber AM e Vasseur P (1996) The genotoxicity of iron and chromium in electroplating effluents. *Mutat Res* 370:19-28.
- Gomes JV, Teixeira JTS, Lima VM e Borba HR (2014) Induction of cytotoxic and genotoxic effects of Guandu River waters in the *Allium cepa* system. *Rev Ambient Água* 10: 48-58.
- Grant WF (1999) Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations_a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. *Mutat Res* 426:107-112.
- Goulart MDC e Callisto M (2003) Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM*, 9p.
- Hartwig A (2000) Recent advances in metal carcinogenesis. *Pure Appl Chem* 72:1007-14.
- Hook SE, Gallagher EP e Batley GE (2014) The Role of Biomarkers in the Assessment of Aquatic Ecosystem Health. *Integr Environ Assess Manag*. 10:327-341.
- Hou L, Zhang X, Wang D e Baccarelli A (2012) Environmental chemical exposures and human epigenetics. *Int J of Epidemiol* 41:79-105.
- Huang J, Zhan J, Yan H, Wu F e Deng X (2013) Evaluation of the Impacts of Land Use on Water Quality: A Case Study in The Chaohu Lake Basin. *The Sci World Journal*, 7p.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2016) <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=261110> e <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=291840> (17 de Dezembro de 2016)
- INEMA (2016) Consulta de Dados Pluviométricos e Fluviométricos. <http://monitoramento.inema.ba.gov.br/planilhas/plu/> (15 de Setembro de 2015)
- IPA (2016) Instituto Agrônomo de Pernambuco. http://www.ipa.br/indice_pluv.php (15 de Setembro de 2015)
- Isidori M, Lavorgna M, Nardelli A e Parrella A (2004) Integrated environmental assessment of Volturno River in South Italy. *Sci Total Environ* 327:123-134.
- Jiang Z, Zhang H, Qin R, Zou J, Wang J, Shi Q, Jiang W e Liu D (2014) Effects of Lead on the Morphology and Structure of the Nucleolus in the Root Tip Meristematic Cells of *Allium cepa* L. *Int J Mol Sci* 15:13406-13423.

- Johnson RK, Wiederholm T e Rosenberg DM (1993). Freshwater biomonitoring using individual organisms, populations, and species assemblages of benthic macroinvertebrates, In: Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates, D.M. Rosenberg & V.H. Resh (eds), Chapman & Hall, New York, USA. 40-158pp.
- Kang N, Kang HI e An KG (2014) Analysis of Fish DNA Biomarkers as a Molecular-Level Approach for Ecological Health Assessments in an Urban Stream. Bull Environ Contam Toxicol 93:555-60.
- Khan MS, Zaidi A, Goel R e Musarrat J (2011) Biomanagement of Metal Contaminated Soils. Springer 477pp.
- Khezami e Capat (2005) Removal of chromium (VI) from aqueous solution by activated carbons: Kinetic and equilibrium studies. J Hazard Mater 123:223-231.
- Knasmüller S, Gottmann E, Steinkellner H, Fomin A, Pickl C, Paschke A, God R e Kundi M (1998) Detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soils with plant bioassays. Mutat Res 420:37-38.
- Kranner I e Colville, L (2011) Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. Environ Exp Bot 93-105.
- Kursula P e Majava V (2007) A structural insight into lead neurotoxicity and calmodulin activation by heavy metals. Acta Cryst 63:653-656.
- Lacerda LD e Malm O (2008) Mercury Contamination in Aquatic Ecosystems: an Analysis of the Critical Areas. Estud Av 22:173-190.
- Lah B, Vidic T, Glasencnik E, Cepeljnik T, Gorjanc G e Marinsek-Logar R (2008) Genotoxicity evaluation of water soil leachates by Ames test, comet assay, and preliminary *Tradescantia* micronucleus assay. Environ Monit Assess 139:107-118.
- Lah B, Zinko B, Tisler T e Marinsek-Logar R (2005) Genotoxicity detection in drinking water by Ames test, zimmermann test and Comet Assay. Acta Chim Slov 52:341-348.
- Lee YW, Klein CB, Kargacin B, Salnikow K, Kitahara J, Dowjat K, Zhitkovich A, Christie NT e Costa M (1995) Carcinogenic Nickel Silences Gene Expression by Chromatin Condensation and DNA Methylation: a New Model for Epigenetic Carcinogens. Mol Cell Biol 15:2547-2557.
- Lee CC (2005) Environmental Engineering Dictionary. 4^o ed. 968p.
- Leme DM e Marin-Morales MA (2009) *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. Mutat Res 682:71-81.
- Leme DM, Angelis DF e Marin-Morales MA (2008) Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. Aquat Toxicol 88:214-219.
- Lerda D (1992) The effect of lead on *Allium cepa* L. Mutat Res 281:89-92.
- Levan A (1938) The effect of colchicine on root mitosis in *Allium*. Hereditas 24:471-486.
- Li JX e Sun DY (1991) A study on CaM distribution in cells of living things. China J Cell Biol 13:1-6.
- Lima JPR e Miranda EA (2001) Fruticultura Irrigada no Vale do São Francisco: Incorporação Tecnológica, Competitividade e Sustentabilidade. Rev Econ Nordeste 32:611-632.

- Lima JRF, Silva JdeS e Santos RKB (2013) Comportamento dos preços da manga exportada do Brasil: 2004-2012. *Organizações Rurais e Agroindustriais* 15:370-380.
- Lima PDL, Vasconcellos MC, Montenegro RC, Bahia MO, Costa ET, Antunes LMG e Burbano RR (2014) Genotoxic effects of aluminum, iron and manganese in human cells and experimental systems: A review of the literature. *Hum Exp Toxicol* 30:1435-1444.
- Lima VTA, Campeche DFB e Pereira LA (2009) Caracterização da água de açudes com peixes no semiárido pernambucano. *Rev Acad Ciênc Agrár Ambient. Curitiba*, 7:395-405.
- Lins JAPN, Kirschnik PG, Queiroz VS e Cirio SM (2010) Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. *Rev Acad Ciênc Agrár Ambient* 8:469-484.
- Liu D, Jiang W e Maoxie Li (1992) Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. *Hereditas* 117:23-29.
- Liu D, Jiang W, Guo L, Hao Y, Lu C e Zhao F (1994) Effects of Nickel sulfate on root growth and nucleoli in root tip cells of *Allium cepa* Israel. *J Plan Sci* 42:143-148.
- Luo Y e Rimmer DL (1995) Zinc-Copper interaction affecting plant growth on a metal-contaminated soil. *Environ Pollut* 88:79-83.
- Ma TH, Xu Z, Xu C, McConnell H, Rabago EV, Arreola GA e Zhang H (1995) The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants *Mutat Res* 334:185-195.
- Mahajan RK e Sood P (2007) Novel Copper (II)-Selective Electrode Based on 2,2':5',2''- Terthiophene in PVC Matrix. *Int J Electrochem Sci* 2:832-847.
- Manzano BC, Roberto MM, Hoshina MM, Menegário AA e Marin-Morales MA (2015) Evaluation of the genotoxicity of waters impacted by domestic and industrial effluents of a highly industrialized region of São Paulo State, Brazil, by the comet assay in HTC cells. *Environ Sci Pollut Res* 22:1399-1407.
- Marin-Morales MA *et al.* Utilização de *Allium cepa* como organismo teste na detecção da genotoxicidade ambiental. (Desenvolvimento de material didático ou instrucional - Apostila de curso de extensão) 2008.43p.
- Martins MNC, Souza VV e Souza TS (2016) Cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of sewage sludge on *Allium cepa*. *Chemosphere* 481-486.
- Matsumoto ST, Mantovani MS, Malagutti MIA, Dias AL, Fonde estiagem IC e Marin-Morales MA (2006) Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genet Mol Biol* 29:148-158.
- Mazzeo DEC e Marin-Morales MA (2015) Genotoxicity evaluation of environmental pollutants using analysis of nucleolar alterations. *Environ Sci Pollut Res Int* 22:9796-9806.
- Mazon, AF, Monteiro EAS., Pinheiro GHD e Fernandes MN (2002) Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. *Braz J Biol* 62:621-631.
- Melo, CA, Moreira AB e Bisinoti MC (2009) Perfil espacial e temporal de poluentes nas águas da represa municipal de São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. *Quim Nova* 32:1436-1441.

- Mesi AD e Kopliku D (2014) Toxic Potency Evaluation of Metal-Doped River Water (Cr, Cu and Pb), on *Allium cepa* L. An Albanian Case Athens J Sciences 1-255:267.
- Migid AHM, Azab YA e Ibrahim WM (2007) Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. *Ecotoxicol Environ Saf* 66:57-64.
- Mitkovska V, Chassovnikarova T, Atanasov N e Dimitrov H (2012) Environmental genotoxicity evaluation using a micronucleus test and frequency of chromosome aberrations in free-living small rodents. *J BioSci Biotech* 1:67-71.
- MMA (2004) Ministério do Meio Ambiente. Programa de Revitalização da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco, Brasília, 134p. http://www.mma.gov.br/estruturas/PRSF/_arquivos/diag.pdf (22 de Março de 2016)
- MMA (2005) Ministério do Meio Ambiente. Água: um recurso cada vez mais ameaçado. *Consumo sustentável* 1:24-36
- MMA (2006) Ministério do Meio Ambiente. Caderno da Região Hidrográfica do São Francisco. Brasília, 148p.
- Monteiro TR, Oliveira LG e Godoy BS (2008) Biomonitoramento da qualidade de água utilizando macroinvertebrados bentônicos: adaptação do índice biótico BMWP' à Bacia do Rio Meia Ponte-GO. *Oecol Bras* 12:553-563.
- Mortelmans, K e Zeiger, E (2000) The Ames *Salmonella* mutagenicity assay. *Mutat Res* 455: 29-60.
- Moraes RM, Filho PRS, Carvalho M, Nogueira ML e Barbosa S (2015) Effects of copper on physiological and cytological aspects in *Lactuca sativa* L.. *R Bras Bioci* 13:115-121.
- Matsumoto ST e Marin-Morales MA (2004). Mutagenic potential evaluation of the water of a river that receives tannery effluent using the *Allium cepa* test system. *Cytologia*, 69, 399-408.
- Moulis JM e Thévenod F (2010) New perspectives in cadmium toxicity: an introduction. *Biomaterials* 23:763-768.
- Moura MSB, Galvêncio JD, Brito LTL, Souza LSB, Sá IIS, Silva TGF (2007) Clima e água de chuva no Semi-Árido. In: Brito LTL, Moura MSB, Gama GFB. *Potencialidades da água de chuva no Semi-Árido brasileiro*. 1 edição. Petrolina: Embrapa Semiárido, 1:37-59.
- Nascimento CES (2001) A Importância das Matas Ciliares do rio São Francisco. Petrolina, PE: Embrapa Semi-Árido, 29p.
- Nefic H, Musanovic J, Metovic A e Kurteshi K (2013) Chromosomal Nuclear Alterations in Root Tip Cells of *Allium cepa* L. Induced by Alprazolam. *Med Arh* 67:388-392.
- Nematshahi N, Lahouti M e Ganjeali A (2012) Accumulation of chromium and its effect on growth of (*Allium cepa* cv. Hybrid). *J Exp Biol* 2:969-974.
- Neves ESB, Ferreira PMP, Lima LHGML e Peron AP (2014) Action of Aqueous Extracts of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) leaves on Meristematic Root Cells of *Allium cepa* L. *An Acad Bras Cienc* 86:1131-1136.
- Nielsen E, Ostergaard G e Larsen JC (2008) *Toxicological Risk Assessment of Chemicals: A Practical Guide*. 1ª edição, CRC Press, New York, 448 p.
- Nunes FG e Amin MM (2008) Água: um bem econômico de valor para o Brasil e o mundo. *Rev Bras Gest Des Reg* 4:75-108.
- Olive PL e Banath JP (2006) The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nat Protoc* 1:23-29.

- Oliveira CN, Campos VP e Medeiros YDP (2010) Avaliação e identificação de parâmetros importantes para a qualidade de corpos d'água no semiárido Baiano. Estudo de caso: Bacia Hidrográfica do Rio Salitre. Quim Nova 33:1059-1066.
- Oliveira JPW, Santos RN, Pibernat CC e Boeira JC (2012) Genotoxicity and Physical Chemistry Analysis of waters from Sinos River (RS) using *Allium cepa* and *Eichhornia crassipes* as bioindicators. Biochem Biotechnol Rep 1:15-22.
- Oliveira LM, Voltolini JC e Barbério A (2011) Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste *Allium cepa*. Amb-Água 6:90-103.
- Oliveira UR, Souza TJ, Oliveira LC e Amorim MCC (2015) Caracterização e georreferenciamento das interconexões de esgoto no sistema de drenagem de águas pluviais na área urbana em Juazeiro-BA In: I Congresso Brasileiro de Educação Ambiental Interdisciplinar 18p.
- Olorunfemi DI, Ogieseri UM e Akinboro A (2011) Genotoxicity Screening of Industrial Effluents using Onion bulbs (*Allium cepa* L.). J Appl Sci Environ Manag 15:211-216.
- Onwuamah CK, Ekama SO, Audu RA, Ezechi OC, Poirier MC e Odeigah PGC (2014) Exposure of *Allium cepa* Root Cells to Zidovudine or Nevirapine Induces Cytogenotoxic Changes. Plos One 9:1-7.
- Ortega AC e Sobel TF (2010) Desenvolvimento territorial e perímetros irrigados: avaliação das políticas governamentais implantadas nos perímetros irrigados Bebedouro e Nilo Coelho em Petrolina (PE). Planejamento e Políticas Públicas 35:87-118.
- Osibanjo O, Daso AP e Gbadebo AM (2011) The impact of industries on surface water quality of River Ona and River Alaro in Oluyole Industrial Estate, Ibadan, Nigeria. Afr J Biotechnol 10:696-702.
- Ossana NA e Salibián A (2013) Micronucleus test for monitoring the genotoxic potential of the surface water of Luján River (Argentina) using erythrocytes of *Lithobates catesbeianus* tadpoles. Ecotoxicol Environ Contam 8:67-74.
- Palácio SM, et al. (2005) Correlation between Heavy Metal Ions (Copper, Zinc, Lead) Concentrations and Root Length of *Allium cepa* L. in Polluted River Water. Braz Arch Biol Technol 48:191-196.
- Parron LM, Muniz DHF e Pereira CM (2011) Manual de procedimentos de amostragem e análise físico química de água. Embrapa Florestas, Colombo-PR, 69 pp.
- Parry EM et al. (2002) Detection and characterization of mechanisms of action of aneugenic chemicals. Mutagenesis 17:509-521.
- Pathiratne A, Hemachandra CK e Silva N (2015) Efficacy of *Allium cepa* test system for screening cytotoxicity and genotoxicity of industrial effluents originated from different industrial activities. Environ Monit Assess 187:730.
- Patra M, Bhowmik N, Bandyopadhyay B e Sharma A (2004) Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environ Exp Bot 52:199-223.
- Pekey H, Karakas D e Bakoglu M (2004) Source apportionment of trace metals in surface waters of a polluted stream using multivariate statistical analyses. Mar Pollut Bull 49:809-818.
- Pereira RS (2004) Poluição hídrica: Causas e Consequências. Revista eletrônica de recursos hídricos 1:20-36.

- Pereira, I.F.M. (2015) Genotoxicidade ambiental no açude Entremontes (Parnamirim, Pernambuco) mediante bioensaios com *Allium cepa*. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Colegiado de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Vale São Francisco, Petrolina, 2015.
- Peres JM. (2012) Avaliação da qualidade da água do Rio São Francisco nos municípios de Petrolina-PE e Juazeiro-BA. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pernambuco 96p.
- Piedras SRN, Bager A, Moraes PRR, Isoldi LA, Ferreira OGL e Heemann C. (2006) Macroinvertebrados bentônicos como indicadores de qualidade de água na Barragem Santa Bárbara, Pelotas, RS, Brasil. Ciênc Rural 36:494-500.
- Ping KY, Darah I, Yusuf UK, Yeng C e Sasidharan S (2012) Genotoxicity of *Euphorbia hirta*: An *Allium cepa* Assay. Molecules 17:7782-7791.
- Pinheiro FA e Adissi PJ (2014) Pesticides Exposure: The Case of Workers on Growing Grapes in San Francisco Valley, Petrolina/Brazil. Agricultural Sciences 5:805-812.
- Piveli RP e Kato MT (2005) Qualidade das águas e poluição: aspectos físico-químicos. São Paulo, Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 285pp.
- Qin R, Wang C, Chen D, Bjorn LO e Li S (2015) Copper-induced root growth inhibition of *Allium cepa* var. *Agrogarum* L. involves disturbances in cell division and DNA damage. Environ Toxicol Chem 34:1045-1055.
- Quevedo CMG e Paganini WS (2011) Impactos das atividades humanas sobre a dinâmica do fósforo no meio ambiente e seus reflexos na saúde pública. Ciênc Saúde Colet 16:3529-3539.
- Rank J e Nielsen MH (1993) A modified Allium test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. Hereditas 18:49-53.
- Reza R e Singh G (2010) Heavy metal contamination and its indexing approach for river water. Int J Environ Sci Tech 7:785-792.
- Ribeiro EV, Junior APM, Horn AH e Trindade WM (2012) Metais pesados e qualidade da água do Rio São Francisco no segmento entre Três Marias e Pirapora - MG: Índice de Contaminação. Geonomos 20:49-63.
- Rim KT e Kim SJ (2015) A Review on Mutagenicity Testing for Hazard Classification of Chemicals at Work: Focusing on in vivo Micronucleus Test for Allyl Chloride. Safety and Health at Work 6:184-191.
- Rode HJ (2008) Apoptosis, Cytotoxicity and Cell Proliferation. 4ª edição, Roche Diagnostics GmbH, 186pp.
- Rodrigues GS, Silva AS, Buschinelli CCA, Rosso CRS de, Carbinatto M, Souza Tde, Moriconi W e Paiva WF (2004) Diagnóstico Ambiental das Fontes Pontuais de Poluição das Águas nas Bacias Hidrográficas do Norte de Minas e do Submédio São Francisco. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 42pp.
- Rodrigues NLiz, Vendramin B, Urivald P. (2007). Testes de toxicidade aguda através de bioensaios no extrato solubilizado dos resíduos classe II A - não inertes e classe II B - inertes. Enge San e Ambien 12: 8-16.
- Rodrigues LCdeA, Barbosa S, Pazin M, Maselli BdeS, Beijo LA e Kummrow F (2013) Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. Rev Bras Eng Agríc Ambient 17:1099-1108.
- Saeed MS e Shaker IM (2008) Assessment of heavy metals pollution in water and sediments and their effect on *Oreochromis niloticus* in the northern delta lakes, Egypt. In: 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 475-490.

- Sakly A, Ayed Y, Chaari N, Akrouf M, Bacha H e Cheikh HB (2013) Assessment of chromosomal aberrations and micronuclei in peripheral lymphocytes from tunisian hospital workers exposed to ionizing radiation. *Genet Test Mol Biomarkers* 650-655.
- Salomons W, Brils J (Ed.). Contaminated sediments in European river basins. Final version, December 29th, 2004. European Sediment Research Network (SedNet). EC contract no.: EVK1- CT -2001-20002, www.SedNet.org.
- Samiei M, Asgary S, Farajzadeh M, Bargahi N, Abdolrahimi M, Kananizadeh U, Dastmalchi S (2015) Investigating the Mutagenic Effects of Three Commonly Used Pulpotomy Agents Using the Ames Test. *Adv Pharm Bull* 5:121-125.
- Sampaio FG, Boijink CL e Rantin FT (2013) O Uso do Sulfato de Cobre em Ecossistemas Aquáticos: fatores que afetam sua toxicidade em peixes de água doce. *Jaguariúna: Embrapa, Série Documentos*.
- Shanbehzadeh S, Dastjerdi MV, Hassanzadeh A e Kiyanzadeh T (2014) Heavy Metals in Water and Sediment: A Case Study of Tembi River. *J Environ Public Health* 5p.
- Shanker AK, Cervantes C, Loza-Tavera H e Avudainayagam S (2005) Chromium toxicity in plants. *Environ Int* 31:739-753.
- Sharma A e Dhiman A (2013) Nickel and Cadmium toxicity in plants. *J Pharm Sci* 2:20-24.
- Silva J, Heuser V e Andrade, V (2003a) Biomonitoramento Ambiental. In: Silva J.; Erdtmann B e Henriques JAP(eds) *Genética Toxicológica*. Porto Alegre: Alcançe 166-180p.
- Silva Jda, Erdtmann B e Henriques JAP (2003b) *Genética Toxicologia*. Porto Alegre, Alcançe 424p.
- Silva DJ, Galvíncio JD, Almeida HRRC (2010) A qualidade de água na totalidade da bacia hidrográfica do Rio São Francisco e suas causas. *Engenharia Ambiental* 7:133-151.
- Silva RMG, Amaral EA, Moraes VMO e Silva LP (2013) Determination of heavy metals and genotoxicity of water from an artesian well in the city of Vazante MG, Brazil. *Afr J Biotechnol* 12:6938-6943.
- Silva SRG, Martins JL, Seixas S, Silva DCG, Lemos SPP e Lemos PVR (2010) Defeitos congênitos e exposição a agrotóxicos no Vale do São Francisco. *Rev Bras Ginecol Obstet* 33:20-26.
- Singh R, Gautam N, Mishra A e Gupta R (2011) Heavy metals and living systems: An overview . *Indian J Pharmacol* 43: 246-253.
- Siqueira-Filho, J. A. *et al* (2013) Flora das Caatingas do Rio São Francisco. In: Siqueira- Filho, J. A. (Org.) *Flora das Caatingas do Rio São Francisco: História natural e conservação*. 1ª edição. Rio de Janeiro. Andrea Jakobsson Estúdio Editorial 1:446-542.
- Smaka-Kincl V, Stegnar P, Lovka M e Toman, MJ (1996) The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. *Mut Res* 368:171-179.
- Sodré FF (2012) Fontes difusas de poluição da água: características e métodos de controle. Brasília: Grupo de Automação, Quimiometria e Química Ambiental 1:9-16.
- Soni S, Salhotra A e Suar M (2015) Handbook of Research on Diverse Applications of Nanotechnology in Biomedicine, Chemistry, and Engineering 820p.

- Soumya KR1, Teena MT1, Sudha S (2016) Evaluation of cytotoxic effects of synthetic pesticide “attack” on root meristems of *Allium cepa* L. South Indian Journal Of Biological Sciences 2:35-40.
- Steinkellner H, Mun-Sik K, Helma C, Ecker S, Ma TH, Horak O, Kundi M e Knasmuller S (1998) Genotoxic effects of heavy metals: Comparative investigation with plant bioassays. Environ and Mol Mutagen 3:183-191.
- Suares PR *et al* (2010) Changes in toxicity and dioxin-like activity of sediments from the Tietê River (São Paulo, Brazil). Ecotoxicol Environ Saf 73: 550-558.
- Speit G e Rothfuss A (2012) The Comet Assay: A Sensitive Genotoxicity Test for the Detection of DNA Damage and Repair DNA Repair. Protocols Methods in Molecular Biology 920:79-90.
- Tchounwou PB, Yedjou GC, Patlolla AK, e Sutton DJ (2002) Heavy Metals Toxicity and the Environment. Molecular, Clinical and Environmental Toxicology, of the series Experientia Suppl 101:133-164.
- Tedesco SB e Laughinghouse HD (2012) Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. Environ Contam 137:157.
- Teena MT, Soumya KR e Sudha K.S (2016) Cytotoxic effect of sewage effluent on root tip cells of *Allium cepa* L. South Indian J Biol Sci. 2:18-23.
- Teixeira *et al.* (2014) Escassez de água: Cada gota é preciosa. Em Discussão 29p.
- Tejs S (2008) The Ames test: a methodological short review. Environ Biotechnol 4:7-14.
- Thorstensen T (1997) Pollution Prevention and Control for Small Tanneries. Jalc 92:245-255.
- Tundisi JG (2006) Novas perspectivas para a gestão de recursos hídricos. Revista USP 70: 24-35.
- Tundisi JG (2008) Water Resources in the Future: Problems and Solutions. Estud Av 22:7-16.
- Ukaegbu MC e Odeigah PGC (2009) The Genotoxic Effect of Sewage Effluent on *Allium Cepa*. Report and Opinion 1:36-41.
- Vargas VMF, Migliavacca SB, Horn RC e Terra NR (2008) Comparative temporal ecotoxicological study in a river basin influenced by petrochemical industries. Science total Environ 392:79-92.
- Ventura MD, Angelis DF e Marin-Morales MA (2008) Mutagenic and genotoxic effects of the Atrazine herbicide in *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae) detected by the micronuclei test and the comet assay. Pestic Biochem Physiol 90:42-51.
- VINHOVASF. Instituto do Vinho do Vale do São Francisco (2011) <http://www.vinhovasf.com.br/site/arquivos/NotasTecnicas.pdf> (20 de dezembro de 2016)
- Vital TA, Moller HD, Favero LA, Sampaio YSB e Silva E (2011) A fruticultura de exportação do Vale do São Francisco e a crise econômica: Efeitos sobre a convenção coletiva de trabalho 2009-2010. RAMA 4:365-390.
- Volders MK, Decordier I, Elhajouji A, Plas G, Aardema MJ e Fenech M (2011) In vitro genotoxicity testing using the micronucleus assay in cell lines, human lymphocytes and 3D human skin models Mutagenesis 26:177-184, 2011.
- WHO, 1998. Environmental Health Criteria 200: Copper. World Health Organization, Geneva.
- Wierzbicka M e Obidzinska J (1998) The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. Plant Science 137:155-171.

- Wuana RA e Okieimen FE (2011) Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation ISRN Ecology 20 p.
- Yildiz M, Cigerci IH, Konuk M, Fidan FA e Terzi H (2009) Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. Chemosphere 75:934-938.
- Zegura B, Heath E, Cernosa A e Filipic M (2009) Combination of in vitro bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples. Chemosphere 75:1453-1460.
- Zellhuber A e Siqueira R (2007) Rio São Francisco em descaminho: degradação e revitalização. Caderno Seas 227:7-34.

ANEXOS

Anexo 1. Alterações cromossômicas encontradas em células meristemáticas de *Allium cepa* L., após exposição às amostras de água coletadas em uma área de amostragem do rio São Francisco [Área 1 (efluente urbano-agrícola)], durante as estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016)

Área 1/ Água							
Estação de Estiagem							
Tratamentos	MN	QC	BN	CB	C-met	PC	PT
CN	0,15 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,08	0,02 ± 0,06
MMS	0,88 ± 0,42	0,01 ± 0,04	0,12 ± 0,18	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,27	0,08 ± 0,09
Trifluralina	0,47 ± 0,36	0,02 ± 0,06	0,38 ± 0,43	0,04 ± 0,14	0,02 ± 0,09	0,14 ± 0,15	0,10 ± 0,11
Montante	0,39 ± 0,29	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,19	0,01 ± 0,05	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,06	0,01 ± 0,05
Efluente	0,66 ± 0,38	0,03 ± 0,10	0,18 ± 0,16	0,04 ± 0,11	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,20	0,05 ± 0,10
Jusante	0,58 ± 0,46	0,00 ± 0,00	0,23 ± 0,27	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,10	0,05 ± 0,10
Estação Chuvosa							
CN	0,21 ± 0,18	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,16	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,07	0,04 ± 0,10
MMS	1,08 ± 0,71	0,03 ± 0,10	0,34 ± 0,44	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,19 ± 0,22	0,07 ± 0,10
Trifluralina	0,23 ± 0,20	0,05 ± 0,16	0,26 ± 0,28	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,06	0,01 ± 0,05
Montante	0,59 ± 0,36	0,02 ± 0,08	0,19 ± 0,22	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,09	0,07 ± 0,15
Efluente	0,58 ± 0,39	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,24	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,15	0,06 ± 0,12
Jusante	0,26 ± 0,20	0,00 ± 0,00	0,14 ± 0,15	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,10 ± 0,14	0,02 ± 0,06

Legenda: CN - Controle negativo (Água Ultrapura); CP - Controle Positivo (MMS – Metanometilsulfonato; MN: Micronúcleo; QC: Quebra cromossômica; BN: Broto Nuclear; CB: Célula Binucleada; C-met: C-metáfase; PC: Perda cromossômica; PT: Ponte Cromossômica. Médias em negrito indicam significância ($p < 0,05$) em comparação ao CN pelo teste Tukey ($p < 0,05$) ou Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Anexo 2. Alterações cromossômicas encontradas em células meristemáticas de *Allium cepa* L., após exposição às amostras de sedimento coletadas em uma área de amostragem do rio São Francisco [Área 1 (efluente urbano-agrícola)], durante as estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016)

Área 1/ Sedimento							
Estação de Estiagem							
Tratamento	MN	QC	BN	CB	C-MET	PC	PT
CN	0,15 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,08	0,02 ± 0,06
MMS	0,88 ± 0,42	0,01 ± 0,04	0,12 ± 0,18	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,27	0,08 ± 0,09
Trifluralina	0,47 ± 0,36	0,02 ± 0,06	0,38 ± 0,43	0,04 ± 0,14	0,02 ± 0,09	0,14 ± 0,25	0,10 ± 0,11
Montante	0,78 ± 0,57	0,02 ± 0,09	0,07 ± 0,11	0,01 ± 0,04	0,01 ± 0,05	0,06 ± 0,10	0,00 ± 0,00
Efluente	0,54 ± 0,57	0,04 ± 0,11	0,16 ± 0,14	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,05	0,14 ± 0,26	0,05 ± 0,11
Jusante	0,53 ± 0,41	0,06 ± 0,11	0,17 ± 0,21	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,09	0,00 ± 0,00
Estação Chuvosa							
CN	0,21 ± 0,18	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,16	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,07	0,04 ± 0,10
MMS	1,08 ± 0,71	0,03 ± 0,10	0,34 ± 0,44	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,19 ± 0,22	0,07 ± 0,10
Trifluralina	0,23 ± 0,20	0,05 ± 0,16	0,26 ± 0,28	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,06	0,01 ± 0,05
Montante	0,47 ± 0,45	0,01 ± 0,04	0,20 ± 0,24	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,08 ± 0,16	0,04 ± 0,10
Efluente	0,54 ± 0,46	0,03 ± 0,09	0,20 ± 0,27	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,10
Jusante	0,68 ± 0,68	0,00 ± 0,00	0,21 ± 0,30	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,09 ± 0,18	0,03 ± 0,09

Legenda: CN - Controle negativo (Água Ultrapura); CP - Controle Positivo (MMS – Metanometilsulfonato; MN: Micronúcleo; QC: Quebra cromossômica; BN: Broto Nuclear; CB: Célula Binucleada; C-met: C-metáfase; PC: Perda cromossômica; PT: Ponte Cromossômica. Médias em negrito indicam significância ($p < 0,05$) em comparação ao CN pelo teste Tukey ($p < 0,05$) ou Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Anexo 3. Alterações cromossômicas encontradas em células meristemáticas de *Allium cepa*, após exposição às amostras de água coletadas em uma área de amostragem do rio São Francisco [Área 2 (efluente urbano-industrial)], durante as estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016)

Área 2/ Água							
Estação de Estiagem							
Tratamento	MN	QC	BN	CB	C-met	PC	PT
CN	0,15 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,08	0,02 ± 0,06
MMS	0,88 ± 0,42	0,01 ± 0,04	0,12 ± 0,18	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,27	0,08 ± 0,09
Trifluralina	0,47 ± 0,36	0,02 ± 0,06	0,38 ± 0,43	0,04 ± 0,14	0,02 ± 0,09	0,14 ± 0,25	0,10 ± 0,11
Montante	0,25 ± 0,24	0,06 ± 0,15	0,09 ± 0,11	0,02 ± 0,06	0,00 ± 0,00	0,09 ± 0,16	0,06 ± 0,09
Efluente	0,28 ± 0,39	0,06 ± 0,18	0,13 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,06	0,01 ± 0,05	0,04 ± 0,07
Jusante	0,56 ± 0,39	0,01 ± 0,05	0,14 ± 0,18	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,05	0,07 ± 0,09	0,05 ± 0,08
Estação Chuvosa							
CN	0,21 ± 0,18	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,16	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,07	0,04 ± 0,10
MMS	1,08 ± 0,71	0,03 ± 0,10	0,34 ± 0,44	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,19 ± 0,22	0,07 ± 0,10
Trifluralina	0,23 ± 0,20	0,05 ± 0,16	0,26 ± 0,28	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,06	0,01 ± 0,05
Montante	0,20 ± 0,25	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,15	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,16	0,04 ± 0,11
Efluente	0,44 ± 0,30	0,00 ± 0,00	0,10 ± 0,22	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,13	0,10 ± 0,18
Jusante	0,55 ± 0,42	0,02 ± 0,06	0,09 ± 0,14	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,15	0,07 ± 0,11

Legenda: CN - Controle negativo (Água Ultrapura); CP - Controle Positivo (MMS – Metanometilsulfonato; MN: Micronúcleo; QC: Quebra cromossômica; BN: Broto Nuclear; CB: Célula Binucleada; C-met: C-metáfase; PC: Perda cromossômica; PT: Ponte Cromossômica. Médias em negrito indicam significância ($p < 0,05$) em comparação ao CN pelo teste Tukey ($p < 0,05$) ou Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Anexo 4. Alterações cromossômicas encontradas em células meristemáticas de *Allium cepa*, após exposição às amostras de sedimento coletadas em uma área de amostragem do rio São Francisco [Área 2 (efluente urbano-industrial)], durante as estações de estiagem (agosto/2015) e chuvosa (março/2016)

Área 2/ Sedimento							
Estação de Estiagem							
Tratamento	MN	QC	BN	CB	C-MET	PC	PT
CN	0,15 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,08	0,02 ± 0,06
MMS	0,88 ± 0,42	0,01 ± 0,04	0,12 ± 0,18	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,27	0,08 ± 0,09
Trifluralina	0,47 ± 0,36	0,02 ± 0,06	0,38 ± 0,43	0,04 ± 0,14	0,02 ± 0,09	0,14 ± 0,25	0,10 ± 0,11
Montante	0,76 ± 0,97	0,02 ± 0,10	0,26 ± 0,31	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,10	0,06 ± 0,09
Efluente	0,35 ± 0,35	0,02 ± 0,09	0,10 ± 0,27	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,08	0,09 ± 0,17	0,05 ± 0,11
Jusante	0,24 ± 0,24	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,07	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,05 ^a	0,08 ± 0,11	0,00 ± 0,00
Estação Chuvosa							
CN	0,21 ± 0,18	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,16	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,07	0,04 ± 0,10
MMS	1,08 ± 0,71	0,03 ± 0,10	0,34 ± 0,44	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,19 ± 0,22	0,07 ± 0,10
Trifluralina	0,23 ± 0,20	0,05 ± 0,16	0,26 ± 0,28	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,06	0,01 ± 0,05
Montante	0,65 ± 0,46	0,01 ± 0,04	0,41 ± 0,46	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,20	0,05 ± 0,08
Efluente	0,96 ± 0,71	0,12 ± 0,34	0,24 ± 0,28	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,14 ± 0,25	0,05 ± 0,08
Jusante	1,26 ± 0,88	0,06 ± 0,16	0,36 ± 0,42	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,12 ± 0,16	0,07 ± 0,13

Legenda: CN - Controle negativo (Água Ultrapura); CP - Controle Positivo (MMS – Metanometilsulfonato; MN: Micronúcleo; QC: Quebra cromossômica; BN: Broto Nuclear; CB: Célula Binucleada; C-met: C-metáfase; PC: Perda cromossômica; PT: Ponte Cromossômica. Médias em negrito indicam significância ($p < 0,05$) em comparação ao CN pelo teste Tukey ($p < 0,05$) ou Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

CURRICULO LATTES

Ilka Fernanda Mendes Pereira

Curriculum Vitae

Dados pessoais

Nome Ilka Fernanda Mendes Pereira
Filiação João Mendes Ferreira e Aldina Pereira de Carvalho Ferreira
Nascimento 25/09/1992 - Brasil

Formação acadêmica/titulação

- 2015** Mestrado em Programa de Pós Graduação em Genética.
Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Universidade Federal de Pernambuco, FADE/UFPE, Recife, Brasil
Título: Genotoxicidade como parâmetro de monitoramento ambiental do Rio São Francisco no polo Petrolina (PE)/ Juazeiro (BA).
Orientador: Ana Christina Brasileiro Vidal
Co-orientador: Kyria Cilene de Andrade Bortoleti
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco
- 2010 - 2015** Graduação em Ciências Biológicas.
Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil
Título: GENOTOXICIDADE AMBIENTAL NO AÇUDE ENTREMONTES (PARNAMIRIM, PERNAMBUCO) MEDIANTE BIOENSAIOS COM *Allium cepa* L.
Orientador: Kyria Cilene de Andrade Bortoleti
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 2007 - 2009** Ensino Médio (2o grau) .
Colégio da Polícia Militar-Alfredo Vianna, CPM, Brasil

Formação complementar

- 2015 - 2015** Curso de curta duração em Genética Forense. (Carga horária: 4h).
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2015 - 2015** Curso de curta duração em Técnicas de biologia molecular aplicados em estudos genéticos. (Carga horária: 4h).
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2014 - 2014** Curso de curta duração em Introdução a Ecotoxicologia aquática. (Carga horária: 6h).
Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia, SETAC BRASIL, Sao Paulo, Brasil
- 2013 - 2013** Curso de curta duração em Mutagênese (Sistema - teste *Allium cepa* L.). (Carga horária: 40h).
Laboratório de Genética e Biologia Vegetal, LGBV, UFPE, Brasil
- 2013 - 2013** Curso de curta duração em Citogenética Aplicada a Mamíferos Silvestres. (Carga horária: 8h).

	Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil
2013 - 2013	Curso de curta duração em Utilizando a genética para resolver problemas do dia a dia. (Carga horária: 8h). Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil
2012 - 2012	Curso de curta duração em Sequenciamento e Análise de Fragmento. (Carga horária: 4h). Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil
2012 - 2012	Curso de curta duração em I Minicurso Interdisciplinar de Educação Ambiental. (Carga horária: 18h). Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil
2012 - 2012	Curso de curta duração em “Estudos Citogenéticos como Ferramentas para Conservação Biológica”. (Carga horária: 8h). Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil
2011 - 2011	Curso de curta duração em Diabetes mellitus, uma velha doença com novos problemas. (Carga horária: 4h). Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil
2011 - 2011	Curso de curta duração em Métodos de Avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais. (Carga horária: 12h). Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil
2010 - 2010	Curso de curta duração em Sequenciamento de DNA para análise da biodiversidade. (Carga horária: 12h). Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil

Atuação profissional

1. Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF

Vínculo institucional

2014 - 2015	Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Bolsista Iniciação Científica- CNPQ , Carga horária: 20, Regime: Parcial Outras informações: Desenvolveu durante um semestre o projeto intitulado " Aplicação do teste de micronúcleo em <i>Astyanax bimaculatus</i> como parâmetro de monitoramento de qualidade ambiental no açude Entremontes (município de Parnamirim Pernambuco).
2013 - 2013	Vínculo: Monitor , Enquadramento funcional: Monitor Remunerado , Carga horária: 12, Regime: Parcial Outras informações: Disciplina: Citogenética
2013 - 2014	Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Bolsista de Iniciação Científica, CNPQ , Carga horária: 20, Regime: Parcial Outras informações: Título do Projeto: "Avaliação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico da água do açude Entremontes, município de Parnamirim (Pernambuco), na Bacia do Rio Brígida mediante testes <i>Allium cepa</i> L.."

2. Centro de Manejo de Fauna da Caatinga - CEMA FAUNA

Vínculo institucional

2013 - 2014 Vínculo: Estagiário Voluntário , Enquadramento funcional: Estagiário Voluntário , Carga horária: 20, Regime: Parcial

2012 - 2013 Vínculo: Estagiário , Enquadramento funcional: Estagiário , Carga horária: 20, Regime: Parcial

Outras informações:
Estagiaria voluntária no laboratório de Citogenética situado no Núcleo de Ecologia Molecular do Centro de Manejo e Fauna da Caatinga, desenvolvendo atividades de análise citogenética de vegetais (família Cactaceae) e animais (família Tropiduridae).

Projetos

Projetos de pesquisaProjetos de pesquisa**2015 - Atual** Genotoxicidade como parâmetro de monitoramento ambiental do rio São Francisco no Polo Petrolina (PE)/Juazeiro (BA)

Descrição: A Bacia Hidrográfica do rio São Francisco, conhecido como o rio da Integração Nacional, apresenta uma grande dimensão territorial e encontra-se dividida em quatro regiões: Alto, Médio, Submédio e Baixo São Francisco. Dentre estas, o Submédio São Francisco destaca-se como a segunda maior região e abrange 218 municípios, entre eles Petrolina (PE) e Juazeiro (BA), onde apresenta uma relevância história, social e econômica incontestável. Nestes municípios, um elevado grau de antropização tem sido ressaltado, devido a crescente urbanização, expansão das indústrias e agricultura irrigada, o que resulta na produção de uma carga potencial poluente advinda de efluentes de curtumes, resíduos urbanos e agrícolas com especial referência aos perímetros irrigados para produção de frutas com fins de exportação. Considerando que os ensaios de genotoxicidade com organismos vegetais têm sido utilizados como bioindicadores para a avaliação de contaminantes ambientais, e em particular poluentes aquáticos, o presente projeto visa realizar uma investigação do potencial tóxico, citotóxico, genotóxico e mutagênico de possíveis contaminantes presentes na água e sedimento do rio São Francisco (Polo Petrolina/Juazeiro), mediante a utilização de bioensaios genéticos com o organismo teste *Allium cepa*, correlacionando-o com o perfil físico e químico da água, perfil qualitativo e quantitativo de metais presentes na água e sedimento, para fins de diagnóstico e monitoramento da qualidade ambiental.

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (2); Mestrado acadêmico (1);

Integrantes: Ilka Fernanda Mendes Pereira; DRAULIO COSTA DA SILVA; KYRIA CILENE DE ANDRADE BORTOLETI (Responsável)

2014 - Atual Aplicação do teste de micronúcleo em *Astyanax bimaculatus* como parâmetro de monitoramento de qualidade ambiental no açude Entremontes (município de Parnamirim, Pernambuco)

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1);

Integrantes: Ilka Fernanda Mendes Pereira; DRAULIO COSTA DA SILVA; ANA CHRISTINA BRASILEIRO-VIDAL; KYRIA CILENE DE ANDRADE BORTOLETI (Responsável)

2013 - Atual Avaliação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico da água em reservatórios da Bacia do Rio Brígida (Estado de Pernambuco) como indicador de qualidade ambiental

Descrição: Atualmente, as descargas de efluentes domésticos, agrícolas e industriais são apontadas como a principal fonte de poluição ambiental, destacando-se uma grande diversidade de compostos químicos persistentes. Estes podem causar danos ao DNA dos organismos expostos, como as quebras das fitas do DNA, alterações na replicação e transcrição do DNA, alterações nas fibras do fuso acromático e formações de micronúcleos. O aumento da exposição ambiental aos agentes químicos potencialmente tóxicos tem propiciado um maior interesse no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos e terrestres. Neste intuito, o sistema-teste *Allium cepa* L. tem sido aplicado rotineiramente como um ensaio eficiente em curto prazo para a avaliação de poluentes ambientais, e em particular, poluentes aquáticos, mediante o teste de micronúcleo e aberrações

cromossômicas, mostrando-se eficiente na avaliação de inseticidas, herbicidas, metais-traço, derivados de petróleo e aditivos alimentares, comprovando a sua eficiência e versatilidade como organismo teste. Logo, o presente projeto visa realizar uma investigação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico da água em reservatórios na Bacia do Rio Brígida (Pernambuco), receptores de efluentes domésticos, industriais e agrícolas, mediante o bioensaio com o sistema *Allium cepa* L. como parâmetro de monitoramento da qualidade ambiental..

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1);

Integrantes: Ilka Fernanda Mendes Pereira; Kyria Cilene de Andrade Bortoleti (Responsável); Draulio Costa da Silva

Áreas de atuação

1. Mutagênese Ambiental
2. Biologia Celular e Molecular
3. Citogenética
4. Genética Vegetal
5. Biotecnologia Vegetal

Produção

Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. SIQUEIRA, E. A.; **PEREIRA, I. F. M.**; MALTA, F. Q.; SOUZA, V. C.; SILVA, M. V.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C. ASSESSMENT OF THE CYTOTOXIC AND GENOTOXIC POTENTIAL OF *Eugenia brejoensis* MAZINE ESSENTIAL OIL, A POSSIBLE BIOPESTICIDE, USING THE *Allium cepa* L. SYSTEM. In: XII Congresso da MutaGen - Brasil, 2016, Campinas, SP. **Congresso da MutaGen-Brasil.** , 2016.
2. SANTOS, G. L. M. C.; **PEREIRA, I. F. M.**; SANTOS, C. S.; MOTTA, L. S.; SILVA, D. C.; BORTOLETI, K. C. A. Bioensaio com *Allium cepa* L. sugere efeito protetor do extrato etanólico de *Amburana cearensis* frente à ação genotóxica do Tween20. In: XXI Encontro de Genética do Nordeste, 2016, Recife. **Anais XXI Encontro de Genética do Nordeste.** , 2016.
3. SANTOS, C. S.; **PEREIRA, I. F. M.**; MOTTA, L. S.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; SILVA, D. C.; BORTOLETI, K. C. A. BIOENSAIO COM O SISTEMA-TESTE *Allium cepa* L. SUGERE TOXICIDADE EM AMOSTRAS DE ÁGUA COLETADAS NO RIO SÃO FRANCISCO (PETROLINA/PE) In: I Simpósio da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco, 2016, Juazeiro. **Simpósio da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco.** , 2016.
4. SANTOS, C. S.; BORTOLETI, K. C. A.; **PEREIRA, I. F. M.**; MOTTA, L. S.; SILVA, D. C. INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO DA ÁGUA DO RIO SÃO FRANCISCO (POLO PETROLINA/JUAZEIRO), RECEPTOR DE EFLUENTE INDUSTRIAL, MEDIANTE O SISTEMA-TESTE *Allium cepa* L In: IX Semana de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2016, Juazeiro. **Jornada de Iniciação Científica.** , 2016.
5. MOTTA, L. S.; **PEREIRA, I. F. M.**; SANTOS, C. S.; SILVA, D. C.; SILVA, P. T.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; BORTOLETI, K. C. A. Investigação do potencial tóxico e citogenotóxico da água açude Entremontes (Bacia do Rio Brígida, Estado de Pernambuco) mediante o bioensaio com *Allium cepa* L. In: XXI Encontro de Genética do Nordeste, 2016, Recife. **Anais Encontro de Genética do Nordeste.** , 2016.
6. **PEREIRA, I. F. M.**; SANTOS, C. S.; MOTTA, L. S.; SILVA, D. C.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.;

BORTOLETI, K. C. A. Potencial tóxico e citogenotóxico da água e sedimento coletados no rio São Francisco, Polo Petrolina (PE) / Juazeiro (BA), mediante bioensaio com *Allium cepa* L. In: XXI Encontro de Genética do Nordeste, 2016, Recife. **Anais XXI Encontro de Genética do Nordeste.** , 2016.

7. SANTOS, C. S.; **PEREIRA, I. F. M.**; MOTTA, L. S.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; SILVA, D. C.; BORTOLETI, K. C. A. POTENCIAL TÓXICO E CITOTÓXICO EM AMOSTRAS DE ÁGUA E SEDIMENTO COLETADAS NO RIO SÃO FRANCISCO (PETROLINA/PE) MEDIANTE BIOENSAIO COM *ALLIUM CEPA* L. In: XIV Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia – ECOTOX 2016, 2016, Curitiba. **Anais Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia.** , 2016.

8. **PEREIRA, I. F. M.**; SANTOS, C. S.; PEREIRA, I. F. M.; MOTTA, L. S.; NASCIMENTO, G. R. S.; BORTOLETI, K. C. A. Bioensaio com *Astyanax bimaculatus* sugere potencial citotóxico da água do açude entremontes (Parnamirim/PE) In: Semana Acadêmica de Biologia da UNIVASF, 2015, Juazeiro. **VI Semana Acadêmica de Biologia da UNIVASF.** , 2015.

9. **PEREIRA, I. F. M.**; SILVA, D. C.; ARAÚJO, S. S.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; BORTOLETI, K. C. A. Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico em amostras de água do açude Entremontes (Parnamirim /PE) mediante o bioensaio com *Allium cepa* L. In: Encontro de Genética do Nordeste, 2014, Campina Grande. **Encontro de Genética do Nordeste.** , 2014.

10. **PEREIRA, I. F. M.**; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; SILVA, D. C.; BORTOLETI, K. C. A. Avaliação Toxicológica Preliminar da água do Açude Entremontes (Município de Parnamirim, Estado de Pernambuco) In: XIII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia, 2014, Guarapari. **Genotoxicidade Ambiental.** , 2014.