

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – ICIAG  
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

CAMILLA DE OLIVEIRA REZENDE

AVALIAÇÃO AMBIENTAL DO CÓRREGO BREJO ALEGRE, EM ARAGUARI  
(MG), UTILIZANDO *Allium cepa* E *Astyanax altiparanae* COMO SISTEMAS-  
TESTE.

UBERLÂNDIA – MG

2018

CAMILLA DE OLIVEIRA REZENDE

AVALIAÇÃO AMBIENTAL DO CÓRREGO BREJO ALEGRE, EM ARAGUARI  
(MG), UTILIZANDO *Allium cepa* E *Astyanax altiparanae* COMO SISTEMAS-  
TESTE.

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao curso de Engenharia  
Ambiental do Instituto de Ciências Agrárias  
da Universidade Federal de Uberlândia  
como requisito à obtenção do grau de  
bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Robson José de  
Oliveira Júnior.

UBERLÂNDIA – MG

2018

*O mais importante da vida não é a  
situação em que estamos, mas a  
direção para a qual nos movemos.*

**(Oliver Wendell Holmes)**

*Dedico esse trabalho a todos que  
contribuíram direta ou indiretamente  
para que obtivesse sucesso nessa  
jornada.*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte e apoio financeiro.

À Deus por toda sabedoria e proteção concedida a mim que proporcionou essa conquista.

Aos meus orientadores, Prof<sup>a</sup>. Dra. Sandra Morelli e o Prof. Dr. Robson José de Oliveira Júnior, pelo acompanhamento e orientação durante todo o trabalho.

À minha mãe Sirley e ao meu pai Delvas, pelo apoio incondicional.

À Lais Luciana dos Reis pela paciência, apoio e incentivos em todos os momentos.

À amiga Carine de Mendonça Francisco, pelo apoio nesse trabalho e nos projetos de Iniciação Científica.

Aos membros da Banca Examinadora, que aceitaram o convite para avaliarem este trabalho.

Aos amigos e amigas feitos no Laboratório de Citogenética da Universidade Federal de Uberlândia.

Ao Laboratório de Qualidade Ambiental (LAQUA), pela parceria.

Enfim, gostaria de agradecer todos que de alguma maneira fizeram parte dessa jornada, contribuindo para minha formação pessoal e profissional.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Identificação dos postos de monitoramento. P1. Coordenada 18° 39' 0.03" Sul e 48° 9' 53.80" Oeste. P2. Coordenada 18° 38' 4.76" Sul e 48° 9' 14.28" Oeste.

Figura 2. Demonstração de algumas etapas do experimento. Em A, medição das raízes e em B, seu desenvolvimento no último dia de observação.

Figura 3. Micronúcleos e alterações nucleares em eritrócitos de *Oreochromis niloticus*, após exposição a amostras de águas coletadas ao longo do rio Preto. A-C. Células micronucleadas; D. Núcleo *notched*; E. Núcleo *lobed*; F. *Broken-eggs*; G. Núcleo *blebbed*; H. Célula binucleada; I. Cariólise.

Figura 4. Fotos do local apresentando pontos críticos de degradação ambiental. A. Demonstra contaminação pontual por resíduos sólidos. B. e C. Demonstram focos erosivos. D. Demonstra a presença de substância espumosa sobre a água.

Figura 5. Aberrações cromossômicas em plantas do gênero *Allium cepa*, pertencente à família Alliaceae. A. Célula com perda cromossômica. B1 e B2. São célula portadora de micronúcleo.

Figura 6. Frequência de aberrações cromossômicas encontradas, por ponto de análise.

Figura 7. Imagem de microscopia óptica, magnificação 100x, de micronúcleos encontrados nos peixes *Astynax sp.*, analisados.

Figura 8. Frequência de micronúcleos encontrados, por ponto e tratamento.

Figura 9. Desenvolvimento radicular da *Allium cepa* em milímetros.

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1. Parâmetros analisados e seus respectivos valores padrões visto pela Resolução Conama nº 357. As linhas sombreadas estão em desacordo com a resolução.

Tabela 2. Frequência de anormalidades cromossômicas encontradas.

Tabela 3. Frequência de micronúcleos encontrados.

Tabela 4. Média e desvio padrão do comprimento das raízes em milímetros.

## LISTA DE ABREVIACÕES E SIMBOLOGIAS

% - Porcentagem

±SD – Desvio Padrão

µl – Microlitro

*A. cepa* – *Allium cepa*

Al – Alumínio

APP – Área de Preservação Permanente

CEUA - Comissão de Ética na Utilização de Animais

CN – Controle Negativo

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

Cu – Cobre

DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DQO - Demanda Química de Oxigênio

Dr. – Doutor

Dra. - Doutora

Fe – Ferro

h – Hora

HCl – Ácido Clorídrico

HDL - Lipoproteína de Alta Densidade

km – Quilômetros

km<sup>2</sup> - Quilômetros Quadrados

L – Litro

LAQUA - Laboratório de Qualidade Ambiental

mg – Miligrama

MG – Minas Gerais

mm – Milímetro

MN's – Micronúcleos

ND – Não Detectado

Nº - Número

OD - Oxigênio Dissolvido

p – alpha



P1 – Ponto 1

P2 – Ponto 2

pH – Potencial Hidrogeniônico

Prof. – Professor

Prof<sup>a</sup>. – Professora

ROS - Espécies Reativas de Oxigênio

UFU - Universidade Federal de Uberlândia

UNT - Unidades Nefelométricas de Turbidez

UPGRH - Unidade de Planejamento e Gestão de Recursos Hídricos do Alto Paranaíba

vs. – Versus

x – Vezes

Zn – Zinco

## RESUMO

Ecossistemas aquáticos recebem a maioria dos contaminantes provenientes de fontes industriais, urbanas e atividades agrícolas. Em algumas regiões, o ambiente tem sido perturbado de tal modo que a degradação destes contaminantes e restauração do equilíbrio natural não são possíveis. O biomonitoramento é uma ferramenta de avaliação da qualidade ambiental dentro de uma escala espacial e temporal definida, no monitoramento físico-químico é abordado a qualidade e a quantidade de fatores, podendo-se eventualmente inferir-se sobre os efeitos biológicos, enquanto que na bioindicação obtêm-se informações sobre os efeitos no sistema biológico, podendo-se eventualmente inferir sobre a qualidade e quantidade do fator estressor. O trabalho verificou a influência de efeitos antrópicos na qualidade das águas do Córrego Brejo Alegre. Foi realizado o teste de micronúcleo em ambas espécies empregadas, teste de desenvolvimento radicular, juntamente às análises físico-químico. A associação de todos os resultados, evidenciam que há substâncias poluentes genotóxicas em ambos os pontos de análise. Portanto, os resultados obtidos servem como base para verificar a interferência da degradação ambiental do Córrego Brejo Alegre sobre os aspectos biológicos dos organismos vivos que nele habitam.

**Palavras chave:** Monitoramento aquático, Análises físico-químico, Micronúcleo.

## ABSTRACT

Aquatic ecosystems receive most of the contaminants from industrial, urban, and agricultural sources. In some regions, the environment has been disturbed in such a way that the degradation of these contaminants and restoration of natural balance are not possible. Biomonitoring is a tool for assessing environmental quality within a defined spatial and temporal scale, in the physical-chemical monitoring the quality and quantity of factors are approached, and biological effects can be inferred, while in bio-reporting information on the effects on the biological system can be inferred, and it may be inferred on the quality and quantity of the stressor factor. The work verified the influence of anthropic effects on the quality of the waters of Brejo Alegre Stream. The micronucleus test was carried out in both species, root development test, along with physical-chemical analysis. The association of all the results shows that there are genotoxic pollutants at both points of analysis. Therefore, the obtained results indicate as a basis to verify the interference of the environmental degradation of the Brejo Alegre Stream on the biological aspects of the living organisms that inhabit it.

**Key words:** Aquatic monitoring, Physico-chemical analysis, Micronucleus.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	Página 1
2.	OBJETIVOS .....	Página 3
2.1.	Objetivo Geral .....	Página 3
2.2.	Objetivos Específicos .....	Página 3
3.	MATERIAIS E MÉTODOS .....	Página 4
3.1.	Área de Estudo .....	Página 4
3.2.	Parâmetros Físico-Químico da Água .....	Página 5
3.3.	Parâmetros Biológicos .....	Página 5
3.3.1.	<i>Allium cepa</i> .....	Página 5
3.3.2.	<i>Astyanax altiparanae</i> .....	Página 6
3.4.	Área Degradada .....	Página 7
3.5.	Teste Estatístico .....	Página 8
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	Página 10
4.1.	Análise Físico-Químico .....	Página 10
4.2.	Teste do Micronúcleo .....	Página 12
4.2.1.	<i>Allium cepa</i> .....	Página 13
4.2.2.	<i>Astyanax altiparanae</i> .....	Página 14
4.3.	Detecção de Citotoxicidade do organismo teste <i>Allium cepa</i> . .....	Página 17
4.4.	Considerações Finais .....	Página 19
5.	CONCLUSÃO .....	Página 20
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	Página 21

## 1. INTRODUÇÃO

A água é essencial para a manutenção da vida e discorrer sobre sua importância é fundamental para garantir a sobrevivência das espécies. A poluição de águas naturais por contaminantes biológicos ou químicos representa um problema no âmbito da preservação do meio ambiente (TELLES, 1999). Alterações na qualidade da água podem ser causadas por atividades naturais, que acontecem de maneira lenta, diferentemente das atividades de natureza antrópica, que são induzidas rapidamente nos ecossistemas (ESTEVES, 1998).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) determinou que, qualquer modificação das propriedades físicas, químicas ou biológicas da água, que possa afetar direta ou indiretamente a saúde, a segurança e o bem-estar das populações, causando prejuízos a estas, vem a ser poluição aquática (RESOLUÇÃO CONAMA Nº357, 2005).

Nos últimos anos o interesse da comunidade científica e das agências reguladoras em relação à detecção, conhecimento e controle de agentes ambientais responsáveis por danos à saúde humana e a sustentabilidade dos ecossistemas, tem aumentado. Dentre os ensaios utilizados para avaliar contaminantes ambientais, o teste de micronúcleo tem ganhado destaque, pela facilidade da técnica e por ser um indicador sensível a danos cromossômicos (MIELLI, 2009).

Micronúcleos são estruturalmente pequenos núcleos representando o material genético que foi perdido pelo núcleo principal, ocasionado por dano genético que pode ser causado por agentes físicos, químicos ou biológicos, capazes de interferir no processo de ligação do cromossomo as fibras do fuso, ou que possam induzir a perda do material genético (cromossomos inteiros ou fragmentados). A frequência de micronúcleos representa também a eficiência do mecanismo de defesa dos organismos indicadores (MERSCH et al., 1992).

Peixes e plantas são excelentes bioindicadores devido à eficiência que têm em metabolizar xenobióticos e poluentes, visto isso, análises de micronúcleo em espécimes de diferentes níveis tróficos vêm sendo crescentemente utilizada no biomonitoramento da qualidade ambiental (GRISÓLIA; CORDEIRO, 2000). As plantas segundo Mielli (2009) apesar das suas diferenças estruturais e metabólicas, podem oferecer informações sobre o potencial mutagênico de substâncias e oferece algumas vantagens como cultivo de baixo custo e fácil manutenção comparativamente aos peixes.

A concentração de poluentes pode impedir o desenvolvimento de muitos organismos, ocasionando desordem na cadeia alimentar. Alguns dos componentes acumulados nos níveis mais altos da cadeia trófica podem atingir o homem, e de acordo com seu grau podem levar

à formação de algum tipo de câncer (RIBEIRO et al., 2003). A utilização de monitores genotóxicos, principalmente em organismos aquáticos são ferramentas importantes para a avaliação da qualidade hídrica, já que detectam e avaliam o efeito dos poluentes no ecossistema aquático, e consequentes alterações de seu potencial tóxico após interação com o ambiente (JESUS e CARVALHO, 2008).

A determinação do local de pesquisa objetivou a avaliação da qualidade ambiental considerando a presença de potenciais pontos de poluição, tais como, lançamentos de águas residuárias industriais por frigoríficos e por clube recreativo, lançamento pontual de resíduos sólidos pela população local, uso e manejo incorreto do solo próximo às áreas de preservação permanente (APP), entre outros. Contudo, o objetivo principal deste trabalho foi analisar os indicadores de qualidade biológica da água do Córrego Brejo Alegre pertencente ao município de Araguari - MG, verificando se há contaminação aquática devido a atividades antrópicas. Para isso foram realizados os testes de análise de água utilizando parâmetros físico-químicos segundo a legislação Conama n°. 357/2005, de micronúcleo e observação ao desenvolvimento e/ou crescimento das raízes em plantas *Allium cepa* pertencente à família Alliaceae, e micronúcleo em peixes de gênero *Astyanax altiparanae*, da família Characidae, como biomarcadores de genotoxicidade.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral:**

O objetivo desse trabalho foi avaliar por meio de análises físico-químico da água e biológicas em cebolas (*Allium cepa*) e lambaris (*Astyanax altiparanae*) a influência de efeitos antrópicos na qualidade da água do Córrego Brejo Alegre.

### **2.2. Objetivos específicos:**

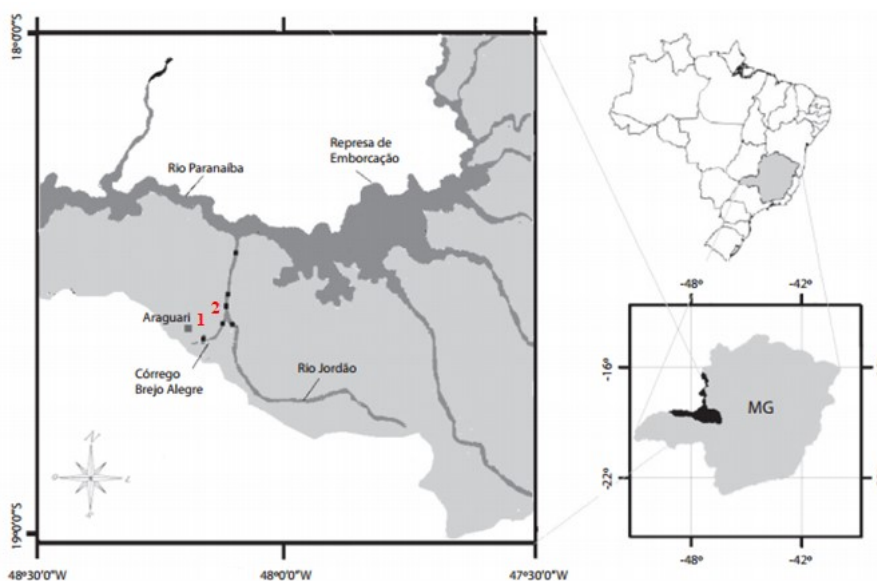
- Avaliar o desenvolvimento radicular de *Allium cepa* tratada com a água do Córrego Brejo Alegre.
- Avaliar o efeito genotóxicos da água do Córrego Brejo Alegre sobre as espécies *Allium cepa* e *Astyanax altiparanae*, comparando aos resultados das análises físico-químico de água.
- Avaliar pontualmente efeitos de degradação ambiental às margens do Córrego Brejo Alegre bem como em suas águas.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Área de Estudo

O município de Araguari situa-se no Triângulo Mineiro, as margens da BR-050 e possui área territorial de 2.731 km<sup>2</sup>. Prevalece no município clima tropical, clima este classificado como Aw de acordo com a Köppen e Geiger. Araguari tem uma temperatura média de 21.2 °C. Pluviosidade média anual de 1566 mm. Bioma, segundo IBGE (2004), caracterizado por Cerrado. O Rio Jordão, pertence à Bacia Hidrográfica do Rio Dourados – UPGRH PN1 e a sua sub-bacia hidrográfica localiza-se a oeste do Estado de Minas Gerais, entre as coordenadas 18°25'41" e 18°50'51" de latitude Sul e 47°49'47" e 48°12'51", Oeste. Perfaz aproximadamente 95 km, desde a nascente até a sua foz no Rio Paranaíba. O Rio Paranaíba é um dos afluentes do Rio Grande, o qual integra a Bacia Transnacional do Rio Paraná.

A sub-bacia do Rio Jordão tem como principal afluente o córrego Brejo Alegre, que se encontra poluído (SALLA et al., 2013). Foram escolhidos dois postos de monitoramento, sendo um posicionado à coordenada 18°39'0.03" Sul e 48°9'53.80" Oeste, próximo ao Frigorífico Prosperidad (Ponto 1) e o outro à frente do Frigorífico Mata Boi (Ponto 2) na coordenada 18°38'4.76" Sul e 48°9'14.28" Oeste. A figura 1 ilustra a bacia estudada com identificações dos pontos de monitoramento.



**Figura 1.** Identificação dos postos de monitoramento. P1. Coordenada 18° 39' 0.03" Sul e 48° 9' 53.80" Oeste. P2. Coordenada 18° 38' 4.76" Sul e 48° 9' 14.28" Oeste.

**Fonte.** SALLA (2013).



### **3.2. Parâmetros Físico-Químico da Água**

As amostras de água foram armazenadas e resfriadas em frascos tipo âmbar, capacidade de 1 litro, para posterior análise físico-químico realizadas pelo Laboratório de Qualidade Ambiental (LAQUA) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Os parâmetros avaliados foram, temperatura, turbidez, pH, alumínio, bário, cálcio, prata, berílio, cádmio, ferro, cobalto, crômio, cobre, gálio, potássio, lítio, magnésio, molibdênio, sódio, níquel, chumbo, rubídio, estrôncio, vanádio e zinco; nas amostras de água coletadas durante duas campanhas, período de estiagem/seco (abril a outubro) e período chuvoso (novembro a março).

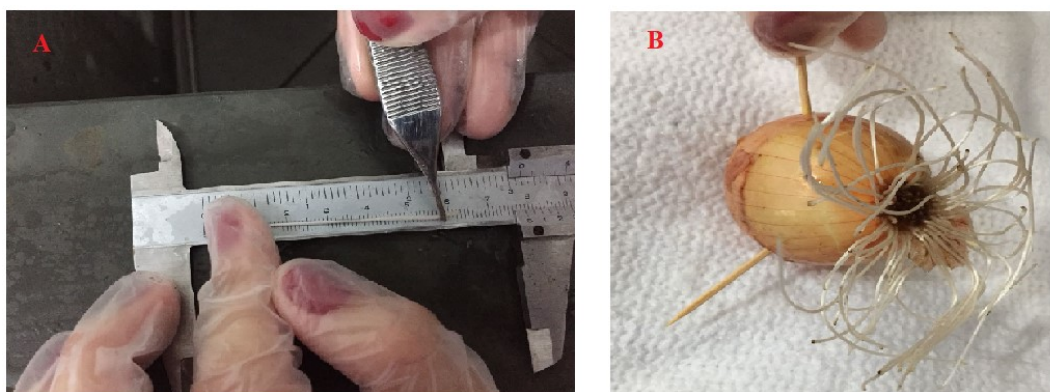
### **3.3. Parâmetros Biológicos**

#### *3.3.1. Allium cepa*

O teste de micronúcleos em plantas é um teste de genotoxicidade baseado na verificação de quebras cromossômicas expressas em micronúcleos, que são porções de cromatina que permanecem próximas ao núcleo celular, podendo ser originados de fragmentos cromossômicos acêntricos (efeito clastogênico) ou de cromossomos inteiros (efeitos aneugênico). Os micronúcleos são gerados devido a erros na replicação do material genético no momento de sua duplicação na prófase I da meiose, a quebra é causada após exposição dos meristemas jovens aos agentes mutagênicos. A frequência de micronúcleo tem sido utilizada para avaliar o grau de dano genotóxico aos quais as raízes desta planta são expostas, indicando a atividade mutagênica da substância em exposição (Ma, 1981; RODRIGUES et al., 2014).

Os ensaios foram feitos em laboratório, utilizando quinze plantas adquiridas comercialmente, subdivididas em três blocos de cinco espécimes, inicialmente o prato/bulbo, parte inferior da planta foi submergido em água, coletada dos dois pontos de análise e água da torneira desclorificada para o controle negativo (CN), durante 72 horas. Posteriormente foram coletadas as raízes que se desenvolveram e as medidas mensuradas com o auxílio de um paquímetro (Figura 2.). Para a realização deste estudo foi utilizado o protocolo estabelecido por Fiskesjö (1985). As raízes coletadas foram fixadas por 24h em solução de ácido acético e etanol (1:3) e conservadas em álcool 70% para posterior preparação das lâminas, que consistiu nas seguintes etapas: retirou-se o fixador utilizando

água destilada durante cinco minutos, em três repetições; hidrolisou-se em ácido clorídrico (HCl 5N) em temperatura ambiente por cinco minutos; para retirada do ácido as raízes foram lavadas, duas vezes em água destilada por três minutos; posteriormente foram enxugadas e dispostas sobre a lâmina juntamente com uma gota de ácido acético 45%, retirou-se a coifa e fragmentou-se o meristema, logo após a lamínula foi colocada; a lâmina foi imersa em nitrogênio líquido e a lamínula foi retirada; as lâminas foram coradas com solução Giemsa 10% diluída em tampão fosfato por 20 minutos, em seguida foram lavadas com água destilada e secas a temperatura ambiente. A análise citológica foi realizada em microscópio óptico, magnificação de 100x, foram examinadas 1000 células por planta em cada lâmina.



**Figura 2.** Demonstração de algumas etapas do experimento. Em **A**, medição das raízes e em **B**, seu desenvolvimento no último dia de observação.

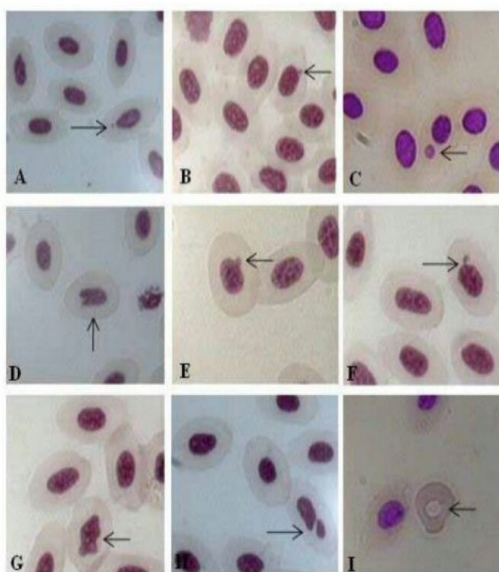
**Fonte.** Autor (2018).

### 3.3.2. *Astyanax altiparanae*

Visto a dificuldade de captura de peixes no local de coleta da água, os ensaios foram realizados em laboratório, com peixes adquiridos comercialmente, os aquários foram divididos em concentrações de 100%, 25% e 6,25% com água coletada dos locais de estudo, sendo então diluídas com água da torneira desclorificada. Em cada aquário foram alocados 15 espécimes de peixes, foram deixados em contato com a água analisada durante o período de sete dias, prazo necessário, para a renovação celular dos peixes. A utilização dos espécimes foi autorizada pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA), sob o número de protocolo 040/16.

O Teste do Micronúcleo foi realizado de acordo com o protocolo de Countryman e Heddle (1976) e Fenech (1993). Após submeter os espécimes ao experimento, foi feita a extração sanguínea por meio de punção da brânquia com auxílio de seringa heparinizada, posteriormente realizou-se o esfregaço em lâminas limpas, três lâminas por peixe, sete

peixes por concentração, totalizando 21 lâminas por concentração, totalizando, portanto, 63 lâminas. Em cada lâmina foi pingado cerca de 40µl de sangue, as mesmas secaram em temperatura ambiente e após 24 horas foram fixadas em metanol 100% por 20 minutos. Finalizou-se as lâminas corando-as com solução Giemsa 10% diluída em tampão fosfato por 15 minutos. As lâminas foram lavadas com água destilada e secas a temperatura ambiente, estando prontas para uso. A análise citológica foi realizada de acordo com a figura 3. em microscópio óptico, magnificação de 100x, 2000 células de eritrócitos branquiais foram examinadas por peixe em cada lâmina.



**Figura 3.** Micronúcleos e alterações nucleares em eritrócitos de *Oreochromis niloticus*, após exposição a amostras de águas coletadas ao longo do rio Preto. A-C. Células micronucleadas; D. Núcleo *notched* (seta); E. Núcleo *lobed* (seta); F. *Broken-eggs* (seta); G. Núcleo *blebbed* (seta); H. Célula binucleada (seta); I. Cariólise (seta), (MASCHIO, 2009).

### 3.4. Área Degradada

O conceito de área degradada ou de paisagens degradadas pode ser compreendido como locais onde existem (ou existiram) processos causadores de danos ao meio ambiente, pelos quais se perdem ou se reduzem algumas de suas propriedades, tais como a qualidade produtiva dos recursos naturais (DECRETO FEDERAL 97.632/89).

Botelho (2007) refere que um ecossistema degradado é aquele que após distúrbios, teve eliminados, com a vegetação, os seus meios de regeneração biótica. Seu retorno ao estado anterior pode não ocorrer ou ser bastante lento. Nesse caso, a ação antrópica é necessária para a sua regeneração em curto prazo.

Nascimento (2007) inclui a degradação ambiental como consequência das atividades que direta ou indiretamente prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população; criem condições adversas às atividades sociais e econômicas; afetem desfavoravelmente os fatores bióticos; afetem as condições estéticas ou sanitárias do Meio Ambiente e lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos.

A figura 4 demonstra pontos/focos críticos de degradação ambiental, encontrados em ambos os pontos de estudo.



**Figura 4.** Fotos do local apresentando pontos críticos de degradação ambiental.

**A.** Demonstra contaminação pontual por resíduos sólidos. **B.** e **C.** Demonstram focos erosivos. **D.** Demonstra a presença de substância espumosa sobre a água.

**Fonte.** Autor (2018).

### 3.5. Teste Estatístico

Zar (1999) descreve que os testes estatísticos são utilizados para se observar as medidas de tendência de um conjunto de dados, comparar hipóteses em diferentes grupos experimentais, testar diferenças entre grupos amostrais em um delineamento experimental, ajustar dados em um fator de dependência entre as variáveis, agrupar amostras em determinadas variáveis, classificar redes amostrais e outros.

Para elaboração do teste estatístico foi utilizado o software GraphPad Prism 6. O teste One-Way Anova foi aplicado visto os resultados do sistema teste *Allium cepa*, para micronúcleo e desenvolvimento radicular, com significância de 95% ou seja, alpha igual à 0,05 (com pós teste de Tukey), onde foi possível verificar a frequência de aberrações cromossômicas por indivíduo comparando-as por ponto de análise (Figuras 6., 8. e 9.). Já para o sistema teste *Astyanax altiparanae* aplicou-se o teste estatístico Two-Way Anova (com pós teste de Tukey – Alpha = 0,05), possibilitando a comparação entre a frequência de micronúcleos por ponto de análise e/ou por tratamento (Figura 8.).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Análise Físico-Químico

A tabela 1. indica os resultados dos parâmetros analisados para água em período de chuva e de estiagem, em que foram observadas alterações quanto às concentrações de alumínio, ferro, cobre e zinco, no qual estão acima do limite estabelecido pela legislação vigente (RESOLUÇÃO CONAMA N°357).

**Tabela 1.** Parâmetros analisados e seus respectivos valores padrões visto pela Resolução Conama n° 357.

Parâmetros	Conama 357(Classse 2)	Período Seco		Período Chuvoso	
		P1 (mg/L)	P2 (mg/L)	P1 (mg/L)	P2 (mg/L)
Temperatura	-	24,24	24,05	24,05	23,15
Turbidez	100.0 UNT	24.6	17	20,4	17
pH	6.0 - 9.0	7,21	7,37	7,43	7,37
Alumínio	0,1 mg/L	2,0099*	1,4260*	0,4257*	0,27185*
Bário	0,7 mg/L	0.0425	0.0575	0,05845	0,0805
Cálcio	500 mg/L	10.3874	11.1453	8,2249	8,0832
Prata	0,01 mg/L	ND	ND	0,0006	0,0008
Berílio	0,04 mg/L	0.0002	0.0002	0,0002	0,0002
Cádmio	0,001 mg/L	ND	ND	0,0001	0
Ferro	0,3 mg/L	1.3149*	1.5563*	1,09825*	1,509*
Cobalto	0,05 mg/L	0.0006	0.0013	0,0014	0,0014
Crômio	0,05 mg/L	0.0045	0.0159	0,0028	0,0016
Cobre	0,009 mg/L	0.0138*	0.0200*	0,0271*	0,02755*
Gálio	-	ND	0.0031	0,0008	0,0026
Potássio	-	14.8946	19.3068	6,977	7,2988
Lítio	2,5 mg/L	0.0019	0.0014	0,005	0,00485
Magnésio	-	2.0758	2.6567	1,8869	1,8957
Molibdênio	-	ND	0.0011	0,0049	0,00295
Sódio	-	49.831	54.0323	37,17655	27,32485
Níquel	0,025 mg/L	ND	ND	0,01015	0,0035
Chumbo	0,01 mg/L	ND	ND	0,0044	0,0037
Rubídio	-	0.0155	0.0180	0,0187	0,0133
Estrôncio	-	0.0547	0.0599	0,0409	0,0465
Vanádio	0,1 mg/L	0.0042	0.0043	0,00755	0,00775
Zinco	0,18 mg/L	ND	0.1143	0,30255*	0,1873

*Fonte.* Autor (2018).

\*Estão em desacordo com a resolução. ND – Não Detectado.

Os metais pesados são altamente reativos e tóxicos, mesmo em baixas concentrações. Como não podem ser degradados, representam umas das principais ameaças para a saúde humana e dos animais; em condições naturais a concentração de metais pesados é baixa, logo é possível medir o grau de degradação ambiental por ações antrópicas e a partir de análises de monitoramento físico e químico de água e sedimentos (ZHANG et al., 2013).

Os valores dos parâmetros de ferro (Fe) e alumínio (Al) verificados nas análises físico-químico estão acima dos limites permitidos pela Resolução Conama nº. 357, tanto para período chuvoso quanto seco, estes elementos são essenciais e necessários para o crescimento e sobrevivência da maioria dos seres vivos, e na região do Cerrado são compostos essenciais. Porém, ao estarem elevados podem aumentar a formação de radicais livres e se tornarem extremamente tóxicos para as células de animais que habitam nestes cursos d'água (MATSUMOTO; MARIN-MORALES, 2004), visto que o ferro está envolvido em diversos processos metabólicos como o transporte de oxigênio, transporte de elétrons, síntese de DNA e atua como cofator de muitas proteínas (SALVADOR et al., 2011). A presença de Fe em cursos d'água muitas vezes está associada ao carreamento do solo e à processos erosivos das margens, sejam eles naturais ou antrópicos (OLIVEIRA, 2013). A fitotoxicidade do Al nas plantas manifesta-se principalmente, na inibição do crescimento das raízes dos vegetais, o que resulta num menor volume de solo explorado pela planta, o que traz consequências negativas sobre a nutrição mineral e sobre a absorção de água (Foy et al., 1978).

Os valores de cobre (Cu) e zinco (Zn) também estão acima do permitido pela legislação vigente (Conama nº 357), Cu em ambos os períodos de análise (seco e chuvoso) e Zn no período chuvoso. Os elevados níveis de Zn neste período (Chuva) podem estar associados a processos de lixiviação devido à precipitação. Os metais pesados, como por exemplo, o Cu e o Zn, podem se tornar letais devido à capacidade que possuem de formarem compostos estáveis que podem permanecer na cadeia alimentar, afetando os ecossistemas aquáticos. Provocam desde uma discreta, porém contínua, redução nas taxas de crescimento e reprodução e um aumento da taxa de mortalidade até a eliminação completa da biota (MAZON et al., 2000). Apesar de ser considerado um elemento-traço fundamental para algumas atividades celulares da comunidade aquática, o cobre pode tornar-se tóxico e, dependendo da sensibilidade do organismo, pode causar mortalidade ou estresse sub-letal, reduzindo a capacidade dos organismos aquáticos em competirem efetivamente no seu habitat (MAZON et al., 2000).

O elemento Cu em excesso pode alterar ou inibir vários passos do processo reprodutivo (BILLIARD et al., 1981), provocar deformidades vertebrais (BENGSTON e LARSSON, 1986), inibir a atividade de enzimas específicas (LORZ e McPHERSON, 1976), aumentar o consumo de oxigênio (O'HARA, 1971), induzir alterações histológicas no fígado, no rim e nas brânquias (BAKER, 1969) e provocar clivagem na molécula de DNA (POLLONI, 2017). Por outro lado, em caso de déficit, haverá falhas estruturais no colágeno e na elastina, problemas de plasticidade e solidez dos tecidos (BAKER, 1969). Estes metais (Zn e Cu) provocam a coagulação do muco sobre as brânquias dos peixes, causando sua asfixia (BRANCO, 1970). Um fenômeno que ocorre entre o Cu e o Zn é a adsorção competitiva, ou seja, ambos competem pelo mesmo sítio ativo, ocorrendo inibição da absorção de Zn quando há presença de Cu (TOMAZELLI, 2003). A toxicidade do Cu, bem como de diversas substâncias químicas, está diretamente relacionada à dureza da água (DOUDOROFF e KATZ, 1953; RIEMER e TOTH, 1970; HELLAWELL, 1988 e DAMATO et al., 1989). Altos teores de carbonato de cálcio, que determinam a dureza da água, podem afetar a concentração de Cu. Numa água dura, este metal se liga ao carbonato de cálcio formando compostos (RIEMER e TOTH, 1970; HELLAWELL, 1988). Além da dureza, a temperatura, o oxigênio dissolvido e o pH podem afetar a toxicidade do Cu. Entre as diferentes substâncias presentes na água, alguns elementos tais como, Al, Fe, Cu e Zn podem alterar suas propriedades estéticas e organolépticas, conferindo cor e sabor à água. Os valores superiores ao permitido na Resolução Conama nº 357 em ambos os pontos de estudo (P1 e P2), aos elementos Al, Fe, Cu e Zn são potenciais indicadores de poluentes que podem estar sendo carreados ao longo do curso d'água.

#### **4.2. Teste do Micronúcleo**

Ensaio de toxicidade são métodos utilizados na detecção e avaliação da capacidade inerente de um agente em produzir efeitos deletérios nos organismos vivos. Consiste na exposição de organismos padronizados a diferentes concentrações de substâncias químicas, compostos químicos, efluentes ou água, por um determinado período de tempo (GHERARDI-GOLDSTEIN et al., 1990).

##### **4.2.1. *Allium cepa***

As células meristemáticas de *Allium cepa* foram analisadas quanto a presença de anormalidades, tais como, células portadoras de micronúcleos e células com perdas e

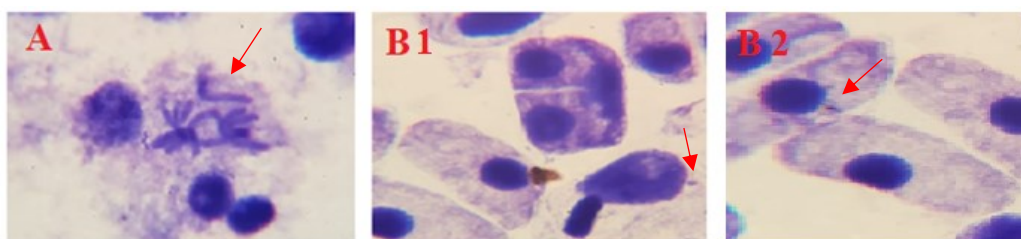


quebras cromossômicas (Figura 5.). A tabela 2 e a figura 6 demonstram a frequência e imagem de células com aberrações cromossômicas, por ponto de análise.

**Tabela 2.** Frequência de anormalidades cromossômicas encontradas.

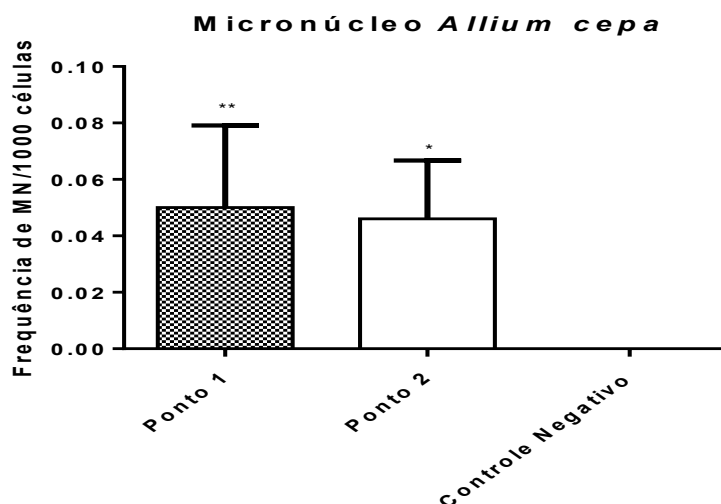
<i>Allium cepa</i>	Aberrações Cromossômicas			Células Analisadas
	Ponto 1	Ponto 2	Controle Negativo	
Planta 1	0,09	0,03	0,00	1000
Planta 2	0,05	0,07	0,00	1000
Planta 3	0,06	0,05	0,00	1000
Planta 4	0,04	0,02	0,00	1000
Planta 5	0,01	0,06	0,00	1000
<b>Total</b>	-	-	-	<b>5000</b>

*Fonte.* Autor (2018).



**Figura 5.** Aberrações cromossômicas em plantas do gênero *Allium cepa*, pertencente à família Alliaceae. A. Célula com perda cromossômica. B1 e B2. São célula portadora de micronúcleo.

*Fonte.* Autor (2018).



**Figura 6.** Os dados representam a frequência de aberrações cromossômicas encontradas, por ponto de análise. \*  $p < 0,05$  e \*\*  $p < 0,01$  [comparando com o controle negativo].

*Fonte.* Autor (2018).

Houve diferenças significativas na frequência de aberrações cromossômicas em P1 e P2 quando comparados ao CN, controle este realizado apenas com água da torneira desclorificada. De acordo com a figura 6, os espécimes cultivados em contato com a água coletada em P1 e P2 apresentaram maiores frequências de aberrações cromossômicas que o CN pois, estiveram em contato direto com substâncias potencialmente genotóxicas, tais como o Cu, o Zn e o Al. Nesse sentido, é preciso ressaltar que os ambientes aquáticos podem sofrer alterações de natureza físico-química de modo rápido, interferindo diretamente em sua complexidade e conseqüentemente em seu potencial ecotoxicológico (GOULART; CALLISTO, 2003), atestando a necessidade de monitoramento ambiental contínuo.

#### 4.2.2. *Astyanax altiparanae*

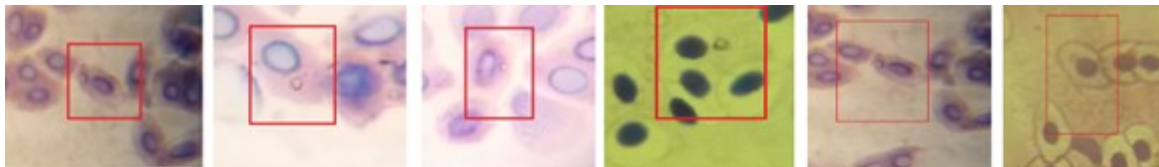
Foram analisadas 2000 células por indivíduo, a extração sanguínea foi feita em 7 indivíduos por concentração, para ambos os pontos (P1 e P2) e controle negativo, foram confeccionadas 3 lâminas por indivíduo, totalizando 21 lâminas por concentração da água do córrego Brejo Alegre (100%, 25% e 6,25%) e controle (Tabela 3.). A figura 7 demonstra alguns dos micronúcleos (MN's) encontrados nos eritrócitos branquiais da espécie analisada.

**Tabela 3.** Frequência de micronúcleos encontrados.

Concentrações	Indivíduos	Frequência de MN's Encontrados			Quantidade de Células Analisadas
		<i>Ponto 1</i>	<i>Ponto 2</i>	<i>Controle Negativo</i>	
100 %	Peixe 1	0,0045	0,0015	0,0000	2000
	Peixe 2	0,0050	0,0010	0,0000	2000
	Peixe 3	0,0060	0,0015	0,0000	2000
	Peixe 4	0,0055	0,0015	0,0000	2000
	Peixe 5	0,0035	0,0030	0,0000	2000
	Peixe 6	0,0025	0,0020	0,0000	2000
	Peixe 7	0,0020	0,0005	0,0000	2000
25%	Peixe 1	0,0030	0,0005	0,0000	2000
	Peixe 2	0,0025	0,0010	0,0000	2000
	Peixe 3	0,0025	0,0010	0,0000	2000
	Peixe 4	0,0030	0,0000	0,0000	2000
	Peixe 5	0,0015	0,0010	0,0000	2000
	Peixe 6	0,0010	0,0005	0,0000	2000
	Peixe 7	0,0020	0,0000	0,0000	2000
6,25%	Peixe 1	0,0000	0,0000	0,0000	2000
	Peixe 2	0,0005	0,0000	0,0000	2000
	Peixe 3	0,0000	0,0005	0,0000	2000
	Peixe 4	0,0005	0,0000	0,0000	2000
	Peixe 5	0,0010	0,0005	0,0000	2000
	Peixe 6	0,0000	0,0005	0,0000	2000
	Peixe 7	0,0000	0,0000	0,0000	2000
<b>Total</b>		-	-	-	<b>42000</b>

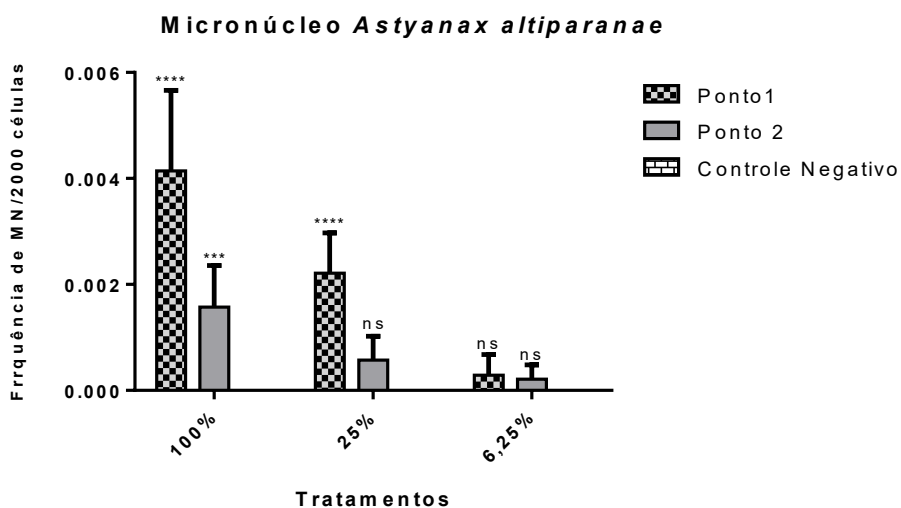
*Fonte.* Autor (2018).

O controle negativo, foi feito utilizando água da torneira desclorificada e não houve incidência de MNs (Tabela 3.).



**Figura 7.** Imagem de microscopia óptica, magnificação 100x, de micronúcleos encontrados nos peixes *Astyanax altiparanae*, analisados.

**Fonte.** Autor (2018).



**Figura 8.** Frequência de micronúcleos encontrados, por ponto e tratamento. \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$  e ns não significativo [comparando com o controle negativo].

**Fonte.** Autor (2018).

A frequência de micronúcleos demonstrada na figura 8. varia de acordo com a concentração do tratamento, os resultados foram significativos para a concentração de 100% em comparação a todos os pontos (P1, P2 e CN). Para a concentração de 25% foram significativos os resultados de P1 vs. P2 e P1 vs. CN, em P2 vs. CN não foi significativo. Já na concentração de 6,25% os resultados em todos os pontos não foram significativos. Comparando as concentrações analisadas no organismo teste (*Astyanax altiparanae*) com os pontos abordados temos que em todas as concentrações as diferenças encontradas foram superiores em P1 e foram diminuindo de acordo com a diluição.

Segundo Jesus e Carvalho (2008) a utilização de monitores genotóxicos, principalmente em organismos aquáticos são ferramentas importantes para a avaliação da

qualidade hídrica, já que detectam e avaliam o efeito dos poluentes no ecossistema aquático, e consequentes alterações de seu potencial tóxico após interação com o ambiente.

O ferro participa de várias funções vitais do organismo, como o transporte de oxigênio e de elétrons e a síntese do DNA. Desequilíbrios do metabolismo do ferro podem estar relacionados a sua deficiência ou sobrecarga (MACHADO et al., 2010). Segundo Prá e Henriques (2008), o excesso de ferro tem sido associado ao aumento do risco de doenças crônico-degenerativas e de câncer. O zinco participa como constituinte integral de proteínas ou cofator enzimático em mais de 300 reações químicas que envolvem a síntese e degradação de macromoléculas (CRUZ; SOARES, 2011). Além da ingestão insuficiente, o excesso de zinco também é prejudicial estando associado à supressão da resposta imune, diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL) e à redução das concentrações de cobre no plasma (JEN; YAN, 2010). O cobre desempenha um papel muito importante na ativação ou repressão da transcrição de genes (UAUY, 1998), participa de reações metabólicas de óxido redução e em excesso pode gerar espécies reativas de oxigênio (ROS) que quebram a molécula de DNA. O alumínio é o elemento metálico mais abundante na Terra. Está presente na dieta humana em níveis moderados (ABAL, 2018). Este elemento vem sendo considerado um metal tóxico a partir de pesquisas que demonstraram sua importância na doença de Alzheimer.

Alguns metais pesados traduzem-se em agentes tóxicos enquanto outros assumem-se como essenciais para o desenvolvimento dos seres vivos. Quando algum destes metais tóxicos atinge o organismo vai interagir com este, podendo o mesmo ser eliminado sem a produção de qualquer efeito ou então provocar danos que se podem refletir até ao limite extremo, a morte (ROCHA, 2009). Todas as formas de vida são afetadas pelos metais dependendo da dose e da forma química. Muitos metais são essenciais para o crescimento dos organismos, desde as bactérias até ao ser humano, no entanto, requeridos em baixas concentrações pois podem danificar os sistemas biológicos (GIMBERT, 2008), (VRIES, 1996) e (CALABUIG, 2004).

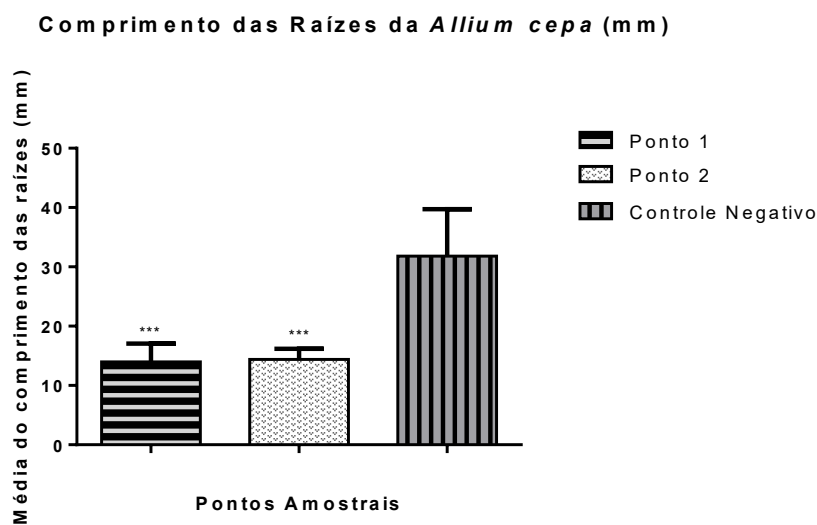
#### **4.3. Detecção de Citotoxicidade no organismo teste *Allium cepa***

O procedimento consistiu em observar o crescimento das raízes da cebola pelo período de 72 horas e analisar a inibição desse crescimento em função da presença de poluentes (Tabela 4.).

**Tabela 4.** Média e desvio padrão do comprimento das raízes em milímetros.

<i>Allium cepa</i>	Comprimento das Raízes (mm) - Média e Desvio Padrão ( $\pm SD$ )					
	<i>Ponto 1</i>		<i>Ponto 2</i>		<i>Controle Negativo</i>	
	Média	$\pm SD$	Média	$\pm SD$	Média	$\pm SD$
Planta 1	13,9	$\pm 4,3$	12,6	$\pm 5,1$	26,8	$\pm 5,0$
Planta 2	8,8	$\pm 3,4$	16,6	$\pm 4,3$	27,1	$\pm 3,0$
Planta 3	16,1	$\pm 5,9$	15,2	$\pm 5,1$	41,4	$\pm 9,5$
Planta 4	16,4	$\pm 4,9$	12,4	$\pm 2,0$	24,4	$\pm 3,1$
Planta 5	14,7	$\pm 4,6$	15,1	$\pm 5,6$	39,3	$\pm 7,0$

*Fonte.* Autor (2018).



**Figura 9.** Desenvolvimento radicular da *Allium cepa* em milímetros. Os dados representam a média  $\pm$  o erro padrão. \*\*\*  $p < 0.001$  [comparando com o controle negativo].

*Fonte.* Autor (2018).

Os resultados possibilitam verificar (Figura 9.) um melhor desenvolvimento radicular no CN. A inibição do desenvolvimento das raízes, comprova que há efeitos fito tóxicos ao organismo-teste (*A. cepa*) indicando contaminação ambiental associados a presença de metais.

Muitos metais são essenciais para o crescimento de todos os tipos de organismos, quando requeridos em baixas concentrações; se presentes em altas concentrações podem danificar sistemas biológicos. A toxicidade dos metais depende da dose a que o organismo foi exposto (PALÁCIO et al., 2013).

#### **4.4. Considerações Finais**

Sugere-se a posteriores trabalhos a análise de mais elementos, tais como, Demanda Química de Oxigênio (DQO), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Oxigênio Dissolvido (OD), objetivando a verificação dos níveis de autodepuração do Córrego Brejo Alegre associados à presença de metais pesados.

É necessário que os órgãos municipais, estaduais e federais competentes aumentem a fiscalização as instalações potencialmente poluidoras existentes às margens do Córrego Brejo Alegre, para que medidas mitigadoras e/ou compensatórias possam ser instituídas, de modo a evitar focos de poluição difusa na bacia hidrográfica pertencente ao córrego. Sugere-se também que novas análises sejam realizadas a montante de P1 e a jusante de P2, comparando os respectivos resultados, constatando se há focos de autodepuração no córrego para que sejam determinadas medidas eficientes de remediação ambiental.

## 5. CONCLUSÃO

Os testes de micronúcleo em ambas espécies empregadas e teste de desenvolvimento radicular, juntamente com os resultados obtidos na análise físico-químico mostrou-se testes rápidos e práticos para o monitoramento da poluição de ambientes aquáticos. A associação de todos os resultados, presença de metais pesados acima dos parâmetros permitidos em legislação (Conama nº 357), inibição do desenvolvimento das raízes da *A. cepa*, frequência de micronúcleos encontrados nos sistemas teste, presença de resíduos sólidos e focos erosivos, evidenciam que há substâncias poluentes genotóxicas em ambos os pontos de análise. Complementado os resultados dos sistemas teste (*A. cepa* e *Astyanax altiparanae*) e das análises físico-químico, verifica-se que em ambos organismos teste há maior incidência de aberrações cromossômicas em P1.

Portanto conclui-se que os resultados obtidos servem como base para verificar a interferência da degradação ambiental deste recurso hídrico sobre os aspectos biológicos dos organismos vivos que nele habitam.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAL. Exposição ao Alumínio. On Line: Associação Brasileira do Alumínio, 2018. Disponível em: <<http://abal.org.br/sustentabilidade/aluminio-e-saude/exposicao-ao-aluminio/#accordion>>. Acesso em: 19 de Novembro de 2018.

BAKER, J.T.P. Histological and electron microscopical observation on copper poisoning in the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). J. Fish. Res. Board. Can., v.26, p.2785-2793, 1969.

BENGSTON, B.; LARSSON, A. Vertebral deformities and physiological effects in fourhorn sculpin (*Myoxocephalus quadricornis*) after long-term exposure to a simulated heavy metals containing effluent. Aquat. Toxicol., v.9, p.215-229, 1986.

BILLIARD, R.; BRY, C.; GILLET, C. Stress, environment and reproduction in teleostish. In: PICKERING, A. D. (Ed.). Stress and fishes, London: Academic Press, 1981, p.185-207.

BOTELHO, S. A. et al. Avaliação do crescimento do estrato arbóreo de área degradada revegetada à margem do Rio Grande, na usina hidrelétrica de Camargos, MG. Revista Árvore. V. 31, 2007. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rarv/v31n1/20.pdf>> Acesso em 15 de Agosto de 2018.

BRANCO, S.M. Poluição e intoxicação de peixes. Comissão Interestadual da Bacia ParanáUruguai, 1970.216p.

CALABUIG, Gisbert; Medicina Legal y Toxicología, 6ª Edición; E. Villanueva Cañadas, Masson; 939-967; Barcelona; Espanha; 2004.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente Resolução CONAMA N. 357, 17 de março de 2005. 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. Ministério do Meio Ambiente.

CONTRYMAN, P. I.; HEDDLE, J. A. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. Mutation Research v. 41: 321-332. 1976.

CRUZ, Josilaine B. Fernandes; SOARES, Henrique Freire. UMA REVISÃO SOBRE O ZINCO. Campo Grande: Ensaios e Ciência Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde, 2011. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/pdf/260/26019329014.pdf>>. Acesso em: 19 de Novembro de 2018.

DAMATO, M.; BEYRUTH, Z.; MUCCI, J.L.N.; ALVARENGA, C.D.; ROCHA, A.A. O sulfato de cobre como agente tóxico. *Ambiente*, v.3, n.1, p.26-31, 1989.

DECRETO FEDERAL BRASIL. Decreto n. 97.632 - 10 abr. 1989. Dispõe sobre a regulamentação do Artigo 2o, inciso VIII, da Lei n. 6.938, de 31 de agosto de 1981, e dá outras providências.

DOUDOROFF, P., Katz, M., 1953. Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and their componentes to fish II. The metals as salts. *Sewage ind. Wastes* 25, p. 802-839. In: *Biochemistry*. Lehninger, A.L. (Ed.), New Youk: Worth.

ESTEVEES, F.A. Fundamentos de Limnologia. 2ª Ed: Rio de Janeiro: Interciência/ FINEP, 1998. 602p.

FENECH, M. 1993. The cytokinesis-blockmicronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutat.Res* 285:35-44.

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

FOY, C.D.; CHANEY, R.L. & WHITE, M.C. The physiology of metal toxicity in plants. *Ann. Rev Plant Physiol.*, 29:511-66, 1978.

GHERARDI-GOLDSTEIN, E. et al. Procedimentos para a utilização de ensaios de toxicidade no controle de efluentes líquidos. São Paulo: CETESB, 1990. 17 p.

GIMBERT, Frederic; VIJVER, Martina G.; COEURDASSIER, Michael; SCHEIFLER, Renaud; Peijnenburg, Willie J. G. M.; Badot, Pierre-Marie; Vaufleury, Annette; How Subcellular

Partitioning Can Help to Understand Heavy Metal Accumulation and Elimination Kinetics in Snails; *Environmental Toxicology & Chemistry*; Vol. 27 (6): 1284-1292; June; 2008.

GOULART, M.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM, Pará de Minas*, v. 2, n. 1, 2003.

GRISOLIA, C.K.; CORDEIRO, C.M.T. Variability in micronucleus induction with diferente mutagens applied to several species of fish. *Genetics and Molecular Biology*, v. 23, n. 1, p. 235-239, 2000.

HELLAWELL, J.M. Toxic substances in river and streams. *Environ. Pollut.*, v.50, p.61-85, 1988.  
ICZ. ND: O Zinco e o Meio Ambiente. São Paulo-sp: Icz | Copyright ©2018, 2018. Disponível em: <<http://www.icz.org.br/zinco-meio-ambiente.php>>. Acesso em: 26 de Agosto de 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. MAPA: Mapa de Biomas do Brasil. Brasil: IBGE, 2004. Disponível em: <[http://geoftp.ibge.gov.br/informacoes\\_ambientais/estudos\\_ambientais/biomas/mapas/biomas.pdf](http://geoftp.ibge.gov.br/informacoes_ambientais/estudos_ambientais/biomas/mapas/biomas.pdf)>. Acesso em: 12 de Dezembro de 2018.

JEN, M.; YAN, A.C. Syndromes associated with nutritional deficiency and excess. *Clin Dermatol.*, v.28, n.6, p.669-85, nov./dez. 2010.

JESUS, T.B.; CARVALHO, C.E.V. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). *Oecologia Brasiliensis*, v. 12, p. 680-693, 2008.

KÖPPEN, W.; GEIGER R. *Handbunch der Klimatologie*, Berlim: G. Borntraeger, 1939. 6v.

LORZ, H.W.; McPHERSON, B.P. Effects of Koper and zinc in freshwater fish on the adaptation to sea water and ATPase activity, and effects of copper on migratory disposition of coho salmon (*Oncorchus kisutch*). *J. Fish. Res. Board. Can.*, v.1, p.2023-2030, 1976.

MACHADO, Luciana Pereira; KOHAYAGAWA, Agumi; YONEZAWA, Leticia Andrezad; SILVEIRA, Veridiana Fernandes; SAITO, Mere Erika. Metabolismo do ferro em equinos atletas. Santa Maria: Ciência Rural, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v40n3/a490cr1624.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2018.

MASCHIO, Lucilene Regina. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO, GENOTÓXICO E MUTAGÊNICO DAS ÁGUAS DO RIO PRETO NA ÁREA DE INFLUÊNCIA DA REGIÃO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO/SP. 2009. 208 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Genética do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2009. Disponível em: <[https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/102733/maschio\\_lr\\_dr\\_sjrp.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/102733/maschio_lr_dr_sjrp.pdf?sequence=1&isAllowed=y)>. Acesso em: 12 de Dezembro de 2018.

MATSUMOTO, Silvia Tamie; MARIN-MORALES, Maria Aparecida. Mutagenic Potential Evaluation of the Water of a River That Receives Tannery Effluent Using the Allium cepa Test System. Rio Claro/sp: The Japan Mendel Society, 2004. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/67987/2-s2.0-15244361365.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 12 de Dezembro de 2018.

MAZON, A. F.; Pinheiro, G. H. D.; Fernandes, M. N. Contaminação dos ecossistemas aquáticos pelo cobre e risco potencial a biodiversidade: estudo da toxicidade do cobre em curimatá, *P. scrofa* (Teleostei, Prochilodontidae), Ecotoxicologia: perspectivas para o século XXI. Ed. São Carlos. 2000.

Mersch, J., A. Jeanjean, H. Spor and J.C. Pihan (1992) The freshwater mussel *Dreissena polymorpha* as a bioindicator for trace metals, organochlorines and radionuclides, in: D. Neumann and H.A. Jenner (Eds.), The Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*, *Limnologie Aktuell*, Vol. 4, Gustav Fischer, Stuttgart, pp. 227-244.

MIELLI, A. C.; MATTA, M. E. M.; NERSESYAN, A.; SALDIVA, P. H. N.; UMBUZEIRO, G. A. Evaluation of the genotoxicity of treated urban sludge in the *Tradescantia micronucleus* assay. *Mutation Research*, v.672, p.51-54, 2009.

NASCIMENTO, W. M. do. Planejamento básico para recuperação de área degradada em ambiente urbano. *Espacio y Desarrollo*. N.19, 2007. Disponível em: <<http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/espaciodydesarrollo/article/view/10641/11112>> Acesso em: 12 de Dezembro de 2018.

O'HARA, J. Alterations on oxygen consumption by bluegills exposed to sublethal treatment with copper. *Water Res.*, v.5, p.321-327, 1971.

OLIVEIRA, Brunna Stefanny Sangel de. QUALIDADE DA ÁGUA ASSOCIADA À VULNERABILIDADE CLIMÁTICA E RISCOS SANITÁRIOS NO BAIXO RIO JARÍ – AP. Macapá: Universidade Federal do Amapá, 2013. Disponível em: <[http://www2.unifap.br/cambientais/files/2014/01/TCC-BRUNNA\\_CIENCIAS-AMBIENTAIS-2009.pdf](http://www2.unifap.br/cambientais/files/2014/01/TCC-BRUNNA_CIENCIAS-AMBIENTAIS-2009.pdf)>. Acesso em: 12 de Novembro de 2018.

POLLONI, Lorena. Atividades biológicas de um complexo de cobre(III) contendo B-dicetona e 1,10-fenantrolina: citotoxicidade, genotoxicidade, toxicidade aguda e propriedade antitumoral. Uberlândia: UFU, 2017.

PRÁ, Daniel; HENRIQUES, João Antônio Pegas. Ferro e Estabilidade Genômica: Uma Análise Nutrigenômica dos Efeitos da Deficiência e da Sobrecarga. Porto Alegre: XVI Encontro de Geneticistas do Rio Grande do Sul, 2008. Disponível em: <<http://w3.ufsm.br/sbgrs/xviegrs/ppgbm/file/pre03.pdf>>. Acesso em: 19 de Novembro de 2018.

PALÁCIO, Soraya Moreno; CUNHA, Marcia Borin; ESPINOZA-QUIÑONES, Fernando Rodolfo E NOGUEIRA, Daniele Alves: Toxicidade de Metais em Soluções Aquosas: Um Bioensaio para Sala de Aula. Brasil: Química Nova na Escola, 2013.

RIBEIRO, L. R., FÁVERO SALVADORI, D. M. e MARQUES, E. K. 2003. Mutagênese Ambiental. Canoas: Ed. ULBRA, 356p.

RIEMER, D.N.; TOTH, S.J. Absorption of copper by clay minerals, humic and bottom muds. *J. Am. Wat. Works Ass.*, v.62, n.3, p.195-197, 1970.

ROCHA, Adriano Ferreira da. “Cádmio, Chumbo, Mercúrio – A problemática destes metais pesados na Saúde Pública?”. Porto: Fenaup, 2009. Disponível em: <[https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/54676/4/127311\\_0925TCD25.pdf](https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/54676/4/127311_0925TCD25.pdf)>. Acesso em: 19 de Novembro de 2018.

RODRIGUES, Everton N. L.; MENDONÇA JUNIOR, Milton de S.; OTT, Ricardo. Fauna de aranhas (Arachnida, Araneae) em diferentes estágios do cultivo do arroz irrigado em Cachoeirinha, RS, Brasil. 2014. 10 f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/isz/v98n3/a11v98n3.pdf>>. Acesso em: 12 de Dezembro de 2018.

SALLA, Marcio Ricardo et al. Self-depuration study of Jordão river, located in Dourados river Basin: Estudo da autodepuração do rio Jordão, localizado na bacia hidrográfica do rio Dourados. 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-41522013000200002](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-41522013000200002)>. Acesso em: 13 de Outubro de 2018.

SALVADOR, G. A.; ROMINAN, M. U.; GIUSTO, N. M. Iron and Mechanisms of Neurotoxicity. *International Journal of Alzheimer’s Disease*, 2011.

TELLES, D. D. Água na agricultura e Pecuária. In REBOUÇAS, A. C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. (Org. e coord. Cient). Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação. São Paulo: Escrituras Editora, 1999. P. 305-307.

TOMAZELLI, A.C. Estudo comparativo das concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio em seis bacias hidrográficas do Estado de São Paulo. Tese (Doutorado). FFCLRP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto-SP. 2003. 144p.

UAUY, R. et alli. (1998). Essentiality of copper in humans. *Am J Clin Nutr*, 67, pp. 952S959S.

Vries, John; *Food Safety and Toxicity*; CRC; 133-140; USA; 1996.

ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. 4th. ed. New Jersey: Prentice Hall, c1999.