



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Ilka Fernanda Mendes Pereira

GENOTOXICIDADE AMBIENTAL NO AÇUDE ENTREMONTES
(PARNAMIRIM, PERNAMBUCO) MEDIANTE BIOENSAIOS COM
Allium cepa L.

Petrolina

2015

ILKA FERNANDA MENDES PEREIRA

**GENOTOXICIDADE AMBIENTAL NO AÇUDE ENTREMONTES
(PARNAMIRIM, PERNAMBUCO) MEDIANTE BIOENSAIOS COM
Allium cepa L.**

Trabalho apresentado a Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, *Campus* de Ciências Agrárias, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof^a. Dr^a Kyria Cilene de Andrade Bortoleti
Coorientador: Prof^o. Dr^o Dráulio Costa da Silva

Petrolina

2015

P436g Pereira, Ilka Fernanda Mendes

Genotoxicidade ambiental no açude Entremontes (Parnamirim, Pernambuco) mediante bioensaios com *Allium cepa* L. / Ilka Fernanda Mendes Pereira. – Petrolina, 2015.

53 f.: il. 29 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina, 2015.

Orientadora: Profa. Dra. Kyria Cilene de Andrade Bortoleti.

1. Bioensaio. 2. Recurso Hídrico. 3. Monitoramento Ambiental. 4. Semiárido. I. Título. II. Título. Universidade Federal do Vale do São Francisco

CDD: 551.483098142

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

ILKA FERNANDA MENDES PEREIRA

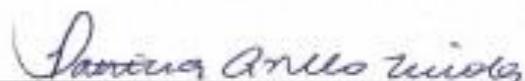
**GENOTOXICIDADE AMBIENTAL NO AÇUDE ENTREMONTES,
(PARNAMIRIM, PERNAMBUCO) MEDIANTE BIOENSAIOS COM *Allium cepa* L.**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas no Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovado em: 04 de Fevereiro de 2015



Dra. Kyria Cilene de Andrade Bortoleti – Orientadora
Universidade Federal do Vale do São Francisco



Dra. Patricia Avello Nicola – Primeira Examinadora
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Dra. Paula Tereza de Souza e Silva – Segunda examinadora
Embrapa Semiárido



Dra. Michely Correia Diniz – Suplente
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Aos meus pais, João e Aldina

Dedico...

AGRADECIMENTOS

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

Aos meus pais, **João e Aldina**, principais responsáveis pela minha educação, por serem exemplo de força, coragem, responsabilidade e determinação;

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 **Fernando Vanraj**, pelo apoio, companheirismo e palavras e, por todas as vezes que o fiz me levar até o Campus de Ciências Agrárias;

À **Kyria Bortoleti**, minha orientadora, exemplo de profissional e amiga, por dedicar muito do seu tempo e por ter me acolhido como filha científica. Tenho orgulho de ser sua orientanda;

Ao professor **Draulio Costa**, meu coorientador, pelas suas contribuições;

À professora **Patrícia Nicola**, por ser exemplo de profissional, buscando sempre o melhor para cada estagiário do Cemafauna;

Aos **meus colegas e amigos de curso**, biólogos e futuros biólogos, que caminharam comigo durante todos esses anos: Adriana, Alan, Amanda Cardoso, Amanda Guimarães, Amanda Luiza, Camila, Carol, Ellen, Helanio, Hellen, Isabella, Jéssica Giordano, Joana, Kézia, Malu, Marjorie, Michelle, Naiana, Paulinha, Samara, Sara, Talyta, Thaís, Uirá, Verenna e Viviane, muito obrigada;

Aos **colegas do laboratório de Genética e Citogenética**, Deborah, Jayane, Cinthia, Laysla, Palloma, Wanderly, Elianderson, pela torcida e apoio;

As biólogas do Cemafauna, **Vera Hude e Auriana** pelo apoio em campo e com as análises físicas e químicas;

A **Geiza**, por tantas contribuições nessa reta final do curso;

À **Universidade Federal do Vale do São Francisco**, pela contribuição à minha formação profissional;

Ao **Cemafauna**, por oferecer toda infraestrutura para realização deste trabalho;

Ao **CNPq**, pela bolsa concedida.

Muito obrigada!

RESUMO

O açude Entremontes (Parnamirim/PE), pertencente à Bacia do Rio Brígida, é considerado o segundo maior reservatório do estado, destacando-se pela sua utilização como fonte de abastecimento de água, prática da agricultura irrigada e piscicultura, servindo como fonte de renda e alimento para a população local. Diante deste cenário, o presente trabalho realizou uma investigação do potencial tóxico, citotóxico, genotóxico e mutagênico de possíveis contaminantes presentes neste açude mediante a utilização de bioensaios genéticos com o organismo teste *Allium cepa* L., correlacionando-os com o perfil físico e químico da água. Amostras de água foram coletadas superficialmente em dois afluentes do açude Entremontes (Ponto I e II) e no reservatório (Ponto III), contemplando as estações seca (Agosto/2013) e chuvosa (Abril/2014). Algumas variáveis físicas e químicas (temperatura, condutividade elétrica, totais de sólidos dissolvidos, salinidade, oxigênio dissolvido e pH) foram medidas *in situ* através de sonda portátil multiparâmetro. Recipientes plásticos contendo as amostras de água foram mantidos a 4 ± 2 °C e transportados para laboratório visando à análise química de nutrientes (Nitrito, Nitrato, Ortofosfato e Nitrogênio amoniacal) e ensaios genéticos. Cem sementes de *A. cepa* foram distribuídas em seis placas de Petri, sendo três expostas às amostras de água coletadas e três submetidas aos controles positivos [Trifluralina (0,84 ppm de princípio ativo) e MMS (metil metano-sulfonato, 4×10^{-4} Mv)] e negativo (água ultrapura). As raízes germinadas foram coletadas, medidas e fixadas em Carnoy. Para preparação das lâminas, as raízes foram lavadas, hidrolisadas em HCL 1N a 60 °C, coradas com reativo de Schiff e carmim acético 2%. Foram confeccionadas 10 lâminas por tratamento, sendo analisadas 500 células por lâmina, totalizando 5000 células por tratamento. O reservatório foi classificado, segundo a resolução CONAMA 357/2005, como açude de águas doce classe II. Entretanto, elevados teores de salinidade foram observados durante a estação seca, decorrente da variação sazonal influenciada pelas condições hidrológicas e climáticas naturais da região, como as altas taxas de evaporação que ocasionam o aumento da concentração de sais. Na estação seca, o índice de germinação e/ou variação no comprimento médio da raiz indicou potencial tóxico nos pontos coletados, podendo estar relacionado aos altos níveis de condutividade elétrica, totais sólidos dissolvidos e teores tóxicos de amônia decorrentes das descargas de efluentes urbanos e agrícolas nos pontos amostrados. Na estação chuvosa, foi observado potencial citotóxico (Ponto III) e genotóxico (Ponto I e III) por modificações no índice mitótico e índice de alteração cromossômica, enquanto que os parâmetros físicos e químicos apresentaram-se de acordo com a legislação ambiental vigente. Sugere-se que os potenciais citotóxicos e genotóxicos tenham sido ocasionados pela presença de micropoluentes orgânicos e inorgânicos não identificados neste estudo. Para ambas as estações, não foram observados efeitos mutagênicos. Tais resultados reiteram a importância dos bioensaios genéticos utilizando *A. cepa* como ferramenta eficaz e importante para programas de monitoramento ambiental, fornecendo subsídios na elaboração de programas de gestão socioambiental que visem à melhoria da qualidade da água e seu uso sustentável.

Palavras-chave: Bioensaio, Monitoramento ambiental, Recurso hídrico e Semiárido.

ABSTRACT

The Entremontes dike (Parnamirim County/PE) belongs to the River Brígida Basin and it is considered the second largest reservoir of the State, standing out by its usage as a source of water, irrigated agriculture practice and pisciculture, being a source of food and income for local population. In this scene, the present work aimed to perform an investigation of the toxic, cytotoxic, genotoxic and mutagenic potential of possible pollutants present in the reservoir through genetic bioassays with test organism *Allium cepa* L., correlating it with the water physicochemical profile. The water samples were collected using the method of superficial collection in two affluent of Entremontes (Sites I and II) and at the own reservoir (Site III). It was carried out in August 2013 and April 2014, at the dry and rainy seasons, respectively. Some physicochemical parameters (such as temperature, electrical conductivity, total dissolved solids, salinity, dissolved oxygen and pH) were measured in situ using a portable multi-parameter probe. The water samples were placed in plastic bottles, maintained at 4 ± 2 ° C and transported to the laboratory for chemical analysis (nitrite, nitrate, ammonia and orthophosphate) and genetic bioassays. One hundred seeds of *A. cepa* were distributed in six Petri dishes, three containing water from collection sites and three containing positive [Trifluralin (0.84 ppm of active principle) and MMS (methyl methane sulfonate, 4×10^{-4} mv)] and negative controls (ultrapure water). Root tips were collected, measured and fixed in Carnoy. For slide preparation, the root tips were washed in distilled water, hydrolysed in HCl 1N at 60 °C, incubated in Schiff's reagent, and stained with 2% acetic carmine. Ten slides were prepared per each treatment, where 500 cells from each slide were analyzed, totaling around 5000 cells analyzed per each treatment. The reservoir was classified, according to CONAMA Resolution 357/2005, as freshwater dike Class II. However, high salinity values were observed during the dry season, due to the seasonal variation influenced by the climatic and hydrological conditions observed in the region, such as high evaporation rates that cause increase in salt concentration. At dry season, the germination index and/or variation in the root mean length indicated a toxic potential in the collected sites, which it may be related to higher levels of electrical conductivity, dissolved solids and ammonia toxic levels, resulting from urban and agricultural effluents discharges in the sampled sites. At rainy season, it was observed cytotoxic (Site III) and genotoxic (Sites I and III) potential related to the changes in mitotic and chromosome alteration index, while physicochemical parameters showed accordance with the environment laws. We suggested that cytotoxic and genotoxic potential has been occasioned by the presence of inorganic and organic micro-pollutants not identified in this study. For both seasons, mutagenic effects were not observed. The results obtained here indicate that genetic bioassays using *A. cepa* are an important and effective tool for environmental monitoring, providing support for environmental management programs that improve water quality and its sustainable use.

Key-words: Bioassay, Environmental monitoring, Water resource, Semiarid.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|-----------|---|
| AC | Alterações Cromossômicas |
| APAC | Agência Pernambucana de Águas e Clima |
| APHA | American Public Health Association - Associação Americana de Saúde Pública |
| CE | Condutividade Elétrica |
| CEMAFAUNA | Centro de Conservação e Manejo de Fauna da Caatinga |
| CETESB | Companhia Ambiental do Estado de São Paulo |
| CONAMA | Conselho Nacional do Meio Ambiente |
| EC | Estação Chuvosa |
| ES | Estação Seca |
| IAC | Índice de Alterações Cromossômicas |
| IG | Índice de Germinação |
| IM | Índice Mitótico |
| IMt | Índice de Mutagenicidade |
| IPA | Instituto Agrônomo de Pernambuco |
| MMS | Metano Metil Sulfonato |
| MN | Micronúcleo |
| NECMOL | Núcleo de Ecologia Molecular |
| OD | Oxigênio Dissolvido |
| PI | Ponto I |
| PII | Ponto II |
| PIII | Ponto III |
| PISF | Projeto de Integração do Rio São Francisco com as Bacias Hidrográficas do Nordeste Setentrional |
| TDS | Totais de Sólidos Dissolvidos |
| UNIVASF | Universidade Federal do Vale do São Francisco |
| VCMR | Varição do Comprimento Médio das Raízes |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01 - Formação de micronúcleos. A. Formação de micronúcleo resultante de perda cromossômica proporcionada pela ação de uma substância aneugênica; B. Formação de micronúcleo pela ação de substância clastogênica que levam a quebra cromossômica. Fonte: Ilka Mendes (2014) adaptado de Marin-Morales et al., (2008).....23
- Figura 02 - Bombas de irrigação demonstrando a utilização da água do açude Entremontes para prática de agricultura irrigada. Fonte: Ilka Mendes (2014)26
- Figura 03 - Distribuição dos pontos de amostragem localizados em afluentes do açude Entremontes (Pontos I e II) e no próprio reservatório (Ponto III), ao longo da Bacia do Rio Brígida, no Estado de Pernambuco. Fonte: Vera Uhde (2014)27
- Figura 04 - Imagem do primeiro local de coleta (PI) , próximo a saída do município de Ouricuri/PE, cuja coordenada geográfica é 0379175-9125027 24m UTM. Fonte: Ilka Mendes (2014) 28
- Figura 05 - Imagem do segundo local de coleta (PII), em afluente do açude Entremontes (Município de Parnamirim/PE), cuja coordenada geográfica é 0379175-9125027 24m UTM. Fonte: Ilka Mendes (2014)29
- Figura 06 - Imagem do terceiro ponto de coleta (PIII) localizado no açude Entremontes (Município de Parnamirim/PE), cuja coordenada geográfica é 0379175-9125027 24m UTM. Fonte: Ilka Mendes (2014) 29
- Figura 07 - Alterações cromossômicas observadas em células meristemáticas de *A. cepa* utilizadas como parâmetros de genotoxicidade. A. Perda cromossômica; B. Ponte anafásica; C. Presença de micronúcleo.....37

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Localização geográfica dos três pontos de amostragem, bem como as variáveis físicas e químicas de cada ponto de coleta no açude Entremontes e afluentes amostrados durante a estação seca (Agosto/2013) e chuvosa (Abril/2014) 34

Tabela 02. Avaliação do teste de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade mediante o IG (índice de germinação), VCMR (variação do comprimento médio das raízes), IM (índice mitótico), IAC (índice de alterações cromossômicas) e IMt (índice de mutagenicidade) no sistema *Allium cepa* submetido aos tratamentos com amostras de água coletadas no açude Entremontes e afluentes durante estação seca (Agosto/2013) e chuvosa (Abril/2014)36

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. Introdução | 15 |
| 2. Revisão de literatura | 17 |
| 2.1 Qualidade da Água | 18 |
| 2.1.1 <i>Descrição de parâmetros físicos e químicos na qualidade da água</i> | 19 |
| 2.2 Mutagênese Ambiental | 21 |
| 2.3 A Bacia do Rio Brígida e o Reservatório Entremontes (Parnamirim/PE) | 24 |
| 3. Objetivos | 26 |
| 3.1 Objetivo Geral | 26 |
| 3.2 Objetivos Específicos | 26 |
| 4. Metodologia | 27 |
| 4.1 Caracterização da área de estudo e Metodologia de amostragem | 27 |
| 4.2 Determinação dos parâmetros físicos e químicos das amostras de água | 30 |
| 4.3 Testes com <i>Allium cepa</i> L. | 30 |
| 4.3.1 <i>Teste de toxicidade</i> | 31 |
| 4.3.2 <i>Estimativa de citotoxicidade</i> | 32 |
| 4.3.3 <i>Estimativa de genotoxicidade</i> | 32 |
| 4.3.4 <i>Estimativa de mutagenicidade</i> | 32 |
| 4.4 Análises estatísticas | 32 |
| 5. Resultados | 33 |
| 5.1 Determinação de parâmetros físicos e químicos das amostras de águas coletadas | 33 |
| 5.2 Análises de toxicidade | 34 |
| 5.3 Análises da citotoxicidade | 35 |
| 5.4 Análises da genotoxicidade | 35 |
| 5.5 Análises de mutagenicidade | 37 |

| | | |
|-----------|-----------------------------------|-----------|
| 6. | Discussão | 37 |
| 7. | Considerações finais | 42 |
| 8. | Referências bibliográficas | 43 |

1. INTRODUÇÃO

As descargas de efluentes domésticos, agrícolas e industriais são apontadas atualmente como a principal fonte de poluição ambiental, destacando-se uma grande diversidade de compostos químicos persistentes que, quando não tratados, imprópriamente depositados e manuseados, representam séria ameaça ao meio ambiente, incluindo riscos à saúde humana (BEGUM; HARIKRISHNA, 2008). Estes podem causar danos ao DNA dos organismos expostos, como quebras das fitas, alterações na replicação e transcrição, alterações nas fibras do fuso acromático e formações de micronúcleos devido às suas propriedades aneugênicas e clastogênicas (FRENZILLI; NIGRO; LYONS, 2009).

Segundo Silva, Heuser e Andrade (2003), o aumento da exposição ambiental à agentes químicos potencialmente tóxicos tem propiciado um maior interesse no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos e terrestres. Nesse intuito, a avaliação da qualidade de um ambiente aquático tem envolvido aspectos de suas características físicas, químicas e biológicas. Os parâmetros físicos [CE (condutividade elétrica), cor, temperatura e turbidez] e químicos [OD (oxigênio dissolvido), nitrogênio total e amoniacal, fósforo, pH, TDS (totais de sólidos dissolvidos), entre outros] permitem apontar e quantificar os elementos presentes, identificar os efeitos de suas propriedades e compreender sua relação com os impactos antrópicos (PARRON; MUNIZ; PEREIRA, 2011).

Por sua vez, os bioensaios com *Allium cepa* L. são indicados como um ensaio eficiente em curto prazo para examinar a presença de poluentes ambientais e avaliar a influência de agentes contaminantes em recursos hídricos, através da visualização de alterações cromossômicas como C-metáfases, aderências cromossômicas, quebras cromossômicas, cromossomos retardatários, micronúcleos, entre outros, (CHRISTOFOLETTI; BETIOLI; MARIN-MORALES, 2007; FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; MIGID; AZAB; IBRAHIM, 2007; MARIN-MORALES et al, 2008), mostrando-se eficiente na avaliação de herbicidas (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007), metais-traço (MATSUMOTO et al., 2006), derivados de petróleo e aditivos alimentares (TÜRKOĞLU, 2007), o que comprova sua eficiência e versatilidade como organismo teste.

Considerando as características ambientais marcadas por forte sazonalidade, chuvas concentradas e irregulares, as bacias hidrográficas do semiárido brasileiro são

caracterizadas pela predominância de rios intermitentes e pela grande antropização com a construção de açudes e barragens. Estes ambientes lênticos possuem dinâmica particular quanto a interação do sedimento com a coluna d'água, além de possuírem inúmeras finalidades, como abastecimento, irrigação, lazer e pesca, sendo extremamente importante seu biomonitoramento (ESTEVES, 2011).

Com a nascente na Chapada do Araripe e foz no rio São Francisco, a bacia do rio Brígida apresenta uma área de 14.366 Km² e extensão de 160 Km. Nesta, encontra-se inserido o açude Entremontes, segundo maior do estado pernambucano, localizado no município de Parnamirim (LOPES et al., 2004). Este reservatório abastece vários outros municípios e localidades do sertão pernambucano, bem como serve como fonte de peixes para a população local. Considerando as práticas agrícolas e a influência da atividade urbana quanto ao lançamento de efluentes e resíduos em áreas próximas ao Entremontes, um possível acúmulo de poluentes de diversas categorias, a depender de sua natureza e concentração, pode ocasionar efeitos imediatos e a longo prazo à comunidade aquática e/ou ao ecossistema como um todo, além de interferir na qualidade de vida e saúde da população, justificando seu diagnóstico e monitoramento (LOPES et al., 2010).

Neste escopo, o presente trabalho investigou o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico da água do açude Entremontes, receptor de efluentes domésticos e agrícolas, mediante a aplicação do bioensaio com o sistema *A. cepa* L. e sua correlação com o perfil físico-químico da água como parâmetros de monitoramento da qualidade ambiental, fornecendo subsídios para futuros estudos de gestão ambiental que contribuam para preservação e uso sustentável deste açude, ações imprescindíveis ao desenvolvimento regional.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os ecossistemas aquáticos têm sofrido um alto impacto ambiental devido ao aumento significativo de emissões químicas oriundas da drenagem dos efluentes naturais de regiões adjacentes e da ação antrópica (MARINELLI et al., 2000; VENTURA; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008), a qual tem sido ressaltada como fator chave no aumento dos níveis de contaminantes em ambientes aquáticos e da aceleração do processo de eutrofização, caracterizado pelo enriquecimento de nutrientes em um lago ou represa gerando crescimento excessivo de algas e plantas, tanto planctônicas quanto sésseis, em níveis que gerem interferências na dinâmica do ecossistema e usos desejáveis do corpo d'água (CHAPRA, 1997; TALAMONI; RUIZ, 1996).

Embora a Resolução CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) 430/2011 estabeleça padrões ao manancial dispendo sobre a classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento e utilização, assim como critérios para lançamento de efluentes nessas águas (BRASIL, 2011), atualmente, as descargas de efluentes domésticos, agrícolas e industriais são consideradas como a principal fonte de poluição em ambientes aquáticos, destacando-se uma grande diversidade de compostos químicos persistentes (GOULART; CALLISTO, 2003).

Entre tais compostos, podemos citar os hidrocarbonetos aromáticos, os metais pesados e pesticidas, os quais em conjunto apresentam uma alta toxicidade e habilidade de bioacumulação (HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009), agravando assim a poluição ambiental. Este nível de toxicidade pode ser ocasionado pela própria 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 (FRACÁCIO et al., 2000; MATSUMOTO et al., 2006; VENTURA; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008).

Apesar dos ecossistemas apresentarem grande capacidade depurativa, os impactos não deixam de ser desastrosos (GEORGE; CROP; SERVAIS, 2002). O acúmulo de contaminantes pode gerar efeitos deletérios nos sistemas fisiológicos e genéticos na comunidade de organismos aquáticos exposta, atingindo os diferentes níveis tróficos e, conseqüentemente, alterando a estrutura populacional de um determinado ecossistema (FRACÁCIO et al., 2000; MATSUMOTO et al., 2006; VENTURA; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008). Uma vez alcançando os corpos

hídricos, tais poluentes comprometem a qualidade da água podendo, até mesmo, torná-la imprópria para o consumo humano e/ou inviabilizando seu uso nas atividades de piscicultura (LIMA; CAMPECHE; PEREIRA, 2009).

Neste contexto, o aumento da exposição ambiental a agentes químicos potencialmente tóxicos tem propiciado um maior interesse no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos e terrestres, mediante a correlação entre o perfil físico-químico da água e o emprego de ensaios de genotoxicidade, os quais devem ser incluídos como parâmetros adicionais nos programas de monitoramento da qualidade de água, sedimento e ictiofauna, uma vez que eles são ferramentas sensíveis e valiosas na detecção da presença destes contaminantes em ambientes aquáticos (RAMSDORF et al., 2012).

2.1 Qualidade da Água

A grande diversidade de compostos químicos presente no ambiente é de origem natural ou sintética; entretanto, independentemente de sua procedência, a maioria dessas substâncias pode ser prejudicial ao meio ambiente e à saúde humana, seja pela sua alta concentração, interação com outras substâncias ou transformação no meio (FONSECA; MARCHI; FONSECA, 2008).

Em recursos hídricos, um grande número de contaminantes químicos, que em altas concentrações alteram a qualidade da água, enquadra-se na categoria de substâncias que ocorrem naturalmente no ambiente, a exemplo do fluoreto e arsênio, enquanto outros fazem parte da constituição de novos compostos que estão disponíveis ao consumidor a cada ano. Ou seja, qualquer substância, quando encontrada de forma inadequada no ambiente, pode tornar-se um agente poluente afetando lagos, rios e florestas, causando conseqüentemente danos aos ecossistemas (FONSECA; MARCHI; FONSECA, 2008).

Apesar de o Brasil deter 13 % da água doce do planeta, os recursos hídricos brasileiros não são inesgotáveis. A população já enfrenta problemas de escassez, quantitativa e qualitativamente, a exemplo da região metropolitana de São Paulo que vive a pior escassez de água dos últimos 80 anos (BRASIL, 2014a), bem como a seca que atingiu o semiárido nordestino entre 2012/2013 a qual foi considerada a pior dos últimos 50 anos (BRASIL, 2014b). O uso indiscriminado dos mananciais superficiais e subterrâneos, a desigualdade em sua distribuição, as características geográficas de

cada região e mudanças de vazão dos rios que ocorrem devido às variações climáticas ao longo do ano tem sido apontado como as principais causas da crise hídrica instalada no país (BRASIL, 2013). Outro fator agravante refere-se à própria qualidade da água; comumente, as águas captadas diretamente em bacias hidrográficas não são completamente confiáveis para abastecimento público, uma vez que a qualidade ambiental de um recurso hídrico depende expressivamente das características ambientais de cada região, principalmente quando se refere ao uso intensivo de produtos químicos na agricultura (REBOUÇAS et al., 2006).

As águas superficiais, quando destinadas às atividades humanas, devem reunir requisitos químicos, físicos, ecotoxicológicos e microbiológicos que minimizem os riscos à saúde pública. Normalmente, a avaliação da qualidade de um ambiente aquático envolve aspectos de suas características físicas e químicas, os quais são baseados em amostragens da água, do sedimento e/ou da biota presentes nesse ambiente, comparando-os frente à legislação referente à qualidade da água e preservação ambiental, visando à avaliação da composição das águas e uma possível intensidade de contaminação (BAUMGARTEN; POZZA, 2001).

Quando se enfoca a presença de contaminantes em um corpo hídrico, é necessário se remeter a dois sistemas distintos, mas em profunda interação: a água (fase líquida) e o sedimento (fase sólida) (AZEVEDO, 2003). As mudanças das condições ambientais podem facilmente disponibilizar os contaminantes de um compartimento para o outro do reservatório. Os contaminantes podem ser aprisionados nos ambientes aquáticos e acumulados nos sedimentos, sendo diretamente utilizados pela fauna bentônica ou voltar para a coluna d'água através de ressuspensão do sedimento, reações de adsorção/desorção, reação de redução/oxidação e degradação de organismos (CONRAD; CHISHOLM-BRAUSE, 2004; PEKEY; KARAKAS; BAKOGLU, 2004).

2.1.1 Descrição de parâmetros físicos e químicos na qualidade da água

Os impactos da ação antrópica sobre ambientes aquáticos, sobretudo os margeados por áreas urbanas com atividade industrial, produção de resíduos, despejo de esgotos domésticos e áreas de atividade agrícola com utilização de insumos, podem ser acompanhados pela avaliação e monitoramento de parâmetros físicos e

químicos dos corpos hídricos como rios e lagos, mas também, são visualizados nos reservatórios e açudes construídos para permitir o abastecimento de regiões que sofrem com os longos períodos de estiagem (DONADIO; GALBIATTI; PAULA, 2005; COSTA; SOUSA; DELLAMATRICE, 2009).

Um ecossistema aquático saudável depende das suas propriedades físicas e químicas e da diversidade biológica presente (VENKATESHARAJU et al., 2010). Os parâmetros físicos e químicos da água detectam de forma precisa quaisquer modificações em suas variáveis e concentrações, caracterizando-a qualitativa e quantitativamente (GOULART; CALISTO, 2003; BRASIL, 2011).

A determinação do teor de OD é um parâmetro importante no monitoramento e diagnóstico da dinâmica da biota aquática, sendo útil na elaboração de estudos para sua preservação. O oxigênio é o principal elemento do metabolismo de microorganismos aeróbios aquáticos e de outros seres vivos, como os peixes que, por exemplo, não suportam valores abaixo de 4 mg/L sendo considerados ótimos os valores acima de 5 mg/L (PROENÇA; BITTENCOURT, 1994). Da mesma forma, os valores de pH têm uma influência direta sobre a fisiologia de diversas espécies aquáticas, uma vez que padrões alterados desta variável podem levar à alteração na solubilidade de nutrientes e favorecer a precipitação de elementos tóxicos, como metais pesados. Por sua vez, uma alta condutividade elétrica em corpos hídricos é um indício de grande quantidade de nutrientes dissolvidos o que permite uma avaliação da disponibilidade dos mesmos no ambiente aquático (ESTEVES, 1998, SILVA et al., 2008)

As altas concentrações de TDS e CE, parâmetros cujos aumentos são diretamente proporcionais, normalmente estão relacionadas a lançamentos de despejos domésticos e industriais e podem ser prejudiciais à vida aquática (PARRON; MUNIZ; PEREIRA, 2011). Em geral, níveis de CE acima de 100 S/cm indicam ambientes impactados e podem conferir características corrosivas a água. Já os elevados valores de sólidos em recursos hídricos podem causar danos aos peixes devido a sua capacidade de se sedimentar no leito dos rios, danificando os leitos de desova desses animais e destruindo organismos que vivem nos sedimentos e servem de alimento para outros organismos (CESTESB, 2013).

Anualmente, são despejados nos cursos hídricos do Brasil, aproximadamente, cerca de 197 mil toneladas de fósforo, 737 mil toneladas de nitrogênio e mais de quatro milhões de toneladas de carbono devido à ausência de tratamento de esgoto

(TUNDISI, 2003). Os altos valores de nitrogênio e fósforo podem estar relacionados a um aumento da quantidade de matéria orgânica em recursos hídricos. No meio aquático, o nitrogênio pode ser encontrado em diferentes formas, como por exemplo, nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) e amônia [livre (NH_3) e ionizada (NH_4^+)]. Os níveis elevados de amônia livre são tóxicos e podem levar à morte uma grande variedade de peixes, estando seus valores intimamente relacionados ao pH da água (BAUMGARTEN; POZZA, 2001).

Já o fósforo pode se apresentar nas águas sob diferentes formas, como fosforo total, fosforo particulado e inorgânico e fosforo dissolvido orgânico e inorgânico. Dentre estas, o fosforo inorgânico ou ortofosfato assume maior relevância, uma vez que é a principal forma assimilada pelos organismos aquáticos, sendo um nutriente essencial para o crescimento dos micro-organismos responsáveis pela estabilização da matéria orgânica, além de ser indispensável para o crescimento de algas e plantas aquáticas. Contudo, elevadas concentrações deste elemento, juntamente com o nitrogênio, podem acarretar no fenômeno de eutrofização em lagos, rios e represas. Assim, a determinação da série nitrogenada e fosfatada é um critério relevante no processo de estudo das condições de sanidade do ambiente aquático (VON SPERLING, 2005; ESTEVES, 2011; CETESB, 2013).

2.2 Mutagênese Ambiental

Os compostos químicos persistentes das descargas de efluentes podem gerar múltiplos efeitos nos organismos, incluindo seres humanos, bem como em diferentes níveis de um ecossistema, afetando a função de um órgão, *status* reprodutivo, a sobrevivência de uma espécie, o tamanho populacional e a biodiversidade (BOLOGNESE; HAYASHI, 2011). Tais alterações podem estar associadas a danos ao DNA dos organismos expostos, como as quebras das fitas, alterações na replicação e transcrição, alterações nas fibras do fuso acromático e formações de micronúcleos (FRENZILLI; NIGRO; LYONS, 2009).

Assim, o uso de bioensaios genéticos tem sido considerado uma importante ferramenta na avaliação da contaminação ambiental, bem como em estudos de monitoramento, podendo-se citar testes com espécies de plantas superiores como *Vicia faba* L., *Nicotiana tabacum* L., *Zea mays* L., *Crepis capillaris* (L.) Wallr., *Hordeum vulgare* L. e *A. cepa* L. (GRANT, 1982), com a alga *Selenastrum capricornutum* P.

(COSTA; SOUSA; DELLAMATRICE, 2009), ensaio cometa com vertebrados e invertebrados (FRENZILLI; NIGRO; LYONS, 2009) e bioensaios com a bactéria *Photobacterium phosphoreum* (RIBO; KAISER, 1987) e *Salmonella* (OHE, 2004).

Os bioensaios com *A. cepa* foram introduzidos por Levan (1938), ao estudar os efeitos da colchicina e acenafteno no ciclo mitótico da referida espécie, sendo adaptado por Fiskesjo (1985), tornando-a um organismo teste para o monitoramento ambiental de substâncias solúveis e insolúveis. Atualmente, este bioensaio é indicado como teste eficiente em curto prazo para a avaliação de poluentes ambientais, e em particular, poluentes aquáticos (MIGID; AZAB; IBRAHIM, 2007), mostrando-se eficiente na avaliação de inseticidas (BIANCHI, 2008), herbicidas (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007), metais-traço (MATSUMOTO et al., 2006), derivados de petróleo e aditivos alimentares (TÜRKOĞLU, 2007), o que comprova a sua eficiência e versatilidade.

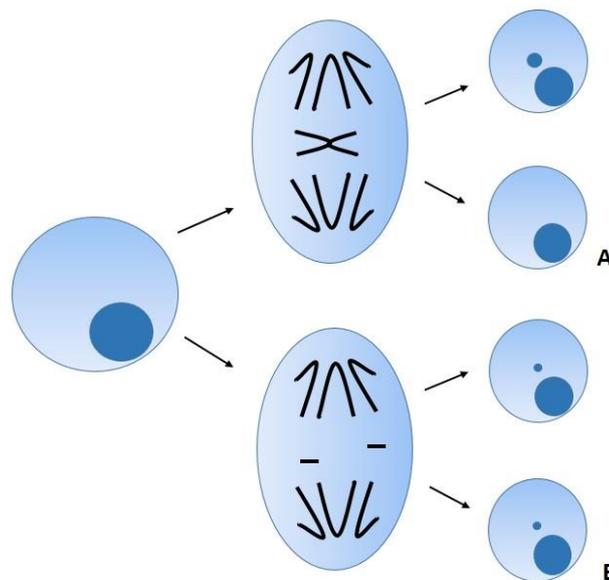
Este sistema teste possibilita investigar a toxicidade a partir da germinação e crescimento das sementes de *A. cepa*, citotoxicidade por meio do índice mitótico(IM), genotoxicidade através de determinadas alterações cromossômicas (AC) e mutagenicidade pela presença de micronúcleos (MN) (LEME; MARIN-MORALES, 2009; MARIN-MORALES; 2008), identificando assim os potenciais aneugênicos (àqueles que comprometem a disjunção dos cromossomos durante a divisão celular) e/ou clastogênicos (àqueles que promovem quebras no material genético) dos contaminantes.

Entre as alterações que podem ser originadas em organismos expostos às substâncias com potenciais aneugênicos, estão as C-metáfases, cromossomos retardatários, ponte e perda cromossômica, bem como aderência cromossômica; enquanto que, substâncias com potenciais clastogênicos originam principalmente quebras cromossômicas (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007, LEME; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008; LEME; MARIN-MORALES, 2009, BARBÉRIO, 2013).

Por exemplo, as pontes anafásicas podem ser originadas a partir de trocas ocorridas entre cromátides de um mesmo cromossomo ou entre cromossomos diferentes ou ainda por fusão entre telômeros de cromátides irmãs que segregam erroneamente durante a anáfase (BRINKLEY; HUMPHREY, 1969; MARIN-MORALES, 2008). As C-metáfases originam-se quando uma substância inativa o fuso mitótico impedindo a divisão centromérica (FISKESJÖ, 1985;1993). Por sua vez, os

micronúcleos são estruturas arredondadas ou ovaladas localizadas ao lado do núcleo principal, porém de tamanho menor, que apresentam semelhanças com o núcleo principal em relação à forma, textura e coloração. São formados pela ação de substâncias aneugênicas, através da perda de fragmentos acêntricos ou de cromossomos inteiros, e clastogênicas, mediante as quebras cromossômicas (Figura 01) (AGOSTINI, 1993; BORBOA, 1996; STEINKELLNER, 1998; LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Figura 01 - Formação de micronúcleos. A. Formação de micronúcleo resultante de perda cromossômica proporcionada pela ação de uma substância aneugênica; B. Formação de micronúcleo pela ação de substância clastogênica que levam a quebra cromossômica.



Fonte: Ilka Mendes (2014) adaptado de Marin-Morales et al., (2008)

A alta sensibilidade de *A. cepa* em detectar uma ampla variedade de agentes ambientais é devida as características próprias da espécie como a presença de cromossomos grandes, com número reduzido ($2n = 16$) e morfologia bem definida, pelo baixo custo e fácil manuseio, e quando comparado com outros sistemas utilizados como teste apresenta boa correlação e elevada sensibilidade, principalmente ao comparar com testes utilizando mamíferos (MATSUMOTO et al., 2006; FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; LEME, ANGELIS, MARIN-MORALES, 2008; LEME; MARIN-MORALES, 2009).

O biomonitoramento de ecossistemas aquáticos e a avaliação de poluentes ambientais utilizando *A. cepa* têm crescido expressivamente (EGITO et al., 2007; LEME; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008; DUSMAN et al., 2011; 2012; 2014) tornando-se uma ferramenta efetiva na avaliação da qualidade ambiental em termos mundiais. Entretanto, poucos estudos têm sido realizados avaliando a presença de poluentes em ambientes lânticos, principalmente na região do semiárido nordestino (BEZERRA et al, 2013), onde os mesmos são fundamentais para o abastecimento de populações e estão sujeitos à influência antrópica e poluição de regiões adjacentes.

2.3 A Bacia do Rio Brígida e o Reservatório Entremontes (Parnamirim/PE)

O semiárido nordestino apresenta um balanço hídrico considerado irregular, resultado de precipitações que variam de 268 a 800 mm, com evaporação de 2.000 mm ano⁻¹ e temperaturas médias anuais de 23 a 27 °C (AB'SABER, 1999; MOURA et al., 2007).

Considerando estas particularidades ambientais, as bacias hidrográficas do semiárido brasileiro são caracterizadas pela predominância de rios intermitentes, com alguns grandes rios perenes (a exemplo do rio São Francisco) e pela grande antropização com a construção de açudes e barragens. Estes, muitas vezes, estão situados próximos às pequenas e médias cidades que não possuem formas adequadas de tratamento e despejo de dejetos urbanos, de resíduos agrícolas e industriais, os quais são despejados ou carreados aos corpos d'água causando sua contaminação, tornando a água imprópria ao consumo humano ou animal, restringindo ainda mais seu uso em locais onde as fontes são escassas (BISPO; OLIVEIRA, 1998). Além disso, tais reservatórios estão sujeitos a longos períodos de escassez e consumo contínuo durante todo o ano, o que diminui os níveis de água resultando em uma série de modificações no ecossistema do reservatório (BARBOSA, 2012).

Com a nascente e foz na Chapada do Araripe e no rio São Francisco, respectivamente, a bacia do rio Brígida apresenta uma área de 14.366 Km², englobando um total de 15 municípios dentre estes, seis estão completamente inseridos nesta bacia, como Araripina, Bodocó, Granito, Ipubi, Ouricuri e Trindade, enquanto que os outros municípios que fazem parte de seu território são Cabrobó,

Exu, Moreilândia, Orocó, Parnamirim, Santa Maria da Boa Vista, Santa Cruz, Santa Filomena e Serrita (LOPES et al., 2004).

Devido a sua localização, essa bacia apresenta intensa exploração do ecossistema pela exploração de madeira, indústria do gesso, agricultura de sequeiro, olarias e pastagens, além de alguns municípios ultrapassarem o limite de densidade demográfica estabelecido pela ONU para regiões susceptíveis à desertificação, que é de 20 habitantes/Km², o que gera uma sobrecarga ao ecossistema local e altera de forma significativa suas condições naturais (LOPES et al., 2010). Este cenário pode propiciar um acúmulo de poluentes de diversas categorias que, a depender de sua natureza e concentração, podem ocasionar efeitos imediatos e em longo prazo à comunidade aquática, bem como ao ecossistema como um todo (KRÜGER, 2009).

Em sua extensão, encontra-se inseridos os açudes Lopes II (Município Bodocó), com capacidade máxima de 23.935.360 m³, e o Entremontes (Município de Parnamirim) cuja capacidade é de 339.333.700 m³, sendo considerado o segundo maior reservatório do Estado de Pernambuco. Construído sobre o rio São Pedro (ou rio Jacaré), afluente da margem direita do rio Brígida, entre os anos de 1980 e 1982, o Entremontes é utilizado como fonte de abastecimento de água para diferentes municípios do sertão pernambucano, na prática da agricultura irrigada e piscicultura, servindo como fonte de renda e alimento para a população local (DNOCS, 2014) (Figura 02).

Segundo o boletim de monitoramento dos reservatórios da Agência Pernambucana de Águas e Clima (APAC, 2014) o citado açude encontra-se em estado de colapso e, diante da sua importância regional, encontra-se inserido no Eixo Norte do PISF (Projeto de Integração do Rio São Francisco com Bacias Hidrográficas do Nordeste Setentrional), sendo um dos receptores das águas da integração do rio São Francisco.

Figura 02 - Bombas de irrigação demonstrando a utilização da água do açude Entremontes para prática de agricultura irrigada.



Fonte: Ilka Mendes (2014)

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

✓ Investigar o potencial tóxico, citotóxico, genotóxico e mutagênico da água do açude Entremontes, receptor de efluentes domésticos e agrícolas, mediante o bioensaio com o sistema *Allium cepa* L. como parâmetro de monitoramento da qualidade ambiental.

3.2 Objetivos Específicos

✓ Estimar o nível de toxicidade e citotoxicidade mediante a observação dos índices de germinação e mitótico, respectivamente, em testes com *A. cepa*.

✓ Verificar o efeito genotóxico em testes com *A. cepa*, mediante a ocorrência de aberrações cromossômicas.

✓ Avaliar o nível de mutagenicidade cromossômica por intermédio do teste de micronúcleos em ensaios com *A. cepa*.

✓ Traçar o perfil da qualidade da água do açude Entremontes com a determinação das variáveis físicas e químicas.

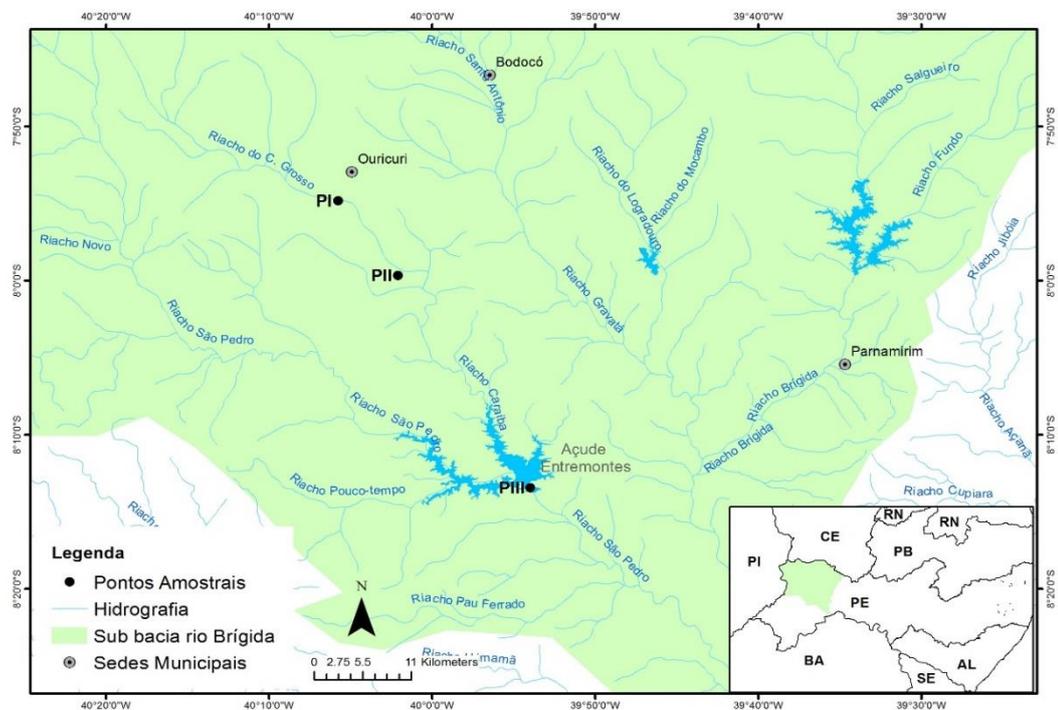
✓ Utilizar os ensaios de mutagenicidade e genotoxicidade como parâmetros importantes nos programas de monitoramento da qualidade ambiental.

4. METODOLOGIA

4.1 Caracterização da área de estudo e Metodologia de amostragem

No presente estudo, três pontos de amostragem de água foram determinados (Figura 03; Tabela 01), estando localizados antes da chegada ao reservatório Entremontes (Ponto I e II) e no próprio reservatório (Ponto III) (Figuras 02, 04, 05 e 06), levando-se em consideração a presença de influência antrópica.

Figura 03 - Distribuição dos pontos de amostragem localizados em afluentes do açude Entremontes (Pontos I e II) e no próprio reservatório (Ponto III), ao longo da Bacia do Rio Brígida, no Estado de Pernambuco.



Fonte: Ilka Mendes (2014)

O primeiro local de coleta (PI) (Figura 04) está localizado na Rodovia saída do município de Ouricuri/PE, próximo à área urbana do município. O local apresentava pequeno volume de água e pouca vegetação ao redor; entretanto, apesar do pequeno volume de água, observou-se sua exploração como ponto de captação por carros pipa.

Figura 04 - Imagem do primeiro local de coleta (PI) , próximo a saída do município de Ouricuri/PE, cuja coordenada geográfica é 0379175-9125027 24m UTM.



Fonte: Ilka Mendes (2014)

O segundo local de coleta (PII) (Figura 05) situa-se dentro de uma propriedade particular, sendo uma pequena barragem, porém com quantidade de água superior à encontrada em PI. Foi observado, em sua proximidade, uso de água para sistema de irrigação por aspersão.

No terceiro ponto (PIII) (Figura 06), localizado na barragem do açude Entremontes, foram observados redes e barcos abandonados no reservatório, bem como vestígios da presença bovinos e caprinos. Também foi possível observar a presença de espécies vegetais indicadoras de ambientes degradados, como *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton e *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.

Figura 05 - Imagem do segundo local de coleta (PII), em afluente do açude Entremontes (Município de Parnamirim/PE), cuja coordenada geográfica é 0379175-9125027 24m UTM.



Fonte: Ilka Mendes (2014)

Figura 06 - Imagem do terceiro ponto de coleta (PIII) localizado no açude Entremontes (Município de Parnamirim/PE), cuja coordenada geográfica é 0379175-9125027 24m UTM.



Fonte: Ilka Mendes (2014)

A coleta da água seguiu o método de coleta superficial (CETESB, 1987), sendo realizados dois eventos amostrais nos meses de agosto/2013 e abril/2014, cujos registros de volume de chuva acumulado foram 0,3 mm e 30,6 mm para município de Parnamirim (IPA, 2014), contemplando a estação de estiagem e chuvosa, respectivamente. Após a coleta, os recipientes plásticos com as amostras de água foram mantidos a 4 ± 2 °C e transportados para laboratório de Genética pertencente ao NECMOL (Núcleo de Ecologia Molecular), localizado no CEMAFUNA (Centro de Manejo de Fauna da Caatinga), da UNIVASF (Universidade Federal do Vale do São Francisco), onde foram armazenados e conservados em freezer a $- 80$ °C, para posterior realização dos bioensaios genéticos.

4.2 Determinação dos parâmetros físicos e químicos das amostras de água

As variáveis hidroquímicas temperatura, CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$), TDS (mg/L), salinidade (%), OD (mg/mL) e pH foram medidas *in situ* utilizando sonda portátil multiparâmetro HANNA previamente calibrada. Enquanto que as análises de teor de Nitrito, Nitrato, Ortofosfato e Nitrogênio amoniacal foram realizadas no laboratório de bioquímica do NECMOL/CEMAFAUNA.

As concentrações de amônia e ortofosfato foram determinadas seguindo-se recomendações do *Standard Methods* (APHA, 1992). A determinação do teor de nitrogênio amoniacal obteve como princípio a formação do indofenol, através da reação entre amônia, fenol e hipoclorito em meio alcalino, catalisada por nitroprussiato de sódio, formando o indofenol de cor azul com absorvância a 640 nm, a qual foi lida em espectrofotômetro (IVANCIC, 1984).

Para a determinação do ortofosfato foi aplicado o método calorimétrico do ácido ascórbico, utilizando a digestão preliminar do persulfato para conversão do fosforo em ortofosfato. Tal método baseia-se na reação entre o molibdato de amônio e antimônio tartarato de potássio em meio ácido e redução do ácido fosfomolibídico, formando o azul de molibdênio, onde a intensidade do composto é proporcional à concentração de ortofosfato na amostra. Posteriormente, as soluções são lidas em espectrofotômetro a 880 nm (CETESB, 1978).

Na determinação de nitrato foi utilizado o método espectrofotométrico da segunda derivada. Nesse método, uma alíquota da amostra de estudo teve sua absorvância determinada realizando a leitura em três comprimentos de onda a 210 nm, 220 nm e 230 nm utilizando cubeta de Quartzo para o cálculo da segunda derivada: $(\text{Abs}_{210} - \text{Abs}_{220}) - (\text{Abs}_{220} - \text{Abs}_{230})$ (APHA, 2006).

Os valores de nitrito foram obtidos pelo método da sulfanilamida e dicloreto de N-(1-naftil)–etilenodiamino, onde o nitrito reage com a sulfanilamida em meio ácido e com o cloridrato de NED (N-[1-naftil]etilenodiamina], gerando um composto com coloração rósea, no qual é medido em espectrofotômetro a 543 nm (BENDSCHNEIDER; ROBINSON, 1952).

4.3 Testes com *Allium cepa* L.

A realização dos bioensaios genéticos e preparação das lâminas baseou-se nos procedimentos sugeridos por Fiskesjö (1985) e Fernandes, Mazzeo, Marin-Morales (2007), com adaptações.

Para cada estação, os testes com *A. cepa* foram realizados mediante os ensaios temporário e contínuo. No ensaio temporário, o número de 600 sementes de *A. cepa* foram postas a germinar em seis placas de Petri, cobertas com papel de filtro umedecido com 5 mL de água ultrapura, distribuindo-se assim 100 sementes/placa. Após 72 h, as sementes germinadas foram transferidas para novas placas de Petri, contendo como substrato 20 mL das três amostras de água coletadas ou substâncias controles, totalizando seis tratamentos. Como controles positivos, foram utilizados o Herbicida Trifluralina (0,84 ppm de princípio ativo), uma substância de ação aneugênica, bem como o MMS (metil metano-sulfonato, 4×10^{-4} Mv), uma droga de ação clastogênica; enquanto que, para o controle negativo, as sementes foram submetidas à água ultrapura.

Após 24h de exposição aos tratamentos, as raízes foram medidas, coletadas e fixadas em etanol:ácido acético (3:1, v/v). Para a preparação das lâminas, tais raízes foram lavadas em água destilada, hidrolisadas em HCl 1N a 60 °C, sendo posteriormente lavadas e coradas com reagente de Schiff por 2 h, em local escuro. Decorrido este tempo, as raízes foram lavadas novamente em água destilada, esmagadas em uma gota de carmim acético 2%, flambadas e montadas com Entellan. O número mínimo de dez lâminas por tratamento foi preparado para cada estação, com o intuito de estimar o IM (Índice Mitótico), de IAC (Índice de Alterações Cromossômicas) e de IMt (Índice de Mutagenicidade). Em cada lâmina, cerca de 500 células foram analisadas, totalizando assim uma contagem de 5000 células por tratamento.

Considerando o tratamento contínuo, vinte sementes de *A. cepa* foram submetidas à germinação em placas de Petri, contendo papel de filtro umedecido com 20 mL das amostras de água coletadas ou das substâncias utilizadas como controle, contabilizando-se após 72 horas o número de sementes germinadas para estimar o IG (Índice de Germinação).

4.3.1 Teste de toxicidade

O nível de toxicidade foi investigado mediante o IG e a VCMR (Variação do Comprimento Médio das Raízes). O valor do IG foi calculado pela razão entre o número de sementes germinadas e o número total de sementes expostas à germinação com o ensaio contínuo. Por sua vez, a VCMR foi obtida pela medição das raízes emergidas durante o ensaio temporário, extraindo-se a média do comprimento da raiz por tratamento.

4.3.2 Estimativa de citotoxicidade

Os efeitos citotóxicos foram analisados pela quantificação do IM, calculado pela razão entre o número de células em divisão observado e o número total de células analisadas.

4.3.3 Estimativa de genotoxicidade

Para os efeitos genotóxicos, o IAC foi avaliado mediante a visualização de C-metáfases, aderência cromossômica, anáfases multipolares, pontes cromossômicas, poliploidia, quebras e perdas cromossômicas e micronúcleos em diferentes fases da mitose (prófase, metáfase, anáfase e telófase). Vale ressaltar que o citado índice foi calculado pela razão entre o número de aberrações cromossômicas observado e o número total de células analisadas.

4.3.4 Estimativa de mutagenicidade

Para a análise dos efeitos mutagênicos, a ocorrência de micronúcleos presentes nas células meristemáticas das raízes submetidas aos tratamentos foi verificada, sendo o IMt aferido pela razão entre o número de células com micronúcleos e o número total de células observadas.

4.4 Análises estatísticas

Os resultados obtidos para os testes de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade foram comparados mediante análise estatística não

paramétrica utilizando o teste de Mann-Whitney (nível de significância 5%) com o auxílio do BioEstat 5.0.

5. RESULTADOS

5.1 Determinação de parâmetros físicos e químicos das amostras de águas coletadas

Na estação seca, a temperatura da água para o momento da coleta se encontrava em 23.8 °C, 23 °C e 23.8 °C para PI, PII e PIII, respectivamente; enquanto que, na estação chuvosa, os pontos apresentaram temperaturas mais elevadas como 27.9 °C, 28.5 °C e 29.6 °C para PI, PII e PIII. De forma geral, os parâmetros CE e TDS mostraram-se mais elevados nos pontos amostrados na estação seca (Tabela 01), sendo mais expressivos para as amostras coletadas no PIII, principalmente em relação à CE (3,307 $\mu\text{S}/\text{cm}$) e TDS (1655 mg/L), estando este último valor acima do estipulado pela resolução CONAMA (500 mg/L). O OD de PI e PII mostrou-se inferior ao considerado pela resolução CONAMA (5 mg/L O_2), com valor de 4,3 mg/L para a estação seca e 4,25 mg/L para a estação chuvosa, enquanto PIII apresentou valores superiores em relação aos demais pontos nas duas estações coletadas.

A salinidade apresentou-se elevada em PI (0,66 %) e PIII (1,73 %) durante as coletas na estação seca, em relação ao proposto pela resolução para este tipo de ambiente (igual ou inferior a 0,5 ‰); enquanto que na outra estação avaliada, os valores se encontraram dentro do esperado (Tabela 01). O pH estimado em PI (7,86), PII (7,87) e PIII (8,17) apresentou-se mais alto na estação seca, em comparação ao observado na estação chuvosa cujos valores foram 6,94 para PI e PII e 7,29 para PIII. Na quantificação de Nitrogênio amoniacal na estação seca, teores tóxicos de amônia, em relação ao proposto pelo CONAMA (valor máximo de 2,0 mg/L N para $7,5 < \text{pH} \leq 8,0$ e 1,0 mg/L N para $8,0 < \text{pH} \leq 8,5$), foram notados nos três pontos de amostragem, com valores de 3,2 mg/L N para PI e PII e 3,88 mg/L N para o PIII, os quais foram mais elevados que os dados obtidos na estação chuvosa, com valores permitidos de 0,42 mg/L N (PI) e 0,40 mg/L N (PII e PIII) (Tabela 01). O teor de Ortofosfato variou de 0,058 (PI) à 0,12 (PII) na estação seca, enquanto que na estação chuvosa foram observados teores de 0,153 mg/L P (PI) e 0,056 mg/L P (PII e PIII). Por sua vez, não

foram encontrados teores significativos de Nitrito e Nitrato nas duas estações estudadas (Tabela 01).

Tabela 01 - Variáveis físicas e químicas de cada ponto de coleta no açude Entremontes e afluentes amostrados durante a estação seca (Agosto/2013) e chuvosa (Abril/2014).

| Parâmetros | PI | | PII | | PIII | | CONAMA (357/2005) |
|-------------------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--|
| | ES | EC | ES | EC | ES | EC | |
| Temperatura (°C) | 23.8 | 27.9 | 23 | 28.5 | 23.8 | 29.6 | - |
| CE (µS/cm) | 1323 | 415 | 875 | 424 | 3.307 | 612 | - |
| TDS* (mg/L) | 662 | 207 | 438 | 207 | 1655 | 307 | Valor máximo: 500 mg/L |
| OD (mg/L) | 4,3 | 4,25 | 4,8 | 4,96 | 7,0 | 6,75 | Não inferior a 5 mg/L O ₂ |
| Salinidade (%) | 0.66 | 0.2 | 0.43 | 0.2 | 1.73 | 0.29 | = ou < 0.5 % |
| pH | 7,86 | 6,94 | 7,87 | 6,94 | 8,17 | 7,29 | pH: 6,0 a 9,0 |
| Nitrogênio amoniacal (mg/L N) | 3,2±0,4 | 0,42±0.03 | 3,2 ± 0,3 | 0,40±0.04 | 3,88± 0,75 | 0,40±0.04 | 2,0 mg/L N (7,5 < pH ≤ 8,0) 1,0 mg/L N (8,0 < pH ≤ 8,5) |
| Ortofosfato (mg/L P) | 0,058 ± 0,01 | 0.153±0.007 | 0,12 ± 0,03 | 0.056±0.004 | 0,07 ± 0,02 | 0.056±0.004 | Até 0,030 mg/L |
| Nitrito (mg/L) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | Valor máximo: 1,0 mg/L N |
| Nitrato (mg/L) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | Valor máximo: 10,0 mg/L N |

Legenda: *CE – Condutividade elétrica; TDS - Totais de sólidos dissolvidos; OD – Oxigênio dissolvido; ES – Estação seca; EC – Estação chuvosa.

5.2 Análises de toxicidade

Os parâmetros IG e VCMR enfatizaram diferenças em nível de toxicidade para as estações seca e chuvosa (Tabela 02). Na estação seca, os IGs variaram de 0% a 35% nos tratamentos analisados. Os pontos I (25%) e III (5%) apresentaram IG menores que o controle negativo (30%); entretanto, o valor observado para o ponto III mostrou-se similar ao encontrado para o controle positivo com MMS (5%). Por sua vez, na estação chuvosa, o IG variou entre 15% e 75%. O menor IG foi notado para a Trifluralina (15%), enquanto que o PII apresentou o maior índice (75%). Os PI e PII apresentaram IG de 65 % e 60 %, respectivamente, valores próximo e/ou similar ao

controle negativo (60%) (Tabela 02). Considerando os dados do VCMR, para estação seca, todos os pontos apresentaram um valor menor que o do controle negativo com água ultrapura (1,62), entretanto apenas PI (1,33) e PII (1,34) divergiram significativamente ($p < 0,05$) (Tabela 02). Em relação aos valores de VCMR para estação chuvosa, não houve diferença significativa entre pontos analisados quando comparados ao controle negativo (Tabela 02). Assim, os parâmetros VCMR (PI e PII) e IG (PIII) sugerem um potencial tóxico nas amostras coletadas durante a estação seca.

5.3 Análises da citotoxicidade

Em se tratando de níveis de citotoxicidade, durante a estação seca, os IMs dos pontos I (24,35%) e II (24,65%) foram menores em relação ao controle negativo (27,74%), enquanto que o ponto III (30,77%) e o tratamento com trifluralina (19,56%) apresentaram o maior e menor IM, respectivamente. Entretanto, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras analisadas e o controle negativo. Já na estação chuvosa, foram observados para os pontos PI, PII e PIII, os índices mitóticos de 30,45%, 31,44% e 35,15%, respectivamente, com diferença significativa em relação ao controle negativo apenas para o ponto PIII, sugerindo, portanto, a presença de citotoxicidade neste ponto de coleta (Tabela 02).

5.4 Análises da genotoxicidade

Algumas alterações foram notadas em células meristemáticas de *A. cepa* tratadas com as amostras de água coletadas de ambas as estações, destacando-se as pontes anafásicas e micronúcleos (Figura 07). Contudo, o IAC em PI (1,13), PII (1,24) e PIII (3,65) não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao controle negativo (0,63) na estação seca (Tabela 02), supondo a inexistência de potencial genotóxico nas águas coletadas nesta estação. Por outro lado, para a estação chuvosa, foram observadas diferenças significativas de IAC entre os tratamentos analisados [trifluralina (3,61), MMS (26,52), PI (2,53) e PIII (3,16)] e o controle negativo (0,63), sugerindo a existência de ação genotóxica na água dos pontos I e III (Tabela 02).

Tabela 02 - Avaliação do teste de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade mediante o IG (índice de germinação), VCMR (variação do comprimento médio das raízes), IM (índice mitótico), IAC (índice de alterações cromossômicas) e IMt (índice de mutagenicidade) no sistema *Allium cepa* submetido aos tratamentos com amostras de água coletadas no açude Entremontes e afluentes durante estação seca (Agosto/2013) e chuvosa (Abril/2014).

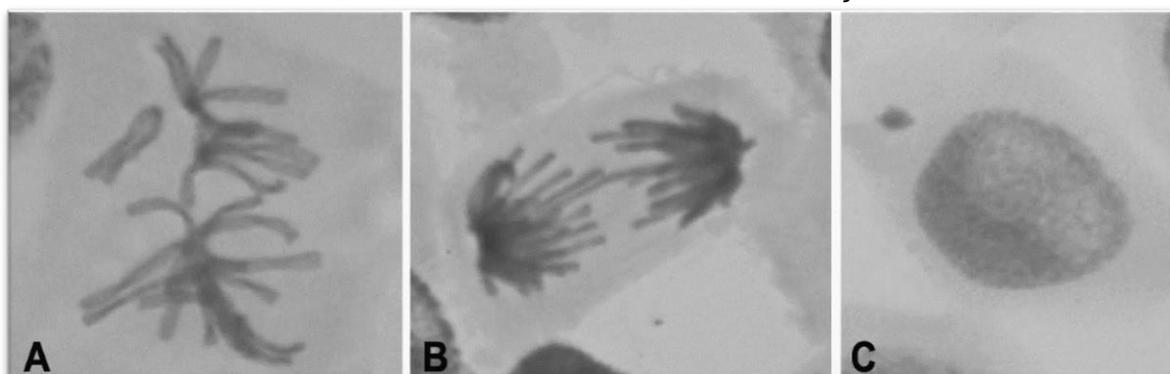
| Parâmetros de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade | | | | | | | | | | |
|---|-----|-----|------------|-----------|-------------|-------------|--------------|-------------|------------|-----------|
| TRA | IG | | VCMR | | IM | | IAC | | IMut | |
| | ES | EC | ES | EC | ES | EC | ES | EC | ES | EC |
| Água | 30% | 60% | 1,62±0,27 | | 27,74±7,32 | | 0,63±0,71 | | 0.09±0.09 | |
| Tri | 0% | 15% | 1,17±0,15* | | 19,56±6,08* | | 3,61±3,56* | | 0.19±0.17 | |
| MMS | 5% | 70% | 1,64±0,30 | | 29,17±6,50 | | 26,52±13,64* | | 4.18±2.46* | |
| PI | 25% | 65% | 1,33±0,27* | 1,70±0,26 | 24,35±5,11 | 30,45±5,56 | 1,13±0,72 | 2,53±2,23* | 0.05±0.08 | 0.19±0.22 |
| PII | 35% | 60% | 1,34±0,26* | 1,64±0,25 | 24,65±5,84 | 31,44±6,92 | 1,24±1,37 | 1,01±1,24 | 0.13±0.12 | 0.09±0.17 |
| PIII | 5% | 75% | 1,47±0,30 | 1,50±0,31 | 30,77±7,71 | 35,15±6,95* | 3,65±4,66 | 3,16 ±2,28* | 0.27±0.52 | 0.20±0.24 |

Legenda: TRA (Tratamento); ES (Estação seca); EC (Estação chuvosa); Tri (Trifluralina); MMS (Metilmetanosulfonato); Valores correspondem à média ± desvio padrão.
*Significativo utilizando o teste Mann-Whitney ($p < 0,05$) quando comparado ao controle negativo.

5.5 Análises de mutagenicidade

Considerando o IMt nas células meristemáticas de *A. cepa*, durante a estação seca, os pontos I (0,05), II (0,13) e III (0,27) não apresentam potencial mutagênico em comparação ao controle negativo (0,09), similarmente ao observado na estação chuvosa [PI (0,19), PII (0,09), PIII (0,20), água (0,09)] (Tabela 02).

Figura 07 - Alterações cromossômicas observadas em células meristemáticas de *A. cepa* utilizadas como parâmetros de genotoxicidade. A. Perda cromossômica; B. Ponte anafásica; C. Presença de micronúcleo.



6. DISCUSSÃO

As características naturais da disponibilidade hídrica no semiárido brasileiro, como altas taxas de evaporação e precipitações irregulares concentradas em três a quatro meses do ano que resulta em seca severa, propulsionam a busca por diferentes formas de armazenamento e otimização do uso da água nesta região (MARTINS, 2002; BRITO, 2007; VILAR, 2009). Assim, ao longo dos cursos de água dos recursos hídricos, a construção de açudes tornou-se a estratégia de armazenamento de água mais utilizada no semiárido brasileiro (GHEYI et al., 2012), fornecendo suporte hídrico para as atividades humanas e dessedentação animal, principalmente, na estação de estiagem.

Diante das características hídricas citadas e da exploração dos reservatórios, por vezes de forma não sustentável, pela população local, é notória a importância da prática do monitoramento ambiental nestas regiões, correlacionando análises físicas, químicas e genéticas, as quais devem ser realizadas em épocas do ano que se divergem em relação à disponibilidade hídrica (estação seca e chuvosa), observando

a influência da sazonalidade na dinâmica dos reservatórios e se as particularidades destas estações podem interferir na qualidade ambiental do mesmo.

De acordo com a resolução CONAMA 357/2005 e os valores dos parâmetros físicos e químicos obtidos no presente estudo (Tabela 01), o açude Entremontes enquadra-se como um ambiente de água doce e lântico, em relação ao tipo de água e de ambiente respectivamente, uma vez que suas águas possuem salinidade igual ou inferior a 0,5% e se caracteriza como água parada, com movimento lento ou estagnado. Por sua vez, segundo a qualidade requerida para os seus usos preponderantes, a água doce do Entremontes pode ser classificada em classe 2, onde as águas podem ser destinadas para o abastecimento e consumo humano, após tratamento convencional; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e à aquicultura e atividade de pesca (BRASIL, 2005).

Embora classificado como açude de águas doce classe II, os elevados teores de salinidade observados no Entremontes e seus afluentes amostrados, durante a estação seca, destaca uma variação sazonal possivelmente influenciada pelas condições hidrológicas e climáticas, seja pelo aumento da concentração de sais decorrente da evaporação acentuada neste período ou pela diluição dos sais diante da recarga pluviométrica na estação chuvosa (30.6 mm), a qual foi aproximadamente dez vezes maior que na estação seca (0.3 mm) (IPA, 2014).

Tal variação sazonal também foi notada para os parâmetros TDS e Nitrogênio amoniacal em PI e PIII, os quais não se enquadraram dentro dos limites estabelecidos para este tipo de ambiente pelo CONAMA, na mesma estação. Os dados obtidos ressaltam elevados níveis de TDS e CE, sendo condizente com informações descritas na literatura as quais retratam uma relação diretamente proporcional entre essas variáveis (PARRON; MUNIZ; PEREIRA, 2011). Em conjunto, esses parâmetros alterados indicam ambiente impactado, principalmente, pelo lançamento de despejos industriais e domésticos (PARRON; MUNIZ; PEREIRA, 2011), sendo este último tipo de efluente notado nos pontos amostrados, principalmente em PI e PIII (Figuras 04 e 06). Em geral, níveis elevados de CE (acima de 100 S/cm segundo a CETESB, 2013) podem conferir características corrosivas a água. Por sua vez, valores altos de TDS podem causar danos aos peixes, por causa da probabilidade de ocorrer sedimentação

dos sólidos no leito dos rios danificando os leitos de desova de peixes e pela própria eliminação de organismos que vivem nos sedimentos e servem de alimento para outros organismos (CETESB, 2013).

Essas descargas de efluentes urbano e agrícola, também notada nos locais amostrados, contribuem com o acúmulo de matéria orgânica no ambiente o qual é potencializado durante a estação seca, onde se observa um baixo índice de pluviosidade, como observado no presente trabalho. Conseqüentemente, uma menor diluição da matéria orgânica exige uma maior capacidade autodepurativa dos reservatórios (FRACÁCIO et al., 2000), o que pode ter resultado no aumento da concentração de OD observado principalmente no PIII.

Não obstante ao aumento das concentrações de TDS, CE e OD, os despejos urbanos e agrícolas podem estar relacionados aos teores tóxicos de amônia observados em todos os pontos amostrados, uma vez que em suas composições é comum observar resíduos de produtos de limpeza e fertilizantes aos quais está atrelada a presença de amônia (CETESB, 2013). Ressalta-se que este nutriente, em altas concentrações, é considerado restritivo à vida dos peixes nos ambientes aquáticos (FARIA-PEREIRA, 2005; CETESB, 2013), bem como sugerem níveis de contaminação orgânica e processo de eutrofização (MACEDO; SIPAUBA-TAVARES, 2010).

Associadamente, o menor índice de chuvas pode ter promovido uma menor dispersão do nitrogênio amoniacal ao longo dos pontos de amostragem, ocasionando uma maior concentração deste nutriente na estação de estiagem em comparação à chuvosa. Os teores de nitrogênio amoniacal podem ser correlacionados ao potencial tóxico sugerido para as amostras de água do Entremontes e seus afluentes pelo bioensaio toxicológico com *A. cepa*, o qual mostrou um baixo IG para o PIII (5%), similar ao controle positivo com MMS cuja ação envolve a inserção de um grupo metila nas bases nitrogenadas lesando a molécula de DNA (COSTA; MENK, 2000), bem como a diminuição do VCMR para PI e PII, similar ao controle positivo com trifluralina. Essas informações indicam a presença de substâncias nas amostras de água que podem ter influenciado no processo de divisão celular e, conseqüentemente, na germinação das sementes de cebola (MARIN-MORALES, 2008), a exemplo da amônia, existindo relatos da sua atuação inibindo a germinação e o índice mitótico, assim como ocasionando alterações celulares em *A. cepa* (SECKBACH, 1999).

Entretanto, não se pode descartar que essa toxicidade seja resultante da ação conjunta de contaminantes presentes nos diferentes efluentes recebidos pelos pontos amostrados. A ação sinérgica pode, até mesmo, potencializar os níveis de toxicidade levando, por exemplo, a morte celular (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008), o que mascararia os efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos, não sendo detectadas modificações do IM, IAC e IMt, como visualizado na análise das amostras coletadas na estação seca e em outros recursos hídricos (DUSMAN et al., 2011; 2012; FERREIRA et al., 2012).

Este nível de toxicidade não foi evidenciado na estação chuvosa, nem por alterações dos parâmetros físicos e químicos, com exceção do OD, nem pelo bioensaio com *A. cepa*, cujos IG e VCMR não apresentaram diferenças significantes em relação ao controle negativo. Porém, em se tratando de citotoxicidade e genotoxicidade, um aumento do IM em PIII e do IAC em PI e PIII na estação chuvosa revela a presença de potencial citotóxico e genotóxico, respectivamente, o que também pode interferir na qualidade da água dos pontos amostrados.

O nível de citotoxicidade de um composto pode ser determinado pela diminuição ou aumento do IM em células meristemáticas de *A. cepa* (SMAKA-KINCL et al., 1996; MATSUMOTO et al., 2006), sendo o aumento observado no presente estudo. Tais agentes mutagênicos induzem a uma proliferação celular descontrolada podendo acarretar em prejuízos para o organismo, levando à formação de neoplasias e ao acúmulo de alterações cromossômicas (CHRISTOFOLETTI, 2008). Em alguns casos, a elevação do IM tem sido correlacionada a altos valores de DQO (Demanda Química de Oxigênio) e DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) (DUSMAN, 2014), bem como a substâncias presentes em efluentes de industriais têxteis (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; ALVIM, 2011) e petroquímicos (MACHADO, 2013), os quais não foram encontrados nas áreas de amostragem deste trabalho. Entretanto, os compostos químicos de resíduos urbanos e agrícolas, visualizados no açude Entremontes e afluentes analisados, podem ter sido inseridos nas águas amostradas mediante o processo de lixiviação promovido pelas chuvas levando ao potencial citotóxico e/ou genotóxico.

Na Sub-Bacia do Rio Brígida, além dos efluentes domésticos, agrícolas e industriais, outros fatores têm sido apontados como agravantes no processo de poluição dos recursos hídricos, como a retirada da cobertura vegetal natural, extremamente importante na redistribuição da água da chuva (GALVINCIO, 2007).

Esta Sub-bacia apresenta 57,33% de sua forma natural descaracterizada pela exploração através da agricultura de sequeiro e retirada da madeira para o polo gesseiro da Chapada do Araripe. Tais fatores aliados à ocupação desordenada do solo e a retirada da mata ciliar, principalmente nas proximidades dos açudes, também são responsáveis por comprometer a qualidade da água utilizada para consumo humano (MEDEIROS, 2003).

Em se tratando de genotoxicidade, a frequência das alterações cromossômicas tem sido utilizada, frequentemente, como um parâmetro valioso em estudos de monitoramento ambiental de recursos hídricos (MATSUMOTO et al., 2006; BEZERRA et al, 2013; BRAGA, 2014), uma vez que indica a presença de contaminantes e, por vezes, o seu respectivo mecanismo de ação aneugênica e/ou clastogênica. No presente estudo, elevados IAC sugerem a existência de compostos com ações aneugênica e clastogênica nas amostras dos PI e PIII, o que também pode ser suportado pelos tipos de alterações cromossômicas notadas, com destaque para as pontes anafásicas e micronúcleos.

As pontes anafásicas podem ser originadas de trocas ocorridas entre cromátides de cromossomos diferentes e/ou envolver uma ruptura/troca em algum ponto entre as cromátides de um mesmo cromossomo produzindo uma ponte lateral durante a anáfase (BRINKLEY; HUMPHREY, 1969; MARIN-MORALES, 2008). Já os micronúcleos podem ser resultantes da ação de substâncias clastogênicas, através de quebras cromossômicas, ou aneugênicas, que inativam o fuso mitótico levando a perdas de cromossomos inteiros, formando os micronúcleos (BORBOA,1996; STEINKELLNER, 1998; LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Considerando que, no presente estudo, a estação chuvosa apresentou parâmetros físicos e químicos dentro dos níveis esperados para este ambiente pela resolução CONAMA 357/2005, sugere-se que o potencial genotóxico das águas coletadas seja decorrente do acúmulo de algum composto químico não detectado pelas técnicas utilizadas neste trabalho, tendo em vista que a maioria das amostras ambientais são misturas bastante complexas por serem constituídas de diversos contaminantes derivados de atividades diferentes (LEME; MARIN-MORALES, 2009), a exemplo dos micropoluentes orgânicos e metais pesados (EGITO et al., 2007). Estes compostos, a depender da concentração, tempo de exposição e mecanismo de ação, podem se encontrar mais ou menos disponível no ambiente, fluindo por

escoamento superficial ou depositados nos sedimentos dos corpos d'água (ARRUDA, 2012).

Adicionalmente, as variações significativas de genotoxicidade entre as estações podem ser explicadas por outros fatores como um maior índice pluviométrico que leva a um maior carreamento de substâncias tóxicas mediante a lixiviação de poluentes oriundos do solo ou rede de esgotos (CHRISTOFOLETTI, 2008), por variações da carga poluidora despejada no ambiente (SÁ, 2006) e pela própria sazonalidade e dinâmica do ciclo das águas (BARBÉRIO, 2009; 2013; BIANCHI, 2011), as quais podem influenciar na concentração de substâncias tóxicas nos recursos hídricos, como já relatado por Scalon (2009) e Oliveira et al. (2012).

Assim, o presente estudo aponta a existência de potencial tóxico em PI e PII para o VCMR, e em PIII para o IG na estação seca. Nesta mesma estação não foram observados potenciais citotóxico e genotóxico, que foram observados na estação chuvosa, para PIII e P I e PIII, respectivamente. Em ambas estações de coleta não foi encontrado potencial mutagênico. Tais resultados são suportados pela correlação entre parâmetros físicos e químicos e bioensaios genéticos com *A. cepa*, através da influência da sazonalidade. Os dados reiteram a importância do monitoramento ambiental periódico deste recurso hídrico, para avaliar o real impacto dos efluentes neste ecossistema com a incorporação de outras estratégias como análise de sedimentos e de outros parâmetros físicos e químicos, com o intuito de auxiliar na elaboração de planos de gestão ambiental que visem à qualidade da água e formas de revitalização e conservação do recurso hídrico buscando o equilíbrio dinâmico do ambiente.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

✓ Os valores de VCMR e/ou IG indicaram a presença de potencial tóxico nas amostras de água coletadas em PI, PII e PIII na estação seca, enquanto que, na estação chuvosa, o IM e IAC sugeriram a existência de potencial citotóxico em PIII e genotóxico em PI e PIII.

✓ Os potenciais tóxico, citotóxico e genotóxico ressaltados nas amostras de águas coletadas podem estar relacionados às descargas de efluentes urbanos e agrícolas neste reservatório e a própria dinâmica das águas deste ambiente;

✓ A sazonalidade influencia diretamente na concentração de nutrientes e, conseqüentemente, na resposta dos organismos biológicos expostos às diferentes substâncias químicas;

✓ Os bioensaios com *A. cepa* demonstraram-se como uma importante ferramenta para diagnóstico de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade em recursos hídricos;

✓ Os bioensaios com *A. cepa* mostraram-se como ferramenta eficaz e importante para programas de monitoramento ambiental, fornecendo subsídios para a elaboração de programas de gestão socioambiental visando à melhoria da qualidade da água e seu uso sustentável.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AB'SABER, Aziz. Sertões e sertanejos: uma geografia humana sofrida. **Revista Estudos Avançados**, São Paulo, v.13, n. 36, p. 7-59, 1999. (USP/IEA).

Acessado em: 20 de Dezembro de 2014

AGOSTINI, J. M. O Teste do Micronúcleo: Seu Uso No Homem. **Biotemas**, Florianópolis, v. 6, n.2, p. 1-19, 1993.

ALVIM, L. B.; KUMMROW, F.; BEIJO, L. A.; LIMA, C. A. de A.; BARBOSA, S. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L.. **Revista Ambiente & Água**, v. 6, p. 255-265, 2011.

APAC – Agência Pernambucana de águas e Clima. **Boletim de monitoramento dos reservatórios**. Disponível em: http://www.apac.pe.gov.br/pagina.php?page_id=5&subpage_id=13. Acesso em: 10 de Agosto de 2014.

APHA / AWWA / WEF: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st Ed., USA, APHA, 2006.

APHA. **Standard methods for the Examination of water and wastewater**, 18th ed. American Public Health Association, Washington. 1992

ARRUDA, G. B. et al. Contaminações em sulfato e cloretos em águas de superfície e subsuperfície na região de Araripina-PE. **Estudos Geológicos** (UFPE), v. 22, p. 149-171, 2012.

AZEVEDO, F. A. **Toxicologia do Mercúrio**. São Carlos: Rima, 2003. 292p.

BARBÉRIO, A. Bioassays with Plants in the Monitoring of Water Quality. In: InTech. (Org.). **Water Treatment**. 1ed. Rijeka: InTech, p. 317-334, 2013.

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

BARBOSA, J. E. de L. et al. Aquatic systems in semi-arid Brazil: limnology and management. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 24, p. 103-118, 2012.

BAUMGARTEN, M. G. Z.; POZZA, S. A. **Qualidade de águas: descrição de parâmetros químicos referidos na legislação ambiental**. Rio Grande, ed. FURG, 2001. 164 p.

BEGUM, A.; HARIKRISHNA, S. Study on the wuality of water in some streams of Cauvery River. **E-Journal of Chemistry**, v. 5, n. 2, p. 377-384, 2008.

BENDSCHNEIDER, K.; ROBINSON, R. J. New spectrophotometric method for The determination of Nitrite in sea water. **Journal Marine Research**, n. 11, p. 87-96. 1952.

BEZERRA, et al. Potencial mutagênico dos poluentes na água do açude Epitácio pessoa em boqueirão e cabaceiras, PB, utilizando o teste *Allium cepa*. **Biofar: Revista de Biologia e Farmácia**, v. 9, p. 1-9, 2013.

BIANCHI, J. **Análise dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do inseticida Malation, utilizando os sistemas teste de *Allium cepa* e células de mamíferos**. 2008. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2008.

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E. L. G. ; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 826-833, 2011.

BISPO, P. C.; OLIVEIRA, L. G. Distribuição espacial de insetos aquáticos (Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera) em córregos de cerrado do Parque Ecológico de Goiânia, estado de Goiás. In: NESSIMIAN, J. L.; CARVALHO, A. L. (Eds). Ecologia de insetos aquáticos. **Series Oecologia Brasiliensis**, v. V. PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Brasil. 1998.

BOLOGNESE, C.; HAYASHI, M. Micronucleus assay in aquatic animals. **Mutagenesis**, v. 26, n. 1, p. 205-213, 2011.

BORBOA, L.; TORRE, C. de L. A. The genotoxicity of Zii (II) and Cd (II) in *Allium cepa* root meristematic cells. **New Phytologist**, v. 134, p. 481-486, 1996.

BRAGA, J. R. M; LOPES, M. D. Citotoxicidade e genotoxicidade da água do rio Subaé (Humildes, Bahia, Brasil) usando *Allium cepa* L. como bioindicador. **Revista Ambiente e Água** v. 10, 2014.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. “Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.” Data da legislação: 17/03/2005 - Publicação DOU nº 053, de 18/03/2005, p 58-63.2005.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Nº430/2011- “Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA” – Publicação DOU nº 92, de 16/05/2011, 2011. 89p.

BRASIL. Agência Nacional de Águas. **Relatório de Conjuntura dos Recursos Hídricos**. 2013. 434p.

BRASIL. Secretaria Agência e Jornal do Senado. **Em discussão**. V. 5, n. 23, p. 1-50. 2014

BRASIL. Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor. **Revista IDEC**. N. 187, p 9-11, 2014.

BRINKLEY, B. R.; HUMPHREY, R. M. Evidence for subchromatid organization in marsupial chromosomes. **Jornal of Cell Biology**, v. 42, p 827-831, 1969.

BRITO, L. T. de L.; SILVA, A. de S.; PORTO, E. R.. Disponibilidade de água e gestão dos recursos hídricos. In: BRITO, L. T. de L.; MOURA, M. S. de; GAMA, G. F. B. (Org.). **Potencialidades da água de chuva no Semi-Árido brasileiro**. 1ed. Petrolina, PE: Embrapa Semi-Árido, 2007, v. 1, p. 15-32.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, p. 722-725, 2008.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Determinação de fósforo em águas: método do ácido ascórbico. **Norma Técnica**. São Paulo, SP, 1978. 18p.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Guia de coleta e preservação de amostras de água**. Coord. Edmundo Garcia Agudo (et al.). São Paulo. 1987.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Relatório de qualidade das águas superficiais do Estado de São Paulo. Apêndice D – Significado Ambiental e Sanitário das Variáveis de Qualidade. 2013. 46p.

CHAPRA, S. **Surface water quality modelling**. New York, McGraw-Hill. 1997. 835p.

CHRISTOFOLETTI, C. A. **Avaliação dos potenciais citotóxico, genotóxico e mutagênico das águas de um ambiente lântico, por meio dos sistemas-teste de *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus***. 2008. 129 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2008.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; BETIOLI, J. V.; MARIN-MORALES, M. A. Avaliação da influência de agentes contaminantes presentes nos recursos hídricos da região de Araras/SP, por meio do sistema-teste de *Allium cepa*. In: SBMCTA 2007 - VIII Congresso Brasileiro de Mutagênese, Carcinogênese e Teratogênese Ambiental. Mangaratiba - RJ. **Revista Brasileira de Toxicologia**, 2007.

CONRAD, C. F.; CHISHOLM-BRAUSE, C. J. Spatial survey of trace metal contamination in sediments of the Elizabeth River, Virginia. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, p. 319-324, 2004.

COSTA, L.; SOUSA, M. V.; DELLAMATRICE, P. M. 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, 2009, Belém. **Anais do IV Congresso de Pesquisa e Inovação Tecnológica da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica**, 2009.

COSTA, R. M. A.; MENCK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 12, p. 24-26, 2000.

DNOCS. Departamento Nacional de Obras Contra as Secas. **Açude Entremontes**. Disponível em: <http://www.dnocs.gov.br/barragens/entremontes/entremontes.htm>. Acesso em: 10 de Agosto de 2014.

DONADIO, N. M. M.; GALBIATTI, J. A.; PAULA, R. C. de. Qualidade da água de nascentes com diferentes usos do solo na Bacia Hidrográfica do Córrego Rico, São Paulo, Brasil. **Revista de Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 115-125, 2005.

DÜSMAN, E. et al. *Allium cepa* L. as a bioindicator to measure cytotoxicity of surface water of the Quatorze River, located in Francisco Beltrão, Paraná, Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, p. 1793-1800, 2014.

DÜSMAN, E. et al. Cytotoxic potential of waters of the streams Mandacaru, Maringá, Miosótis and Nazareth in the urban area of Maringá, Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences** (Online), v. 34, p. 311-318, 2012. Disponível em: <http://eduem.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/8275>. Acesso em: 15 de Dezembro de 2014

DÜSMAN, E. et al. Vegetal test-system investigation on cytotoxicity of water from urban streams located in the northeastern region of Maringá, Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 33, p. 71-77, 2011. Disponível em : <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/4924>. Acesso em: 20 de Dezembro de 2014

EGITO, L. C. M. et al. Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu River, Northeastern/RN Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 2, p. 435-441, 2007.

ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. Interciência, Rio de Janeiro. 2011. 826 p.

ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. Interciência, Rio de Janeiro. 1998. 602 p.

FARIA-PEREIRA, L. P.; MERCANTE, T. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 31, p. 81-88, 2005.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, p. 252-259, 2007.

FERREIRA, C.F.; et al. Avaliação da citotoxicidade das águas dos ribeirões Varginha (Califórnia-PR) E Tabatinga (Mandaguari-PR), em *Allium cepa* L.. **SaBios** (Faculdade Integrado de Campo Mourão. Online), v. 7, p. 46-54, 2012.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.

FISKESJÖ G. The *Allium* test. In: wastewater monitoring. **Environmental Toxicology and Water Quality**, v. 8, p. 291-298, 1993.

FONSECA, J. C. L.; MARCHI, M. R. R.; FONSECA, J. C. L. **Substâncias perigosas à saúde e ao ambiente**. Editora UNESP: Cultura Acadêmica. 2008.119p.

FRACÁCIO, R. et al. Abordagem ecotoxicológica. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; Silva, J. S. V.; MARINELLI, C. E.; ABDON, M. M. (Eds.). **A Bacia Hidrográfica do Rio do Monjolinho**. Rima. São Carlos, p. 150–162. 2000.

FRENZILLI G.; NIGRO M.; LYONS B. P. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. **Mutation Research**, v. 681, p. 80-92, 2009.

GALVÍNCIO, J. D.; SILVA S.; MOURA, M. S. B.; RIBEIRO, J. G. Determinação das características físicas, climáticas e da paisagem da bacia hidrográfica do rio Brígida com o auxílio de técnicas de geoprocessamento e sensoriamento remoto. **Revista de Geografia** (Recife), v. 24, p. 82-95, 2007.

GEORGE, I.; CROP, P.; SERVAIS, P. Fecal coliform removal in wastewater treatment plants studied by plate counts and enzymatic methods. **Water Research**,

v.36, p. 2607-2617, 2002.

GHEYI, H. R. et al. **Recursos hídricos em regiões semiáridas: estudos e aplicações**. Campina Grande, PB: Instituto Nacional do Semiárido, Cruz das Almas, BA: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2012. 282p.

GOULART, M. D. C; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista da Fapam**, v. 2, n. 2, p. 153-164, 2003.

GRANT, W. F., 1982. Chromosome aberration assays in *Allium*: A report of the US environmental protection agency gene-tox program. **Mutation Research**, v. 99, 273-291.

HOSHINA, M. M.; MARIN-MORALES, M. A. Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 2090-2095, 2009.

IPA. Instituto Agrônomo de Pernambuco. **Sessão de Índices Pluviométricos**. Disponível em: http://www.ipa.br/indice_pluv.php. Acesso em: 25 de Dezembro de 2014.

IVANCIC, I.; DEGOBBIS, D. An optimal manual procedure for ammonia analysis in natural waters by the Indophenol Blue Method. **Water Research**, v. 18, n. 9, p. 1143-1147, 1984.

KRÜGER, R. A. Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa*. **Centro Universitário Feevale**, Novo Hamburgo, 2009.

LEME, D. M.; ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, v. 88, p. 214-219, 2008.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 682, p. 71-81, 2009.

LEVAN, A. The effect of colchicine on root mitosis in *Allium*. **Hereditas**, v. 24, p. 471-486, 1938.

LIMA, V. T. A.; CAMPECHE, D. F. B.; PEREIRA, L. A. Caracterização da água de açudes com peixes no semiárido pernambucano. **Revista Acadêmica Ciência Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 7, n. 4, p. 395-405, 2009.

LOPES, H. L. et al. Análise preliminar da degradação ambiental na bacia do Brígida – PE utilizando imagens TM e ETM. In: **Anais-II Simpósio regional de geoprocessamento e sensoriamento remoto**, 2004, Aracaju, 2004.

LOPES, H. L. et al. Análise de índices de vegetação na bacia o rio Brígida, sertão do estado de Pernambuco. In: III Simpósio Brasileiro de Ciências Geodésicas e Tecnologias da Geoinformação, 2010, Recife. **Anais**. p. 1 de 8.

MACEDO, C. F.; SIPAUBA-TAVARES, L. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: Consequências e recomendações. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 36, p. 149-163, 2010.

MACHADO, A. T. Avaliação do potencial mutagênico do efluente do terminal petroquímico Almirante Soares Dutra, (Osório-RS-Brasil) através do teste de micronúcleo em *Allium cepa*. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2013.

MARINELLI, C. E. et al. Limnologia. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; SILVA, J. S. V.; MARINELLI, C. E.; ABDON, M. M. (Eds.). **A Bacia Hidrográfica do Rio do Monjolinho**. Rima, São Carlos, p.133-149. 2000.

MARIN-MORALES, M. A. 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.

MATSUMOTO, S. T. et al. 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. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, p. 148-158, 2006.

MEDEIROS, M. S. **Poluição ambiental por exposição à poeira de gesso: impactos na saúde da população**. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Departamento de Saúde Coletiva, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz. 2003.96p.

MIGID, A. H. M.; AZAB, Y. A.; IBRAHIM, W. M. Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v. 66, p. 57-64, 2007.

MOURA, M. S. B. et al. Clima e água de chuva no Semiárido. In: BRITO, L. T. L.; MOURA, M. S. B.; GAMA, G. F. B. (Org.). **Potencialidades da água de chuva no Semi-Árido brasileiro**. 1ed. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2007, v. 1, p. 37-59.

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

OLIVEIRA, J. P. W.; et al. Genotoxicidade e análises físico-químicas das águas do rio dos Sinos (RS) usando *Allium cepa* e *Eichhornia crassipes* como bioindicadores. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 1, n. 1, p. 15-22, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5433/2316-5200.2012v1n1p15>_Acessado em: 05 de Janeiro de 2014.

PARRON, L. M.; MUNIZ, D. H. F.; PEREIRA, C. M. **Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água**. Colombo-PR, Embrapa Florestas, 2011.

PEKEY, H.; KARAKAS, D.; BAKOGLU, M. Source apportionment of trace metals in surface waters of a polluted stream using multivariate statistical analyses. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, p. 809-818, 2004.

PEREIRA, L.; MERCANTE, C. T. J. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, v. 31, n.1, p. 81-88, 2005. Disponível em: ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/Pereira_31_1.pdf. Acesso em: 15 de Dezembro de 2014.

PROENÇA, C. E. M.; BITTENCOURT, P. R. L. **Manual de piscicultura tropical**. Brasília: IBAMA, 1994.

RAMSDORF, W. A. et al. Handling of *Astyanax* sp. for biomonitoring in Cangüiri Farm within a fountainhead (Iraí River Environment Preservation Area) through the use of genetic biomarkers. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, p. 5841-5849, 2012.

REBOUÇAS, A.C; et al. **Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação**. 3 ed. São Paulo: Escrituras, 2006.

RIBO, J. M; KAISER, L. E. *Photobacterium phosphoreum* toxicity bioassay. I. Test procedures and applications. **Environmental toxicology**, p. 305-323, 1987.

SÁ, M. U. **Avaliação da Mutagenicidade das Águas do Canal São Gonçalo, Pelotas, RS**. Trabalho de Conclusão de Curso. Monografia apresentada como um dos requisitos ao grau de Bacharel em Ciências Biológicas, área de concentração em Meio Ambiente do Curso de Ciências Biológicas do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS. 2006. 60p.

SCALON, M. C. S. Avaliação dos efeitos genotóxicos da água do rio dos Sinos sobre peixes e vegetais. 2009. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental) – Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2009

SECKBACH, J. Enigmatic Microorganisms and Life in Extreme Environments. **Life in Extreme Habitats and Astrobiology**, v. 1, 1999. 687 p.

SILVA, A. E. P. et al. Influência da precipitação na qualidade da água do Rio Purus. In: XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 2008, Florianópolis. **Anais XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, 2008. p. 3577-3584.

SILVA, J.; HEUSER, V.; ANDRADE, V. Biomonitoramento ambiental. In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. **Genética Toxicológica**, Porto Alegre: Alcance, p. 166-180, 2003.

SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR P.; LOVKA, M.; TOMAN, M.J. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. **Mutation Research – Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, Amsterdam, v.368, p.171-179, 1996.

STEINKELLNER, H. et al. Genotoxicity effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 31, p. 183-191, 1998.

TALAMONI, J. L. B.; RUIZ, S. S. Ecossistemas aquáticos: Contaminação, recuperação e preservação. Um tópico ligado à Educação Ambiental. In: NARDI, R. (Org.). **Ciência Contemporânea e Ensino: Novos Aspectos**. 1ed. Bauru: UNESP, v. 2, p. 49-53, 1996.

TUNDISI, J. G. **Água no século XXI: enfrentando a escassez**. Ed. Rima, São Carlos, SP, 2003. 255 p.

TURKOĞLU, S. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. **Mutation Research**, v. 626, p. 4-14, 2007.

VENKATESHARAJU, K. et al. Physico-chemical and bacteriological investigation on the river cauvery of Kollegal stretch in Karnataka. **Kathmandu University journal of Science, Engineering And Technology**, v. 6, n. 1, p. 50-59, 2010.

VENTURA, M. D.; ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. Mutagenic and genotoxic effects of the Atrazine herbicide in *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae) detected by the micronuclei test and the comet assay. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 90, p. 42-51, 2008.

VILAR, M. S. de A. **Condições ambientais e da qualidade da água no processo de eutrofização de açudes em cascata no semiárido Paraibano**. Dissertação apresentada ao Programa Regional de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente – PRODEMA, Universidade Federal da Paraíba /Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande, PB. 2009. 104p.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005. 452 p.