



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI  
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS – CSHNB  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - MODALIDADE LICENCIATURA

Louridânia da Silva e Sousa

**POTENCIAL CIOTOTÓXICO E MUTAGÊNICO DAS ÁGUAS DO RIO GUARIBAS  
(PICOS, PIAUÍ, BRASIL) EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAIZ DE *Allium*  
*cepa* L.**

**Picos**

**Março/2014**

Louridânia da Silva e Sousa

**POTENCIAL CIOTOTÓXICO E MUTAGÊNICO DAS ÁGUAS DO RIO GUARIBAS  
(PICOS, PIAUÍ, BRASIL) EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAIZ DE *Allium  
cepa* L.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para obtenção do Grau de Graduado em Licenciatura em Ciências Biológicas.

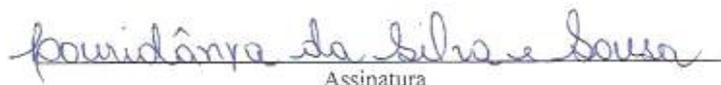
Orientador(a): Msc. João Marcelo de Castro e Sousa

**Picos**

**Março/2014**

Eu, **Louridânia da Silva e Sousa**, abaixo identificado(a) como autor(a), autorizo a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar, gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação abaixo discriminada, de minha autoria, em seu site, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, a partir da data de hoje.

Picos-PI, 04 de julho de 2014.

  
Assinatura

#### FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca José Albano de Macêdo

**S725p** Sousa, Louridânia da Silva e.  
Potencial citotóxico e mutagênico das águas do rio  
guaribas (Picos, Piauí, Brasil) em células meristemáticas de  
raiz de *Allium cepa* 1 / Louridânia da Silva e Sousa. – 2013.  
CD-ROM : il; 4 ¾ pol. (28 p.)

Monografia(Licenciatura em Ciências Biológicas) –  
Universidade Federal do Piauí. Picos-PI, 2013.  
Orientador(A): Prof. MSc. João Marcelo de Castro e Sousa

1.Ecotoxicologia. 2.Poluição 3. Genotoxicidade. I. Título.

**CDD 581.4**

Louridânia da Silva e Sousa

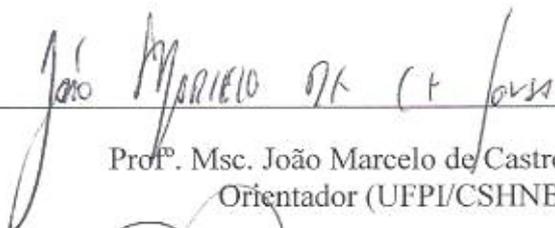
**POTENCIAL CIOTOTÓXICO E MUTAGÊNICO DAS ÁGUAS DO RIO GUARIBAS  
(PICOS, PIAUÍ, BRASIL) EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAIZ DE *Allium  
cepa* L.**

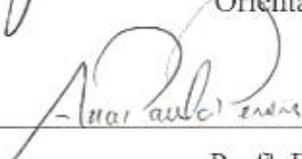
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para obtenção do Grau de Graduado em Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Msc. João Marcelo de Castro e Sousa

Aprovado em 11 / 03 / 2014

**BANCA EXAMINADORA:**

  
Prof. Msc. João Marcelo de Castro e Sousa.  
Orientador (UFPI/CSHNB)

  
Prof.ª. Dr.ª. Ana Paula Peron.  
Membro (UFPI/CSHNB)

  
Prof. Msc. Leonardo Henrique Guedes de Moraes Lima.  
Membro (UFPI/CSHNB)

Prof. Msc. Artur Henrique Freitas Florentino de Sousa  
Membro (UFPI/CSHNB)

Às três pessoas mais importantes da minha vida, meus queridos e maravilhosos pais, Leonarda Maria e José Manoel, meu irmão Josélio pelo incomparável incentivo, pela confiança e por todo o amor. Com todo o carinho e imensurável gratidão, dedico-lhes esse trabalho de valor inestimável em minha jornada profissional!

## AGRADECIMENTOS

Saber agradecer é uma atitude de reconhecimento e carinho por todos aqueles que de alguma maneira contribuíram à realização desta obra. É saber a importância de como, cada um, a sua maneira, contribuiu com este trabalho.

A Deus, por ter me feito uma pessoa vitoriosa, por ter permitido que eu chegasse aqui.

Aos meus pais, José Manoel e Leonarda Maria, muito obrigada, pelo amor e pela educação, que me proporcionaram meios de aprender com seus exemplos, gestos e atitudes, tornando-me capaz de lutar pelos meus objetivos.

Ao meu irmão Josélio muito obrigado pela motivação e ações financeiras constante, para realização dos meus sonhos. Ao meu namorado Estevão, pelo carinho, apoio, paciência e amor dado em todos os momentos da minha vida.

Ao meu orientador Msc. João Marcelo por ter acreditado em mim e me apresentado ao mundo da genética, pelo exemplo de profissionalismo e por ter dividido seu conhecimento com paciência e boa vontade estando sempre disponível a contribuir com minha aprendizagem.

À Prof<sup>a</sup>. Msc. Maria do Socorro aos conhecimentos e as oportunidades de crescimento pessoal e profissional que me foram dados durante todo o curso. O Prof<sup>o</sup> Msc. Leonardo Henrique pelo companheirismo durante o ano que trabalhamos juntos, por acredita no meu trabalho.

Aos meus grandes amigos Leonides, M<sup>a</sup> Laurentina, Adriano, Ronielson, Jodson e Gabriel, guerreiro de uma grande jornada, onde foram cinco anos de luta, muitas noites mal dormidas, porém bem recompensadas, estes sempre se disponibilizaram a contribuir com a realização pessoal e na formação durante todo o curso, meu muito obrigado.

A todos os meus familiares que me ajudaram nessa jornada tão importante.

O amigo e colega de laboratório Ellifran Dantas, que ajudou durante todo o trabalho, principalmente nas análises das lâminas. Aos meus ex-colegas de laboratório Willy e Aluísio.

A todos meus professores que conseguiram deixar marcas significativas em meu processo formativo em especial a Nilda Masciel, Artur Henrique, Paulo Cesar, M<sup>a</sup> Carolina, Ana Peron, Bruno Pralon, Daniel Liarte, Mariluce, Oneide Rocha e André.

A todos da minha turma amigos de luta e caminhada, Darciella, Poliana, Patrícia, Laís, Géssica, Carla Fernanda, Laiana, Samara, Nárgila, Ana Rafaela, Gardênia, pela confiança, respeito e amizade sincera que nos proporcionou vencermos vários obstáculos.

Os vencedores da batalha da vida são os homens perseverantes que sem se julgarem gênios de si convenceram-se que só pela perseverança e o esforço poderiam chegar ao fim almejados (Emerson).

## SUMÁRIO

1 REFERENCIAL TEÓRICO.....	8
1.1 Caracterização geral da área.....	8
1.2 Mutagênese Ambiental.....	9
1.3 <i>Allium cepa</i> como organismo-teste.....	10
1.4 Parâmetros físico-químicos.....	11
RESUMO.....	13
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
2.1 Pontos de amostragem.....	15
2.2 Parâmetros físico-químicos.....	16
2.3 Obtenção de células meristemáticas de raízes de <i>Allium cepa</i> para análise citogenética.....	16
2.4 Preparo e leitura das lâminas e análise dos dados.....	17
3 RESULTADOS.....	17
3.1 Análise dos parâmetros físico-químicos.....	17
4 DISCUSSÃO.....	21
5 CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS.....	25

## 1 REFERENCIAL TEÓRICO

### Caracterização geral da área

A bacia hidrográfica do rio Guaribas é uma das onze bacias hidrográficas piauienses classificadas pela Secretaria do Meio Ambiente e dos Recursos Hídricos. Situada na Mesorregião Sudeste piauiense, entre os paralelos 6°30' e 7°24' de latitude sul e entre os Meridianos 40°18' e 41°48' de longitude a oeste Greenwich, a bacia do Guaribas possui 8.415 km<sup>2</sup>, correspondendo a aproximadamente 3,35% da área total do Estado (FILHO, GOMES, 2004).

O rio Guaribas nasce na Serra das Almas em Pio IX, a 600 m de altitude. Possui os afluentes Cana Brava e Pitombeiras, pela margem direita e Grotão, Riachão e São João, pela margem esquerda. A bacia do rio Guaribas envolve os municípios de Bocaina, Sussuapara, Picos, Pio IX, Monsenhor Hipólito, Alagoinha, Francisco Santos, Santo Antônio de Lisboa, São José do Piauí, São Julião e Fronteiras. A literatura considera o Rio Guaribas como um dos importantes afluentes da margem direita do médio curso do rio Itaim e o rio Riachão como o maior afluente do Guaribas que, por sua vez, é afluente do Parnaíba, o maior rio piauiense (SANTOS et al., 2012).

O município de Picos localiza-se na região Centro/Sul do Estado do Piauí, com uma área aproximada de 803 km<sup>2</sup> e uma população de 74.966 habitantes (IBGE, 2011). É cercado por montes e picos, e dita 320 km da capital Teresina, pela BR-316. O município por apresentar prosperidade em diversos setores da economia, é conhecido no estado como "município modelo" (BARBOSA et al., 2007).

O clima da região é semi-árido, a partir da observação de parâmetros climáticos associados à observação da vegetação, relevo, solo e hidrografia. São características desse domínio climático: uma precipitação média anual inferior à 900 mm e dois a três meses favoráveis à ocorrência de chuvas (FILHO, GOMES, 2004). A temperatura média anual da região é da ordem de 27,3 °C, observando-se as médias elevadas na primavera (setembro/outubro) e as mais baixas, no outono (março/maio). A umidade relativa média anual é de 59,4%. Os maiores índices ocorrem entre março e abril, e os menores entre setembro e outubro. A insolação total média anual é de 2.406,4 horas (FREITAS, 2002).

## 1.2 Mutagênese Ambiental

A poluição do ambiente por produtos genotóxicos e mutagênicos afeta o próprio organismo e as suas gerações futuras, sendo observada não apenas para o homem, como também para as plantas, os animais e os microrganismos. O estudo detalhado, minucioso e ordenado para detectar o modo de ação e os meios de prevenção do incremento de mutações, devido a causas antrópicas, deve, portanto, merecer uma atenção bastante especial por parte, principalmente, da comunidade científica (RIBEIRO et al., 2003).

Alguns estudos vêm sendo realizados na tentativa de se avaliar o comportamento, as transformações e os efeitos de agentes químicos, físicos ou biológicos, tanto no ambiente como nos organismos. Os agentes mutagênicos são substâncias que induzem alterações na molécula de DNA. Essas alterações podem ser corrigidas pelo próprio mecanismo de reparo das células, mas, quando não reparadas ou reparadas erroneamente, originam mutações gênicas e cromossômicas (CONNOR; FERGUNSON, 1993; UMBUZEIRO; ROUBICEK, 2003).

Mutações gênicas referem-se às mudanças de um ou poucos nucleotídeos do polímero de DNA, por deleções, duplicações e/ou alterações de pares de bases, que acabam modificando o funcionamento de um gene. Já nas mutações cromossômicas, há uma reorganização na estrutura do DNA por translocação, inversão, deleção, duplicação, fusão e fissão dos cromossomos, alterando o complemento cromossômico em estrutura e/ou número (PAVLICA et al., 2000; ERDTMANN, 2003). Sabe-se que muitos destes compostos podem causar mudanças prejudiciais, herdáveis, no material genético, sem que se expressem de imediato (VOGEL, 1982) e, quando lançados no ambiente, podem representar um risco para a saúde do homem, em virtude do seu potencial para induzir mutações (TAVARES, 1991).

O aparecimento de mutações ocorre em todos os seres vivos, sendo um processo fundamental para a evolução e diversidade das espécies. Muitas das mutações não implicam em mudanças detectáveis na atividade metabólica da célula ou do organismo e, portanto, passam despercebidas. Outras mutações podem determinar a morte celular e, por consequência, não são também detectáveis. Assim, apenas um pequeno número de mutações que ocorrem em genes específicos pode se caracterizar em vantagens ou determinar um crescimento desordenado das células. Os chamados agentes mutagênicos, que vão alterar a sequência das bases no DNA, podem acelerar ou aumentar o aparecimento de mutações que estão associadas ao desenvolvimento de neoplasias. Após passar por várias divisões, uma célula poderá acumular mutações que, se em número elevado, poderão determinar a perda do

controle de sua divisão, determinando, assim, o aparecimento do câncer (RIBEIRO et al., 2003).

Testes citogenéticos são adequados para identificar os efeitos perigosos de substâncias, em suas diversas concentrações, e em diferentes tempos de exposição. Estes testes, realizados geralmente em organismos-teste, são comumente aplicados no biomonitoramento da extensão da poluição e na avaliação dos efeitos combinados de substâncias tóxicas e mutagênicas, sobre os organismos no ambiente natural (MORAES, 2000).

Os efeitos de muitos poluentes podem ser examinados diretamente em vários organismos, normalmente através da análise de células, tecidos ou órgãos, mediante a utilização de biomarcadores. No entanto, sob o ponto de vista genético os efeitos mutagênicos destas substâncias podem não se manifestar por várias gerações, mas em um dado momento de sua história, passar a ter um efeito importante (PADRANGI, 1995).

### **1.3 *Allium cepa* como organismo-teste**

Vegetais superiores constituem um importante material para teste de alterações genéticas provocadas por poluentes ambientais e são, atualmente, reconhecidos como excelentes indicadores de efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de ambientes com presença de substâncias químicas e físicas (GRANT, 1999).

Dentre os vegetais mais utilizados em estudos de biomonitoramento, destaca-se a espécie *Allium cepa*. Muitos testes para identificação da presença de químicos potencialmente genotóxicos e mutagênicos vem sendo realizados com este organismo, mostrando bons resultados para este tipo de análise. As células de meristemas radiculares de *A. cepa* apresentam características que as credenciam como um eficiente material para estudos citogenéticos, sendo indicadas para ensaio de aberrações cromossômicas e de micronúcleos com poluentes ambientais (FERNANDES et al., 2005; LEME; MARIN-MORALES, 2008; CARITA; MARIN-MORALES, 2008).

O uso do *A. cepa* como organismo-teste de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade deve-se às características que possui na sua cinética de proliferação, no crescimento rápido de suas raízes, no grande número de células em divisão, na sua alta tolerância a diferentes condições de cultivo, na sua disponibilidade durante o ano todo, no seu fácil manuseio e por possuir cromossomos em número reduzido ( $2n=16$ ) e de grande tamanho ( FISKESJÖ, 1985; QUINZANI-JORDÃO, 1987).

O *A. cepa* vem sendo usado para avaliar danos no DNA (aberrações cromossômicas e distúrbios no ciclo mitótico) para determinados tipos de bioensaios. O vegetal é usado para este tipo de análise desde a década de 40 até os dias atuais, avaliando agentes químicos, contribuindo para a sua aplicação crescente no monitoramento ambiental. Os testes com essa espécie têm mostrado uma correlação de 82% deste teste com o de carcinogenicidade em roedores devido a sua alta sensibilidade (LEME; MARIN-MORALES, 2007). Desde então, inúmeros trabalhos tem sido realizados com esse organismo-teste a fim de se obter uma resposta confiável e rápida para a avaliação da contaminação ambiental (MATSUMOTO; MARIN-MORALES; 2004; GRISOLIA et al., 2005; EGITO et al., 2007; FERNANDES et al., 2007; CARITA; MARIN-MORALES, 2008).

#### **1.4 Parâmetros físico-químicos**

A água é um elemento essencial à vida, porém pode trazer riscos à saúde em face de sua má qualidade, servindo de veículo para vários agentes físicos e químicos. Por isso, o homem deve estar atento aos fatores que podem interferir negativamente na qualidade da água que consome e no seu destino final (BARCELLOS, 2006).

Uma forma de avaliar e monitorar os efeitos das atividades antrópicas da bacia hidrográfica sobre a qualidade da água é o emprego de índices de qualidade de água (IQA), que se baseiam principalmente em fatores limnológicos e físico-químicos. Para viabilizar a avaliação da qualidade por índices, já foi utilizada análise fatorial com bons resultados em áreas sujeitas à diferentes regimes hidrológicos. No entanto, alguns autores concluem que o índice é limitado, pois a seleção das variáveis é subjetiva, dificultando variações (CARVALHO, 2000).

MARGALEF (1994) ressalta que os vários processos que controlam a qualidade de água de um rio, fazem parte de um complexo equilíbrio, motivo pelo qual qualquer alteração na bacia hidrográfica pode acarretar alterações significativas, sendo as características físicas e químicas da água de um rio indicadores da “saúde” do ecossistema terrestre, que podem ser utilizadas para o controle e o monitoramento das atividades desenvolvidas em uma bacia hidrográfica.

Dentre as variáveis de qualidade da água, podem-se destacar a temperatura (T), pH, oxigênio dissolvido (OD) e conteúdo de matéria orgânica (MO). A temperatura da água influencia na concentração de outras variáveis, como OD e MO (PORTO et al., 1991), sendo

a radiação solar, segundo Arcova et al. (1993), a principal variável que controla a temperatura da água de pequenos rios. O pH fornece indícios sobre a qualidade hídrica (água superficial valor entre 4 e 9), o tipo de solo por onde a água percorreu e indica a acidez ou a alcalinidade da solução (MATHEUS et al., 1995). O teor de OD expressa a quantidade de oxigênio dissolvido presente no meio, sendo que a sua concentração está sujeita às variações diárias e sazonais em função da temperatura, da atividade fotossintética, da turbulência da água e da vazão do rio (PALMA-SILVA, 1999), podendo reduzir-se na presença de sólidos em suspensão e de substâncias orgânicas biodegradáveis, como esgoto doméstico, vinhoto e certos resíduos industriais (MATHEUS et al., 1995). A decomposição do MO nos cursos d'água pode diminuir o teor de OD, bem como o pH da água, pela liberação de gás carbônico e formação de ácido carbônico a partir deste (PALHARES et al., 2000).

A qualidade da água é reflexo do efeito combinado de muitos processos que ocorrem ao longo do curso d'água (PETERS & MEYBECK, 2000). De acordo com Lima (2001), a qualidade da água não se traduz apenas pelas suas características físicas e químicas, mas pela qualidade de todo o funcionamento do ecossistema.

Então, qualquer alteração antrópica mediante a fatores químicos e físicos no sistema aquático podem conduzir ao desequilíbrio da fauna e flora dos corpos de água resultando em sérios prejuízos, sendo muitas vezes irreversíveis mediante os níveis encontrados no ambiente aquático.

## Potencial citotóxico e mutagênico das águas do Rio Guaribas (Picos, Piauí, Brasil) em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L.

Louridânia da Silva e Sousa<sup>1</sup>; Ana Paula Peron<sup>2</sup>; Leonardo Henrique Guedes de Moraes Lima<sup>2</sup>, João Marcelo de Castro e Sousa<sup>2</sup>

1. Graduanda do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Piauí, CSHNB. CEP: 64.607.670. Picos-PI, Brasil
2. Professor do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Piauí, CSHNB- Picos. CEP: 64.607.670. Picos-PI, Brasil

**RESUMO:** O presente trabalho teve por objetivo a verificação do grau de citotoxicidade e mutagenicidade, conjuntamente com análise dos aspectos físico-químicos das águas do rio Guaribas da cidade de Picos, Piauí. Para a avaliação da qualidade da água, os critérios físico-químicos foram somados a aspectos bióticos que puderam ser mensurados por teste citogenético. O modelo-teste utilizado foram as células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* que se destaca como um eficiente modelo genético de monitoramento ambiental. Foram analisadas as águas de cinco pontos do rio, e cada ponto exposto por 24, 48 e 72 horas. Foi observado, após a análise dos parâmetros físicos-químicos, que todos os pontos amostrados apresentaram uma ação antropogênica com intensidades diferentes, destacando os pontos P2, P3, P4 (dentro da cidade) e P5 (após a cidade) devido à presença de populações ribeirinhas, descargas indiscriminadas de efluentes orgânicos e o acúmulo de matéria orgânica ao longo do curso do rio. A partir dos dados citotóxicos e mutagênicos, todos os pontos coletados apresentaram um poder de inibição de ciclo celular significante principalmente quando se aumentou o tempo de exposição. Essa inibição do índice mitótico (IM) pode – se, provavelmente, ser explicada pela ação mutagênica de agentes antropogênicos, principalmente quando se destaca os P2 e P3 no TE 72hs onde se mostrou significante. Assim, conclui-se que o rio Guaribas, como ecossistema, apresentou ação antrópica e consequente poluição durante seu trecho: antes, dentro e depois da principal cidade que o cerca e que essa ação humana, libera tóxicos que possuem um alto poder citotóxico e uma considerada ação mutagênica sendo, nesse caso, necessários estudos adicionais para identificar esses agentes ecotoxicológicos e propor programas de conscientização para intervir nessa ação antropogênica observada.

**Palavras-chave:** ecotoxicologia, poluição, genotoxicidade.

**ABSTRACT:** The present study aimed to determine the degree of cytotoxicity and mutagenicity, together with analysis of physico-chemical water Guaribas the river city of Picos, Piauí aspects. For the assessment of water quality, physico-chemical parameters were added to biotic aspects that could be measured by cytogenetic testing. The model-test were used meristematic cells of *Allium cepa* roots that stands as an efficient genetic model of environmental monitoring. The water of the river five points were analyzed, and each dot exposed for 24, 48 and 72 hours. Was observed after the analysis of physical-chemical parameters that all sampling points showed an anthropogenic inputs with different intensities, highlighting the P2, P3, P4 (within the city) and P5 (after the town) points to the presence of populations riparian, indiscriminate discharge of organic effluents and accumulation of organic matter along the river course. From the cytotoxic and mutagenic data, all collected points showed a power of cell cycle inhibition significantly increased especially when the exposure time. This inhibition of the mitotic index (MI) can - it will probably be explained by the mutagenic action of anthropogenic agents, especially when it highlights the P2 and P3 in TE 72h which was significant. Thus, it is concluded that the Guaribas river ecosystem as presented anthropogenic pollution and consequent action during its stretch: before, in and after the main city that surrounds it and that human action, toxic releases that have a high cytotoxic power and mutagenic action being considered, in this case, additional studies are needed to identify these ecotoxicological agents and propose awareness programs to intervene in anthropogenic observed.

**Key words:** ecotoxicology, pollution, genotoxicity.

## 1 INTRODUÇÃO

A ação antropogênica tem permitindo a liberação indiscriminada de agentes poluidores, como agrotóxicos, efluentes industriais e domésticos, com alta carga de matéria orgânica, além de substâncias eutrofizantes (ARAÚJO *et al*, 2001). A contaminação dos vários ambientes por meio dessa ação pode resultar em consequências irreversíveis para os biomas que habitam estes locais (PERON *et. al*, 2009).

Os organismos vivos estão frequentemente expostos à substâncias mutagênicas que podem causar danos celulares. Estes danos podem afetar os processos vitais como a duplicação e a transcrição gênica, bem como alterações cromossômicas, levando a processos cancerosos e morte celular. Pelo fato de causarem lesões no material genético, essas substâncias são conhecidas como genotóxicas (Costa & Menk, 2000).

Utilizando-se de células meristemáticas de *Allium cepa*, é possível conhecer o potencial mutagênico, estimado pela frequência de aberrações e quebras cromossômicas indicando riscos de aneuploidia e fornecendo valiosas informações em relação à avaliação de amostras ambientais (Rank & Nielsen, 1993).

A bacia hidrográfica do Rio Guaribas é de grande importância com relação à captação de águas para o abastecimento, desenvolvimento de atividades agropecuárias e turismo ecológico da grande maioria das cidades do estado do Piauí. Entretanto, nesse ambiente, devido ao desmatamento desenfreado, consequência da rápida colonização e do contínuo crescimento urbano tem-se registrado gradativas alterações ambientais, as quais são refletidas sobre o ciclo hidrológico local (Projeto Rio Guaribas Vivo, 2007).

Portanto, sabendo-se da grande importância deste recurso hídrico perante a população local e da ação antropogênica no mesmo, este estudo teve como objetivo a verificação do grau de citotoxicidade e mutagenicidade, conjuntamente com análise dos aspectos físico-químicos das águas do Rio Guaribas localizado no município de Picos, com o intuito de analisar o grau de poluição do rio como também observar a presença de mutagênicos liberados por essa ação antropogênica.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Pontos de amostragem

Para caracterização das condições do rio Guaribas foram definidos 05 pontos amostrais igualmente distantes e distribuídos ao longo do rio: P1 - córrego antes da cidade de Picos (município de Sussuapara) ( $07^{\circ} 03' 864''$  S e  $41^{\circ} 25' 788''$  W); P2, córrego próximo a prefeitura ( $07^{\circ} 04' 964''$  S e  $41^{\circ} 27' 879''$  W); P3, córrego Passagem das Pedras ( $07^{\circ} 05' 3135''$  S e  $041^{\circ} 28' 007''$  W); P4, córrego no bairro Canto da Várzea ( $07^{\circ} 05' 487''$  S e  $41^{\circ} 28' 678''$  W) e; P5, ponto depois da cidade de Picos (município de Aroeira) ( $07^{\circ} 06' 047''$  S e  $41^{\circ} 29' 145''$ ). Os pontos de coleta P1, P5 localizam-se em regiões fora da cidade. Já os pontos P2, P3e P4 estão localizado em regiões urbanas, com água proveniente de pequenos córregos que recebe efluentes de esgotos domésticos e dejetos hospitalares e locais onde há a presença de populações ribeirinhas. A localização dos cinco pontos amostrais está mostrada na figura 01.

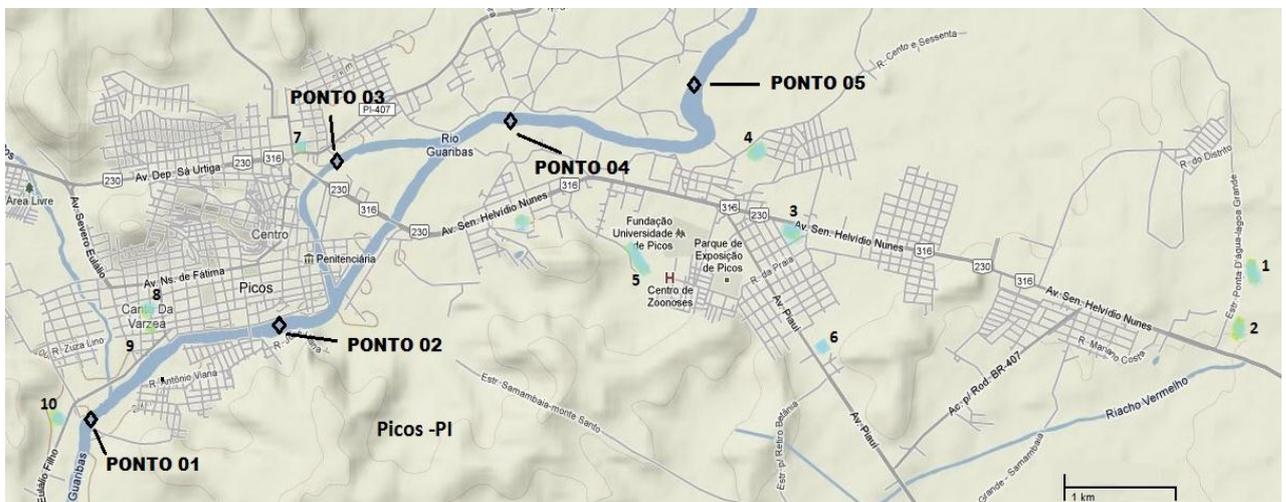


Figura 01: Localização dos pontos avaliados no rio Guaribas, Picos, Piauí. Fonte: <http://maps.google.com/maps> (Adaptado). 2013

As coletas consistiram de amostragem de água superficial, acondicionadas em 04 frascos plásticos para cada ponto de coleta, armazenados com aeração e levadas para o Laboratório de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada a Saúde e Meio ambiente (NUPBSAM). Um (01) frasco plástico contendo a água coletada foi utilizada nos experimentos de toxicidade com *Allium cepa* e os outros três frascos foram armazenados durante vinte e quatro horas em

local refrigerado para posterior análise físico-química. Foi realizada uma única coleta para cada ponto sendo feito em Janeiro de 2014 considerado período chuvoso na região.

## **2.2 Parâmetros físico-químicos**

No momento da coleta alguns dados físico-químicos foram coletados utilizando aparelhos de medição específicos para tais fins: Condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ); Sólidos Dissolvidos totais (ppm); pH; Oxigênio dissolvido (ppm); Oxigênio saturado (%); Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ); Profundidade (cm); Outros parâmetros foram determinados pelo Laboratório Central de Saúde Pública "Dr Costa Alvarenga" – Lacen, do estado do Piauí, Brasil, os parâmetros físico-químicos analisados em laboratório foram: Turbidez (UNT); Coliformes termotolerantes (Colif.)(NMP/100 mL); Cor (UHz); Nitrato (mg/L); Nitrito (mg/L); Sulfato (mg/L); Fluoreto (mg/L); Ferro (mg/L) e Cloro (mg/L). As análises do Lacen-PI foram feitas através do espectrofotômetro modelo DR 2500, ODYSSEY – HACH.

## **2.3 Obtenção de células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* para análise citogenética**

Para a realização deste trabalho foram adquiridas cebolas de uma fonte comercial e colocadas para enraizar em copo descartável de 50 mL com água destilada, à temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ), aerada, até obtenção de raízes com cerca de 1 a 1,5 cm de comprimento.

Para a análise de cada ponto foi utilizado três cebolas, estas foram adicionadas a água do rio Guaribas no copo descartável sendo identificadas de acordo com cada ponto de coleta. Antes de iniciar o experimento foi coletada e fixadas algumas cebolas que serviram para o próprio controle (0h) do bulbo, em seguida as raízes foram colocadas nos seus respectivos tratamentos.

Após o tratamento controle (0h), as raízes foram tratadas no período de 24, 48 e 72 horas, coletadas e depois fixadas, deixadas no período de 24 horas a temperatura de  $10^{\circ}\text{C}$ . Sendo que as cebolas eram devolvidas a cada coleta aos seus referidos locais. Os tempos de exposição (24, 48 e 72h) foram escolhidos com o intuito de se avaliar uma possível alteração citotóxica e mutagênica nas células em análise.

No frasco de cada bulbo foram colocados 40 ml de água do rio Guaribas, ordenadas de acordo com os pontos de coletas, tendo-se o cuidado de verificar se todas as raízes estavam em contato adequado com a solução em estudo. A fixação das raízes se deu em Carnoy 3:1

(etanol: ácido acético), a temperatura ambiente, por 24 horas. Para cada coleta de raiz, retirou-se, em média, três raízes por bulbo.

## **2.4 Preparo e leitura das lâminas e análise dos dados**

As lâminas foram feitas seguindo o protocolo proposto por Guerra & Souza (2002) com algumas modificações. Cada lâmina foi corada com duas gotas deorceína acética a 2% e analisadas em microscópio óptico, em objetiva de 40X. Para cada bulbo analisou-se 1.000 células, totalizando 3.000 células para cada controle e tempo de exposição.

Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Foi calculado o número de células em intérfase e em divisão de cada controle e tempo de exposição e determinado o índice mitótico. Avaliou-se também o potencial mutagênico das amostras de águas dos pontos coletados do rio Guaribas por meio do número de células micronucleadas, de metáfases colchícnicas, pontes anáfasicas e telofásicas, amplificações gênicas, células com aderências, brotos nucleares e anáfases multipolares. A análise estatística de citotoxicidade dos dados foi realizada pelo teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), com nível de probabilidade  $<0.05$ , por meio do software estatístico BioEstat 3.0. Os resultados estatísticos de mutagenicidade foram obtidos a partir de ANOVA, com pós teste de tukey por meio do software Statistica 8.0.

## **3 RESULTADOS**

### **3.1 Análise dos parâmetros físico-químicos**

A partir da análise dos parâmetros físico-químicos obtidos no momento da coleta e dos dados disponibilizados pelo Laboratório do LACEN (Tabela 1) e sua comparação com os índices propostos como aceitáveis pela resolução CONAMA 357/2005 para um ambiente lótico de Classe 2, observa-se que os parâmetros: condutividade, cor, oxigênio dissolvido (OD), Fósforo Total (PT) e Cloro apresentaram valores fora do espectro aceito pela legislação em pelo menos quatro pontos amostrais. Tendo o ferro e a turbidez diferindo do aceitável pela legislação em pelo menos um ponto amostral. Todavia, parâmetros como sólidos dissolvidos, amônia ( $\text{NH}_3$ ), Nitrato ( $\text{NO}_3$ ), Nitrito ( $\text{NO}_2$ ), Fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), Sulfato ( $\text{SO}_4^-$ ), e Fluoreto apresentaram valores aceitos pela legislação nos pontos amostrais coletados.

**Tabela 1.** Parâmetros físico-químicos das amostras de água coletadas no Rio Guaribas. Considera-se P1 (Antes da cidade, Município de Sussuapara), P2 (Dentro da cidade, Prefeitura), P3 (Dentro da cidade, Passagem das Pedras), P4 (Dentro da cidade, Bairro Canto da Várzea) e P5 (depois da cidade, município de Aroeira).

Parâmetros físicos-químicos	P1	P2	P3	P4	P5	VP
Condutividade	261 $\mu$ s*	290 $\mu$ s*	328 $\mu$ s*	355 $\mu$ s*	406 $\mu$ s*	100 $\mu$ s
Sólidos dissolvidos totais	126ppm	145ppm	163ppm	177ppm	203ppm	500mg/L
pH	7.53	7.35	7.25	7.38	7.57	6 a 9
OD	4,38ppm*	2,00ppm*	2,20ppm*	2,23ppm*	2,52ppm*	> 5 ppm
Temperatura	27,2 °C	27,6 °C	28,2 °C	26,5 °C	28,9 °C	-
Oxigênio saturado	57,7%	23,4%	28,4%	25,0%	32,3%	-
Profundidade	72 cm	21 cm	51 cm	30 cm	17 cm	-
Cor	29 UHz	153 UHz*	85 UHz*	95 UHz*	387 UHz*	< 75 UHz
Turbidez	4,99 NTU	4,49 NTU	4,70 NTU	4,66 NTU	30,2 NTU*	< 5 NTU
NH <sub>3</sub>	0,028	0,180	0,164	0,252	0,422	2 mg/L
Nitrito	0,0 mg/L	0,0 mg/L	0,01 mg/L	0,01 mg/L	0,03 mg/L	1,0 mg/L
Nitrato	0,0 mg/L	0,4 mg/L	0,3 mg/L	0,2 mg/L	5,6 mg/L	10,0 mg/L
PT	0,04 mg/L	0,147 mg/L*	0,146 mg/L*	0,195 mg/L*	0,488 mg/L*	0,1 mg/L
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0,013 mg/L	0,07 mg/L	0,07 mg/L	0,09 mg/L	0,04 mg/L	-
SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0,0 mg/L	250 mg/L				
Fluoreto	0,38 mg/L	0,33 mg/L	0,52 mg/L	0,35 mg/L	0,17 mg/L	1,4 mg/L
Ferro	0,06 mg/L	0,15 mg/L	0,13 mg/L	0,43 mg/L*	0,57 mg/L*	0,3 mg/L
Cloro	0,04 mg/L*	0,13 mg/L*	0,08 mg/L*	0,06 mg/L*	0,41 mg/L*	0,01 mg/L

VP, valor permitido para ambientes lóticos (Resolução CONAMA 357/2005, estabelecido para águas doces classe 2). \* Valores acima do estabelecido (Resolução CONAMA 357/2005 para águas doces classe 2).

A tabela 02 mostra o número de células em interfase e em diferentes fases do ciclo celular e os valores dos índices mitóticos obtidos de células de *Allium cepa* tratadas com água destilada (CO) e águas provenientes de diferentes pontos do rio Guaribas com tempo de exposição de 24, 48 e 72hs. Na descrição da tabela 02, os valores significantes de  $\chi^2$  também foram mostrados.

As amostras de água provenientes dos cinco pontos de coleta, em relação ao tempo de exposição estudados 24, 48 e 72h, foram todas significantes para alterar o índice de divisão celular quando comparado com os seus controles. Entre os tempos de exposição, tem-se que todos diferem entre si para todos os cinco pontos analisados. Os valores de inibição do IM foram altos, especialmente quando o tempo de exposição foi longo.

Tabela 02: Número Total de células analisadas em raízes de *Allium cepa* tratadas com água destilada (Controle negativo) e águas provenientes de diferentes pontos do rio Guaribas com tempo de exposição de 24, 48 e 72hs. Foram analisadas 3.000 células para cada tratamento.

TR	TE	Células Indiferenciadas/ Intérfase	P	M	A	T	Células em Divisão	IM (%)
P1	CO	1790	1120	35	28	27	1210	40,33
	TE 24h	2052	903	16	20	8	947	31,56a
	TE 48h	2516	462	0	3	2	467	15,56ab
	TE 72h	2812	167	1	3	3	174	5,8ac
P2	CO	1691	1236	31	23	19	1309	43,63
	TE 24h	2035	923	15	17	10	965	31,66a
	TE 48h	2545	443	4	4	1	452	15,06ab
	TE 72h	2795	159	0	2	3	164	5,47ac
P3	CO	1721	1196	32	22	29	1279	42,63
	TE 24h	2061	903	10	15	8	936	31,20a
	TE 48h	2573	419	3	0	1	423	14,10ab
	TE 72h	2813	151	0	2	2	155	5,17ac
P4	CO	1949	1017	15	11	8	1051	35,03
	TE 24h	2079	873	18	19	10	920	30,66a
	TE 48h	2591	402	1	3	1	407	13,57ab
	TE 72h	2867	132	0	0	2	134	4,47ac
P5	CO	1711	1207	30	27	25	1289	42,97
	TE 24h	2118	840	19	17	6	882	29,40a
	TE 48h	2610	381	0	1	0	382	12,73ab
	TE 72h	2863	111	0	3	5	119	3,97ac

Os valores seguidos de letras diferem significativamente com 0,05 de probabilidade. a: diferem significativamente do Controle (CO); b: 48h diferem significativamente de 24h; c: 72h difere significativamente de 24 e 48h. Teste  $\chi^2$ .

Na tabela 03, tem-se o número de células com Micronúcleos, metáfases colchicínicas, retardos anafásicos e ampliações e o total de aberrações cromossômicas presentes nas células do tecido meristemático de *Allium cepa* tratadas com diferentes amostras de águas provenientes de pontos ao longo do rio Guaribas em diferentes tempos de exposição.

Foram encontrados resultados significantes apenas no TE 72h nos pontos P2 e P3 quando comparados com os dois controles (CO e CP). Para os pontos P2 e P3, o TE 72h foi também

significante em relação aos outros TE no mesmo ponto analisado. Em relação aos outros pontos P4 e P5, não foi observado diferenças significantes para alterações cromossômicas quando comparado com o seu controle em diferentes TE, apesar de ocorrer a presença de alguns tipos alterações cromossômicas.

Quando comparado o total de danos cromossômicos entre os 05 pontos analisados, observou-se que não houve diferença significativa entre eles, porém quando comparados o mesmo tempo de exposição entre os pontos, constatou-se que para o TE 48h, os pontos P2, P3, P4 (dentro da cidade) e P5 (após a cidade) diferiram significativamente do P1 (antes da cidade). Para o TE 72hs, os pontos P2 e P3 diferiram significativamente dos pontos P1, P4 e P5 com 0,05 de probabilidade.

Tabela 03: Número de células com MN (Micronúcleo), MC (metáfases colchicínicas), RA (retardo anafásico) e APM (amplificações) e total de células aberrantes tratadas com água destilada (Controle negativo) e águas provenientes de diferentes pontos do rio Guaribas com tempo de exposição de 24, 48 e 72hs. Para cada tratamento foram analisadas 3.000 células.

Pontos	ET	MN	MC	RA	AMP	Total de células aberrantes
P1	CO	1	0	0	0	1
	24h	0	0	1	0	1
	48h	8	9	0	0	17
	72h	4	4	2	0	10
	CP	44	16	2	0	56a
P2	CO	1	0	0	0	1
	24h	0	0	0	0	1
	48h	0	3	0	0	3
	72h	3	23	12	1	39ab
	CP	44	16	2	0	56ab
P3	CO	1	0	0	0	1
	24h	1	2	0	0	3
	48h	4	0	0	0	4
	72h	9	21	13	3	46ab
	CP	44	16	2	0	56ab
P4	CO	1	0	0	0	1
	24h	1	0	0	0	1
	48h	1	0	0	0	1
	72h	7	0	0	1	8
	CP	44	16	2	0	56a
P5	CO	1	0	0	0	1
	24h	0	0	0	0	1
	48h	5	3	0	0	8
	72h	1	5	3	0	9
	CP	44	16	2	0	56a

Os valores seguidos de letras diferem significativamente com 0,05 de probabilidade. a: diferem significativamente do Controle (CO); b: 72h e CP difere significativamente de 24 e 48h no mesmo ponto analisado. ANOVA com pós-teste de Tukey.

## 4 DISCUSSÃO

A análise dos resultados físico-químicos das amostras de águas coletadas em diferentes pontos ao longo do rio Guaribas no período chuvoso revelou que a mesma possui parâmetros (condutividade, cor, Oxigênio dissolvido, Fósforo Total, Cloro, Ferro e Turbidez) não aceitáveis de acordo com Resolução CONAMA 257/2005, caracterizando a presença da ação antropogênica nesse tipo de ecossistema.

A variável condutividade elétrica representa medida indireta da concentração de poluentes, podendo ajudar a detectar fontes poluidoras dos ecossistemas aquáticos e fornecer dados sobre o metabolismo do ambiente e sobre fenômenos que ocorram na sua bacia de drenagem (Esteves, 2011). Os valores deste parâmetro apresentavam - se superiores aos 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$  que é valor limite indicativo de ambientes impactados (CETESB 2011).

A adição de matéria orgânica nos cursos d'água consome oxigênio dos mesmos, através da oxidação química e principalmente da bioquímica, via respiração dos microorganismos, depurando assim a matéria orgânica. A quantidade de alimento (esgoto ou outros despejos orgânicos assimiláveis) lançada ao corpo d'água deve ser proporcional à sua vazão ou ao seu volume, isto é, à sua disponibilidade de oxigênio dissolvido. Assim, a poluição orgânica de um curso d'água pode ser avaliada pelo decréscimo da concentração de oxigênio dissolvido e/ou pela concentração de matéria orgânica em termos de concentração de oxigênio necessário para oxidá-la (Valente et al., 1997).

No presente estudo, em todos os pontos analisados, o OD estava abaixo do valor aceitável pela legislação. Analisando por ponto de coleta, observa-se que o P1 (antes da cidade) é o maior valor observado, próximo ao valor aceitável, todavia, os pontos P2, P3, P4 (dentro da cidade) e P5 (após a cidade), foram observados valores muito baixos de OD, confirmando que nesses locais há uma maior descarga de matéria orgânica, oriundos principalmente de esgotos domésticos da população ribeirinha. Os baixos valores de OD decorrem do aporte de grandes cargas de matéria orgânica e resíduo industrial (Birungi *et al.* 2007, CETESB 2011, Gertel *et al.* 2003). Alto teor de matéria orgânica pode levar à completa depleção do oxigênio na água, provocando sérias alterações sobre a comunidade aquática (CETESB 2011, Guerra 2009).

Os índices de Fósforo Total para os pontos analisados também se apresentou elevados. Altas concentrações de fósforo estão associadas com a eutrofização, pois o fósforo é considerado nutriente limitante para a produção primária no crescimento do fitoplâncton, por

exemplo, em lagos tropicais (Huzsar 2006). O fósforo é oriundo, principalmente, de descargas de esgotos sanitários, efluentes industriais e drenagem agrícola (CETESB 2011).

A cor e a turbidez são parâmetros físicos importantes para caracterizar as águas naturais. As suas aplicações nos estudos e fenômenos que ocorrem nos ecossistemas aquáticos e de caracterização e controle de qualidade de águas para abastecimento público e residuárias, tornam as características físicas indispensáveis à maioria dos trabalhos envolvendo qualidade de águas e estudos de poluição (Piveli 1996). Em todos os pontos analisados, com exceção ao P1, o parâmetro cor estava fora do padrão permitido juntamente com P5 para Turbidez, isso se deve muito provavelmente pela liberação, por parte dos esgotos sanitários, de matéria orgânica em estado coloidal no qual reduz a intensidade da penetração da luz.

Em relação aos íons analisados, Cloro e Ferro, observou-se valores não aceitáveis. Cloro em todos os pontos analisados e ferro nos dois últimos pontos. Um conjunto específico de sais, normalmente dissolvidos na água, confere-se o nome de cloretos; suas variações e sua presença é indicação de provável poluição (May 2004). Em relação ao Ferro, seus íons também são muito importantes para detecção de impactos antrópicos nos ecossistemas aquáticos, assim como são muito utilizados para o enquadramento dos corpos d'água nas classes de águas definidas pelo CONAMA. Os valores de cloro e ferro encontrados nos pontos analisados são, sem dúvidas, dados adicionais que mostram a ação humana no rio Guaribas.

A técnica utilizada para danos citogenéticos no presente trabalho foi teste de *Allium cepa* que se fundamenta na avaliação de citotoxicidade e genotoxicidade em amostras de resíduos, solo e efluentes, que indiquem a presença de poluentes ambientais. Observou-se com a técnica realizada que as amostras de água provenientes dos cinco pontos de coleta mostrou uma ação citotóxica significativa para todos os tempos de exposição analisados, ressaltando que na medida que aumentou o tempo de exposição, essa ação citotóxica aumentou também de forma significativa. Em relação à mutagenicidade foram obtidos resultados significantes nos Pontos P2 e P3 (dentro da cidade) no tempo de exposição 72hs.

Outros trabalhos utilizando a mesma técnica com os mesmos objetivos foram realizados em rios brasileiros. Um exemplo de estudo também de um rio na região Nordeste foi feito por Egito (2006), que analisando cinco pontos do rio Pitimbu, RN observou citotoxicidade para dois dos cinco pontos estudados, além disso, todas as amostras de água do rio induziram aumento na frequência de aberrações cromossômicas e/ou de MN. Trabalhos semelhantes foram feitos por Henriques, 2006; Oliveira *et al.*, 2011; Marcon, 2011, todos utilizando *Allium cepa* para biomonitoramento de rios brasileiros.

O presente estudo foi realizado no período chuvoso. Estudos realizados por Souza & Fontanetti (2006), em rio, apresentaram maiores índices de alterações citotóxicas e mutagênicas em período de reduzido nível de água, indicando influência da sazonalidade e precipitação. Provavelmente, realizando o mesmo estudo no rio Guaribas no período de seca, os valores abióticos que medem o nível de poluição e a concentração de mutagênicos devam ser maiores e mais destacados, ressaltando o verdadeiro potencial citotóxico e mutagênico dos poluentes dando assim uma ideia melhor do nível de poluição que se encontra neste rio estudado. Exemplo de estudo utilizando uma escala temporal foi observado nos trabalhos de Dias et al., 2012; Matsumoto et al., 2006; Vilella, 2006 onde todos obtiveram resultados abióticos, citotóxicos, mutagênicos mais significantes para o período de seca quando comparados ao período chuvoso.

## 5 CONCLUSÃO

As ações citotóxicas e mutagênicas observadas pela técnica de *Allium cepa*, utilizada como parâmetro biótico, adicionadas aos resultados abióticos observados sugerem que a rio Guaribas, Picos -PI apresenta uma ação antropogênica considerada, principalmente quando se remete aos dados coletados no período chuvoso, já que em períodos de seca, a ação antrópica deva se apresentar mais evidente. Essa ação antrópica deve está liberando grandes quantidades de substâncias com potencial citotóxico e mutagênico. Isso pode se demonstrado pela presença do ferro, íon considerado como medida de poluição e com potencial mutagênico e que foi observado fora dos valores aceitáveis em pontos dentro e fora da cidade.

O ponto P1 (antes da cidade) foi o ponto que se apresentou menos impactado, já os pontos P2, P3 e P4 dentro da cidade e o P5 após a cidade tiveram resultados inversos. Assim, A poluição observada comprovada principalmente pelos dados abióticos, está diretamente relacionada com a ação humana sendo causada pela liberação indiscriminada de esgotos oriundos da população ribeirinha, efluentes de hospitais e pequenas indústrias onde a concentração é maior dentro e fora de Picos.

Apesar dos resultados adquiridos nesse estudo, o rio Guaribas continua sendo usado pela população seja de forma direta ou indireta, ressaltando-se, nesse caso, a necessidade de um estudo mais aprofundado de biomonitoramento das águas deste rio que tem para região Centro/Sul do Piauí uma fundamental importância socioeconômica e ecológica. Além disso, o biomonitoramento se faz necessário para preservar a saúde dos moradores que utilizam esse

tipo de água sem contar da necessidade de conscientização ambiental para tentar minimizar essa ação antropogênica indiscriminada.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, E. J. A. MORAIS, J. O. R., & SOUZA, P. R. & SABOIA-MORAIS, S. M.T. 2001. Efeito de poluentes químicos cumulativos e mutagênicos durante o desenvolvimento ontogenético de *Poecilia vivípara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). *Acta Scientiarum*, , 23 (2): 391-399.
- ARCOVA, F. C. S., CESAR, S. F. & CICCIO, V. 1993. Qualidade da água e dinâmica de nutrientes em bacia hidrográfica recoberta por floresta de mata atlântica. *Revista do Instituto Florestal*, São Paulo, v.5, n.1, p.1-20.
- BAECELLOS, C. M. 2006. *Avaliação da qualidade da água e percepção higiênico-sanitário na área rural de Lavras, Minas Gerais, Brasil*. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro.
- BARBOSA, M. P., NETO, J. M. M., FERNANDES, M. F. & SILVA, M. J. *Estudo da degradação das terras – municipais de Picos – PI XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*, Anais Florianópolis, Brasil, INPE, p. 4357- 4363.
- BIRUNGI, Z., MASOLA, B., ZARANYIKA, M.F., NAIGAGA, I. & MARSHALL, B. 2007. Active biomonitoring of trace heavy metals using fish (*Oreochromis niloticus*) as bioindicator species. The case os Nakiubo wetland along Lake Victoria. *Physics and Chemistry of the Earth*, 32: 1350-1358.
- CARITA, R. & MARIN-MORALES, M. A. 2008. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. *Chemosphere*. 72: 722-725.
- CARVALHO, A. R., SCHLITTLER, F. H. M. & TORNISIELO, V. L. 2000. *Relações da atividade gropecuária com parâmetro físicos químicos da água*. química nova, São Paulo. p 618.
- CESTEB. 2011. *Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo*. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>. Acessado em: 11 fev. 2014.
- CONNOR, J. A. & FERGUNSON. M. A. 1993. Essential Medical Genetics. *Smith Blackwell Scientific Publications*. London, 260 p.
- COSTA R. M. A. & MENK, C. F. M. 2000. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. *Biotecnologia: ciência e desenvolvimento*. p. 24-26.
- DIAS, M. C., DUARTE, I. D., DAVID, J. A. O. & MATSUMOT, S. T. 2012. A qualidade da água da Lagoa Jacuném (Espírito Santo, Brasil) em relação a aspectos genotóxicos e mutagênicos, mensurados respectivamente pelo ensaio do cometa e teste do micronúcleo em peixes da espécie *Oreochromis niloticus*. *R. bras. Bioci.*, Porto Alegre, v. 10, n. 2, p. 211-219.
- EGITO, L. C. M. 2006. Análise da Presença de agentes mutagênicos nas águas do Rio Pitimbu/RN. 55 f. Tese – (Pós-Graduação em Ciências da Saúde) – Universidade federal do Rio do Norte, Natal, 2006.

- EGITO, L. C. M., MEDEIROS, M. G., MEDEIROS, S. R. B. & AGNEZ-LIMA, L. F. 2007. Cytotoxic and genotoxic potential on surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirao Preto, v.30, n.2, p.435-441.
- ERDTMANN, B. Genética Toxicológica. In: ERDTMANN, B., HENRIQUES, J.A.P., SILVA, J. 2003. *Genética Toxicológica*. Porto Alegre: Editora Alcance, p.28-35.
- FERNANDES, T.C.C. *Investigação dos efeitos tóxicos, mutagênicos e genotóxicos do herbicida trifluralina, utilizando Allium cepa e Oreochromis niloticus como sistemas testes*. 2005. 212f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2005.
- FERNANDES, T.C.C., MAZZEO, D.E.C. & MARIN-MORALES, M.A. 2007. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, San Diego, v.88, n.3, p. 252-259.
- FILHO, J. S. S. & GOMES, J. M. A. 2004. *Indicadores de bem-estar social nos municípios da bacia hidrográfica do Rio Guaribas – Piauí*. Picos, Piauí.
- FISKESJÖ, G. 1985. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, Lund, v. 102, p. 99-112.
- FREITAS, M. A. S. 2002. *Usos múltiplos da água na bacia hidrográfica do Rio Guaribas (estado do Piauí)*. Picos, Piauí.
- GRANT, W. F. 1999. Chromosome aberration assays in *Allium*. *Mutation Research*, 99: 273-291.
- GRISOLIA, C. K. OLIVEIRA, A. B. B., BONFIM, H. & KLAUTAU-GUIMARAES, M. N. 2005. Genotoxicity evaluation of domestic sewage in a municipal wastewater treatment plant. *Genetics and Molecular Biology*. Ribeirao Preto, v.28, n.2, p.334-338.
- GUERRA, M. & SOUZA, M. J. 2002. *Como observar os cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana*. Ribeirão Preto: FUNPEC.
- HUZSAR, V.L.M. 2006. Nutrient - chlorophyll relationships in tropical - subtropical lakes: do temperate models fit? *Biogeochemistry*, 79: 239-250.
- LEME, D. M. & MARIN-MORALES, M. A. 2007. *Avaliação da Qualidade de águas Impactadas por Petróleo por Meio de Sistema-Teste Biológico (Allium cepa) -Um Estudo de Caso*. Universidade Estadual Paulista (UNESP). 4o PDPETRO, Campinas, SP, p.21-24.
- LEME, D. M. & MARIN-MORALES, M. A. Chromosome aberration and Micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water — A case study. *Mutation Research*. Amsterdam, v.650, p.80-86, 2008.
- LIMA, E. B. N. R. *Modelagem integrada para gestão da qualidade da água na Bacia do Rio Cuiabá*. 2001. 184 f. Tese (Doutorado em Recursos Hídricos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

MARCON, A. E. 2011. Avaliação da Genotoxicidade e da qualidade das águas do Açude de Lucrécia/RN. Tese – (Pós-Graduação em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

MATSUMOTO, S. T. & MARIN-MORALES, M. A. 2004. Mutagenic potential evaluation of the water of a river that receives tannery effluents using the *Allium cepa* test system. *Cytologia*, Tokyo, v.69, n.4, p.399-408.

MATSUMOTO, S.T., MANTOVANI, M.S., MALAGUTTI, M.I.A., DIAS, A.L., FONSECA, I.C. & MARIN-MORALES, M.A. 2006. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology*, 29: 148-158.

MORAES, D. S. L. 2000. *Avaliação dos potenciais tóxicos, citotóxicos e genotóxicos de águas ambientais de Corumbá-MS em raízes de Allium cepa*. 2000. 158 f. Tese (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

MARGALEF, R. 1994. The place of epicontinental waters in global ecology. In: MARGALEF, R. *Limnology now: a paradigm of planetary problems*. Amsterdam: Elsevier Science. p.1-8.  
MATHEUS, C. E. & MORAES, A. J. de; TUNDISI, T.M.; TUNDISI, J.G. 1995. *Manual de análises limnológicas*. São Carlos: Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada, USP,. 62 p.

OLIVEIRA, L. M., BARBERIO, A. & VOLTOLINI, J. C. 2001. Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste *Allium cepa*. *Revista Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*: v. 6, n. 1,

PADRANGI, R. 1995. Alkaline single cell gel (comet) assay and genotoxicity monitoring using bullheads and carp. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, New York, v. 26, p. 345-356

PALHARES, J. C. P., SCANDOLERA, A. J., LUCAS JÚNIOR, J. & COSTA, A. J. *Monitoramento da qualidade da água do Córrego Jaboticabal através de parâmetros químicos*. In: WORKSHOP DE INTEGRAÇÃO DE INFORMAÇÕES DA BACIA HODROGRÁFICA DO RIO MOGI GUAÇU, 3. ,2000, Porto Ferreira. Anais... Porto Ferreira: Prefeitura Municipal de Porto Ferreira. p.43-4.

PALMA, G. M. S. *Diagnóstico ambiental, qualidade da água e índice de depuração do Rio Corumbataí - SP*. 1999. 155 f. Dissertação (Mestrado em Manejo Integrado de Recursos) - Centro de Estudos Ambientais, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1999.

PAVLICA, M., BESENDORFER, V., ROSA, J. & PAES, D. 2000. The citotoxic effect of wastewater from the phosphoric gypsum depot on common oak (*Quercus robur* L.) and shallot (*Allium cepa* var. *ascalonicum*). *Chemosphere*, Oxford, v. 41, p.1519-27.

PERON, A. P., CANESIN, E. A. & CARDOSO, C. N. V. 2009. *Potencial mutagênico das águas do Rio Pirapó (Apucarana, Paraná, Brasil) em células meristemáticas de raiz de Allium cepa L.* R. bras. Bioci., Porto Alegre, v. 7, n. 2, p. 155-159.

- PETERS, N. E & MEYBECK, M. 2000. Water quality degradation effects on freshwater availability: impacts to human activities. *Water International*, Urbana, v.25, n.2, p.214-21.
- PORTO, F. A., BRANCO, S. M. & LUCA, S. J. Caracterização da qualidade da água. In: PORTO, R.L. (Org.). *Hidrologia ambiental*. São Paulo: EDUSP, 1991. p.375-390.
- PROJETO RIO GUARIBAS VIVO. 2007. *Secretaria Municipal de Picos-PI*.
- RANK, J. & NIELSEN, M. H. 1993. A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. *Heredita.*, New Jersey, v. 118, n. 1, p. 49-53.
- SÁ, M. U. 2006. *Avaliação da Mutagenicidade das Águas do Canal São Gonçalo, Pelotas, RS, 2005*. 01 f. Monografia – (Bacharel em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 2006.
- RIBEIRO, L. R., SALVADORI, D. M. F. & MARQUES, E. K. *Mutagênese Ambiental*. 1 ed. Brasil: ULBRA, 2003. 355p.
- SANTOS, M. S.. 2009. *Bacia hidrográfica do Rio Guaribas, Piauí: Aspecto da Geomorfologia Fluvial*. IX Simpósio Nacional de Geomorfologia, Rio de Janeiro.
- SOUZA, T. S., FONTANETTI, C. S. 2006. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. *Mutation Research*, Leiden, v. 605, n. 2, p. 87-93.
- TAVARES, D.C. *Estudos da possível ação genotóxica do alcaloide boldina em sistemas de células de mamífero "in vitro" e "in vivo"*. 1991. 205f. Tese (Mestrado em Medicina) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade do Estado de São Paulo, Ribeirão Preto, 1991.
- UMBUZEIRO, G.A. & ROUBICEK, D.A.; Genotoxicidade Ambiental. In: ZAGATO, P. A. & BERTOLETTI, E. 2003. *Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações*. São Carlos: ima, p. 327-344.
- VILELA, I. V. 2006. *Avaliação do Potencial genotóxico de amostras ambientais da região hidrográfica da Bacia do Lago Guaíba*. 2006. 45 f. Tese – (Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande de Sul, Porto Alegre, 2006.
- VOGEL, E.W. 1982. *Assessment of chemically-induced genotoxic events. Prospectives and Limitations*. Leiden, The Netherlands: Universitaire Pers Leiden, vol.2, p. 24.
- PIVELI, R.P. 1996. *Qualidade da Água. Apostila do Curso de Especialização em Engenharia em Saúde Pública e Ambiental da Fac. Saúde Pública – USP*.
- VALENTE, J. P. S.; PADILHA, P. M.; SILVA, A. M. M. 1997. *Oxigênio dissolvido (OD), demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO) como parâmetros de poluição no ribeirão Lavapés/Botucatu – SP*. Eclét. Quím. vol.22 São Paulo.