

AVALIAÇÃO TOXICOGENÉTICA DO SEDIMENTO E DO ELUTRIATO DA BACIA DO RIO ITAPEMIRIM, POR MEIO DO BIOENSAIO COM *ALLIUM CEPA*

Raquel Santos Sacramento¹

Tatiana Silva Souza²

Recursos Hídricos e Qualidade de Água

Resumo

*Devido aos impactos ambientais causados pelo uso indiscriminado de agentes tóxicos, o objetivo deste trabalho foi analisar a qualidade de amostras de sedimentos e também de elutriato provenientes de oito diferentes pontos da bacia do rio Itapemirim através do bioensaio com *Allium cepa*. As coletas foram realizadas em datas próximas a época de aplicação de agrotóxicos. Em seguida, as amostras foram transferidas para o laboratório de Ecotoxicologia da UFES - Campus Alegre, onde foram realizadas as análises para a determinação dos índices de citotoxicidade, genotoxicidade e de mutagenicidade. As diferenças entre os resultados foram verificadas mediante o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, com posterior teste de Dunn ($p < 0,05$). Concluiu-se que as amostras de sedimentos e elutriato das duas campanhas induziram alterações citogenotóxicas e mutagênicas, indicativo de poluentes no ecossistema local.*

INTRODUÇÃO

A bacia hidrográfica do rio Itapemirim está localizada entre os meridianos 40°48' e 41°52' de Longitude Oeste e entre os paralelos 20°10' e 21°15' de Latitude Sul (Figura 1). Seu curso d'água é resultado da fusão de dois braços, o Rio Braço Norte Direito (RBND) cuja nascente é em Muniz Freire e o Esquerdo (RBNE), que nasce em Ibitirama, ambos no Espírito Santo, Brasil. A bacia também é a

¹ Graduada em Ciências Biológicas licenciatura pela Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Biologia – Campus Alegre. ladyrql@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo; Departamento de Biologia – Campus Alegre; tatianas.souza@hotmail.com

principal fonte de recurso hídrico do sul do Espírito Santo, sendo responsável por abastecer produções agrícolas, populações, indústrias e a economia local.

No entanto, a atividade humana tem afetado as águas da bacia do rio Itapemirim, por meio do despejo de esgoto sem tratamento prévio bem como do descarte de produtos industriais. Ainda, até o final da década de 40, vários pesticidas inorgânicos constituídos por metais tóxicos foram intensamente utilizados nas lavouras do estado do Espírito Santo. Tal prática foi incentivada pela chamada “Revolução Verde”: modernização agrícola dos meados do século XX responsável por moldar o perfil produtivo da principal atividade econômica capixaba, que por durante mais de um século viveu em função da cafeicultura (MÜLLER apud ALVAREZ, 2014). Embora apresente vantagens econômicas na agricultura, inúmeros trabalhos científicos apontam os impactos adversos dos pesticidas na saúde e no meio ambiente, uma vez que o uso abusivo desses agentes provocam contaminação da água subterrânea e superficial, degradação do solo e a perda da diversidade genética (FEIDEN, 2005).

Desse modo, o histórico de aplicações pretéritas de agrotóxicos e a presença de metais em algumas formulações de pesticidas atuais no estado do Espírito Santo justificam a necessidade de um estudo toxicogenético dos recursos hídricos da região da bacia do rio Itapemirim. Um dos organismos mais utilizados para análise toxicogenética de produtos químicos e amostras ambientais é *Allium cepa*, devido sua sensibilidade na detecção de compostos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos e, principalmente, pela similaridade das respostas obtidas neste sistema-teste com as observadas em linfócitos humanos e roedores (FISKESJÖ, 1985).

Um produto é classificado como citotóxico quando impede que células saiam da interfase ou aceleram a taxa de proliferação de modo anormal. Já os eventos de genotoxicidade incluem alterações cromossômicas e de proteínas que atuam no ciclo mitótico, induzindo alterações como c-metáfases, anáfases multipolares, pontes cromossômicas, células poliploides e aderência cromossômica (EL-SHAHABY et al., 2003). Já um agente pode ser tido como mutagênico quando sua ação é capaz de promover danos no material genético que não podem ser reparados pela célula e que são herdados pelas novas gerações celulares, caracterizando, assim, uma mutação (MARIN-MORALES, 2008).

Este trabalho é uma parte do projeto “Panorama das concentrações de metais tóxicos na região do Caparaó Capixaba e avaliação do risco de exposição humana”, que visa a análise integrada do risco da exposição humana às substâncias tóxicas depositadas ao longo do tempo em diferentes matrizes ambientais da Bacia do Rio Itapemirim (solo, plantações de café, água, sedimento), ictiofauna e urina de agricultores. Esse projeto contou com a análise das concentrações de metais na água e no sedimento da bacia hidrográfica. O presente estudo teve como objetivo analisar a taxa de proliferação celular, a

genotoxicidade e a mutagenicidade do sedimento coletados em oito diferentes pontos da região (bacia do Rio Itapemirim), bem como de amostras realizadas com solubilização dos sedimentos (elutriato) por meio do bioensaio com *Allium cepa*. Desse modo, espera-se contribuir com informações sobre a qualidade dos corpos hídricos da região.



METODOLOGIA

Coleta de sedimento

Oito pontos da bacia do rio Itapemirim foram amostrados (Figura 1). A primeira coleta se deu de 26 a 28/07/2016 e a segunda de 30/01/2017 a 01/02/2017, em datas próximas a época de aplicação de agrotóxicos. Posteriormente, as amostras de sedimento coletadas foram transportadas até o Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, onde foram armazenadas em freezer até o início dos experimentos com *A. cepa*.

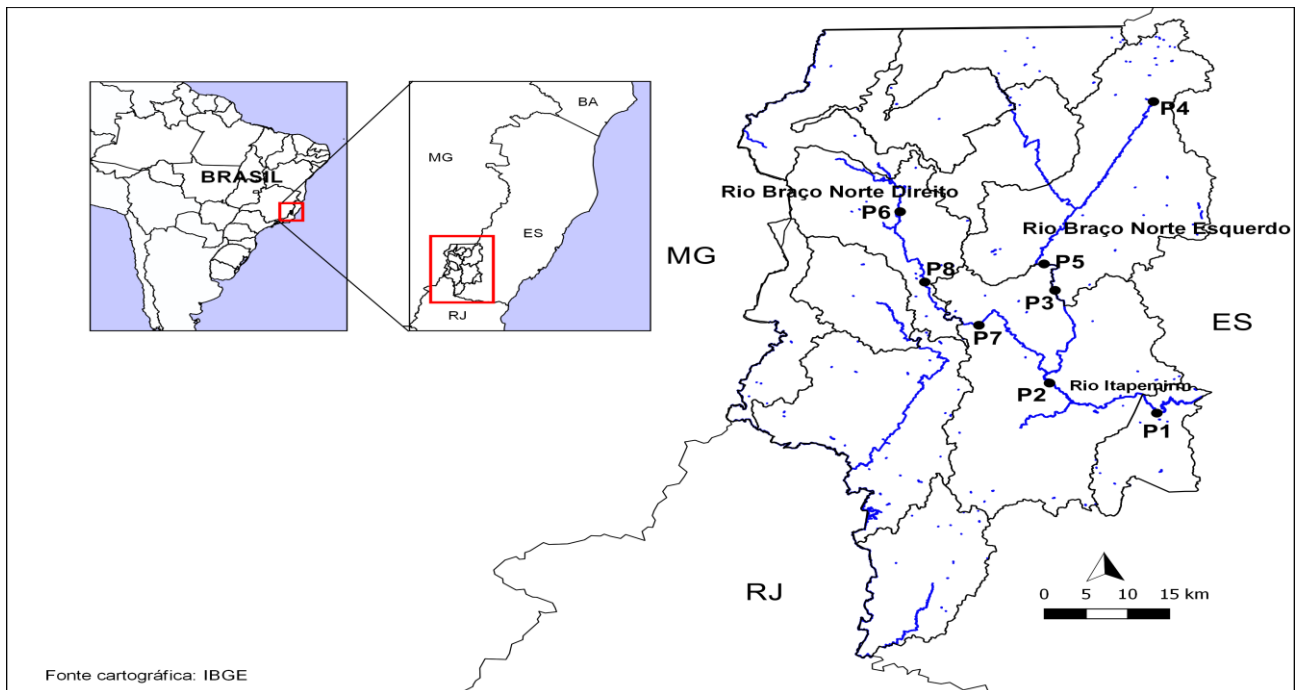


Figura 1. Pontos de coletas de sedimentos ao longo da Bacia do rio Itapemirim (região do Caparaó Capixaba).

Preparo do elutriato

Para obtenção do elutriato, seguiram-se as normas da ABNT NBR ISO 10006. Foram adicionados 250 g de amostra seca em 1000 ml de água destilada (proporção 1:4). A solução foi agitada

em baixa velocidade por 5 min e mantida em repouso por sete dias em temperatura ambiente. Passado esse período, o sobrenadante foi coletado e armazenado em geladeira.

Bioensaio com *A. cepa*

Sementes de *A. cepa* (variedade baia periforme) foram germinadas em placas de Petri com papel filtro embebido nas amostras (sedimento e elutriato). Água destilada foi utilizada como controle negativo e colchicina 0,025% como controle positivo. Após cinco dias, quando as radículas de *A. cepa* atingiram cerca de 1 a 2 cm, foram coletadas e fixadas em Carnoy I (metanol + ácido acético na proporção 3:1) e armazenadas em geladeira. Ao longo do desenvolvimento do subprojeto, as radículas foram hidrolisadas em HCl 1N a 60°C por 10 minutos e, posteriormente, submetidas ao reativo de Schiff por 2 horas, em local escuro. As pontas das raízes foram seccionadas em lâmina, coradas com carmim acético 2%, recobertas por lamínula e maceradas. O material foi analisado em microscópio de luz com aumento de 400 x. Por tratamento, 5000 células foram contabilizadas (500 células em 10 lâminas). O índice mitótico (células em divisão/total de células observadas x 100) foi calculado. Para o índice de genotoxicidade, realizou-se a contagem de células com anormalidades: anáfases multipolares, c-metáfases, células poliploides, aderências, perdas, quebras e pontes cromossômicas. Adicionalmente, micronúcleos foram contabilizados na região meristemática para o índice de mutagenicidade. A análise estatística foi realizada com o auxílio do software Bioestat 5.3. O teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, com posterior teste de Dunn ($p < 0,05$) foi utilizado para comparação dos resultados. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sedimento

Rio Itapemirim: na primeira coleta, as amostras de sedimentos do ponto P1 promoveram o aumento significativo ($p < 0,05$) do índice mitótico (Figura 2A) e de aberrações cromossômicas (Figura 2B). Na segunda coleta, os pontos P1 e P2 foram genotóxicos (Figura 2B). As amostras de sedimento não alteraram a frequência de micronúcleos no meristema radicular da cebola (Figura 2C).

Rio Braço Norte Esquerdo: as amostras de sedimento não alteraram o índice mitótico. Na primeira coleta, os pontos P3 e P5 (Figura 2B) induziram o aumento da frequência de alterações cromossômicas ($p < 0,05$) nas células de *A. cepa*. O ponto P4 apresentou atividade mutagênica (Figura 2C). Na segunda coleta, os pontos P3, P4 e P5 foram genotóxicos (Figura 2B). A frequência de

micronúcleos foi significativa para células de *A. cepa* expostas ao sedimento do ponto P3 da segunda coleta (Figura 2C).

Rio Braço Norte Direito: o índice mitótico não foi alterado. Na primeira coleta, as amostras de sedimentos dos pontos P6 e P8 induziram o aumento de aberrações cromossômicas (Figura 2B). Esses pontos também apresentaram atividade genotóxica na segunda coleta (Figura 2B). Ainda, nesse período, a frequência de micronúcleos foi significativa nos pontos P6, P7 e P8 (Figura 2C); sendo P7 e P8 os pontos com maior atividade mutagênica.

As alterações específicas mais reportadas nas análises da primeira coleta foram: poliploidia ($p < 0,05$) para P1, P5, P6 e P8 (Tabela 1) e núcleo lobado para P7 e P8 (Tabela 1). Já na segunda coleta, as alterações mais observadas foram poliploidia para os pontos P2, P3, P4, P5, P6 e P8 (Tabela 2) e aderência cromossômica para os pontos P2 e P4 (Tabela 2).

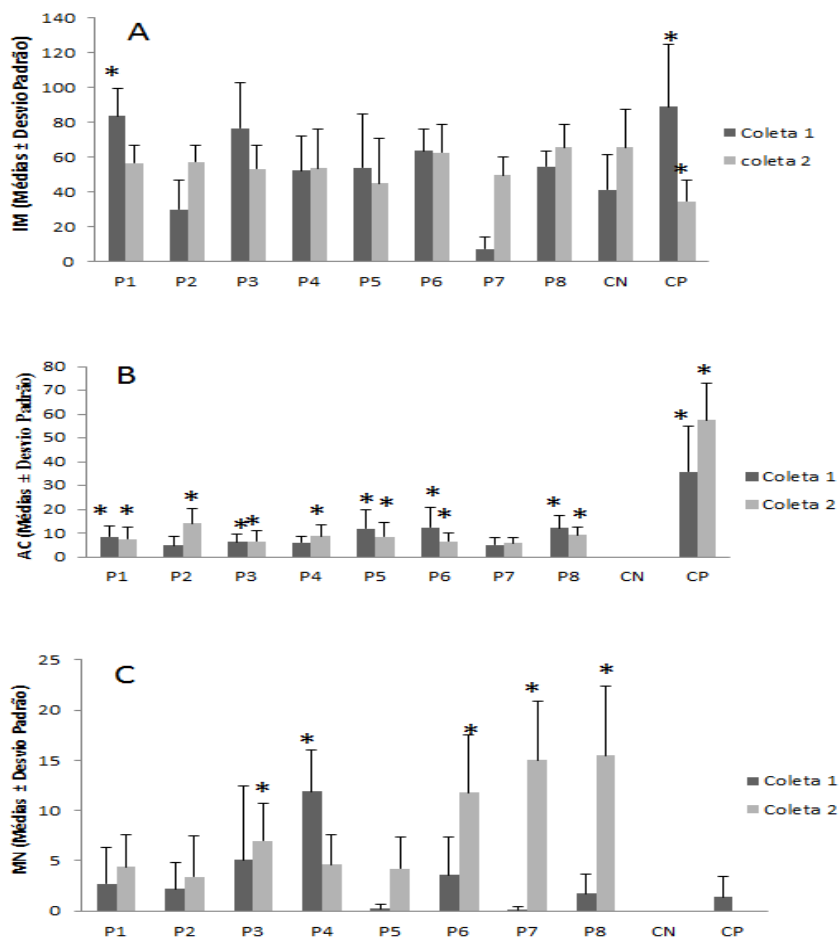


Figura 2. Análise do ciclo celular das células do meristema radicular de *A. cepa* expostas as amostras de sedimentos dos rios da Bacia do Itapemirim, região do Caparaó Capixaba. (A) Índice mitótico. (B) Índice de aberrações cromossômicas e (C) Incidência de células micronucleadas. *significativo em relação ao controle negativo – Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). P1 e

P2 são pontos amostrais no Rio Itapemirim, P3 - P5 no Rio Braço Norte Esquerdo e P6 - P8 no Rio Braço Norte Direito. CN corresponde ao controle negativo (água destilada) e CP ao controle positivo (colchicina 0,025%). Coleta 1: julho de 2016. Coleta 2: janeiro de 2017.

Tabela 1. Aberrações cromossômicas em *A. cepa*, após exposição a sedimentos da bacia do rio Itapemirim – coleta 1.

	Ad-C	Br	C-M	NH	NL	Pd-C	PP	Pt-C
P1	2,60±3,20	0,3±0,67	0,00±0,00	0,00±0,00	0,2 ±0,42	0,50±1,08	3,7±2,21*	1,20±1,48
P2	2,10±2,99	0,1±0,31	0,00±0,00	0,00 ±0,00	00,0±0,00	0,00±0,00	2,7±1,89	0,00 ±0,00
P3	1,30±1,63	0,8±0,91	0,90±1,29	0,00 ±0,00	1,5±0,97	0,00±0,00	1,8± 1,55	0,10 ±0,32
P4	1,10±1,10	0,2±0,42	0,70±1,29	0,00 ±0,00	0,1±0,31	0,30±0,67	3,2 ±1,62	0,40 ±0,52
P5	3,70±5,03	0,3±0,67	0,50±1,08	0,00±0,00	1,9± 2,02	0,00±0,00	5,6±2,37*	0,00±0,00
P6	3,60±5,37	0,5±0,97	0,80±1,32	0,00±0,00	0,90 ±0,99	0,00±0,00	5,4 ±2,67*	1,20±1,00
P7	0,40±0,69	0,7±1,15	0,00±0,00	0,00 ±0,00	2,8 ±1,54*	0,20±2,00	0,9±1,52	0,10 ±0,18
P8	2,00±1,82	0,2±0,24	0,90±0,99	0,00 ±0,00	2,9±2,60*	0,00±0,00	5,9±2,92*	0,30 ±0,67
CN	0,00±0,00	0,0±0,0	0,00±0,00	0,00±0,00	00,0±0,00	0,00±0,00	0,3 ±0,67	0,00 ±0,00
CP	13,00±6,79*	3,8±4,89*	22,5±20,63*	0,3±0,67	5,00 ±4,34*	0,00±0,00	4,4±2,72*	0,64±0,00

P1 e P2 são pontos de sedimentos amostrais no Rio Itapemirim, P3 - P5 no Rio Braço Norte Esquerdo e P6 - P8 no Rio Braço Norte Direito. CN corresponde ao controle negativo (água destilada) e CP ao controle positivo (colchicina 0,025%). Coleta 1: julho de 2016. Aberrações cromossômicas: Ad-C: aderência cromossômica. Br: broto nuclear. C-M: C-metáfase. NH: núcleo heteropícnótico. NL: núcleo lobulado. PP: poliploidia. Pt-C: ponte cromossômica. *significativo em relação ao controle negativo – Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Tabela 2. Aberrações cromossômicas em *A. cepa*, após exposição a sedimentos da bacia do rio Itaperirim – coleta 2.

	Ad-C	Br	C-M	NH	NL	Pd-C	PP	Pt-C
P1	2,90±2,99	0,20±0,42	0,00±0,00	0,00±0,00	0,40±0,69	0,00±0,00	3,90±2,33	0,10±0,32
P2	5,00±3,52*	0,70±1,05	0,80±1,23	0,00±0,00	1,00±1,33	0,70±1,25	5,60±3,60*	0,30±0,67
P3	0,80±1,03	0,40±0,84	0,90±1,10	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	4,40±3,24*	0,00±0,00
P4	2,80±2,78*	0,00±0,00	0,30±0,48	0,00±0,00	0,70±1,05	0,00±0,00	4,80±3,24*	0,20±0,63
P5	2,00±1,76	0,30±0,67	0,10±0,32	0,00±0,00	0,80±1,31	0,00±0,00	5,00±3,80*	0,30±0,95
P6	1,20±0,91	0,00±0,00	0,10±0,32	0,00±0,00	0,00±0,00	0,30±0,48	4,80±2,86*	0,30±1,00
P7	0,50±1,08	1,20±0,91	0,00±0,00	0,00±0,00	0,30±0,67	0,20±0,42	3,60±1,96	0,10±0,18
P8	1,10±1,10	0,20±0,47	0,20±0,42	0,00±0,00	0,30±0,67	0,00±0,00	7,30±3,13*	0,10±0,32
CN	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
CP	8,20±7,56*	0,10±0,31	0,80±4,04	26,3±12,5*	2,80±1,31*	0,30±0,67	9,90±6,10*	0,00±0,00

P1 e P2 são pontos de sedimentos amostrais do Rio Itapemirim, P3 - P5 no Rio Braço Norte Esquerdo e P6 - P8 no Rio Braço Norte Direito. CN corresponde ao controle negativo (água destilada) e CP ao controle positivo (colchicina 0,025%). Coleta 2: janeiro de 2017. Aberrações cromossômicas: Ad-C: aderência cromossômica. Br: broto nuclear. C-

M: C-metáfase. NH: núcleo heteropicnótico. NL: núcleo lobulado. PP: poliploidia. Pt-C: ponte cromossômica. *significativo em relação ao controle negativo – Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).



Elutriato

Rio Itapemirim: as amostras não alteraram o índice mitótico (Figura

3A). Na primeira coleta, os pontos P1 e P2 apresentaram atividade genotóxica (Figura 3B) e mutagênica (Figura 3C) em *A. cepa*. Enquanto que, na segunda coleta, a exposição ao ponto P2 (Figura 3C) resultou na frequência significativa de micronúcleos ($p < 0,05$).

Rio Braço Norte Esquerdo: todos os pontos da primeira coleta foram genotóxicos e mutagênicos ($p < 0,05$) para *A. cepa* (Figuras 3B e 4C). Já na segunda coleta, os pontos P4 e P5 promoveram o aumento da frequência de aberrações cromossômicas ($p < 0,05$) e os pontos P3 e P5 foram mutagênicos (Figura 3C) para raízes de *A. cepa*.

Rio Braço Norte Direito: na segunda coleta, as amostras de elutriato do ponto P6 inibiram a divisão celular ($p < 0,05$) (Figura 3A) em meristemas de *A. cepa*. Os pontos P7 e P8 induziram o aumento das taxas de alterações cromossômicas (Figura 3B) e de micronúcleos (Figura 3C) nestas células.

Na primeira campanha, as alterações mais reportadas foram poliploidia (pontos P3 e P7) e aderência cromossômica (pontos P3) (Tabela 3). Na segunda coleta, as alterações mais frequentes também foram aderência (ponto P5) e poliploidia (pontos P4, P5, P7 e P8) (Tabela 3).

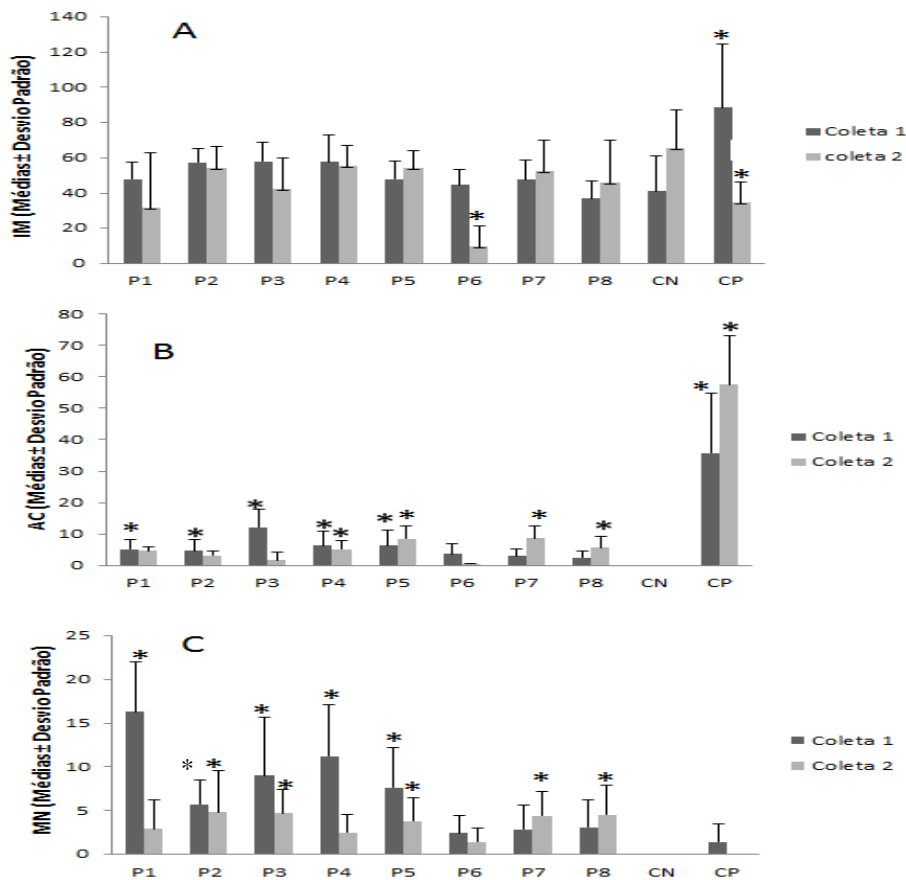


Figura 3. Análise do ciclo celular das células do meristema radicular de *A. cepa* expostas ao elutriato da bacia do rio Itapemirim, região do Caparaó Capixaba. (A) Índice mitótico. (B) Índice de aberrações cromossômicas e (C) Incidência de células micronucleadas. *significativo em relação ao controle negativo – Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). P1 e P2 são pontos amostrais no Rio Itapemirim, P3 - P5 no Rio Braço Norte Esquerdo e P6 - P8 no Rio Braço Norte Direito. CN corresponde ao controle negativo (água destilada) e CP ao controle positivo (colchicina 0,025%). Coleta 1: julho de 2016. Coleta 2: janeiro de 2017.

Tabela 3. Aberrações cromossômicas em *A. cepa*, após exposição elutriato da bacia do rio Itapemirim – coleta 1.

	Ad-C	Br	C-M	NH	NL	Pd-C	PP	Pt-C
P1	1,50±1,18	0,30±0,67	0,70±0,95	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1,80±0,92	0,80±1,03
P2	0,20±0,42	0,60±0,84	0,50±0,97	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	3,40±2,95	0,00±0,00
P3	4,20±2,15*	0,40±0,51	1,20±1,23	0,00±0,00	0,50±1,08	0,70±1,06	4,60±3,17*	0,50±1,27
P4	0,50±0,53	1,40±1,42	1,30±1,25	0,00±0,00	0,30±0,48	0,70±0,95	1,70±1,70	0,40±0,52
P5	1,10±1,60	0,90±0,87	1,00±1,15	0,00±0,00	0,20±0,63	1,20±1,40	1,70±1,42	0,20±0,42
P6	2,10±2,77	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,40±0,97	0,70±0,95	0,40±1,00
P7	0,20±0,63	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	2,70±1,95*	0,00±0,00
P8	0,40±0,84	0,10±0,50	0,20±0,63	0,00±0,00	0,30±0,48	0,00±0,00	1,40±0,97	0,00±0,00
CN	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,30±0,67	0,00±0,00
CP	13,00±6,80*	3,80±4,89*	22,5±20,63*	0,30±0,67	5,00±4,35*	0,00±0,00	4,40±2,72*	0,64±0,97

P1 e P2 são pontos de sedimentos amostrais do Rio Itapemirim, P3 - P5 no Rio Braço Norte Esquerdo e P6 - P8 no Rio Braço Norte Direito. CN corresponde ao controle negativo (água destilada) e CP ao controle positivo (colchicina 0,025%). Coleta 1: julho de 2016. Aberrações cromossômicas: Ad-C: aderência cromossômica. Br: broto nuclear. C-M: C-metáfase.

NH: núcleo heteropícnótico. NL: núcleo lobulado. PP: poliploidia. Pt-C: ponte cromossômica. *significativo em relação ao controle negativo – Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).



Tabela 4. Aberrações cromossômicas em *A. cepa*, após exposição elutriado da bacia do rio Itapemirim – coleta 2

	Ad-C	Br	C-M	NH	NL	Pd-C	PP	Pt-C
P1	0,50±0,71	0,20±0,42	0,10±0,32	0,00±0,00	0,10±0,31	0,00±0,00	3,70±5,31	0,00±0,00
P2	1,00±1,05	0,30±0,48	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,10±0,32	1,70±0,95	0,10±0,32
P3	0,10±0,32	0,00±0,00	0,10±0,32	0,00±0,00	0,40±0,69	0,00±0,00	0,70±1,34	0,30±0,67
P4	0,70±1,06	0,00±0,00	0,50±0,97	0,00±0,00	0,10±0,31	0,30±0,48	3,40±2,07	0,10±0,32
P5	3,00±1,63*	0,00±0,00	0,30±0,48	0,00±0,00	0,00±0,00	0,30±0,48	3,90±2,60*	1,00±1,05
P6	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,10±0,32	0,10±1,00
P7	0,70±0,82	0,00±0,00	0,50±0,53	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	7,30±3,37*	0,10±0,18
P8	0,80±0,79	0,00±0,00	0,50±0,71	0,00±0,00	0,00±0,00	0,10±0,32	4,30±2,50*	0,00±0,00
CN	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
CP	8,20±7,57*	0,10±0,31	9,90±4,04*	0,00±0,00	2,80±1,31*	0,30±0,67	9,90±6,10*	0,00±0,00

P1 e P2 são pontos de sedimentos amostrais do Rio Itapemirim, P3 - P5 no Rio Braço Norte Esquerdo e P6 - P8 no Rio Braço Norte Direito. CN corresponde ao controle negativo (água destilada) e CP ao controle positivo (colchicina 0,025%). Coleta 2: janeiro de 2017. Aberrações cromossômicas: Ad-C: aderência cromossômica. Br: broto nuclear. C-M: C-metáfase. NH: núcleo heteropícnótico. NL: núcleo lobulado. PP: poliploidia. Pt-C: ponte cromossômica. *significativo em relação ao controle negativo – Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

No estudo “Panorama das concentrações de metais tóxicos na região do Caparaó Capixaba e avaliação do risco de exposição humana” foram realizadas análises das concentrações de metais (Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Ti, V e Zn) no sedimento da bacia do rio Itapemirim nas estações seca (campanha de julho de 2016) e chuvosa (campanha de janeiro de 2017). Os resultados mostraram tendência de acúmulo de metais em todos os pontos amostrados na bacia do rio Itapemirim na segunda campanha acima do permitido pela Resolução Conama nº 357 (BRASIL, 2005). Segunda a análise, a concentração de metais foi maior no RBNE>RBND>RI. Amostras de sedimento do RBNE apresentaram valores de Cr acima do nível de limiar de efeitos adversos à comunidade biológica (TEL) e de Zn acima do TEL e do nível de efeitos adversos prováveis à comunidade biológica (PEL) na estação chuvosa (dados não mostrados).

O uso do solo é o fator chave para entender a presença desses metais nos recursos hídricos da bacia do rio Itapemirim (MONTEIRO, 2015). O RBNE mantém maiores áreas percentuais com atividades voltadas para a cafeicultura (75%), mineração (58%) e pastagem (58%) em relação ao RBND e RI. Para essas três atividades a tendência RBNE>RBND>RI é mantida. Essas atividades podem promover o acúmulo de substâncias tóxicas no solo da região. Chuvas ajudam a carrear poluentes do solo para os rios, os mesmos se sobressaem nas águas superficiais e ficam acumulados

nos sedimentos. O histórico do uso de pesticidas metálicos de alta persistência (baixa taxa de degradação) desde a década de 40 pode ser a causa da permanência por interações químicas e físicas dos metais pesados presentes nos sedimentos da bacia do rio Itapemirim.

Em altas concentrações, os metais podem causar danos aos organismos presentes nas matrizes ambientais contaminadas, pois nessas condições, estes elementos não possuem função fisiológica benéfica para os seres vivos, acarretando toxicidade e até mesmo acumulação na cadeia trófica (FERREIRA et al., 2010). O bioensaio realizado no presente estudo detectou a presença de compostos citogenotóxicos e mutagênicos nas amostras de sedimento da bacia do rio Itapemirim, o que reforça que *A. cepa* é um bioindicador sensível capaz de detectar poluentes mesmo em baixas concentrações (RODRIGUES, 1999). Com resultados, tem-se que danos biológicos foram reportados para as amostras de sedimento, sobretudo na segunda campanha. A diminuição do volume de água na estação seca favorece a concentração de poluentes nos corpos hídricos, enquanto na estação chuvosa, eles devem ser diluídos, aumentando a qualidade da água (SOUZA e FONTANETTI, 2006). No entanto, no presente trabalho, o aumento de danos genotóxicos e mutagênicos na estação chuvosa pode ser o resultado do escoamento em excesso de genotoxinas (resíduos de agrotóxicos, por exemplo) para a água superficial, superando o efeito de diluição e, resultando no acúmulo de material tóxico no sedimento.

Considerando-se os três rios amostrados e as duas coletas, têm-se maiores danos citogenotóxicos e mutagênicos na seguinte ordem: RBNE=RBND>RI (sedimento). E para o elutriato, tem-se a relação RBNE>RBND>RI. O elutriato corresponde à fração solúvel em água do sedimento. O elutriato simula as condições das operações de dragagens e, bioensaios de toxicidade com essa fração, são utilizados na avaliação dos efeitos tóxicos potenciais do material dragado (JARDIM, 2004).

As principais aberrações cromossômicas encontradas em células de *A. cepa* induzidas pelas exposições de sedimento e elutriato foram poliploidia, seguida por aderência cromossômica e núcleo lobulado. Essas alterações indicam a presença de compostos aneugênicos na bacia do rio Itapemirim. A presença de poliploidia é uma resposta do aumento no número cromossômico por um múltiplo exato do número cromossômico haplóide (KIRSCH-VOLDERS et al., 2002). Assim, esse resultado indica que a região do Caparaó Capixaba apresentam compostos que inativam o fuso mitótico, levando à falha da migração dos cromossomos-filhos para os pólos celulares. Re-replicação do DNA na ausência do fuso leva à endoreduplicação, em que os cromossomos mitóticos apresentam duas cromátides duplicadas ao invés de duas cromátides únicas. Nesse processo, mais de um ciclo de síntese de DNA acontece sem que a células se dividam. Outros mecanismos de poliploidia são a falha na citocinese ou

fusão nuclear em células binucleadas (KIRSCH-VOLDERS et al., 1998). Em relação aos núcleos lobulados, sua presença em células é originada a partir de anáfases multipolares portadoras de pontes cromossômicas, que no processo de divisão nuclear impede o envoltório nuclear de se reestruturar. O envoltório por sua vez acompanha a distribuição irregular do material genético na célula e origina o núcleo lobulado (FERNANDES apud MAZIVIERO, 2011). Já ocorrência de aderência cromossômica durante a divisão celular indica presença de compostos tóxicos ao material genético. O termo genotóxico se aplica ao agente capaz de promover alterações cromossômicas e de proteínas durante o ciclo de divisão celular, sendo passíveis de reparo ou sofrer derivações com essas anormalidades. Segundo Chandra et al. (2005), a indução de micronúcleos é normalmente resultado de quebras/fragmentos (ação clastogênica) de cromossomos ou comprometimento do fuso, levando a anomalia de cromossomos no estágio de anáfase, e que por consequência, resultam efeitos mutagênicos.



CONCLUSÕES

Concluiu-se que a bacia do rio Itapemirim apresenta substâncias capazes de induzir efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos. É possível inferir que as concentrações de metais acima do limite previsto na Resolução Conama nº 357/2005 é um dos fatores que influenciaram na indução de atividades citogenotóxica na bacia. Chuvas podem influenciar no escoamento de compostos tóxicos do solo para a água superficial, superando o efeito de diluição, e provocando impactos para organismos da coluna d'água e sedimento. São necessárias medidas profiláticas e também novas investigações para melhor entender a relação humano-ecológica existente na região do Caparaó capixaba.

AGRADECIMENTOS

À UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO, CAMPUS ALEGRE;
AO NÚCLEO DE PESQUISADORES EM ECOTOXICOLOGIA DA UFES, CAMPUS ALEGRE;
À FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA E INOVAÇÃO DO ESPÍRITO SANTO.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, C. R. S. Caracterização do Sistema de produção agroecológico integrada e sustentável (PAIS) no Caparaó, ES, entre os anos de 2006 e 2012. 2014. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Departamento de nutrição e saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357, de 15 de junho de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: 08 de Agosto de 2020.
- CHANDRA, S. et al. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using Allium test. *The Science of the Total Environment*, Netherlands, vol. 347, n. 1-3, p. 46-52, July. 2005.
- EL-SHAHABY, et al. Genotoxicity screening of industrial wastewater using the *A. cepa* chromosome aberration assay. *Pakistan J Biological Sciences*, v, 6 p, 23-28, 2003.
- FEIDEN, A. Agroecologia: introdução e conceitos. In: AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. (Org.). *Agroecologia: princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável*. Brasília: Embrapa, 2005.
- 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 *Nyctiocolax nyctiocolax* (Garça-da-noite) na Baía de Sepetiba, RJ, Brasil. *Revista da Gestão Costeira Integrada*, v. 10, n. 2, p. 229-241, 2010
- FISKESJÖ, G. The *A. cepa* test as a standard in the environmental monitoring. *Hereditas*, v. 102, p. 99-112, 1985.
- JARDIM, G. M. Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do rio Corumbataí, SP. 2004. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola superior Agrícola Luiz de Queiroz, São Paulo – SP.

KIRSCH-VOLDERS, M.; CUNDARI, E.; VERDOODT, B. Towards a unifying model for the metaphase/anaphase transition. *Mutagenesis*, v. 13, p. 321-335, 1998.



KIRSCH-VOLDERS, M.; VANHAUWAERT, A.; DE BOECK, M. DECORDER, I. Importance of detecting numerical versus structural chromosome aberrations. *Mutation Research*, v. 504, p. 137-148, 2002.

MARIN-MORALES, Maria Aparecida. (Org.) A utilização de *Allium cepa* na detecção da genotoxicidade ambiental. 2008. (Desenvolvimento de material didático - Apostila).

MAZIVIERO, Guilherme Thiago. Avaliação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico de lodo de esgoto por meio dos sistemas-teste *Allium cepa* e *Tradescantia pallida*. 2011. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Instituto de Biociências – universidade estadual paulista “Júlio de Mesquita Filho” Instituto de Biociências, Rio Claro – SP.

MONTEIRO, E. C. Degradação de solos sob pastagens a bacia do rio Alegre-ES: cobertura do solo e indicadores de qualidade. 2015. Dissertação (Mestrado em produção vegetal) – Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES.

RODRIGUES, G. S. Bioensaios de toxicidade genética com plantas superiores *Tradescantia* (MCN e SHM), milho e soja. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariuna-SP, 30p., 1999.

SOUZA. T.S.; FONTANETTI, C.S. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. *Mutation Research*, v. 605, p. 87–93, 2006.