

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Construção e utilização de projeto de Wetland construído para mitigação dos efeitos  
citogenotóxicos de afluentes urbanos contaminados

Luiza Seemann

Monografia apresentada à Coordenação  
do Curso de Biotecnologia, da  
Universidade Federal de Uberlândia, para  
obtenção do grau de Bacharel em  
Biotecnologia.

Uberlândia - MG  
Junho - 2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Construção e utilização de projeto de Wetland construído para mitigação dos efeitos  
citogenotóxicos de afluentes urbanos contaminados

Luiza Seemann

Dr. Robson José de Oliveira Júnior

Monografia apresentada à Coordenação  
do Curso de Biotecnologia, da  
Universidade Federal de Uberlândia, para  
obtenção do grau de Bacharel em  
Biotecnologia.

Uberlândia - MG  
Junho - 2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Construção e utilização de projeto de Wetland construído para mitigação dos efeitos  
citogenotóxicos de afluentes urbanos contaminados

Luiza Seemann

Dr. Robson José de Oliveira Júnior  
Instituto de Biotecnologia

Homologado pela coordenação do Curso  
de Biotecnologia em \_\_/\_\_/\_\_

Edgar Silveira Campos

Uberlândia - MG  
Junho – 2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Construção e utilização de projeto de Wetland construído para mitigação dos efeitos  
citogenotóxicos de afluentes urbanos contaminados

Luiza Seemann

Aprovado pela Banca Examinadora em:    /    /    Nota: \_\_\_\_\_

Robson José de Oliveira Júnior  
Presidente da Banca Examinadora

Uberlândia,    de    de

## **AGRADECIMENTOS**

Eu agradeço imensamente por toda a ajuda durante meu percurso na graduação à minha família. Sempre me apoiaram e me incentivaram e estou aqui graças a todo o esforço deles. Uma menção em especial à minha mãe, Sonia. Sem toda a sua ajuda, conselhos e correções, eu não seria a pessoa que sou hoje.

Sem a ajuda de muitas pessoas, meu trabalho não seria o melhor que pude oferecer. Agradeço aos meus professores durante a jornada, principalmente ao meu orientador professor Robson José de Oliveira Júnior. Muito obrigada a todo o conhecimento compartilhado e oportunidades oferecidas.

Agradeço a todos os meus amigos e companheiros que de alguma forma me ajudaram neste trabalho: Clara, Danilo, Lucas, Tiago, Victor e Rafael. Serei eternamente grata ao companheirismo de todos vocês.

Agradeço a todos do time do LABCITOGEN pelas experiências trocadas: Ana Flávia, João Marcos, Pedro, Alice, Ricardo e professoras Rute e Sandra.

Agradeço ao CNPq pela oportunidade de desenvolver o trabalho através do PIBITI.

## RESUMO

A água é um recurso finito e é de extrema relevância pesquisar e melhorar tecnologias de tratamento e monitoramento da água com o objetivo de ofertá-la com qualidade à população mundial, preferencialmente, sem haver grande demanda econômica. Considerando esse cenário, o presente trabalho propôs-se avaliar a atividade citogenotóxica em amostras de água coletada no Córrego Liso, afluente do Rio Uberabinha, anterior e posteriormente a realização da biorremediação tipo wetland construído, observando se há melhora da qualidade da água de forma significativa. Para atender esse objetivo, a água coletada do Córrego Liso foi tratada em um projeto experimental de wetland construído com *Eichhornia crassipes* e a atividade citogenotóxica foi avaliada por meio do teste com *Allium cepa*. Anteriormente ao tratamento, foi realizado análises físico-químicas na água coletada para avaliar a qualidade do afluente, calculando o Índice de Qualidade da Água (IQA). A avaliação de citogenotoxicidade foi realizada a partir do tamanho médio das raízes, Índice Mitótico (IM), frequência de Micronúcleos (MN) e frequência de Aberrações Cromossômicas (AC). Os resultados encontrados confirmaram que o Córrego Liso apresenta potencial genotóxico e o tratamento experimental utilizado (wetland construído com *Eichhornia crassipes*) é capaz de fitorremediar essa água, diminuindo o potencial genotóxico deste afluente. O potencial uso do aguapé como organismo biorremediador deve ser explorado e mais estudos podem ser realizados para desenvolver um modelo com utilização mais ampla pela sociedade para o tratamento de água.

**Palavras-chaves:** *Eichhornia crassipes*; biorremediação; biomonitoramento.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Caracterização da área de estudo.....	1
1.2. Avaliação da qualidade da água.....	4
1.3. Biorremediação por meio de wetland construído.....	5
1.3.1. <i>Eichhornia crassipes</i> .....	5
1.4. Bioensaio com <i>Allium cepa</i> .....	6
1.5. Justificativa.....	8
2. OBJETIVOS.....	9
2.1. Objetivo geral.....	9
2.2. Objetivos específicos.....	9
3. METODOLOGIA.....	9
3.1. Local de estudo, coleta de água e coleta de macrófitas.....	10
3.2. Análise dos parâmetros físico-químicos da água.....	12
3.3. Cálculo do Índice de Qualidade de Água (IQA).....	13
3.4. Bioensaio com <i>Allium cepa</i> .....	13
3.5. Biorremediação em modelo de experimental de wetland construído (CW).....	18
3.6. Análises estatísticas.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1. Qualidade da água do Córrego Liso.....	21
4.1.1. Análise dos parâmetros físico-químicos das amostras de água.....	21
4.1.2. Cálculo do Índice de Qualidade de Água (IQA).....	26
4.2. Biorremediação em modelo experimental wetland construído (CW).....	26
4.3. Ensaios citogenotóxicos.....	28
4.3.1. Toxicidade.....	29

4.3.2. Citotoxicidade.....	31
4.3.3. Genotoxicidade.....	33
5. CONCLUSÃO.....	37
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

## LISTA DE FIGURAS

1. Mapa da sub-bacia hidrográfica do Rio Uberabinha, Uberlândia, MG.....	2
2. Mapa da microbacia hidrográfica do Córrego Liso e ponto de coleta de água.....	3
3. <i>Eichhornia crassipes</i> .....	6
4. Visão geral do experimento.....	10
5. Foto do Córrego Liso na confluência com o Rio Uberabinha, local de coleta de amostras de água.....	11
6. Coleta das macrófitas no Instituto Federal do Triângulo Mineiro (IFTM), Campus Uberlândia.....	11
7. Morfologia dos bulbos de <i>A. cepa</i> .....	14
8. Montagem do experimento de bioensaio com <i>A. cepa</i> .....	14
9. Etapas da confecção de lâminas.....	15
10. Alterações genotóxicas consideradas no teste de genotoxicidade com <i>A. cepa</i> .....	16
11. Montagem de sistema experimental de wetland construído.....	19
12. Desenho experimental da biorremediação proposta com modelo experimental de wetland construído.....	20
13. Medição do diâmetro de cada indivíduo por meio de um paquímetro.....	20
14. Gráfico da relação peso dos indivíduos do tratamento por dia.....	26
15. Gráfico demonstrando comprimento médio de raízes de <i>Allium cepa</i> tratadas com as diferentes águas do Córrego Liso e com os controles negativo (C- água destilada), negativo com planta (C-p) e positivo (C+ MMS).....	30
16. Gráfico demonstrando o Índice Mitótico (IM) observado em células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> tratadas com as diferentes águas do Córrego Liso e com os controles negativo (C- água destilada), negativo com planta (C-p) e positivo (C+ MMS).....	32

17. Protótipo de wetland construído.....	33
18. Gráfico demonstrando a frequência de Aberrações Cromossômicas (AC) em 100 células em processo de divisão celular de <i>Allium cepa</i> tratadas com as diferentes águas do Córrego Liso e com os controles negativo (C- água destilada), negativo com planta (C-p) e positivo (C+ MMS).....	34
19. Células de <i>Allium cepa</i> coradas com Giemsa.....	35
20. Gráfico demonstrando a frequência de Micronúcleos (MN) em 1000 células em interfase de <i>Allium cepa</i> tratadas com as diferentes águas do Córrego Liso e com os controles negativo (C- água destilada), negativo com planta (C-p) e positivo (C+ MMS).....	35

## LISTA DE TABELAS

1. Padrão físico-químico para corpos de água doce Classe 2.....	12
2. Faixa de valores para classificar a água com os níveis de qualidade do Índice de Qualidade de Água (IQA).....	13
3. Parâmetros físico-químicos e microbiológico da água coletada do Córrego Liso.....	21
4. Concentrações de metais e fenólicos da água coletada do Córrego Liso.....	25
5. Média do número de bulbos por indivíduo para cada tratamento no projeto experimental de wetland construído e média dos diâmetros dos bulbos por tratamento no fim do experimento.....	27

## **1. INTRODUÇÃO**

De acordo com a ISO 14.001:2004, que trata sobre sistema de gestão ambiental, a definição de meio ambiente é “circunvizinhança em que uma organização opera, incluindo-se ar, água, solo, recursos naturais, flora fauna, seres humanos e suas inter-relações”.

Sendo parte do meio ambiente, os recursos hídricos são renováveis, mas finitos, sendo um recurso muito valioso para a manutenção da vida. Devido a sua grande importância, a água deve ser usada de forma consciente e sem desperdícios e deve ser mantida ótima para o consumo humano e animal. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2025, metade da população mundial viverá em áreas de estresse hídrico. Além disso, outro dado da OMS aponta que cerca de 3 a cada 10 pessoas no mundo não têm acesso a água potável em casa, contabilizando 2,1 bilhões de pessoas.

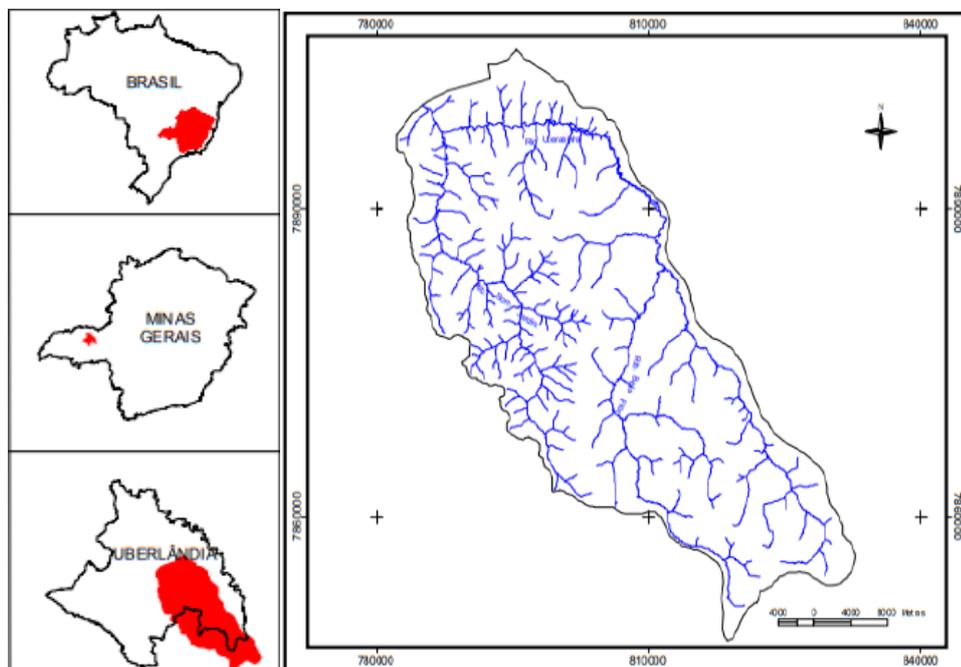
Diante desses dados, torna-se de extrema relevância pesquisar e melhorar tecnologias de tratamento e monitoramento da água com o objetivo de ofertá-la com qualidade à população mundial, preferencialmente, sem haver grande demanda econômica.

### **1.1. Caracterização da área de estudo**

Uberlândia é um município localizado na região chamada de Triângulo Mineiro, situado na porção sudoeste do estado de Minas Gerais, na latitude de 18° 55' 25"S e longitude de 48° 17' 19"W. O clima é tropical, sendo marcado por um período chuvoso e úmido entre dezembro e março, contrastando com um período entre julho e agosto com índices menores de chuvas e tempo seco. A vegetação predominante na cidade é o Cerrado (CARRIJO; BACCARO, 2001; PRADO et al., 2016).

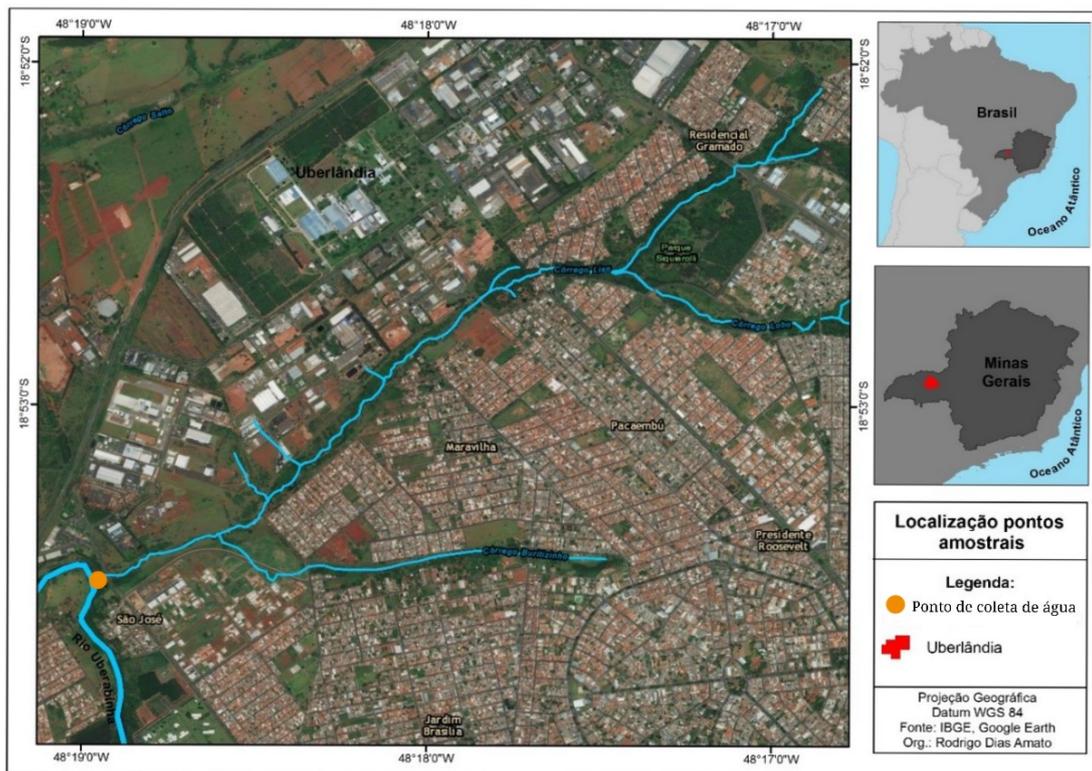
A sub-bacia hidrográfica do Rio Uberabinha (Fig. 1) está situada no estado de Minas Gerais, entre as coordenadas geográficas 18° 36' a 19° 21' S e 47° 51' a 48° 33' W. O Rio Uberabinha nasce no norte do município de Uberaba, atravessa o município de Uberlândia e

deságua no rio Araguari, fazendo a divisa entre as cidades de Uberlândia e Tupaciguara. A bacia hidrográfica do Rio Uberabinha é essencial para o município de Uberlândia, o qual concentra 37% de sua área, pois faz grande parte do abastecimento de água a partir do rio Uberabinha (sistema Sucupira) e do seu afluente, o ribeirão Bom Jardim (sistema Bom Jardim). Além disso, é historicamente importante para o desenvolvimento da cidade, já que a população ocupou sua extensão de diferentes formas. A área total dessa sub-bacia é de aproximadamente 2000 km<sup>2</sup>, desde a sua nascente até sua foz, possui cerca de 145 km de extensão e possui 49 afluentes, entre eles o Córrego Liso (BERNARDES, 2007; DMAE, 2015; VASCONCELOS; PAVANIN; PAVANIN, 2017).



**Figura 1:** Mapa da sub-bacia hidrográfica do Rio Uberabinha, Uberlândia, MG. Escala 1:100000  
Fonte: BERNARDES, 2007

O Córrego Liso corre no sentido Leste-Oeste com aproximadamente 5 quilômetros de extensão, recebendo como afluentes o Córrego Buritizinho (2,25 km) e o Córrego do Lobo (1,5 km). Esses corpos d'água formam a microbacia do Córrego Liso (Fig. 2), que possui uma área de 14,60 km<sup>2</sup>, localizando-se no Distrito Industrial de Uberlândia e rodeado por 13 bairros residenciais. O Córrego Liso é um afluente da margem direita do Rio Uberabinha (CARRIJO; BACCARO, 2001; PEIXOTO; SILVA; VIDIGAL, 2018).



**Figura 2:** Mapa da microbacia hidrográfica do Córrego Liso e ponto de coleta de água. Adaptado de Amato, 2018.

O Córrego Liso teve suas margens ocupadas desde os primeiros anos de crescimento significativo da cidade de Uberlândia e, possuindo esse elevado grau de ocupação, apresenta indicadores típicos de degradação ambiental de áreas que não foram acompanhadas por políticas de mitigação das ações antrópicas. Mas ainda existem algumas áreas verdes destinadas à conservação ambiental da microbacia do Córrego Liso no Parque Municipal Victório Siquierolli e no Parque do Distrito Industrial. Alguns estudos já puderam afirmar que existe contaminação desse afluente já que ele está localizado em uma área de grande potencial poluidor, próximo a uma área industrial. Isso reforça a necessidade de um monitoramento constante do Córrego Liso já que este influencia diretamente na qualidade da água do Rio Uberabinha, principal curso d'água municipal (AMATO, 2018; OLIVEIRA, 2018; PÉRES, 2005; QUEIROZ et al., 2014; ROSOLEN et al., 2009).

## **1.2. Avaliação da qualidade de água**

A biota aquática é vulnerável ao descarte de substâncias tóxicas, oriundas de diversas fontes de emissão. Sejam orgânicos ou inorgânicos, contaminantes afetam esse ambiente, assim como a fauna e flora residente nesses locais. Neste contexto, demanda-se acompanhamento amplo da qualidade do ambiente e a busca de novos processos que possibilitem atenuar esses efeitos (ARIAS et al., 2007)

Os testes comumente utilizados avaliam somente parâmetros físico-químicos e microbiológicos e comparados com os limites nacionais pré-estabelecidos pelo CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente na Resolução N° 357/2005. Entretanto a água pode possuir um potencial citogenotóxico que afete tanto a fauna e flora circundante, como a população humana. Seus efeitos não são tão bem avaliados quanto os parâmetros já previstos em lei, como recomenda a portaria N° 2.914/2011 do Ministério da Saúde, e deve ser reunido mais informações além dessas já recomendadas (ATHIRA; JAYA, 2018).

O monitoramento ambiental que utiliza testes em sistemas biológicos (biomarcadores), principalmente os quais analisam organismos vivos expostos a poluentes, sendo um importante complementar do monitoramento físico-químico, já que oferece uma forma de melhorar a identificação de poluentes emitidos. Quando comparado ao método tradicional físico-químico, o biomonitoramento propicia a obtenção de informações adicionais, como a exposição cumulativa dos poluentes na biota e a detecção de efeitos indiretos (SANTOS DE SOUZA et al., 2016).

Athira e Jaya (2018) afirmam que o biomonitoramento dos ecossistemas tornou-se indispensável para prever os potenciais riscos de contaminantes constantes, o que é útil para controlar os níveis ótimos de produtos químicos com potencial de bioacumulação, permitindo a manutenção da qualidade ótima da água.

### **1.3. Biorremediação por meio de wetland construído (CW)**

Wetlands construídos (CWs, em inglês) são zonas úmidas artificiais concebidas para viabilizar processos naturais para fins de tratamento de águas residuais, sendo classificadas em wetlands de fluxo superficial e subsuperficial, vertical ou horizontal, dependendo da hidrologia e trajetória do fluxo. CWs já foram usados para o tratamento de uma ampla variedade de águas residuais, devido à sua boa relação custo-benefício, forte capacidade de remoção de poluentes e sustentabilidade (CHEN et al., 2019).

Tem sido relatado há muito tempo na literatura como os CWs podem servir como uma alternativa econômica e promissora aos métodos tradicionais de tratamento de águas residuais para a remoção de uma gama de poluentes ambientais, como metais pesados e nutrientes nitrogenados. Essa tecnologia de biorremediação é mais barata, mais fácil de operar, com manutenção mais eficiente e possui o benefício adicional de ser uma instalação sustentável para múltiplas finalidades como pesca, produção de biomassa, recreação e paisagismo. Sendo sistemas de baixo custo e baixa tecnologia, os wetlands construídos são sistemas alternativos ou suplementares potenciais para o tratamento de águas residuais em países em desenvolvimento (CHEN et al., 2019; KIVAISI, 2001)

#### **1.3.1. *Eichhornia crassipes***

*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms é uma macrófita aquática comumente conhecida como aguapé, baronesa ou jacinto d'água (Fig. 3). É uma herbácea aquática flutuante originária de massas de água doce das regiões tropicais quentes da América do Sul, com distribuição natural nas bacias do Amazonas e do Rio Prata, sendo encontrada em todos os domínios fitogeográficos nacionais. Ela possui caule longo, esponjoso e bulboso com folhas brilhantes, largas, espessas, verdes ovais, inflorescência semelhante roxa e sistema radicular azul escuro (SOUSA, 2020).



**Figura 3:** *Eichhornia crassipes*. a) espécime coletado e utilizado no experimento. Fonte: Autoria própria. b) inflorescência característica da espécie. Fonte: Sousa, 2020.

O aguapé é uma espécie de planta aquática muito promissora para tratamentos de resíduos e efluentes. Essa espécie cresce sem exigências nutricionais excepcionais e, apesar disso, é capaz de absorver grandes quantidades de nutrientes, muitas vezes superiores a suas necessidades biológicas. Ela pode remover nitrato e fosfato de efluentes. Adicionalmente, é capaz de absorver elementos químicos que não participam de seu metabolismo. Isso garante uma significativa importância na fitorremediação de compostos tóxicos como cádmio, arsênico, cobalto, níquel, mercúrio e chumbo (ADELODUN; HASSAN; NWACHUCKWU, 2020; MEES et al., 2009; NAZIR et al., 2020).

Sua rápida taxa de crescimento e o extenso sistema radicular da *Eichhornia crassipes* fornecem um microambiente muito atrativo para microrganismos aderirem (bactérias e algas), aumentando o potencial de decomposição de matéria orgânica (AGARRY et al., 2020)

Fatores que influenciam o crescimento da planta são a temperatura, intensidade de luz, concentrações de fósforo, nitrogênio e carbono inorgânico dissolvido, velocidade da água e manutenção adequada do sistema (MEES et al., 2009).

#### **1.4. Bioensaio com *Allium cepa***

O teste de *Allium cepa* proporciona uma rápida triagem para analisar produtos químicos, poluentes e contaminantes. que podem representar riscos ambientais. É um sistema

clássico para avaliar efeitos tóxicos e mutagênicos e um conhecido teste biológico sensível e barato para a avaliação de riscos ecológicos e genéticos causados por xenobióticos, compostos químicos, misturas químicas complexas e metais pesados (FISKESJÖ, 1993; SINGH et al., 2014; VERMA; ARORA; SRIVASTAVA, 2016)

Neste ensaio com *A. cepa*, após a exposição dos bulbos de cebola à solução teste durante um determinado tempo, avalia-se os efeitos citotóxicos, analisando a morfologia e o crescimento das raízes e o índice mitótico. Também é possível avaliar os efeitos genotóxicos a partir da análise da frequência micronúcleos ou de anormalidades cromossômicas (FISKESJÖ, 1985).

Citotoxicidade é a capacidade intrínseca de um material em promover alteração metabólica nas células em cultura, podendo culminar ou não em morte celular. Sendo assim, neste bioensaio utilizando-se células de raiz de *Allium cepa*, a citotoxicidade é ratificada frente a um efeito mito-depressivo. Esse efeito poderia ser descrito como a redução da taxa de mitoses em comparação com a normalidade (controle negativo), ocorrendo uma baixa do índice mitótico. Isso significa que o teste com *Allium cepa* é capaz de indicar inibição da proliferação celular devido a presença de substâncias tóxicas, como metais pesados (SINGH et al., 2014). Entretanto, o aumento na taxa de mitoses frente ao controle negativo, ou seja, altos índices mitóticos, pode ser um indicativo de crescimento desordenado de células durante a divisão celular, sugerindo o aumento de erros de replicação (VERMA; ARORA; SRIVASTAVA, 2016). Consequentemente, existem maiores chances de se induzir a formação de tumores nos seres vivos que entrem em contato com esse tipo de amostra (OLIVEIRA, 2018).

A presença de anormalidades cromossômicas e de micronúcleos é frequentemente utilizada como um marcador biológico para a avaliação de efeitos clastogênicos, que provocam a quebra cromossômica, e aneugênicos, que induzem a aneuploidia ou segregação cromossômica anormal, em função da exposição a agentes genotóxicos (OLIVEIRA, 2018).

Uma alta quantidade ou frequência de micronúcleos em células indicam uma grande perda de fragmentos cromossômicos ou de cromossomos inteiros, por agentes que danifiquem diretamente os cromossomos, e por isso é um ótimo meio para se avaliar a presença de agentes clastogênicos e aneugênicos. Já as anormalidades cromossômicas podem identificar separadamente os efeitos clastogênicos, pela presença de pontes e fragmentos cromossômicos, e os efeitos aneugênicos, devido a alterações do fuso mitótico, pela presença de cromossomos retardatários, e efeitos muito tóxicos, como viscosidade cromossômica (FISKESJÖ, 1985).

### **1.5. Justificativa**

A água é recurso esgotável muito importante para a manutenção da vida, sendo que sua qualidade deve ser mantida ótima para o consumo humano e animal. Diante do aumento da exploração desse recurso por atividades antrópicas, a água sofre constantemente com a contaminação e a conseqüente perda de sua qualidade.

Dessa forma, esse projeto propôs realizar análise citogenotóxica associada com a biorremediação tipo wetland, que em conjunto apresentam um diferencial comparadas aos processos separados. Tal implementação pôde permitir uma avaliação e monitoramento da água coletada do Córrego Liso antes da biorremediação e posteriormente a ela, colocando sobre análise a genotoxicidade e citotoxicidade, fatores usualmente não observados.

Com a junção desses dois processos, foi verificado experimentalmente se essas técnicas se complementam na prática e se promovem a melhora da qualidade da água de forma significativa, analisando aspectos físico-químicos da água e citogenotóxicos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar atividade citogenotóxica em amostras de água coletada no Córrego Liso do Rio Uberabinha anterior e posteriormente a realização da biorremediação tipo wetland construído.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Analisar a composição físico-química e microbiológica da água do córrego Liso em sua confluência com o Rio Uberabinha;
- Avaliar o potencial citogenotóxico da água do córrego Liso por meio do teste do *Allium cepa*;
- Produzir um modelo experimental de wetland construído e tratar a água coletada, após análises iniciais;
- Analisar a água em seus aspectos citogenotóxicos após passar pelo tratamento via wetland construído;
- Avaliar a efetividade do sistema de biorremediação tipo wetland para redução da atividade citogenotóxica de afluentes contaminados.

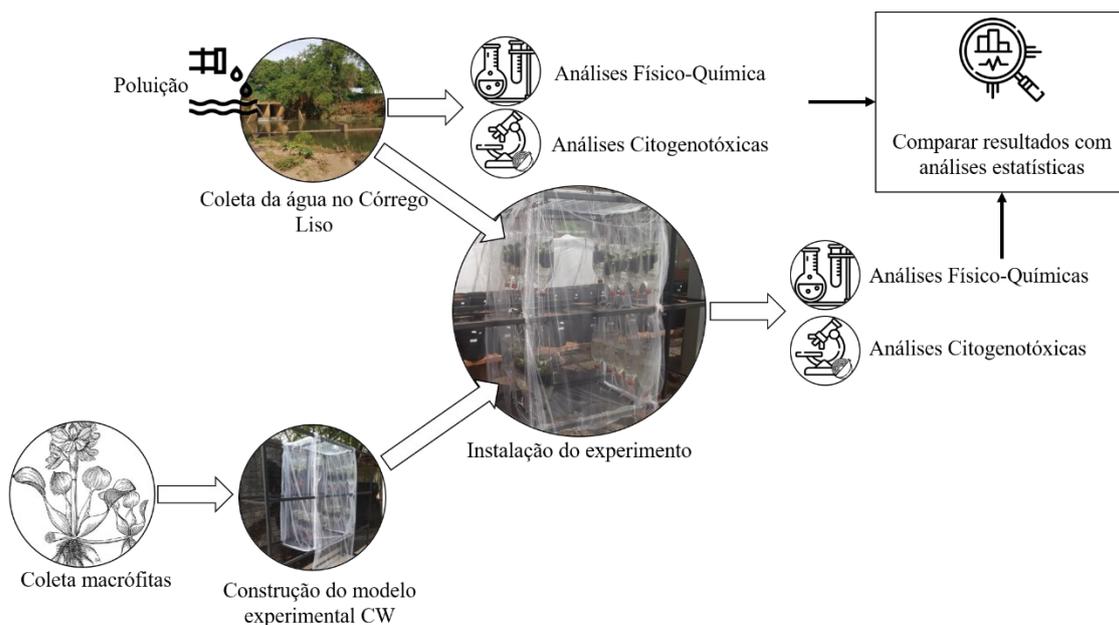
## **3. METODOLOGIA**

O presente trabalho foi realizado seguido três seções básicas, para melhor orientação e organização:

- 1) Preparo: atividades com o intuito de organizar o experimento.
  - a. Coleta das macrófitas
  - b. Construção do modelo experimental de wetland construído

- c. Coleta da água do Córrego Liso
- 2) Experimento: os próprios experimentos, meios para alcançar os objetivos deste trabalho.
- a. Análises físico-químicas e citogenotóxicas da água do córrego Liso
  - b. Instalação do modelo experimental de wetland construído
  - c. Análises citogenotóxicas da água do córrego Liso tratada
- 3) Análises estatísticas: comparação entre os dados obtidos nos experimentos para fazer a discussão e verificar a hipótese inicial.

Todas as atividades realizadas durante o experimento foram organizadas em um fluxograma (Fig. 4) para facilitar a compreensão do todo.



**Figura 4:** Visão geral do experimento.

### 3.1. Local de estudo, coleta de água e coleta de macrófitas

A coleta de água para estudos foi realizada no córrego Liso em sua confluência com o rio Uberabinha (Fig. 5) e ocorreu no início de agosto. Para a coleta, usaram-se galões de plástico com capacidade de 5L para as análises biológicas e vidros âmbar de 1L para os testes físico-

químicos. Esses recipientes estavam devidamente higienizados, mantendo as especificações exigidas para cada tipo de análise.



**Figura 5:** Foto do Córrego Liso na confluência com o Rio Uberabinha, local de coleta de amostras de água. Destaque para a degradação ambiental local e influencia antrópica no afluente, com um cano de descarga de efluente.

Posteriormente à coleta, os frascos foram imediatamente lacrados e refrigerados para o transporte até o local onde foram realizadas as devidas análises. A coleta e o transporte das amostras seguiram o protocolo da Associação Brasileira de Normas Técnicas (1987) e os métodos padrões para análise de água e de águas residuais (APHA, 2017), mantendo-os sob refrigeração e protegidos da luz até o momento dos testes físico-químicos e biológicos.

A coleta de macrófitas da espécie *Eicchornia crassipes* foi realizada dia 18 de agosto de 2019, no campus Uberlândia do Instituto Federal do Triângulo Mineiro (Fig. 6) e devidamente comparada com as características morfológicas descritas para a espécie, garantindo que o espécime coletado seja o mesmo do desejado e descrito (SOUSA, 2020).



**Figura 6:** Coleta das macrófitas no Instituto Federal do Triângulo Mineiro (IFTM), Campus Uberlândia. Fonte: Autoria própria.

### 3.2. Análise dos parâmetros físico-químicos da água

As análises da água coletada do Córrego Liso, sem qualquer tratamento, seguiram de acordo com o protocolo de Boyd e Tucker (1992), dosando oxigênio dissolvido (OD), pH, amônia não-ionizada, taxa de nitrato e nitrito, turbidez, cianeto livre, cloreto, sólidos totais dissolvidos, bário, metais pesados (arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio), cloro, cobre, sódio, manganês, cromo e zinco.

Os valores obtidos para cada parâmetro foram comparados com o que a Resolução do CONAMA N° 357/2005 (Tab. 1), legislação que oferece padrões e limites para a classificação de corpos de água e estabelece condições para o lançamento de efluentes, complementada pela Resolução N° 393/2007.

**Tabela 1:** Padrão físico-químico para corpos de água doce Classe 2

Parâmetros	Valor máximo
Oxigênio Dissolvido	Não inferior a 5 mg/L O <sub>2</sub>
Cloreto Total	250 mg/L Cl
Coliformes Termotolerantes	1000/100mL
pH	6,0 a 9,0.
DBO 5 dias a 20°C	Até 5 mg/L O <sub>2</sub>
Nitrato	10,0 mg/L N
Fósforo Total	0,1 mg/L P
Turbidez	até 100 UNT
Sólidos Dissolvidos Totais	500mg/L
Nitrogênio Amoniacal Total	3,7mg/L N para pH ≤ 7,5
	2,0mg/L N para 7,5 < pH ≤ 8,0
	1,0 mg/L N, para 8,0 < pH ≤ 8,5
Arsênio Total	0,5mg/L N, para pH > 8,5
Arsênio Total	0,01 Mg/L As
Bário Total	0,7mg/L Ba
Cádmio Total	0,001 mg/L Cd
Chumbo Total	0,01mg/L Pb
Cianeto Livre	0,005mg/L CN
Cobre Dissolvido	0,009mg/L Cu
Cromo Total	0,05 Mg/L Cr
Fenóis Totais	0,003mg/L C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH
Mercúrio Total	0,0002mg/L Hg
Zinco Total	0,18 Mg/L Zn

Fonte: CONAMA, N° 357/2005.

### 3.3. Cálculo do Índice de Qualidade de Água (IQA)

No Estado de Minas Gerais a caracterização da água é complementada pelo Índice de Qualidade das Águas (IQA) desenvolvido pela National Sanitation Foundation (NSF) nos Estados Unidos. Esse índice reúne nove parâmetros estabelecidos entre diversos cientistas da área ambiental como mais relevantes para a formação desse novo parâmetro: oxigênio dissolvido, coliformes fecais, pH, demanda bioquímica de oxigênio, nitrato, fosfato total, temperatura da água, turbidez e sólidos totais. Para cada parâmetro foi atribuído um peso, de acordo com sua importância relativa no cálculo do IQA. Para a realização dos cálculos foi utilizado o Sistema de Cálculo da Qualidade da Água (SCQA) e os dados fornecidos foram classificados de acordo com a seguinte Tabela 2 (SEMAD, 2005). O IQA foi calculado para as amostras coletadas do Córrego Liso, sem qualquer tratamento.

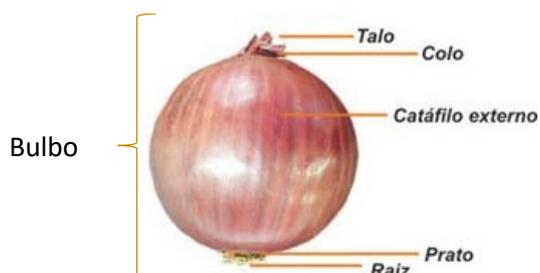
**Tabela 2:** Faixa de valores para classificar a água com os níveis de qualidade do Índice de Qualidade das Águas (IQA)

Nível de Qualidade	Faixa
Excelente	$90 < IQA \leq 100$
Bom	$70 < IQA \leq 90$
Médio	$50 < IQA \leq 70$
Ruim	$25 < IQA \leq 50$
Muito Ruim	$0 \leq IQA \leq 25$

### 3.4. Bioensaios com *Allium cepa*

A metodologia para os bioensaios com cebolas (nome popular da *Allium cepa*) foi o protocolo estabelecido por Fiskesjö (1985) com algumas modificações. Para realizar os testes foram utilizados 5 bulbos de *A. cepa* para cada tratamento e suas diluições, além de usar para os controles negativo, realizado com água destilada, e positivo, que foi feito com metilmetanosulfonato (MMS)  $25 \mu\text{L.L}^{-1}$ . As diluições a serem feitas foram de 25%, 50% e 100% da amostra de água coletada do Córrego Liso. Posteriormente, repetiu-se este experimento com as amostras de água de cada tratamento após findado o tempo de experimento no protótipo de wetland construído.

Para este teste, foram preparados os bulbos de *A. cepa* raspando e limpando o prato, região inferior do bulbo onde ocorre o crescimento das raízes, para permitir o surgimento das gemas radiculares. Em seguida, foi necessário estimular o desenvolvimento do meristema radicular colocando o prato (Fig. 7) em contato com água destilada por 24 horas, em temperatura ambiente e baixa iluminação.



**Figura 7:** Morfologia dos bulbos de *Allium cepa*. Fonte: Sistema FAEP – Federação de Agricultura do Estado do Paraná<sup>1</sup>

Após essa preparação, os bulbos foram colocados em contato com as soluções-teste e os controles positivo e negativo por um período de 72 horas (Fig. 8). Findado o tempo de exposição, os bulbos foram retirados das soluções-testes e as 10 maiores raízes de cada bulbo foram coletadas e medidas com um paquímetro para posterior análise. Essas raízes foram fixadas com Carnoy 3:1 (etanol:ácido acético) por 24 horas à temperatura ambiente e armazenadas em etanol 70% a 4°C para posterior preparo de lâminas para análise (OLIVEIRA, 2018).



**Figura 8:** Montagem do experimento de bioensaio com *Allium cepa*. Fonte: Autoria própria.

<sup>1</sup> Disponível em: <http://www.faepr.com.br/comissoes/frutas/cartilhas/hortalicas/cebola.htm>. Acesso em 22 ago. 2020.

O preparo de lâminas foi realizado de acordo com a metodologia Guerra (2002) com algumas adaptações. As raízes armazenadas no etanol 70% (Fig. 9a) foram retiradas da solução e lavadas três vezes em água destilada, por 5 minutos em cada lavagem e, em seguida, foram hidrolisadas m HCl 5N à temperatura ambiente por 3 minutos e lavadas novamente duas vezes em água destilada (Fig. 9b). Após esse processo, o meristema da raiz foi transferido para a lâmina e uma gota de ácido acético a 45% foi pingada, para evitar o ressecamento. A coifa foi retirada, com o auxílio de um estereoscópio, restando somente o meristema, o qual foi devidamente fragmentado em pequenos pedaços. Novamente pingou-se uma gota de ácido acético sobre o material para a cobertura com a lamínula. Para evitar a sobreposição do material, fez-se um esmagamento com o dedo polegar sobre o conjunto lâmina/lamínula. Para finalizar a preparação da lâmina, o conjunto foi congelado em nitrogênio líquido entre 30 a 60 segundos, até o completo congelamento da lâmina. Depois a lamínula foi rapidamente tirada (Fig. 9c) e a lâmina deixada para secar ao ar. As lâminas foram coradas com solução Giemnsa 10% por 20 minutos.



**Figura 9:** Etapas da confecção das lâminas. a) raízes armazenadas em etanol 70%; b) preparação das lâminas; c) retirada da lâmina após nitrogênio líquido.  
Fonte: OLIVEIRA, 2018, p. 47.

Para cada bulbo foi preparada uma lâmina, contendo no mínimo duas raízes. Para as análises, as lâminas foram codificadas e examinadas pela mesma pessoa utilizando um microscópio óptico com objetiva de 40x. Analisou-se 1000 células por repetição, totalizando

5000 células por tratamento. Com os dados obtidos, foi possível averiguar os efeitos citotóxico e genotóxico.

Para medir os efeitos citotóxicos analisou-se o tamanho das raízes após a exposição aos tratamentos e o Índice Mitótico no experimento, calculado a partir da seguinte fórmula:

$$IM = \frac{CM}{CT} \times 100$$

Onde:

IM = Índice Mitótico;

CM = número de células em divisão mitótica;

CT = número de células totais.

Já para avaliar o efeito genotóxico foram analisadas a frequência de micronúcleos (MN) em 1000 células na interfase por bulbo e também o número de anormalidades cromossômicas em 100 anáfases-telófases. As aberrações cromossômicas (AC) foram apresentadas como o número total de aberrações em 100 células em divisão por bulbo, excetuado células em prófase. Considera-se anormalidade cromossômica anáfases e metáfases diagonais, perdas cromossômicas, cromossomos atrasados, pontes, distúrbios de metáfase e viscosidade cromossômica (TIMOTHY et al., 2014). AC e MN foram ilustradas na Fig.10

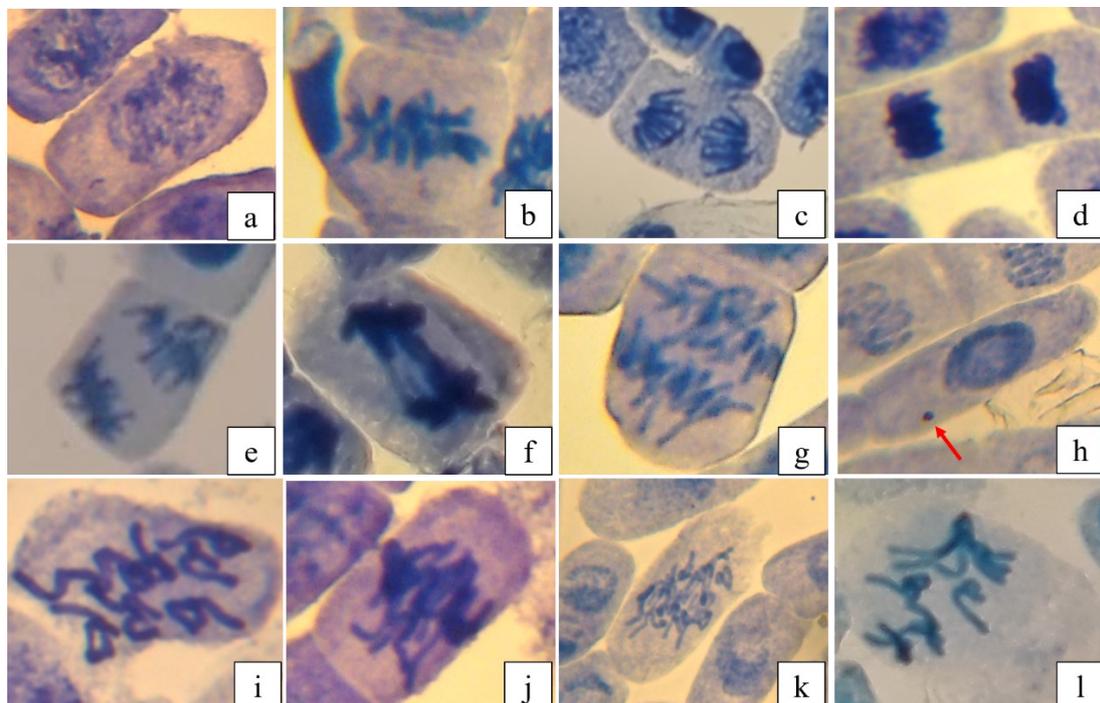


Figura 10: Alterações genotóxicas consideradas no teste de genotoxicidade com *A. cepa*. a) prófase normal; b) metáfase normal; c) anáfase normal; d) telófase normal; e) desvio polar (anáfase diagonal); f) ponte anafásica; g) cromossomo atrasado/retardado; h) micronúcleos; i) perda cromossômica; j) distúrbio de metáfase; k) metáfase pegajosa; l) c-mitose. Fonte: Autoria própria.

-Micronúcleo

Os micronúcleos (MN) podem se originar de fragmentos cromossômicos ou cromossomos atrasados durante a mitose, formando estruturas semelhantes ao núcleo principal só que em tamanhos reduzidos. Podem ser induzidos por agentes que danificam diretamente o cromossomo, produzindo quebras (efeito clastogênico) ou por agentes que afetam o fuso mitótico (efeito aneugênico) (SANTOS, 2020).

#### -Desvio polar

O desvio polar inclui as chamadas anáfases e metáfases diagonais. Representa uma anormalidade em que os cromossomos filhos ficam alinhados de forma adjacentes e não opostos um dos outro para a separação pelo centrômero (TIMOTHY et al., 2014).

#### -Perdas e pontes cromossômicas

Perdas cromossômicas e pontes cromossômicas são resultado de quebras da cromátide e dos cromossomos, avaliando efeitos clastogênicos (FISKESJÖ, 1985).

#### -Cromossomos atrasados/retardatários

Cromossomos atrasados são aqueles que não se separam completamente de sua célula filha oposta. Resultados de um efeito c-mitótico fraco e indicativos de risco de aneuploidia. Podem ser o resultado de uma desespiralização parcial dos cromossomos ou por distúrbios no fuso mitótico ou no centrômero (FISKESJÖ, 1985; TIMOTHY et al., 2014).

#### -Distúrbios de metáfase

Distúrbios de metáfase podem ser atribuídos a defeitos no aparelho do fuso mitótico (KUMARI; MUKHERJEE; CHANDRASEKARAN, 2009).

#### -Viscosidade cromossômica (stickiness)

A viscosidade cromossômica é postulada como resultado do funcionamento defeituoso de um ou dois tipos de proteínas não histônicas específicas que envolvem a organização cromossômica, necessárias para a separação e segregação dos cromossomos. Alterações no

funcionamento dessas proteínas são causadas por mutações genéticas ou pela ação direta de agentes mutagênicos (TIMOTHY et al., 2014).

É um sinal comum de alta toxicidade nos cromossomos, sendo um provável efeito irreversível que leva a morte celular (KUMARI; MUKHERJEE; CHANDRASEKARAN, 2009). A metáfase pegajosa (sticky metaphase) ocorre quando os cromossomos perdem sua nitidez e parecem estar em uma superfície pegajosa, causando alguma aglomeração (CAMPOS; VICCINI, 2003).

#### -C-mitose

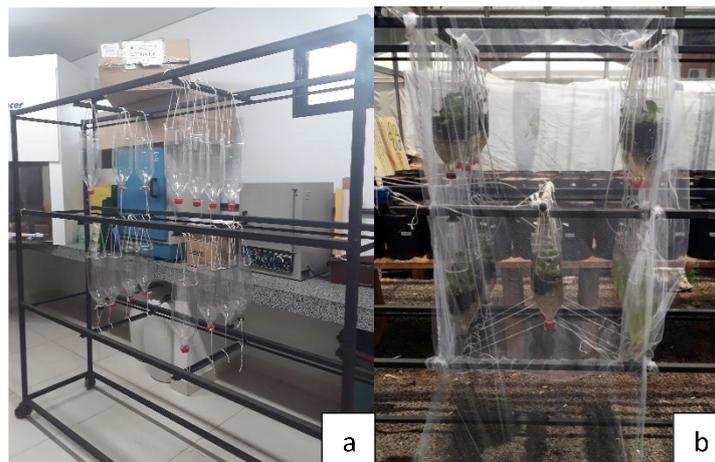
A c-mitose ou mitose com colchicina (c-mitosis) ocorre pela inativação do fuso seguida por uma distribuição aleatória dos cromossomos pela célula. Uma divisão atrasada do centrômero pode resultar em cromossomos assumindo a configuração pares em C: as cromátides irmãs estão ligadas ao centrômero e não permanecem mais adjacentes um aos outros. É proveniente de um efeito tóxico fraco, podendo ser reversível se ocorrer após deformação da estrutura do fuso mitótico (FISKESJÖ, 1985; TIMOTHY et al., 2014).

Cada tratamento foi comparado com o controle negativo e a ocorrência de toxicidade, visualizado pela inibição do crescimento, foi apresentada quando a diferença entre o determinado tratamento e o controle negativo foi estatisticamente significativa.

### **3.5. Biorremediação em modelo experimental de wetland construído (CW)**

Para a realização desse experimento, foi utilizado a macrófita aquática *Eichhornia crassipes*, sendo o seu nome comum aguapé, que possui potencial de biorremediação de metais pesados descritos em diversos estudos (NORTE; ZANELLA; ALVES, 2015; POTT; POTT, 2002; TAVARES, 2009). O experimento foi realizado na casa de vegetação da Universidade Federal de Uberlândia, campus Umuarama.

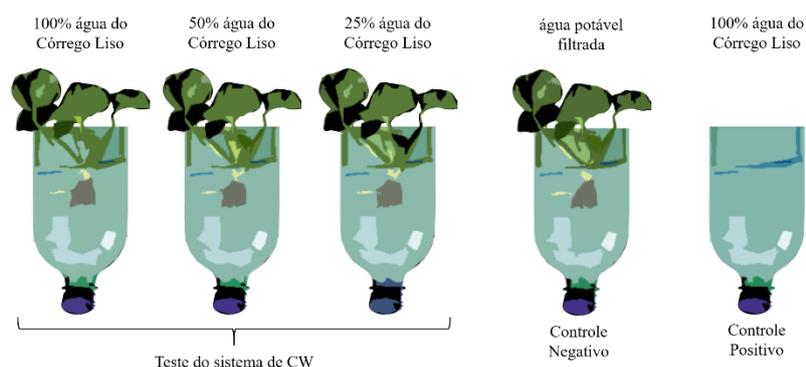
As plantas desta espécie foram inicialmente acondicionadas em recipientes de politereftalato de etileno (PET) com água destilada um indivíduo por recipiente, durante uma semana. Após esse período de adaptação, as plantas foram padronizadas em relação a massa ( $36 \pm 3\text{g}$ ) e número de bulbos (5) e a água inicial foi substituída pelas amostras coletadas no Córrego Liso, ficando por mais 30 dias (Fig. 11). Essa água foi colocada em três diferentes concentrações (100%, 50% e 25%) para averiguar melhor eficiência do tratamento proposto.



**Figura 11:** Montagem do sistema experimental de wetland construído. a) início da montagem do protótipo; b) protótipo em funcionamento com aguapés e amostras a serem biorremediadas.  
Fonte: Autoria própria.

Cada tratamento recebeu uma agitação e oxigenação, por meio de um sistema de bombas de ar e tubos que foram colocados de forma separada e sem haver mistura das amostras de cada tratamento. Sendo que todos os indivíduos foram submetidos ao mesmo ciclo de agitação e oxigenação. O tempo total do experimento foi de 37 dias, 7 dias de acondicionamento e 30 dias do experimento em progresso.

O experimento foi realizado com cinco replicatas, com o controle negativo, que foi o recipiente de PET com a água tratada e com macrófitas, e uma testemunha, um recipiente de PET com a amostra de água coletada e sem macrófitas. O desenho experimental foi resumido no esquema da Figura 12.



**Figura 12:** Desenho experimental da biorremediação proposta com o modelo experimental de wetland construído. Cada garrafa representa um tratamento diferente e cada tratamento foi feito com cinco replicatas. Fonte: Autoria própria.

Para monitorar a dinâmica de crescimento das macrófitas, foi feito o registro fotográfico das plantas em sua fase inicial e final, fazendo a manutenção periódica das plantas e do sistema de wetland. Além disso, reuniu-se informações sobre o peso de cada indivíduo e quantos bulbos eles possuíram a cada semana (S0, S1, S2, S3 e S4), assim como o diâmetro final de cada bulbo (Fig. 13). As temperaturas foram registradas cinco vezes, a cada 5 ou 7 dias, no decorrer do experimento para obtenção de temperatura média, mínima e máxima em que as macrófitas foram cultivadas.



**Figura 13:** Medição do diâmetro de bulbos de cada indivíduo por meio de um paquímetro. Fonte: Autoria própria.

### 3.6. Análises Estatísticas

Os valores encontrados para avaliar o crescimento das macrófitas foram analisados a partir da regressão linear e depois analisados por one-way ANOVA, comparados com o controle negativo. O intervalo mínimo de confiança admitido foi de 95% ( $p < 0,05$ ).

Os ensaios citogenotóxicos foram analisados por two-way ANOVA, seguido pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Todos os tratamentos foram devidamente comparados com o controle negativo, admitindo um intervalo mínimo de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ).

O software utilizado para essas análises foi o GraphPad Prism (versão 7.0 – Graphpad Software, Inc) e o Excel (versão 16.0 – Microsoft Corporation, Inc).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Qualidade da água do Córrego Liso

#### 4.1.1. Análise dos parâmetros físico-químicos das amostras de água

Os resultados da análise dos parâmetros físico-químicos e de coliformes termotolerantes são apresentados na Tabela 3. Os valores destacados em negrito são aqueles que não estão dentro dos limites permitidos na Resolução CONAMA 357/2005. Adicionalmente, os valores marcados com (\*) são de parâmetros que estão muito próximos ao limite adequado, que podem se tornar problemáticos se persistirem ao longo do tempo.

**Tabela 3:** Parâmetros físico-químicos e microbiológico da água coletada do Córrego Liso. Os dados representam a média  $\pm$  o erro padrão de triplicatas. Em negrito, valores em desconformidade com o nível permitido, conforme determinado pelo CONAMA (Resolução 357/2005 - Classe 2).

<b>Parâmetro</b>	<b>Unidade de medida</b>	<b>Média <math>\pm</math> erro padrão</b>
pH	--	5,97 $\pm$ 0,058*
Temperatura	°C	25,6 $\pm$ 0,265
Oxigênio dissolvido	mg/L O <sub>2</sub>	6,25 $\pm$ 0,165*
Cloretos	mg/L	10,98 $\pm$ 0,237
Coliformes Termotolerantes	NMP/100mL	<b>1016,33 <math>\pm</math> 112,86</b>
Demanda Bioquímica por Oxigênio	mg/L O <sub>2</sub>	<b>9,53 <math>\pm</math> 0,651</b>
Nitratos	mg/L	4,51 $\pm$ 0,239
Nitritos	mg/L	0,04 $\pm$ 0,006
Fósforos totais	mg/L	0,06 $\pm$ 0,008
Turbidez	UNT	<b>150,63 <math>\pm</math> 1,914</b>
Sólidos Dissolvidos Totais	mg/L	<b>943,07 <math>\pm</math> 106,68</b>
Nitrogênio amoniacal	mg/L	<b>5,56 <math>\pm</math> 0,233</b>

A água coletada do Córrego Liso apresentou um pH levemente ácido, próximo ao que permite a legislação, e uma temperatura média de 25,6°C. De acordo com Gonçalves (2009), esses valores são semelhantes aos relatados para o Rio Uberabinha. Essas informações são importantes para verificar as alterações possíveis no ecossistema e interpretar adequadamente outros parâmetros (CONAMA, 2005).

O Oxigênio Dissolvido (OD) é essencial para avaliar se a água permite o crescimento de organismos aeróbios por ser indispensável a eles, principalmente aos peixes, os quais geralmente não suportam ambientes com concentrações inferiores a 4 mg/L (PARRON; MUNIZ; PEREIRA, 2011). O valor de OD encontrado para a amostra de água do Córrego Liso (6,25 mg/L) apresentou uma concentração muito próxima a permitida pela legislação brasileira que não permite concentrações menores que 5 mg/L. O OD quando baixo indica pouca incorporação do oxigênio na água, como em velocidades menores de fluxo de água, ou um alto consumo por organismos aeróbios (algas e bactérias) ou reações oxidativas da matéria orgânica. Este valor próximo ao limite mínimo pode se tornar alarmante se persistir a fonte de interferência desse parâmetro pois afeta o equilíbrio do ecossistema local. Este teor de OD no Córrego Liso é provavelmente originado pelo baixo escoamento (Fig. 5) e pela presença de organismos consumidores de oxigênio.

Os Coliformes Termotolerantes (CT) estão presentes nas fezes de animais de sangue quente, inclusive de seres humanos, e são um indicador muito importante da contaminação biológica da água (FUNASA, 2006). O valor de CT para o Córrego Liso (1016 NMP/100mL) ultrapassou o limite estabelecido (1000 NMP/100mL) para o uso de recreação de contato primário. Isso é um forte indicador de contaminação por dejetos de animais de sangue quente, provavelmente originados por emissão de efluente doméstico clandestino (OLIVEIRA, 2018). A região onde se localiza o córrego é ocupada majoritariamente pela atividade industrial, com

alguma ocupação humana, eliminando o descarte ou o escoamento superficial de resíduos animais como principal fonte de contaminação.

O parâmetro da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) é um bioensaio que indica o consumo necessário de oxigênio para a oxidação bioquímica feita por microrganismos para estabilizar a matéria orgânica presente na água, mimetizando as condições naturais (PARRON; MUNIZ; PEREIRA, 2011). Dessa forma, esse parâmetro mensura a poluição por matéria orgânica ao quantificar a quantidade de oxigênio consumido por estes microrganismos, mantidos na temperatura e tempo convencionado. Se essa demanda for suficientemente grande para consumir todo o oxigênio dissolvido da água, os organismos aeróbios nesse ambiente morrem (GONÇALVES, 2009). O valor de DBO encontrado para a amostra de água do Córrego Liso (9,53 mg/L) é maior do que o limite estabelecido (até 5 mg/L) o que representa um forte indício de excesso de matéria orgânica advindo de contaminação antrópica (SILVA et al., 2018).

A concentração de Sólidos Dissolvidos Totais (TDS) é a somatória de todas as matérias suspensas ou dissolvidas na água, incluindo solutos como sódio, cálcio, magnésio, bicarbonato e cloreto que permanecem como um resíduo sólido após a evaporação da água da amostra. Este parâmetro é um padrão secundário de água potável que avalia o aspecto visual da água, relacionado com a condutividade e a turbidez. Além disso, os TDS podem se combinar com compostos tóxicos e metais pesados e levar a um aumento na temperatura da água. Os valores de TDS no Córrego Liso ultrapassam o estabelecido pela legislação (500 mg/L). Uma concentração alta de TDS na água não é um perigo à saúde, sendo mais um padrão estético, mas pode provocar efeito laxante, alteração na acidez e no sabor da água. Os principais fatores que afetam TDS são escoamento superficial, intemperismo, emissão de efluentes e decomposição de matéria orgânica (MURPHY, 2007; ORAM, 2016).

A Turbidez (T) é um parâmetro físico muito importante no monitoramento da qualidade da água de abastecimento público e para avaliar eficiência do tratamento secundário do esgoto bruto. A presença de turbidez em amostras de água está associada com a existência de partículas em suspensão, diminuindo a transmissão de luz no meio, podendo ser oriunda de contaminação e, portanto, possível de ocasionar danos à saúde. Ela pode ser provocada por argila, silte, plâncton, algas, detritos orgânicos e outros compostos, por exemplo sais de ferro, alumínio e manganês (SABESP, 1999). A turbidez no Córrego Liso foi maior do que a adequada, indicando uma provável contaminação.

Nitrogênio amoniacal (amônia e íon amônio) é uma das formas que o nitrogênio se encontra na água, sendo o primeiro produzido na degradação orgânica por bactérias nitrificantes. É importante ser quantificada por ser um poluente tóxico aos seres vivos e por ser indicador da presença de matéria orgânica (GONÇALVES, 2009; SCHIMIDELL et al., 2007). Dessa forma, o nitrogênio amoniacal possui efeitos ambientais nocivos ao promover a eutrofização, causando déficit de oxigênio nos corpos d'água, e apresentar toxicidade às formas de vida aquática (GOMES, 2018). Com um valor de nitrogênio amoniacal acima do permitido (3,7 mg/L), o Córrego Liso (5,56 mg/L) tem grandes indícios de contaminação e provavelmente pode sofrer ou sofre eutrofização.

Na Tabela 4, foram reunidos os resultados das concentrações de metais totais detectados na amostra proveniente do Córrego Liso.

**Tabela 4:** Concentração de metais e fenólicos da água coletada do Córrego Liso. Os dados representam a média  $\pm$  o erro padrão de triplicatas. Em negrito, valores em desconformidade com o nível permitido, conforme determinado pelo CONAMA (Resolução 357/2005 - Classe 2).

<b>Metal</b>	<b>Média <math>\pm</math> erro padrão (mg/L)</b>
Arsênico Total (mg/L)	ND
Bário Total (mg/L)	ND
Cádmio Total (mg/L)	<b>0,107 <math>\pm</math> 0,015</b>
Chumbo Total (mg/L)	<b>0,063 <math>\pm</math> 0,004</b>
Cianeto Total (mg/L)	ND
Cobre Dissolvido (mg/L)	ND
Cromo Total (mg/L)	0,044 $\pm$ 0,002*
Fenólicos Totais (mg/L)	ND
Mercúrio Total ( $\mu$ g/L)	ND
Zinco Total (mg/L)	ND

ND: não detectado

Dentre todos os metais pesados testados, somente o cádmio (Cd) e o chumbo (Pb) ultrapassaram os valores padrões da Resolução CONAMA 357/2005: a concentração de Cd é 10 vezes maior do que estabelece a resolução e a concentração de Pb é 6 vezes maior. O cádmio e o chumbo são metais deletérios que bioacumulam em diferentes ecossistemas, incluindo aquáticos, e são alguns dos mais perigosos poluentes ambientais (ALIMBA et al., 2018).

Cromo (Cr) em sua forma trivalente é tratado como um elemento essencial com um papel não bem definido no metabolismo humano, sendo que sua carência provoca doenças. Em contraposição, o cromo hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ) é tóxico e com alto potencial cancerígeno e não tem função metabólica (ATSDR, 2014; GONÇALVES, 2009). A concentração de cromo encontrada nas amostras de água do Córrego Liso ( $0,044 \pm 0,002$  mg/L) está no limite do que a legislação permite (0,05 mg/L).

A presença desses elementos traço (Cd, Pb e Cr) em corpos d'água em concentrações maiores representa uma alta probabilidade de contaminação por atividades antrópicas (ATSDR, 2014, 2020; BRAILE; CAVALCANTI, 1993; ROCHA, 2016). Pode se concluir que o Córrego Liso possui contaminação de origem não-natural, provavelmente devido a rede de esgoto não legalizada, doméstico e industrial, e escoamento superficial urbano.

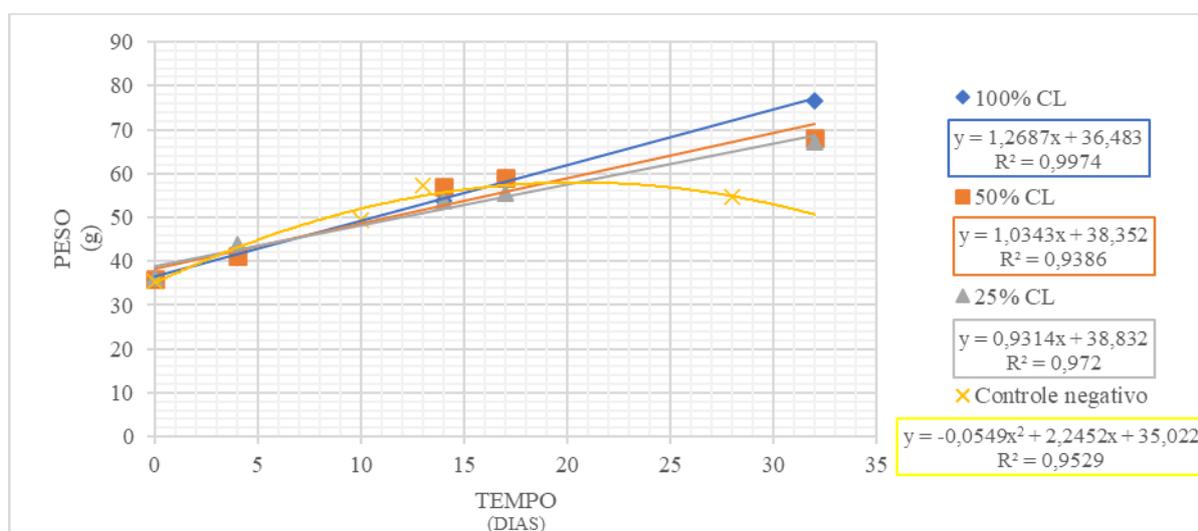
#### 4.1.2. Cálculo do Índice de Qualidade de Água (IQA)

Os dados obtidos com a análise físico-química do Córrego Liso foram interpretados com a utilização do software IQADData. O resultado do Índice de Qualidade de Água (IQA) obtido foi de 39,7 pontos, o que permite classificar a qualidade da água em RUIM ( $25 < IQA \leq 50$ ). O IQA pode ser utilizado para avaliar a interferência de esgotos domésticos e de materiais orgânicos, nutrientes e sólidos na qualidade da água. A partir do resultado encontrado pode-se constatar que o Córrego Liso apresenta forte influência dos efluentes lançados nele.

#### 4.2. Biorremediação em modelo experimental de wetland construído (CW)

O modelo experimental de wetland construído (CW) foi confeccionado de acordo com a metodologia descrita e teve no total 37 dias de experimento. A temperatura média no decorrer do experimento foi de  $31,1 \pm 8,3$  °C, sendo que foram aferidas temperatura mínima de 21°C e máxima de 44°C.

O crescimento das macrófitas foi mensurado pela média do peso individual da população de cada tratamento, plotando os dados e traçando linha de tendência no gráfico da Figura 14.



**Figura 14:** Gráfico da relação peso dos indivíduos do tratamento por dia. A equação e o coeficiente de regressão de cada um dos respectivos tratamentos foram apresentados à direita do gráfico, junto com a legenda. CL=Córrego Liso

O crescimento semanal das macrófitas considerando número de bulbos por indivíduo foi reunido na Tabela 5.

**Tabela 5:** Média do número de bulbos por indivíduo para cada tratamento no projeto experimental de wetland construído e média dos diâmetros dos bulbos por tratamento no fim do experimento. Mé ± DV=média ± desvio padrão; CL=Córrego Liso

Tempo	Tratamentos			Controle negativo (0% CL)
	100%	50%	25%	
S0	5	5	5	5
S1	7	7	7	7
S2	10	9	9	9
S3	12	11	10	11
S4	15	14	13	13
<b>Diâmetro médio dos bulbos (cm) Mé ± DP</b>	18,80 ± 4,65	16,98 ± 4,08	18,28 ± 4,64	16,59 ± 3,21

Devido a problemas experimentais da coleta de dados, não foi possível obter informações do peso individual e do número de bulbos por indivíduo em intervalos regulares. Isso impediu a comparação dessas variáveis por tempo. Para aproveitamento do dado, foi traçado linhas de tendências para conseguir visualizar diferenças entre os tratamentos.

A partir dessas informações foi possível afirmar que tanto as macrófitas do controle negativo quanto dos tratamentos conseguiram crescer, aumentando seu peso e o seu número de bulbos. Não existe diferença significativa entre os tratamentos para peso médio da população, número de bulbos por indivíduo e diâmetro final de cada bulbo.

Apesar disso, foi possível verificar que existe uma tendência maior de crescimento quanto maior a concentração de água do Córrego Liso. Provavelmente, isso ocorre pois o Córrego Liso apresenta matéria orgânica e nutrientes para permitir seu crescimento adequado (OLIVEIRA, 2018; PEIXOTO; SILVA; VIDIGAL, 2018). Entretanto, o uso de água destilada para diluir os tratamentos diminui a concentração desses compostos. Assim como a água filtrada não apresenta condições muito favoráveis para seu contínuo crescimento (MEES et al., 2009).

Contudo, o crescimento das macrófitas cultivadas em diluições do Córrego Liso não possui diferença estatisticamente significante comparado ao controle negativo (macrófitas cultivadas em água filtrada). Isso é reforçado pelos baixos requisitos nutricionais da *Eichhornia crassipes* (NAZIR et al., 2020). Apesar disso, visualmente os indivíduos apresentaram algumas diferenças. Foi possível notar uma variação de vigor e crescimento nos tratamentos com a água do CL comparado ao controle negativo. Em geral, as macrófitas dos tratamentos cresceram mais, sendo que ao fim as plantas do tratamento 100% CL estavam com um aspecto pior do que as das diluições. Isso pode ter ocorrido pela maior disponibilidade de matéria orgânica ofertada pela água do córrego, mas pode ter afetado seu desenvolvimento devido a toxicidade crônica desta água.

Para verificar melhor diferenças entre os tratamentos seria necessário mais estudo e com um número amostral maior e um tempo de experimento prolongado com a troca das populações de aguapés e reposição de água contaminada. O limite de 5 indivíduos por tratamento pode ter impedido de revelar diferenças significativas entre os tratamentos (BRITO et al., 2016).

### **4.3. Ensaio Citogenotóxicos**

Nos resultados obtidos para *A. cepa* cada tratamento foi comparado com o controle negativo (água destilada) e a ocorrência de toxicidade (inibição do crescimento, taxa de micronúcleo e taxa de aberrações cromossômicas) foi considerada quando a diferença entre tratamento e controle negativo foi estatisticamente significativa. Posteriormente foram comparados os tratamentos com cada um deles, a partir do teste de comparações múltiplas de Tukey.

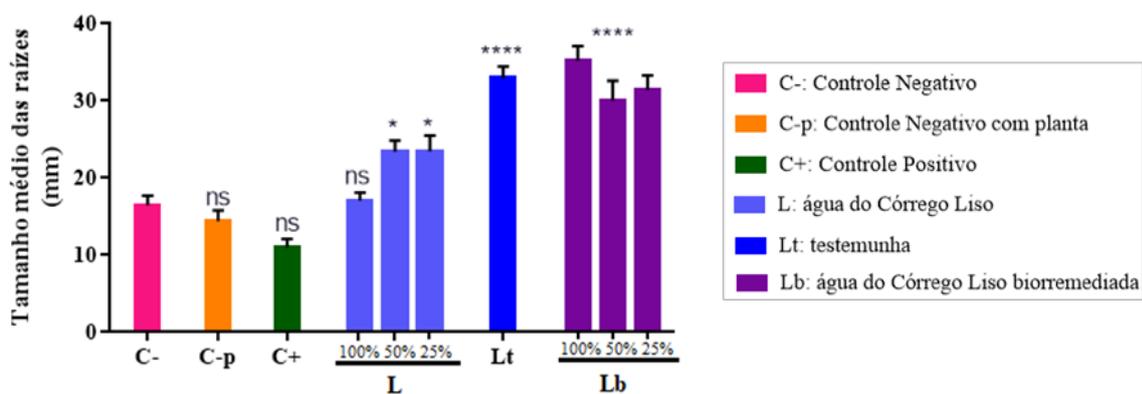
Os resultados foram reunidos em gráficos e para o melhor entendimento cada tratamento e os controles foram nomeados como:

- C-: controle negativo, bioensaio com *A. cepa* em água destilada;

- C-p: controle negativo com planta, bioensaio com *A. cepa* em água tratada que foi acondicionada junto a uma macrófita durante o tratamento experimental com o protótipo de wetland construído, com o intuito de averiguar uma possível contaminação originada da planta;
- C+: controle positivo, bioensaio com *A. cepa* em água com metilmetanosulfonato (MMS) na concentração de 25  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ;
- L: água do Córrego Liso, bioensaio com *A. cepa* em amostras da água coletada do Córrego Liso, em diferentes concentrações;
- Lt: testemunha, bioensaio com *A. cepa* em água coletada do Córrego Liso, em concentração de 100%, que foi acondicionada sem macrófita durante o tratamento experimental com o protótipo de wetland construído, com o intuito de averiguar como a água contaminada ficaria após o mesmo tempo que o experimento levou;
- Lb: água do Córrego Liso biorremediada; bioensaio com *A. cepa* em água coletada do Córrego Liso, em diferentes concentrações, que foram acondicionadas com a macrófita durante o tratamento experimental com o protótipo de wetland construído.

#### 4.3.1. Toxicidade

Para avaliação da toxicidade entre as diferentes amostras foram realizadas análises estatísticas comparando as médias de comprimento de raízes de *Allium cepa* após a exposição aos tratamentos. O tamanho médio das raízes diminui com maior toxicidade presente nas amostras. O crescimento das raízes em diferentes concentrações de tratamento foi comparado com o controle. A partir dos resultados obtidos foi gerado o gráfico abaixo (Fig. 15).



**Figura 15:** Gráfico demonstrando comprimento médio de raízes de *Allium cepa* tratadas com as diferentes águas do Córrego Liso e com os controles negativo (C- água destilada), negativo com planta (C-p) e positivo (C+ MMS). Os dados representam a média  $\pm$  o erro padrão. ns: não significativo à  $p < 0,05$ . \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; e \*\*\*\*  $p < 0,0001$  (comparando com o controle negativo). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7

Em relação a toxicidade referente ao crescimento radicular de *Allium cepa*, os resultados representados no gráfico revelam que estatisticamente não foi percebido toxicidade nas amostras de água do Córrego Liso sem manejo (L), com o manejo experimental (Lb) e na água sem manejo após 30 dias (Lt).

Mesmo não existindo diferença estatística entre os tratamentos, variações morfológicas entre as raízes foram notadas. Raízes das cebolas controle positivo (C+) e L mudaram de cor branca para tons mais marrons e amarelos, consequência de efeitos tóxicos que provocaram morte celular. Além de os tratamentos com L, Lt e C+ terem pontas de raízes com curvaturas, característico de contaminação com alguns metais (FISKESJÖ, 1985). Como a metodologia utilizada foi medir as 10 maiores raízes de cada bulbo, as diferenças entre quantidade de raízes por bulbo e morfologia destas não foram avaliadas. Posteriores trabalhos podem avaliar essas diferenças pois existe correlação alta entre parâmetros microscópicos e macroscópicos, de acordo com metodologia Fiskesjö adotada.

Além disso, C+ possui uma média menor que o controle negativo (C-), mas foram estatisticamente iguais. Tal igualdade indica que o MMS não foi eficaz para revelar toxicidade em raízes, provavelmente pela concentração utilizada não ser tóxica, mas somente mutagênica

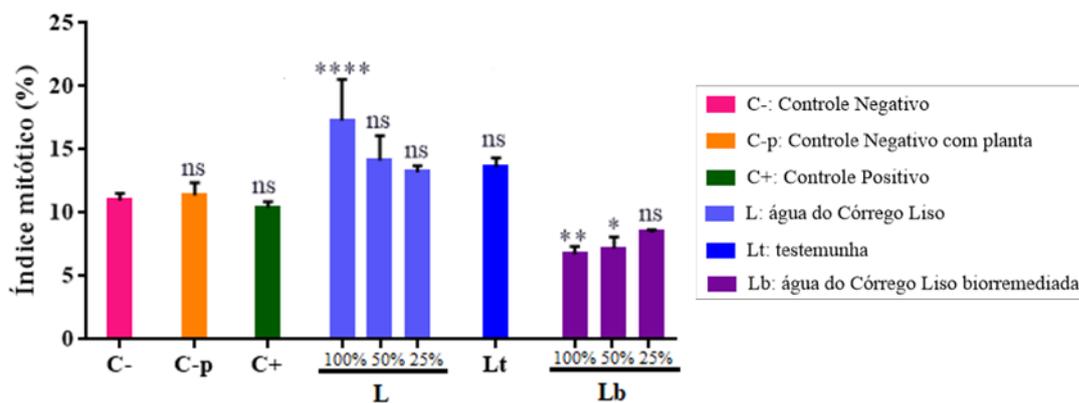
(SIGMA-ALDRICH, 2021). O controle negativo com planta (C-p) foi estatisticamente igual ao C-, confirmando que as macrófitas usadas não foram fonte de contaminação no experimento.

Quando comparado o C- com Lt e Lb é possível verificar que os tamanhos médios das raízes são maiores que o do próprio C-. O tratamento L apresenta uma pequena diferença estatisticamente significativa, excetuando a concentração 100%. Pode se justificar esse aumento no crescimento das raízes expostas aos afluentes com ou sem o tratamento experimental em relação às raízes expostas somente à água destilada por haver uma maior concentração de matéria orgânica na água do Córrego Liso. Essa carga orgânica é provavelmente originada do despejo de efluentes industriais e domésticos neste corpo hídrico. A disponibilidade de mais matéria orgânica fornece nutrientes que favorecem ainda mais o crescimento radicular (OLIVEIRA, 2018).

Esses dados corroboram com a ideia de que o protótipo de wetland construído provoca uma diferença da média de tamanho das raízes relevante estatisticamente.

#### **4.3.2. Citotoxicidade**

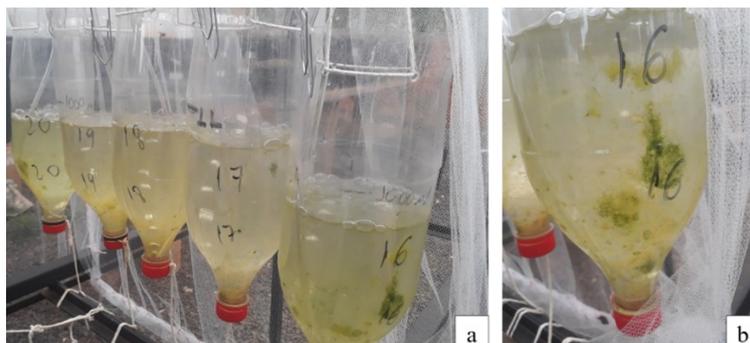
Por meio do Índice Mitótico (IM) das células de *A. cepa* foi possível avaliar a citotoxicidade que as amostras apresentam ao comparar o IM de cada tratamento com o que seria a normalidade (Controle Negativo). O IM indica a porcentagem de células em mitose relativas as células totais. A partir dos resultados comparativos gerados pela análise estatística, foi gerado o gráfico da Figura 16.



**Figura 16:** Gráfico demonstrando o Índice Mitótico (IM) observado em células meristemáticas de *Allium cepa* tratadas com as diferentes águas do Córrego Liso e com os controles negativo (C- água destilada), negativo com planta (C-p) e positivo (C+ MMS). Os dados representam a média  $\pm$  o erro padrão. NS: não significativo à  $p < 0,05$ . \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; e \*\*\*\*  $p < 0,0001$  (comparando com o controle negativo). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

Com os dados apresentados da Figura 16, foi possível verificar que não existe citotoxicidade relacionado ao IM nas amostras de água do Córrego Liso sem manejo (L) e nas sem manejo após 30 dias (Lt). O C- e o C-p ao serem comparados não apresentam significância, levando a concluir que são estatisticamente iguais e evidenciando que *Eichhornia crassipes* não possui potencial citotóxico. Entretanto o C+ não revela uma queda do IM significativa quando comparado ao C-, isso decorre do fato de utilizar-se uma baixa dose de MMS para não alterar o IM e gerar citotoxicidade, já que para observar as outras variáveis do bioensaio é necessário que haja propagação celular.

Nos resultados obtidos, a maioria das amostras testadas (L, Lt e Lb) não apresentou diferença estatisticamente relevante quando comparadas ao C-, excetuando-se L 100% e Lb 100% e 50%. As amostras testadas L e Lt apresentaram um IM acima do que o C-, mesmo que somente em L 100% seja estatisticamente significativo, o que pode ser um forte indicativo de alta deposição de matéria orgânica (OLIVEIRA, 2018), advindo de escoamento de esgoto na amostra do Córrego Liso e da presença de muitas algas (ADELODUN; HASSAN; NWACHUCKWU, 2020) na amostra Lt (Fig. 17).



**Figura 17:** Protótipo de wetland construído. a) destaque para o grupo Lt - água coletada do Córrego Liso, em concentração de 100%, que foi acondicionada sem macrófita durante o tratamento experimental; b) destaque para a presença de algas verdes em grande concentração. Fonte: Autoria própria.

Outra explicação para L e Lt apresentarem altos IMs, seria o aumento da divisão celular, mas de modo desordenado o que provocaria um aumento no número de erros na replicação e, conseqüentemente, a problemas relacionados, como o crescimento de tumores (VERMA; ARORA; SRIVASTAVA, 2016). Entretanto, isso pode reforçar que não existe uma alta citotoxicidade proveniente do Córrego Liso o suficiente para provocar um ciclo celular perturbado e diminuir o IM (PATIL; SUTAR; JADHAV, 2020) ou seu efeito é pequeno e sobreposto pela grande oferta de nutrientes. No caso do grupo Lb, ocorre um efeito de mitodepressão, podendo estar relacionado com uma citotoxicidade. Contudo pode ser mais provável que, por ocorrer o contrário de L e Lt, este possua menos conteúdo orgânico e nutrientes para favorecer a proliferação celular, uma vez que a matéria orgânica já teria sido consumida pela espécie usada na biorremediação.

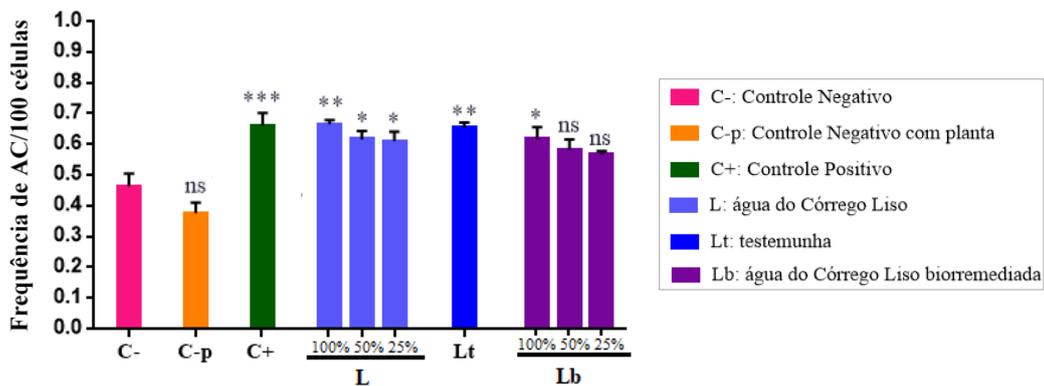
Este resultado evidencia o sucesso no tratamento utilizando o protótipo de wetland construído (Lb), pois certamente as macrófitas foram capazes de metabolizar a matéria orgânica, podendo juntamente ter reduzido os níveis de outras substâncias, como de compostos nitrogenados e metais pesados (AGARRY et al., 2020; MAINE et al., 2009).

### 4.3.3. Genotoxicidade

Os bioensaios de genotoxicidade em *Allium cepa* incluem o número de aberrações cromossômicas (AC) em 100 anáfases-telófases e a frequência de micronúcleos (MN) em 1000

células na interfase por bulbo. Foram consideradas AC: anáfases e metáfases diagonais (desvio polar), fragmentos cromossômicos, cromossomos atrasados, pontes, distúrbios de metáfase e viscosidade cromossômica.

Os resultados obtidos para frequência de AC a partir das análises estatísticas foram computados no gráfico a seguir (Fig. 18).



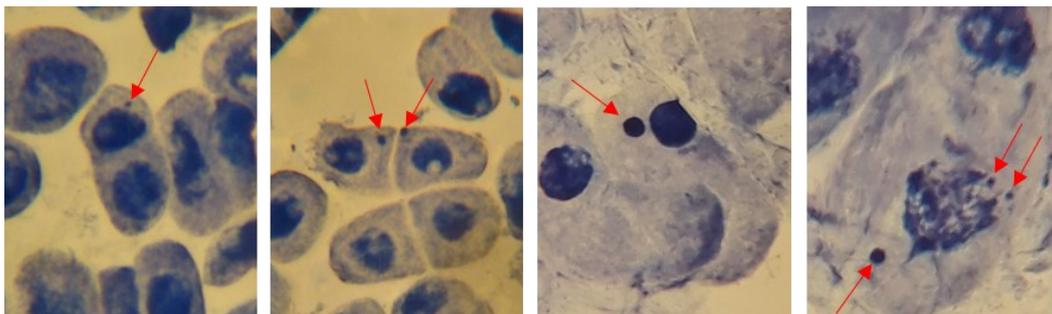
**Figura 18:** Gráfico demonstrando a frequência de Aberrações Cromossômicas (AC) em 100 células em processo de divisão celular de *Allium cepa* tratadas com as diferentes águas do Córrego Liso e com os controles negativo (C- água destilada), negativo com planta (C-p) e positivo (C+ MMS). Os dados representam a média  $\pm$  o erro padrão. NS: não significativo à  $p < 0,05$ . \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,0$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; e \*\*\*\*  $p < 0,0001$  (comparando com o controle negativo). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

Diante desses resultados comparativos, é possível observar a existência de uma genotoxicidade significativa associada a frequência de AC nas amostras de água do Córrego Liso que não passaram pelo protótipo de wetland construído (L e Lt). Enquanto nas amostras biorremediadas (Lb) existe pouca ou quase nenhuma genotoxicidade significativa estatisticamente. C- e C-p foram estatisticamente iguais, indicando que a macrófita alvo do estudo não possui potencial genotóxico. Ao comparar-se C- e C+, existe alta significância estatística entre os controles, revelando que o MMS é um ótimo controle positivo para frequência de AC ao ser muito maior estatisticamente do que C-.

Esses resultados evidenciam que o protótipo de wetland construído foi capaz de diminuir o potencial genotóxico associado à frequência de AC, sendo que o tratamento foi capaz

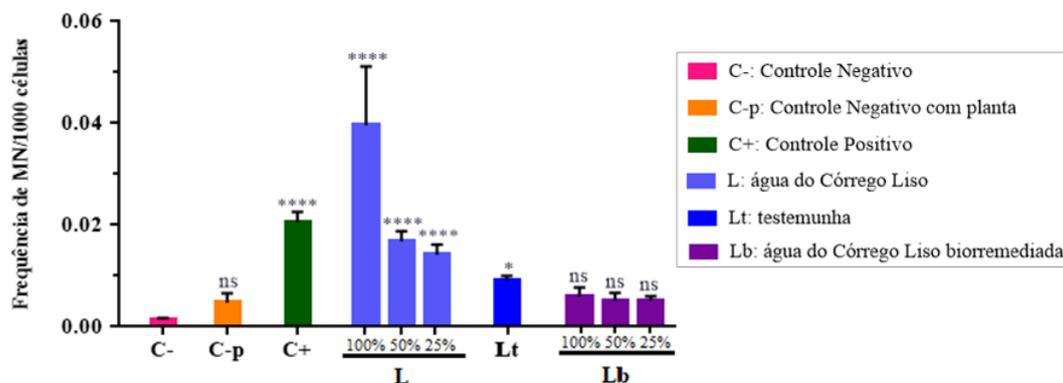
de reduzir as aberrações cromossômicas nos tratamentos Lb 50 e 25%, a ponto de eles não terem diferença significativa do controle negativo.

Outro parâmetro utilizado para a avaliação da genotoxicidade é a frequência de micronúcleos encontrada em 1000 células de *A. cepa* em interfase. A Figura 19 mostra alguns MN encontrados nas células avaliadas de *A. cepa* deste estudo.



**Figura 19:** Células de *Allium cepa* coradas com Giemsa. As setas destacam os micronúcleos. Fonte: Autoria própria.

Por meio das análises estatísticas comparativas, foi construído o gráfico da Figura 20. Não existe diferença estatisticamente significativa ao comparar-se C- e C-p, reforçando que a macrófita *Eichhornia crassipes* não possui potencial genotóxico para contaminar a água. Confrontar C- e C+ revelou uma alta diferença estaticamente significativa, determinando que o MMS foi ótimo parâmetro para indicar genotoxicidade frente à frequência de MN.



**Figura 20:** Gráfico demonstrando a frequência de Micronúcleos (MN) em 1000 células em interfase de *Allium cepa* tratadas com as diferentes águas do Córrego Liso e com os controles negativo (C- água destilada), negativo com planta (C-p) e positivo (C+ MMS). Os dados representam a média  $\pm$  o erro padrão. NS: não significativo à  $p < 0,05$ . \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; e \*\*\*\*  $p < 0,0001$  (comparando com o controle negativo). Fonte: Autoria própria com dados obtidos no software GraphPad Prism7.

Os resultados da análise estatística comparando C- com os tratamentos evidenciam uma genotoxicidade com alta diferença estatística associada a frequência de MN da amostra do Córrego Liso sem passar pelo protótipo de wetland construído (L). Adicionalmente, foi observada genotoxicidade com relevância estatística na amostra de água sem manejo após 30 dias (Lt). Em contrapartida, não foi detectada essa genotoxicidade na água que foi biorremediada (Lb).

Quando são comparadas as amostras testadas (L, Lt e Lb) entre elas mesmas, é possível identificar que o efeito genotóxico é diluição-dependente nas amostras de água do Córrego Liso sem nenhum tipo de intervenção (L). Pois seu efeito na concentração de L 100% é estatisticamente muito diferente de L 50% e L 25%, não tendo diferença significativa estatística entre estes últimos. Além disso, nas amostras de água biorremediadas (Lb), não houve diferença significativa, indicando que todas as diluições são estatisticamente iguais quanto à frequência de MN. Esses resultados ajudam a identificar que o tratamento experimental proposto com *Eichhornia crassipes* pode ser utilizada para mitigar efeitos de genotoxicidade associado a frequência de MN e que o tempo também tem um efeito importante na biorremediação de águas contaminadas.

Isso reforça que apesar de existir autodepuração dos corpos hídricos (SECRETARIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2006), equivalente ao Lt, utilizar algum sistema complementar como CWs ou lagoas de macrófitas pode acelerar o tratamento ao absorver grandes quantidades de nutrientes (ADELODUN; HASSAN; NWACHUCKWU, 2020) e servir como superfície de ancoragem para microrganismos (AGARRY et al., 2020).

Tais resultados são corroborados pelo trabalho de Patil et al. (2020) que demonstrou que a *Eichhornia crassipes* diminuiu a capacidade citogenotóxica de águas contaminadas com cristal violeta.

## 5. CONCLUSÃO

No presente trabalho, foi possível acompanhar com ferramentas de biomonitoramento as amostras de água do Córrego Liso. A partir disso foi possível avaliar a efetividade do tratamento experimental proposto com o protótipo de wetland construído utilizando *Eichhornia crassipes*.

Por meio dos bioensaios de *Allium cepa*, foi detectado que a água coletada do Córrego Liso apresentou um potencial genotóxico, tanto relacionado à frequência de Micronúcleos (MN) quanto de Aberrações Cromossômicas (AC). Entretanto, não apresentou toxicidade associada ao tamanho médio de raízes e nem citotoxicidade frente ao Índice Mitótico (IM).

Dessa forma, de acordo com os resultados obtidos no presente estudo, o protótipo de wetland construído foi capaz de mitigar de forma efetiva os efeitos genotóxicos presente na amostra coletada do Córrego Liso. Além disso, seu efeito foi estatisticamente relevante se comparada a autodepuração natural da água. Entretanto para os efeitos de citotoxicidade e simplesmente toxicidade não foi possível concluir que o tratamento experimental ajudou ou não a mitigá-los.

Além disso, a partir do grupo com água coletada do Córrego Liso em concentração de 100% sem macrófitas durante o tratamento experimental com o wetland construído, foi possível averiguar um comportamento intermediário entre a água tratada e não tratada. Tal resultado reafirma que mesmo a água sem a planta pode ser biorremediada por microrganismos e algas que ali cresceram - autodepuração natural.

Dessa forma, foi possível concluir que o manejo experimental com *Eichhornia crassipes* contribui para mitigar efeitos genotóxicos em águas contaminadas com efluentes domésticos e industriais. A biorremediação com tal espécie pode ser uma ótima alternativa para o tratamento padrão de efluentes podendo contribuir para diminuir contaminantes para o padrão estabelecido pela legislação brasileira, de forma econômica e efetiva.

Por fim, mais estudos podem ser feitos sobre o potencial fitorremediador de *E. crassipes* para citogenotoxicidade e, principalmente, para o desenvolvimento de um modelo que possa ser utilizado por indústrias ou pela sociedade em geral, para contribuir para uma qualidade hídrica adequada à população.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. NBR ISO 14001:2004. **Sistemas da gestão ambiental - Requisitos com orientações para uso**. Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2004. Disponível em: <<http://www.madeira.ufpr.br/disciplinasghislaine/iso-14001-2004.pdf>>. Acesso em: 30 jan. 2019.

ABNT. NBR-9.898. **Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores**. Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1987. Disponível em: <<http://licenciadorambiental.com.br/wp-content/uploads/2015/01/NBR-9.898-Coleta-de-Amostras.pdf>>. Acesso em: 19 fev. 2019.

ADELODUN, A. A.; HASSAN, U. O.; NWACHUCKWU, V. O. Environmental, mechanical, and biochemical benefits of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 24, p. 30210–30221, ago. 2020.

AGARRY, S. E. et al. Biotreatment of petroleum refinery wastewater in vertical surface-flow constructed wetland vegetated with *Eichhornia crassipes*: lab-scale experimental and kinetic modelling. **Environmental Technology**, v. 41, n. 14, p. 1793–1813, 19 jun. 2020.

ALIMBA, C. G. et al. Micronucleus cytome assay in the differential assessment of cytotoxicity and genotoxicity of cadmium and lead in *Amietophrynus regularis*. **EXCLI Journal**, v. 17, p. 89–101, 11 jan. 2018.

AMATO, R. D. **Análise multielementar de sedimentos do Córrego Liso e implicações ambientais**. Trabalho de Conclusão de Curso—Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 11 dez. 2018.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23<sup>a</sup> ed. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2017.

ARIAS, A. R. L. et al. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 61–72, mar. 2007.

ATHIRA, N.; JAYA, D. S. The Use of Fish Biomarkers for Assessing Textile Effluent Contamination of Aquatic Ecosystems: A Review. **Nature Environment and Pollution Technology**, v. 17, n. 1, p. 10, 2018.

ATSDR. **Toxicological Profile for Chromium**. U.S. Department of Health and Human Services, 30 jul. 2014. Disponível em: <<https://web.archive.org/web/20140730044846/http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=62&tid=17>>. Acesso em: 2 set. 2020

ATSDR. **Toxicological Profile for Lead**. U.S. Department of Health and Human Services, 2020. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>>. Acesso em: 2 set. 2020

BERNARDES, M. B. J. **Bacia Hidrográfica do Rio Uberabinha: a Disponibilidade de Água e Uso do Solo sob a Perspectiva da Educação Ambiental**. Tese—Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2007.

BOYD, C. E.; TUCKER, C. S. **Water quality and pond soil analyses for aquaculture**. Auburn: Auburn University, 1992.

BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J. E. W. A. **Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais**. São Paulo: CETESB, 1993.

BRASIL. SECRETARIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano**. Brasília, Brasil: Ministério da Saúde, 2006.

BRITO, C. J. et al. Dimensionamento de amostras e o mito dos números mágicos: ponto de vista. **Revista Andaluza de Medicina del Deporte**, v. 9, n. 1, p. 29–31, 1 mar. 2016.

CAMPOS, J. M. S. D.; VICCINI, L. F. Cytotoxicity of aluminum on meristematic cells of *Zea mays* and *Allium cepa*. **Caryologia**, v. 56, n. 1, p. 65–73, jan. 2003.

CARRIJO, B. R.; BACCARO, C. A. D. Análise sobre a Erosão Hídrica na Área Urbana de Uberlândia (MG). **Caminhos de Geografia**, v. 2, n. 2, 2001.

CHEN, J. et al. Removal of steroid hormones and biocides from rural wastewater by an integrated constructed wetland. **Science of The Total Environment**, v. 660, p. 358–365, abr. 2019.

CONAMA. RESOLUÇÃO Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento**.

Disponível em:

<[http://www2.mma.gov.br/port/conama/legislacao/CONAMA\\_RES\\_CONS\\_2005\\_357.pdf](http://www2.mma.gov.br/port/conama/legislacao/CONAMA_RES_CONS_2005_357.pdf)>.

Acesso em: 7 fev. 2019.

CONAMA. RESOLUÇÃO Nº 393, DE 8 DE AGOSTO DE 2007. **Dispõe sobre o descarte contínuo de água de processo ou de produção em plataformas marítimas de petróleo e gás natural, e dá outras providências**. Disponível em:

<<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=541>>. Acesso em: 19 fev.

2019.

DMAE. **Desenvolvimento e Sustentabilidade da Bacia Hidrográfica do Rio Uberabinha: Ações de Conservação de Água e Solo**. Disponível em:

<<https://docplayer.com.br/22759111-Dmae-departamento-municipal-de-agua-e-esgoto.html>>.

Acesso em: 31 jan. 2019.

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 — A Potential Standard for the Assessment of Environmental Toxicity. **Environmental Toxicology and Risk Assessment: Second Volume**, jan. 1993.

FUNASA. **Manual prático de análise de água**. Brasília, Brasil: Assessoria de Comunicação e Educação em Saúde, 2006.

GOMES, D. V. **Remoção de nitrogênio amoniacal de efluentes de indústrias de pescados por processo adsorptivo utilizando carvão ativado**. Trabalho de Conclusão de Curso—Criciúma: Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2018.

GONÇALVES, E. M. **Avaliação da Qualidade de Água do Rio Uberabinha – Uberlândia – MG**. Dissertação—Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, ago. 2009.

GUERRA, M.; DE SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana**. Ribeirão Preto: Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto, 2002.

KIVAISI, A. K. The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: a review. **Ecological Engineering**, v. 16, n. 4, p. 545–560, 1 fev. 2001.

KUMARI, M.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. **Science of The Total Environment**, v. 407, n. 19, p. 5243–5246, 15 set. 2009.

MEES, J. B. R. et al. Removal of organic matter and nutrients from slaughterhouse wastewater by using *Eichhornia crassipes* and evaluation of the generated biomass composting. **Engenharia Agrícola**, v. 29, n. 3, p. 466–473, set. 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. PORTARIA Nº 2.914, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**. Disponível em: <[http://bvsmis.saude.gov.br/bvsmis/saudelegis/gm/2011/prt2914\\_12\\_12\\_2011.html](http://bvsmis.saude.gov.br/bvsmis/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html)>. Acesso em: 7 fev. 2019.

MURPHY, S. **General Information on Total Dissolved Solids**. Boulder Area Sustainability Information Network, USA, 2007. Disponível em: <<http://bcn.boulder.co.us/basin/data/BACT/info/TDS.html>>. Acesso em: 1 set. 2020.

NAZIR, M. I. et al. Potencial of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes* L.) for Phytoremediation of Heavy Metals from Waste Water. **Biological and Clinical Sciences Research Journal**, v. 2020, n. 1, p. e006–e006, 12 dez. 2020.

NORTE, A. C. C.; ZANELLA, L.; ALVES, W. C. Espécies Vegetais com Potencial Ornamental para Utilização em Wetlands Construídos. **ResearchGate**, 2º Simpósio Brasileiro sobre Wetlands Construídos. jun. 2015.

OLIVEIRA, D. M. **Avaliação *in vivo* e *in vitro* do Potencial Citogenotóxico de Afluentes do Rio Uberabinha (Uberlândia-MG): uma ferramenta para o Biomonitoramento da Qualidade da Água**. Dissertação—Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2018.

OMS. **Drinking-water**. Organização Mundial da Saúde, 14 jun. 2019. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>>. Acesso em: 30 jan. 2020.

ORAM, B. **Total Dissolved Solids Drinking Water Quality**. Water Research Center, USA, 2016. Disponível em: <<https://water-research.net/index.php/water-treatment/tools/total-dissolved-solids>>. Acesso em: 30 maio. 2021.

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

PATIL, S. R.; SUTAR, S. S.; JADHAV, J. P. Sorption of crystal violet from aqueous solution using live roots of *Eichhornia crassipes*: Kinetic, isotherm, phyto and cyto-genotoxicity studies. **Environmental Technology & Innovation**, v. 18, p. 100648, 1 maio 2020.

PEIXOTO, R. DE A. O.; SILVA, J. G.; VIDIGAL, C. R. **Estudo da Influência Antrópica na Qualidade da Água do Córrego Liso, Uberlândia – MG**. Anais do 16º Congresso Brasileiro de Geologia de Engenharia e Ambiental. **Anais...**São Paulo: 2018. Disponível em: <[http://www.schenautomacao.com.br/cbge/envio/files/trabalho\\_80.pdf](http://www.schenautomacao.com.br/cbge/envio/files/trabalho_80.pdf)>. Acesso em: 25 ago. 2020

PÉRES, R. H. B. **O caminho das águas: impactos ambientais da drenagem de águas pluviais na bacia do Córrego Liso na cidade de Uberlândia-MG**. Dissertação—Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 29 nov. 2005.

POTT, V. J.; POTT, A. **Potencial do uso de plantas aquáticas na despoluição da água**. 1. ed. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2002.

PRADO, B. Q. DE M. et al. Evaluation of climatological variables in Uberlândia (MG) by principal component analysis. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 21, n. 2, p. 407–413, jun. 2016.

QUEIROZ, R. F. P. DE et al. Contaminação de Corpo Receptor Principal por Afluente Secundário: Avaliação Preliminar do Córrego Liso - Uberlândia, MG. **Anais do XI Congresso Nacional de Meio Ambiente de Poços de Caldas**, v. 6, n. 1, 2014.

ROCHA, T. M. **Determinação das concentrações dos metais cádmio, chumbo e mercúrio na área do lixão desativado de Buriticupu, MA**. Dissertação—Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, 2016.

ROSOLEN, V. et al. Qualidade dos sedimentos no rio Uberabinha (Uberlândia, MG) e implicações ambientais. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 39, n. 1, p. 151–159, 2009.

SABESP. NORMA TÉCNICA INTERNA SABESP 008. **Turbidez - Método de Ensaio**. Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo, São Paulo, jun. 1999. Disponível em: <<https://www3.sabesp.com.br/normastecnicas/nts/nts008.pdf>>. Acesso em: 2 set. 2020.

SANTOS, K. R. **Efeito Toxicogenético, Bioquímico e Anatômico do Herbicida Clethodim no Sistema de *Allium cepa* L.** Dissertação—Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo, 2020.

SANTOS DE SOUZA, M. et al. Avaliação da qualidade da água do Rio dos Sinos (Brasil) por meio do teste de micronúcleos em *Cyprinus carpio* e de análises físico-químicas e microbiológicas. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 24, n. 3, 14 dez. 2016.

SCHIMIDELL, W. et al. **Tratamento biológico de águas residuárias**. Florianópolis: PaperPrint, 2007.

SEMAD. **Sistema de Cálculo da Qualidade da Água (SCQA) Estabelecimento das Equações do Índice de Qualidade das Águas (IQA)**. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/3445001-Sistema-de-calculo-da-qualidade-da-agua-scqa-estabelecimento-das-equacoes-do-indice-de-qualidade-das-aguas-iqa.html>>. Acesso em: 19 fev. 2019.

SIGMA-ALDRICH. **Ficha de informação de segurança de produto químico - Metanosulfonato de metilo para síntese.** Sigma-Aldrich, 31 jan. 2021. Disponível em: <[https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/msds/MDA\\_CHEM-820775?Origin=accelerator-singlestep-msds](https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/msds/MDA_CHEM-820775?Origin=accelerator-singlestep-msds)>. Acesso em: 31 maio. 2021

SILVA, R. R. DA et al. Environmental impacts of dairy effluent on waterway in the Pomba River Basin. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 23, n. 2, p. 217–228, mar. 2018.

SINGH, M. et al. High genotoxicity of shipyard contaminants on *Allium cepa* and calf thymus DNA. **Environmental Chemistry Letters**, v. 12, n. 2, p. 321–327, 1 jun. 2014.

SOUSA, D. J. L. *Pontederiaceae*. In: **Flora do Brasil 2020**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020.

TAVARES, S. R. DE L. **Fitorremediação em Solo e Água de Áreas Contaminadas por Metais Pesados Provenientes da Disposição de Resíduos Perigosos.** Tese—Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, out. 2009.

TIMOTHY, O. et al. Cytotoxic and genotoxic properties of leaf extract of *Icacina trichantha* Oliv. **South African Journal of Botany**, v. 91, p. 71–74, 1 mar. 2014.

VASCONCELOS, M. DA G.; PAVANIN, L. A.; PAVANIN, E. V. Avaliação da Qualidade da Água e Caracterização de Sedimentos do Rio Uberabinha em Uberlândia - MG. **Caminhos de Geografia**, v. 18, n. 64, p. 224–235, 30 dez. 2017.

VERMA, S.; ARORA, K.; SRIVASTAVA, A. Monitoring of genotoxic risks of nitrogen fertilizers by *Allium cepa* L. mitosis bioassay. **Caryologia**, v. 69, n. 4, p. 343–350, 1 out. 2016.