



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**EDVAR JUNIOR RONCETTI COELHO**

**AVALIAÇÃO DE ÁGUA E SEDIMENTOS DO RIO JUCU-ES POR  
MEIO DE MARCADORES CITOGENÉTICOS E BIOQUÍMICOS**

VITÓRIA - ES

2021

EDVAR JUNIOR RONCETTI COELHO

**AVALIAÇÃO DE ÁGUA E SEDIMENTOS DO RIO JUCU-ES POR  
MEIO DE MARCADORES CITOGENÉTICOS E BIOQUÍMICOS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador(a): Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Silvia Tamie Matsumoto

VITÓRIA - ES

2021

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de  
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

C672a Coelho, Edvar Júnior Roncetti, 1987-  
Avaliação de água e sedimentos do rio Jucu-ES por meio de  
marcadores citogenéticos e bioquímicos / Edvar Júnior Roncetti  
Coelho. - 2021.  
126 f. : il.

Orientadora: Silvia Tamie Matsumoto.  
Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade  
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e  
Naturais.

1. Enzimas antioxidantes. 2. Estresse oxidativo. 3. Metais  
pesados. 4. Pluviosidade. 5. teste do Allium cepa. I. Tamie  
Matsumoto, Silvia. II. Universidade Federal do Espírito Santo.  
Centro de Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57

---

**Edvar Junior Roncetti Coelho**

**Avaliação de água e sedimentos do rio Jucu-ES por meio de marcadores  
citogenéticos e bioquímicos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Biologia Vegetal.

Aprovada em 9 de dezembro de 2021.

Comissão Examinadora:

**Profa. Dra. Silvia Tamie Matsumoto (UFES)**  
Orientadora e Presidente da Comissão

**Profa. Dra. Diolina Moura Silva (UFES)**  
Examinadora Interna

**Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol (UFES)**  
Examinador Interno

**Prof. Dr. Luís Fernando Tavares de Menezes (Coordenador adjunto do PPGBV)**

**Por: Profa. Dra. Maria Aparecida Marin Morales (UNESP)**  
Examinadora Externa

**Por: Dra. Mariana Morozesk (UFSCar)**  
Examinadora Externa



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
SILVIA TAMIE MATSUMOTO - SIAPE 3173298  
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN  
Em 14/12/2021 às 16:49

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/332221?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
GERALDO ROGERIO FAUSTINI CUZZUOL - SIAPE 1173398  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal  
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - PPGCBV/CCHN  
Em 15/12/2021 às 08:20

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/332545?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
DIOLINA MOURA SILVA - SIAPE 294671  
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN  
Em 17/12/2021 às 09:51

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/334694?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
LUIS FERNANDO TAVARES DE MENEZES - SIAPE 1290688  
Subcoordenador do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - PPGCBV/CCHN  
Em 17/12/2021 às 15:13

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/335161?tipoArquivo=O>

*Dedico esta Tese à minha mãe Joana, ao meu pai Edvar, à minha irmã Marcela, ao meu sobrinho Gui, ao meu namorado Brenner e aos meus pets Oddie, Yoshi, Debbie e Cyndi. Sem vocês eu não teria conseguido chegar até aqui. Obrigado pelo apoio incondicional, dedicação, confiança e amor.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal do Espírito Santo pelo ensino e infraestrutura disponibilizados desde a minha graduação;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) que subsidiou a minha bolsa de pesquisa e projeto de pesquisa;

Aos professores e profissionais do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal pelo conhecimento transmitido, dedicação e contribuições;

À minha orientadora, Prof. Dr<sup>a</sup>. Silvia Tamie Matsumoto, pela amizade e por ter aceitado orientar este trabalho, pelo conhecimento, paciência e pela valiosa contribuição na minha formação científica e profissional ao longo desses anos;

À Prof. Dr<sup>a</sup> Marisa Narciso Fernandes, da Universidade Federal de São Carlos, por disponibilizar seu laboratório para a realização de parte deste trabalho.

Ao Prof. Josimar Ribeiro, da Universidade Federal do Espírito Santo, pela parceria na realização das análises químicas.

À Msc Tainá Turial, da Universidade Federal do Espírito Santo, pela ajuda com as coletas, análises químicas e pela amizade.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Diolina Moura Silva, Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Aparecida Marin Morales, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marina Marques Bonomo, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mariana Morozesk e Prof. Dr. Elias Terra Werner por disponibilizarem do seu tempo para compor a banca examinadora.

Aos meus amigos do Grupo de Estudos em Mutagênese e Toxicologia (GEMUT), Enzo, Francielen, Ian Duarte, Ian Martins, Iasmini, Kalia, Kristian, Lívia, Monique e Nati, por terem feito parte desse projeto, por suas contribuições, apoio e amizade.

Aos meus amigos, pelo apoio, conselhos e momento de diversão e distração.

## RESUMO

O rio Jucu, objeto de estudo deste trabalho, está localizado no estado do Espírito Santo (Brasil) e desempenha esse papel socioeconômico fundamental para a região. O objetivo desse trabalho foi realizar a avaliação da qualidade ambiental deste rio, por meio de coletas de amostras de água e sedimento em seis estações ao longo do rio, nos períodos seco e chuvoso, a fim de entender o impacto da pluviosidade na qualidade da água utilizada para abastecimento humano e agricultura. Foram realizadas análises físicas e químicas das amostras de água e quantificação elementar do alumínio, cádmio, chumbo, cobalto, cromo, cobre, ferro, magnésio, manganês, níquel e zinco das amostras de água e de elutriato do sedimento. Em complementação às análises abióticas, foram realizados bioensaios em espécimes de *Allium cepa* expostos às amostras coletadas, onde foram avaliados os índices de germinação, índice de crescimento de raiz, índice mitótico, índice de alterações cromossômicas e índice de mutagenicidade e avaliação dos biomarcadores bioquímicos e de biotransformação do sistema antioxidante (superóxido dismutase, catalase, glutathione S-transferase, glutathione reduzida e peroxidação lipídica). Os resultados revelaram níveis de nitrogênio total acima dos limites estabelecidos pela legislação na primeira amostragem e níveis de turbidez elevados na segunda amostragem, ambos provavelmente influenciados pela pluviosidade nos períodos de coleta. Os resultados da quantificação elementar alertam que há contaminação das amostras de água e elutriato com valores acima do permitido pela legislação para Al, Fe, Mn e Cu em todas as estações das duas amostragens e que todos os demais elementos estavam superiores à legislação na segunda amostragem de elutriato (período chuvoso). Sugere-se que a contaminação por Al e Fe seja devido à característica pedológica da bacia hidrográfica do rio Jucu, predominantemente composta por solos latossolo vermelho-amarelo e cambissolo carregados para o leito do rio. No entanto, a contaminação pelos demais elementos pode ter origem nas atividades agrícolas e de pecuária da região e também devido ao aporte de efluentes não tratados no rio. Os bioensaios revelaram potencial efeito fitotóxico, citotóxico, mutagênico e genotóxico na maioria das amostras, intensificados no período chuvoso e que esses efeitos podem estar correlacionados aos metais quantificados nas amostras e a mudanças climáticas com alterações na precipitação. Também foram constatadas alterações no metabolismo antioxidativo na maioria dos tratamentos,

evidenciadas pela peroxidação lipídica observada na segunda amostragem de água e na primeira amostragem de elutriato. Esses resultados demonstram que a qualidade da água do rio Jucu está comprometida para abastecimento humano e para irrigação e que há contaminação por metais com biodisponibilidade influenciada pelos períodos de chuva e de estiagem, que podem causar efeitos estressores à biodiversidade aquática e à população humana que interage com esse ecossistema.

**Palavras-chave:** enzimas antioxidantes • estresse oxidativo • metais pesados • pluviosidade • teste do *Allium cepa*.

## ABSTRACT

The Jucu River, the object of this study, is located in the state of Espírito Santo (Brazil) and plays this fundamental socioeconomic role for the region. This study aimed to evaluate the environmental water quality of the Jucu River, through surface water and sediment samples in six stations along the river in the dry and rainy periods, to understand the impact of rainfall on the quality of water used for human supply and agriculture. Physical and chemical parameters of water samples were measured and elemental quantification of aluminum, cadmium, lead, cobalt, chromium, copper, iron, magnesium, manganese, nickel, and zinc in water and elutriate samples were carried out. In addition to the abiotic analyses, bioassays were performed on specimens of *Allium cepa* exposed to the samples, where the germination index, root growth index, mitotic index, chromosomal alteration index, mutagenicity index and evaluation of the biochemical and biotransformation biomarkers of the antioxidant system (superoxide dismutase, catalase, glutathione S-transferase, reduced glutathione, and lipid peroxidation) were evaluated. The results revealed total nitrogen levels above the limits established by legislation in the first sample and high turbidity levels in the second sample, both probably influenced by rainfall during the collection periods. The results of the elementary quantification alert that there is contamination of the water and elutriate samples with values above those allowed by the legislation for Al, Fe, Mn, and Cu in all stations of the two samplings and that all other elements were superior to the legislation in the second sampling of elutriate (rainy season). It is suggested that Al and Fe contamination is due to the pedological characteristic of the Jucu River watershed, predominantly composed of red-yellow latosol and cambisol soils. However, the contamination was possibly originated from agricultural and livestock activities in the region and also due to the input of untreated effluents into the river. The bioassays revealed a potential phytotoxic, cytotoxic, mutagenic, and genotoxic effect in most samples, intensified in the rainy season, and these effects can be correlated to the metals quantified in the samples and/or to climate change with changes in precipitation. Alterations in antioxidative metabolism were also observed in most treatments, evidenced by lipid peroxidation observed in the second water sample and the first elutriate sample. These results demonstrate that the water quality of the Jucu River is compromised for human supply, and irrigation and that there is contamination by metals with bioavailability influenced by periods of rain and drought

that can cause stressful effects on aquatic biodiversity and the human population that interacts with this ecosystem.

**Keywords:** *Allium cepa* test • antioxidant enzymes • heavy metals • oxidative stress • rainfall.

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 – Mapa da classificação das regiões da bacia hidrográfica do rio Jucu/ES.....	26
Figura 2 – Uso e ocupação do solo na bacia hidrográfica do rio Jucu/ES.....	28
Figura 3 – Enquadramento dos cursos d'água das regiões hidrográficas do rio Jucu em Classes (padrão de qualidade) segundo a Resolução CONAMA nº 430/2011.....	30

### CAPÍTULO 1 – USO DE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EM *Allium cepa* L. ASSOCIADO A PARÂMETROS LIMNOLÓGICOS E QUANTIFICAÇÃO DE METAIS NA AVALIAÇÃO DE UM RIO NEOTROPICAL BRASILEIRO

Figura 1 - Mapa da bacia hidrográfica do rio Jucu e as estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES.....	57
Figura 2 - Precipitação média mensal acumulada na região da bacia hidrográfica do rio Jucu/ES, nos anos de 2017 e 2018.....	61
Figura 3 - Agrupamento das estações amostrais de coleta entre as amostragens utilizando PCA das concentrações dos metais Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras de água do rio Jucu/ES.....	69
Figura 4 - Agrupamento das estações amostrais de coleta entre as amostragens utilizando PCA das concentrações dos metais Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras de elutriato do rio Jucu/ES.....	69
Figura 5 - Análise de PCA para as amostras de água nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES, integrando dados de metais e biomarcadores bioquímicos e de biotransformação.....	73
Figura 6 - Análise de PCA para as amostras de elutriato nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES, integrando dados de metais e biomarcadores bioquímicos e de biotransformação.....	77

### CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO AMBIENTAL DE UM RIO E O IMPACTO DA PLUVIOSIDADE PARA A AGRICULTURA E ABASTECIMENTO HUMANO

Figura 1 – Mapa da bacia hidrográfica do rio Jucu e as estações amostrais ao longo do rio.....	92
--	----

Figura 2 – Uso e ocupação do solo da bacia hidrográfica do rio Jucu/ES.....	93
Figura 3 – Precipitação média mensal acumulada na região da bacia hidrográfica do rio Jucu/ES, nos anos de 2017 e 2018.....	97
Figura 4 – Comparação dos índices entre as campanhas de coleta em espécimes de <i>Allium cepa</i> L. submetidas às amostras de água do rio Jucu/ES.....	104
Figura 5 – Comparação dos índices entre as campanhas de coleta em espécimes de <i>Allium cepa</i> L. submetidas às amostras de elutriato do rio Jucu/ES.....	105
Figura 6 – Células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> L. tratadas com amostras de água e elutriato coletadas no rio Jucu/ES.....	112
Figura 7 – Proporção acumulada da frequência das aberrações cromossômicas observadas em células de <i>Allium cepa</i> L. expostas às amostras de água e sedimento do rio Jucu/ES.....	113

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO 1 – USO DE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EM *Allium cepa* L. ASSOCIADO A PARÂMETROS LIMNOLÓGICOS E QUANTIFICAÇÃO DE METAIS NA AVALIAÇÃO DE UM RIO NEOTROPICAL BRASILEIRO**

Tabela 1 – Estações amostrais de coleta no rio Jucu/ES com suas respectivas coordenadas geográficas (UTM) e descrição do local..... 56

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos da água e respectivas médias e desvios-padrões das amostragens nos diferentes pontos ao longo do rio Jucu/ES..... 62

Tabela 3 – Quantificação de metais na 1ª e 2ª amostragens de água ao longo do rio Jucu/ES e suas respectivas médias e desvios-padrões relativos (RSD)..... 65

Tabela 4 – Quantificação de metais da 1ª e 2ª amostragens de elutriado em mg.L<sup>-1</sup> do rio Jucu/ES e suas respectivas médias e desvios-padrões relativos..... 66

Tabela 5 – Quantificação de biomarcadores bioquímicos e de biotransformação em radículas de *Allium cepa* L. após exposição às amostras de água coletadas nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES em duas amostragens e ao controle negativo (CN)..... 71

Tabela 6 – Quantificação de biomarcadores bioquímicos e de biotransformação em radículas de *Allium cepa* L. após exposição às amostras de elutriado coletadas nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES em duas amostragens e ao controle negativo (CN)..... 75

### **CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO AMBIENTAL DE UM RIO E O IMPACTO DA PLUVIOSIDADE PARA A AGRICULTURA E ABASTECIMENTO HUMANO**

Tabela 1 – Parâmetros físico-químicos da água nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES..... 98

Tabela 2 – Quantificação de metais na 1ª e 2ª amostragens de água ao longo do rio Jucu/ES e suas respectivas médias e desvios-padrões relativos (RSD)...	101
Tabela 3 – Quantificação de metais da 1ª e 2ª amostragens de elutriado do rio Jucu/ES e suas respectivas médias e desvios-padrões relativos.....	102
Tabela 4 - Avaliação citogenética em radículas de radículas de <i>Allium cepa</i> L após exposição às amostras de água e elutriado coletadas nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES nas duas amostragens e aos controles negativo (água destilada) e positivo (Trifuralina 0,84 g.L <sup>-1</sup> ) .....	108

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	21
2. OBJETIVO GERAL .....	22
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	22
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	24
4.1 <i>Bacia do rio Jucu</i> .....	24
4.2 <i>Biomonitoramento Ambiental</i> .....	29
4.2.1 <i>Parâmetros físicos e químicos para biomonitoramento da água</i> .....	30
4.2.2 <i>Contaminação por metais em ambientes aquáticos</i> .....	32
4.2.3 <i>O uso de biomarcadores no monitoramento ambiental de ecossistemas aquáticos</i> .....	34
4.3 <i>Bioensaios em Allium cepa L.</i> .....	34
4.3.1 <i>Teste do Allium cepa L.</i> .....	35
4.3.2 <i>Biomarcadores bioquímicos e enzimas do estresse oxidativo</i> .....	38
REFERÊNCIAS .....	42
CAPITULO 1 – USO DE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EM <i>ALLIUM CEPA L.</i> ASSOCIADOS A PARÂMETROS LIMNOLÓGICOS E QUANTIFICAÇÃO DE METAIS NA AVALIAÇÃO DE UM RIO NEOTROPICAL BRASILEIRO .....	50
RESUMO.....	51
ABSTRACT .....	52
1. INTRODUÇÃO .....	53
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	54
2.1 <i>Área de estudo</i> .....	54
2.2 <i>Coleta e preparo das amostras</i> .....	54
2.3 <i>Parâmetros físicos e químicos</i> .....	57
2.3.1 <i>Variáveis limnológicas</i> .....	57
2.3.2 <i>Quantificação de metais</i> .....	57
2.4 <i>Biomarcadores bioquímicos e de biotransformação</i> .....	57
2.5 <i>Análises estatísticas</i> .....	58
3. RESULTADO E DISCUSSÃO .....	59
3.1 <i>Parâmetros físicos e químicos</i> .....	59
3.2 <i>Quantificação de metais</i> .....	63
3.3 <i>Biomarcadores bioquímicos e de biotransformação</i> .....	69
4. CONCLUSÕES .....	77
REFERÊNCIAS.....	78

CAPITULO 2 – IMPACTOS DA PLUVIOSIDADE NA QUALIDADE DE UM RECURSO HÍDRICO USADO PARA A AGRICULTURA E ABASTECIMENTO URBANO.....	85
RESUMO.....	86
ABSTRACT.....	87
1. INTRODUÇÃO .....	88
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	90
2.1 Área de estudo.....	90
2.2 Coleta e preparo das amostras.....	91
2.3 Quantificação de metais.....	94
2.4 Teste do <i>Allium cepa</i> L.....	94
2.5 Análises estatísticas .....	96
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	96
3.1 Parâmetros físico-químicos .....	96
3.2 Quantificação de metais.....	99
3.3 Bioensaios em <i>Allium cepa</i> L.....	103
4. CONCLUSÕES .....	115
REFERÊNCIAS.....	116
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	125

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

As atividades antrópicas vêm impactando significativamente os recursos hídricos ao longo dos séculos. Alterações no ecossistema como desmatamento, agricultura e urbanização tem efeito direto no transporte de sedimentos, nutrientes, matéria orgânica e diversos poluentes provenientes dessas atividades, que diariamente contaminam rios e lagos (SHELDON *et al.*, 2018). Esses fatores podem ainda serem intensificados em períodos de intensa pluviosidade (*efeito runoff*), carreando mais detritos e poluentes para o leito dos rios ou em períodos de estiagem, onde há uma maior concentração desses poluentes devido à redução dos níveis da água dos rios (ALUM; OKOYE, 2020).

Entre os efeitos oriundos de atividades antrópicas, vem sendo estudada a contaminação por metais pesados nas matrizes de água e solo dos ambientes aquáticos, devido aos seus efeitos altamente nocivos à biota (FAISAL *et al.*, 2020). A degradação desses ambientes, principalmente onde há captação de água para abastecimento público ou para a agricultura, causam uma grande preocupação global, uma vez que a acumulação de efluentes industriais no ambiente aquático constitui uma ameaça à vida biológica.

O rio Jucu, localizado no estado do Espírito Santo, se destaca por ser um dos principais rios utilizados no abastecimento da região metropolitana da Grande Vitória. A bacia hidrográfica do rio Jucu recebe alta carga de poluentes provenientes de efluentes industriais, domésticos, agropecuários (pocilgas, currais e abatedouros de aves) e princípios ativos de agrotóxicos oriundos, principalmente, do escoamento superficial das áreas agrícolas (GARDIMAN JUNIOR, 2016). Além disso, mudanças climáticas globais têm exercido grandes influências sobre o regime de chuvas no estado do Espírito Santo. Como resultado, têm-se rios com volumes muito baixos em alguns períodos do ano, como foi verificado em 2016 nos rios Jucu e Santa Maria da Vitória, principais mananciais que abastecem a grande Vitória, e em outros períodos do ano, pode haver um excesso de chuvas, o que intensifica o assoreamento em alguns pontos dos rios (CESAN, 2016; FIGUEIREDO, 2016; PAULA, 2016).

Para a avaliação de impactos ambientais e biomonitoramento desses ecossistemas, vêm sendo utilizadas, desde a década de 80, plantas superiores como biomarcadores de efeitos adversos aos ambientes (IQBAL, 2019). As plantas, por estarem em contato direto com as matrizes ambientais do solo e da água e com

contaminantes depositados nessas matrizes, são consideradas eficientes marcadores de contaminação (AHMED *et al.*, 2019).

Ensaio realizado com *Allium cepa* L., são muito utilizados para a detecção de efeitos tóxicos de poluentes presentes no ambiente. O sistema teste *A. cepa* é um importante marcador de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade causados por poluentes, sendo recomendado pelas agências internacionais, desde a década de 90, como um método de avaliação e de monitoramento de ambientes aquáticos poluídos (MA, 1999; OSPAR COMMISSION, 2002). Os ensaios com *A. cepa* são considerados de rápida execução, sensíveis e de baixo custo. Neste teste, são avaliadas alterações do ciclo celular em células de meristemas radiculares (IQBAL, 2019). Em complementação ao teste do *A. cepa*, os estudos da fisiologia do sistema antioxidante, como biomarcadores (glutathione S-transferase, glutathione reduzida, catalase, superóxido dismutase e lipoperoxidação) podem atuar como biomarcadores de poluição ambiental, pois a toxicidade causada por determinados poluentes, como metais pesados, induzem efeito na ativação do sistema antioxidante (DUARTE, 2017; PATNAIK; ACHARY; PANDA, 2013; FATIMA; AHMAD, 2006).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade ambiental do rio Jucu pela análise dos parâmetros abióticos e resultados dos bioensaios fisiológicos e toxicogênicos em *Allium cepa*. As hipóteses que balizam este estudo são que as amostras de água e de elutriados: (1) apresentam concentrações elevadas de metais; (2) tem alta potencialidade fitotóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica; e (3) causam alterações no sistema antioxidante de *A. cepa*.

## **2. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a qualidade da água e dos elutriados do rio Jucu-ES, pela análise integrada de parâmetros abióticos e resultados de bioensaios fisiológicos e toxicogênicos em *Allium cepa*.

## **3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a. Determinar os parâmetros limnológicos e concentração de metais pesados das amostras de água superficial e dos elutriados do rio Jucu-ES;
- b. Investigar os potenciais fitotóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos das amostras de água e dos elutriados do rio Jucu, por meio do teste do *A. cepa*;

- c. Avaliar a aplicação do teste *A. cepa* como uma ferramenta para determinar potenciais efeitos toxicogénicos derivados de atividades agrícolas, que possam ser ocasionados em períodos de estiagem/chuva;
- d. Analisar as alterações no sistema antioxidante de *A. cepa* expostas às amostras de água e de elutriados do rio Jucu;
- e. Comparar as alterações citogenéticas e fisiológicas, observadas nos bioensaios com *A. cepa*, entre os pontos amostrais e campanhas realizadas nos períodos seco e chuvoso.

## 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 *Bacia do rio Jucu*

Localizada na região centro-sul do estado do Espírito Santo, a bacia hidrográfica do rio Jucu (Figura 1) possui uma área de drenagem total de 2032 km<sup>2</sup> e abrange seis municípios capixabas: Domingos Martins, Marechal Floriano e Viana em sua totalidade, e, parcialmente, os municípios de Cariacica, Guarapari e Vila Velha (IEMA, 2016). O relatório de Enquadramento de Corpos de Água e Plano de Recursos Hídricos elaborado pelo Comitê da Bacia Hidrográfica do rio Jucu (CBHJ) (IEMA, 2016), divide a região desta bacia do rio Jucu em cinco Unidades de Planejamento (UPs): alto Jucu, médio Jucu, baixo Jucu, rio Jucu Braço Sul e formate/marinho e costeira (Figura 1).

O rio Jucu é formado pela confluência de dois rios, o rio Jucu Braço Norte e o rio Jucu Braço Sul. O rio Braço Norte nasce na região serrana, no limite entre os municípios de Domingos Martins e Vargem Alta, a uma altitude de 1200m e apresenta cerca de 123 km de extensão até a confluência dos dois braços, em uma área de drenagem de 925 km<sup>2</sup>. O rio Jucu Braço Sul nasce na região do Parque Estadual da Pedra Azul e possui aproximadamente 67 km até a confluência com o Braço Norte e possui uma área de drenagem de 480 km. Os 43 km restantes correspondem ao trecho do rio Jucu, desde a confluência dos braços norte e sul, na divisa dos municípios de Viana e Domingos Martins, até a foz, no oceano Atlântico, no município de Vila Velha/ES (IEMA, 2016).

O relevo da bacia apresenta variações de 0 a 1200 metros de altitude, sendo a região das nascentes dos braços a de maior altitude e a região da confluência dos rios apresenta entre 150 a 500 metros de altitude em relação ao nível do mar, reduzindo progressivamente à medida que se aproxima da sua foz (GARDIMAN JUNIOR; SIMOURA, 2016). O clima da região é classificado como tropical úmido (Aw) conforme classificação de Köppen, onde apresenta uma estação chuvosa no verão e seca no inverno. A precipitação média anual é de 1.200 mm, com as chuvas se concentrando entre os meses de outubro e março, representando 65 a 80% das chuvas anuais (GARDIMAN JUNIOR, 2015).

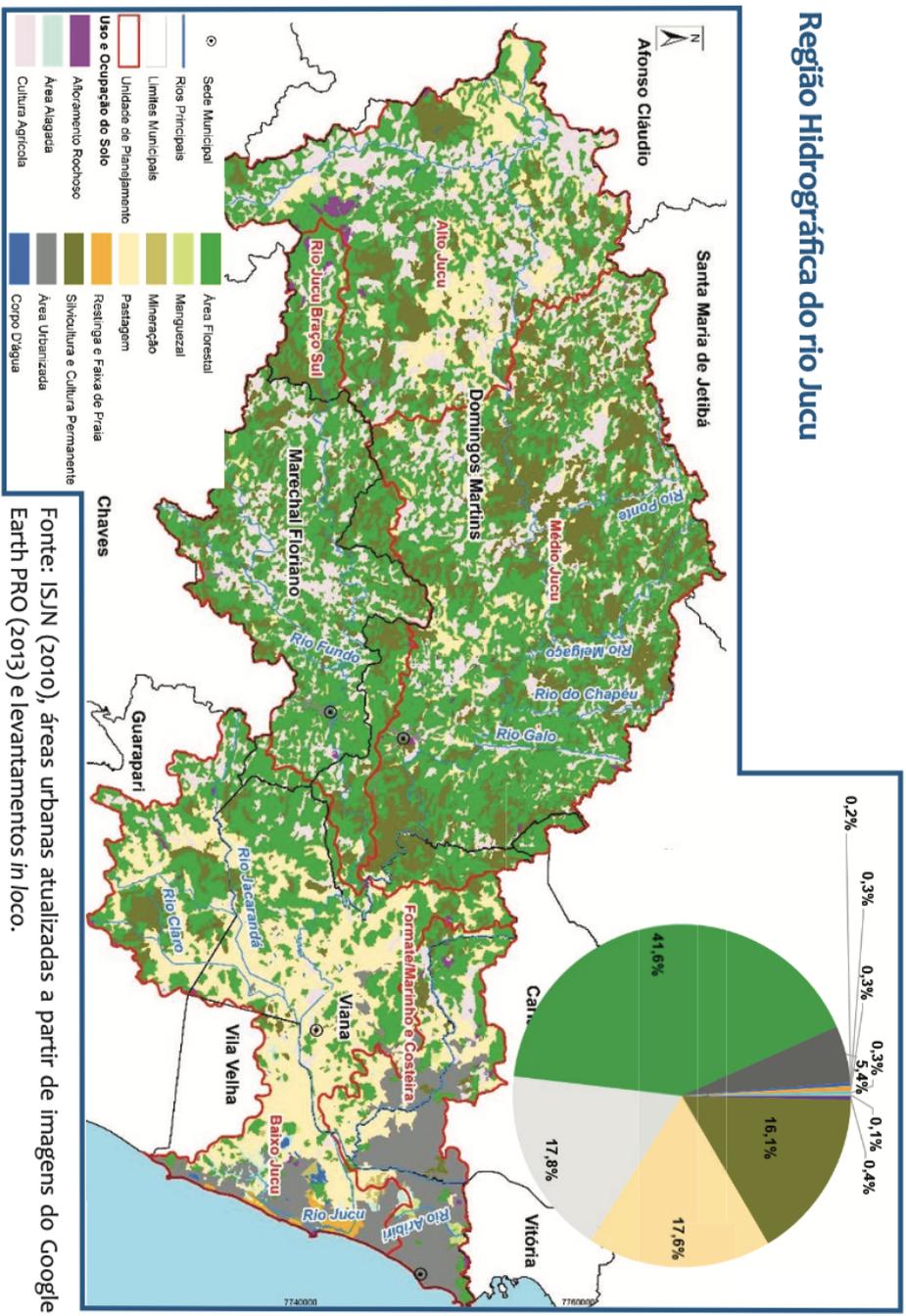


De acordo com os dados do programa ATLAS Brasil da Agência Nacional das Águas – ANA –, a bacia do rio Jucu dispõe de três estações de tratamento de água com capacidade de 4,7m<sup>3</sup>/s e abastece uma população de aproximadamente 1,1 milhão de habitantes na região metropolitana da Grande Vitória (ANA, 2021; IEMA, 2016). O relatório do CBHJ (IEMA, 2016) destaca que o consumo de água da bacia é de aproximadamente 372.994 m<sup>3</sup>/dia, sendo 87% destinado ao abastecimento público, 7% para a indústria, 3% para irrigação, 2% para criação animal e 1% para aquicultura.

Ainda de acordo com o relatório do CBHJ (IEMA, 2016), o uso e ocupação do solo na região da bacia (Figura 2) é composta por: cobertura florestal de 41,6%; área de cultura agrícola 17,8%; pastagem 17,6%; silvicultura 16,1%; e área urbanizada 5,4%. Menos de 2% da região é dividida entre afloramento rochoso, restinga e faixa de praia, corpos d'água, área alagada, manguezal e mineração. Consta também que a geração total de matéria orgânica na região é de 38,74 ton DBO<sub>5</sub>/dia e aponta que as fontes difusas representam 29,2 ton/dia, das quais 92,2% são provenientes de aviculturas, 6,3% da criação de bovinos e 1,2% da criação de suínos. Já as fontes pontuais são responsáveis pela produção de 19,4 ton DBO<sub>5</sub>/dia, sendo 98,8% provenientes de esgotos domésticos e industriais. Entretanto, 52% dessa produção é proveniente da UP Formate-Marinho e Costeira que abrange, parcialmente, a região urbana dos municípios de Cariacica, Viana e Vila Velha. As UPs do Alto Jucu e Médio Jucu, onde está localizado o rio Jucu Braço Norte, produzem 1,57 ton DBO<sub>5</sub>/dia, a UP rio Jucu Braço Sul produz 0,91 ton DBO<sub>5</sub>/dia e a UP baixo Jucu, localizada após a confluência, produz cerca de 15,7 ton DBO<sub>5</sub>/dia.

O relatório do CBHJ realizou um enquadramento dos cursos d'água da bacia com base na resolução brasileira de nº 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2011) que estabelece a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais. A classificação dos cursos d'água seguiu as classes da resolução, na qual a qualidade da água diminui progressivamente entre as classes especial e 4 (Figura 3). A resolução CONAMA (2011) diz:

Figura 2 – Uso e ocupação do solo na bacia hidrográfica do rio Jucu/ES.



Fonte: IEMA, 2016.

Art. 4º As águas doces são classificadas em:

I - Classe especial: águas destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção;
- b) à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e,
- c) à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.

II - Classe 1: águas que podem ser destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado;
- b) à proteção das comunidades aquáticas;
- c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;
- d) à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película; e
- e) à proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas.

III - Classe 2: águas que podem ser destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional;
- b) à proteção das comunidades aquáticas;
- c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;
- d) à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e
- e) à aquicultura e à atividade de pesca.

IV - Classe 3: águas que podem ser destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado;
- b) à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;
- c) à pesca amadora;
- d) à recreação de contato secundário; e
- e) à dessedentação de animais.

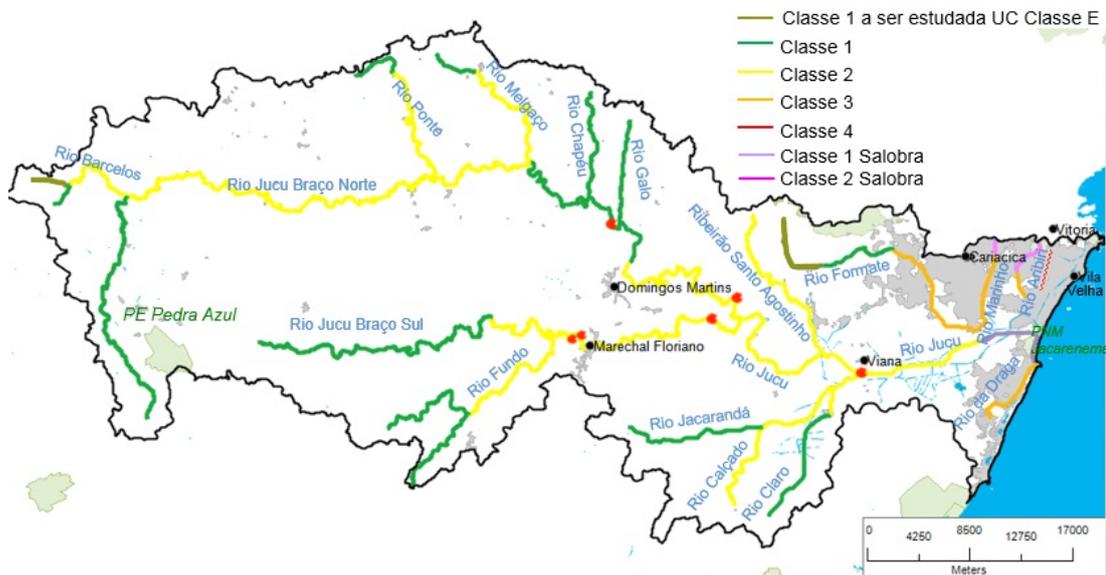
V - Classe 4: águas que podem ser destinadas:

- a) à navegação; e
- b) à harmonia paisagística

De acordo com o enquadramento dos cursos d'água realizado pelo IEMA (IEMA, 2016), com base na Resolução CONAMA nº 430/2011, o padrão de qualidade

da água do rio Jucu diminui progressivamente entre as classes especial e 4 (Figura 3) entre as nascentes e a região de foz do rio. Os pontos em vermelho da Figura 3 correspondem às localizações das estações amostrais selecionadas como base para o presente estudo.

Figura 3 – Enquadramento dos cursos d'água das Regiões Hidrográficas do rio Jucu em Classes (padrão de qualidade) segundo a Resolução CONAMA nº 430/2011.



Fonte: adaptado de IEMA, 2016.

#### 4.2 Biomonitoramento Ambiental

Os ecossistemas aquáticos estão constantemente expostos a produtos naturais ou de origem antrópica, que podem afetar, de forma direta ou indireta, a qualidade desses ambientes. Muitas vezes, essas fontes poluidoras atuam de forma difusa, o que dificulta a sua identificação, origem e efeitos no ecossistema. A avaliação integrada de efeitos bióticos e abióticos pode fornecer uma visão mais detalhada e completa do comportamento dessas fontes poluidoras, principalmente das fontes não pontuais (DUARTE *et al.*, 2017).

#### 4.2.1 Parâmetros físicos e químicos para biomonitoramento da água

Diversos métodos são utilizados para avaliar a qualidade da água nos ecossistemas e dentre as variáveis abióticas, os mais frequentes são os parâmetros físicos e químicos como: temperatura da água, pH, oxigênio dissolvido, turbidez, sólidos totais dissolvidos e a condutividade elétrica (CAMPOS, 2009).

A temperatura da água influencia diretamente nos processos físicos e químicos e nos processos oxidativos, como a decomposição da matéria orgânica e atividade biológica dos organismos, como a respiração. De acordo com Esteves (2011), a elevação da temperatura pode duplicar ou triplicar a velocidade das reações químicas ou fisiológicas. O autor também destaca que a diferença de temperatura na coluna d'água provoca uma estratificação de camadas de água com características químicas, físicas ou biológicas, completamente distintas. Essa estratificação térmica forma uma barreira física e impede a mistura entre as camadas. Diversos estudos reforçam a importância em compreender a variação espaço-temporal da temperatura da água em ambientes lóticos e as complexas respostas dos organismos a esse estresse térmico, as vezes causados por ações antrópicas nos ecossistemas aquáticos, que incluem descargas térmicas no leito dos rios, alterações do fluxo dos rios, remoção de vegetação das margens e outras (DALLAS, 2008; OLSEN; SHELTON; DALLAS, 2021).

A variação do pH (Resolução CONAMA nº 430/2011) deve estar entre 6 e 9 para que garanta a proteção da vida aquática. Alterações nos valores de pH em corpos hídricos são reflexos do tipo de solo em que a água percorre, mas também podem estar associadas à presença de despejos industriais e/ou domésticos que influenciam direta e indiretamente na biodisponibilidade de substâncias químicas presentes na coluna d'água e no sedimento, como metais pesados, afetando fisiologicamente diversas espécies (RODRIGUES *et al.*, 2015). Para Esteves (2011), em ambientes ácidos, os valores de pH podem estar relacionados à presença de ácidos orgânicos na água, como ácidos húmicos e fúlvicos, encontrados em águas escuras e ricas em substâncias húmicas (ESTEVES, 2011). Sheldon *et al.* (2018) também observaram águas com pH ácido (<6,5) em áreas florestais ou riachos próximos a áreas urbanas com vegetação.

O oxigênio dissolvido (OD) é a concentração de oxigênio contido na água. A solubilidade do O<sub>2</sub> depende de fatores como temperatura, pressão e sais presentes na água, além de matéria orgânica dissolvida (OLSEN; SHELTON; DALLAS, 2021).

Galter *et al.* (2021) observaram uma redução nos níveis de OD durante a estação de seca para as amostras de água do rio Itapemirim-ES. Baixos níveis de OD na água durante a estação chuvosa também foram observados por Irvine *et al.* (2011) em amostras da região de drenagem do lago Tonle Sap-Camboja, entre 2004 e 2010. Em contrapartida, no mesmo estudo, valores reduzidos de OD também foram observados nas regiões onde houve redução do fluxo de água e, conseqüentemente, menor turbulência devido ao período de estiagem.

A turbidez é uma medida indireta da quantidade de partículas presentes na água, pois indica o grau de dificuldade de um feixe de luz atravessar a coluna d'água. A turbidez é influenciada pela presença de detritos orgânicos, efluentes domésticos e industriais não tratados, fertilizantes, resíduos agropecuários e de mineração, principalmente durante a estação chuvosa. O aumento da turbidez da água provoca alterações no ecossistema aquático e na produção primária (BUZELLI; CUNHA-SANTINO, 2013; CETESB, 2013). Picos de turbidez, durante o período de alta pluviosidade, foram relatados por Irvine *et al.* (2011) em amostras de água coletadas em cinco locais no Lago Tonle Sap e nos rios Mekong e Bassac - Camboja, entre 2004 e 2010. Eles também relataram que os elevados valores de turbidez podem estar relacionados com erosão, ausência de vegetação nas margens e descargas provenientes da cidade de Phnom Penh.

A análise de sólidos totais dissolvidos (STD) nos dá a quantidade de substâncias orgânicas e inorgânicas sob formas moleculares presentes na coluna d'água e possui associação com a turbidez (ESTEVES, 2011). O excesso de STD na água pode afetar a penetração de luz neste ambiente e, conseqüentemente, interferir no metabolismo de organismos autotróficos, afetando toda a cadeia trófica. A deposição desses sólidos suspensos no leito dos rios faz parte do processo de assoreamento, alterando a composição daquele ambiente e intensificando processos de decomposição (BUZELLI; CUNHA-SANTINO, 2013). Assim, da mesma forma que a turbidez aumenta em períodos de alta precipitação pela ressuspensão do sedimento, o aporte de matéria orgânica no ambiente, erosão e outros fatores, pode levar ao aumento dos valores de STD.

A condutividade elétrica é a capacidade que uma solução tem para conduzir corrente elétrica e está intimamente relacionada à atividade iônica na água, ao pH e à temperatura. Além disso, ela pode ser influenciada pelas características geoquímicas da região, condições climáticas e ação antrópica (ESTEVES, 2011).

Alterações drásticas no ambiente, como a redução de áreas florestais por expansão de áreas agrícolas ou urbanas, podem estar associadas ao aumento da condutividade (SUÁREZ *et al.*, 2017). Em geral, níveis superiores a  $100 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  indicam ambientes impactados (CETESB, 2013; MANZANO *et al.*, 2015).

#### 4.2.2 Contaminação por metais em ambientes aquáticos

A emissão de metais no ambiente aquático tem aumentado nas últimas décadas e causado um comprometimento dos ecossistemas e danos à saúde humana (FAISAL *et al.*, 2020). O Fe é um metal essencial e extremamente importante na nutrição das plantas e dos animais. O Mo e o Mn também são importantes micronutrientes. Entretanto, esses e outros metais, quando em altas concentrações ou quando não possuem função na fisiologia dos organismos, esses metais podem desencadear efeitos tóxicos, deletérios e se bioacumular na cadeia trófica (CÉLICO, 2015; FERREIRA; HORTA; CUNHA, 2010).

Apesar dos metais pesados serem componentes naturais do solo, em atividades industriais, urbanas, mineradoras e práticas modernas de agricultura tem se tornado a principal fonte de contaminação do solo, decorrendo em sérios problemas ambientais (SILVEIRA *et al.*, 2018). De acordo com Küpper e Andresen (2016), o uso inadequado de pesticidas e de fertilizantes é o grande responsável pelo aumento da contaminação dos solos. Esses compostos vêm sendo utilizados, há muitos anos, de forma descontrolada na agricultura, se tornando, por exemplo, a principal causa de contaminação dos ecossistemas por cádmio e cobre.

Os metais pesados são potencialmente mutagênicos e estão seriamente envolvidos com a poluição ambiental. Os metais pesados interferem negativamente no desenvolvimento dos sistemas nervoso, hematológico e cardiovascular e aumentam os riscos de vários tipos de câncer, incluindo os de rim, pulmão, fígado, pele e câncer gástrico (YUAN; YANG; LI, 2016). Alguns metais como Cr, Pb, As, Cd e Hg são classificados como certos ou prováveis carcinógenos pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer, que pertence à Organização Mundial de Saúde (KIM; KIM; SEO, 2015). Seus metabólitos podem prejudicar e desestabilizar as funções da membrana plasmática e alterar atividades enzimáticas (SHARMA *et al.*, 2012; SHI *et al.*, 2018). Além disso, podem alcançar o núcleo e se ligar à molécula de DNA ou proteínas do grupo -SH e causar diversos danos ao DNA, como modificações de pares de base, quebras da fita de DNA, rearranjos e induzir alterações nas

estruturas dos cromossomos de procariotos e eucariotos, já comprovadas por experimentação *in vivo* e *in vitro* (AGARWAL; KHAN, 2020).

Em plantas, a principal via de acesso de metais pesados é pela absorção da raiz, por mecanismos de difusão passiva, transporte ativo e pelas regiões apoplásticas e seus inúmeros sítios de ligação (SHARMA *et al.*, 2012). Esses metais geralmente estão presentes no solo na forma de íons e sua absorção depende da concentração de elementos no solo, da sua biodisponibilidade, temperatura, pH, potencial redox, da presença de outros elementos e, até mesmo, da quantidade de matéria orgânica (GREGER, 2004; MAHAPATRA *et al.*, 2021). A toxicidade do Fe e do Al presentes no solo está relacionada ao pH, onde esses elementos se tornam tóxicos e solúveis quando em pH está abaixo de 7 (FRYZOVA *et al.*, 2017).

Um estudo realizado por Zhou *et al.* (2020) teve como objetivo investigar os níveis e as fontes de poluição por metais pesados em corpos d'água superficiais nos últimos cinquenta anos ao redor do mundo, onde foram avaliados 12 metais pesados (Cd, Pb, Cr, Hg, Zn, Cu, Ni, Al, Fe, Mn, As e Co) em rios e lagos entre os anos de 1972 e 2017, nos cinco continentes. Os autores observaram que as concentrações desses metais, entre 1990 e 2010, eram superiores às registradas nas décadas de 1970 e 1980, quando comparados com os limites e padrões preconizados pela Organização Mundial de Saúde (OMS), pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) e pelos limites permitidos nos países em desenvolvimento da África, Ásia e América do Sul, mas inferiores aos da Europa e América do Norte. Os autores relataram também que a contaminação por metais pesados nesse período era de contaminação por apenas um único metal nas décadas de 1970 e 1980 e passou a apresentar contaminação por vários metais nas décadas de 1990 a 2010. Os autores ainda observaram que as principais fontes de contaminação que anteriormente eram provenientes da mineração e de manufaturados, passaram a ser por fontes de intemperismo das rochas e descarte de resíduos nas últimas décadas. Destacaram, ainda, que os rios e lagos da América do Sul concentravam fontes poluidoras de cinco categorias (mineração, manufaturados, uso de fertilizantes e pesticidas, desgaste de rochas e descarte de resíduos), enquanto que nos outros continentes concentravam em duas fontes de emissão de metais. Por fim, os autores reforçam que a implementação de legislações rigorosas para a contaminação por metais pesados e reciclagem são eficazes para controlar a poluição.

Há também uma preocupação com a contaminação por metais contaminantes emergentes (EMC). Souza *et al.* (2021), ao estudarem matrizes bióticas e abióticas em seis níveis tróficos (plâncton, ostra, camarão, plantas de manguezais, caranguejos e peixes) de dois ecossistemas estuarinos de mangue neotropical no Espírito Santo, evidenciaram a presença de EMC como Bi, Ce, La, Nb, Sn, Ta, Ti, W, Y e Zr, nos ecossistemas aquáticos. O estudo demonstra que a presença de alguns desses EMC em vários níveis tróficos estavam associados às indústrias de exportação de ferro e pelletização (Bi), resíduos sólidos da produção de aço (Ce, La e Y) e material particulado atmosférico (Zr, Nb e Ti) presentes na região do estudo. Os autores ainda relatam que ocorreu biomagnificação e biodiluição desses EMC. O estudo foi pioneiro em demonstrar as vias tróficas de EMC *in situ*, demonstrando a contaminação do ambiente por esses metais emergentes, contaminação esta que ainda não possui regulamentação ambiental em vários países.

#### 4.2.3 O uso de biomarcadores no monitoramento ambiental de ecossistemas aquáticos

Diversos estudos apontam que a utilização de bioensaios integrados às análises físicas e químicas de ambientes aquáticos nos oferece respostas mais precisas dos efeitos de determinados poluentes nos seres vivos, devido à especificidade dos bioensaios na detecção de contaminantes em ecossistemas impactados (DUARTE, 2017; GALTER *et al.*, 2021).

Duarte *et al.* (2017) utilizaram o teste *Allium cepa* para avaliar a qualidade ambiental da lagoa Juara, na região metropolitana da Grande Vitória, Espírito Santo, Brasil. Os resultados demonstraram alterações significativas no índice mitótico das raízes de *A. cepa*, presença de aberrações cromossômicas e micronúcleos. Além disso, os autores observaram que a taxa de alterações cromossômicas de amostras coletadas no período de chuva foi superior às do período pós-chuva e que os resultados observados podem estar associados à contaminação por Al e Cd presentes na lagoa. Os autores alertam que, apesar da lagoa apresentar índice de qualidade de água boa / regular, o bioensaio com *A. cepa* se mostrou sensível aos compostos tóxicos, por isso devem ser utilizados em complementação aos tradicionais métodos de fiscalização e monitoramento de ambientes aquáticos.

#### 4.3 Bioensaios em *Allium cepa* L.

#### 4.3.1 Teste do *Allium cepa* L.

O uso de plantas como bioindicadoras é padronizado desde a década de 1990 por organizações internacionais como o International Program on Plant Bioassays (IPPB) do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (United Nations Environment Programme, UNEP) (MA, 1999) e o programa GENE-TOX da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (Environmental Protection Agency, EPA), incluindo a recomendação do uso do *A. cepa* como organismo teste por MA *et al.* (2005). Além disso, bioensaios com plantas superiores são utilizados desde a década de 70 como indicadores de efeitos citogenéticos e mutagênicos na detecção de poluentes ambientais (GRANT, 1994; FATIMA; AHMAD, 2005; FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES *et al.* 2007; 2009; LEME; MARIN-MORALES, 2009; BONCIU *et al.*, 2018). Dentre as espécies de plantas superiores, *A. cepa* é indicada para avaliar diversos parâmetros genéticos como mutações e aberrações cromossômicas por possuir cromossomos grandes, diplóide, com número reduzido de cromossomos ( $2n = 16$ ), facilitando a visualização das alterações citogenéticas em microscopia de luz (FISKESJÖ, 1985; LEME; MARIN-MORALES, 2009; IQBAL *et al.* 2019).

O processo de divisão celular natural de uma célula pode sofrer alterações que podem interromper o ciclo celular em alguma de suas fases. Essas alterações no ciclo, conseqüentemente, têm um efeito de inibição do ciclo mitótico das células. Em contrapartida, os mecanismos de checagem e reparo do ciclo celular atuam para corrigir esses erros e dar continuidade ao ciclo. Qualquer alteração na ordem ou direção do ciclo celular, envolvendo mitose e citocinese, são desencadeadas por uma série de fatores clastogênicos e/ou aneugênicos e, portanto, reflexo de citotoxicidade, genotoxicidade e, em alguns casos, mutagenicidade (BONCIU *et al.*, 2018).

Os processos clastogênicos e aneugênicos induzem a formação de aberrações cromossômicas, onde podem ocorrer alterações na estrutura ou no número de cromossomos, de forma natural ou como consequência da exposição a agentes físicos ou químicos. Os efeitos clastogênicos podem ser classificados pela indução de quebra cromossômica durante a divisão celular, enquanto que processos aneugênicos estão relacionados a inativação de estruturas celulares que podem levar a perda de um ou mais cromossomos inteiros, além da não formação do fuso mitótico (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES 2007; 2009; FENECH *et al.*, 2011; IEQBAL *et al.*, 2019).

A aderência cromossômica ocorre quando há perda das características normais de condensação cromossômica e pode ser devido a alterações na estrutura ou no número de cromossomos e esse efeito leva a uma maior contração cromossômica (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2009; LEME; MARIN-MORALES, 2009). A aderência é uma alteração no cromossomo, provavelmente irreversível e pode levar à formação de pontes, quebras e à morte celular. Seus efeitos podem persistir até a telófase, podendo gerar pontes e/ou quebras cromossômicas quando ocorre a separação dos cromossomos (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2009; LQBAL *et al.*, 2019)

A C-metáfase é uma das evidências dos efeitos de agentes aneugênicos onde ocorre inibição da formação do fuso mitótico por alterações nas tubulinas e, conseqüentemente, alterações na polimerização dos microtúbulos. Esse processo leva à interrupção da divisão celular e os cromossomos são observados espalhados pela célula, condensados e com o centrômero bem definido, pois não há formação da placa equatorial (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2009).

As perdas cromossômicas ocorrem provavelmente por alterações no fuso mitótico e são, frequentemente, observadas em metáfases, anáfases e telófases (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2009). As perdas cromossômicas podem ocorrer por inibição da polimerização do fuso mitótico durante a anáfase e esse processo pode induzir uma ligação unilateral do fuso mitótico aos cromossomos, o que impede o deslocamento dos cromossomos para os polos, ficando disperso no citoplasma (SANTOS FILHO *et al.*, 2019). Esse material genético, sem uma orientação de fuso adequada, migra de forma aleatória para cada célula filha e assim são formadas células com alterações no número cromossômicos (aneuploidia) ou formação de micronúcleo (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; 2009; SANTOS FILHO *et al.*, 2019).

A mitose multipolar pode ocorrer quando há a presença de dois ou mais centros do fuso mitótico, que acontece quando dois centrossomos dividem-se duas vezes durante o ciclo (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2009). Assim, ocorre uma segregação desigual dos cromossomos, induzindo a formação de anáfases multipolares e, conseqüentemente, a presença de células polinucleadas (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2009).

O efeito mutagênico pode ser observado por danos ao DNA quando a molécula está exposta a agentes mutagênicos, resultando em uma fragmentação

cromossômica acêntrica (origem clastogênica) ou perda de cromossomos inteiros (aneugênica) que, quando não reparados, ao final do ciclo da divisão celular, o dano poderá ser fixado e expresso em forma de um micronúcleo (MN). O MN possui as mesmas características do núcleo principal, à exceção do seu tamanho, que é menor (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2009; FENECH *et al.*, 2011; IQBAL *et al.*, 2019).

A análise do ciclo celular e suas alterações permite determinar o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico de compostos tóxicos quando este reduz ou aumenta o número de células em divisão, quando apresenta formação de aberrações cromossômicas e/ou indução de micronúcleos (HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009).

Estudos de avaliação toxicogenética também foram realizados por Matos *et al.* (2017) em amostras de água do rio Poti (Piauí) onde esses autores observaram efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos, especialmente alterações no fuso mitótico, formação de micronúcleo e quebra de DNA em *A. cepa* e *Oreochromis niloticus* (tilápia). Ainda, os autores correlacionaram a presença de Fe nas amostras com os efeitos citotóxicos e AI com mutagenicidade.

Wijeyaratne e Wadasinghe (2019) avaliaram amostras de água e sedimento de um rio na província de Sri Lanka, usando *A. cepa* como organismo teste. Foram coletadas amostras de áreas predominantemente urbanas, industriais, local de captação de água para abastecimento público e região de agricultura. Os autores observaram efeitos citotóxicos (redução no índice mitótico e do crescimento das raízes), após 48h de exposição às amostras de água e de elutriato. Os autores também relataram maiores índices de anormalidades nucleares encontrados nas amostras das áreas industrial e área de captação de água para abastecimento público. Os autores sugeriram um estudo minucioso para identificar a composição desses compostos citogenotóxicos presentes nas amostras, sobretudo na região onde há captação de água para o abastecimento público.

Um estudo realizado por Silva Souza, Souza e Lascola (2018) avaliou amostras de água coletadas na bacia do rio Alegre (Espírito Santo), localidade onde não há tratamento de esgoto e os efluentes domésticos são lançados *in natura* nos rios. Os resultados obtidos pelo teste do *A. cepa* indicaram efeito citotóxico (redução do índice mitótico) e/ou genotóxico (indução de aberrações cromossômicas) para as amostras. Já as análises histopatológicas, realizadas com fígado e brânquias de *Rhamdia*

*quelen* (bagre), coletados no rio, indicaram índice moderado de alterações histopatológicas sendo o fígado mais sensível que as brânquias.

A análise integrada de aspectos abióticos e bioensaios toxicogenéticos em *A. cepa*, *O. niloticus* (tilápia) e células de mamíferos foram realizadas por Galter *et al.* (2021) com o objetivo de avaliar a qualidade de amostras de água do Rio Itapemirim/ES. Os autores relataram que, apesar de as variáveis físicas e químicas estarem de acordo com a legislação brasileira (CONAMA 357/2005), os elementos Al e Cu estavam em concentrações acima do permitido pela mesma legislação. Além disso, os ensaios biológicos realizados apresentaram dano toxicogenético, demonstrando que as águas do rio Itapemirim estavam comprometidas e necessitam de planos de ação para sua recuperação.

#### 4.3.2 Biomarcadores bioquímicos e enzimas do estresse oxidativo

Ao avaliar mecanismos iniciais de resposta rápida na presença de contaminantes, a nível celular e molecular, conseguimos evitar maiores danos a níveis macroecológicos. Os efeitos diretos dos xenobióticos a nível celular e molecular envolvem formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), que podem causar distúrbios na homeostase, inibição enzimática, danos a macromoléculas e proteínas receptoras celulares (DIXON *et al.*, 2012). A célula possui diversos mecanismos de defesa para minimizar ou neutralizar e reparar o efeito de xenobiontes no organismo e das ERO geradas pelo metabolismo aeróbio, pelo sistema de enzimas de biotransformação e pelo mecanismo antioxidante, respectivamente.

Os compostos xenobióticos ativam as etapas de defesa do organismo, as enzimas de biotransformação de Fase I e Fase II. Na Fase I, ocorrem reações de redução, oxidação e hidrólise pelas proteínas do complexo citocromo P450 (Etoxiressorufina O-desetilase), para transformar compostos endógenos e xenobióticos lipossolúveis a um metabólito intermediário mais polar (hidrossolúvel). Essas enzimas estão localizadas no retículo endoplasmático e nas mitocôndrias das células (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). O processo de biotransformação facilita a excreção do metabólito pelo sistema de transporte do tipo ABC ou por conjugação com enzimas de biotransformação da Fase II. Entretanto, a formação desses metabólitos da Fase I pode gerar ERO, como o radical superóxido, e ativar o sistema antioxidante. Na Fase II, o xenobiótico hidrossolúvel é conjugado com a GSH pela GST, reduzindo sua toxicidade para ser excretado para o meio extracelular pelos

sistemas de transporte. A GSH e a GST possuem afinidade independente com metais, ou seja, tem capacidade quelante de fixar íons metálicos, formando um complexo solúvel e não tóxico (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

A formação de ERO também ocorre naturalmente durante a respiração e fotossíntese, mas a níveis basais. Essas moléculas podem, inclusive, adquirir e mediar importantes funções celulares, tais como a morte celular, a diferenciação e desenvolvimento celular e processos inflamatórios (SHARMA *et al.*, 2012). Porém, estressores abióticos podem aumentar a concentração de ERO produzidas no organismo. São muitos os fatores estressores como radiação UV, luminosidade intensa, agrotóxicos, estiagem, contaminação por metais pesados, concentração elevada de sais, poluições diversas, entre outros (SHARMA *et al.*, 2012; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

Durante o processo de biotransformação, podem ser geradas ERO como o oxigênio *singlet* ( $^1\text{O}_2$ ), o ânion superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e o radical hidroxil ( $\cdot\text{OH}$ ). Algumas destas moléculas são mais instáveis e reagem rapidamente apenas com algumas substâncias, como é o caso do  $\text{H}_2\text{O}_2$ , enquanto outras, como radical hidroxil, reagem rapidamente com inúmeras moléculas (DEMIDCHIK, 2015; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015; LÜ *et al.*, 2010). Além de ser o radical mais reativo dentre todas as ERO, o radical hidroxil interage com moléculas biológicas e provoca severos danos celulares, como a peroxidação lipídica (LPO), que causa alterações importantes nas membranas, diminuindo sua fluidez, alterando a permeabilidade iônica e outras funções que levam ao desequilíbrio e perda das funções essenciais das células (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). A célula não possui mecanismos enzimáticos que possam eliminar esse radical e, como consequência, esse evento pode levar à morte celular (SHARMA *et al.*, 2012). Como resposta, o sistema antioxidante atua na prevenção e degradação dessas ERO.

Os mecanismos enzimáticos que participam desse processo são enzimas antioxidantes tais como: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APx), guaiacol peroxidase (GPx), glutathione redutase (GR), monodehidroascorbato redutase (MDAR), entre outras. Já os mecanismos não enzimáticos, que são compostos de baixo peso molecular, envolvem a glutathione reduzida (GSH), glutathione S-transferase (GST), aminoácidos, compostos fenólicos, ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -tocoferol, entre outros (BARBOSA *et al.*, 2010).

As SOD caracterizam a família de metaloenzimas que são responsáveis pela dismutação de íons superóxido em peróxido de hidrogênio quando em níveis elevados e atuam como principal mecanismo de defesa antioxidante nos organismos aeróbicos. Essas enzimas estão presentes em diversos compartimentos celulares e, nas plantas, esse grupo é classificado de acordo com seu sítio ativo para metais, como por exemplo, cobre/zinco (Cu/ZnSOD) presente no cloroplasto e ferro (FeSOD) ou manganês (MnSOD) presentes na matriz mitocondrial (GILL; TUTEJA, 2010; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). O aumento elevado na atividade da SOD tem sido relatado em plantas expostas a estresses ambientais como seca e toxicidade por metais (FATIMA; AHMAD, 2005; SHARMA *et al.*, 2012)

As CAT podem ser encontradas no citosol, cloroplasto e mitocôndrias, mas sua atividade significativa ocorre nos glioxissomos e peroxissomos, pois é onde ocorre uma maior produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nas células (SHARMA *et al.*, 2012). Essas enzimas apresentam uma alta taxa de conversão. São a principal via de dismutação de duas moléculas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub>. Entretanto, a CAT é ativada quando há uma concentração elevada de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nas células (GILL; TUTEJA, 2010).

A GSH é uma molécula de baixo peso molecular com papel essencial nas defesas intracelulares contra o dano oxidativo e também atua na biotransformação e eliminação de compostos químicos nas células (NAHAR *et al.*, 2015). A GSH é sintetizada no citosol e nos cloroplastos das plantas e possui um grupamento sulfidril (-SH) em sua composição que permite que ela seja um excelente redutor de ERO (HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008; SHARMA *et al.*, 2012). Devido ao seu alto poder redutor, ela atua em diversos processos biológicos como desenvolvimento celular, divisão celular, regulação enzimática, síntese de proteínas e ácidos nucleicos. Em ação com as GST, atuam catalisando a conjugação de GSH a xenobióticos lipossolúveis (DIXON *et al.*, 2012).

A GST também está presente em todas as células, preferencialmente no citoplasma, e é responsável pela conjugação de xenobióticos eletrofílicos a GSH conjugado, reduzindo sua toxicidade e tornando-os mais hidrofílicos para facilitar a excreção, nas etapas de biotransformação de Fase II (DIXON *et al.*, 2012). Dessa forma, a célula se previne pela ação das GST, que auxiliam na detoxificação de compostos endógenos e possíveis formadores de ERO (SHARMA *et al.*, 2012). Várias classes de GST foram identificadas em plantas respondendo aos mais diversos tipos de estressores bióticos ou abióticos, principalmente herbicidas (DIXON *et al.*, 2012).

Estudos tem demonstrado uma relação entre a exposição de contaminantes e a atividade de enzimas biomarcadoras. García-Medina *et al.* (2020) estudaram a relação entre o estresse oxidativo e os efeitos citogenotóxicos da carbamazepina em *A. cepa*. A carbamazepina é um contaminante emergente e uma das drogas anticonvulsionantes mais frequentes encontradas em corpos hídricos. Os resultados mostraram que a capacidade genotóxica da droga nas raízes de *A. cepa* está relacionada à geração de estresse oxidativo, principalmente na produção de hidroperóxidos e proteínas oxidadas. Além disso, observaram uma alta correlação de danos à molécula de DNA e o efeito citotóxico apresentado.

Um estudo realizado por Srivastava e Singh (2020) avaliou o efeito do inseticida malation no sistema radicular de *A. cepa*. Foram utilizadas diferentes doses de malation em diferentes tratamentos (4, 8 e 18h) e os resultados revelaram que o inseticida afetou a taxa de crescimento e divisão celular das raízes. Além disso, o malation elevou os níveis de LPO e provocou alterações nas enzimas antioxidantes como APx, GR, CAT, GST e SOD em todas as concentrações, exceto a de maior valor (0,52 g.L<sup>-1</sup>). Os autores também observaram que no teste do cometa, ocorreu indução de danos ao DNA nas células da raiz. Os resultados mostram que o malation induz efeitos citotóxicos e fitotóxicos mediados pelo estresse oxidativo.

## REFERÊNCIAS

AGARWAL, S.; KHAN, S. Heavy Metal Phytotoxicity: DNA Damage. **Cellular and Molecular Phytotoxicity of Heavy Metals**, p. 157–177, 2020. DOI: 10.1007/978-3-030-45975-8\_10.

AHMED, B. *et al.* Understanding the phyto-interaction of heavy metal oxide bulk and nanoparticles: evaluation of seed germination, growth, bioaccumulation, and metallothionein production. **RSC Advances**, v. 9, n. 8, p. 4210–4225, 2019. DOI: 10.1039/C8RA09305A.

ALUM, O. L.; OKOYE, C. O. B. Pollution status of major rivers in an agricultural belt in Eastern Nigeria. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 6, 2020. DOI: 10.1007/s10661-020-08366-3.

ANA, Agência Nacional das Águas. **Segurança Hídrica**. Disponível em: <<http://atlas.ana.gov.br/Atlas/forms/analise/RegiaoMetropolitana.aspx?rme=21>>. Acesso em: 18 mai. 2019.

BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

BONCIU, E. *et al.* An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. **Caryologia**, v. 71, n. 3, p. 191–209, 2018. DOI: 10.1080/00087114.2018.1503496.

BUZELLI, G. M.; CUNHA-SANTINO, M. B. Diagnosis and analysis of water quality and trophic state of Barra Bonita reservoir, SP. **Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 8, n. 1, 2013.

CAMPOS, C. R. Monitoramento da microbiologia e dos parâmetros físico-químico do vinhoto. **Tese de Doutorado em Microbiologia Agrícola**, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 2009. 97p.

CÉLICO, A. S. Influência da adubação orgânica na qualidade da água destinada à irrigação de hortaliças. **Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agropecuária**, Universidade Estadual Paulista – UNESP, 2015. 93p.

CESAN, Companhia Espírito Santense de Saneamento. **Falta de chuva e níveis críticos dos rios podem levar ao racionamento de água na Grande Vitória**. 2016. Disponível em: <https://www.cesan.com.br/noticias/falta-de-chuva-e-niveis-criticos-dos-rios-podem-levar-ao-acionamento-de-agua-na-grande-vitoria/>. Acesso em: 16 fev. 2021.

CETESB. **Qualidade das Águas Superficiais**. v. Apêndice C, p. 303, 2013. Disponível em: <<http://cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 16 fev. 2021.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução N° 430, De 13 De Maio De 2011. Complementa e altera a Resolução nº 357/2005. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no Iho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA**. 2011. p. 8. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em 21 out. 2021.

DALLAS, H. Water temperature and riverine ecosystems: An overview of knowledge and approaches for assessing biotic responses, with special reference to South Africa. **Water SA**, v. 34, n. 3, p. 393–404, 2008.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212–228, 2015. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2014.06.021.

DIXON, D. P. *et al.* The maize benzoxazinone DIMBOA reacts with glutathione and other thiols to form spirocyclic adducts. **Phytochemistry**, v. 77, p. 171–178, maio 2012.

DUARTE, I. D. Rio Santa Maria da Vitória (ES, Brasil): Avaliações Ecofisiológicas e Toxicogenéticas em Amostras de Água, Sedimento e Elutriado do Sedimento. **Tese de doutorado em Biologia Vegetal**, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, 2017. 185p.

DUARTE, I. D. *et al.* Cytogenetic responses of *Allium cepa* L. after exposure to contaminated pond waters. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 15, n. 1, p. 1–6, 2017.

DUARTE, I. D. *et al.* Water quality of a coastal lagoon (ES, Brazil): abiotic aspects, cytogenetic damage, and phytoplankton dynamics. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 11, p. 10855–10868, 2017b.

ESTEVEZ, F. de A. **Fundamentos de Limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciências, 2011.

FAISAL, M. *et al.* **Cellular and Molecular Phytotoxicity of Heavy Metals**. Cham: Springer International Publishing, 2020. DOI: 10.1007/978-3-030-45975-8.

FATIMA, R. A.; AHMAD, M. *Allium cepa* derived EROD as a potential biomarker for the presence of certain pesticides in water. **Chemosphere**, v. 62, n. 4, p. 527–537, 2006. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2005.06.032.

FENECH, M. *et al.* Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. **Mutagenesis**, v. 26, n. 1, p. 125–132, 2011. DOI: 10.1093/mutage/geq052.

FERNANDES, T. C.C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252–259, 2007.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent-Trifluralin herbicide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 6, p. 1680–1686, 2009.

FERREIRA, A. P.; HORTA, M. A. P.; CUNHA, C. L. N. Avaliação das concentrações de metais pesados no sedimento, na água e nos órgãos de *Nycticorax nycticorax* (Garça-da-noite) na Baía de Sepetiba, RJ, Brasil. **Revista de Gestão Costeira Integrada**, v. 10, n. 2, p. 229–241, 2010.

FIGUEIREDO, D. Rios chegam ao nível crítico. Com a baixa incidência de chuvas neste mês, rios Jucu e Santa Maria, que abastecem a Grande Vitória, estão com queda na vazão. **A Tribuna**, Vitória, p. 1–5, 2016. Disponível em: <http://www.ijsn.es.gov.br/bibliotecaonline/Record/332572>.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99–112, 1985. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x.

FRYZOVA, R. *et al.* Oxidative Stress and Heavy Metals in Plants. **Reviews in Environmental Contamination and Toxicology**, v. 245, p. 129–156, 2017. DOI: 10.1007/398\_2017\_7.

GALTER, I. N. *et al.* Water assessment of the Itapemirim River/Espírito Santo (Brazil): abiotic and toxicogenetic aspects. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 8, p. 10175–10191, 2021.

GARCÍA-MEDINA, S. *et al.* The relationship between cyto-genotoxic damage and oxidative stress produced by emerging pollutants on a bioindicator organism (*Allium cepa*): The carbamazepine case. **Chemosphere**, v. 253, 2020.

GARDIMAN JUNIOR, B. S. Caracterização do processo de poluição das águas superficiais da Bacia Hidrográfica do rio Jucu, estado do Espírito Santo, Brasil. **REVISTA AGRO@MBIENTE ON-LINE**, v. 9, n. 3, p. 235, 2015. DOI: 10.18227/1982-8470ragro.v9i3.2310.

GARDIMAN JUNIOR, B. S.; SIMOURA, L. T. Cobertura florestal e qualidade da água na bacia hidrográfica do rio Jucu, estado do Espírito Santo, Brasil. **Scientia Plena**, v. 12, n. 1, p. 1–15, 2016.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010.

GREGER, M. Metal Availability, Uptake, Transport and Accumulation in Plants. **Heavy Metal Stress in Plants**, p. 1–27, 2004.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Oxford: Oxford University Press, 2015. DOI:10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001

HOSHINA, M. M.; MARIN-MORALES, M. A. Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river

water that receives this effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 8, p. 2090–2095, 2009.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, Â. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170–1179, 2008.

IEMA, Instituto Estadual do Meio Ambiente – Espírito Santo. **Enquadramento dos Corpos de Água em Classes e Plano de Bacia para os Rios Santa Maria da Vitória e Jucu**. Relatório Síntese. 2016. Disponível em: <<https://agerh.es.gov.br/Media/agerh/DocumentacaoCBHs/Jucu/RELATORIOSINTESE.pdf>>. Acesso em: 22 jun. 2021.

IQBAL, M. *et al.* Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: A review. **Chemistry International**, v. 5, n. 1, p. 1–80, 2019. DOI: 10.5281/zenodo.1475399.

IRVINE, K. N. *et al.* Spatial and temporal variability of turbidity, dissolved oxygen, conductivity, temperature, and fluorescence in the lower mekong river-tonle sap system identified using continuous monitoring. **International Journal of River Basin Management**, v. 9, n. 2, p. 151–168, 2011.

KIM, H. S.; KIM, Y. J.; SEO, Y. R. An Overview of Carcinogenic Heavy Metal: Molecular Toxicity Mechanism and Prevention. **Journal of Cancer Prevention**, v. 20, n. 4, p. 232–240, 2015.

KÜPPER, H.; ANDRESEN, E. Mechanisms of metal toxicity in plants. **Metallomics**, v. 8, n. 3, p. 269–285, 2016.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A.. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009. DOI: 10.1016/j.mrrev.2009.06.002.

LÜ, J. M. *et al.* Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 14, n. 4, p. 840–860, 2010. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x.

MA, T. H. The international program on plant bioassays and the report of the follow-up study after the hands-on workshop in China. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 426, n. 2, p. 103–106, 1999. DOI: 10.1016/S0027-5107(99)00049-4.

MA, T. H.; CABRERA, G. L.; OWENS, E.. Genotoxic Agents Detected by Plant Bioassays. **Reviews on Environmental Health**, v. 20, n. 1, p. 1–14, 2005. DOI: 10.1515/REVEH.2005.20.1.1.

MAHAPATRA, K. *et al.* An insight into the mechanism of plant organelle genome maintenance and implications of organelle genome in crop improvement: An update. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, 10 ago. 2021. DOI: 10.3389/fcell.2021.671698/.

MANZANO, B. C. *et al.* Evaluation of the genotoxicity of waters impacted by domestic and industrial effluents of a highly industrialized region of São Paulo State, Brazil, by the comet assay in HTC cells. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 2, p. 1399–1407, 2015. DOI: 10.1007/s11356-014-3476-5.

MATOS, L. A. *et al.* The influence of heavy metals on toxicogenetic damage in a Brazilian tropical river. **Chemosphere**, v. 185, p. 852–859, 2017. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.07.103

NAHAR, K. *et al.* Exogenous glutathione confers high temperature stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.) by modulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system. **Environmental and Experimental Botany**, v. 112, p. 44–54, 2015.

OLSEN, T.; SHELTON, J. M.; DALLAS, H. F. Does thermal history influence thermal tolerance of the freshwater fish *Galaxias zebratus* in a global biodiversity hotspot? **Journal of Thermal Biology**, v. 97, p. 102890, 2021. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2021.102890.

OSPAR COMMISSION. **Hazardous Substances Series: Survey on Genotoxicity Test Methods for the Evaluation of Waste Water within Whole Effluent Assessment**. Oslo/Paris. Disponível em: <https://www.ospar.org/documents?v=6932>. Acesso em 23 jul. 2021.

PATNAIK, A. R.; ACHARY, V. M. M.; PANDA, B. B. Chromium (VI)-induced hormesis and genotoxicity are mediated through oxidative stress in root cells of *Allium cepa* L. **Plant Growth Regulation**, v. 71, n. 2, p. 157–170, 2013.

PAULA, F. **Racionamento de água começa na Grande Vitória**. 2016. Disponível em: <http://g1.globo.com/espírito-santo/noticia/2016/09/racionamento-de-agua-comeca-na-grande-vitoria.html>. Acesso em: 10 fev. 2021.

RODRIGUES, L. D. A. *et al.* Determination of toxicity assays, trophic state index, and physicochemical parameters on Piracicaba River and Itapeva Stream. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 10, n. 2, p. 310–317, 2015.

SANTOS FILHO, R. *et al.* Genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles and triggering of defense mechanisms in *Allium cepa*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 42, n. 2, p. 425–435, 2019.

SHARMA, P. *et al.* Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1–26, 2012.

SHELDON, F. *et al.* Urbanization: Hydrology, Water Quality, and Influences on Ecosystem Health, Editor(s): Ashok K. Sharma, Ted Gardner, Don Begbie, **Approaches to Water Sensitive Urban Design**, Woodhead Publishing, p. 229-248, 2019. ISBN 9780128128435. DOI: 10.1016/B978-0-12-812843-5.00011-3.

SHI, T. *et al.* Inventories of heavy metal inputs and outputs to and from agricultural soils: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 164, p. 118–124, 2018.

SILVA SOUZA, T.; SOUZA, V. V.; LASCOLA, M. B. Assessment of surface water using *Allium cepa* test and histological analysis in Rhamdia quelen. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 7, 2018. DOI: 10.1007/s10661-018-6795-z.

SILVEIRA, M. A. D. *et al.* Direct and Indirect Anthropogenic Contamination in Water Sources: Evaluation of Chromosomal Stability and Cytotoxicity Using the *Allium cepa* Test. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 100, n. 2, p. 216–220, 2018. DOI: 10.1007/s00128-017-2232-1.

SOUZA, I. C. *et al.* Trophic transfer of emerging metallic contaminants in a neotropical mangrove ecosystem food web. **Journal of Hazardous Materials**, v. 408, 2021.

SRIVASTAVA, A. K.; SINGH, D. Assessment of malathion toxicity on cytophysiological activity, DNA damage and antioxidant enzymes in root of *Allium cepa* model. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-57840-y.

SUÁREZ, M. L. *et al.* Functional response of aquatic invertebrate communities along two natural stress gradients (water salinity and flow intermittence) in Mediterranean streams. **Aquatic Sciences**, v. 79, n. 1, p. 1–12, 2017. DOI: 10.1007/s00027-016-0475-2.

WIJEYARATNE, D. N. D. N.; WADASINGHE, L. G. Y. J. G. *Allium cepa* bio assay to assess the water and sediment cytogenotoxicity in a tropical stream subjected to multiple point and nonpoint source pollutants. **Journal of Toxicology**, v. 2019, p. 1-10, 2019. DOI: 10.1155/2019/5420124

YUAN, W.; YANG, N.; LI, X. Advances in understanding how heavy metal pollution triggers gastric cancer. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1-10, 2016. DOI: 10.1155/2016/7825432

ZHOU, Q. *et al.* Total concentrations and sources of heavy metal pollution in global river and lake water bodies from 1972 to 2017. **Global Ecology and Conservation**, v. 22, p. 00925, 2020. DOI: 10.1016/j.gecco.2020.e00925.

**CAPITULO 1 – Uso de biomarcadores bioquímicos em *Allium cepa* L.  
associados a parâmetros limnológicos e quantificação de metais na avaliação  
de um rio neotropical brasileiro**

Autores: Edvar Junior Roncetti Coelho <sup>(1)</sup>, Tainá Turial <sup>(2)</sup>, Marina Marques Bonomo <sup>(3)</sup>,  
Lívia Dorsch Rocha <sup>(1)</sup>, Ian Drumond Duarte <sup>(1)</sup>, Marisa Narciso Fernandes <sup>(3)</sup>, Josimar  
Ribeiro <sup>(2)</sup>, Sílvia Tamie Matsumoto <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais,  
Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia  
Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

<sup>(2)</sup> Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal do  
Espírito Santo, CEP 29075-910 Vitória, ES, Brasil.

<sup>(3)</sup> Departamento de Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências Biológicas e Saúde,  
Universidade Federal de São Carlos, CEP 13565-905 São Carlos, SP, Brasil.

\*Autor para correspondência: [ejroncetti@gmail.com](mailto:ejroncetti@gmail.com)

Periódico a ser submetido: Environmental Science and Pollution Research.

## RESUMO

O estudo foi realizado no rio Jucu, importante corpo hídrico na região sudeste do Brasil, que é utilizado no abastecimento de aproximadamente 1,1 milhão de habitantes. Foram realizadas amostragens nos períodos de baixa e alta pluviosidade por meio de coletas de água subsuperficial e de sedimento em seis estações amostrais ao longo do rio. Foram aferidos parâmetros limnológicos (pH, temperatura, oxigênio dissolvido, turbidez, sólidos totais dissolvidos, condutividade e salinidade) e quantificados os metais (Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn) das amostras. A avaliação dos biomarcadores bioquímicos superóxido dismutase, catalase, glutathione S-transferase, glutathione reduzida e peroxidação lipídica (LPO) foi realizada em radículas de *Allium cepa* L. expostas às amostras coletadas. Os valores de nitrogênio total na primeira amostragem e turbidez na segunda amostragem estavam acima dos limites estabelecidos pela legislação. Os resultados evidenciaram que há contaminação das amostras de água por Al, Fe, Mn e Cu em todas as estações amostrais, nas duas amostragens e com concentrações acima do permitido pela legislação brasileira. A concentração dos demais elementos estava superior à legislação apenas na segunda amostragem de elutriato. As concentrações de Al e Fe podem estar relacionadas a processos de lixiviação dos solos latossolo vermelho-amarelo e cambissolo da bacia hidrográfica, enquanto os demais elementos podem estar ligados às atividades agrícolas e ao despejo de efluentes não tratados. Em relação aos biomarcadores, foram constatadas alterações no metabolismo oxidativo na maioria das estações, bem como observado LPO na segunda amostragem de água e na primeira amostragem de elutriato. Esses resultados demonstram que as alterações podem estar relacionadas aos poluentes ambientais nas amostras, sobretudo a contaminação por metais e contaminantes provenientes da produção agrícola, como fertilizantes e agrotóxicos, e despejo de efluentes domésticos. Diante dos resultados observados, pode-se constatar que a qualidade ambiental do rio Jucu encontra-se afetada, causando efeito estressante na fisiologia dos organismos estudados e potencialmente à biota local.

**Palavras-chave:** enzimas antioxidantes • enzima de biotransformação • estresse oxidativo • metais pesados.

## ABSTRACT

This study was carried out on Jucu River, an important water body in the Southeast region of Brazil, used to supply approximately 1.1 million inhabitants. Sampling was carried out in low and high rainfall periods by collecting subsurface water and sediment at six sampling stations along the river. Limnological parameters (pH, temperature, dissolved oxygen, turbidity, total dissolved solids, conductivity, and salinity) were measured, and metals in the samples (Al, Cd, Co, Cr, Cu, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, and Zn) were quantified. The evaluation of biochemical biomarkers such as superoxide dismutase, catalase, glutathione S-transferase, reduced glutathione and lipid peroxidation (LPO) was performed on *Allium cepa* L. radicles exposed to collected samples. Limnological parameters above the limits established by legislation were observed for total nitrogen in the first sampling and turbidity in the second sampling. The results showed that there is contamination of water samples by Al, Fe, Mn, and Cu in all sampling stations, in both samplings, with values above the levels allowed by Brazilian legislation. The other elements were above the legislation only in the second elutriate sample. Al and Fe concentrations may be related to leaching processes in the red-yellow latosol and cambisol soils of the watershed; while the other elements may be linked to agricultural activities and dumping of untreated effluents. Regarding biomarkers, changes in oxidative metabolism were found at most stations, as well as LPO was observed in the second water sampling and the first elutriate sampling. These results show that the changes may be related to environmental pollutants in the samples, especially contamination by metals and contaminants from agricultural production such as fertilizers and pesticides as well as the discharge of domestic effluents. Given the results, we observed that the environmental quality of Jucu River is affected, causing stressful effects on the physiology of the organisms studied and potentially on the local biota.

**Keywords:** antioxidant enzymes • biotransformation enzyme • heavy metals • oxidative stress.

## 1. INTRODUÇÃO

Os ecossistemas aquáticos, especialmente os rios e lagos, garantem subsistência e desenvolvimento da população que vive no seu entorno (TUNDISI; TUNDISI, 2011). Abastecimento público, agricultura, agropecuária, indústria, geração de energia e transporte são as principais atividades que dependem desses recursos (OLIVEIRA *et al.*, 2019). Em contrapartida, o aumento crescente dessas atividades gera resíduos e poluentes que, quando tratados inadequadamente, comprometem a qualidade dos rios e também os organismos que dele dependem (PEDRAZZI *et al.*, 2013; OSSANA *et al.*, 2019).

Pesquisas demonstram que a degradação e a contaminação dos rios estão relacionadas aos usos da água e do solo em suas bacias (GIRAUDO *et al.*, 2019; PAVIONE *et al.*, 2019). Porém, nem sempre é possível detectar esses efeitos antrópicos utilizando apenas parâmetros físicos e químicos como ferramentas para aferir a qualidade ambiental desses ecossistemas. Assim, para determinar e estimar o impacto de contaminantes tóxicos gerados, estudos recentes indicam a utilização de organismos biomarcadores capazes de responderem eficientemente a respostas fisiológicas e/ou bioquímicas desencadeadas por determinados poluentes ambientais (BONNAIL *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2019; DUARTE *et al.*, 2017).

Estudos utilizando *Allium cepa* L., a cebola comum, como bioindicador para o monitoramento de ambientes aquáticos são indicados desde a década de 80 (FISKESJÖ, 1985), pela sua alta sensibilidade a diversos poluentes, incluindo metais. Outros trabalhos sobre a atividade das enzimas do sistema antioxidativo em *A. cepa* também são recomendados por diversos autores (FATIMA; AHMAD, 2005, 2006; PATNAIK; ACHARY; PANDA, 2013). As enzimas envolvidas do processo antioxidativo também atuam como biomarcadores para detecção de poluentes ambientais, especialmente a contaminação por metais, pois o estresse causado ativa o sistema antioxidativo para determinados biomarcadores bioquímicos e de biotransformação, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST), glutathione reduzida (GSH) e peroxidação lipídica (LPO) (ACHARY *et al.*, 2008; MORAES *et al.*, 2015; PATNAIK; ACHARY; PANDA, 2013; RODRIGUES; GUIMARÃES; VIEIRA, 2019).

Considerando a importância ecológica e socioeconômica dos recursos hídricos, bem como a necessidade de avaliações que integrem aspectos abióticos e bióticos

para o entendimento da qualidade ambiental, este estudo avaliou a qualidade da água do rio Jucu, um importante recurso hídrico do Estado do Espírito Santo, Brasil. Para tanto, foram avaliados parâmetros limnológicos, quantificados metais e realizados bioensaios com *A. cepa* para a análise de biomarcadores de biotransformação e estresse oxidativo.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Área de estudo

A bacia hidrográfica do rio Jucu (Figura 1) fica localizada no estado do Espírito Santo, Brasil, e compreende em sua totalidade os municípios de Domingos Martins, Marechal Floriano e Viana e, parcialmente, os municípios de Cariacica, Guarapari e Vila Velha. Sua área total é de 2.183km<sup>2</sup>, com altitude variando entre 10 e 180m e cerca de 57% da bacia está em região antropizada (IEMA, 2016). O clima da região é classificado como tropical úmido (Aw) pela classificação de Köppen e apresenta uma estação chuvosa no verão e seca no inverno (GARDIMAN JUNIOR, 2015). Com precipitação média anual de 1.200mm, onde suas chuvas se concentram entre os meses de outubro e março, representando 65 a 80% das chuvas anuais durante esses meses (ALVARES *et al.*, 2013). O rio Jucu é formado pela confluência dos rios Jucu Braço Sul e Jucu Braço Norte (Figura 1) e é um dos principais responsáveis pelo abastecimento de água de um quarto da população do estado (AGERH, 2020).

### 2.2 Coleta e preparo das amostras

Para caracterização da água e sedimento do rio Jucu, foram definidas seis estações amostrais ao longo do rio (Tabela 1) e realizadas coletas de amostras de água subsuperficial e sedimento ao longo do rio, em duas amostragens. A primeira amostragem foi realizada em agosto de 2017 e a segunda ocorreu em março de 2018.

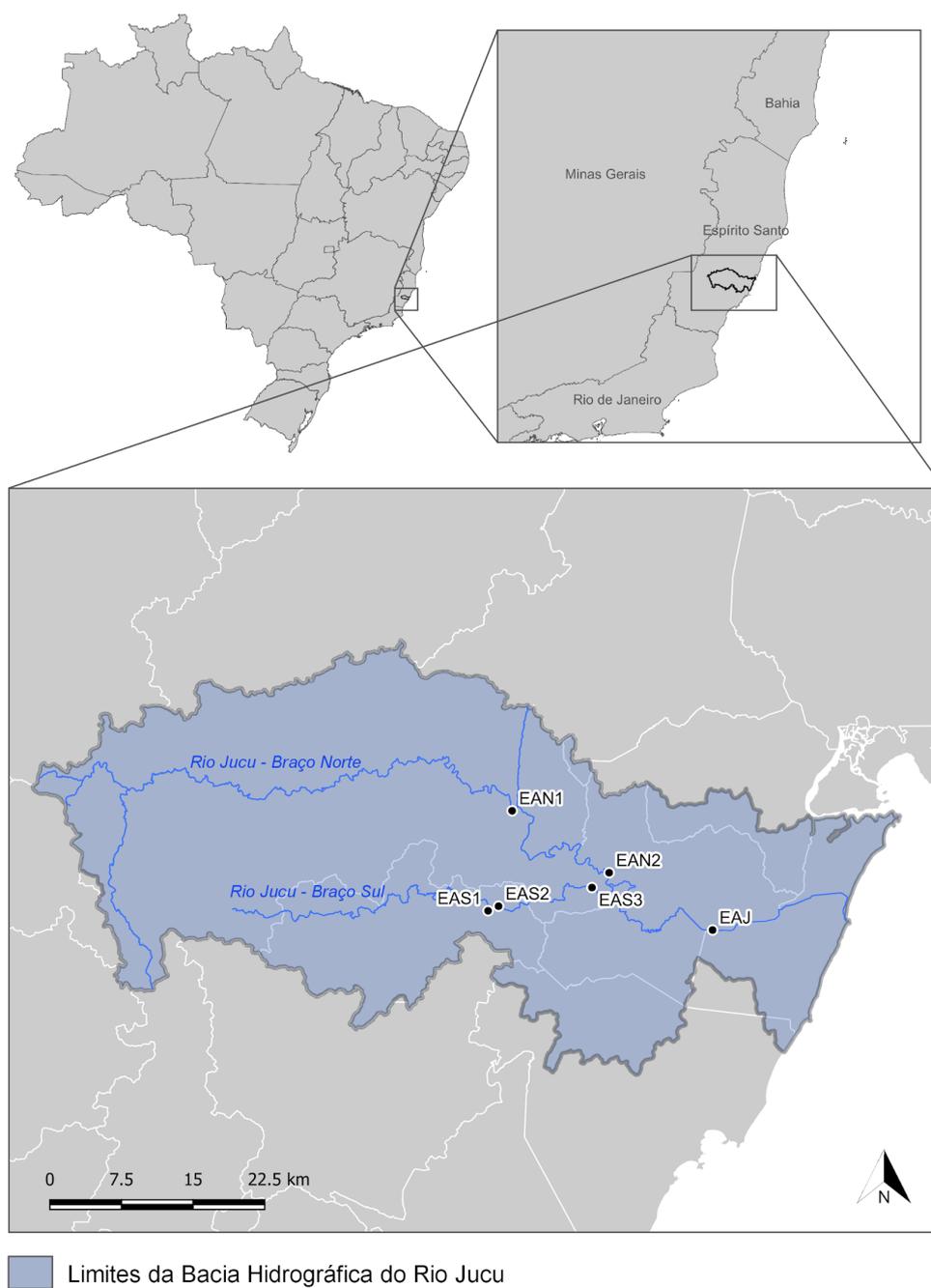
As amostras de água subsuperficial foram armazenadas em frascos de polietileno previamente descontaminados com detergente EXTRAN (5%) e solução de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub> 15% (v/v) e foram refrigeradas (-4°C) até a realização dos ensaios. As amostras de sedimento foram coletadas com auxílio do equipamento Draga Ekman em aço inox, armazenadas em saco plástico e congeladas em freezer (-15°C). Posteriormente, as amostras de sedimento foram processadas para obtenção do elutriato do sedimento, conforme norma ABNT NBR 15469:2015 (ABNT, 2015),

para simulação da interface água/sedimento – circulação de nutrientes, poluentes e etc. entre essas interfaces durante os bioensaios.

Tabela 1 – Estações amostrais de coleta no rio Jucu/ES com suas respectivas coordenadas geográficas (UTM) e descrição do local.

Estações	Coordenada (X) Longitude	Coordenada (Y) Latitude	Descrição
EAN1	-20.316498	-40.656737	Rio Jucu Braço Norte, localizada a montante da cidade de Domingos Martins, próxima à ES-465. Área rural com pastagens no entorno.
EAN2	-20.376495	-40.560023	Rio Jucu Braço Norte, fica localizada no município de Viana/ES. Área com vegetação nativa às margens. Próxima à BR-262, após receber efluentes da cidade de Domingos Martins e alguns distritos. Antes da confluência com o braço Sul.
EAS1	-20.411641	-40.681931	Rio Jucu Braço Sul, localizada próximo à BR-262, antes de receber efluentes sem tratamento do município de Marechal Floriano/ES.
EAS2	-20.407381	-40.671355	Rio Jucu Braço Sul, localizada no perímetro urbano da cidade de Marechal Floriano/ES, recebe efluentes domésticos sem tratamento. Forte urbanização.
EAS3	-20.391071	-40.577323	Rio Jucu Braço Sul, localizada na área rural de Domingos Martins, com pouca vegetação nas margens. Região próxima de horticulturas e cultivo de banana. Antes da confluência com o braço Norte.
EAJ	-20.432013	-40.456769	Localizada após a confluência dos braços norte e sul, próximo à BR-101, Viana/ES. Região de pastagem e pouca vegetação arbórea nas margens.

Figura 1 - Mapa da bacia hidrográfica do rio Jucu/ES e as estações amostrais ao longo do rio.



Fonte: elaboração própria

## 2.3 Parâmetros físicos e químicos

### 2.3.1 Variáveis limnológicas

A temperatura da água ( $^{\circ}\text{C}$ ), o pH, o oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), a turbidez (UNT), os sólidos totais dissolvidos ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), a condutividade elétrica ( $\mu\text{S.cm}^{-1}$ ) e a salinidade ( $\text{ng.L}^{-1}$ ) das amostras de água subsuperficiais foram determinadas em campo pelo medidor multiparâmetro U-50 Multiparameter Water Quality Checker (HORIBA Advanced Techno, Kyoto, Japan).

A análise dos sólidos totais foi determinada pelo método do gravimétrico em secagem em estufa a  $105^{\circ}\text{C}$  até obter massa constante. O nitrogênio total foi analisado seguindo o procedimento de Kjeldahl (APHA; AWWA; WEF, 2005).

### 2.3.2 Quantificação de metais

Para a quantificação de metais, as amostras de água foram filtradas e adicionado  $\text{HNO}_3$  2% v/v para as análises. Foi realizada por espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (em inglês: *Inductively coupled plasma mass spectrometry*, ou ICP-MS) (Nexlon 300 d, Perkin Elmer, USA) para os elementos Cd, Co, Cu, Ni e Pb. Para os elementos Al, Cr, Fe, Mg, Mn e Zn, a quantificação foi realizada por Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (em inglês: *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, ou ICP-OES) (Optima 7000DV, PerkinElmer, Germany)

As concentrações dos metais quantificados nas amostras de água e elutriado foram comparadas com a legislação brasileira (Resolução CONAMA nº 430 de 2011 (CONAMA, 2011), que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais e determina as condições e padrões de lançamento de efluentes.

## 2.4 Biomarcadores bioquímicos e de biotransformação

Sementes de *Allium cepa* da variedade baia periforme, marca TOPSEED, de mesmo lote, foram germinadas em placas de Petri, em três repetições por tratamento. As sementes foram expostas a 4 mL de amostras de água e de elutriado, correspondentes às estações amostrais (Tabela 1), e ao controle negativo (água destilada) por 120h a  $24^{\circ}\text{C}$ . Após esse período as radículas foram coletadas, e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ , até a realização dos procedimentos.

Foi preparado um homogeneizado a partir de 0,5g de amostras de radículas germinadas com auxílio do homogeneizador (500 Sonic Dismembrator, Fisher Scientific, USA) por 3 minutos (30 segundos de sonificação e 30 segundos de intervalo), em gelo. As amostras foram, então, centrifugadas por 10 min a 10,700x g a 4°C e o sobrenadante aliqotado e preservado a -80°C até as análises.

A concentração de proteína total de cada amostra foi determinada de acordo com o método de Bradford (1976) a 595 nm, utilizando albumina bovina sérica para determinação da curva padrão em microplaca (Dynex Technologies Ltd., USA). Seis biomarcadores foram avaliados: a atividade da superóxido dismutase (SOD) foi quantificada como descrito por McCord e Fridovich (1969); catalase (CAT), conforme descrito por Bleuter (1975) a atividade de biotransformação enzimática em duas fases da glutathiona-S-transferase (GST) foi quantificada como descrito por Habig *et al.* (1974); glutathiona reduzida (GSH), de acordo com protocolo descrito por White *et al.* (2003); e o nível de peroxidação lipídica (LPO) foi quantificado por meio do método FOX, de acordo com Jiang, Woollard e Wolff (1991). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e adaptados para microplaca (SpectraMax M5, Molecular Devices, USA).

### *2.5 Análises estatísticas*

Para as análises estatísticas, foi utilizado o *software* Infostat (versão estudante). Para analisar a distribuição normal das médias dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk a partir dos dados de quantificação de metais e dos dados dos ensaios com biomarcadores bioquímicos, e então, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis (significância  $p < 0,05$ ). A análise de componentes principais (PCA) foi realizada no programa *software* Minitab 16 (versão de teste) a partir dos valores dos metais e dos biomarcadores bioquímicos e de biotransformação.

### 3. RESULTADO E DISCUSSÃO

#### 3.1 Parâmetros físicos e químicos

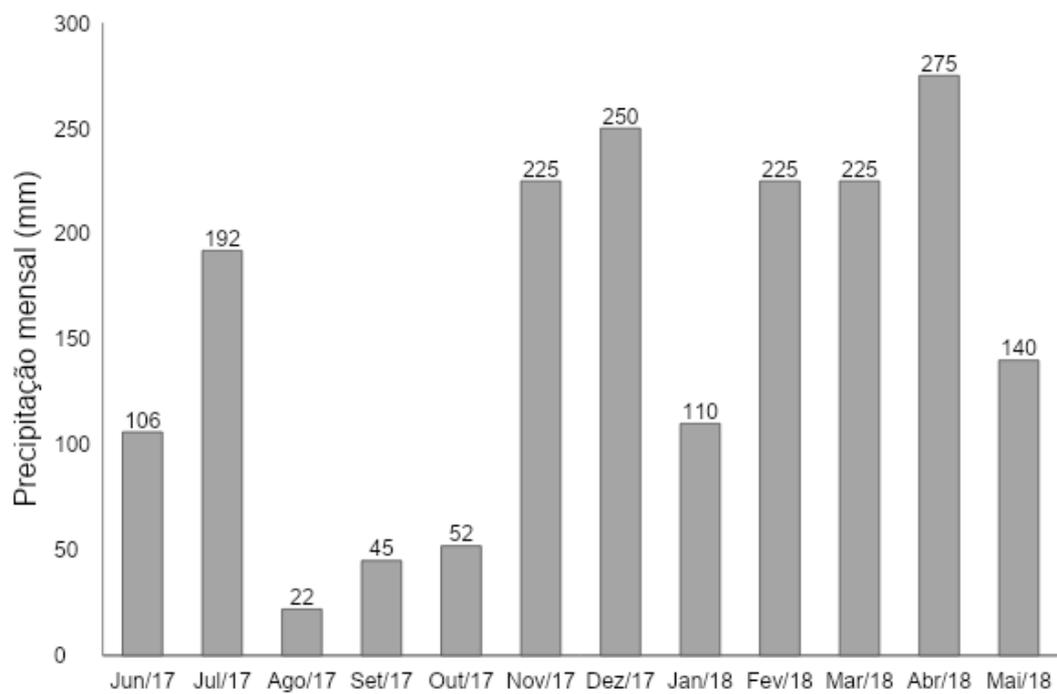
Todos os parâmetros físicos e químicos observados nas amostras coletadas foram comparados com os valores permitidos pela legislação brasileira para ambientes dulcícolas (Resolução CONAMA 430/2011).

Os dados de pluviosidade (Figura 2) referentes aos anos de 2017 e 2018 foram fornecidos pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural - INCAPER – e indicam o período da primeira amostragem (agosto/2017) como período de estiagem e a segunda amostragem (março/2018) como período chuvoso, apresentando uma precipitação acumulada mensal na região da bacia do rio Jucu de 22mm e 225mm, respectivamente. Essa precipitação se enquadra na classificação climática de Köppen para a região da bacia do rio Jucu como tropical úmido (Aw), em que o período de alta precipitação se encontra de outubro a março (GARDIMAN JUNIOR, 2015).

Os parâmetros físicos e químicos (Tabela 2) encontram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação, à exceção do nitrogênio total na estação EAS3 (6,8 mg.L<sup>-1</sup>) na primeira amostragem, onde, segundo a legislação, deveria estar baixo de 2,0 para águas com pH entre 7,5 a 8 e a turbidez durante a segunda amostragem, onde apresentou valores acima do permitido (até 100,0 NTU) nas estações EAJ (154,0 NTU), EAN2 (105,0 NTU) e EAS3 (120,0 NTU).

A pluviosidade influencia diretamente algumas características físicas e químicas da água. De acordo com Esteves (2011), em períodos de intensa pluviosidade, processos como a lixiviação e erosão das margens dos rios são intensificados. Além disso, estas estações onde os valores de turbidez estavam acima do permitido pela legislação, apresentam um agravante devido à sua localização mais à jusante da bacia e, assim, recebem maior aporte de detritos orgânicos e inorgânicos carregados de toda a bacia em direção à foz do rio. Gardiman Junior e Simoura (2016) constataram que a lixiviação do solo ocupado por culturas de café e banana eram o principal aporte de nutrientes e agrotóxicos na bacia hidrográfica do rio Jucu, corroborando com a alta turbidez observada nos nossos resultados para a estação chuvosa.

Figura 2 - Precipitação média mensal acumulada na região da bacia hidrográfica do rio Jucu/ES, nos anos de 2017 e 2018.



Fonte: INCAPER (2018).

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos da água nos diferentes pontos ao longo do rio Jucu/ES.

1ª Amostragem							
	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAJ	CONAMA 430/11
Hora	14:37	11:20	15:43	16:30	12:20	09:18	-
T (°C) da amostra	23,80	22,80	21,00	21,10	23,00	21,30	-
OD (mg.L <sup>-1</sup> )	11,66	12,96	11,86	13,52	13,19	11,04	> 5
CE (µS.cm <sup>-1</sup> )	45,50	48,50	51,50	62,00	57,50	68,50	-
pH	7,71	7,65	7,64	7,91	7,69	6,97	6 a 9
Turbidez (UNT)	6,30	3,6	7,40	16,7	5,01	4,50	< 100
NTK (mg.L <sup>-1</sup> )	0,71	1,51	0,10	1,56	2,07	1,31	3,7 pH <7,5   2,0 pH 7,5 a 8   1,0 pH 8,0 a 8,5   0,5 pH > 8,5
Salinidade (ng.L <sup>-1</sup> )	0	0	0	0	0	0	<5 ng.L <sup>-1</sup>
ST (mg.L <sup>-1</sup> )	1955,56	1173,32	103,35	135,55	970,05	119,88	-
SDT(mg.L <sup>-1</sup> )	26	164,44	28,5	35,5	26	38,50	<500
2ª Amostragem							
Hora	11:50	09:30	12:45	13:20	10:00	08:20	-
T (°C) da amostra	26,60	26,0	26,10	27,10	25,90	24,70	-
OD (mg.L <sup>-1</sup> )	14,39	10,79	10,58	10,13	12,2	11,26	> 5
CE (µS.cm <sup>-1</sup> )	45,00	51,00	45,00	48,00	46,00	64,00	-
pH	7,18	7,00	7,03	6,80	6,95	6,17	6 a 9
Turbidez (UNT)	82,50	105,00	86,60	85,30	120,00	154,00	< 100
NTK (mg.L <sup>-1</sup> )	0,05	0,20	0,05	0,02	0,08	0,50	3,7 pH <7,5   2,0 pH 7,5 a 8   1,0 pH 8,0 a 8,5   0,5 pH > 8,5
Salinidade (ng.L <sup>-1</sup> )	0	0	0	0	0	0	<5 ng.L <sup>-1</sup>
ST (mg.L <sup>-1</sup> )	160,00	117,78	148,89	117,78	133,33	153,33	-
SDT (mg.L <sup>-1</sup> )	22,00	26,00	23,00	24,00	23,00	32,00	<500

\*T= temperatura, OD = Oxigênio dissolvido, CE = Condutividade elétrica, NTK = nitrogênio Total Kjeldahl, ST = sólidos totais, SDT = Sólidos dissolvidos totais.

Pela análise das amostras de água da primeira amostragem, pode-se observar um aumento sucessivo da concentração de nitrogênio total, ao longo de cada braço do rio Jucu à medida que se aproxima da confluência dos dois braços (Tabela 2). As menores concentrações observadas nas primeiras estações amostrais dos braços Norte e Sul - EAN1 e EAS1, respectivamente, indicam relação com as suas localizações: são regiões à montante dos perímetros urbanos. As demais estações, EAN2, EAS2 e EAS3, estão próximas a centros urbanos e já receberam efluentes dessas áreas ou estão próximas de regiões de intensa agricultura, como é o caso de EAS3. Segundo Esteves (2011) e Sperling (2011), o nitrogênio pode ter origens antropogênicas, como despejos domésticos tratados ou parcialmente tratados, industriais, excrementos de animais e fertilizantes. Sendo assim, as regiões amostrais à montante de perímetros urbanos ou de regiões de intensa agricultura, tendem a apresentar menores concentrações de nitrogênio total, corroborando os resultados encontrados em nossas análises.

Estudos de Terra *et al.* (2009) realizados em julho de 2006 no rio Jucu – Braço Sul, registraram uma variação de 0,7 a 0,9 mg.L<sup>-1</sup> na concentração de nitrogênio das amostras. As estações EAS1 e EAS2 correspondentes ao Braço Sul em nossas amostras, apresentaram resultados superiores de 2,07 e 1,56 mg.L<sup>-1</sup> no período de agosto de 2017 (baixa precipitação), evidenciando que houve um acréscimo da concentração de nitrogênio total nessas águas com o passar dos anos, durante o período de baixa precipitação.

Os valores de turbidez observados durante a primeira campanha foram menores que os encontrados na segunda campanha, provavelmente devido ao período de estiagem, em que há menor quantidade de sólidos suspensos na água. Ainda assim, observa-se que os valores da turbidez se apresentaram mais elevados durante a primeira amostragem em EAS2 que nas demais estações. A estação EAS2 está localizada dentro do perímetro urbano do município de Marechal Floriano, onde recebe lançamento de efluente doméstico *in natura* (GARDIMAN JUNIOR; SIMOURA 2016). Para Correia *et al.* (2015), o despejo de esgoto doméstico, efluentes industriais e agropecuários influenciam diretamente os valores de turbidez, corroborando os resultados observados no nosso estudo.

Os valores de condutividade elétrica e sólidos totais dissolvidos (STD) na estação amostral EAJ, tanto na primeira quanto na segunda amostragem, foram os mais altos observados em nosso estudo. Em contrapartida, a mesma estação

apresentou os menores valores de pH. Essas variáveis estão sempre relacionadas e de acordo com Rodrigues *et al.* (2015), a presença de ácidos húmicos e fúlvicos (partículas orgânicas) na água pode levar a uma redução do pH. Logo, o pH pode afetar a disponibilidade de nutrientes e influenciar na toxicidade de muitos metais presentes no ambiente, ou seja, pode influenciar a condutividade elétrica (FRASCARELI *et al.*, 2015). Toda essa dinâmica pode explicar os valores de STD e condutividade mais elevados nessa estação amostral e uma leve acidificação do pH em ambas as campanhas.

### 3.2 Quantificação de metais

Os dados da quantificação de metais indicam que as amostras de água (Tabela 3) e elutriato (Tabela 4) coletados durante a primeira amostragem e nas amostras de água da segunda campanha (Tabela 3) apresentaram concentrações de Al, Fe e Mn acima do permitido pela legislação em todas as estações avaliadas. Durante a primeira amostragem de água, na estação EAJ, os níveis de Fe ( $1,4749 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e Mn ( $0,2474 \text{ mg.L}^{-1}$ ) estão mais elevados que nas demais estações amostrais e acima do permitido pela legislação, que é de  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectivamente. As concentrações de Al estão mais elevadas em EAJ, EAS1 e em EAS2, quando comparadas às demais estações amostrais. Para estes elementos, os menores valores foram observados em EAN2.

Na segunda amostragem de água, os valores de Al e Fe estavam consideravelmente elevados e acima do permitido pela legislação nas estações EAJ e EAS2. A concentração do elemento Cu também se apresentou muito elevada e, portanto, acima do permitido pela legislação brasileira (até  $9,00 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ) em todas as estações (EAN1 –  $49,542 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ; EAN2 –  $42,388 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ; EAS1 –  $59,159 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ; EAS2 –  $78,913 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ; EAS3 –  $51,217 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  e EAJ –  $58,115 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ). À exceção do Al, as concentrações mais baixas para Fe e Cu foram encontradas em EAN2, provavelmente por esta estação amostral estar localizada em uma região com mata ciliar mais conservada e, conseqüentemente, com menor efeito de erosão e no carreamento de detritos orgânicos e inorgânicos para o leito do rio, mas, ainda assim estavam acima do limite preconizado. A segunda amostragem de água foi a que apresentou maiores concentrações dos elementos, exceto para Co, Mn, Ni e Zn. Em ambas as amostragens de água subsuperficiais, o Cr estava abaixo do limite de quantificação (LQ). Fatores ambientais como pH ou presença de matéria orgânica

Tabela 3 – Quantificação de metais na 1ª e 2ª amostragens de água ao longo do rio Jucu/ES e suas respectivas médias e desvios-padrões relativos (RSD).

	1ª Amostragem					2ª Amostragem					LQ	CONAMA 430/2011																																																																			
	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3			EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2
Al (mg.L <sup>-1</sup> )	0,3201 <sup>b</sup> <sup>c</sup>	0,2738 <sup>a</sup>	0,4245 <sup>c</sup>	0,3909 <sup>bc</sup>	0,3061 <sup>ab</sup>	0,3092 <sup>ab</sup>	1,1163 <sup>ab</sup>	1,2566 <sup>cd</sup>	1,1028 <sup>a</sup>	1,1527 <sup>ab</sup>	1,2324 <sup>bcd</sup>	1,6335 <sup>d</sup>	0,01	0,1																																																																	
RSD (%)	0,5144	2,264	1,495	0,973	1,1093	0,4397	0,932	0,6578	0,3543	0,8084	0,4263	0,7137	0,01																																																																		
Cd (µg.L <sup>-1</sup> )	0,235 <sup>bc</sup>	0,313 <sup>c</sup>	0,252 <sup>bc</sup>	0,165 <sup>ab</sup>	0,172 <sup>ab</sup>	0,091 <sup>a</sup>	0,061 <sup>abc</sup>	0,114 <sup>c</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,046 <sup>ab</sup>	0,071 <sup>bc</sup>	0,114 <sup>c</sup>	6,39x10 <sup>-5</sup>	1																																																																	
RSD (%)	1,9	2	3,4	2	5,7	9,4	2,9	0,7	8,2	3,9	1,8	4,5																																																																			
Co (µg.L <sup>-1</sup> )	1,758 <sup>cd</sup>	1,961 <sup>d</sup>	1,144 <sup>abc</sup>	1,04 <sup>a</sup>	1,051 <sup>ab</sup>	1,41 <sup>a</sup>	0,245 <sup>abc</sup>	0,139 <sup>a</sup>	0,215 <sup>ab</sup>	0,469 <sup>cd</sup>	0,267 <sup>bcd</sup>	0,62 <sup>d</sup>	3,14x10 <sup>-4</sup>	50																																																																	
RSD (%)	1,9	0,9	1,3	0,4	0,4	1,4	2,6	1,7	1	0	0,2	1,4																																																																			
Cr (mg.L <sup>-1</sup> )	<0,010 <sup>a</sup>	<0,010 <sup>a</sup>	<0,010 <sup>a</sup>	<0,010 <sup>a</sup>	<0,010 <sup>a</sup>	<0,010 <sup>a</sup>	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	0,01																																																																	
RSD (%)	10,863	23,709	5,924	15,013	8,209	12,888	0,014	0,007	0,011	0,01	0,009	0,009	0,009																																																																		
Cu (µg.L <sup>-1</sup> )	2,086 <sup>ab</sup> <sup>c</sup>	2,082 <sup>ab</sup>	2,446 <sup>c</sup>	2,222 <sup>bc</sup>	2,069 <sup>ab</sup>	1,709 <sup>a</sup>	49,542 <sup>ab</sup>	42,388 <sup>a</sup>	59,159 <sup>bc</sup>	78,913 <sup>c</sup>	51,217 <sup>ab</sup>	58,115 <sup>bc</sup>	6,48x10 <sup>-4</sup>	9																																																																	
RSD (%)	2,5	1,7	0,5	0,5	2	0,7	2,8	1,4	1	0,5	0,9	1,1																																																																			
Fe (mg.L <sup>-1</sup> )	0,6051 <sup>a</sup> <sup>b</sup>	0,4673 <sup>a</sup>	0,8006 <sup>bcd</sup>	0,9116 <sup>cd</sup>	0,6268 <sup>abc</sup>	1,4749 <sup>d</sup>	1,7307 <sup>c</sup>	1,4523 <sup>a</sup>	1,5505 <sup>abc</sup>	1,6132 <sup>bc</sup>	1,4732 <sup>ab</sup>	1,7243 <sup>c</sup>	0,01	0,3																																																																	
RSD (%)	0,7694	0,3652	0,7518	0,3991	0,9936	0,6828	0,5042	0,6293	0,4531	0,9789	0,4569	0,312																																																																			
Mg (mg.L <sup>-1</sup> )	10,063 <sup>a</sup> <sup>ab</sup>	10,4263 <sup>ab</sup>	10,896 <sup>cd</sup>	12,439 <sup>d</sup>	10,5667 <sup>a</sup> <sup>bc</sup>	10,6803 <sup>b</sup> <sup>cd</sup>	4,2094 <sup>a</sup>	5,7179 <sup>d</sup>	0,118 <sup>bcd</sup>	0,123 <sup>bcd</sup>	4,5811 <sup>abc</sup>	4,3424 <sup>ab</sup>	0,1	-																																																																	
RSD (%)	0,4438	0,9691	0,5907	0,6567	0,1746	0,4956	3,7271	1,5131	0,0179	0,0259	4,6634	2,1172																																																																			
Mn (mg.L <sup>-1</sup> )	0,1695 <sup>a</sup> <sup>b</sup>	0,1605 <sup>a</sup>	0,2294 <sup>bcd</sup>	0,2282 <sup>cd</sup>	0,1821 <sup>abc</sup>	0,2474 <sup>d</sup>	0,118 <sup>a</sup>	0,1202 <sup>ab</sup>	0,123 <sup>abc</sup>	0,1313 <sup>c</sup>	0,1181 <sup>a</sup>	0,1257 <sup>bc</sup>	0,01	0,1																																																																	
RSD (%)	0,0714	0,5458	0,7556	0,4055	0,3315	0,7734	0,0179	0,0439	0,0259	0,0761	0,0203	0,0289																																																																			
Ni (µg.L <sup>-1</sup> )	2,199 <sup>cd</sup>	2,281 <sup>d</sup>	2,152 <sup>bcd</sup>	2,115 <sup>abc</sup>	2,002 <sup>ab</sup>	1,829 <sup>a</sup>	0,642 <sup>ab</sup>	0,543 <sup>ab</sup>	0,52 <sup>a</sup>	0,725 <sup>bc</sup>	0,721 <sup>bc</sup>	1,337 <sup>c</sup>	2,93x10 <sup>-4</sup>	25																																																																	
RSD (%)	1,9	1,2	1,6	0,8	0,4	0,7	2	2,8	0,5	1,2	2	2,2																																																																			
Pb (µg.L <sup>-1</sup> )	0,448 <sup>ab</sup>	0,669 <sup>cd</sup>	1,085 <sup>d</sup>	0,566 <sup>bcd</sup>	0,416 <sup>a</sup>	0,464 <sup>abc</sup>	2,851 <sup>a</sup>	3,239 <sup>abc</sup>	3,598 <sup>cd</sup>	3,64 <sup>d</sup>	3,549 <sup>bcd</sup>	3,176 <sup>ab</sup>	1,47x10 <sup>-4</sup>	10																																																																	
RSD (%)	0,4	1,5	1,3	0,9	0,7	0,4	2,2	0,7	1,2	1	0,7	1,6																																																																			
Zn (mg.L <sup>-1</sup> )	0,0598 <sup>a</sup> <sup>b</sup>	0,0399 <sup>a</sup> <sup>b</sup>	0,0547 <sup>c</sup>	0,0746 <sup>bc</sup>	0,0612 <sup>c</sup>	0,0394 <sup>abc</sup>	0,0572 <sup>d</sup>	0,0206 <sup>cd</sup>	0,0188 <sup>ab</sup>	0,0185 <sup>a</sup>	0,0194 <sup>abc</sup>	0,0201 <sup>bcd</sup>	0,01	0,18																																																																	
RSD (%)	0,2824	0,5169	0,2862	0,145	0,9076	1,5729	0,0154	0,0169	0,0099	0,0088	0,008	0,0031																																																																			

\* As letras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis. LQ – Limite de quantificação.

Tabela 4 – Quantificação de metais da 1ª e 2ª amostragens de elutriado em mg.L<sup>-1</sup> do rio Jucu/ES e suas respectivas médias e desvios-padrões relativos.

	1ª Amostragem					2ª Amostragem					CONAM A 430/2011			
	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3		EAU	LQ	
<b>Al (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	1,995 <sup>ab</sup>	1,058 <sup>a</sup>	4,330 <sup>bcd</sup>	2,921 <sup>abc</sup>	4,964 <sup>cd</sup>	5,649 <sup>d</sup>	104,45 <sup>abc</sup>	23,2647 <sup>a</sup>	130,76 <sup>bcd</sup>	253,38 <sup>cd</sup>	35,544 <sup>ab</sup>	589,303 <sup>d</sup>	0,01	0,1
<b>RSD (%)</b>	0,1104	0,7098	0,4626	0,9254	0,1273	0,2965	0,227	0,1998	1,3437	0,2485	0,3425	5,569		
<b>Cd (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	0,0001 <sup>a</sup>	0,0002 <sup>b</sup>	0,0002 <sup>ab</sup>	0,0002 <sup>ab</sup>	0,0001 <sup>a</sup>	0,0002 <sup>b</sup>	0,0012 <sup>ab</sup>	0,0005 <sup>a</sup>	0,0012 <sup>ab</sup>	0,0028 <sup>b</sup>	0,0007 <sup>a</sup>	0,0064 <sup>b</sup>	0,01	0,001
<b>RSD (%)</b>	47,258	25,962	20,367	10,825	55,546	17,571	8,33	2,127	4,614	1,946	9,026	4,867		
<b>Co (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,0174 <sup>ab</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,0241 <sup>abc</sup>	0,0396 <sup>bc</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,1027 <sup>c</sup>	0,01	0,05
<b>RSD (%)</b>	-	-	-	-	-	-	3,8718	-	7,3016	3,7057	-	5,9374		
<b>Cr (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,0731 <sup>abc</sup>	0,0189 <sup>a</sup>	0,1126 <sup>bcd</sup>	0,1858 <sup>cd</sup>	0,0276 <sup>ab</sup>	0,4595 <sup>d</sup>	0,01	0,05
<b>RSD (%)</b>	-	-	-	-	-	-	2,0453	0,9337	5,946	1,0929	4,9598	2,5296		
<b>Cu (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	0,012 <sup>c</sup>	0,0055 <sup>ab</sup>	0,0029 <sup>a</sup>	0,0056 <sup>ab</sup>	0,0084 <sup>bc</sup>	0,0062 <sup>abc</sup>	0,0128 <sup>a</sup>	0,0324 <sup>ab</sup>	0,0331 <sup>ab</sup>	0,0408 <sup>bc</sup>	0,3442 <sup>c</sup>	0,165 <sup>bc</sup>	0,00	0,009
<b>RSD (%)</b>	13,05	20,72	10,1	10,951	9,535	62,63	6,5221	3,5457	12,659	5,881	13,456	2,3967		
<b>Fe (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	6,237 <sup>ab</sup>	1,8076 <sup>a</sup>	9,7176 <sup>cd</sup>	6,7925 <sup>abc</sup>	8,0592 <sup>bcd</sup>	10,723 <sup>d</sup>	52,215 <sup>abc</sup>	13,2647 <sup>a</sup>	85,645 <sup>bcd</sup>	149,21 <sup>cd</sup>	21,347 <sup>ab</sup>	368,91 <sup>d</sup>	0,01	0,3
<b>RSD (%)</b>	0,3394	0,3508	0,4197	0,1866	0,3345	0,4623	0,3637	0,6507	3,5611	0,6239	0,3385	0,2591		
<b>Mg (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	4,7997 <sup>a</sup> <sub>b</sub>	6,165 <sup>d</sup>	4,747 <sup>a</sup>	5,7755 <sup>cd</sup>	5,6587 <sup>bcd</sup>	5,3256 <sup>abc</sup>	1,4104 <sup>a</sup>	1,8088 <sup>abc</sup>	1,6624 <sup>ab</sup>	1,9777 <sup>bc</sup>	0,7349 <sup>a</sup>	7,0285 <sup>c</sup>	0,1	-
<b>RSD (%)</b>	0,992	0,5451	0,1783	0,4271	1,2734	2,8704	8,9347	2,9584	11,12	3,3503	13,966	2,8807		
<b>Mn (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	1,1351 <sup>d</sup>	0,2691 <sup>a</sup>	0,6975 <sup>abc</sup>	0,2762 <sup>ab</sup>	0,7435 <sup>bcd</sup>	0,7652 <sup>cd</sup>	0,4818 <sup>bcd</sup>	0,1383 <sup>a</sup>	0,4234 <sup>abc</sup>	0,762 <sup>cd</sup>	0,2482 <sup>ab</sup>	2,1354 <sup>d</sup>	0,01	0,1
<b>RSD (%)</b>	0,4027	0,4467	0,3134	0,4416	0,3228	0,0484	1,5606	1,5019	4,8537	0,9323	0,8732	0,8461		
<b>Ni (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,0405 <sup>abc</sup>	0,0106 <sup>a</sup>	0,0433 <sup>bcd</sup>	0,0623 <sup>cd</sup>	0,0149 <sup>ab</sup>	0,2268 <sup>d</sup>	0,01	0,025
<b>RSD (%)</b>	-	-	-	-	-	-	5,4912	4,6232	6,0895	1,0166	11,309	5,7322		
<b>Pb (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,2903 <sup>ab</sup>	0,0686 <sup>a</sup>	0,32 <sup>ab</sup>	0,4915 <sup>b</sup>	0,0946 <sup>a</sup>	1,4636 <sup>b</sup>	0,01	0,01
<b>RSD (%)</b>	-	-	-	-	-	-	10,487	0,2735	0,8178	0,2951	9,1718	6,13		
<b>Zn (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	0,0211 <sup>a</sup>	0,0274 <sup>abc</sup>	0,023 <sup>ab</sup>	0,0316 <sup>c</sup>	0,0316 <sup>c</sup>	0,0315 <sup>bc</sup>	0,1266 <sup>ab</sup>	0,0958 <sup>a</sup>	0,125 <sup>ab</sup>	0,2301 <sup>b</sup>	0,0811 <sup>a</sup>	0,4947 <sup>b</sup>	0,01	0,18
<b>RSD (%)</b>	0,549	0,5732	0,0907	0,6402	0,287	0,2953	12,775	0,231	0,3946	0,4756	8,2917	3,4646		

\* As letras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis. LQ – Limite de quantificação.

podem influenciar na biodisponibilidade de metais, que podem ser liberados na coluna d'água. O aumento da concentração de metais como Al, Fe, Mn e Zn, pode ser intensificado quando o pH é inferior a 7, devido à sua mobilidade em condições ácidas (NGUYEN *et al.*, 2020), o que pode estar relacionado com os valores de pH observados na estação amostral EAJ, em ambas as amostragens.

A primeira amostragem de elutriato apresentou concentrações acima do limite permitido pela legislação para os elementos Al, Fe e Mn em todas as estações e o elemento Cu na estação EAN1. Os elementos Al e Fe estavam mais elevados em EAJ e o Mn e o Cu estavam mais elevados na estação EAN1, sendo que o Mn se apresentou até 11 vezes mais alto que o estabelecido pela legislação. Os elementos Cu em EAS1 e Co, Cr, Ni e Pb estavam em concentrações abaixo do LQ em todas as outras estações.

Na segunda amostragem de elutriato, todas as estações amostrais apresentaram concentrações acima do permitido para os metais Al, Cu, Fe, Mn, Ni e Pb, sendo os maiores valores observados na estação EAJ, EAS1 e EAS2. As concentrações de Al ( $589 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e Fe ( $368 \text{ mg.L}^{-1}$ ) em EAJ se destacaram por estarem muito acima do permitido pela legislação, que é de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$  para o Al e  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$  para o Fe. Além disso, também foram encontrados valores acima do permitido de Cd e Cr em todas as estações amostrais, exceto nas estações EAN2 e EAS3. As concentrações de Zn estavam acima do permitido nas estações EAJ e EAS2 e o Co estava duas vezes mais alto em EAJ. As estações EAN2 e EAS3 apresentaram valores de Co abaixo do LQ.

De acordo com O'Geen *et al.* (2010), fertilizantes à base de fósforo (P) usados em lavouras agrícolas na Jordânia são uma importante fonte de contaminação do solo por metais, como Cd, Ni, Pb e Zn. Segundo dados do Instituto Estadual de Meio Ambiente (IEMA) (IEMA, 2016), a agricultura corresponde a 17,77% da ocupação do solo na bacia do rio Jucu, o que pode estar relacionado com os valores encontrados no nosso estudo. Coringa *et al.* (2016) também observaram uma maior biodisponibilidade de Mn, Zn e Ni, principalmente na época chuvosa em sedimentos no rio Bento Gomes, Poconé - MT, Brasil.

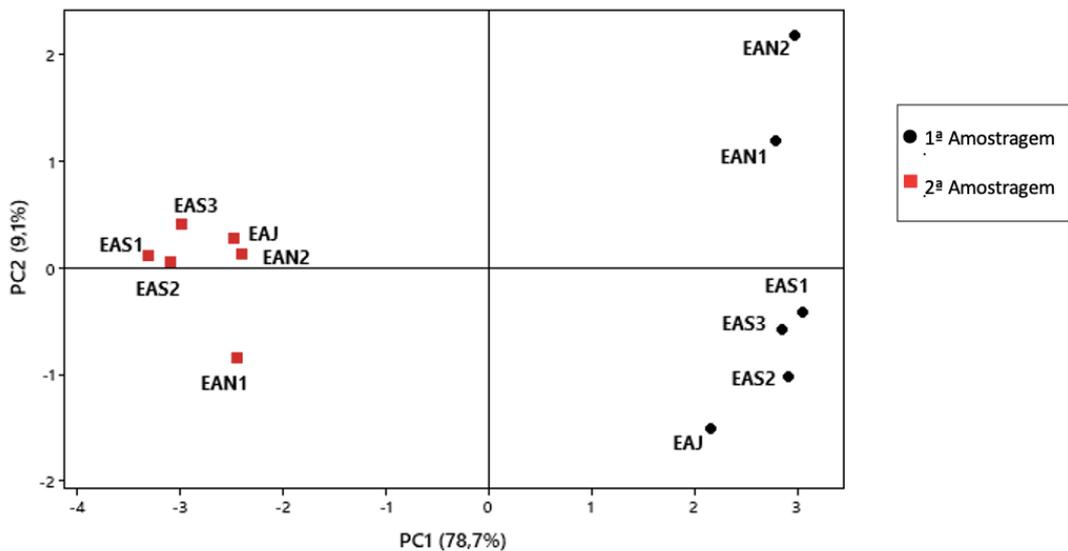
A elevada concentração de Al e Fe nas amostras de água e elutriato pode estar relacionada principalmente à predominância dos solos latossolo vermelho-amarelo e cambissolo na região da bacia hidrográfica do rio Jucu, ambos com Fe e Al em sua composição (IEMA, 2016), que associada aos processos de erosão e lixiviação, pode

intensificar a concentração desses metais nas amostras, como observado em nossos resultados. Segundo a CETESB (2011), o Mn e os seus compostos, quando presentes no ambiente, estão na forma de partículas em suspensão, resultado da erosão do solo e também por emissões industriais. O elemento Cu tem aplicação na indústria e na agricultura, como na composição de fungicidas e herbicidas, sendo consideravelmente liberado no ambiente (BUI *et al.*, 2016). Como relatado anteriormente, a agricultura corresponde a 17,77% da ocupação do solo na bacia do rio Jucu.

Os elementos Al, Fe e Cu foram encontrados em maior concentração durante a segunda campanha, provavelmente devido à alta pluviosidade no período, intensificando os processos de erosão e lixiviação, disponibilizando esses elementos em maiores concentrações na água. Estudos realizados por Duarte (2017), também foram observadas elevadas concentrações de Al e Cu durante o período chuvoso na bacia hidrográfica do rio Santa Maria da Vitória, no Espírito Santo-Brasil. Trata-se de uma bacia hidrográfica vizinha à bacia do rio Jucu e que possui as mesmas características pedológicas e geológicas.

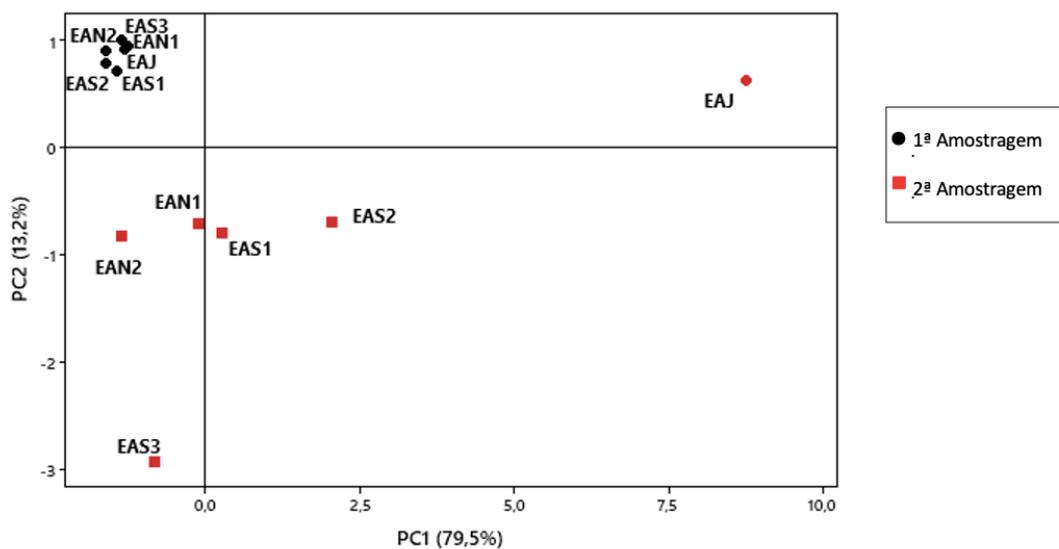
Um agrupamento temporal entre os períodos de seca (primeira amostragem) e de alta pluviosidade (segunda amostragem) é evidenciado pela análise de componentes principais (PCA) (Figuras 3 e 4), quando fazemos uma associação entre as concentrações de metais e as campanhas de amostragens de água e elutriato. Resultados similares aos nossos foram observados por Nguyen *et al.* (2020), onde os autores estudaram a variação sazonal da concentração de metais em sedimentos do rio Saigon (Vietnã). Os autores observaram o aumento da concentração dos metais Al, B, Cd, Co, Fe, In, Mn, Ni, Pb, Sr, e Zn no período chuvoso e correlacionou a contaminação aos processos naturais de lixiviação que ocorrem na bacia hidrográfica ocupada por agriculturas e à erosão das margens do rio. Os autores explicam que esse processo é decorrente da erosão, que desprende, principalmente, argila e silte (comumente ligados a metais) para o leito dos rios. A argila como micela coloidal atua no processo de adsorção de íons e atrai, por exemplo, os cátions de Al, Cu e Mg (JORDÃO *et al.*, 2000), como pudemos observar em nossos estudos, uma maior concentração desses metais nas amostras de elutriato da segunda campanha.

Figura 3 - Agrupamento das estações amostrais de coleta entre as amostragens utilizando PCA das concentrações dos metais Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras de água do rio Jucu/ES.



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 4 - Agrupamento das estações amostrais de coleta entre as amostragens utilizando PCA das concentrações dos metais Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras de elutriado do rio Jucu/ES.



Fonte: elaborada pelo autor.

De acordo com a CETESB (2011), a emissão da maioria dos metais no ambiente ocorre por meio de erosão e lixiviação, ou então como composto de fertilizantes fosfatados, como o Co e o Cr. Ainda, determinados complexos de Cd são solúveis e de alta mobilidade na água, sendo as não solúveis, adsorvidas ao sedimento. A contaminação por metais no ambiente ocorre em grande parte de forma difusa, sendo relacionada com o tipo de ocupação da bacia (RIGHETTO; GOMES; FREITAS, 2017). A bacia hidrográfica do rio Jucu encontra-se 58,42% ocupada com atividades antrópicas, sendo elas: agricultura (17,77%), pastagens (17,56%), silvicultura (16,09%), uso urbano (6%) e mineração (1%) e cerca de 43% com áreas naturais (IEMA, 2016), o que dificulta a identificação das fontes poluidoras para um manejo adequado.

### 3.3 Biomarcadores bioquímicos e de biotransformação

O resultado das análises de biomarcadores bioquímicos e de biotransformação para a primeira amostragem de água (Tabela 5) evidenciam um aumento significativo da atividade da SOD nas estações EAJ, EAN2 e EAS3 quando comparadas com o controle negativo (CN). Em contrapartida, nessas mesmas estações a quantificação da CAT, GST, GSH e LPO foram significativamente menores que os valores do CN, com exceção dos valores da GST em EAJ que não apresentou diferença.

A PCA foi utilizada para associar os dados de metais e os biomarcadores bioquímicos e de biotransformação (Figuras 5-A e 5-B) (Figuras 6-A e 6-B). Os componentes principais (PC) PC1 (45,8%) e o PC2 (29,3%) foram os mais significativos e representam 75% da variação dos dados da primeira amostragem de água (Figura 5-A). Esses dados indicam que durante a primeira amostragem, o aumento da SOD pode estar relacionado ao elemento Co. Li *et al.* (2006) observaram um aumento dose-depende da atividade da SOD quando microalgas *Pavlova viridis* foram tratadas em doses de 10 e 20  $\mu\text{mol/L}$  de  $\text{Co}^{2++}$ . Neste mesmo estudo, os autores observaram que a ativação da via antioxidante pela CAT ocorreu somente em doses muito elevadas de Co (100  $\mu\text{mol/L}$  para  $\text{Co}^{2++}$ ). Os resultados do estudo acima citado indicam uma via de ativação do sistema antioxidativo, que também foi observada em nossos estudos, com provável neutralização do peróxido por outras vias, visto que os níveis de LPO estão significativamente reduzidos, em relação ao CN.

Tabela 5 – Quantificação de biomarcadores bioquímicos e de biotransformação em radículas de *Allium cepa* L. após exposição às amostras de água coletadas nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Juçu/ES das duas amostragens e à água destilada como controle negativo (CN).

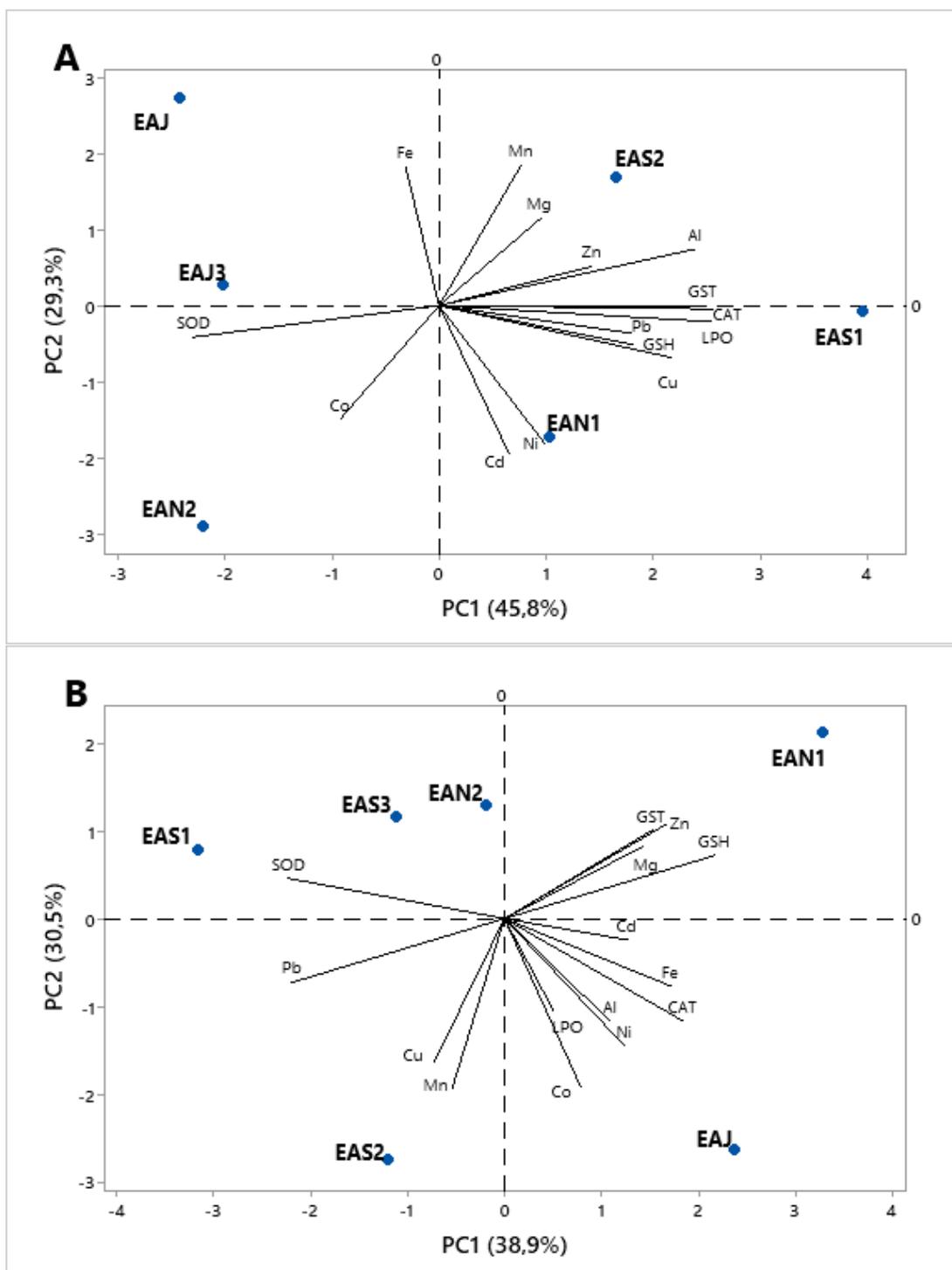
Treatamentos	CAT (nmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .mg proteína <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	SOD (SOD unit.mg proteína <sup>-1</sup> )	GST (nmol CDNB.mg proteína <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	GSH (µmol.mg proteína <sup>-1</sup> .mL <sup>-1</sup> )	LPO (nmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .mg proteína <sup>-1</sup> )
<b>1ª Amostragem</b>					
EAN1	0,25±0,04 <sup>bcd</sup>	10,76±1,07 <sup>ab</sup>	0,33±0,01 <sup>ab</sup>	4,07±0,15 <sup>c</sup>	22,22±4,47 <sup>bc</sup>
EAN2	0,06±0,01 <sup>a</sup>	55,48±3,88 <sup>c</sup>	0,09±0,01 <sup>c</sup>	0,62±0,08 <sup>e</sup>	5,49±1,44 <sup>ab</sup>
EAS1	0,41±0,06 <sup>d</sup>	8,3±0,64 <sup>a</sup>	0,4±0,16 <sup>a</sup>	2,42±0,4 <sup>b</sup>	35,41±0,46 <sup>c</sup>
EAS2	0,21±0,03 <sup>abcd</sup>	13,57±3,88 <sup>abc</sup>	0,25±0,04 <sup>abc</sup>	1,86±0,39 <sup>b</sup>	16,8±4,64 <sup>abc</sup>
EAS3	0,07±0,01 <sup>ab</sup>	55,28±11,73 <sup>bc</sup>	0,08±0,02 <sup>c</sup>	0,46±0,12 <sup>a</sup>	4,49±1,04 <sup>a</sup>
EAJ	0,09±0,01 <sup>abc</sup>	35,44±6,52 <sup>bc</sup>	0,14±0,11 <sup>bc</sup>	0,77±0,16 <sup>a</sup>	5,14±0,67 <sup>ab</sup>
CN	0,68±0,06 <sup>cd</sup>	8,69±0,57 <sup>a</sup>	0,34±0,1 <sup>ab</sup>	1,97±0,54 <sup>b</sup>	42,76±0,55 <sup>c</sup>
EAJ	0,44±0,03 <sup>bc</sup>	6,32±1,04 <sup>a</sup>	0,6±0,01 <sup>b</sup>	4,61±0,15 <sup>a</sup>	54,97±13,01 <sup>abc</sup>
EAN2	0,31±0,1 <sup>abc</sup>	10,63±3,77 <sup>a</sup>	0,22±0,03 <sup>a</sup>	2,15±0,4 <sup>a</sup>	80,46±4,82 <sup>cd</sup>
EAS1	0,21±0,06 <sup>a</sup>	18,31±4,38 <sup>a</sup>	0,19±0,04 <sup>a</sup>	1,71±0,41 <sup>a</sup>	24,4±4,39 <sup>a</sup>
EAS2	0,45±0,04 <sup>bc</sup>	10,22±5,85 <sup>a</sup>	0,27±0,1 <sup>a</sup>	1,58±0,5 <sup>a</sup>	98,16±24,94 <sup>d</sup>
EAS3	0,28±0,04 <sup>ab</sup>	13,78±4,1 <sup>a</sup>	0,31±0,12 <sup>ab</sup>	2,18±0,9 <sup>a</sup>	41,93±8,2 <sup>ab</sup>
EAJ	0,46±0,05 <sup>c</sup>	7,44±0,07 <sup>a</sup>	0,22±0,06 <sup>a</sup>	3,08±1,15 <sup>a</sup>	59,79±9,28 <sup>bc</sup>
CN	0,68±0,06 <sup>bc</sup>	8,69±0,57 <sup>a</sup>	0,34±0,04 <sup>ab</sup>	1,97±0,54 <sup>a</sup>	42,76±0,39 <sup>ab</sup>
<b>2ª Amostragem</b>					

Os valores estão expressos como média ± desvio padrão. As letras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis. (superóxido dismutase – SOD, catalase – CAT, glutatona S-transferase – atividade da GST, glutatona reduzida – GSH, lipoperoxidação – LPO contido).

Na primeira amostragem de água (Tabela 5), foi observado aumento significativo dos níveis de GSH na estação EAN1 em relação ao CN. De acordo com a PCA (Figura 5-A), o aumento da GSH nessa estação pode estar relacionado às concentrações dos metais Al, Cd, Cu, Ni e Pb detectadas. Jana *et al.* (2017) também observaram um aumento da GSH em raízes de *A. cepa* expostas a concentrações de lixiviados de cinzas de combustível contendo Co, Cr, Cu, Mn, Cd, Ni, Pb e Zn e sugerem que a GSH pode atuar como radical *scavenger*. Além disso, pode-se observar em nossos resultados uma provável eficácia dessa via de biotransformação, pois não houve alteração significativa do nível de LPO em relação ao CN nesta estação amostral.

Na segunda amostragem de água (Tabela 5), foi observada diferença significativa em EAS1, onde a quantificação de CAT foi menor que o CN. As estações EAN2 e EAS2 apresentaram quantificações de LPO significativamente superiores ao CN. Os valores de SOD, GST e GSH não apresentaram diferenças significativas, quando comparados ao CN. De acordo com a PCA (Figura 5-B), onde os PC1 (38,9%) e PC2 (30,5%) explicam 69% da variação dos dados, os níveis de CAT são inversamente proporcionais ao de SOD, estando a CAT relacionada aos elementos Cd, Fe, Mg e Zn. A PCA também pode indicar que o aumento da LPO pode estar relacionado aos elementos Al, Co, Cu, Fe, Mn e Ni. Metais como o Cu, Fe, Mn, Co (AIGBERUA; TARAWOU; ABASI, 2018; BOHU *et al.*, 2016; RAE, 1999) e Al, (QUINLAN *et al.*, 1988) possuem potencial redox ativo, participando das reações de Fenton e Haber-Weiss, que geram espécies reativas de oxigênio (ERO), principalmente o radical hidroxila, que é altamente tóxico às membranas lipídicas e à molécula de DNA. Os elementos Al, Cu, Fe e Mn apresentaram concentrações superiores ao preconizado pela legislação nessas estações (Tabela 3). A LPO corresponde a uma série em cascata de eventos bioquímicos iniciada por radicais livres que atingem principalmente as membranas lipídicas celulares, provocando a destruição da estrutura de membrana da célula e ocorre quando o sistema antioxidativo não foi suficiente para neutralizar a produção de radicais livres (LIMA; ABDALLA, 2001; NATASHA *et al.*, 2020).

Figura 5 - Análise de PCA para as amostras de água nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES, integrando dados de metais e biomarcadores bioquímicos e de biotransformação: A – Primeira amostragem; B – Segunda amostragem.



Fonte: elaborada pelo autor.

Esses resultados podem estar relacionados ao uso de herbicidas em atividades agrícolas na bacia do rio Jucu, pois, segundo um levantamento conduzido por Altoé (2018), onde foram analisadas informações relativas à comercialização de herbicidas no município de Marechal Floriano (pertencente à bacia do rio Jucu), constatou-se que os princípios ativos dos herbicidas mais vendidos na região foram o Glifosato, 2,4-D, Picloram e Paraquat. Estudos de Dakhakhni, Raouf e Qusti (2016) observaram que o 2,4-D provocou o aumento de peroxidação lipídica em ratos Wistar machos e isso pode estar relacionado à geração de radicais livres produzidos pela aplicação do produto. O Paraquat exerce seus efeitos tóxicos por meio da geração de radicais livres de oxigênio. Este radical reage com oxigênio, produzindo superóxidos que causam danos aos componentes celulares, incluindo DNA e peroxidação lipídica, acarretando na morte celular (SUNTRES, 2002).

Para as amostras de elutriato (Tabela 6), durante a primeira amostragem foi observado que houve um aumento significativo de CAT, GSH e LPO quando comparados ao CN em EAS3 e EAN1. Na estação EAS3 também foi observado o aumento significativo da GST. Segundo a PCA (Figura 6-A), que explica 72,8% da variação dos dados nessa amostragem, a CAT, GSH, GST e a LPO podem estar relacionadas aos metais Al, Cu, Fe, Mn e Zn. Como esses elementos participam das reações de Fenton e Haber-Weiss, o aumento da CAT nas estações amostrais observadas pode estar relacionado a altas concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nas células (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). O aumento da GST em EAS3 e da GSH em EAS3 e EAN1 pode estar relacionado à detoxificação de metais, em que a GST atua catalisando a conjugação da GSH a xenobióticos (DIXON *et al.*, 2012). A relação da GST e GSH com o estresse por metais em plantas foi relatada por Jana *et al.* (2017) e Srivastava *et al.* (2006). Entretanto, provavelmente o causado ao sistema antioxidativo foi tão elevado que não foi capaz de neutralizar as ERO, permitindo que gerasse níveis altíssimos de LPO.

Os eventos que podem decorrer da diminuição da fluidez das membranas incluem: a perturbação nas funções das proteínas, a perda de compartimentalização da célula, a desregulação na liberação de íons e outros eventos que alteram o metabolismo normal, levando ao desequilíbrio e perda das funções essenciais (NATASHA *et al.*, 2020; AZIZ; LARHER, 1998). Yldirim *et al.* (2020) observaram o aumento de peroxidação lipídica em lagostins expostos a efluentes municipais

Tabela 6 – Quantificação de biomarcadores bioquímicos e de biotransformação em radículas de *Allium cepa* L. após exposição às amostras de efluente coletadas nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES em duas amostragens e ao controle negativo (CN).

Treatamentos	CAT (nmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .mg protein <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	SOD (SOD unit.mg protein <sup>-1</sup> )	GST (nmol CDNB.mg protein <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	GSH (µmol.mg protein <sup>-1</sup> . mL <sup>-1</sup> )	LPO (nmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .mg protein <sup>-1</sup> )
<b>1ª Amostragem</b>					
EAJ	0,39±0,0 <sup>abc</sup>	18,05±5,95 <sup>d</sup>	0,24±0,07 <sup>ab</sup>	2,35±0,85 <sup>a</sup>	39,61±3,19 <sup>a</sup>
EAS3	2,05±0,0,6 <sup>c</sup>	2,16±0,36 <sup>a</sup>	1,26±0,03 <sup>d</sup>	14,31±5,12 <sup>c</sup>	442,98±82,63 <sup>c</sup>
EAS2	0,47±0,01 <sup>bc</sup>	4,68±0,69 <sup>ab</sup>	0,3±0,02 <sup>ab</sup>	2,66±0,01 <sup>ab</sup>	73,29±14,02 <sup>ab</sup>
EAS1	0,28±0,06 <sup>a</sup>	13,14±3,42 <sup>dc</sup>	0,19±0,09 <sup>a</sup>	2,16±0,72 <sup>a</sup>	56,88±15,87 <sup>ab</sup>
EAJ	0,31±0,06 <sup>ab</sup>	11,62±2,24 <sup>bcd</sup>	0,24±0,05 <sup>a</sup>	4,24±0,7 <sup>abc</sup>	95,52±11,84 <sup>bc</sup>
EAN1	0,99±0,18 <sup>c</sup>	1,02±0,43 <sup>a</sup>	0,39±0 <sup>bc</sup>	8,17±0,59 <sup>bc</sup>	135,28±6,29 <sup>c</sup>
<b>2ª Amostragem</b>					
EAJ	0,25±0,01 <sup>a</sup>	19,73±6,54 <sup>c</sup>	0,19±0,01 <sup>a</sup>	1,03±0,15 <sup>ab</sup>	31,04±0,39 <sup>a</sup>
EAS3	0,23±0,06 <sup>a</sup>	14,29±0,29 <sup>bc</sup>	0,27±0,03 <sup>ab</sup>	1,68±0,14 <sup>bcd</sup>	33,59±2,26 <sup>a</sup>
EAS2	0,33±0,16 <sup>a</sup>	6,29±1,62 <sup>a</sup>	0,87±0,05 <sup>d</sup>	2,82±0,04 <sup>d</sup>	100,1±8,44 <sup>c</sup>
EAS1	0,39±0,02 <sup>a</sup>	10,53±2,68 <sup>abc</sup>	0,44±0,06 <sup>cd</sup>	1,68±0,28 <sup>abcd</sup>	39,9±7,39 <sup>abc</sup>
EAN2	0,33±0,01 <sup>a</sup>	9,48±1,55 <sup>ab</sup>	0,23±0,03 <sup>abc</sup>	1,18±0,15 <sup>abc</sup>	63,45±0,98 <sup>bc</sup>
EAN1	0,29±0,10 <sup>a</sup>	10,42±1,63 <sup>abc</sup>	0,21±0,01 <sup>ab</sup>	1,01±0,19 <sup>a</sup>	34,47±12,02 <sup>ab</sup>
CN	0,68±0,06 <sup>ab</sup>	8,69±0,57 <sup>abc</sup>	0,34±0,1 <sup>abc</sup>	1,97±0,54 <sup>a</sup>	42,76±0,39 <sup>ab</sup>
CN	0,68±0,06 <sup>a</sup>	8,69±0,57 <sup>a</sup>	0,34±0,04 <sup>bcd</sup>	1,97±0,54 <sup>cd</sup>	42,76±0,39 <sup>abc</sup>

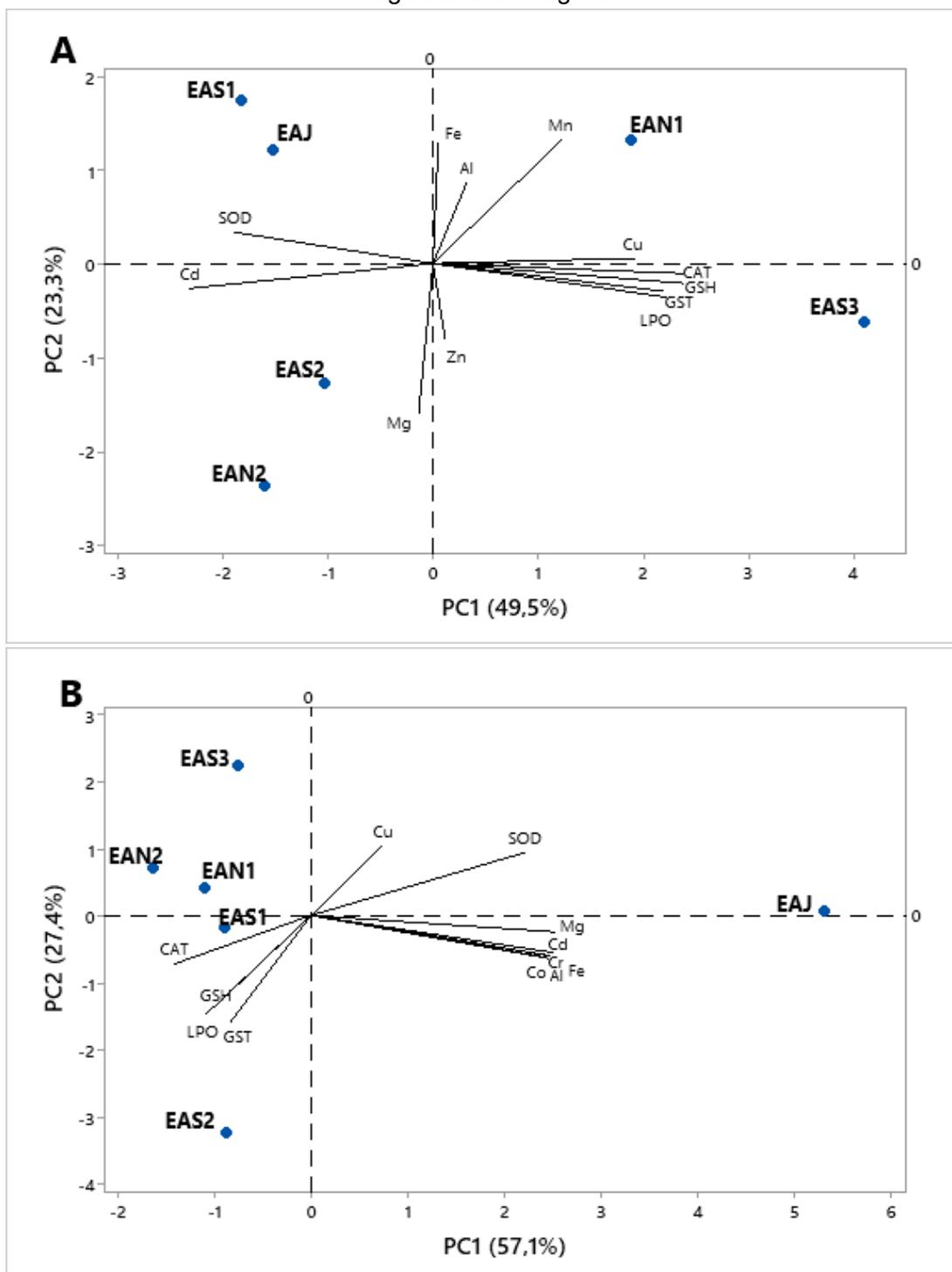
Os valores estão expressos como média ± desvio padrão. As letras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis. (superóxido dismutase – SOD, catalase – CAT, glutatona S-transferase – atividade da GST, glutatona reduzida – GSH, lipoperoxidação – LPO contido)

tratados e Machado *et al.* (2014) relataram o aumento de LPO em mexilhões expostos a águas urbanas.

Na primeira amostragem de elutriato (Tabela 6), pode-se observar um aumento significativo da SOD em EAJ que pode ter uma possível relação com os metais Cd e Mg, de acordo com a PCA (Figura 6-A). Em contrapartida, essa estação obteve os menores índices de LPO (bem próximos do CN). Esses resultados indicam que a ativação da SOD, que é a primeira linha de defesa do organismo contra ERO, com posterior neutralização do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por vias alternativas à CAT, foi eficaz e reduziu os danos de peroxidação lipídica a valores menores que os observados no CN. A GST não apresentou diferença significativa entre as amostras de nenhuma estação.

As amostras de elutriato da segunda amostragem (Tabela 6), na estação EAJ ocorreu um aumento significativo da SOD e uma diminuição da GST e GSH, quando comparados ao CN. Também foi um aumento significativo na atividade da SOD em EAS3, quando comparados ao CN. De acordo com a PCA, em que o PC1 e PC2 explicaram 84,5% da variação dos dados (Figura 6-B), a SOD está relacionada a quase todos os elementos quantificados. Como observado por Fatima e Ahmad (2005) em seus estudos com *A. cepa* expostos a misturas complexas, a SOD se mostrou um excelente biomarcador para estresse relacionados a metais no geral. Esses autores também observaram que em altas concentrações de metais como Cr, Cd, Pb e Hg há uma queda abrupta na atividade da SOD. Com relação à estação EAN1, foi observada uma redução da GSH (Tabela 6), que segundo a PCA (Figura 6-B), a GSH e os metais quantificados possuem uma relação antagonista, ou seja, quanto maior as concentrações dos metais, menor a quantificação de GSH. A diminuição de GSH à O aumento da produção de ERO nas células, quando expostas a algum estresse, é amplamente conhecido. E fatores estressantes como metais e outros poluentes ambientais podem causar danos celulares severos, inclusive morte celular (LI *et al.*, 2007). Assim, a ativação do sistema antioxidativo por uma ou mais enzimas, é essencial para minimizar esses efeitos oxidativos que são danosos aos componentes celulares (NATASHA *et al.*, 2020).

Figura 6 - Análise de PCA para as amostras de elutriado nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES, integrando dados de metais e biomarcadores bioquímicos e de biotransformação: A – Primeira amostragem; B – Segunda amostragem.



#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados do estudo apontam para uma degradação da qualidade ambiental das águas do rio Jucu por contaminação de metais pesados, fato preocupante, tendo em vista a sua utilização para abastecimento público e agropecuário, bem como pela sua importância ecológica. Todavia, as fontes poluidoras são difusas, dificultando a identificação dos principais poluentes para um manejo correto da água e do solo da bacia. A utilização de bioensaios se mostrou de grande importância para evidenciar alterações críticas na qualidade das águas do rio Jucu e seus possíveis efeitos na biota. Assim, recomendamos aos órgãos ambientais estaduais a incorporação de bioensaios (dentre eles os de *A. cepa*) no monitoramento ambiental de ecossistemas aquáticos, em complementação às análises físico-químicas usualmente realizadas. Além disso, sugerimos a realização e intensificação de projetos de recuperação da cobertura vegetal da bacia e ações de conscientização a fim de reduzir os impactos nos ecossistemas da bacia, priorizando a proteção dos mananciais e gerando benefícios para a saúde pública.

## REFERÊNCIAS

ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 15.469: Ecotoxicologia aquática - Preservação e preparo de amostras**. Rio de Janeiro, 2007. 7p.

ACHARY, V. *et al.* Aluminium induced oxidative stress and DNA damage in root cells of *Allium cepa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, n. 2, p. 300–310, 2008.

AGERH, Agência Estadual de Recursos Hídricos do Espírito Santo. **Bacia Hidrográfica do Rio Jucu é a primeira do Estado a ter critérios próprios de Outorga para uso da água**. 2020. Disponível em: <https://www.es.gov.br/Noticia/bacia-hidrografica-do-rio-jucu-e-a-primeira-do-estado-a-ter-criterios-proprios-de-outorga-para-uso-da-agua>. Acesso em: 23 jul. 2021.

AIGBERUA, A.; TARAWOU, J.; ABASI, C. Effect of Oxidation-Reduction Fluctuations on Metal Mobility of Speciated Metals and Arsenic in Bottom Sediments of Middleton River, Bayelsa State, Nigeria. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 22, n. 9, p. 1511, 2018.

ALTOÉ, P. S. Agrotóxicos no estado do Espírito Santo: uma análise das questões legais e dos efeitos nas águas superficiais do rio Jucu causados pelo herbicida glifosato. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Espírito Santo, 2018. 122f.

ALVARES, C. A. *et al.* Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.

AZIZ, A.; LARHER, F. Osmotic stress induced changes in lipid composition and peroxidation in leaf discs of *Brassica napus* L. **Journal of Plant Physiology**, v. 153, n. 5–6, p. 754–762, 1998.

BLEUTER, E. **Red cell metabolism : a manual of biochemical methods (2nd ed)**. New York: ed. New York, 1975.

BOHU, T. *et al.* Biological Low-pH Mn(II) Oxidation in a Manganese Deposit Influenced by Metal-Rich Groundwater. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 10, p. 3009–3021, 2016. DOI: 10.1128/AEM.03844-15

BONNAIL, E. *et al.* Sediment quality assessment in the Guadalquivir River (SW, Spain)

using caged Asian clams: A biomarker field approach. **Science of The Total Environment**, v. 650, p. 1996–2003, 2019.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976.

BUI, T. K. L. *et al.* Copper toxicity and the influence of water quality of Dongnai River and Mekong River waters on copper bioavailability and toxicity to three tropical species. **Chemosphere**, v. 144, p. 872–878, 2016. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.09.058.

CETESB. **Guia nacional de Coletas e Preservação de Amostras - Água, sedimentos, comunidades aquáticas e efluentes líquidas**, National Collection and Preservation Guide - Water, sediments, aquatic communities and liquid effluents (in Portuguese), 2011. 325p. Disponível em: <https://capacitacao.ana.gov.br/conhecerc/handle/ana/2211>. Acesso em: 14 ago. 2020.

CONAMA, CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução N° 430, De 13 De Maio De 2011**. Complementa e altera a Resolução nº 357/2005. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no Iho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. 2011. 8p. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 13 set. 2021.

CORINGA, J. do E. S. *et al.* Distribuição geoquímica e biodisponibilidade de metais traço em sedimentos no Rio Bento Gomes, Poconé - MT, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 46, n. 2, p. 161–174, 2016.

CORREIA, L. J. H. *et al.* Monitoramento da qualidade físico-química da água do estuário do Rio Paraíba – Cabedelo, PB. **Revista Principia - Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB**, v. 1, n. 27, p. 47, 2015.

DAKHAKHNI, T. H.; RAOUF, G. A.; QUSTI, S. Y. Evaluation of the toxic effect of the herbicide 2, 4-D on rat hepatocytes: an FT-IR spectroscopic study. **European Biophysics Journal**, v. 45, n. 4, p. 311–320, 2016. DOI: 10.1007/s00249-015-1097-7.

DIXON, D. P. *et al.* The maize benzoxazinone DIMBOA reacts with glutathione and other thiols to form spirocyclic adducts. **Phytochemistry**, v. 77, p. 171–178, 2012.

DUARTE, I. D. Rio Santa Maria da Vitória (ES, Brasil): Avaliações Ecofisiológicas e Toxicogenéticas em Amostras de Água, Sedimento e Elutriato do Sedimento. **Tese de Doutorado em Biologia Vegetal**. Universidade Federal do Espírito Santo, 2017. 181p.

DUARTE, I. D. *et al.* Water quality of a coastal lagoon (ES, Brazil): abiotic aspects, cytogenetic damage, and phytoplankton dynamics. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 11, p. 10855–10868, 2017.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciências, 2011. 535p.

FATIMA, R. A.; AHMAD, M. *Allium cepa* derived EROD as a potential biomarker for the presence of certain pesticides in water. **Chemosphere**, v. 62, n. 4, p. 527–537, 2006.

\_\_\_\_\_. Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 346, n. 1–3, p. 256–273, 2005.

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

FRASCARELI, D. *et al.* Heterogeneidade espacial e temporal de variáveis limnológicas no reservatório de Itupararanga associadas com o uso do solo na Bacia do Alto Sorocaba-SP. **Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 10, n. 4, 2015.

GARDIMAN JUNIOR, B. S. Caracterização do processo de poluição das águas superficiais da Bacia Hidrográfica do Rio Jucu, estado do Espírito Santo, Brasil. **REVISTA AGRO@MBIENTE ON-LINE**, v. 9, n. 3, p. 235, 2015. DOI: 10.18227/1982-8470ragro.v9i3.2310.

GARDIMAN JUNIOR, B. S.; SIMOURA, L. T. Cobertura florestal e qualidade da água na bacia hidrográfica do rio Jucu, estado do Espírito Santo, Brasil. **Scientia Plena**, v. 12, n. 1, p. 1–15, 2016.

GIRAUDO, M. *et al.* A major release of urban untreated wastewaters in the St.

Lawrence River (Quebec, Canada) altered growth, reproduction, and redox status in experimentally exposed *Daphnia magna*. **Ecotoxicology**, v. 28, n. 7, p. 843–851, 2019. DOI: 10.1007/s10646-019-02084-4.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 249, n. 22, p. 7130–7139, 1974.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. (5th Revised ed.) Oxford: Oxford University Press, 2015. 896p. DOI: 10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001

IEMA, Instituto Estadual de Meio Ambiente do Espírito Santo. **Enquadramento dos Corpos de Água em Classes e Plano de Bacia para os Rios Santa Maria da Vitória e Jucu. Relatório Síntese**. 2016. Disponível em: <https://agerh.es.gov.br/Media/agerh/DocumentaçãoCBHs/Jucu/RELATÓRIOSÍNTES E.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2021.

INCAPER - Instituto Capixaba de Pesquisa e Assistência Técnica e Rural. **Precipitação total observada em 2018 no estado do Espírito Santo**. 2018. Disponível em: <https://meteorologia.incaper.es.gov.br/mapas-de-chuva-acumulado-mensal-e-anual-2018#prettyPhoto>. Acesso em: 18 dez. 2019.

JANA, A. *et al.* Hazard identification of coal fly ash leachate using a battery of cytogenotoxic and biochemical tests in *Allium cepa*. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 63, n. 10, p. 1443–1453, 2017. DOI: 10.1080/03650340.2017.1280730.

JIANG, Z. Y.; WOOLLARD, A. C. S.; WOLFF, S. P. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe<sup>2+</sup> in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. **Lipids**, v. 26, n. 10, p. 853–856, 1991. DOI: 10.1007/BF02536169.

JORDÃO, C. P. *et al.* Adsorção de íons Cu<sup>2+</sup> em latossolo vermelho-amarelo húmico. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 05–11, 2000.

LI, M. *et al.* Cobalt and manganese stress in the microalga *Pavlova viridis* (Prymnesiophyceae): Effects on lipid peroxidation and antioxidant enzymes. **Journal of Environmental Sciences**, v. 19, n. 11, p. 1330–1335, 2007.

LI, M. *et al.* Copper and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant

enzyme activities in the microalga *Pavlova viridis* (Prymnesiophyceae). **Chemosphere**, v. 62, n. 4, p. 565–572, 2006.

LIMA, É. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: Mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3, p. 293–303, 2001.

MACHADO, A. A. de S. *et al.* Responses of biomarkers in wild freshwater mussels chronically exposed to complex contaminant mixtures. **Ecotoxicology**, v. 23, n. 7, p. 1345–1358, 2014. DOI: 10.1007/s10646-014-1277-8>.

MALLICK, N. Copper-induced oxidative stress in the chlorophycean microalga *Chlorella vulgaris*: Response of the antioxidant system. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, n. 5, p. 591–597, 2004.

MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). **Journal of Biological Chemistry**, v. 244, n. 22, p. 6049–6055, 1969.

MORAES, R. M. *et al.* Effects of copper on physiological and cytological aspects in *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 2, p. 115–121, 2015.

NATASHA *et al.* A critical review of mercury speciation, bioavailability, toxicity and detoxification in soil-plant environment: Ecotoxicology and health risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 711, p. 134749, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.134749.

NGUYEN, B. T. *et al.* Seasonal, spatial variation, and pollution sources of heavy metals in the sediment of the Saigon River, Vietnam. **Environmental Pollution**, v. 256, p. 113412, 2020. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.113412.

O'GEEN, A. T. *et al.* Mitigating nonpoint source pollution in agriculture with constructed and restored wetlands. **Advances in agronomy**, v. 108, p. 1–76, 2010.

OLIVEIRA, F. G. *et al.* Toxicological effects of anthropogenic activities in *Geophagus brasiliensis* from a coastal river of southern Brazil: A biomarker approach. **Science of the Total Environment**, v. 667, p. 371–383, 2019. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.02.168.

OSSANA, N. A. *et al.* Histological, Genotoxic, and Biochemical Effects on *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns 1842) (Cyprinodontiformes, Poeciliidae): Early Response

Bioassays to Assess the Impact of Receiving Waters. **Journal of Toxicology**, v. 2019, n. Jenyns 1842, p. 1–13, 2019.

PATNAIK, A. R.; ACHARY, V. M. M.; PANDA, B. B. Chromium (VI)-induced hormesis and genotoxicity are mediated through oxidative stress in root cells of *Allium cepa* L. **Plant Growth Regulation**, v. 71, n. 2, p. 157–170, 2013.

PAVIONE, P. M. *et al.* Development of environmental effects monitoring protocol in Brazil: a fish guide study of three river estuaries. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 11, p. 658, 2019. DOI: 10.1007/s10661-019-7860-y.

PEDRAZZI, F. J. M. *et al.* Spatial and Temporal Quality of Water in the Itupararanga Reservoir, Alto Sorocaba Basin (SP), Brazil. **Journal of Water Resource and Protection**, v. 05, n. 01, p. 64–71, 2013.

QUINLAN, G. J. *et al.* Action of lead(II) and aluminium(III) ions on iron-stimulated lipid peroxidation in liposomes, erythrocytes and rat liver microsomal fractions. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism**, v. 962, n. 2, p. 196–200, set. 1988.

RAE, T. D. Undetectable Intracellular Free Copper: The Requirement of a Copper Chaperone for Superoxide Dismutase. **Science**, v. 284, n. 5415, p. 805–808, 1999. DOI: 10.1126/science.284.5415.805.

RIGHETTO, A. M.; GOMES, K. M.; FREITAS, F. R. S. Poluição difusa nas águas pluviais de uma bacia de drenagem urbana. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 1109–1120, 2017.

RODRIGUES, C.; GUIMARÃES, L.; VIEIRA, N. Combining biomarker and community approaches using benthic macroinvertebrates can improve the assessment of the ecological status of rivers. **Hydrobiologia**, v. 839, n. 1, p. 1–24, 2019. DOI: 10.1007/s10750-019-03991-7.

RODRIGUES, L. D. A. *et al.* Determination of toxicity assays, trophic state index, and physicochemical parameters on Piracicaba River and Itapeva Stream. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 10, n. 2, p. 310–317, 2015.

SILVA, T. T. Avaliação da qualidade da água do rio Jucu/ES (Brasil), por meio de parâmetros físico-químicos e biológicos. **Dissertação de Mestrado**. Universidade

Federal do Espírito Santo, 2019. 127p.

SPERLING, M. V. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 4ª ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2011.

SRIVASTAVA, S. *et al.* Copper-induced oxidative stress and responses of antioxidants and phytochelatins in *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle. **Aquatic Toxicology**, v. 80, n. 4, p. 405–415, 2006.

SUNTRES, Z. Role of antioxidants in paraquat toxicity. **Toxicology**, v. 180, n. 1, p. 65–77, 2002.

TERRA, V. R. *et al.* Monitoramento do rio Jucu Braço Sul : Caracterização e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos . Monitoring of seasonality of the Jucu Braço Sul river: characterization and evaluation of the. **Natureza online**, v. 7, n. 1, p. 5-11, 2009.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. **Recursos Hídricos no Século XXI**. Primeira ed. São Paulo - Brasil: Oficina de Textos, 2011. 328p.

WHITE, C. C. *et al.* Fluorescence-based microtiter plate assay for glutamate-cysteine ligase activity. **Analytical Biochemistry**, v. 318, n. 2, p. 175–180, 2003.

YILDIRIM, N. C. *et al.* The use of *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) as a test species for toxicity evaluation of municipal wastewater treatment plant effluents. **Pollution**, v. 6, n. 1, p. 35–41, 2020.

**CAPITULO 2 – Impactos da pluviosidade na qualidade de um recurso hídrico  
usado para a agricultura e abastecimento urbano.**

Autores: Edvar Junior Roncetti Coelho <sup>(1)</sup>, Tainá Tural <sup>(2)</sup>, Iara da Costa Souza <sup>(3)</sup>, Livia Dorsch Rocha <sup>(1)</sup>, Ian Drumond Duarte <sup>(1)</sup>, Josimar Ribeiro <sup>(2)</sup>, Silvia Tamie Matsumoto <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Departamento de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

<sup>(2)</sup> Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal do Espírito Santo, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

<sup>(3)</sup> Departamento de Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências Biológicas e Saúde, Universidade Federal de São Carlos, CEP 13565-905, São Carlos, SP, Brasil.

\*Autor para correspondência: [ejroncetti@gmail.com](mailto:ejroncetti@gmail.com)

Periódico a ser submetido: Journal of Environmental Sciences.

## RESUMO

O rio Jucu é considerado um dos principais cursos hídricos do estado do Espírito Santo (Brasil) e é utilizado como fonte de água para irrigação e abastecimento público. No entanto, sofre com ações antrópicas diversas e contínuas. Para avaliar o impacto dos períodos de estiagem e chuvoso e a sua qualidade ambiental, foram realizadas duas coletas de amostras de água e sedimento em seis locais ao longo do rio Jucu, nos períodos de inverno e verão. Foram realizadas análises físicas e químicas das amostras de água e elutriado do sedimento e bioensaios em espécimes de *Allium cepa* expostos às amostras coletadas, onde foram realizadas análises de germinação, crescimento de raiz e avaliações citogenéticas no meristema radicular por meio dos índices mitótico, de aberrações cromossômicas e índice de mutagenicidade. Foi observada uma variação entre as coletas de inverno e verão, onde ocorreu baixa e alta precipitação, respectivamente. Algumas estações amostrais apresentaram valores acima do permitido pela legislação dos parâmetros nitrogênio total e turbidez, provavelmente influenciados pela pluviosidade. Nas amostras de água e elutriado, foram quantificados os elementos alumínio, cádmio, chumbo, cobalto, cromo, cobre, ferro, magnésio, manganês, níquel e zinco. Nas amostras de água, todos os elementos apresentaram concentrações acima do permitido na maioria das amostras, principalmente o Al, Cu, Fe e Mn. Em relação aos bioensaios, as amostras apresentaram potencial fitotóxico no índice de crescimento radicular e potencial citotóxico, mutagênico e genotóxicos na maioria das amostras. A ocupação do solo da bacia é complexa e a contaminação é difusa, visto que há intensa produção agrícola na região e lançamento de efluentes domésticos sem tratamento que dificultam a identificação dos agentes causadores. No entanto, foi observada correlação entre os biomarcadores avaliados e alguns metais presentes nas amostras. Os parâmetros avaliados neste estudo possibilitam concluir que a qualidade da água do rio Jucu encontra-se comprometida para abastecimento humano e para a irrigação. O sistema teste *Allium cepa* se mostrou eficiente como modelo para determinar efeitos toxicogênicos na agricultura que podem ser intensificados nos períodos de estiagem e chuvoso.

**Palavras-chave:** teste do *Allium cepa* • citotoxicidade • genotoxicidade • mutagenicidade • metais pesados • contaminação.

### ABSTRACT

The Jucu River is considered one of the main watercourses in the state of Espírito Santo (Brazil) and is used as a water source for irrigation and public supply. However, it suffers from several and continuous anthropic actions. Two water and sediment samples were collected at six sites along the Jucu River in the winter and summer periods to assess the impact of the drought/rainfall and its environmental quality. Physical and chemical analyzes of water and elutriate sediment samples were measured. Also, bioassays were performed on *Allium cepa* specimens exposed to the collected samples to evaluate: germination ratio, root growth, and cytogenetic alterations on the root meristem through mitotic, chromosomal aberration, and mutagenicity index. There was a variation between winter and summer collections, being low and high precipitation, respectively. Some sampling stations presented values above the limits established by legislation for total nitrogen and turbidity, probably influenced by rainfall. The elements such as aluminum, cadmium, lead, cobalt, chromium, copper, iron, magnesium, manganese, nickel, and zinc were quantified in water and elutriate samples. All elements presented concentrations above the limits allowed in most samples, mainly Al, Cu, Fe, and Mn. The bioassays results showed phytotoxic potential in the root growth index and cytotoxic, mutagenic, and genotoxic potential in most samples. The occupation of the basin's soil is complex and contamination is widespread, as there is intense agricultural production in the region and the release of untreated domestic effluents, making it hard to identify the causative agents. However, a correlation was observed between the evaluated biomarkers and some metals present in the samples. The parameters evaluated in this study make it possible to conclude that the water quality of the Jucu River is compromised for irrigation and human supply. The *Allium cepa* test system proved to be efficient as a model to determine toxicogenetic effects in agriculture which can be intensified in periods of drought and rainfall.

**Palavras-chave:** *Allium cepa* test • cytotoxicity • genotoxicity • mutagenicity • heavy metals • hazardous contamination.

## 1. INTRODUÇÃO

Os ecossistemas hídricos são afetados por ações antrópicas de forma cada vez mais recorrentes e intensas nas últimas décadas. As contaminações de rios e lagos se dão principalmente pelo despejo de resíduos sem tratamento, como efluentes doméstico, industrial e agrícola, que somados a processos de erosão e lixiviação, impactam negativamente os ecossistemas (BAILÃO *et al.*, 2020). Além disso, mudanças climáticas podem alterar os processos de precipitação e intensificar os efeitos desses contaminantes nos recursos hídricos (KANNAN; ANANDHI, 2020). O aumento do aporte de sedimentos, nutrientes e outros poluentes para dentro dos rios decorrentes de *runoff* proporcionado por chuvas fortes ou a elevação da concentração de poluentes na água durante a estação seca, devido aos baixos níveis de água dos rios, podem interferir, drasticamente, na qualidade da água a ser captada para o abastecimento público ou a ser usada na agricultura/pecuária. Além disso, a redução da qualidade desse ambiente também pode trazer uma série de problemas para a biodiversidade aquática e para a população humana que interagem com esses ecossistemas (ALUM; OKOYE, 2020).

Esses fatores agravantes têm causado grande preocupação global para a preservação e manutenção de corpos hídricos impactados, bem como o seu uso para o abastecimento público e irrigação (AKINBORO *et al.*, 2021). Projeções climáticas ao longo do século XXI realizadas pelo Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (*The Intergovernmental Panel on Climate Change* - IPCC) (IPCC, 2014) indicam que a América Central e do Sul podem apresentar riscos de redução da qualidade da água nos períodos de estiagem prolongados, aumento de enchentes e a redução da produção agrícola.

Embora haja essa preocupação, algumas agências reguladoras (O Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA; Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA) utilizam apenas análises de parâmetros físicos e químicos para determinar a qualidade da água destinada ao consumo humano e irrigação (GALTER *et al.*, 2021) e dessedentação. No entanto, estudos demonstram que essa avaliação convencional, isolada, pode não ser adequada para analisar os efeitos de contaminantes presentes na água (GALTER *et al.*, 2021), visto que diversas pesquisas demonstram a relação entre compostos químicos, metais pesados e outras misturas químicas complexas,

provenientes de fontes poluidoras antropogênicas, aos efeitos citotóxicos, mutagênicos e genotóxicos em diversos organismos, mesmo quando os valores de contaminação se apresentam abaixo dos estabelecidos pela legislações vigentes (SILVA SOUZA *et al.*, 2021; SOUZA *et al.*, 2021).

A realização de bioensaios para determinar a qualidade da água, por meio de estudos de genotoxicidade e mutagenicidade, em complementação às análises físicas e químicas, é de extrema importância, pois trazem informações sobre o real impacto dos contaminantes sobre o meio biológico. Diversos trabalhos enfatizam a importância da inclusão desses bioensaios para avaliação de risco (DUARTE *et al.*, 2017; JAYAWARDENA; WICKRAMASINGHE; UDAGAMA, 2021; KAUR *et al.*, 2019).

O uso do *Allium cepa* L. como bioindicador para avaliação e monitoramento de ambientes impactados e águas residuais é recomendado desde a década de 1990, por organizações internacionais, como o *International Program on Plant Bioassays* (IPPB) do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (*United Nations Environment Programme*, UNEP) (MA, 1999), pela Convenção para a Proteção do Meio Marinho do Atlântico Nordeste (OSPAR COMMISSION, 2002) e pelo programa GENE-TOX da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*Environmental Protection Agency*, EPA) (MA; CABRERA; OWENS, 2005). O sistema teste do *A. cepa* é indicado para avaliar parâmetros genéticos como mutações e aberrações cromossômicas, por possuir características genéticas vantajosas, como cromossomos grandes e em número reduzido ( $2n = 16$ ), o que facilita a visualização das alterações celulares em microscopia de luz (FISKESJÖ, 1985; IQBAL *et al.*, 2019; KAUR *et al.*, 2019; LEME; MARIN-MORALES, 2009). Alterações na estrutura e número de cromossomos, bem como a presença de micronúcleos nas células, que são observadas durante o ciclo mitótico, podem indicar potencial genotóxico e mutagênico de um agente ou uma amostra ambiental complexa (BONCIU *et al.*, 2018; IQBAL *et al.*, 2019).

Alguns estudos demonstram que efeitos toxicogenéticos em *A. cepa* são semelhantes e comparáveis aos resultados observados em linhagens com células animais (JAYAWARDENA; WICKRAMASINGHE; UDAGAMA, 2021; PALMIERI *et al.*, 2016), com a vantagem de um custo consideravelmente reduzido e de fácil reprodução (LEME; MARIN-MORALES, 2009). Esses ensaios ainda fornecem informações sobre potenciais danos ao DNA em um contexto multicelular, e não

envolvem questões éticas, como os testes desenvolvidos em animais (BONCIU *et al.*, 2018).

O rio Jucu, objeto de estudo deste trabalho, está localizado na região serrana do estado do Espírito Santo (Brasil). Este rio percorre áreas preservadas, trechos urbanos, áreas agrícolas e de pastagem, por isso, vem sofrendo impactos recorrentes dessas atividades antrópicas (GARDIMAN JUNIOR; SIMOURA, 2016). O rio apresenta um contexto socioeconômico muito importante para a região, pois abastece mais de um milhão de habitantes, incluindo um quarto da população da Região Metropolitana da Grande Vitória (AGERH, 2020).

Levando em consideração a preocupação quanto à preservação e conservação dos recursos hídricos, os constantes processos de degradação e ações antrópicas sofridos pelo rio Jucu, seu uso no abastecimento público e na agricultura e pecuária, o objetivo deste trabalho foi: (1) avaliar a qualidade ambiental do rio Jucu a partir da quantificação de metais presentes em amostras de água superficial e sedimento (elutriato) coletadas ao longo do rio, em períodos de chuva e de seca, como modelo para análise do efeito da pluviosidade na qualidade ambiental de corpos hídricos usados com finalidade humana e irrigação/pecuária; (2) avaliar o potencial toxicogênico de suas águas, por meio de ensaios *A. cepa* em períodos de estiagem e de chuvas intensas.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Área de estudo

A bacia hidrográfica do rio Jucu (Figura 1), localizada na região centro-serrana do estado do Espírito Santo, possui uma área de drenagem de 2.183 km<sup>2</sup> (altitude variando de 0 a 1.888 m), que abrange seis municípios: Domingos Martins, Marechal Floriano, Viana, Cariacica, Vila Velha e Vitória. É uma região de clima tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno, com precipitação média anual de 1.200 mm e chuvas concentradas nos meses de outubro a março (OLIVEIRA; TOMASELLA; SANCHES, 2019). Em seu curso hídrico principal, o rio Jucu é formado pela confluência dos rios Jucu Braço Sul e Jucu Braço Norte (Figura 1). Ele abastece uma população de pouco mais de um milhão de habitantes e é fonte de irrigação para culturas de café, laranja, banana, maracujá, goiaba e hortaliças diversas (Figura 2) (IEMA, 2016).

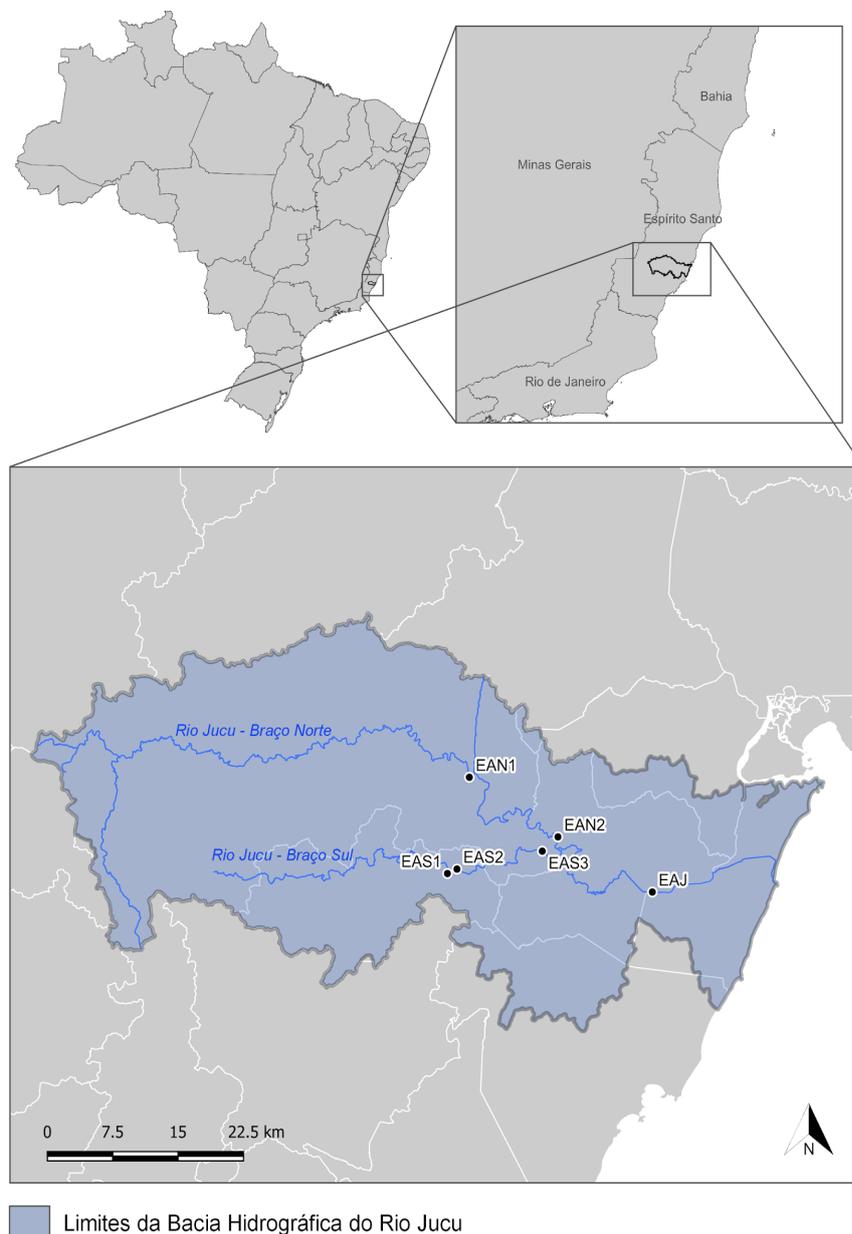
Foram estabelecidas seis estações amostrais ao longo dos dois braços e do leito principal do rio Jucu: EAN1 (-20.316498 / -40.656737 UTM), localizada no rio Jucu Braço Norte, à montante da cidade de Domingos Martins e em área rural com pastagens no entorno; EAN2 (-20.376495 / -40.656737 UTM), localizada no rio Jucu Braço Norte, no município de Viana, após receber efluentes da cidade de Domingos Martins e alguns distritos e antes da confluência com o Braço Sul. Com área com vegetação nativa nas margens; EAS1 (-20.411641 / -40.681931 UTM), localizada no rio Jucu Braço Sul, antes de receber efluentes sem tratamento do município de Marechal Floriano, situada no início do perímetro urbano; EAS2 (-20.407381 / -40.671355 UTM), localizada no rio Jucu Braço Sul, no perímetro urbano da cidade de Marechal Floriano e recebe efluentes domésticos sem tratamento; EAS3 (-20.391071 / -40.577323 UTM), localizada no rio Jucu Braço Sul, na área rural do município de Domingos Martins, antes da confluência com o Braço Norte, com pouca vegetação nas margens e está próxima de horticulturas; EAJ (-20.432013 / -40.456769 UTM), localizada no município de Viana, após a confluência dos dois braços e antes da estação de captação de água da CESAN, em uma região de pastagem e pouca vegetação arbórea nas margens do rio.

## 2.2 Coleta e preparo das amostras

Foram realizadas campanhas de amostragens em agosto de 2017 e março de 2018, onde foram coletadas amostras de água e sedimento das seis estações ao longo do rio Jucu.

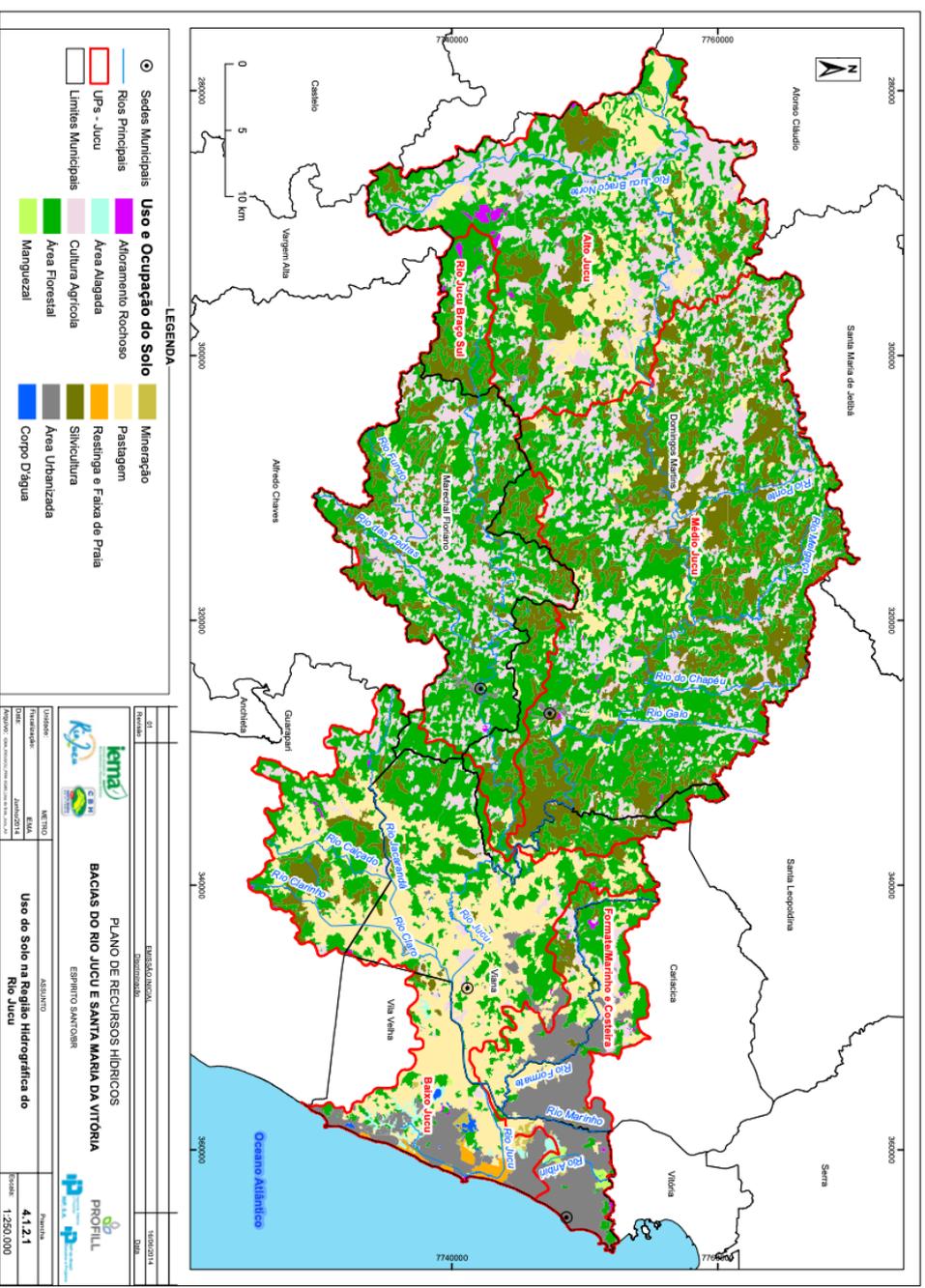
Os frascos de polietileno utilizados na coleta das amostras de água foram previamente descontaminados com detergente neutro EXTRAN (5%) e solução de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$  15% (v/v)). As amostras de água foram armazenadas refrigeradas ( $-4^\circ\text{C}$ ) para a realização dos ensaios em *A. cepa*. Para a quantificação elementar, as amostras foram acidificadas em campo a 2% com ácido nítrico concentrado destilado. Para a coleta das amostras de sedimento, foi utilizada a Draga Ekman, em aço inox, e as amostras armazenadas em saco plástico para armazenamento em freezer ( $-15^\circ\text{C}$ ). Para a realização do bioensaio em *A. cepa* e quantificação elementar com as amostras de sedimento, foi extraído o elutriato do sedimento, que é a porção aquosa do sedimento bruto, que simula a interface água:sedimento. Este processo ocorreu conforme método descrito pela ABNT 15469:2015 (ABNT, 2015), sendo uma parte destas amostras armazenadas refrigeradas ( $-4^\circ\text{C}$ ) para os bioensaios e a outra foi

Figura 1 – Mapa da bacia hidrográfica do rio Jucu e as estações amostrais ao longo do rio.



Fonte: elaborada pelo autor, 2021.

Figura 2 – Uso e ocupação do solo da bacia hidrográfica do rio Jucu/ES.



Fonte: IEMA, 2016.

acidificada a 2% com ácido nítrico concentrado destilado, para quantificação elementar.

Com o auxílio do medidor multiparâmetro (U-50 *Multiparameter Water Quality Checker*, HORIBA Advanced Techno, Kyoto, Japão) foram aferidos os valores limnológicos de temperatura da água (°C), pH, oxigênio dissolvido (mg.L<sup>-1</sup>), turbidez (UNT), sólidos totais dissolvidos (mg.L<sup>-1</sup>), condutividade elétrica (µS.cm<sup>-1</sup>) e salinidade (ng.L<sup>-1</sup>) das amostras de água subsuperficiais. A análise dos sólidos totais foi realizada em laboratório, a partir das amostras de água, determinada pelo método do gravimétrico em secagem em estufa a 105 °C, até obter massa constante. O nitrogênio total foi analisado seguindo o procedimento de Kjeldahl (APHA; AWWA; WEF, 2005).

### 2.3 Quantificação de metais

As amostras de água e elutriato do sedimento previamente acidificadas foram filtradas com papel filtro de faixa azul e, após, submetidas para análise. A quantificação dos metais nas amostras de água e sedimento foi realizada por espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (em inglês: *Inductively coupled plasma mass spectrometry*, ou ICP-MS) (Nexlon 300 d, Perkin Elmer, EUA) para os elementos Cd, Co, Cu, Ni e Pb. Para os elementos Al, Cr, Fe, Mg, Mn e Zn, a quantificação foi realizada por Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (em inglês: *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, ou ICP-OES) (Optima 7000DV, PerkinElmer, Alemanha)

As concentrações dos metais quantificados nas amostras de água foram comparadas com a legislação brasileira, a Resolução CONAMA nº 430 de 2011 (CONAMA, 2011), do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) e que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais e determina as condições e padrões de lançamento de efluentes. Apesar do elutriato não estar enquadrado diretamente na Resolução CONAMA nº 430 de 2011, as concentrações nesta matriz também foram comparadas com esta resolução.

### 2.4 Teste do *Allium cepa* L.

Para realização do bioensaio, trinta sementes de *Allium cepa* da variedade Baia Periforme, marca TOPSEED, de mesmo lote, foram expostas à germinação em placas de Petri, em cinco repetições por tratamento. As sementes foram expostas a 4 mL de

amostras de água e de elutriato, correspondentes a cada uma das estações amostrais (Tabela 1) e aos controles negativo (água destilada) e positivo (solução de Trifuralina 0,84 g.L<sup>-1</sup>). As sementes ficaram expostas para a germinação em tratamento contínuo por 120h a 24°C. Após esse período o número de sementes germinadas foi contabilizado e as radículas foram medidas com auxílio de paquímetro. Posteriormente as radículas foram fixadas em solução Carnoy acético (3 etanol:1 ácido acético v/v) até a montagem das lâminas. A porcentagem de sementes germinadas (em %) por placa foi utilizada para obter o Índice de Germinação (IG) e a média do crescimento das radículas (em milímetros) por placa, foi utilizada para obter o Índice de Crescimento Radicular (CR).

Para a coloração da região meristemática da raiz e montagem das lâminas, as radículas foram lavadas em água destilada após a fixação e coradas pelo método de Feulgen (MELLO; VIDAL, 1978) e submetidas à hidrólise em HCl 1M a 60°C em banho-maria por onze minutos. Após esse período, foram lavadas novamente com água destilada e imersas em Reativo de Schiff, na ausência de luz, por duas horas. A confecção das lâminas foi realizada pelo método de esmagamento suave do meristema, e as lamínulas foram destacadas em nitrogênio líquido. A fixação permanente das lâminas foi realizada com bálsamo do Canadá. A análise das lâminas foi realizada no microscópio de luz (Nikon E200), sendo analisadas cinco mil células por tratamento. Foram registradas as fases do ciclo celular e aberrações cromossômicas para os cálculos de Índice Mitótico (IM), Índice de Aberrações Cromossômicas (AC) e Índice de Mutagenicidade (IMUT), como descrito por (LEME; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008).

A avaliação do potencial citotóxico das amostras foi obtida pelo IM, dado pela razão do número total de células em divisão pelo número total de células analisadas. Para avaliação do potencial genotóxico, foi calculado o AC, considerando frequência das aberrações cromossômicas observadas durante o ciclo de divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase), como aderência cromossômica, C-metáfase, anáfase multipolar, quebra cromossômica, perda cromossômica, e poliploidia. Dessa forma, o índice foi calculado pela razão do número total de células com aberrações cromossômicas, pelo total de células analisadas. Com relação ao potencial mutagênico das amostras, foi considerada a presença de micronúcleos durante o ciclo celular e intérfase. Assim, o IMUT se deu pela razão entre o número total de células com a presença de micronúcleos, pelo total de células analisadas.

### 2.5 Análises estatísticas

A análise da distribuição normal dos dados de metais e índices do ensaio do *A. cepa* foi realizada pelo teste de Shapiro-Wilk e, então, o teste de Kruskal-Wallis (significância  $p < 0,05$ ) utilizando o *software* Infostat, sendo expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Os dados de comparação entre as duas campanhas foram testados com o teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn ( $p < 0,05$ ), realizado pelo *software* GraphPad Prism (versão de teste). A correlação de Pearson foi realizada pelo *software* Minitab® (versão de teste) a partir dos valores de metais quantificados e dos índices obtidos pelo teste do *A. cepa*, em que foi determinado o coeficiente de correlação ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Parâmetros físico-químicos

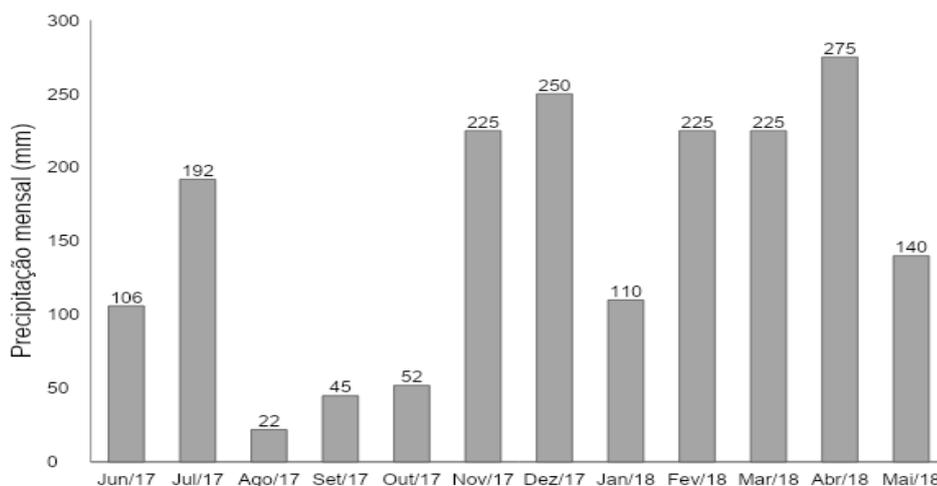
Os dados de pluviosidade (Figura 3) foram obtidos pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural - INCAPER – e são referentes aos anos de 2017 e 2018 (INCAPER, 2018). A primeira amostragem ocorreu no final do mês de agosto de 2017, ainda durante o inverno e nesse período foram observados 22 mm de precipitação acumuladas no mês, o que indica período de baixa pluviosidade. A segunda amostragem ocorreu no mês de março de 2018, quando foi observada precipitação acumulada de 225 mm durante todo o mês, indicando período chuvoso na região. Gardiman Junior e Simoura (2016) relatam que a região da bacia do rio Jucu se enquadra no clima tropical úmido (Aw), de acordo com a classificação climática de Köppen, com período de alta pluviosidade de outubro a março, com intensificação no verão. Nos últimos anos, mudanças climáticas têm influenciado diretamente sobre os regimes de chuva no Estado do Espírito Santo. Como resultado, têm-se rios como volumes muito baixos em alguns períodos, como foi verificado no ano 2016 nos rios Jucu e Santa Maria da Vitória, principais mananciais que abastecem a Grande Vitória (CESAN, 2016; FIGUEIREDO, 2016; PAULA, 2016).

Em relação aos parâmetros físicos e químicos (Tabela 1), foi observado que os níveis nitrogênio amoniacal na estação EAS3 (6,8 mg.L<sup>-1</sup>). Na primeira amostragem estes índices estavam acima do limite permitido pela legislação (2,0 mg.L<sup>-1</sup> – águas com pH entre 7,5 a 8) e também os valores de turbidez estavam elevados durante a segunda amostragem, onde apresentou valores acima do permitido (até 100,0 NTU)

nas estações EAJ (154,0 NTU), EAN2 (105,0 NTU) e EAS3 (120,0 NTU). A turbidez é utilizada como um fator para a determinação da qualidade da água e geralmente está associada à ocupação e ao uso do solo (Figura 2), como agricultura, lançamento de efluentes domésticos e processos de erosão (ESTEVES, 2011). A estação EAN2 e EAS3 estão localizadas após os trechos urbanos e locais de intensa agricultura onde recebem aporte de efluentes domésticos sem tratamento (GARDIMAN JUNIOR, 2015) e a estação EAJ está localizada após a confluência dos dois braços, fator que também pode ter influenciado os níveis de turbidez observados.

O valor de turbidez e nitrogênio encontrados provavelmente foram influenciados pela alta pluviosidade na região no período em que foi realizada a coleta (março de 2018 – 225 mm). Nesses períodos de alta precipitação, os processos de lixiviação e erosão também são intensificados e podem carrear sedimento, matéria orgânica e outros detritos para dentro dos corpos hídricos (ESTEVES, 2011). Foi relatado por Gardiman Junior e Simoura (2016) que a ocupação do solo na região da bacia do rio Jucu por culturas de banana e café influenciou diretamente no aporte de nutrientes e agrotóxicos para dentro do rio Jucu devido a processos de lixiviação que foram intensificados nos períodos chuvosos, o que corrobora os resultados observados em nosso estudo.

Figura 3 – Precipitação média mensal acumulada na região da bacia hidrográfica do rio Jucu/ES, nos anos de 2017 e 2018.



Fonte: elaborada pelo autor com base nos dados coletados pelo Instituto Capixaba de Pesquisa e Assistência Técnica e Rural - INCAPER (INCAPER, 2018).

Tabela 1 – Parâmetros físico-químicos da água nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES.

	Hora	T (°C) amostra	OD (mg.L <sup>-1</sup> )	CE (µS.cm <sup>-1</sup> )	pH	Turbidez (UNT)	NTK (mg.L <sup>-1</sup> )	Salinidade (mg.L <sup>-1</sup> )	ST (mg.L <sup>-1</sup> )	SDT (mg.L <sup>-1</sup> )	
Primeira amostragem											
	EAN1	14:37	23,8	11,66	45,5	7,71	6,3	0,71	0	1955,56	26
	EAN2	11:20	22,8	12,96	48,5	7,65	3,6	1,51	0	1173,32	164,44
	EAS1	15:43	21	11,86	51,5	7,64	7,4	0,1	0	103,35	28,5
	EAS2	16:30	21,1	13,52	62	7,91	16,7	1,56	0	135,55	35,5
	EAS3	12:20	23	13,19	57,5	7,69	5,01	2,07	0	970,05	26
	EAJ	09:18	21,3	11,04	68,5	6,97	4,5	1,31	0	119,88	38,5
Segunda amostragem											
	EAN1	11:50	26,6	14,39	45	7,18	82,5	0,05	0	160	22
	EAN2	09:30	26	10,79	51	7	105	0,2	0	117,78	26
	EAS1	12:45	26,1	10,58	45	7,03	86,6	0,05	0	148,89	23
	EAS2	13:20	27,1	10,13	48	6,8	85,3	0,2	0	117,78	24
	EAS3	10:00	25,9	12,2	46	6,95	120	0,08	0	133,33	23
	EAJ	08:20	24,7	11,26	64	6,17	154	0,5	0	153,33	32
<b>CONAMA</b>											
	430/11	-	-	> 5	-	6 a 9	< 100	3,7 pH < 7,5   2,0 pH 7,5 a 8	< 5 ng.L <sup>-1</sup>	-	< 500
	classe II										

T = temperatura, OD = Oxigênio dissolvido, CE = Condutividade elétrica, NTK = nitrogênio Total Kjeldahl, ST = sólidos totais, SDT = Sólidos dissolvidos totais

### 3.2 Quantificação de metais

Os dados de quantificação de metais das amostras de água (Tabela 2) e elutriato (Tabela 3), indicam que todas as estações amostrais apresentam elementos com concentrações acima dos valores permitidos pela legislação CONAMA 430/2011.

Nas amostras de água da primeira amostragem, as concentrações de Fe ( $1,4749 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e Mn ( $0,2474 \text{ mg.L}^{-1}$ ) na estação EAJ estavam mais elevadas que nas demais estações amostrais e estava acima do permitido pela legislação, que é de  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectivamente. As concentrações de Al estavam mais elevadas em EAJ, EAS1 e em EAS2, quando comparadas às demais estações amostrais. Para estes elementos, os menores valores foram observados em EAN2. O Cr estava abaixo do limite de quantificação (LQ) nas duas amostragens de água. Nas amostras de elutriato da primeira coleta, foi observado que as concentrações dos elementos Al, Fe e Mn estavam acima do limite permitido pela legislação em todas as estações, e o elemento Cu na estação EAN1. Os elementos Al e Fe estavam mais elevados em EAJ, e o Mn e o Cu estavam mais elevados na estação EAN1, sendo o Mn até onze vezes mais alto que o estabelecido pela legislação. Os elementos Cu em EAS1 e Co, Cr, Ni e Pb em todas as outras estações estavam em concentrações abaixo do LQ.

A segunda amostragem de água apresentou valores de Al, Cu, Fe e Mn acima do permitido pela legislação. A estação EAJ apresentou a maior concentração de Al (EAJ –  $1,6335 \text{ mg.L}^{-1}$ ), sendo que o permitido pela legislação é de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ . A concentração do elemento Cu em todas as estações amostrais (EAN1 –  $49,542 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ; EAN2 –  $42,388 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ; EAS1 –  $59,159 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ; EAS2 –  $78,913 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ; EAS3 –  $51,217 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  e EAJ –  $58,115 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ) também se encontrava extremamente elevada em relação à concentração estabelecida pela legislação, que é de  $9 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ . Em comparação à primeira campanha, nas amostras da segunda coleta, foram observadas as maiores concentrações dos elementos, exceto para Co, Mn, Ni e Zn. As amostras da segunda coleta de elutriato apresentaram concentrações alarmantes, visto que todas as estações amostrais apresentaram concentrações acima do permitido para os metais Al, Cu, Fe, Mn, Ni e Pb, sendo os maiores valores observados na estação EAJ, EAS1 e EAS2. As concentrações de Al variaram de  $26,264 \text{ mg.L}^{-1}$  (EAN2) a  $589 \text{ mg.L}^{-1}$  (EAJ), sendo que o limite estabelecido pela legislação é de  $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ . As concentrações de Fe variaram de  $13,264 \text{ mg.L}^{-1}$  (EAN2) a  $368 \text{ mg.L}^{-1}$  (EAJ), onde a concentração máxima permitida para o Fe é de  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ .

Além disso, também foram encontrados valores acima do permitido de Cd e Cr em todas as estações amostrais, exceto nas estações EAN2 e EAS3. As concentrações de Zn estavam elevadas nas estações EAJ e EAS2 e o Co estava duas vezes mais alto em EAJ. As estações EAN2 e EAS3 apresentaram valores de Co abaixo do LQ.

As concentrações de Al, Fe e Mn na primeira amostragem de água e de Al, Fe, Mn e Cu na segunda amostragem e as amostras de elutriado da segunda campanha apresentaram concentrações em diversos metais, como Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn Ni, Pb e Zn, com concentrações muito superiores aos limites estabelecidos pela legislação.

A bacia hidrográfica do rio Jucu é formada por solos latossolo vermelho-amarelo e cambissolo, que possuem altas concentrações de Al e Fe em sua composição (IEMA, 2016). Alguns fatores ambientais podem influenciar diretamente na biodisponibilidade de metais na água, como o pH, a matéria orgânica e processos de lixiviação e erosão. Duarte (2017) realizou um estudo em uma bacia próxima a do rio Jucu, com características pedológicas semelhantes e observou concentrações de Al e Cu elevadas nas amostras coletadas em período de intensa pluviosidade.

A biodisponibilidade de alguns metais como o Al, Cu, Fe, Mn e Zn, por exemplo, é observada em águas com pH inferior a 7 (NGUYEN *et al.*, 2020) e pode justificar as concentrações desses metais nas amostras. Além disso, o uso e a ocupação do solo da bacia podem ter relação direta com a presença e contaminantes, pois como relatado por Gardiman Junior e Simoura (2016), há intensa prática de agricultura na região da bacia, que pode intensificar a contaminação do solo por resíduos provenientes de fertilizantes e defensivos agrícolas utilizados nessas culturas, bem como o aporte de efluentes domésticos sem tratamento no leito do rio.

O'Geen *et al.* (2010) relatam que a contaminação do solo por metais como Cd, Ni, Pb e Zn se dá principalmente pela prática e uso de fertilizantes à base de fósforo (P) usados em lavouras agrícolas. O aumento das concentrações de Cu nas amostras de água e elutriado da segunda campanha, bem como outros metais, pode estar relacionado aos processos de lixiviação e erosão que são intensificados nos períodos de alta pluviosidade (CETESB, 2013). Segundo Bui *et al.* (2016), fungicidas e herbicidas possuem Cu na sua composição e são fonte de contaminação do ambiente. Alguns elementos como Mn, Zn e Ni foram observados em concentrações mais elevadas nos sedimentos do rio Bento Gomes, em Paconé – MT, Brasil, por Coringa *et al.* (2016).

Tabela 2 – Quantificação de metais na 1ª e 2ª amostragens de água ao longo do rio Jucu/ES e suas respectivas médias e desvios-padrões relativos (RSD).

	1ª Amostragem					2ª Amostragem					LQ	CONAMA 430/11 – Classe II		
	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3			EAJ	
<b>Al (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	0,320 <sup>bc</sup>	0,274 <sup>ae</sup>	0,424 <sup>c</sup>	0,391 <sup>bc</sup>	0,306 <sup>ab</sup>	0,309 <sup>ab</sup>	1,116 <sup>ab</sup>	1,256 <sup>cd</sup>	1,103 <sup>a</sup>	1,153 <sup>abc</sup>	1,232 <sup>bcd</sup>	1,633 <sup>d</sup>	0,01	0,1
<b>RSD (%)</b>	0,5144	2,264	1,495	0,973	1,1093	0,4397	0,932	0,6578	0,3543	0,8084	0,4263	0,7137		
<b>Cd (µg.L<sup>-1</sup>)</b>	0,235 <sup>bc</sup>	0,313 <sup>c</sup>	0,252 <sup>bc</sup>	0,165 <sup>ab</sup>	0,172 <sup>ab</sup>	0,091 <sup>a</sup>	0,061 <sup>abc</sup>	0,114 <sup>c</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,046 <sup>ab</sup>	0,071 <sup>bc</sup>	0,114 <sup>c</sup>	6,39x10 <sup>-5</sup>	1
<b>RSD (%)</b>	1,9	2	3,4	2	5,7	9,4	2,9	0,7	8,2	3,9	1,8	4,5		
<b>Co (µg.L<sup>-1</sup>)</b>	1,758 <sup>cd</sup>	1,961 <sup>d</sup>	1,144 <sup>abc</sup>	1,04 <sup>a</sup>	1,051 <sup>ab</sup>	1,41 <sup>a</sup>	0,245 <sup>abc</sup>	0,139 <sup>a</sup>	0,215 <sup>ab</sup>	0,469 <sup>cd</sup>	0,267 <sup>bcd</sup>	0,62 <sup>d</sup>	3,14x10 <sup>-4</sup>	50
<b>RSD (%)</b>	1,9	0,9	1,3	0,4	0,4	1,4	2,6	1,7	1	0	0,2	1,4		
<b>Cr (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	<0,010 <sup>ae</sup>	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	0,01	0,05					
<b>RSD (%)</b>	10,863	23,709	5,924	15,013	8,209	12,888	0,014	0,007	0,011	0,01	0,009	0,009		
<b>Cu (µg.L<sup>-1</sup>)</b>	2,086 <sup>abc</sup>	2,082 <sup>ab</sup>	2,446 <sup>c</sup>	2,222 <sup>bc</sup>	2,069 <sup>ab</sup>	1,709 <sup>a</sup>	49,542 <sup>ab</sup>	42,388 <sup>a</sup>	59,159 <sup>bc</sup>	78,913 <sup>c</sup>	51,217 <sup>ab</sup>	58,115 <sup>bc</sup>	6,48x10 <sup>-4</sup>	9
<b>RSD (%)</b>	2,5	1,7	0,5	0,5	2	0,7	2,8	1,4	1	0,5	0,9	1,1		
<b>Fe (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	0,605 <sup>ab</sup>	0,467 <sup>a</sup>	0,801 <sup>bcd</sup>	0,912 <sup>cd</sup>	0,627 <sup>ab</sup>	1,475 <sup>d</sup>	1,731 <sup>c</sup>	1,452 <sup>a</sup>	1,550 <sup>abc</sup>	1,613 <sup>bc</sup>	1,473 <sup>ab</sup>	1,724 <sup>c</sup>	0,01	0,3
<b>RSD (%)</b>	0,7694	0,3652	0,7518	0,3991	0,9936	0,6828	0,5042	0,6293	0,4531	0,9789	0,4569	0,312		
<b>Mg (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	10,063 <sup>a</sup>	10,426 <sup>ab</sup>	10,896 <sup>cd</sup>	12,439 <sup>d</sup>	10,567 <sup>a</sup>	10,680 <sup>bcd</sup>	4,209 <sup>a</sup>	5,718 <sup>d</sup>	0,118 <sup>bcd</sup>	0,123 <sup>bcd</sup>	4,581 <sup>abc</sup>	4,342 <sup>ab</sup>	0,1	-
<b>RSD (%)</b>	0,4438	0,9691	0,5907	0,6667	0,1746	0,4956	3,7271	1,5131	0,0179	0,0259	4,6634	2,1172		
<b>Mn (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	0,169 <sup>ab</sup>	0,160 <sup>a</sup>	0,229 <sup>bcd</sup>	0,228 <sup>cd</sup>	0,182 <sup>1a</sup>	0,247 <sup>d</sup>	0,118 <sup>a</sup>	0,120 <sup>ab</sup>	0,123 <sup>abc</sup>	0,131 <sup>c</sup>	0,118 <sup>a</sup>	0,126 <sup>bc</sup>	0,01	0,1
<b>RSD (%)</b>	0,0714	0,5458	0,7556	0,4055	0,3315	0,7734	0,0179	0,0439	0,0259	0,0761	0,0203	0,0289		
<b>Ni (µg.L<sup>-1</sup>)</b>	2,199 <sup>cd</sup>	2,281 <sup>d</sup>	2,152 <sup>bcd</sup>	2,115 <sup>abc</sup>	2,002 <sup>ab</sup>	1,829 <sup>a</sup>	0,642 <sup>ab</sup>	0,543 <sup>ab</sup>	0,52 <sup>a</sup>	0,725 <sup>bc</sup>	0,721 <sup>bc</sup>	1,337 <sup>c</sup>	2,93x10 <sup>-4</sup>	25
<b>RSD (%)</b>	1,9	1,2	1,6	0,8	0,4	0,7	2	2,8	0,5	1,2	2	2,2		
<b>Pb (µg.L<sup>-1</sup>)</b>	0,448 <sup>ab</sup>	0,669 <sup>cd</sup>	1,085 <sup>d</sup>	0,566 <sup>bcd</sup>	0,416 <sup>a</sup>	0,464 <sup>abc</sup>	2,851 <sup>a</sup>	3,239 <sup>abc</sup>	3,598 <sup>cd</sup>	3,64 <sup>d</sup>	3,549 <sup>bcd</sup>	3,176 <sup>ab</sup>	1,47x10 <sup>-4</sup>	10
<b>RSD (%)</b>	0,4	1,5	1,3	0,9	0,7	0,4	2,2	0,7	1,2	1	0,7	1,6		
<b>Zn (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	0,060 <sup>a</sup>	0,037 <sup>ab</sup>	0,055 <sup>c</sup>	0,075 <sup>bc</sup>	0,0612 <sup>c</sup>	0,039 <sup>abc</sup>	0,057 <sup>d</sup>	0,021 <sup>cd</sup>	0,0188 <sup>ab</sup>	0,018 <sup>a</sup>	0,019 <sup>abc</sup>	0,020 <sup>bcd</sup>	0,01	0,18
<b>RSD (%)</b>	0,2824	0,5169	0,2862	0,145	0,9076	1,5729	0,0154	0,0169	0,0099	0,0088	0,008	0,0031		

As letras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis. LQ – Limite de quantificação.

Tabela 3 – Quantificação de metais da 1ª e 2ª amostragens de elutriado do rio Jucu/ES e suas respectivas médias e desvios-padrões relativos.

	1ª Amostragem					2ª Amostragem					CONAMA 430/11 – Classe II			
	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAJ	EAN1	EAN2	EAS1	EAS2	EAS3	EAJ	LQ	
Al (mg.L <sup>-1</sup> )	1,995 <sup>ab</sup>	1,058 <sup>a</sup>	4,330 <sup>bcd</sup>	2,921 <sup>abc</sup>	4,964 <sup>cd</sup>	5,649 <sup>d</sup>	104,45 <sup>abc</sup>	23,264 <sup>7a</sup>	130,76 <sup>bcd</sup>	253,38 <sup>cd</sup>	35,544 <sup>ab</sup>	589,303 <sup>d</sup>	0,01	0,1
RSD (%)	0,1104	0,7098	0,4626	0,9254	0,1273	0,2965	0,227	0,1998	1,3437	0,2485	0,3425	5,569		
Cd (mg.L <sup>-1</sup> )	0,0001 <sup>a</sup>	0,0002 <sup>b</sup>	0,0002 <sup>ab</sup>	0,0002 <sup>ab</sup>	0,0001 <sup>a</sup>	0,0002 <sup>b</sup>	0,0012 <sup>ab</sup>	0,0005 <sup>a</sup>	0,0012 <sup>ab</sup>	0,0028 <sup>b</sup>	0,0007 <sup>a</sup>	0,0064 <sup>b</sup>	0,01	0,001
RSD (%)	47,258	25,9625	20,367	10,8253	55,546	17,5715	8,33	2,127	4,614	1,946	9,026	4,867		
Co (mg.L <sup>-1</sup> )	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,0174 <sup>ab</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,0241 <sup>abc</sup>	0,0396 <sup>bc</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,1027 <sup>c</sup>	0,01	0,05
RSD (%)	-	-	-	-	-	-	3,8718	-	7,3016	3,7057	-	5,9374		
Cr (mg.L <sup>-1</sup> )	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,0731 <sup>abc</sup>	0,0189 <sup>a</sup>	0,1126 <sup>bcd</sup>	0,1858 <sup>cd</sup>	0,0276 <sup>ab</sup>	0,4595 <sup>d</sup>	0,01	0,05
RSD (%)	-	-	-	-	-	-	2,0453	0,9337	5,946	1,0929	4,9598	2,5296		
Cu (mg.L <sup>-1</sup> )	0,012 <sup>c</sup>	0,0055 <sup>ab</sup>	0,0029 <sup>a</sup>	0,0056 <sup>ab</sup>	0,0084 <sup>bc</sup>	0,0062 <sup>abc</sup>	0,0128 <sup>a</sup>	0,0324 <sup>ab</sup>	0,0331 <sup>ab</sup>	0,0408 <sup>bc</sup>	0,3442 <sup>c</sup>	0,165 <sup>bc</sup>	0,001	0,009
RSD (%)	13,05	20,72	10,1	10,951	9,535	62,63	6,5221	3,5457	12,659	5,881	13,456	2,3967		
Fe (mg.L <sup>-1</sup> )	6,237 <sup>ab</sup>	1,8076 <sup>a</sup>	9,7176 <sup>cd</sup>	6,7925 <sup>abc</sup>	8,05 <sup>bcd</sup>	10,723 <sup>d</sup>	52,215 <sup>abc</sup>	13,264 <sup>7a</sup>	85,645 <sup>bcd</sup>	149,21 <sup>cd</sup>	21,347 <sup>ab</sup>	368,91 <sup>d</sup>	0,01	0,3
RSD (%)	0,3394	0,3508	0,4197	0,1866	0,3345	0,4623	0,3637	0,6507	3,5611	0,6239	0,3385	0,2591		
Mg (mg.L <sup>-1</sup> )	4,797 <sup>ab</sup>	6,165 <sup>d</sup>	4,747 <sup>a</sup>	5,7755 <sup>cd</sup>	5,66 <sup>bcd</sup>	5,3256 <sup>abc</sup>	1,4104 <sup>a</sup>	1,8088 <sup>abc</sup>	1,6624 <sup>ab</sup>	1,9777 <sup>bc</sup>	0,7349 <sup>a</sup>	7,0285 <sup>c</sup>	0,1	-
RSD (%)	0,992	0,5451	0,1783	0,4271	1,2734	2,8704	8,9347	2,9584	11,12	3,3503	13,966	2,8807		
Mn (mg.L <sup>-1</sup> )	1,1351 <sup>d</sup>	0,2691 <sup>a</sup>	0,6975 <sup>abc</sup>	0,2762 <sup>ab</sup>	0,7435 <sup>bcd</sup>	0,7652 <sup>cd</sup>	0,4818 <sup>bcd</sup>	0,1383 <sup>a</sup>	0,4234 <sup>abc</sup>	0,762 <sup>cd</sup>	0,2482 <sup>ab</sup>	2,1354 <sup>d</sup>	0,01	0,1
RSD (%)	0,4027	0,4467	0,3134	0,4416	0,3228	0,0484	1,5606	1,5019	4,8537	0,9323	0,8732	0,8461		
Ni (mg.L <sup>-1</sup> )	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,0405 <sup>abc</sup>	0,0106 <sup>a</sup>	0,0433 <sup>bcd</sup>	0,0623 <sup>cd</sup>	0,0149 <sup>ab</sup>	0,2268 <sup>d</sup>	0,01	0,025
RSD (%)	-	-	-	-	-	-	5,4912	4,6232	6,0895	1,0166	11,309	5,7322		
Pb (mg.L <sup>-1</sup> )	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	>LQ <sup>a</sup>	0,2903 <sup>ab</sup>	0,0686 <sup>a</sup>	0,32 <sup>ab</sup>	0,4915 <sup>b</sup>	0,0946 <sup>a</sup>	1,4636 <sup>b</sup>	0,01	0,01
RSD (%)	-	-	-	-	-	-	10,487	0,2735	0,8178	0,2951	9,1718	6,13		
Zn (mg.L <sup>-1</sup> )	0,0211 <sup>a</sup>	0,0274 <sup>abc</sup>	0,023 <sup>ab</sup>	0,0316 <sup>c</sup>	0,0316 <sup>c</sup>	0,0315 <sup>bc</sup>	0,1266 <sup>ab</sup>	0,0958 <sup>a</sup>	0,125 <sup>ab</sup>	0,2301 <sup>b</sup>	0,0811 <sup>a</sup>	0,4947 <sup>b</sup>	0,01	0,18
RSD (%)	0,549	0,5732	0,0907	0,6402	0,287	0,2953	12,775	0,231	0,3946	0,4756	8,2917	3,4646		

As letras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis. \*LQ - limites de detecção.

### 3.3 Bioensaios em *Allium cepa* L.

A Tabela 4 apresenta as médias e os desvios-padrões dos índices obtidos pelos bioensaios com *A. cepa*. As análises macroscópicas foram obtidas pelo Índice de Germinação (IG) e Índice de Crescimento Radicular (CR), e as microscópicas foram obtidas pelo Índice Mitótico (IM), Índice de Aberrações Cromossômicas (AC) e Índice de Mutagenicidade (IMUT).

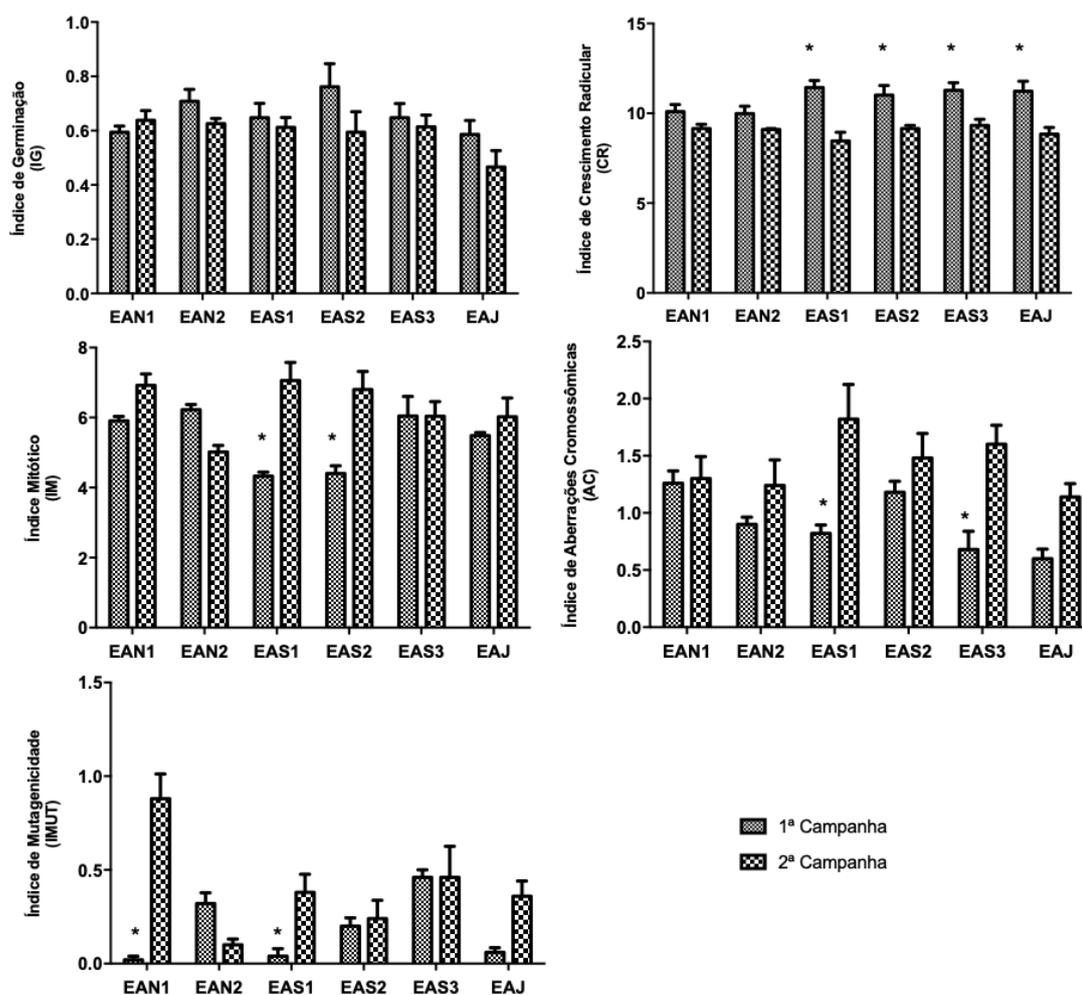
Ao avaliar os dados do IG (Tabela 4), nenhuma das amostras foi significativamente diferente do controle negativo (CN).

Em relação ao CR, foi observada uma redução significativa do CR (Tabela 4) nas estações EAN1 ( $10,1 \pm 0,88$  mm) e EAN2 ( $9,98 \pm 0,92$  mm) das amostras de água da primeira campanha e em todas as amostras da segunda campanha, além das amostras de elutriato em EAN1 ( $9,35 \pm 0,97$  mm), EAS2 ( $9,99 \pm 1,62$  mm), EAS3 ( $10,2 \pm 1,13$  mm) e EAJ ( $9,79 \pm 0,87$  mm), de segunda amostragem, quando comparadas ao CN ( $12,52 \pm 1,05$  mm). O comparativo do CR entre as campanhas (Figura 4 e 5) apresentou uma redução significativa nas amostras de água das estações EAN1, EAS1, EAS3 e EAJ e em EAS1 nas amostras de elutriato na segunda amostragem (estação chuvosa).

Com base nesses resultados, pode-se observar que o efeito fitotóxico das amostras do presente estudo foi mais severo no processo de desenvolvimento e crescimento das radículas que na germinação. Resultados similares aos nossos foram observados por Galter *et al.* (2021), em que não observaram diferenças significativas no índice de germinação de sementes de *A. cepa* expostas às de amostras de água do rio Itapemirim-ES, mas observaram o efeito fitotóxicos no comprimento das radículas, principalmente no período de alta pluviosidade. Os autores ainda relacionaram a fitotoxicidade observada com a presença de Al nas amostras do rio. Em nosso trabalho, as concentrações de Al também estavam acima do estabelecido pela legislação em todas as amostras de água e elutriato, bem como a de outros metais como Fe, Mn e Cu, principalmente na amostragem em período chuvoso.

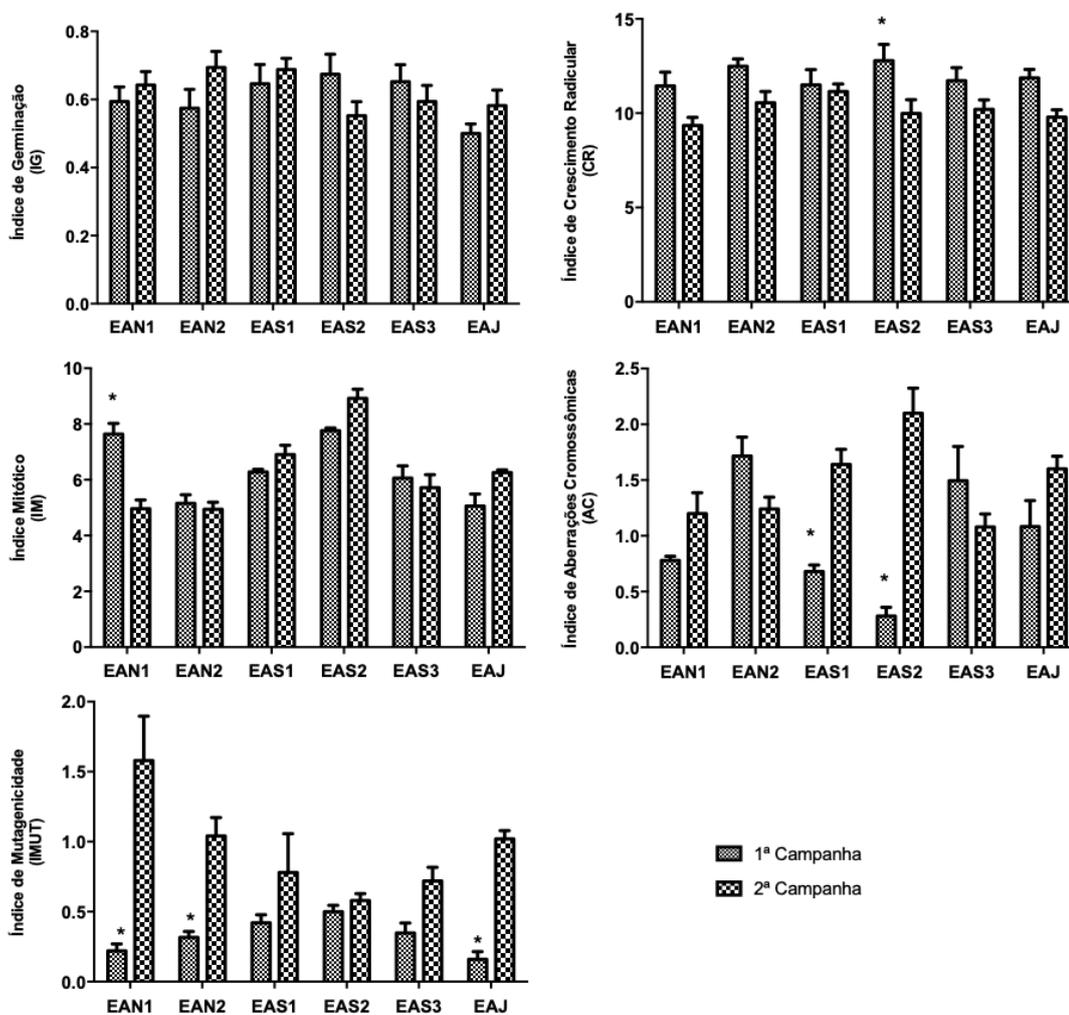
Os metais possuem reconhecido efeito tóxico em plantas (FAISAL *et al.*, 2020) e a inibição do crescimento da raiz é o primeiro efeito visível causado pela toxicidade de metais (MACAR *et al.*, 2020). Ao realizar a análise de correlação de Pearson entre os dados bióticos e os dados de quantificação de metais, foi observada correlação significativa do CR com os metais Co ( $r_p = -0.570$ ,  $p=0.014$ ) e Ni ( $r_p = -0.592$ ,  $p=0.010$ )

Figura 4 – Comparação dos índices entre as campanhas de coleta em espécimes de *Allium cepa* L. submetidas às amostras de água do rio Jucu. Colunas de uma mesma estação amostral com asteriscos (\*) apresentam resultados significativos entre as campanhas.



Fonte: elaborada pelo autor, 2021.

Figura 5 – Comparação dos índices entre as campanhas de coleta em espécimes de *Allium cepa* L. submetidas às amostras de elutriato do rio Jucu. Colunas de uma mesma estação amostral com asteriscos (\*) apresentam resultados significativos entre as campanhas.



Fonte: elaborada pelo autor, 2021.

Tabela 4 - Avaliação citogenética em radículas de radículas de *Allium cepa* L. após exposição às amostras de água e elutriato coletadas nas diferentes estações amostrais ao longo do rio Jucu/ES nas duas amostragens e aos controles negativo (água destilada) e positivo (Trifuralina 0,84 g.L<sup>-1</sup>).

Água							Elutriato						
	IG	CR	IM	AC	IMUT		IG	CR	IM	AC	IMUT		
<b>Primeira Amostragem</b>													
EAN1	0,59±0,05 <sup>a</sup>	10,1±0,89 <sup>ab</sup>	5,9±0,28 <sup>bc</sup>	1,26±0,24 <sup>a</sup>	0,02±0,04 <sup>ab</sup>	0,59±0,1 <sup>a</sup>	11,44±1,63	7,64±0,85 <sup>cd</sup>	0,78±0,08 <sup>bc</sup>	0,22±0,11 <sup>abc</sup>			
EAN2	0,71±0,1 <sup>a</sup>	9,98±0,92 <sup>ab</sup>	6,22±0,33 <sup>bc</sup>	0,9±0,14 <sup>bcd</sup>	0,32±0,13 <sup>cde</sup>	0,57±0,12 <sup>a</sup>	12,49±0,86	5,15±0,69 <sup>a</sup>	1,72±0,38 <sup>d</sup>	0,32±0,1 <sup>bcd</sup>			
EAS1	0,65±0,12 <sup>a</sup>	11,44±0,86 <sup>bc</sup>	4,32±0,26 <sup>a</sup>	0,82±0,16 <sup>bcd</sup>	0,04±0,09 <sup>ab</sup>	0,65±0,13 <sup>a</sup>	11,5±1,8	6,28±0,22 <sup>abc</sup>	0,68±0,13 <sup>abc</sup>	0,42±0,13 <sup>cde</sup>			
EAS2	0,76±0,19 <sup>a</sup>	11,01±1,2 <sup>abc</sup>	4,4±0,48 <sup>a</sup>	1,18±0,22 <sup>de</sup>	0,2±0,1 <sup>bcd</sup>	0,67±0,13 <sup>a</sup>	12,78±1,94	7,76±0,22 <sup>d</sup>	0,28±0,18 <sup>ab</sup>	0,5±0,1 <sup>de</sup>			
EAS3	0,65±0,12 <sup>a</sup>	11,28±0,94 <sup>bc</sup>	6,04±1,25 <sup>bc</sup>	0,68±0,36 <sup>abc</sup>	0,46±0,09 <sup>de</sup>	0,65±0,11 <sup>a</sup>	11,72±1,54	6,06±0,98 <sup>ab</sup>	1,5±0,69 <sup>cd</sup>	0,35±0,16 <sup>bcd</sup>			
EAJ	0,59±0,11 <sup>a</sup>	11,23±1,24 <sup>abc</sup>	5,48±0,19 <sup>ab</sup>	0,6±0,19 <sup>ab</sup>	0,06±0,05 <sup>abc</sup>	0,5±0,06 <sup>a</sup>	11,87±1	5,06±0,96 <sup>a</sup>	1,08±0,52 <sup>cd</sup>	0,16±0,12 <sup>ab</sup>			
CN	0,66±0,04 <sup>a</sup>	12,52±1,05 <sup>c</sup>	6,98±0,39 <sup>c</sup>	0,22±0,04 <sup>a</sup>	0±0 <sup>a</sup>	0,66±0,04 <sup>a</sup>	12,52±1,05	6,98±0,39 <sup>bcd</sup>	0,22±0,04 <sup>a</sup>	0±0 <sup>a</sup>			
CP	0,58±0,08 <sup>a</sup>	8,87±2,36 <sup>a</sup>	5,58±0,31 <sup>ab</sup>	1,06±0,18 <sup>cde</sup>	0,84±0,21 <sup>e</sup>	0,58±0,08 <sup>a</sup>	8,87±2,36	5,58±0,31 <sup>a</sup>	1,06±0,18 <sup>cd</sup>	0,84±0,21 <sup>e</sup>			
<b>Segunda Amostragem</b>													
EAN1	0,64±0,08 <sup>a</sup>	9,15±0,53 <sup>a</sup>	6,92±0,73 <sup>bc</sup>	1,3±0,43 <sup>b</sup>	0,88±0,29 <sup>c</sup>	0,64±0,09 <sup>a</sup>	9,35±0,97 <sup>a</sup>	4,96±0,71 <sup>ab</sup>	1,2±0,42 <sup>bc</sup>	1,58±0,71 <sup>d</sup>			
EAN2	0,63±0,04 <sup>a</sup>	9,1±0,11 <sup>a</sup>	5,02±0,41 <sup>a</sup>	1,24±0,5 <sup>b</sup>	0,1±0,07 <sup>ab</sup>	0,69±0,1 <sup>a</sup>	10,55±1,33 <sup>abc</sup>	4,94±0,56 <sup>a</sup>	1,24±0,24 <sup>bc</sup>	1,04±0,3 <sup>cd</sup>			
EAS1	0,61±0,08 <sup>a</sup>	8,47±1,07 <sup>a</sup>	7,06±1,15 <sup>c</sup>	1,82±0,68 <sup>b</sup>	0,38±0,22 <sup>bc</sup>	0,69±0,07 <sup>a</sup>	11,15±0,9 <sup>bc</sup>	6,9±0,76 <sup>cde</sup>	1,64±0,3 <sup>cd</sup>	0,78±0,62 <sup>bc</sup>			
EAS2	0,59±0,17 <sup>a</sup>	9,15±0,4 <sup>a</sup>	6,8±1,15 <sup>bc</sup>	1,48±0,48 <sup>b</sup>	0,24±0,22 <sup>ab</sup>	0,55±0,09 <sup>a</sup>	9,99±1,62 <sup>ab</sup>	8,92±0,73 <sup>e</sup>	2,1±0,5 <sup>d</sup>	0,58±0,11 <sup>ab</sup>			
EAS3	0,61±0,1 <sup>a</sup>	9,32±0,76 <sup>a</sup>	6,04±0,93 <sup>abc</sup>	1,6±0,37 <sup>b</sup>	0,46±0,37 <sup>bc</sup>	0,59±0,11 <sup>a</sup>	10,2±1,13 <sup>ab</sup>	5,72±1,04 <sup>abcd</sup>	1,08±0,26 <sup>abc</sup>	0,72±0,22 <sup>abc</sup>			
EAJ	0,47±0,13 <sup>a</sup>	8,84±0,83 <sup>a</sup>	6,02±1,2 <sup>abc</sup>	1,14±0,26 <sup>b</sup>	0,36±0,18 <sup>bc</sup>	0,58±0,1 <sup>a</sup>	9,79±0,87 <sup>ab</sup>	6,26±0,21 <sup>bcd</sup>	1,6±0,25 <sup>cd</sup>	1,02±0,13 <sup>cd</sup>			
CN	0,66±0,04 <sup>a</sup>	12,52±1,05 <sup>b</sup>	6,98±0,39 <sup>c</sup>	0,22±0,04 <sup>a</sup>	0±0 <sup>a</sup>	0,66±0,04 <sup>a</sup>	12,52±1,05 <sup>c</sup>	6,98±0,39 <sup>de</sup>	0,22±0,04 <sup>a</sup>	0±0 <sup>a</sup>			
CP	0,58±0,08 <sup>a</sup>	8,87±2,36 <sup>a</sup>	5,58±0,31 <sup>ab</sup>	1,06±0,18 <sup>ab</sup>	0,84±0,21 <sup>c</sup>	0,58±0,08 <sup>a</sup>	8,87±2,36 <sup>a</sup>	5,58±0,31 <sup>abc</sup>	1,06±0,18 <sup>ab</sup>	0,84±0,21 <sup>bcd</sup>			

Os valores estão expressos como média ± desvio padrão. As letras indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis. \*CN = Controle Negativo. CP = Controle Positivo. MI = índice mitótico. CA = índice de aberrações cromossômicas. IMUT = índice de mutagenicidade. GI = índice de germinação. CR = crescimento radicular.

somente na primeira amostragem de água.

Os efeitos da toxicidade do Co são diversos, podendo inibir a germinação e o crescimento radicular, induzir a ruptura da membrana celular, afetar o crescimento e a concentração de biomassa, causar danos à molécula de DNA e induzir a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) (FAISAL *et al.*, 2020).

Em estudos de Wa Lwalaba *et al.* (2017) com sementes de três genótipos de cevada expostas a diferentes dosagens de Co (25, 50, 75 e 100  $\mu\text{M}$  -  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ), os autores observaram que a toxicidade por Co pode inibir a germinação das sementes e limitar o crescimento da raiz, além de inibir a fotossíntese e aumentar a produção de ERO. Kalefetoğlu Macar *et al.* (2021) também encontraram resultados semelhantes em estudos de sementes de *A. cepa* expostas ao Co (5.5 ppm –  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ), em que foi relatada uma redução de 50% na germinação das sementes e de 75% no tamanho das raízes, quando comparadas ao controle negativo. Em nosso estudo observamos uma redução do CR entre 18% a 32% em relação ao CN, sendo em EAN (1ª amostragem de água) e EAS1 (2ª amostragem de água), respectivamente.

O Ni, apesar de ser encontrado naturalmente em diversas plantas e ser um micronutriente essencial para o seu desenvolvimento, é extremamente tóxico e pode causar efeitos deletérios na maioria das espécies de plantas, se estiver em altas concentrações (AHMAD; ASHRAF, 2011). O Ni pode interferir na absorção de alguns nutrientes minerais, como o Fe e Zn e ocasionar uma deficiência mineral às plantas (KAMRAN *et al.*, 2016; LÉON *et al.*, 2005), além de provocar alterações em enzimas responsáveis pela mobilização de reservas do endosperma (LÉON *et al.*, 2005). Ambos fatores importantes que afetam diretamente a germinação das sementes e o desenvolvimento da raiz. Maheshwari e Dubey (2008) estudaram o efeito de diferentes concentrações de Ni em sementes de arroz e observaram redução de 12 a 20% na germinação e redução de 20 a 53% do comprimento das radículas.

Em relação ao IM (Tabela 4), foi observada uma redução significativa em relação ao CN nas amostras de água da primeira campanha das estações EAS1 ( $4,32 \pm 0,26$ ), EAS2 ( $4,4 \pm 0,48$ ) e EAJ ( $5,48 \pm 0,19$ ) e na segunda campanha, em EAN2 ( $5,02 \pm 0,41$ ). As amostras de elutriato também apresentaram redução significativa nas estações EAN2 ( $5,15 \pm 0,69$ ) e EAJ ( $5,06 \pm 0,96$ ) na primeira amostragem e EAN1 ( $4,96 \pm 0,71$ ) e EAN2 ( $4,94 \pm 0,56$ ) na segunda amostragem. O resultado do IM comparado entre as campanhas apresentou uma redução significativa nas estações EAS1 e EAS2 nas amostras de água (Figura 4) no período de estiagem (primeira

amostragem) e uma redução do IM em EAN1 nas amostras de elutriato na estação chuvosa (segunda amostragem) (Figura 5).

A análise do IM vem sendo utilizada como parâmetro de qualidade de amostras analisadas, uma vez que o IM pode revelar a presença de contaminantes com potencial citotóxico na amostra (OGUNYEMI *et al.*, 2018; POHREN; COSTA; VARGAS, 2013). Em nosso trabalho, observamos correlação significativa entre o Índice Mitótico (IM) e alguns metais, como o Al ( $r_p = -0.870$ ,  $p=0.0001$ ), Co ( $r_p = 0.591$ ,  $p=0.010$ ), Cu ( $r_p = -0.512$ ,  $p=0.030$ ), Mg ( $r_p = -0.693$ ,  $p=0.001$ ), Mn ( $r_p = -0.538$ ,  $p=0.021$ ) e Pb ( $r_p = -0.523$ ,  $p=0.026$ ) durante a primeira campanha das amostras de água coletadas e Cd ( $r_p = -0.586$ ,  $p=0.011$ ) e Cu ( $r_p = 0.489$ ,  $p=0.039$ ) na segunda amostragem de água.

Fiskesjö (1988) realizou estudos sobre a toxicidade de metais em *A. cepa* e relatou que o Cu é um dos metais mais tóxicos dentre os metais analisados em sua pesquisa. Esse autor observou uma redução drástica do IM à medida em que aumentava a concentração de Cu das amostras. Resultados semelhantes também foram observados por Qin *et al.* (2015) em sementes de *A. cepa* expostas a soluções de Cu, o que corrobora nossos resultados em que observamos uma correlação negativa entre o IM e o metal Cu ( $r_p = -0.512$ ,  $p=0.030$ ).

Em contrapartida, também foi observada em nosso estudo uma correlação positiva significativa do IM com o Cu ( $r_p = 0.489$ ,  $p=0.039$ ) na segunda amostragem de água. A redução ou o aumento do IM pode ser reflexo de ações de pontos de checagem do ciclo celular. A célula possui mecanismos de controle durante o ciclo celular, chamados de pontos de checagem, como os pontos G1/S e G2, e durante os pontos de checagem, se perceberem algum dano no material genético e/ou distúrbios durante o ciclo celular, a síntese de DNA por ser inibida e/ou o ciclo celular ser interrompido (ALBERTS *et al.*, 2017). Caso ocorra alguma alteração nesses pontos de checagem do ciclo celular, pode ocorrer uma proliferação celular desordenada e, por consequência, pode também aumentar a frequência de aberrações cromossômicas (ARAGÃO *et al.*, 2015; FENECH *et al.*, 2003).

O Cd e Pb são considerados metais não essenciais e podem ser considerados tóxicos mesmo em pequenas quantidades (GALTER *et al.* 2021; FAISAL *et al.*, 2020). O Cd é absorvido pela membrana plasmática das células da raiz devido à sua alta solubilidade em água e no interior das células, podendo induzir a fragmentação da cromatina, a morte celular e causar alterações no nucléolo (AHMAD; ASHRAF, 2011).

Além disso, o Cd pode estar envolvido em processos de inibição da germinação, pela acumulação de produtos da peroxidação lipídica (FAISAL *et al.*, 2020). O Pb pode afetar a atividade de peroxidases e polifenoloxidasas, e também pode reduzir o crescimento da raiz e causar irregularidades no ciclo celular, induzindo a formação de c-metáfases, pontes e aderências cromossômicas, além da formação de MN em *A. cepa* (ANDRADE; CAMPOS; DAVIDE, 2008).

Duarte *et al.* (2017a) realizaram estudos em sementes de *A. cepa* expostas a amostras de água da lagoa Juara, no Espírito Santo/Brasil, e relacionaram os potenciais citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos dos metais Al e Cd presentes nas amostras coletadas. Rodrigues *et al.* (2013) relacionaram o efeito citotóxico de amostra de água e sedimento de um rio urbano ao Cd e Pb presentes nas amostras e Pereira *et al.* (2013) também relataram os efeitos do Pb na inibição da divisão celular e aumento de aberrações cromossômicas em *L. sativa*.

O Al também tem forte relação com a inibição do ciclo celular em *A. cepa*, como relatado por Fiskesjö (1988), Campos e Viccini (2003), Palmieri *et al.* (2016) e Duarte *et al.* (2017b). O Al tende a se acumular na zona de transição entre a região meristemática da raiz e a zona de alongamento celular e afeta diretamente a divisão e o alongamento celular nessas áreas (AMENÓS *et al.*, 2009; GEREMIAS *et al.*, 2012). Palmieri *et al.* (2016) observaram resultados semelhantes em raízes de *A. cepa* expostos a amostras de resíduo da indústria de fundição de Al primário não tratadas, em que houve uma redução de 28% no IM em relação ao CN de raízes de *A. cepa* expostas às amostras contendo alumínio ( $0,0046 \text{ g.L}^{-1}$ ). Resultado semelhante foi encontrado neste presente estudo, onde foi observada uma redução do IM em 36% e 38% nas amostras de água da primeira campanha das estações EAS1 e EAS, respectivamente. Também foi observada uma correlação muito forte entre o Al e o IM em nosso estudo, que pode estar relacionada às concentrações elevadas de Al em todas as amostras coletadas.

Em relação ao Mn, estudos revelam que a contaminação por Mn pode provocar efeitos citotóxicos e genotóxicos em células meristemáticas de *A. cepa* (CHANDRA *et al.*, 2005; FISKESJÖ, 1988; SALLES *et al.*, 2016). Embora em nosso estudo observamos uma correlação positiva do IM e o Co, diversos estudos relatam o efeito inibitório do Co no ciclo celular e indução de efeito genotóxico, mutagênico (MACAR *et al.*, 2020; YILDIZ *et al.*, 2009). Kalefetoğlu Macar *et al.* (2021) realizaram estudos com sementes de *A. cepa* expostas a diferentes concentrações de cobalto e

observaram distúrbios no ciclo celular e redução de aproximadamente 50% do IM nas raízes de *A. cepa* expostas à maior concentração (5.5 ppm –  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ) em relação ao CN. Alguns metais pesados podem ter seus efeitos tóxicos inibidos ou intensificados quando em sinergia com outros metais (BARBOSA *et al.*, 2010).

Os resultados do AC (Tabela 4) (Figura 6 e 7) revelaram frequências significativas de aberrações cromossômicas em quase todas as amostras, exceto em EAS3 e EAJ na primeira campanha de água e EAS1 e EAS2 na segunda amostragem de elutriato. Houve diferença significativa na comparação entre as campanhas das amostras de água e as estações EAS1 e EAS3 (Figura 4) e de elutriato em EAS1 e EAS2 (Figura 5), que apresentaram valores mais elevados no período de alta pluviosidade. Aberrações cromossômicas no ciclo celular podem ocorrer de forma espontânea ou por indução de agentes tóxicos físicos ou químicos. Essas alterações consideradas genotóxicas são passíveis de reparo pela célula. No entanto, caso esse dano à molécula de DNA não seja reparado pelo maquinário celular, ele poderá ser fixado e expresso em forma de um micronúcleo (MN) (LEME; MARIN-MORALES, 2009; IQBAL *et al.*, 2019).

Dentre as alterações genotóxicas encontradas no presente estudo, aderência cromossômica e c-metáfase apresentaram maior frequência (Figura 6 e 7). Alterações como essas sugerem que os agentes contaminantes presentes nas amostras do rio Jucu têm efeitos diretos na formação dos microtúbulos, como reportado por Iqbal *et al.* (2019). Os microtúbulos desempenham um papel essencial no ciclo de divisão celular, pois atuam diretamente na formação do fuso mitótico e na migração dos cromossomos (BONCIU *et al.*, 2018).

As alterações como c-metáfases indicam a inativação do fuso mitótico que podem induzir a formação de micronúcleos e evidenciam a presença de agentes aneugênicos (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007). A c-metáfase quase sempre leva à interrupção da divisão celular e os cromossomos são observados espalhados pela célula, condensados e com o centrômero bem definido, pois não há formação da placa equatorial (IQBAL *et al.*, 2019). A aderência cromossômica é uma alteração no cromossomo, provavelmente irreversível e que pode levar à formação de pontes cromossômicas, quebras cromossômicas e à morte celular e ocorre quando há perda das características normais de condensação cromossômica. Pode ocorrer devido a alterações na estrutura ou no número de cromossomos que leva a uma maior

contração cromossômica e reflete nesse aspecto de cromossomos grudados (IQBAL *et al.*, 2019).

De acordo com a análise de correlação de Pearson realizada entre os metais quantificados nas amostras e os índices observados, o AC apresentou correlação significativa com o Ni ( $r_p = 0.553$ ,  $p=0.017$ ) na primeira amostragem de água. Estudos de Pavlova (2017) indicam que a contaminação Ni pode causar alterações no ciclo celular e induzir a frequência de aberrações cromossômicas em *Plantio lanceolata* expostas a concentrações de Ni (0,01 e 0,025 mM). Os autores relatam que as aberrações com maiores frequências observadas foram pontes e aderência cromossômica e ainda alertam que o Ni claramente possui efeito tóxico no ciclo celular, principalmente por provocar alterações no IM e induzir o aumento da frequência de anormalidades cromossômicas devido a alterações na formação do fuso mitótico. Resultados semelhantes foram observados em outras espécies de plantas, como *A. cepa* (LIU *et al.*, 1994; MCLLVEEN; NEGUSANTI, 1994) e *Zea mays* (KOZHEVNIKOVA *et al.*, 2009), corroborando o possível fator para o aumento da frequência de aderências como observadas em nosso estudo.

Na Tabela 4 pode-se observar o Índice de efeito mutagênico (IMUT) encontrado na maioria das amostras de água e sedimento do rio Jucu, dado pela frequência de micronúcleos encontrada. Resultados alarmantes foram observados nas amostras de elutriato da segunda campanha, onde as estações EAN1 ( $1,58 \pm 0,71$ ), EAN2 ( $1,04 \pm 0,3$ ), EAS1 ( $0,78 \pm 0,62$ ) e EAJ ( $1,02 \pm 0,13$ ) apresentaram os maiores valores do IMUT, quando comparadas ao CN ( $0 \pm 0$ ). Ao comparar os resultados do IMUT entre as amostragens, observa-se uma diferença significativa em EAS1 e EAN1 para as amostras de água e EAN1, EAN2 e EAJ nas amostras de elutriato, sendo mais elevados no período chuvoso. As amostras de elutriato da segunda campanha também apresentaram as concentrações mais altas de metais (Tabela 3), com atenção ao Cd, Ni, Pb e Zn, que não estavam acima dos valores estabelecidos pela legislação nas outras amostras, mas nas amostras de elutriato da segunda campanha, apresentaram valores preocupantes com riscos à saúde humana.

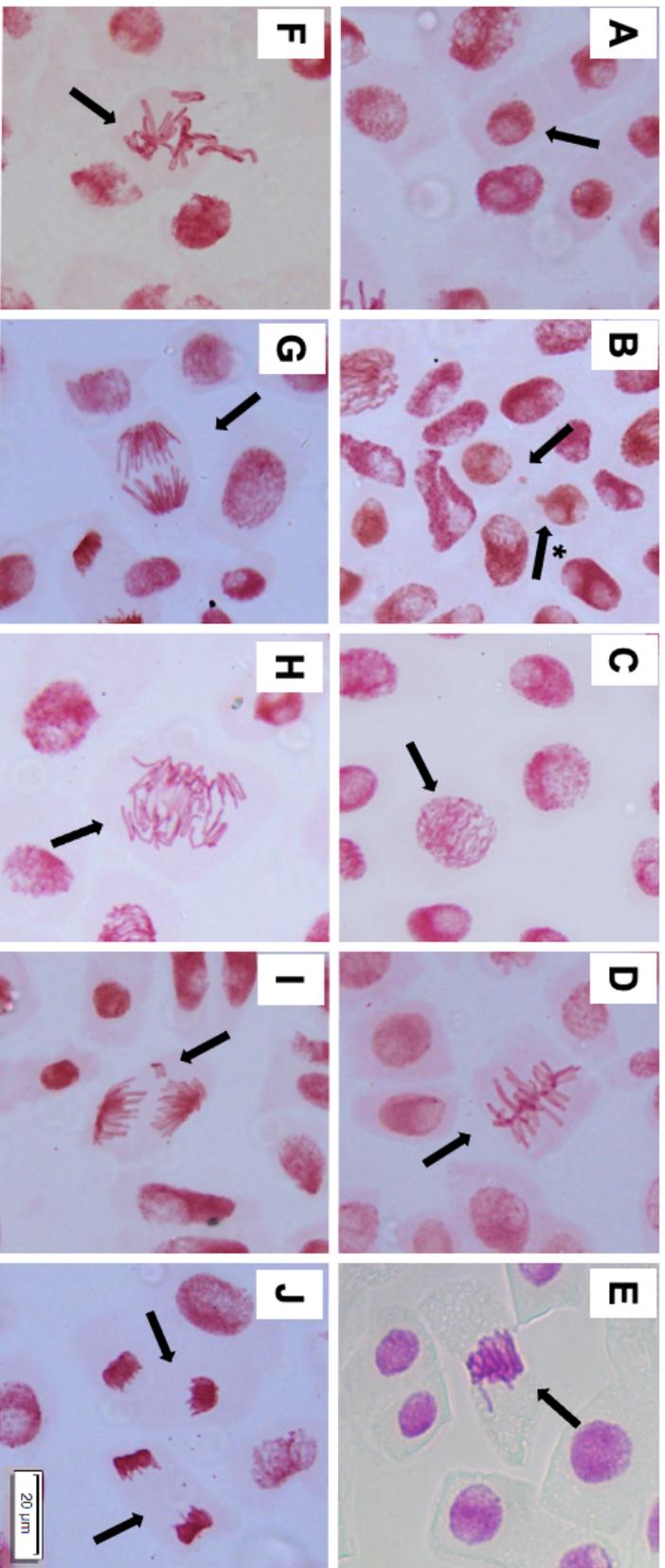
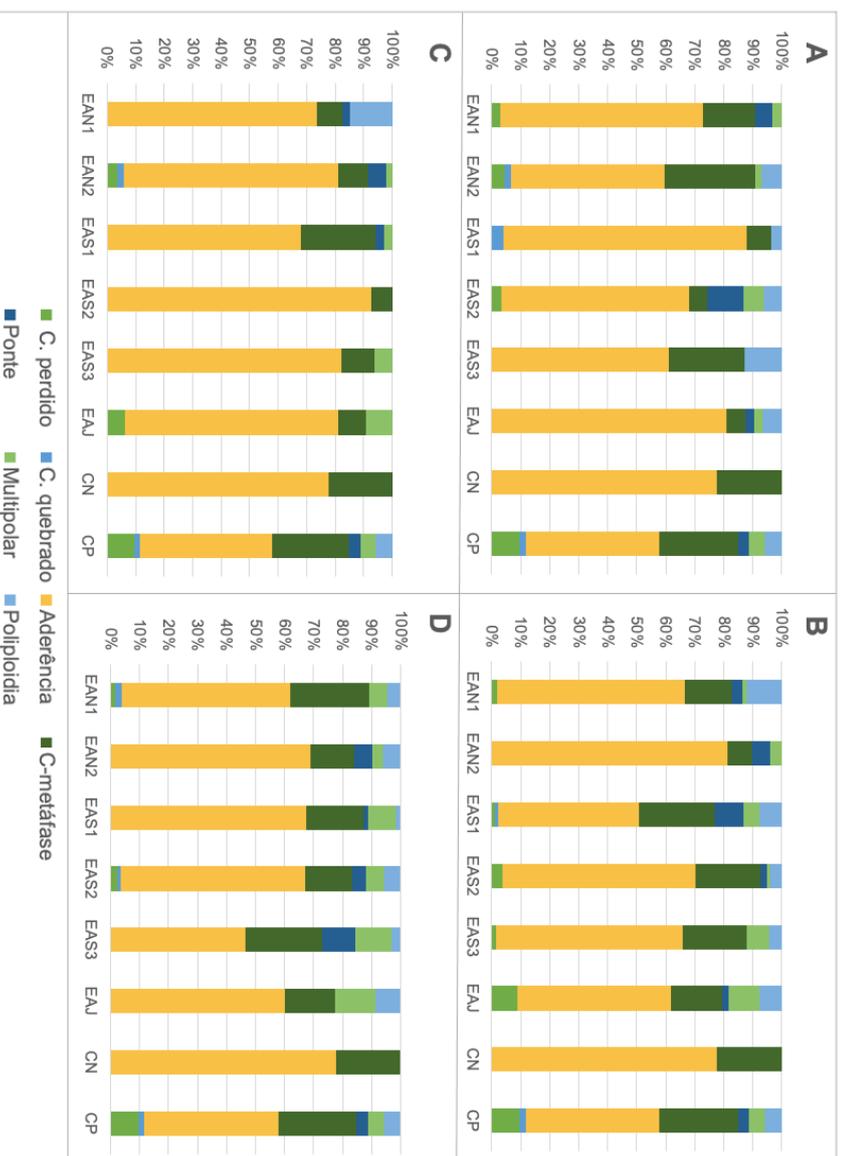


Figura 6 – Células meristemáticas de *Allium cepa* L. tratadas com amostras de água e elutriato coletadas no rio Jucu/ES. A – Intérfase normal; B-seta – Intérfase com micronúcleo; B-seta \* – Intérfase com proto nuclear; C – Prófase normal; D – Metáfase normal; E – Aderência cromossômica; F – c-metáfase; G – Anáfase poliploide; H – Anáfase normal; I – Anáfase com perda cromossômica; J – Telófase normal.

Fonte: elaborada pelo autor, 2021.

Figura 7 – Proporção acumulada da frequência das aberrações cromossômicas observadas em células de *Allium cepa* L. expostas às amostras de água e sedimento do rio Jucu - Espírito Santo/ Brasil e aos controles negativo (CN) e positivo (CP). A – amostras de água/1ª campanha; B – amostras de água/2ª campanha; C – amostras de elutriato/ 1ª campanha; D – amostras de elutriato /2ª amostragem.



Fonte: elaborada pelo autor, 2021.

A presença de micronúcleo é considerada um biomarcador de agentes mutagênicos nas amostras. Os micronúcleos podem ocorrer quando os danos causados aos cromossomos ou à molécula de DNA não são reparados ou são reparados de forma incompleta (FENECH *et al.*, 2011; IQBAL *et al.*, 2019). A correlação de Pearson nos mostra que o IMUT apresentou correlação com os metais Fe ( $r_p = 0.564$ ,  $p=0.015$ ), Mg ( $r_p = -0.687$ ,  $p=0.002$ ), Pb ( $r_p = -0.467$ ,  $p=0.049$ ) e Zn ( $r_p = 0.7600$ ,  $p=0.000$ ), durante a segunda amostragem de água.

Gantayat *et al.* (2020) observaram o efeito de concentrações de Fe e nanopartículas de Fe em *A. cepa* e constataram efeito citotóxico, genotóxico (aumento na frequência de aderências, atrasos, quebras, anáfase multipolar e outros) e indução da formação de micronúcleo nas raízes expostas e concluem que mesmo em concentrações nano, a contaminação por Fe pode ter efeito tóxico em plantas.

A toxicidade do Zn em plantas também é reconhecida e foi demonstrada por Borboa e Latorre (1996) que observaram o aumento de quebras cromossômicas em células meristemáticas de *A. cepa* após apenas 12h de exposição a concentrações de Zn (II) - ( $ZnCl_2$ ) - a  $5.10^{-4}$  M.

Dos parâmetros avaliados pelo teste do *A. cepa*, o IM, AC e IMUT foram significativamente mais elevados no período chuvoso nas amostras de água (Figura 4) e o AC e IMUT nas amostras de elutriato, demonstrando um efeito citotóxico, mutagênico e genotóxico das amostras coletadas nesse período. Em contrapartida, a redução significativa do CR das amostras durante o período chuvoso (Figura 4 e 5) também pode indicar um efeito fitotóxico das amostras. Isso provavelmente ocorre nos períodos de chuva, que, devido a mudanças climáticas, são caracterizados por chuvas torrenciais. Essas chuvas fortes podem provocar um efeito de "lavagem" do solo e aumentar o carreamento de sedimento, nutrientes e poluentes para o leito dos rios, provocando um efeito *runoff*. Além disso, o aumento da vazão dos rios causa uma maior movimentação das águas e provoca a ressuspensão de contaminantes depositados no sedimento. Esse efeito pode aumentar a biodisponibilidade dos contaminantes presentes ali e intensificar os efeitos tóxicos destes à biodiversidade aquática e à população humana que interage com esse ambiente.

Esses resultados reforçam a eficiência dos bioensaios com *A. cepa* na detecção de contaminantes ambientais complexos. Sugerimos que esses testes sejam incorporados às análises físicas e químicas usualmente utilizadas por agências reguladoras para avaliação da qualidade da água.

#### 4. CONCLUSÕES

O delineamento experimental foi efetivo para avaliar o impacto da estiagem/seca no corpo hídrico, cada vez mais comum com as mudanças climáticas, demonstrando que as concentrações de diversos metais estavam acima dos limites estabelecidos pela legislação federal, principalmente no período de estiagem, indicando que os órgãos ambientais devem estabelecer políticas alternativas de abastecimento/uso agrícola nestes períodos.

Os bioensaios realizados em *A. cepa* demonstraram efeitos toxicogénicos e correlação entre os metais e biomarcadores avaliados em praticamente todas as amostras, sendo demonstrada a sua eficácia como um teste padrão a ser utilizado pelo governo para controle e continuidade do uso deste corpo hídrico como fonte água para agricultura e abastecimento público.

Apesar de ter apenas uma importância local, a avaliação de amostras de água e sedimento do rio Jucu indicam que a sua qualidade ambiental está comprometida, principalmente durante o período de estiagem/seca. Espera-se que os resultados observados neste trabalho possam servir de base para as agências ambientais nas decisões de ações de recuperação ambiental de ambientes impactados.

## REFERÊNCIAS

ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 15.469: Ecotoxicologia aquática - Preservação e preparo de amostras**. Rio de Janeiro. 2007. 10p.

AGERH, Agência Estadual de Recursos Hídricos do Espírito Santo. **Bacia Hidrográfica do Rio Jucu é a primeira do Estado a ter critérios próprios de Outorga para uso da água**. 2020. Disponível em: <https://www.es.gov.br/Noticia/bacia-hidrografica-do-rio-jucu-e-a-primeira-do-estado-a-ter-criterios-proprios-de-outorga-para-uso-da-agua>. Acesso em: 23 jul. 2021.

AHMAD, M. S. A.; ASHRAF, M. Essential roles and hazardous effects of nickel in plants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 214, p. 125-167, 2011. DOI: 10.1007/978-1-4614-0668-6\_6.

AKINBORO, A. *et al.* Evaluation of Asa River Water in Ilorin, Kwara State, Nigeria for available pollutants and their effects on mitosis and chromosomes morphology in *Allium cepa* cells. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 25, n. 1, p. 119–125, 2021. DOI: 10.4314/jasem.v25i1.17.

ALBERTS, B. *et al.* **Molecular Biology of the Cell**. W.W. Norton & Company, 2017. DOI: 10.1201/9781315735368.

ALUM, O. L.; OKOYE, C. O. B. Pollution status of major rivers in an agricultural belt in Eastern Nigeria. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 6, 2020. DOI: 10.1007/s10661-020-08366-3.

AMENÓS, M. *et al.* Different effects of aluminum on the actin cytoskeleton and brefeldin a-sensitive vesicle recycling in root apex cells of two maize varieties differing in root elongation rate and aluminum tolerance. **Plant and Cell Physiology**, v. 50, n. 3, p. 528–540, 2009. DOI: 10.1093/pcp/pcp013.

ANDRADE, L. F.; CAMPOS, J. M. S.; DAVIDE, L. C. Cytogenetic alterations induced by SPL (spent potliners) in meristematic cells of plant bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 3, p. 706–710, 2008. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2008.02.018.

APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods for examination of water and wastewater**. 21th. ed. Washington, 2005.

ARAGÃO, F. B. *et al.* Phytotoxic and cytotoxic effects of eucalyptus essential oil on lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Allelopathy Journal**, v. 35, n. 2, p. 259–272, 2015.

BAILÃO, E. F. L. C. *et al.* Urban occupation increases water toxicity of an important river in central Brazil. **Fronteiras**, v. 9, n. 1, p. 73–86, 2020. DOI: 10.21664/2238-8869.2020v9i1.p73-86.

BARBOSA, J. S. *et al.* Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 3, p. 320–325, 2010. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2009.10.008.

BONCIU, E. *et al.* An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. **Caryologia**, v. 71, n. 3, p. 191–209, 2018. DOI: 10.1080/00087114.2018.1503496.

BORBOA, L.; LATORRE, C. The genotoxicity of Zn(II) and Cd(II) in *Allium cepa* root meristematic cells. **New Phytologist**, v. 134, n. 3, p. 481–486, 1996. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1996.tb04365.x.

BUI, T. K. L. *et al.* Copper toxicity and the influence of water quality of Dongnai River and Mekong River waters on copper bioavailability and toxicity to three tropical species. **Chemosphere**, v. 144, p. 872–878, 2016. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.09.058.

CAMPOS, J. M. S.; VICCINI, L. F. Cytotoxicity of aluminum on meristematic cells of *Zea mays* and *Allium cepa*. **Caryologia**, v. 56, n. 1, p. 65–73, 2003. DOI: 10.1080/00087114.2003.10589309.

CESAN. **Falta de chuva e níveis críticos dos rios podem levar ao racionamento de água na Grande Vitória**. 2016. Disponível em: <https://www.cesan.com.br/noticias/falta-de-chuva-e-niveis-criticos-dos-rios-podem-levar-ao-acionamento-de-agua-na-grande-vitoria/>. Acesso em: 16 fev. 2021.

CETESB. **Qualidade das Águas Superficiais**., v. Apêndice C, p. 303, 2013. Disponível em: <http://cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: 20 abr. de 2019.

CHANDRA, S. *et al.* Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. **Science of the Total Environment**, v. 347, n. 1–3, p. 46–52, 2005. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2005.01.002.

CONAMA, CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE- CONAMA. **Resolução N° 430, De 13 De Maio De 2011**. Complementa e altera a Resolução nº 357/2005. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no Iho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. 2011. p. 8. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 13 set. 2021.

CORINGA, J. E. S. *et al.* Distribuição geoquímica e biodisponibilidade de metais traço em sedimentos no Rio Bento Gomes, Poconé - MT, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 46, n. 2, p. 161–174, 2016. DOI: 10.1590/1809-4392201502215.

DUARTE, I. D. *et al.* Water quality of a coastal lagoon (ES, Brazil): abiotic aspects, cytogenetic damage, and phytoplankton dynamics. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 11, p. 10855–10868, 2017. DOI: 10.1007/s11356-017-8721-2.

DUARTE, I. D. Rio Santa Maria da Vitória (ES, Brasil): Avaliações Ecofisiológicas e Toxicogenéticas em Amostras de Água, Sedimento e Elutriato do Sedimento. **Tese de Doutorado em Biologia Vegetal**. Universidade Federal do Espírito Santo, 2017. 181p.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciências, 2011.

FAISAL, M. *et al.* **Cellular and Molecular Phytotoxicity of Heavy Metals**. Cham: Springer International Publishing, 2020. DOI: 10.1007/978-3-030-45975-8.

FENECH, M. *et al.* Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. **Mutagenesis**, v. 26, n. 1, p. 125–132, 2011. DOI: 10.1093/mutage/geq052.

FENECH, M. *et al.* HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v.

534, n. 1–2, p. 65–75, 2003. DOI: 10.1016/S1383-5718(02)00249-8.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252–259, 2007. DOI: 10.1016/j.pestbp.2006.12.003.

FIGUEIREDO, D. **Rios chegam ao nível crítico. Com a baixa incidência de chuvas neste mês, rios Jucu e Santa Maria, que abastecem a Grande Vitória, estão com queda na vazão.** Jornal "A Tribuna", Vitória, p. 1–5, 2016. Disponível em: <http://www.ijsn.es.gov.br/bibliotecaonline/Record/332572>. Acesso em: out. 2021.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test - an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 197, n. 2, p. 243–260, 1988. DOI: 10.1016/0027-5107(88)90096-6.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99–112, 1985. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x.

GALTER, I. N. *et al.* Water assessment of the Itapemirim River/Espírito Santo (Brazil): abiotic and toxicogenetic aspects. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 8, p. 10175–10191, 2021. DOI: 10.1007/s11356-020-11116-0.

GANTAYAT, S. *et al.* Analysis on cytotoxicity and oxidative damage of iron nano-composite on *Allium cepa* L. root meristems. **Cytologia**, v. 85, n. 4, p. 325–332, 2020. DOI: 10.1508/CYTOLOGIA.85.325.

GARDIMAN JUNIOR, B. S. Caracterização do processo de poluição das águas superficiais da Bacia Hidrográfica do Rio Jucu, estado do Espírito Santo, Brasil. **Natureza online**, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2015. DOI: 10.18227/1982-8470ragro.v9i3.2310.

GARDIMAN JUNIOR, B. S.; SIMOURA, L. T.. Cobertura florestal e qualidade da água na bacia hidrográfica do rio Jucu, estado do Espírito Santo, Brasil. **Scientia Plena**, v. 12, n. 1, p. 1–15, 2016. DOI: 10.14808/sci.plena.2016.010201.

GEREMIAS, R. *et al.* Efficacy assessment of acid mine drainage treatment with coal mining waste using *Allium cepa* L. as a bioindicator. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 79, p. 116–121, 2012. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2011.12.010.

IEMA, Instituto Estadual de Meio Ambiente do Espírito Santo. **Enquadramento dos Corpos de Água em Classes e Plano de Bacia para os Rios Santa Maria da Vitória e Jucu. Relatório Síntese.** 2016. Disponível em: <https://agerh.es.gov.br/Media/agerh/DocumentaçãoCBHs/Jucu/RELATÓRIOSÍNT ESE.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2021.

INCAPER - Instituto Capixaba de Pesquisa e Assistência Técnica e Rural. **Precipitação total observada em 2018 no estado do Espírito Santo.** 2018. Disponível em: <https://meteorologia.incaper.es.gov.br/mapas-de-chuva-acumulado-mensal-e-anual-2018#prettyPhoto>. Acesso em: 18 dez. 2019.

IPCC. **Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution.** Disponível em: < <https://www.ipcc.ch/report/ar5/syr/>> Acesso em: 12 ago. 2021.

IQBAL, M. *et al.* Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: A review. **Chemistry International**, v. 5, n. 1, p. 1–80, 2019. DOI: 10.5281/zenodo.1475399.

JAYAWARDENA, U. A.; WICKRAMASINGHE, D. D.; UDAGAMA, P. V. Cytogenotoxicity evaluation of a heavy metal mixture, detected in a polluted urban wetland: Micronucleus and comet induction in the Indian green frog (*Euphlyctis hexadactylus*) erythrocytes and the *Allium cepa* bioassay. **Chemosphere**, v. 277, p. 130278, 2021. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.130278.

KAMRAN, M. A. *et al.* Bioaccumulation of nickel by *E. sativa* and role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) under nickel stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 126, p. 256–263, 2016. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2016.01.002.

KANNAN, N.; ANANDHI, A. Water management for sustainable food production. **Water (Switzerland)**, v. 12, n. 3, p. 1–7, 2020. DOI: 10.3390/w12030778.

KAUR, M. *et al.* *Allium cepa* root chromosomal aberration assay: a tool to assess genotoxicity of environmental contaminants. *In: Evaluation of Environmental Contaminants and Natural Products: A Human Health Perspective.* : BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, 2019. p. 65–93. DOI: 10.2174/9789811410963119010007.

KOZHEVNIKOVA, A. D. *et al.* The effects of lead, nickel, and strontium nitrates on cell division and elongation in maize roots. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 56, n. 2, p. 242–250, 2009. DOI: 10.1134/S1021443709020137.

LEME, D. M.; ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, v. 88, n. 4, p. 214–219, 2008. DOI: 10.1016/j.aquatox.2008.04.012.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009. DOI: 10.1016/j.mrrev.2009.06.002.

LÉON, V. *et al.* Effects of three nickel salts on germinating seeds of *Grevillea exul* var. *rubiginosa*, an endemic serpentine Proteaceae. **Annals of Botany**, v. 95, n. 4, p. 609–618, 2005. DOI: 10.1093/aob/mci066.

LIU, D. *et al.* Effects of lead on root growth, cell division, and nucleolus of *Allium cepa*. **Environmental Pollution**, v. 86, n. 1, p. 1–4, 1994. DOI: 10.1016/0269-7491(94)90002-7.

MA, T.; CABRERA, G. L.; OWENS, Elizabeth. Genotoxic Agents Detected by Plant Bioassays. **Reviews on Environmental Health**, v. 20, n. 1, p. 1–14, 2005. DOI: 10.1515/REVEH.2005.20.1.1.

MA, T. H. The international program on plant bioassays and the report of the follow-up study after the hands-on workshop in China. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 426, n. 2, p. 103–106, 1999. DOI: 10.1016/S0027-5107(99)00049-4.

MACAR, O. *et al.* Determination of protective effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extract against cobalt(II) nitrate-induced toxicity. **Environmental Science and**

**Pollution Research**, v. 27, n. 32, p. 40253–40261, 2020. DOI: 10.1007/s11356-020-10009-6.

MACAR, T. K. *et al.* Protective roles of grape seed (*Vitis vinifera* L.) extract against cobalt(II) nitrate stress in *Allium cepa* L. root tip cells. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 1, p. 270–279, 2021. DOI: 10.1007/s11356-020-10532-6.

MAHESHWARI, R.; DUBEY, R. S. Inhibition of ribonuclease and protease activities in germinating rice seeds exposed to nickel. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, n. 6, p. 863–872, 2008. DOI: 10.1007/s11738-008-0192-0.

MCLLVEEN, W. D.; NEGUSANTI, J. J. Nickel in the terrestrial environment. **The Science of the Total Environment**, v. 148, n. 93, p. 109–138, 1994.

MELLO, M. L. S.; VIDAL, B. C.. A reação de Feulgen. **Ciência e Cultura**, v. 30, n. 6, p. 665–676, 1978.

NGUYEN, B. T. *et al.* Seasonal, spatial variation, and pollution sources of heavy metals in the sediment of the Saigon River, Vietnam. **Environmental Pollution**, v. 256, p. 113412, 2020. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.113412.

O'GEEN, A. T. *et al.* Mitigating nonpoint source pollution in agriculture with constructed and restored wetlands. **Advances in agronomy**, v. 108, p. 1–76, 2010. DOI: 10.1016/S0065-2113(10)08001-6.

OGUNYEMI, A. K. *et al.* Toxicity evaluation of waste effluent from cassava-processing factory in lagos state, nigeria using the *Allium cepa* assay. **Ife Journal of Science**, v. 20, n. 2, p. 305, 2018. DOI: 10.4314/ijss.v20i2.11.

OLIVEIRA, K. D.; TOMASELLA, J.; SANCHES, L. D.. Spatial-temporal analysis of the climatic and anthropogenic influences on runoff in the Jucu River Basin, Southeastern Brazil. **Land Degradation & Development**, v. 30, n. 17, p. 2073–2087, 2019. DOI: 10.1002/ldr.3403.

OSPAR COMMISSION. **Hazardous Substances Series: Survey on Genotoxicity Test Methods for the Evaluation of Waste Water within Whole Effluent Assessment**. Oslo/Paris. Disponível em:

<https://www.ospar.org/documents?v=6932>. Acesso em: 02 jan 2021.

PALMIERI, M. J. Cytogenotoxic effects of spent pot liner (SPL) and its main components on human leukocytes and meristematic cells of *Allium cepa*. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 5, 2016. DOI: 10.1007/s11270-016-2809-z.

PAULA, F. **Racionamento de água começa na Grande Vitória**. 2016. Disponível em: <http://g1.globo.com/espirito-santo/noticia/2016/09/racionamento-de-agua-comeca-na-grande-vitoria.html>. Acesso em: 10 fev. 2021.

PAVLOVA, D. Nickel effect on root-meristem cell division in *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae) seedlings. **Australian Journal of Botany**, v. 65, n. 5, p. 446–452, 2017. DOI: 10.1071/BT17054.

PEREIRA, M. P. *et al.* Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular. **REVISTA AGRO@MBIENTE ON-LINE**, v. 7, n. 1, p. 36, 2013. DOI: 10.18227/1982-8470ragro.v7i1.895.

POHREN, R. S.; COSTA, T. C.; VARGAS, V. M. F. Investigation of Sensitivity of the *Allium cepa* Test as an Alert System to Evaluate the Genotoxic Potential of Soil Contaminated by Heavy Metals. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 224, n. 3, 2013. DOI: 10.1007/s11270-013-1460-1.

QIN, R. *et al.* Copper-induced root growth inhibition of *Allium cepa* var. *agrogarum* L. involves disturbances in cell division and DNA damage. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 5, p. 1045–1055, 2015. DOI: 10.1002/etc.2884.

RODRIGUES, L. C. A. *et al.* Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa* Phytotoxicity and cytogenotoxicity of water and sediment of urban stream in bioassay with *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 35, p. 1099–1108, 2013. DOI: 10.1590/S1415-43662013001000012.

SABEEN, M *et al.* *Allium cepa* assay based comparative study of selected vegetables and the chromosomal aberrations due to heavy metal accumulation.

**Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 5, p. 1368–1374, 2020. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.12.011.

SALLES, F. J. *et al.* Cytotoxic and genotoxic assessment of surface water from São Paulo State, Brazil, during the rainy and dry seasons. **Ecotoxicology**, v. 25, n. 4, p. 633–645, 2016. DOI: 10.1007/s10646-016-1622-1. 10.1007/s10646-016-1622-1.

SILVA SOUZA, T. *et al.* Cytogenotoxicity of the water and sediment of the Paraopeba River immediately after the iron ore mining dam disaster (Brumadinho, Minas Gerais, Brazil). **Science of the Total Environment**, v. 775, p. 145193, 2021. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.145193.

SOUZA, I. C. *et al.* Trophic transfer of emerging metallic contaminants in a neotropical mangrove ecosystem food web. **Journal of Hazardous Materials**, v. 408, 2021. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.124424.

WA LWALABA, J. L. *et al.* The effect of cobalt stress on growth and physiological traits and its association with cobalt accumulation in barley genotypes differing in cobalt tolerance. **Journal of Plant Nutrition**, v. 40, n. 15, p. 2192–2199, 2017. DOI: 10.1080/01904167.2017.1346676.

YILDIZ, M. *et al.* Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. **Chemosphere**, v. 75, n. 7, p. 934–938, 2009. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.01.023.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A contaminação por metais no rio Jucu foi constatada pelas concentrações de diversos metais acima dos limites estabelecidos pela legislação federal, tanto nas amostras de água quanto de elutriato, sendo a segunda amostragem (verão/alta pluviosidade) com as concentrações mais elevadas. Pode-se destacar as concentrações dos elementos Al, Fe, Mg, Mn e Cu nas amostras de água e Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras de elutriato. Esses resultados observados podem estar relacionados ao uso e ocupação da bacia do rio Jucu pela agricultura, agropecuária, aporte de efluentes domésticos sem tratamento e a processos de erosão e lixiviação. Também observamos níveis de turbidez elevados durante a segunda amostragem, que podem estar relacionados ao período de alta pluviosidade. Os ensaios com biomarcadores bioquímicos e de biotransformação revelaram alterações na quantificação de SOD, CAT, GST, GSH e LPO em diversas amostras, principalmente durante a segunda amostragem (período chuvoso). O nível elevado de LPO encontrado nas estações EAN2 e EAJ da primeira amostragem de água e EAN1 e EAS3 na segunda amostragem de elutriato indica um sistema antioxidativo ineficiente, possivelmente causado por contaminantes presentes nessas amostras. Em relação aos testes de fitotoxicidade e citogenética em *Allium cepa*, observamos um potencial efeito toxicogenético em praticamente todas as amostras, sobretudo na segunda amostragem de água e elutriato, no período de alta pluviosidade. Também foi observada correlação entre os metais e biomarcadores avaliados pelo teste do *A. cepa*. Esses resultados demonstram que os bioensaios realizados neste trabalho podem ser complementares, visto que uma sobrecarga ao sistema antioxidativo causada por poluentes presentes nas amostras e uma resposta ineficiente deste sistema, como observado pela quantificação de LPO, pode ocasionar danos diretamente à molécula de DNA pelos radicais livres não neutralizados. Além disso, os resultados observados indicam que os efeitos tóxicos das amostras ocorreram principalmente no período de alta pluviosidade, que devido a mudanças climáticas, as chuvas torrenciais são cada vez mais intensas e podem potencializar o efeito *runoff*, carregando detritos e poluentes para o leito do rio. No entanto, efeito tóxicos também foram observados no período de estiagem, onde provavelmente ocorre a concentração de nutrientes

e poluentes na água devido à redução do volume e vazão dos rios. Podemos concluir, com base nos resultados obtidos pela avaliação das amostras de água e sedimento do rio Jucu, que há um comprometimento da sua qualidade ambiental, provavelmente relacionada ao uso e ocupação da bacia e que são intensificados pelas mudanças climáticas e alterações na precipitação. Reforçamos a necessidade de um constante monitoramento deste ambiente, principalmente devido à sua importância no abastecimento de água para a população, para a irrigação e para a preservação dos mananciais.

# MONITORAMENTO AMBIENTAL DO RIO JUCU

Autor: Edvar Junior Roncetti Coelho

## A importância dos recursos hídricos

As atividades antrópicas vem impactando significativamente os recursos hídricos ao longo dos séculos. Alterações no ecossistema como desmatamento, agricultura e urbanização tem efeito direto no transporte de sedimentos, nutrientes, matéria orgânica e diversos poluentes provenientes dessas atividades, que chegam diariamente contaminando nossos rios e lagos.

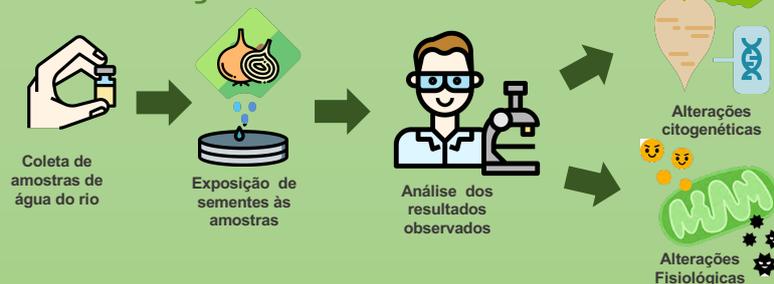


## O rio Jucu

O rio Jucu está localizado no estado do Espírito Santo (Brasil) e destaca-se por ser um dos principais rios para o abastecimento da Região Metropolitana da Grande Vitória. A bacia hidrográfica do rio Jucu recebe alta carga de poluentes provenientes de efluentes industriais, domésticos e agropecuários. Há um alerta sobre a qualidade da água do Rio Jucu, pois é utilizado como fonte de abastecimento público e para a irrigação.



## Estudos toxicogenéticos e fisiológicos na avaliação ambiental



As plantas são utilizadas como biomarcadores biológicos em estudos de ambientes impactados devido à sua interação direta das raízes com o ecossistema e essa interação nos dá uma resposta biológica dos compostos contaminantes presentes no ambiente. Os bioensaios servem de base para as agências ambientais nas decisões de ações de recuperação ambiental de ambientes impactados.

## Quais resultados encontramos?

- 1 Comprometimento da sua qualidade ambiental por contaminação com metais.
- 2 Provavelmente relacionada ao uso e ocupação da bacia.
- 3 Preocupação pela sua importância no abastecimento de água para a população

