

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE
AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS

JOÃO MARCELO DE CASTRO E SOUSA

**Varição ambiental, genotoxicidade e ecotoxicologia de um rio tropical no
semiárido brasileiro (PI, Brasil)**

Maringá
2015

JOÃO MARCELO DE CASTRO E SOUSA

Varição ambiental, genotoxicidade e ecotoxicologia de um rio tropical no semiárido brasileiro (PI, Brasil)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Ambientais.

Área de concentração: Ciências Ambientais

Orientador: Prof. Dr. Horácio Ferreira Júlio Júnior

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Amélia de Carvalho Melo-Cavalcante

Maringá
2015

"Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"
(Biblioteca Setorial - UEM. Nupélia, Maringá, PR, Brasil)

S725v	<p>Sousa, João Marcelo de Castro e, 1983- Variação ambiental, genotoxicidade e ecotoxicologia de um rio tropical no semiárido brasileiro (PI, Brasil) / João Marcelo de Castro e Sousa.-- Maringá, 2015. 87f. : il. (algumas color.).</p> <p>Tese (doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)--Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2015. Orientador: Prof. Dr. Horácio Ferreira Júlio Júnior. Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante.</p> <p>1. Ecotoxicologia - Guaribas, Rio - Piauí (Estado) - Brasil. 2. Guaribas, Rio - Piauí (Estado) - Brasil - Água, Qualidade da - Poluentes. 3. Cianobactérias - Metais pesados - Mutagênese - Guaribas, Rio - Piauí (Estado) - Brasil. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais.</p>
<p>CDD 23. ed. -577.6427098122 NBR/CIP - 12899 AACR/2</p>	

JOÃO MARCELO DE CASTRO E SOUSA

Varição ambiental, genotoxicidade e ecotoxicologia de um rio tropical no semiárido brasileiro (PI, Brasil)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Ambientais pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Horácio Ferreira Júlio Júnior
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof.^a Dr.^a Priscilla Carvalho
Universidade Federal de Goiânia (UFG)

Prof.^a Dr.^a Ana Paula Peron
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Dr.^a Claudia Costa Bonecker
Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Prof.^a Dr.^a Liliana Rodrigues
Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Aprovada em: 10 de dezembro de 2015.

Local de defesa: Auditório, Departamento de Biologia, SG-01, Centro de Ciências da Natureza, *campus* Ministro Petrônio Portella, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

Dedico este trabalho a todos aqueles que
contribuíram direta e indiretamente para sua
realização.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por mais uma etapa com vitória conquistada na minha vida.

Agradeço aos professores do PEA (Dr.^a Claudia C. Bonecker, Dr. Luiz C. Gomes, Dr. Sidinei M. Thomaz, Dr.^a Luzia C. Rodrigues, Dr.^a Maria C. de Souza, Dr.^a Maria do C. Roberto, Dr.^a Alice M. Takeda, Dr.^a Evanilde Benedito, Dr. Nadison Simões, Dr. Rodrigo, Dr. Horácio Ferreira Júnior e Dr. Fábio A. Lansac-Tôha) pelas aulas ministradas e pelo conhecimento adquirido na área de ecologia. Conhecimento que espero levar para futuras pesquisas no nosso Estado (Piauí).

Agradeço de forma mais que especial à professora Dr.^a Claudia C. Bonecker (“Claudinha”). Grande profissional e grande professora. Uma pessoa que, com certeza, irei usá-la como espelho para crescer ainda mais na minha vida acadêmica e profissional. Obrigado pelas dicas e orientações.

Agradecimentos em especial ao meu orientador professor Dr. Horácio Ferreira Júlio Júnior e coorientadora professora Dr.^a Ana Amélia de Carvalho Melo-Cavalcante pela dedicação prestada no acompanhamento da parte escrita da tese. Agradeço muito a orientação e o aprendizado.

Agradeço aos amigos de DINTER UEM/UFPI (Leomá Matos, Romildo Soares, Vitinho, Marcelo de Sousa, Maria do Socorro Meireles, Paulo César, Eliesé Idalino, e Arthur) pela companhia em todo esse tempo de doutorado. Considero-os como grandes amigos e excelentes professores.

Agradeço aos professores do curso de Ciências biológicas (Peron, Leo, Felipe, Paulo Cesar, Artur, Socorro) que me ajudaram em momentos fundamentais, de formas diferentes, para a construção desse trabalho. Agradeço muito por isso.

Agradeço aos professores que foram fundamentais para a viabilização do DINTER (UEM/UFPI), Dr.^a Gardene Sousa, Me. Romildo Soares, Me. Janete Paranhos, Dr.^a Claudia Bonecker e Dr.^a Liliana Rodrigues.

Agradeço aos meus alunos de TCC e de laboratório do NUPBSAM e do laboratório de Citogenética que me ajudaram na realização de todos os experimentos da tese. Em especial ao Vitor Oliveira, Ellifran Dantas e Ataíde Macedo. Certamente, sem vocês, essa tese não seria construída e finalizada. Minha eterna gratidão. Grandes alunos e grandes amigos.

Agradeço ao Laboratório Central de Saúde Pública do Piauí (LACEN-PI) em nome dos seus diretores administrativos. Em especial aos funcionários Susana e Ciro pela grande ajuda na realização dos experimentos das variáveis físicas e químicas da água.

Em especial, agradeço ao meu amigo e irmão Leomá Matos, por dividir comigo, todas as dificuldades desse doutorado e dos mais de 10 anos de convivência. És um irmão pra mim. Estarei sempre ao seu lado.

De forma especial a minha namorada Ana Paula pela eterna companhia, dedicação, compreensão e carinho. Por dividir comigo momento felizes e tristes, mas sempre ao meu lado. És minha energia. Amo você.

Agradeço a minha mãe por tudo. Tudo que a senhora fez por mim para que eu chegasse nesse momento importante na minha vida. És uma super mãe. Serei grato eternamente.

“O conhecimento leva a
humildade”.

Asbjorn Follin

Variação ambiental, genotoxicidade e ecotoxicologia de um rio tropical no semiárido brasileiro (PI, Brasil)

RESUMO

Os rios são os mais importantes recursos de água para consumo humano, agricultura, e fins industriais e recreativos. Então, é importante dispor de informações confiáveis sobre a qualidade da água para uma gestão eficaz deste recurso. A utilização dos rios é ainda mais pronunciada nas regiões semiáridas que apresenta problemas de falta de água em áreas densamente povoadas, como a cidade de Picos e microrregião, onde está localizado o rio Guaribas, principal rio da sua bacia hidrográfica e o 3º principal rio do estado do Piauí. Esse rio percorre mais de 30 municípios na região e vem sofrendo, nos últimos anos, com ações antrópicas e naturais, destacando a poluição por efluentes domésticos e agrícolas, juntamente com as desfavoráveis condições climáticas apresentadas durante o ano todo. Assim, realizou-se a primeira avaliação físico-química e genética do rio Guaribas, com o intuito de investigar a qualidade da água do ambiente, juntamente com seus potenciais efeitos toxicogenéticos, ao longo do curso do rio, nos períodos de seca e chuva na região, entre 2013-2015. Foram analisadas algumas variáveis físicas e químicas da água, como condutividade elétrica (CE), sólidos dissolvidos totais (SDT), pH, oxigênio dissolvido (OD), oxigênio saturado (OS), temperatura (T), nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), fósforo total (PT), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), sulfato (SO_4^{2-}), turbidez (turb), cloro (Cl), cor, Ferro (Fe), Zinco (Zn), Cobre (Cu), Cromo (Cr) e Alumínio (Al). Em adição, foram avaliadas a citotoxicidade e genotoxicidade da água em nível celular, por meio de bioensaios (Teste de *Allium cepa* e Teste do Micronúcleo) e bioindicadores (*Allium cepa* e *Oreochromis niloticus*) específicos de toxicologia aquática, em diferentes locais de coleta ao longo do rio, no ano de 2014. Os resultados da qualidade da água apresentaram algumas variáveis físicas e químicas fora dos valores permitidos pela Legislação Ambiental Brasileira (CONAMA-Resolução 357/2005), com índices considerados como ruins de qualidade de água independente do período analisado. A análise de componentes principais mostrou as principais fontes de poluição: poluentes domésticos (CP1 com 39,50% da variância total) e poluentes orgânicos (CP2 com 30,31%), e a temperatura (CP3 com 12,46%) determinou a separação entre os períodos. A análise de Cluster evidenciou a separação entre os pontos não impactados (antes da cidade) dos pontos impactados (dentro e depois da cidade). Os resultados toxicogenéticos apresentaram efeitos citotóxicos e mutagênicos para amostras de água superficial coletadas em locais poluídos, com o dano genético observado, apresentando correlação positiva para metais pesados (Fe, Zn, Cr, Cu e Al). Foi observada também, ao longo do rio, a presença de cianobactérias potenciais produtoras de cianotoxinas. Portanto, constatou-se que o rio Guaribas, durante todo o ano, apresentou-se como um ambiente aquático poluído nos locais influenciados pela principal cidade as suas margens (Picos), com liberação de produtos químicos causadores de danos genéticos nos organismos que vivem nesse ambiente. Sendo, assim, torna-se necessária a adoção de monitoramentos constantes para melhorar a qualidade da água e eliminar mutagênicos prejudiciais a saúde humana.

Palavras-chave: Qualidade da água. Variações espaço-temporais. Mutagênese ambiental. Biomarcadores genéticos.

Environmental variation, genotoxicity and ecotoxicology of a tropical river in the Brazilian semi-arid (State of Piauí, Brazil)

ABSTRACT

Rivers are the most important water resources for human consumption, agricultural, industrial and recreational purposes. In this way, it is essential to have reliable information on water quality for effective management. This need is even more important in semi-arid regions, such as the northeast region of Brazil, which have water shortage problems in densely populated areas, such as the city of Picos and micro-region, where it is located the Guaribas River, the main river of its basin and the 3rd major river of the State of Piauí. This river runs across more than 30 municipalities and in recent years it has been subjected to human and natural disturbances, mainly pollution by domestic and agricultural effluents, together with unfavorable weather conditions throughout the year. The present study aimed to conduct the first environmental and genetic assessment of the Guaribas River, in order to investigate its water quality, and potential toxic and genetic effects along the river course, in the dry and rainy periods between 2013 and 2015. Water samples were analyzed for some physical and chemical variables, such as electrical conductivity (EC), total dissolved solids (TDS), pH, dissolved oxygen (DO), saturated oxygen (SO), temperature (T), nitrate (NO₃⁻), nitrite (NO₂⁻), total phosphorus (TP), biochemical oxygen demand (BOD), sulfate (SO₄²⁻), turbidity (turb), chlorine (Cl), color, iron (Fe), zinc (Zn), copper (Cu), chromium (Cr) and aluminum (Al). Besides that, water cytotoxicity and genotoxicity at the cellular level were evaluated with bioassays (*Allium cepa* test and Micronucleus test) and bioindicators (*Allium cepa* and *Oreochromis niloticus*) specific to aquatic toxicology at different sampling sites along the river course. Results of water quality demonstrated that some physical and chemical variables did not comply with the Brazilian Environmental Law (Resolution 357/2005), with values indicating poor water quality, regardless of the period. Principal Component Analysis revealed the main sources of pollution: domestic pollutants (PC1 with 39.50% total variance), organic pollutants (PC2 with 30.31%) and temperature (PC3 with 12.46%) determined the separation between periods. Cluster analysis evidenced the separation of the non-impacted sites (upstream of the city) from the impacted sites (within and downstream of the city). Toxic and genetic results showed cytotoxic and mutagenic effects for surface water samples taken from polluted sites, with the genetic damage positively related to heavy metals (Fe, Zn, Cr, Cu and Al). Also, it was found potentially cyanotoxin-producing cyanobacteria along the river. Therefore, the Guaribas River is a polluted aquatic environment throughout the year in the sites influenced by the major city on its banks (Picos), with release of chemicals causing genetic damage to organisms present in this environment. Thus, it becomes necessary to adopt constant monitoring to improve water quality and eliminate mutagenic agents harmful to human health.

Keywords: Water quality. Spatio-temporal variations. Environmental mutagenesis. Genetic biomarkers.

Tese elaborada e formatada conforme as normas da publicação científica *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/journals/ecotoxicology-and-environmental-safety/0147-6513/guide-for-authors>> e *Monitoring & Environmental Assessment*. Disponível em: <www.springer.com/environment/monitoring++environmental+analysis/journal/10661>.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	12
	REFERÊNCIAS.....	15
2	AVALIAÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL NA QUALIDADE DA ÁGUA EM UM RIO TROPICAL, BRASIL, UTILIZANDO VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS	19
	RESUMO.....	19
	ABSTRACT.....	20
2.1	INTRODUÇÃO.....	21
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.2.1	Clima, área de estudo e locais de coleta.....	23
2.2.2	Coleta das amostras e pré-tratamento.....	24
2.2.3	Variáveis monitoradas e métodos analíticos.....	24
2.2.4	Índice de qualidade da água (IQA).....	26
2.2.5	Tratamento dos dados e métodos estatísticos utilizados.....	26
2.2.5.1	Análise de componentes principais (PCA).....	26
2.2.5.2	Análise de clusters (CA).....	27
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
2.3.1	Dados pluviométricos e qualidade da água.....	28
2.3.2	Análise de componentes principais.....	36
2.3.3	Similaridade espacial e formação de grupos.....	41
2.4	CONCLUSÃO.....	49
	REFERÊNCIAS.....	50
3	ECOTOXICOLOGIA E GENOTOXICIDADE NA ÁGUA SUPERFICIAL DE UM RIO TROPICAL.....	56
	RESUMO.....	56
	ABSTRACT.....	57
3.1	INTRODUÇÃO.....	58
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	60
3.2.1	Área de estudo e pontos de coleta.....	60
3.2.2	Teste <i>Allium cepa</i>	61
3.2.3	Teste de Micronúcleo (MN) e anormalidades nucleares (AN).....	62
3.2.4	Análise química da água.....	62
3.2.5	Análise de cianobactérias.....	63
3.2.6	Análise estatística.....	63
3.3	RESULTADOS.....	63

3.3.1	Efeitos toxicogenéticos.....	63
3.3.1.1	Avaliação toxicogenética com o teste de <i>Allium cepa</i>	63
3.3.1.2	Avaliação das frequências de MN e NA em <i>O. niloticus</i>	66
3.3.2	Análise química da água.....	69
3.3.3	Correlações estatísticas entre os parâmetros toxicogenéticos com a presença de metais.....	69
3.3.4	Identificação e densidade de cianobactérias nas amostras do rio.....	70
3.4	DISCUSSÃO.....	71
3.5	CONCLUSÃO.....	78
	REFERÊNCIAS.....	78
	ANEXO	85
4	CONCLUSÕES GERAIS.....	86

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os níveis de poluição no planeta estão em níveis alarmantes e em constante crescimento, e com isso os ambientes aquáticos são os mais afetados. Segundo relatório da Organização das Nações Unidas (ONU), 80% das águas residuais não são recolhidas ou tratadas, resultando em problemas de saúde à população, além de danos ao ambiente (Neta et al., 2014; Sharma et al., 2015). A contaminação dos cursos hídricos pode ser de origem agrícola, industrial e domésticos não tratados adequadamente. Fatores de poluição geram alterações na qualidade da água e nos organismos que dela dependem, já que podem conter substâncias tóxicas com propriedades mutagênicas, genotóxicas e citotóxicas, que afetam a integridade genética dos seres vivos (Barbosa et al., 2010; Erbe et al., 2011; Nunes et al., 2011).

Particularmente, são bem documentados os efeitos tóxicos sobre organismos causados por metais pesados (Kang et al., 201; Neto et al., 2013; Pavlica et al., 2011; Tabet et al., 2015), efluentes domésticos e agrícolas (Masood et al. 2013; Magdeburg et al., 2014; Barsiene et al., 2015; Yazici e Sisman, 2014; Júnior et al., 2014), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) (Amaeze et al., 2015; Nudi et al., 2010; Brinkmann et al., 2014) e cianotoxinas (Sieroslask, 2013; Zegura et al., 2011). Estes produtos são capazes de interagir com os organismos e causar múltiplas alterações, que podem gerar graves consequências em nível de indivíduos, populações, comunidades ou ecossistemas, dependendo do grau de contaminação e do tempo de exposição (Jesus e Carvalho, 2008).

Rios periurbanos são exemplos de ambientes aquáticos condicionados pela atividade antropogênica, que ocorre em suas margens e suas áreas de influência. Uma combinação de indicadores físicos e químicos tem sido tradicionalmente utilizada, em estudos de biomonitoramento ambiental, para a avaliação da qualidade desses ambientes aquáticos. Estes índices de poluição, também expressos como índices de qualidade da água (IQAs), são úteis para alertar sobre os riscos ambientais e de saúde, e para a determinação das concentrações máximas permitidas (Ossana et al., 2013; Conti, 2008).

Vários autores têm relatado o uso de IQA para verificar a influência das descargas de resíduos na qualidade da água de rios (Pesce e Wundelin, 2000). Mesmo que o IQA forneça uma maneira útil para prever as mudanças na qualidade da água, considerando várias variáveis, ele não fornece evidências sobre as fontes de poluição, especialmente porque eles são calculados após a normalização dos valores analíticos (Razmkhah et al., 2010). De fato,

para se avaliar o estado da qualidade das águas superficiais, é necessário que programas de monitoramento das características físicas e químicas sejam implementados, quer em uma visão de variabilidade espacial ou temporal (Brodnjak-Voncina et al., 2002; Singh et al., 2005). Os resultados desses programas de monitoramento ambiental são uma matriz de dados extensa e complexa, composta por um grande número de variáveis físicas e químicas, que são muitas vezes difíceis de interpretar e tirar conclusões significativas. A aplicação de diferentes técnicas de estatística multivariada ajuda na interpretação de matrizes de dados complexos e auxilia na busca de uma melhor compreensão da qualidade da água e do estado ecológico da região de estudo (Simeonov et al., 2004; Kazi et al., 2009).

No entanto, a informação das condições ambientais adquirida com variáveis físicas e químicas, apesar de importante, não é completa porque as interações bióticas e abióticas não são consideradas. Bioensaios permitem que a informação da qualidade de água, a partir dessas variáveis, possa ser complementada com informação biológica, a fim de determinar as conseqüências da exposição de um organismo a um ambiente poluído (Eissa et al., 2009; Cazenave et al. 2009), ou seja, tornam-se necessários também monitoramentos biológicos para complementação dos dados abióticos.

Como a contaminação nos ambientes aquáticos é frequentemente difusa, observada como uma mistura complexa de poluentes (metais pesados, pesticidas, organoclorados, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), é importante à associação de vários biomarcadores, a fim de minimizar os erros de interpretação (Flammarion et al., 2002). Entre os biomarcadores mais utilizados estão os genéticos. Um biomarcador genético pode ser definido como uma resposta biológica (danos à estrutura do material genético) de um organismo-teste, após a sua exposição a uma amostra ambiental (Falfushynska et al. 2010).

De acordo com Frezilli et al. (2009), a análise de alteração no material genético de organismos aquáticos (bioindicadores) tem demonstrado ser um método bastante adequado para avaliação da contaminação ambiental por genotóxicos, sendo capaz de detectar a exposição a baixas concentrações de contaminantes em uma ampla gama de espécies. Dentre os bioindicadores mais utilizados em estudos de monitoramento ambiental, estão os vegetais e animais.

As plantas superiores são reconhecidas como excelentes modelos genéticos para detectar agentes mutagênicos ambientais e são frequentemente utilizados em estudos de monitoramento (Leme e Marin-Morales, 2009). Entre as espécies de plantas, o *Allium cepa* foi usado no estudo para avaliar os danos no DNA, tais como aberrações cromossômicas e avaliar alterações no ciclo mitótico. A utilização de *A. cepa* como um sistema-teste para

detectar agentes mutagênicos remonta a década de 40. Ele tem sido usado até hoje para avaliar um grande número de agentes químicos, o que contribuiu para aumentar a sua aplicação no monitoramento ambiental (Egito et al., 2007).

Bem como os vegetais, muitos pesquisadores têm utilizado peixes como um modelo genético para monitorar poluentes tóxicos e contaminantes em ambientes aquáticos (Hoshina et al., 2008). O uso de *Oreochromis niloticus*, uma espécie de peixe exótica, para essas avaliações é devido, principalmente, aos seus hábitos alimentares onívoros, e por apresentar resultados satisfatórios em ensaios laboratoriais (Duarte et al., 2012). O micronúcleo (MN) e alterações nucleares (AN) nas células sanguíneas nesse bioindicador é um método sensível para várias substâncias genotóxicas, e mostra também boas correlações com os resultados obtidos em células humanas (Vanzella et al., 2007).

Nas últimas décadas, o uso de *Allium cepa* e ictiofauna como bioindicadores de genotoxicidade aquática, causada pela poluição em ambientes aquáticos, têm aumentado em vários países. *Allium cepa* e *O. niloticus* foram recentemente utilizados por vários autores em estudos de avaliação de genotoxicidade e biomonitoramento ambiental em rios brasileiros, tais como Hoshina e Marin-Morales (2009); Nunes et al. (2011); Bianchi et al. (2011) e Dusmann et al. (2014).

Dentre os rios brasileiros da região nordeste, destaca-se o rio Guaribas, sendo o principal rio da sua bacia hidrográfica, e o 3º principal rio do Estado do Piauí. Este rio é intermitente e típico da região semiárida nordestina. A região sudeste do Estado, onde está localizado, é caracterizada pela irregularidade das chuvas, resumindo sua distribuição a apenas três meses do ano (Andrade-Junior, 2006). Além das condições climáticas desfavoráveis, este rio vem sofrendo, nos últimos anos, com ações antropogênicas ao longo do seu curso, especialmente, pela principal cidade a sua margem, a cidade de Picos. Não existe na literatura científica, nenhum estudo de avaliação ambiental para o rio em questão, o que aumenta a importância do estudo, já que o mesmo é atualmente utilizado para abastecimento, desenvolvimento de atividades agropecuárias e turismo ecológico na região.

Portanto, o estudo realizou a primeira avaliação ambiental do rio Guaribas, utilizando variáveis físicas e químicas para o estudo de avaliação da qualidade da água e identificação de fontes de poluição. Em adição foram utilizados testes genotoxicológicos (teste de *Allium cepa* e teste de MN e AN em *O. niloticus*) com o intuito de identificar os possíveis efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos dos poluentes químicos presentes na água do rio em diferentes períodos e locais de coleta.

REFERÊNCIAS

- Andrade-Júnior, A.S., Silva, E.F.F. S., Bastos, E.A., Melo, F.B; & Leal, C. M. (2006). Use and quality of groundwater for irrigation in semi-arid region of the Piauí State, Brazil. *Journal of Agricultural and Environmental Engineering*, 10, 873-880.
- Amazeze, N. H., Schnell, S., Sozeri, O., Otitolaju, A. A., Egonmwan, R. I., Arlt, V. M., Bury, N. R. (2015). Cytotoxic and genotoxic responses of the RTgill-W1 fish cells in combination with the yeast oestrogen screen to determine the sediment quality of Lagos lagoon, Nigeria. *Mutagenesis*, **30**, 117–127.
- Barbosa, J. S.; Cabral, T. M.; Ferreira, D. N.; Agnez-Lima, L. F.; Batistuzzo de Medeiros, S. R. (2010) Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **73**, 320–325.
- Barsiene, J., Butrimaviciene, L., Michailovas, A., Grygiel, W. (2015) Assessing the environmental genotoxicity risk in the Baltic Sea: frequencies of nuclear buds in blood erythrocytes of three native fish species. *Environ. Monit. Assess.*, 187, 4078-4089.
- Bianchi, J., Espindola, E.L.G., Marin-morales, M. A. (2011). Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **74**, 826–833.
- Brinkmann, M., Blenkle, H., Salowsky, H., Bluhm, K., Schiwy, S., Tiehm, A., Hollert, H. (2014) Genotoxicity of Heterocyclic PAHs in the micronucleus assay with the Fish Liver Cell Line RTL-W1. *Indian Institute of Toxicology Reserach*, **9**.
- Brodnjak-Voncina, D. et al. (2002) Chemometrics characterisation of the quality of river water. *Analytica Chimica Acta*, **462**, 87-100.
- Cazenave, J., Bacchetta, C., Parma, M.J., Scarabotti, P.A., Wunderlin, D.A. (2009) Multiple biomarkers responses in *Prochilodus lineatus* allowed assessing changes in the water quality of Salado River basin (Santa Fe, Argentina). *Environ Pollut.*, **157**, 3025–3033.
- Conti, M.E. (2008) Biomarkers for environmental monitoring. In: Conti ME (ed) Biological monitoring: theory and applications. Wit Press, Southampton, 25–46.
- Düsmann, E., Luzzi, M., Savegnago, L., Lauxen, D., Vicentini, VEP., Tonial, I.B., Sauer, T.P. (2014). *Allium cepa* L. as a bioindicator to measure cytotoxicity of surface water of the Quatorze River, located in Francisco Beltrão, Paraná, Brazil. *Environ Monit Assess.*, **186**, 1793–1800.
- Duarte, I. D., Dias, M. C., David, J. A. O., Matsumoto, J. S. (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. Biociências*, 10, 211-219.
- Egito, L.C.M., Medeiros, M.G., Medeiros, S.R.B., Agnez-Lima, L.F. (2007). Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, **30**, 435-441.

- Eissa, B.L., Ossana, N.A., Ferrari, L., Salibian, A. (2009) Quantitative behavioral parameters as toxicity biomarkers: fish responses to waterborne cadmium. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **58**, 1032–1039.
- Erbe, M. C. L., Ramsdorf, W. A., Vicari, T., Cestari, M. M. (2011) Toxicity evaluation of water samples collected near a hospital waste landfill through bioassays of genotoxicity piscine micronucleus test and comet assay in fish *Astyanax* and ecotoxicity *Vibrio fischeri* and *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, **20**, 320–328.
- Falfushynska, H.I., Gnatyshyna, L.L., Priydnun, C.V., Stoliar, O.B., Nam, Y.K. (2010) Variability of responses in the crucian carp *Carassius carassius* from two Ukrainian ponds determined by multi-marker approach. *Ecotoxicol Environ Saf.*, **73**, 1896–1906.
- Flammarion, P., Devaux, A., Nehls, S. et al. (2002). Multibiomarker Responses in Fish from the Moselle River (France). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **51**, 145–153, 2002.
- Frenzilli, G., Nigro, M., Lyons, B.P. (2009). The comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. *Mutation Research*, **681**, 80-92.
- Hoshina, M.M., Angelis, D.F., Marin-Morales, M.A. 2008. Induction of micronucleus and nuclear alterations in fish (*Oreochromis niloticus*) by a petroleum refinery effluent. *Mutation Research*, **656**, 44- 48.
- Hoshina, M.M., Marin-Morales, M.A. (2009). Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluents. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72**, 2090–2095.
- Jesus, T. B., Carvalho, C. E. V. (2008) Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). *Oecologia Brasiliensis*, **12**, 680–693.
- Júnior, E. O. C., Pereira, B. B., Morelli, S., Pavanin, E. V., Pavanin, L. A. (2014) Biological monitoring and B chromosome frequency in Bagre (*Rhamdia quelen*) in southeast Brazil. *Environmental toxicology and pharmacology*, **38**, 510–517.
- Kang, N., Kang, H., An, K.G. (2014) Analysis of fish DNA biomarkers as a molecular-level approach for ecological health assessments in an urban stream. *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, **93**, 555–560.
- Kazi, T.G., Arain, M.B., Jamali, M.K., Jalbani, N., Afridi, H.I., Sarfraz, R.A., Baig, J.A., Shah, A.Q. (2009). Assessment of water quality of polluted lake using multivariate statistical techniques: A case study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72**, 301– 309.
- Leme, D.M., Marin-Morales, M.A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutat Res.*, **682**, 71–81
- Magdeburg, A., Stalter, D., Schlüsener, M., Ternes, T., Oehlmann, J. (2014) Evaluating the efficiency of advanced wastewater treatment: Target analysis of organic contaminants and (geno)toxicity assessment tell a different story. *Water research*, **50**, 35 – 47.

- Masood, F., Malik, A. (2013) Mutagenicity and genotoxicity assessment of industrial wastewaters. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **20**, 7386–7397.
- Neta, R. N. F. C., Sousa, D. B. P., Sobrinho, I. C. M., Horton, E. Y., Almeida, Z. S., Tchaicka, L., Sousa, A. L. (2014) Genotoxic and hematological parameters in *Colossoma macropomum* (Pisces, Serrasalminidae) as biomarkers for environmental impact assessment in a protect area in northeastern Brazil. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 1-10.
- Netto, E., Madeira, R. A., Silveira, F. Z., Fiori, M. A., Angioletto, E., Pich, C. T., Geremias, R. (2013) Evaluation of the toxic and genotoxic potential of acid mine drainage using physicochemical parameters and bioassays. *Environmental toxicology and pharmacology*, **35**, 511–516.
- Nudi, A.H., Wagener, A. L., Francioni, E., Sette, C. B., Sartori, A. V., Scofield, A. L. (2010) Biomarkers of PAHs exposure in crabs *Ucides cordatus*: laboratory assay and field study. *Environ. Res.* **110**, 137-45.
- Nunes, E. A., Lemos, C. T., Gavronski, L., Moreira, T. N., Oliveira, N. C. D., Silva, J. (2011) Genotoxic assessment on river water using different biological systems. *Chemosphe*, **84**, 47–53.
- Ossana, N.A., Castane, P.M., Salibian, A. (2013). Use of *Lithobates catesbeianus* Tadpoles in a Multiple Biomarker Approach for the Assessment of Water Quality of the Reconquista River (Argentina). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **65**, 486–497.
- Pavlica, M., Stambuk, A., Malovic, L., Mladinic, M., Klobucar, G.I.V., (2011) DNA integrity of chub erythrocytes (*Squalius cephalus* L.) as an indicator of pollution-related genotoxicity in the River Sava. *Environ. Monit. Assess.* **177**, 85–94.
- Pesce, S.F., Wunderlin, D.A. (2000). Use of water quality indices to verify the impact of Cordoba City (Argentina) on Suquia River. *Water Research*, **34**, 2915–2926.
- Razmkhah, H., Abrishamchi, A., Torkian, A. (2010) Evaluation of spatial and temporal variation in water quality by pattern recognition techniques: A case study on Jajrood River (Tehran, Iran). *Journal of Environmental Management*, **91**, 852–860.
- Sharma, P., Mathur, N., Singh, A., Sogani, M., Bhatnagar, P., atri, R., Pareek, S. (2015) Monitoring hospital wastewaters for their probable genotoxicity and mutagenicity. *Environ. Monit. Assess.* **187**, 4180-4193.
- Sieroslawska, A. (2013) Assessment of the mutagenic potential of cyanobacterial extracts and pure cyanotoxins. *Toxicon*, **74**, 76-2.
- Simeonov, V., Simeonova, P., Tsitouridou, R. (2004). Chemometric quality assessment of surface waters: two case studies. *Chem. Eng. Ecol.*, **11**, 449–469.
- Singh, K.P. et al. (2005). Water quality assessment and apportionment of pollution sources of Gomti river (India) using multivariate statistical techniques-a case study. *Analytica Chimica Acta*, **515**, 143-149.

Tabet, M., Abda, A., Benouareth, D. E., Liman, R., Konuk, M., Khallef, M., TAHER, A. (2015) Mutagenic and genotoxic effects of Guelma's urban wastewater, Algeria. *environ monit assess.*, **187**, 26-39.

Vanzella, T.P., Martinez, C.B.R., Colus, I.M.S. (2007) Genotoxic and mutagenic effects of diesel oil water soluble fraction on a neotropical fish species. *Mutation Research*, 631, 36–43.

Yazici, Z., Sisman, T., (2014) Genotoxic effects of water pollution on two fish species living in Karasu River, Erzurum, Turkey. *Environ. Monit. Assess.*, **186**, 8007–8016.

Zegura, B., Straser, A., Filipic, M. (2011) Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins – a review. *Mutation Research* **727**, 16–41.

2 AVALIAÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL NA QUALIDADE DA ÁGUA EM UM RIO TROPICAL, BRASIL, UTILIZANDO VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS.

RESUMO

Variações espaciais e temporais de um rio tropical no semiárido brasileiro foram avaliadas utilizando variáveis físicas e químicas para investigar as condições ambientais do rio, possíveis processos de eutrofização artificial, presença de poluentes químicos e avaliar as principais fontes de poluição neste ambiente. As variáveis físicas e químicas: condutividade elétrica (CE), sólidos dissolvidos totais (SDT), pH, oxigênio dissolvido (OD), oxigênio saturado (OS), temperatura (T), nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), fósforo total (PT), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), sulfato (SO_4^{2-}), turbidez (turb), cloro (Cl), cor, ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu), cromo (Cr) e alumínio (Al) foram avaliadas em amostras coletadas periodicamente entre 2013 e 2015 em 06 locais de amostragem, ao longo do rio que está sob a influência de forte ação das mudanças antropogênicas e naturais. Uma análise de componentes principais (PCA) e uma análise de agrupamento hierárquico (CA) foram utilizadas para analisar a variação espacial e temporal dessas variáveis. Esses dados permitiram observar que o rio apresenta valores acima dos permitidos pela legislação ambiental brasileira, com base no índice de qualidade de água (IQA), permitindo considerar os locais, com forte influência da cidade, como ruins. A PCA mostrou que a variação das condições ambientais neste ambiente foi primeiramente influenciada pela poluição por efluentes domésticos (39,50% da variância), seguido pelo componente orgânico, derivado de atividades agrícolas (30,31% da variância) e, por último, pela temperatura (12,46% da variância), ressaltando a importância dos períodos. A CA agrupou em três clusters os 06 locais amostrados, separando claramente locais não poluídos (pontos antes da cidade) de locais com forte ação antropogênica (pontos dentro e depois da cidade) e também mostrou diferenças temporais (seco e chuvoso) para os locais poluídos dentro da cidade. As Análises de variância (ANOVA) das variáveis físicas e químicas, selecionadas pela PCA, mostrou que as variáveis mais significativas para as variações temporais foram T, DBO, cor, turb, nitrato, nitrito, sulfato e Cl e as variações espaciais foram OD, OS, SDT, DBO, cor, turb, PT, Cl e Al. Assim, observou-se que o rio apresenta-se, independente do período, como um ambiente impactado e eutrofizado artificialmente em locais com forte influência da cidade, apresentando fontes de poluições como efluentes domésticos e agrícolas. Além disso, as técnicas estatísticas multivariadas usadas se mostraram como ferramentas úteis para avaliação de variações espaciais e temporais das condições ambientais, a partir de uma matriz complexa de dados de qualidade da água, obtida para o rio tropical estudado.

Palavras-chave: Ambiente aquático, Qualidade da água, Poluição, Análises de componentes principais, Análise de cluster

SPATIAL AND TEMPORAL ASSESSMENT OF WATER QUALITY IN A BRAZILIAN TROPICAL RIVER USING PHYSICAL AND CHEMICAL VARIABLES

ABSTRACT

Spatial and temporal variations of a semi-arid Brazilian tropical river were assessed by physical and chemical variables to investigate environmental conditions of the river, possible artificial eutrophication, chemical pollutants and to evaluate the main sources of pollution in the environment. The following physical and chemical variables electrical conductivity (EC), total dissolved solids (TDS), pH, dissolved oxygen (DO), saturated oxygen (SO), temperature (T), nitrate (NO_3^-), nitrite (NO_2^-), total phosphorus (TP), biochemical oxygen demand (BOD), sulfate (SO_4^{2-}), turbidity (turb), chlorine (Cl), color, iron (Fe), zinc (Zn), copper (Cu), chromium (Cr) and aluminum (Al), which were analyzed in samples taken periodically between 2013 and 2015 at six sampling sites along the course of the river under the influence of human and natural disturbances. Principal Component Analysis (PCA) and Clustering analysis (CA) were applied to investigate the spatial and temporal variation in abiotic data. The river showed values above the allowed by Brazilian environmental legislation, based on the Water Quality Indice (WQI), which enables the classification of the sites as poor, under strong urban influence. PCA revealed that environmental conditions were primarily influenced by pollution from domestic waste (39.50% variability), followed by the organic component derived from agricultural activities (30.31% variability), and lastly by temperature (12.46% variability), emphasizing the importance of periods. CA grouped the sampled sites into three clusters; clearly separating unpolluted sites (upstream of the city) from sites under strong anthropogenic influence (sites within and downstream of the city) and also evidenced temporal differences (dry and rainy) for polluted sites within the city. ANOVA for physical and chemical variables selected by PCA showed that the most significant variables for temporal variations were T, BOD, color, turb, nitrate, nitrite, sulfate and Cl and for spatial variations, DO, SO, TDS, BOD, color, turb, TP, Cl and Al. Thus, regardless of the period, the river was impacted and artificially eutrophicated at sites under strong urban influence, with sources of pollution, such as domestic and agricultural effluents. Furthermore, the used statistical multivariate techniques proved to be useful tools for assessing spatial and temporal variations in environmental conditions, using a complex matrix of water quality data obtained for the studied tropical river.

Keywords: Aquatic environment, Water quality, Pollution, Principal component Analysis, Cluster analysis.

2.1 INTRODUÇÃO

Muitas regiões do mundo estão simultaneamente sendo impactadas por processos de urbanização e por atividades industriais e agrícolas, e muitas cidades em países em desenvolvimento têm sido estruturadas sem um planejamento adequado e apropriado. Isto conduz para ações indiscriminadas, incluindo o despejo de resíduos na água, lavar roupas e tomar banhos em corpos de água (Cukrov et al., 2012). A deterioração da qualidade da água afeta a vida dos organismos, em geral, com conseqüências de longo alcance. Do ponto de vista ambiental, econômico e/ou social, é importante identificar essas fontes poluidoras e a sua contribuição para a contaminação total de uma área (Tobiszewski et al., 2010).

Os rios constituem os principais corpos de água destinados para as atividades domésticas, industriais e agrícolas, e, frequentemente, carregam grandes esgotos municipais, descargas de águas residuais industriais, e do escoamento sazonal de um campo agrícola, ocasionando, assim, a poluição da água desses ambientes (Hu et al., 2011; Pradhan et al., 2009; Singh et al., 2004).

A qualidade da água de um rio é determinada pela poluição humana (espacial, antropogênica) pelos processos naturais (temporal, climáticas) que mudam a hidrologia do rio. As influências antropogênicas são oriundas atividades urbanas, industriais, agrícolas enquanto os processos naturais são oriundas de precipitação pluviométrica, erosão e intemperismo de materiais da crosta terrestre. Ainda descargas de efluentes industriais não tratados e de águas residuais municipais afetam os recursos hídricos (Karbassi et al., 2008; Nouri et al., 2008) e também são constituídos de diversos compostos inter-relacionados, que são sujeitos a variações locais e temporais sendo também afetados pelo volume do fluxo de água (Mandal et al., 2010).

Portanto, o declínio da qualidade e quantidade dos recursos hídricos de superfície pode ser atribuído à poluição da água e do manejo inadequado do recurso (Mustapha e Nabegu, 2011). Várias investigações foram realizadas em ecossistemas com contaminação antropogênica (Kazi et al., 2009; Razmkhah et al., 2010). No entanto, devido às variações espaciais e temporais na qualidade da água (que são muitas vezes difíceis de interpretar), um programa de monitoramento, fornecendo uma estimativa representativa e fiel da qualidade das águas superficiais, é necessário (Muangthong e Shrestha, 2015). Estes resultados geram uma matriz de dados ampla e complexa, composta por um grande número de variáveis físicas e químicas, que são difíceis de interpretar e tirar conclusões significativas. Assim, a aplicação de diferentes técnicas estatísticas multivariadas, tais como análise de componentes principais

(PCA) e análise de cluster (CA) ajudam na interpretação dessas matrizes de dados, para uma melhor compreensão da qualidade da água e do estado ecológico da região de estudo. Estas técnicas permitem a identificação de possíveis fontes que influenciam os sistemas de água e oferece uma ferramenta valiosa para a gestão segura dos recursos hídricos, e podem oferecer solução rápida para os problemas de poluição (Reghunath et al., 2002; Simeonov et al., 2004).

O rio Guaribas está localizado no nordeste do Brasil, na região do semiárido, parte ocidental do Estado do Piauí, sendo de grande importância para a captação de águas para o abastecimento, desenvolvimento de atividades agropecuárias e turismo ecológico da grande maioria das cidades do Estado. É o principal rio da sua bacia hidrográfica. É um rio temporário, com fluxo superficial somente no período chuvoso, sendo o principal reservatório de água para a cidade de Picos e para mais 30 pequenos municípios da microrregião do Estado (Veloso et al., 2014).

Picos é a maior cidade a margem do rio Guaribas e a terceira maior do Estado do Piauí. É nesse ponto que este rio é atingido por diversos problemas ambientais, como despejo de esgoto residencial, industrial e hospitalar sem tratamento, deposição de lixos, derrubada da mata ciliar e ocupação desordenada do seu leito; gerando problemas como assoreamento, alagamentos, transmissão de doenças, aceleração da evaporação do espelho de água, superaquecimento das áreas mais densamente povoadas e eutrofização artificial. Essa marcante ação antropogênica, proporcionada pela cidade, é agravada pelas condições climáticas desfavoráveis típicas da região onde se encontra (Andrade-Junior, 2006; PLANAP, 2014).

Assim, conhecendo-se a importância ecológica e econômica do rio em estudo e por não possuir na literatura científica nenhum estudo avaliando a qualidade da água desse ambiente aquático, o objetivo do estudo foi avaliar a qualidade da água do rio Guaribas, próxima a cidade de Picos, em períodos de seca e chuva, entre os anos de 2013 e 2015. Foi determinado o índice de qualidade de água (IQA) do rio, e utilizadas técnicas estatísticas para avaliar as informações sobre as semelhanças e diferenças das condições ambientais entre os diferentes locais e períodos de amostragem, além de verificar a influência das fontes de poluição, oriundas da cidade, na qualidade da água do rio.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Clima, área de estudo e locais de coleta

A região sudeste do Estado do Piauí, onde está localizado o rio Guaribas, é caracterizada pela irregularidade das chuvas, resumindo sua distribuição à apenas três meses do ano. As precipitações anuais estão entre 400 mm e 800 mm, com temperatura mantendo certa regularidade, já que quase totalidade da área é submetida a médias térmicas superiores a 18 °C, configurando clima quente ou megatérmico do tipo isotérmico (PLANAP, 2014). Assim, para melhor caracterizar as condições climáticas da região de estudo, dados como temperatura, umidade e precipitação dos meses de coletas, períodos de seca e chuva nessa região semiárida do país, foram obtidos através do INMET – Instituto Nacional de Meteorologia – Brasil (2015).

Para avaliar a influência da ação antrópica, representada pela cidade de Picos, sobre a qualidade de água no rio, foram definidos pontos antes, dentro e depois da cidade, sendo estes: P1 (Barragem de Bocaina), localizado 32 km antes da cidade de Picos (06° 56' 33" S e 41° 19' 21" W), P2, antes da cidade de Picos (município de Sussuapara) (07° 03' 864" S e 41° 25' 788" W); P3, 1° ponto dentro da cidade (07° 04' 964" S e 41° 27' 879" W); P4, 2° ponto dentro da cidade (07° 05' 3135" S e 41° 28' 007" W); P5, 3° ponto dentro da cidade (07° 05' 487" S e 41° 28' 678" W) e P6, depois da cidade de Picos (município de Aroeira) (07° 06' 047" S e 41° 29' 145"). Os pontos dentro da cidade foram definidos de forma que ficassem igualmente distantes e próximos a locais onde há entrada de água proveniente de pequenos córregos, que, por sua vez, recebem efluentes de esgotos domésticos, dejetos hospitalares, postos de gasolina e locais onde há a presença constante de populações ribeirinhas (Figura 1).

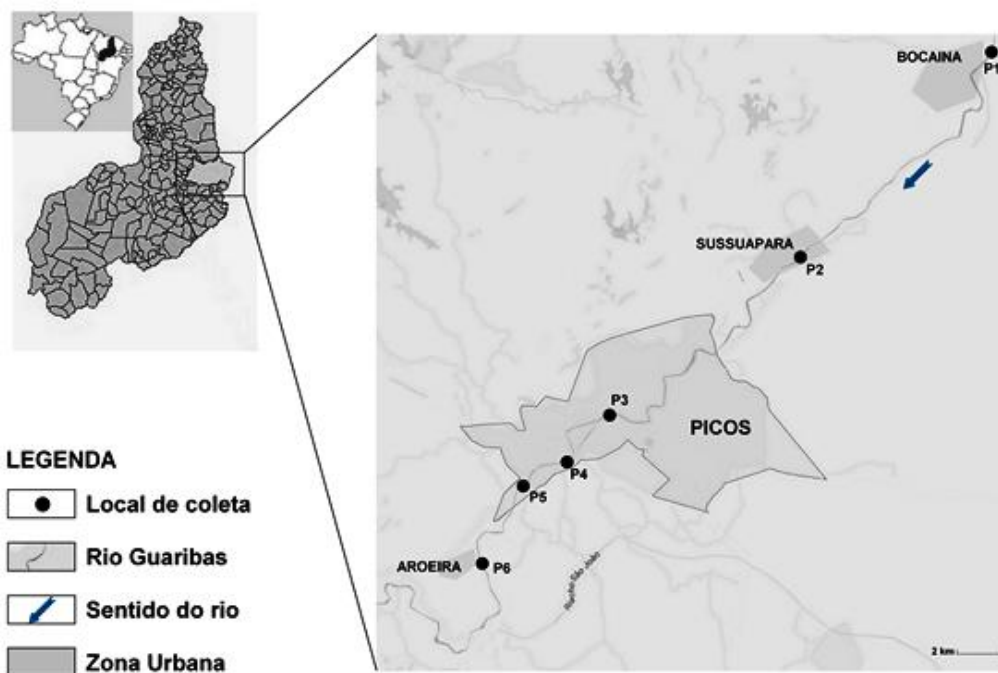


Figura 01: Localização Geográfica da região de estudo e dos pontos amostrais (Ponto 1 e 2 – antes da cidade; Ponto 3 a Ponto 5 – dentro da cidade; Ponto 6 – Depois da cidade) do rio Guaribas, Picos-PI/Brasil.

2.2.2 Coleta das amostras e pré-tratamento

As coletas foram realizadas em quatro meses, considerando os períodos de seca (setembro/2013 e setembro/2014) e chuva (fevereiro/2014 e fevereiro/2015) na região. Assim, as escalas utilizadas para o estudo foram: espacial (pontos de coleta ao longo do rio) e temporal (períodos de seca e chuva).

Para avaliar a qualidade do rio Guaribas, as amostras de águas superficiais foram coletadas em garrafas plásticas de polietileno de 1,5 L, previamente limpas várias vezes com água destilada e finalmente lavadas com ácido clorídrico 10 %. Todas as amostras foram estocadas em isopor com gelo e levadas imediatamente para o laboratório para serem estocadas a 4 °C, e posteriormente analisadas. Foram avaliadas 19 variáveis físicas e químicas da água, totalizando 456 medições ao longo do estudo.

2.2.3 Variáveis monitoradas e métodos analíticos

No momento da coleta, dados de algumas variáveis físicas e químicas, - como condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$), sólidos dissolvidos totais (ppm), pH e temperatura ($^{\circ}\text{C}$), foram obtidos mediante o uso de medidor multiparâmetro HANNA HI-9828, e para o

oxigênio dissolvido (ppm) e oxigênio saturado (%), utilizou-se o Oxímetro portátil HANNA HI-9146. Valores de outras variáveis foram determinados em laboratório.

Variáveis, como cor (UH_z), nitrato (mg/L); nitrito (mg/L); sulfato (mg/L) e cloro (mg/L) foram medidas pelo espectrofotômetro modelo DR 5000 - HACH; turbidez (NTU), utilizando-se o Turbidímetro digital modelo AP 2000; o fósforo total (mg/L), pelo método de digestão com persulfato (Mackereth et al., 1978) e a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), pelo Método de incubação (20°C – 5 dias) do Standard methods for the examination of water and wastewater (Rice et al., 2012) (Tabela 1). Os valores médios de todas as variáveis físicas e químicas foram obtidos em tréplica para cada ponto de coleta.

Os níveis de ferro, zinco, cobre e cromo foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica em chama (EAAC) (APHA, 2005). Para estas análises, imediatamente depois da coleta, as amostras de água foram acidificadas e, posteriormente, submetidas à digestão ácida e subsequente concentração para leitura em espectrofotômetro de absorção atômica em chama (modelo Varian-AA50B). Já o alumínio foi quantificado pelo Standard methods for the examination of water and wastewater (Rice et al., 2012) (Tabela 01). Cada amostra foi quantificada em triplicata.

Tabela 1: Parâmetros de qualidade da água associados com sua abreviatura, unidade e método analítico/instrumento utilizado.

Variáveis	Abreviatura	Unidade	Método/instrumento utilizado
Condutividade elétrica	CE	μS/cm	Multiparâmetro digital (HI-9828)
Sólidos dissolvidos totais	SDT	ppm	Multiparâmetro digital (HI-9828)
pH	pH	unidade de pH	Multiparâmetro digital (HI-9828)
Oxigênio dissolvido	OD	ppm	Medição por sonda
Oxigênio Saturado	OS	%	Medição por sonda
Temperatura	T	°C	Multiparâmetro digital (HI-9828)
Nitrato	NO ₃ ⁻	mg/L	Espectrofotometria
Nitrito	NO ₂ ⁻	mg/L	Espectrofotometria
Fósforo total	PT	mg/L	Espectrofotometria
Demanda bioquímica de oxigênio	DBO	mg/L	ISO 5815:1998
Sulfato	SO ₄ ²⁻	mg/L	Espectrofotometria
Turbidez	Turb	NTU	Turbidimetria
Cloro	Cl	mg/L	Espectrofotometria
Cor	C	UH _z	Espectrofotometria
Ferro	Fe	mg/L	EAAC
Zinco	Zn	mg/L	EAAC
Cobre	Cu	mg/L	EAAC
Cromo	Cr	mg/L	EAAC
Alumínio	Al	mg/L	Espectrofotometria

2.2.4 Índice de Qualidade da Água (IQA)

O IQA foi calculado pelo produto ponderado da qualidade da água correspondente as variáveis: temperatura, pH, OD, demanda bioquímica de oxigênio ($DBO_{5,20}$ - 5 dias, 20 °C), PT, sólidos totais e turbidez (CETESB, 2005). Os indicadores de qualidade da água, considerados a partir do IQA foram: ótima ($80 \leq IQA \leq 100$), boa ($52 \leq IQA \leq 80$), regular ($37 \leq IQA \leq 52$), ruim ($20 \leq IQA \leq 37$) e péssima ($0 \leq IQA \leq 20$) (CETESB, 2005).

2.2.5 Tratamento dos dados e métodos estatísticos utilizados

Foram realizados testes de normalidade (Teste de Kolmogorov – Smirnov) e homocedasticidade (Teste de Levene) para variáveis físicas e químicas da água. Os dados se apresentaram com distribuição normal e homogêneos. Para encontrar uma relação ambiental entre essas variáveis, foi realizada uma correlação de Pearson. Para encontrar as variáveis mais explicativas para a variação do conjunto de dados, possíveis fontes de poluição e formação de grupos por similaridade, foi realizada uma análise multivariada por análise de componentes principais (PCA) e análise de clusters (CA) (Liu et al., 2003; Kazi et al., 2009; Shrestha e Kazama, 2007). Realizou-se análises de variância (ANOVA one-way) com as variáveis físicas e químicas a fim de verificar diferenças espaciais e temporais dos dados obtidos entre os períodos e entre os locais de amostragem. E finalmente, uma análise descritiva por box-plots das variáveis físicas e químicas foi realizada para avaliar as variações espaciais e temporais. Correlação de Pearson, PCA, CA, ANOVA e box-plots foram executados pelo programa estatístico STATISTIC 7.0. O nível de significância utilizado foi $p < 0,05$.

2.2.5.1 Análise de componentes principais (PCA)

PCA é projetada para converter as variáveis originais em novas variáveis não correlacionadas (eixos), chamadas de componentes principais, que são combinações lineares das variáveis originais. Os novos eixos se encontram ao longo das direções da variância máxima. (Sarbu e Pop, 2005). Fornece informações sobre as variáveis mais significativas, que descrevem toda a interpretação do conjunto de dados e a correlação estatística entre constituintes na água com perda mínima de informação original (Helena et al., 2000). Assim,

está análise estatística multivariada foi utilizada para obter as variáveis físicas e químicas que mais contribuíram para explicar a qualidade da água do ambiente aquático estudado.

A primeira etapa foi transformar a matriz de dados originais em uma matriz de correlação [R] ($p \times p$), para p igual aos 19 parâmetros de qualidade de água analisados neste estudo. A principal razão para se usar a matriz de correlação é se eliminar o problema de escalas e unidades diferenciadas em que as variáveis são medidas (Dillon e Goldstein, 1984). A seleção do número de componentes principais a serem consideradas seguiu o critério de Broken-Stick, o qual sugere considerar somente os eixos maiores que o valor predito pelo modelo de Broken-Stick. Este foi o critério escolhido por ser um método estatístico e não heurístico (Rezende et al., 2012).

Mesmo com a matriz dos componentes obtidos na fase de extração, na qual o resultado descreve a relação entre os fatores e as variáveis individuais, o resultado pode ser de difícil interpretação. Para suplantar a limitação, utilizou-se o procedimento de transformação ortogonal, ou simplesmente rotação da matriz das cargas fatoriais, gerando uma nova matriz de cargas fatoriais, que apresenta um melhor significado interpretativo aos fatores. Neste estudo, empregou-se a rotação ortogonal, método Varimax, empregando-se a avaliação da variabilidade espacial e temporal da qualidade de água (Palácio, 2004; Vega et al., 1998).

2.2.5.2 Análise de clusters (CA)

A análise de agrupamento abrange uma ampla gama de técnicas de análise exploratória de dados. O principal objetivo da CA é agrupar objetos (casos) em classes (clusters) para que os objetos dentro de uma classe sejam semelhantes entre si, mas diferentes daqueles em outras classes. Na análise de cluster, os objetos são agrupados por ligações de similaridades inter-amostras e o resultado ilustra a similaridade global das variáveis do conjunto de dados (Massart e Kaufman, 1983). As características das classes (clusters) não são conhecidas antecipadamente, mas pode ser determinada a partir da análise dos dados (Adams, 1998).

Muitas aplicações de CA para avaliações de qualidade da água foram realizados (Astel et al., 2007; Andrade et al., 2008; Alves et al., 2012; Lourenco et al., 2006; Kazi et al., 2009; Mahbub et al., 2008; Moura et al., 2010; Mustapha et al., 2013; Muangthong, Shrestha, 2015; Ogwueleka, 2015; Zhou et al., 2007;). Esta análise permite o agrupamento de amostras de água do rio, com base em suas semelhanças na composição físico-química. Ao contrário do que normalmente usa CPA, apenas dois ou três eixos para fins de exibição, a análise de

cluster usa toda a variância ou informações contidas no conjunto de dados original (Razmkhah et al., 2010)

No estudo, para avaliar as similaridades e dissimilaridades entre os diferentes pontos (antes, dentro e depois da cidade), entre os períodos (seca e chuva) e a possibilidade de formações de grupos entre esses pontos, foi realizada uma análise de agrupamento hierárquica com dados normalizados por meio do método de Ward, um mecanismo extremamente poderoso de agrupamento, que produz uma proporção maior de observações classificadas como corretas e utilizando a distância euclidiana como medida de similaridade (Willet, 1987).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Dados pluviométricos e qualidade da água

Os dados meteorológicos confirmaram a escassez de chuva nos meses de coleta dos períodos de seca (2013 e 2014), bem como o baixo índice pluviométrico nos meses considerados chuvosos (2014 e 2015) (Tabela 2).

Tabela 02: Dados meteorológicos dos meses de coletas para os períodos de seca e chuva na região Nordeste do Brasil.

Estação/Ano	Mês de coleta	Temperatura máxima Mensal (°C)*	Temperatura mínima mensal (°C)*	Umidade relativa mensal*	Precipitação total mensal (mm ³)*	Dias com chuva*
Seca/2013	Setembro	37,4	23,6	37,3	0	0
Chuvoso/2014	Fevereiro	33,2	23,4	61,1	109,6	08
Seca/2014	Setembro	38,3	23,8	42,6	0	0
Chuvoso/2015	Fevereiro	34,3	23,6	66,1	64	12

*Dados referentes ao mês de coleta. Fonte: INMET – Instituto Nacional de Meteorologia – Brasil (2015).

As condições climáticas que se apresentam em alguns locais do mundo, como por exemplo, a região Nordeste do Brasil, se intensificam potencializando a ação antropogênica desenfreada no ambiente aquático (Marcon et al., 2010). A bacia hidrográfica do rio Guaribas, presente no estado do Piauí, localizado na região Nordeste, vem sofrendo, nos últimos anos, com esse tipo de problema. Nessa região, os períodos considerados secos se prolongam por meses durante o ano.

As regiões semiáridas do Nordeste brasileiro são caracterizadas pela escassez de recursos hídricos, precipitações pluviométricas baixas e irregulares, que é agravada pela

precária distribuição de água e saneamento básico, aumentando assim os efeitos tóxicos de poluentes químicos liberados pela ação antrópica (Amr e Yassin, 2008). Este fato é particularmente agravado já que o rio em questão apresenta fluxo fortemente reduzido na maior parte do ano, principalmente em períodos de seca, sendo lóxico em poucos meses, quando o índice pluviométrico é elevado.

Os resultados para qualidade de água nos pontos de coleta foram de acordo com a resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA- 357/2005) e mostraram que as variáveis OD, turb, cor, DBO, Cl, PT, Zn, Cr, Cu e Al apresentaram valores acima dos aceitáveis (VMP) para os períodos de seca e chuva, principalmente para pontos dentro (P3, P4 e P5) e depois da cidade (P6), nos dois períodos analisados (seco e chuvoso) (Tabela 3).

Tabela 3: Valores das variáveis físicas e químicas e das concentrações de metais pesados nos diferentes pontos do rio Guaribas, nos períodos secos e chuvosos durante 2013 a 2015.

Variáveis	VMP		PERÍODO SECO						PERÍODO CHUVOSO					
			P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6
CE (µS/cm)	-	Média	82,0	112,67	655,5	672	691,5	692,5	87,5	89	666,5	547,5	647	608,7
	G	DP	9,74	16,63	366,4	288,03	305	315	4,23	7,9	329,5	190,1	191,7	219,4
T (°C)	-	Média	29,23	28,42	30,18	29,3	30,72	28,62	29,5	28,8	28,62	28,6	27,8	28,15
		DP	1,23	0,28	1,37	0,84	1,53	0,54	0,13	1,68	0,48	0,17	0,8	0,6
SDT (ppm)	< 500	Média	162,67	159,5	318,5	339	342,17	502,7*	173	132	334,8	273,5	323,5	317
		DP	25,81	37,15	185,7	146,06	165,26	12,5	11,5	7,37	160,8	94,7	95,93	96,4
pH	6 a 9	Média	7,35	6,7	7,3	7,02	7,31	7,16	7,2	8,16	7,58	7,54	7,52	7,81
		DP	0,09	0,15	0,58	0,48	0,87	0,05	0,08	0,69	0,34	0,18	0,1	0,3
OS (mg/L)	-	Média	81,50	73,97	43,68	13,95	30,02	15,45	82,5	70,5	24,6	21,7	24,18	27,85
		DP	6,89	23,08	16,32	0,15	5,51	1,49	8,29	2,8	0,7	3,9	2,53	4,87
OD (ppm)	> 5	Média	6,26	4,95*	3,13*	0,83*	2,3*	1,42*	6,05	5,05	2,07*	1,83*	1,99*	2,45*
		DP	0,14	1,29	1,13	0,03	0,37	0,1	0,91	0,07	0,13	0,3	0,6	0,48
turb (NTU)	< 5	Média	3,93	16,63*	36,82*	47,75*	19,06*	51,52*	3,82	2,53	4,67	5,3*	5,28*	29,7*
		DP	0,03	12,61	13,75	10,3	9,51	0,97	0,08	0,77	0,19	0,6	0,67	1,17
cor (Uhz)	< 75	Média	62,50	222,5*	447,67*	420,3*	457,5*	491,67*	114*	29,33	162*	94,83*	101,33*	373*
		DP	4,93	103,74	49,06	28,7	35,87	6,41	72,2	3,5	6	11,1	5,54	10,3
nitrito (mg/L)	< 10	Média	1,18	1,38	4,15	7,88	2,52	5,83	1,4	0,03	0,45	0,32	0,3	5,5
		DP	0,10	0,3	0,42	3,97	0,98	0,46	0,12	0,05	0,05	0,12	0,06	0,26
nitrito (mg/L)	< 1	Média	0,01	0,04	0,02	0,10	0,06	0,06	0,01	0,002	0,01	0,02	0,03	0,04
		DP	0,0	0,05	0,004	0,02	0,02	0,02	0,0	0,004	0,01	0,005	0,02	0,006
sulfato (mg/L)	< 250	Média	13,67	3,17	20,5	35,33	29,50	49,17	18,33	0,005	0,01	1,98	1,12	2,12
		DP	1,03	4,02	7,66	11,69	11,27	7,19	3,26	0,008	0,004	0,2	0,07	0,03

Tabela 3: Continuação

Variáveis	VMP		PERÍODO SECO						PERÍODO CHUVOSO					
			P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6
DBO	< 5	Média	0,82	0,9	5,65*	4,07	4,37	2,98	1,05	2,37	3,55	4,83	5,1*	4,95
		DP	0,37	0,64	0,54	1,64	0,31	0,47	0,4	0,73	1,32	0,23	0,43	0,43
Cl (mg/L)	< 0,01	Média	0,12*	0,11*	0,58*	0,68*	0,21*	0,54*	0,2*	0,05*	0,17*	0,09*	0,07*	0,5*
		DP	0,01	0,03	0,11	0,17	0,07	0,04	0,005	0,02	0,03	0,01	0,01	0,06
PT (mg/L)	< 0,05	Média	0,031	0,086*	2,3*	1,59*	1,43*	2,89*	0,03	0,044	2,4*	1,55*	1,35*	2,76*
		DP	0,001	0,02	0,11	0,08	0,02	0,06	0,002	0,02	0,2	0,11	0,09	0,14
Fe (mg/L)	< 0,3	Média	0,01	0,1	0,19	0,25	0,1	0,09	0,007	0,075	0,2	0,13	0,2	0,66*
		DP	0,01	0,16	0,17	0,27	0,07	0,01	0,005	0,02	0,04	0,01	0,02	0,07
Zn (mg/L)	< 0,18	Média	0,05	0,04	0,04	0,07	0,29*	0,2*	0,014	0,028	0,07	0,09	0,2*	0,21*
		DP	0,04	0,03	0,02	0,03	0,07	0,03	0,008	0,01	0,02	0,06	0,05	0,06
Cr (mg/L)	< 0,05	Média	0,0	0,01	0,01	0,06*	0,06*	0,02	0,005	0,009	0,04	0,058*	0,05	0,06*
		DP	0,0	0,004	0,01	0,03	0,01	0,01	0,005	0,007	0,01	0,04	0,03	0,01
Cu (mg/L)	< 0,009	Média	0,01*	0,002	0,02*	0,05*	0,26*	0,06*	0,001	0,01*	0,004	0,07*	0,01*	0,02*
		DP	0,004	0,001	0,01	0,02	0,33	0,05	0,001	0,01	0,003	0,02	0,01	0,01
Al (mg/L)	< 0,1	Média	0,01	0,02	0,11*	0,15*	0,18*	0,14*	0,004	0,005	0,07	0,2*	0,13*	0,12*
		DP	0,02	0,04	0,06	0,11	0,07	0,06	0,003	0,005	0,02	0,08	0,05	0,05

VMP: Valor máximo Permitido. (*) Não atendimento aos padrões de qualidade das leis brasileiras - CONAMA 357/05.

As variáveis físicas e químicas estudadas são medidas diretas ou indiretas da concentração de poluentes no ambiente aquático, sendo, nesse caso, fundamentais para estudos de caracterização e qualidade de água. Assim, os índices de qualidade da água (IQA), nos pontos antes da cidade (P1 e P2) foram classificadas como “boa”, tendo os valores variando entre 63 a 72, independente do período. Já para os pontos dentro da cidade e depois da cidade, a água foi classificada como “ruim”, com valores entre 29 a 33 para os dois períodos, com exceção do primeiro ponto dentro da cidade (P3), no período chuvoso, sendo classificado como “aceitável”, com valor de 38 (Figura 02).

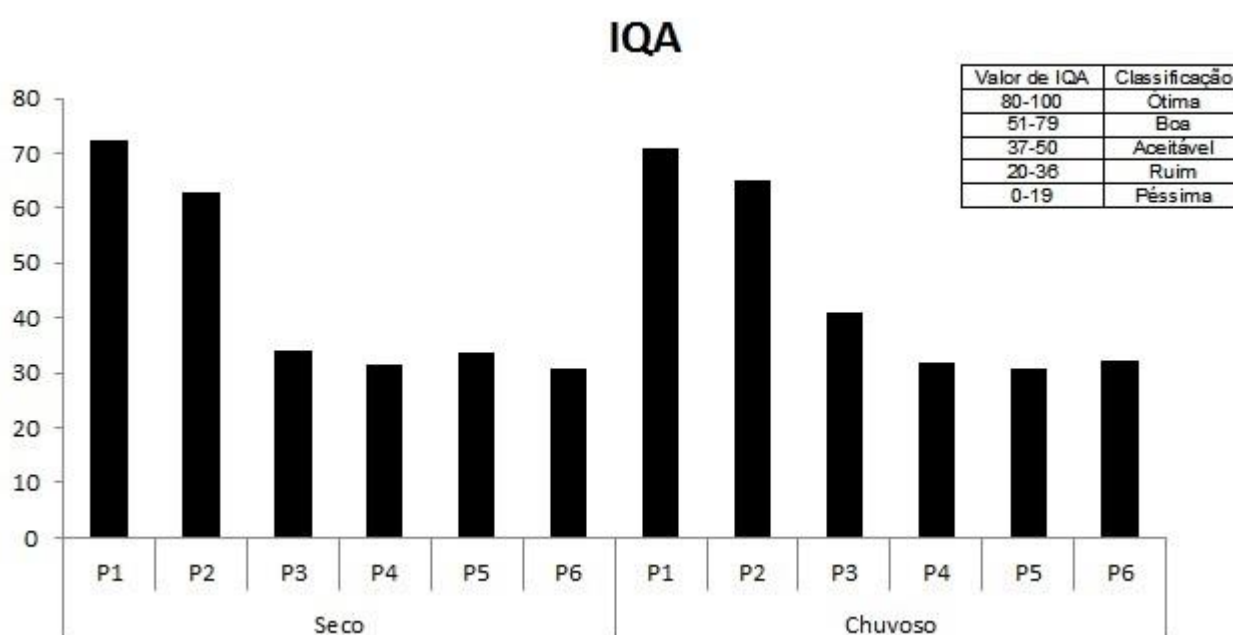


Figura 2: Distribuição do IQA nos pontos de coletas no rio Guaribas durante os períodos de estiagem e chuva (2013 a 2015).

Tradicionalmente, a avaliação de impactos nos ambientes aquáticos tem sido realizada através da medição de alterações nas concentrações de algumas variáveis físicas e químicas. Esta avaliação de dados abióticos constitui-se como ferramenta fundamental na classificação e enquadramento de rios e córregos em classes de qualidade de água e padrões de potabilidade e balneabilidade humanas (Kazi et al., 2009).

A variável condutividade elétrica apresentou os maiores valores para os pontos dentro (P3, P4 e P5) e depois da cidade (P6), sendo a mesma uma medida indireta da concentração de poluentes, podendo ajudar a detectar fontes poluidoras dos ecossistemas aquáticos e fornecer dados sobre o metabolismo do ambiente (Esteves, 2011). Segundo a Companhia de Tecnologia em Saneamento Ambiental-CETESB (2005), os níveis de condutividade elétrica

superiores a $100\mu\text{S}/\text{cm}$ são característicos de ambientes impactados; assim, utilizando essa variável como análise, pode se considerar que o trecho dentro e após a cidade, independente do período analisado, encontra-se impactado com valores acima dos $500\mu\text{S}/\text{cm}$ (Tabela 03).

De acordo com as leis brasileiras (CONAMA-357/2005), o valor de OD na água deve ser superior a 5ppm. Ao longo do curso do rio, observou-se uma diminuição dos valores dessa variável em pontos dentro (P3 a P5) e depois da cidade (P6), valores estes considerados abaixo do permitido (Tabela 03). O baixo índice de OD, encontrado em pontos com ação antrópica, é reflexo da maior atividade biológica no ambiente, por conta do seu estado trófico, e decorre do aporte de grandes cargas de matéria orgânica e resíduo industrial; indicando, assim, um processo de eutrofização nesses pontos (Dusmann et al., 2014; Birungi et al., 2007). Bellanger et al. (2004) afirmam que quando os níveis de OD na água são inferiores aos níveis necessários ($> 1\text{mg}/\text{L}$) para as ações de biodegradação da matéria orgânica, a qualidade desta água é prejudicada. No estudo, o P3, no período de seca, mostrou valor $> 1\text{mg}/\text{L}$. Outros pontos como P4, também dentro da cidade e o P5, depois da cidade, apresentaram valores próximos ao limite estabelecido por estes mesmos autores.

Os valores encontrados para fósforo total (PT), nos pontos dentro da cidade (P3) e depois da cidade (P6), apresentaram valores entre 1.35 a 2.89 mg/L, respectivamente, e sendo considerados acima do permitido pela legislação brasileira. Esses resultados elevados de PT estão associados com a eutrofização artificial nesses pontos. Utilizando a classificação de Wetzel (2001) sobre o estado trófico dos corpos de água em relação às concentrações de PT, esses pontos, nos quatro meses analisados, são classificados como hipereutróficos, ficando todos acima do valor máximo dessa classe ($1,2\text{mg}/\text{L}$). O fósforo nesses locais amostrados é oriundo, principalmente, de descargas de esgotos da população ribeirinha local e da drenagem agrícola, presente as margens do rio.

Em adição as variáveis discutidas anteriormente, analisou-se também a presença de metais pesados ao longo do rio. O aumento dos níveis de metais em ambientes aquáticos causados por efluentes industriais e domésticos é um dos principais indicadores de contaminação química (Manzano et al., 2015), como também responsáveis por efeitos genotóxicos nos organismos que entram em contato com esse tipo de contaminação (Bianchi et al., 2011; Klobucar et al., 2012). As análises da água do rio, nos períodos estudados, mostraram valores de Fe, Zn, Cu, Cr e Al acima dos valores permitidos pela Legislação Ambiental Brasileira em pontos onde a cidade (P3 a P5) está a margem do rio, e depois da cidade (P6).

Algumas relações hidroquímicas podem ser facilmente inferidas a partir da correlação entre as 18 variáveis físicas e químicas analisadas (Tabela 4). Correlações positivas foram observadas entre a CE e as variáveis SDT, PT, Zn, Cr e Al ($r = 0,62$ a $0,89$). A CE, na água, indica capacidade do ambiente de transmitir corrente elétrica, e nesse caso, está diretamente relacionada com a presença de íons no ambiente, tais com os íons metálicos Zn, Cr, e Al. Valores de CE altos em locais impactados, no estudo, mostrou correlação positiva e alta desta variável com para SDT ($r = 0,89$), estando as duas variáveis relacionadas com o grau de ação antropogênica, oriunda da cidade. A variável SDT mostrou também correlação positiva para SO_4^{2-} , Cl, turb, cor, PT, Zn e Al. Os sólidos dissolvidos totais representam uma medida integrativa das concentrações de íons comuns (cloretos, sulfatos, bicarbonatos e outros) em águas doces (Barbosa et al., 2010).

NO_3^- e PT estão fortemente correlacionados ($r = 0,54$), e são variáveis intimamente relacionadas com a contaminação por matéria orgânica, oriunda, principalmente, dos efluentes domésticos da cidade. Valores de OD, em geral, são inversamente proporcional aos valores de temperatura, porque a solubilidade do oxigênio na água diminui com o aumento da temperatura (Vega et al., 1998). Porém não foi constatada essa relação, e isto ocorreu, provavelmente, devido a pouca variação de temperatura, durante o estudo. DBO, NO_2^- e PT mostraram-se correlacionados negativamente com o OD ($r = -0,59$ a $-0,81$), e isto se deve ao fato que a matéria orgânica é parcialmente oxidada pelo oxigênio, enquanto os nutrientes são responsáveis pela eutrofização do ambiente aquático, causando, assim, um aumento adicional na concentração de matéria orgânica e, conseqüentemente, da diminuição na procura do oxigênio (Andrade et al., 2007).

Os metais pesados, observados no estudo, mostraram-se correlacionados positivamente. Zn mostrou correlação com Cr, Cu e Al ($r = 0,68$ a $0,72$), o Cr com o Al ($r = 0,79$), Fe com Cr ($r = 0,57$) e Cu com Al ($r = 0,61$). Essas correlações positivas entre os metais estão, possivelmente, relacionadas com a presença de lixo doméstico (pilhas, baterias, TVs, peças de carros), como também pela presença de mecânicas e lavadores de carros, localizadas nas margens do rio, cujas atividades ocorrem durante todo o ano, além da utilização de pesticidas na agricultura, contendo metais na sua composição já que é um rio muito utilizado para esta atividade.

Tabela 4: Matriz de correlação das variáveis físicas e químicas indicadoras da qualidade da água no rio Guaribas/Brasil. Valores de r sublinhados são significantes para $p < 0.05$, apresentando correlações positivas ou negativas.

	CE	T	SDT	PH	OS	OD	TURB	COR	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	SO ₄ ²⁻	DBO	CL	PT	FE	ZN	CR	CU	AL
CE	1.00																		
T	0.05	1.00																	
SDT	<u>0.90</u>	-0.01	1.00																
PH	-0.01	-0.21	-0.14	1.00															
OS	<u>-0.94</u>	0.15	<u>-0.86</u>	-0.04	1.00														
OD	<u>-0.93</u>	0.13	<u>-0.84</u>	0.02	<u>0.99</u>	1.00													
TURB	<u>0.55</u>	0.16	<u>0.70</u>	-0.39	-0.51	-0.54	1.00												
COR	<u>0.65</u>	0.40	<u>0.72</u>	-0.39	-0.53	-0.56	<u>0.90</u>	1.00											
NO ₃ ⁻	0.48	0.17	<u>0.58</u>	-0.33	-0.46	-0.49	<u>0.93</u>	<u>0.83</u>	1.00										
NO ₂ ⁻	0.49	0.16	0.52	-0.50	-0.54	<u>-0.59</u>	<u>0.75</u>	<u>0.72</u>	<u>0.81</u>	1.00									
SO ₄ ²⁻	0.33	0.49	<u>0.59</u>	-0.48	-0.29	-0.30	<u>0.75</u>	<u>0.72</u>	<u>0.70</u>	<u>0.65</u>	1.00								
DBO	<u>0.85</u>	0.03	<u>0.60</u>	0.28	<u>-0.78</u>	<u>-0.78</u>	0.33	0.43	0.29	0.26	0.07	1.00							
CL	0.54	0.24	<u>0.61</u>	-0.27	<u>-0.47</u>	-0.49	<u>0.92</u>	<u>0.83</u>	<u>0.95</u>	<u>0.66</u>	<u>0.67</u>	0.39	1.00						
PT	<u>0.89</u>	-0.09	<u>0.88</u>	0.09	<u>-0.84</u>	<u>-0.81</u>	<u>0.62</u>	<u>0.66</u>	<u>0.54</u>	0.32	0.29	<u>0.73</u>	<u>0.63</u>	1.00					
FE	0.45	-0.31	0.30	0.27	-0.45	-0.43	0.35	0.37	0.48	0.28	-0.20	0.55	0.46	<u>0.60</u>	1.00				
ZN	<u>0.62</u>	0.05	<u>0.65</u>	0.07	<u>-0.59</u>	-0.55	0.32	0.54	0.29	0.43	0.32	0.47	0.17	0.53	0.24	1.00			
CR	<u>0.78</u>	-0.15	0.56	0.20	<u>-0.83</u>	<u>-0.81</u>	0.14	0.30	0.22	0.43	-0.05	<u>0.74</u>	0.15	<u>0.59</u>	<u>0.57</u>	<u>0.68</u>	1.00		
CU	0.42	<u>0.59</u>	0.36	-0.08	-0.36	-0.36	0.16	0.47	0.12	0.42	0.42	0.31	0.05	0.17	-0.08	<u>0.72</u>	0.47	1.00	
AL	<u>0.87</u>	0.10	<u>0.76</u>	-0.06	<u>-0.88</u>	<u>-0.88</u>	0.48	<u>0.58</u>	0.42	0.57	0.36	<u>0.80</u>	0.41	<u>0.69</u>	0.34	<u>0.68</u>	<u>0.79</u>	<u>0.61</u>	1.00

2.3.2 Análise de componentes principais

De acordo com a CPA, as variáveis físicas e químicas se associaram aos 3 primeiros eixos (CP1, CP2, CP3), identificando respostas do ambiente a ação antrópica da cidade, ao longo dos pontos de coletas, e mostrando a variação da qualidade de água ao longo do rio. Esses eixos explicaram, respectivamente, 52,92%, 18,43% e 10,92% da variância total dos dados, concentrando em três dimensões 82,27% das informações (Tabela 5).

Vários estudos avaliaram a qualidade de ambientes aquáticos através de variáveis físicas e químicas, utilizando análises de componentes principais (Vega et al. 1998; Shrestha e Kazama, 2007; Singh et al., 2004; Olsen et al., 2012; Ruzdjak e Ruzdjak., 2015; Phung et al., 2015). Ogwueleka (2015) avaliou a qualidade da água do rio Kaduna, Nigéria, utilizando CPA e CA, com base em 17 variáveis físicas e químicas, mensuradas em oito locais de coleta. Os resultados da PCA determinaram que 78,7% da variância total na região de baixa poluição foi explicada por cinco parâmetros que foram natural, orgânico, mineral, microbiológico e nutrientes, e 87,6% da variância total na região de alta poluição foi explicado por seis parâmetros, que foram microbiano, orgânico, mineral, natural, nutriente e orgânico. Este estudo ilustra a utilidade da análise de componentes principais (CPA) para a classificação e processamento de um conjunto de dados grande e complexos de qualidade da água, identificação de fontes de poluição latentes e suas variações espaço-temporais, e a determinação dos parâmetros significativos correspondentes na qualidade da água do rio.

Tabela 5: Matriz do peso fatorial das variáveis físicas e químicas nos três componentes principais selecionados.

	CP1	CP2	CP3
CE	<u>-0.921</u>	-0.2658	0.0466
T	-0.1217	<u>0.5254</u>	<u>0.5704</u>
SDT	<u>-0.9031</u>	-0.0176	-0.011
pH	0.1514	<u>-0.6872</u>	-0.0763
OS	<u>0.8944</u>	0.3461	0.0103
OD	<u>0.8982</u>	0.294	0.0123
Turb	<u>-0.7816</u>	<u>0.5078</u>	-0.3012
Cor	<u>-0.8432</u>	0.4329	-0.0018
NO ₃ ⁻	<u>-0.7477</u>	0.4857	-0.3548
NO ₂ ⁻	<u>-0.7528</u>	0.3822	0.046
SO ₄ ²⁻	-0.5623	<u>0.7251</u>	0.1786
DBO	<u>-0.7293</u>	<u>-0.4924</u>	0.0024
Cl	<u>-0.7347</u>	0.4566	<u>-0.4224</u>
PT	<u>-0.8509</u>	-0.2317	-0.2565
Fe	-0.5141	-0.3796	<u>-0.5161</u>
Zn	<u>-0.6824</u>	-0.2332	<u>0.407</u>
Cr	<u>-0.6915</u>	<u>-0.5594</u>	0.2039
Cu	-0.4832	0.0634	<u>0.832</u>
Al	<u>-0.8639</u>	-0.258	0.2835
Autovalor	10.05	3.46	2.07
% variância explicada	52.92	18.43	10.92
% variância acumulada	52.92	71.16	82.27

No CP1, as variáveis OS e OD contribuíram positivamente e CE, SDT, turb, cor, nitrato, nitrito, DBO, Cl, PT, Zn, Cr e Al, negativamente; todas apresentaram um peso superior a 0.68, indicando que estas variáveis são as mais significativas na definição da qualidade da água estudada conforme apresentado por este eixo. No CP2, sulfato, turb e T contribuíram positivamente, e pH, Cr e DBO, negativamente. E para a o CP3, as variáveis T, Zn e Cu tiveram contribuição positiva, enquanto que Fe e Cl contribuíram negativamente. Como pode ser visto na Tabela 5, o CP1 sofre contribuição da maioria das variáveis analisadas, impedindo assim a sua interpretação hidroquímica de forma mais específica. Bem como, o CP2 possui variáveis que mais explicam esse eixo, como pH, sulfato, Cr, T, porém não explicam suficientemente uma possível ação antropogênica da cidade no ambiente e o tipo de atividade humana que afeta o rio.

Em geral, a matriz do peso fatorial (Tabela 5) apresenta dificuldades na identificação das variáveis mais significativas, em decorrência de valores muito próximos entre si (Andrade et al., 2007). Para suplantar essa limitação, aplicou-se a transformação ortogonal pelo emprego do algoritmo varimax (Tabela 6). Estudos realizados por Palácio (2004), Moura et al. (2010), Razmkhah et al. (2010), Juahir et al. (2011) e Ogwueleka (2015) obtiveram uma matriz de mais fácil interpretação com a aplicação do algoritmo varimax na elaboração da matriz transformada. A adoção da matriz transformada, neste estudo, gerou mudanças significativas em relação à matriz original (Tabela 6). Pode-se observar uma melhor distribuição da variância total entre as três componentes. Comparando-se as tabelas 5 e 6, verifica-se uma redução do percentual da variância total explicada pelo CP1 e um consequente aumento do percentual da variância explicado pelos CP2 e CP3, sem ocorrer variação do total explicado pelo modelo, como afirmavam Monteiro e Pinheiro (2004).

Tabela 6: Fatores dos três CPs da matriz transformada pelo método ortogonal Varimax.

	VF1	VF2	VF3
CE	<u>0.892452</u>	0.351003	0.083916
T	-0.165530	0.248767	<u>0.728988</u>
SDT	<u>0.723198</u>	0.531849	0.114870
pH	0.294752	-0.554759	-0.320772
OS	<u>-0.912858</u>	-0.298694	0.002329
OD	<u>-0.882841</u>	-0.339638	-0.013316
Turb	0.265313	<u>0.942752</u>	0.003237
Cor	0.391699	<u>0.822935</u>	0.261881
NO ₃ ⁻	0.241129	<u>0.931119</u>	-0.064776
NO ₂ ⁻	0.325980	<u>0.728061</u>	0.262099
SO ₄ ²⁻	0.017598	<u>0.790169</u>	0.496476
DBO	<u>0.873193</u>	0.094974	-0.059462
Cl	0.246940	<u>0.923953</u>	-0.124734
PT	<u>0.784379</u>	0.437348	-0.195014
Fe	0.571244	0.228954	-0.544539
Zn	<u>0.715238</u>	0.114394	0.386785
Cr	<u>0.927963</u>	-0.056575	0.056366
Cu	0.440967	0.035674	<u>0.856599</u>
Al	<u>0.859640</u>	0.262304	0.293341
Autovalor	7.50	5.76	2.36
% variância explicada	39.50	30.31	12.46
% variância acumulada	39.50	69.81	82.27

A rotação dos eixos das CPs (cargas superiores para cada uma das componentes estão em sublinhado) pode conseguir uma representação mais simples e mais significativa dos fatores subjacentes, pois diminui as contribuições de variáveis com menor importância e aumenta as mais significativas (Massart, 1998; Sharaf et al., 1986). Por conseguinte, 3 varifatores (VF) foram extraídos, explicando 82.27% da variância. Deve ser notado que a rotação resultou num aumento do número de fatores necessários para explicar a mesma quantidade de variação no conjunto de dados original. Portanto, os dois primeiros varifatores utilizados para representação gráfica, explica menos variação do que o apresentado antes da rotação. No entanto, pequenos grupos de variáveis podem ser agora associado a fatores rotacionados individuais com um significado mais claramente hidroquímico (Vega et al., 1998).

Varifator 1 explicou 39,5% da variância total e é altamente contribuído por CE, SDT, DBO, PT, Zn, Cr e Al positivamente; e OD e OS, negativamente. Observa-se que turb, cor, nitrato, nitrito e Cl deixaram de contribuir no VF1. Este eixo pode ser interpretado como o varifator das variáveis físicas e químicas dos indicadores físico-químicos da qualidade da água, além de ser o eixo que explica a contaminação ambiental por metais pesados, com pesos acima de 0,70. Este VF representa a influência de poluentes orgânicos relacionados, principalmente, com atividades humanas, tais como efluentes domésticos e industriais. As variáveis fósforo total, condutividade, TDS e turbidez indicam a entrada de material alóctone no ecossistema (Pinto-Coelho et al., 2005), somado aos baixos níveis de OD e nitrato, resultado na desnitrificação e aumento do nitrogênio total, indicam a ocorrência de eutrofização do ambiente hídrico (Macêdo, 2003). A contribuição do PT (peso = 0.78) no VF1 mostra como o ambiente sofre forte pressão antrópica, principalmente por uma grande descarga de esgotos domésticos em pontos dentro (P3 a P5) e depois da cidade (P6). A contribuição negativa de OD e OS no VF1 separou claramente os pontos antes da cidade dos pontos dentro e depois da cidade (Figura 3).

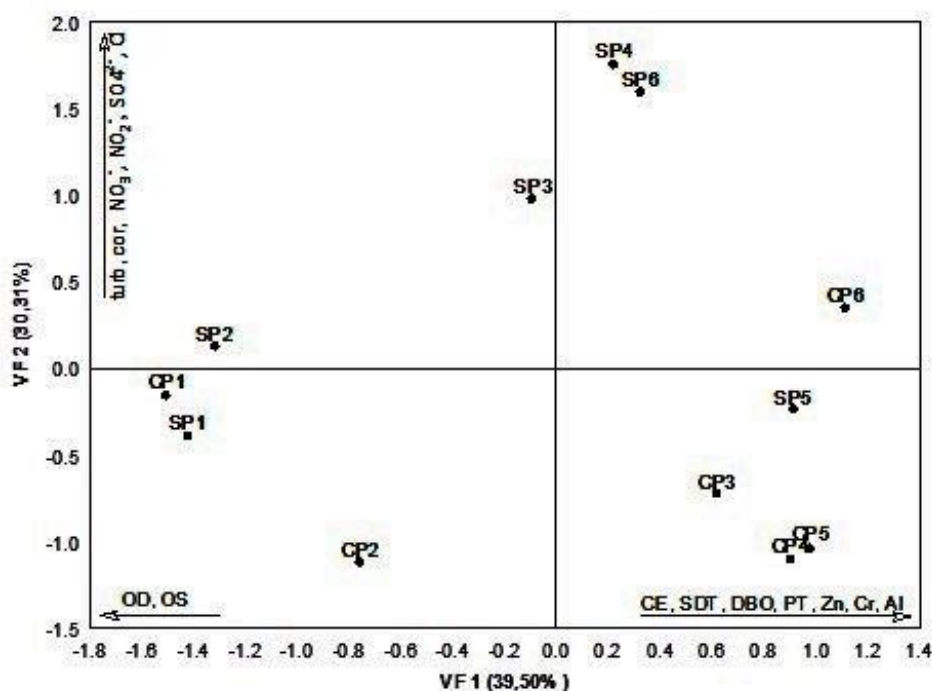


Figura 3: Escores dos dois primeiros varifatores (VF1 e VF2). Os dois eixos explicam 69,81% da variância total. (S) período seco; (C) período chuvoso.

Varifator 2 explicou 30.31% da variância total, tendo contribuição positiva da turb, cor, nitrato, nitrito, sulfato e cloro, apresentando peso > 0.72 . Observa-se agora, que o VF2 apresenta mais variáveis que o respondem, quando comparado a matriz original, onde o pH, Cr e a T deixaram de contribuir para este eixo. VF2 representa a poluição de matéria orgânica por atividade agrícola. A presença de nitrato e nitrito em águas superficiais pode ter sua origem em fertilizantes orgânicos, enquanto que o sulfato em fertilizantes químicos (Kazi et al., 2009). Estes nutrientes inorgânicos podem ser interpretados como representantes de influências de descargas domésticas e depósitos naturais de erosão. A presença de uma contribuição elevada de nitrato, nitrito e sulfato em uma VF também foi reportada nos estudos de Kazama e Yonegawa (2002) e Fukasawa (2005). Esse VF, devido a elevada contribuição da cor e turb, pode também representar ou expressar o efeito do escoamento superficial, com uma carga de sedimentos oriundos das áreas agrícolas e contribuição de esgotos e resíduos sólidos dispostos, inadequadamente, próximos às margens dos cursos de água (Andrade et al. 2007; Moura et al. 2010). O VF2, também, mostra uma separação dos pontos P3, P4 e P6 nos períodos de seca em relação aos pontos P3, P4 e P5 nos períodos de cheia, evidenciando uma separação dos pontos dentro e depois da cidade em relação ao período analisado (Figura 3).

O VF3 explicou 12,46% da variância total dos dados, com contribuição positiva da T e Cu. Este VF representa o efeito sazonal da T sobre os locais de coleta, auxiliando a separação

dos pontos dentro e depois da cidade em grupos diferentes. Shrestha e Kazama (2007), Nonato et al. (2007) e Mustapha et al. (2013) apresentaram resultados semelhantes para variáveis com contribuição elevada da T e sugeriram similaridades temporais da qualidade da água.

Muitos autores em todo o mundo têm estudado os efeitos locais causados em rios (Mavukkandy et al., 2014; Vieira et al., 2012; Yang et al., 2010). Xu et al. (2014) identificaram T, pH, dureza total, OD, NO_3^- e PT como variáveis significativas afetando as variações espaciais entre locais, e T, pH, e NO_2^- foram identificadas como variáveis significativas que afetaram a variação temporal. Os autores identificaram, ainda, quatro fontes de poluição latentes para as variações de qualidade da água: poluição por nutrientes, poluição orgânica, poluição inorgânica e poluição natural. Li et al. (2014) consideraram três variáveis significativas (T, pH e coliformes totais) para distinguir grupos temporais, e cinco variáveis (T, CE, nitrogênio total, demanda química de oxigênio e PT) para a variação espacial. Os autores identificaram, ainda, principais fontes de poluição, incluindo as atividades agrícolas, poluição natural, resíduos industriais e águas residuais domésticas. Bu et al. (2014) indicaram que a poluição de um rio, no nordeste da China, foi, principalmente, a partir de fontes naturais e/ou antropogênicas, por exemplo, precipitação, águas residuais domésticas, escoamento agrícola e descarga industrial. Os resultados desses estudos mostram que cada rio possui característica física e química única, devido às suas diferentes características naturais e antrópicas (Huang et al., 2010) e que os fatores de poluição, que desempenham papéis importantes para influenciar a qualidade da água do rio em um determinado ambiente, pode não ser importante para explicar em outro.

Assim, a CPA realizada, juntamente com o método ortogonal de Varimax, mostrou que a variação do conjunto de dados das variáveis físicas, químicas e presença de metais para o rio tropical estudado pode ser explicada em três VF. O VF1 representou a eutrofização artificial e a contaminação do ambiente por metais pesados, oriundos da poluição antrópica; o VF2 representou a atividade agrícola, poluição por matéria orgânica e escoamento superficial, e o VF3 explicou a diferença temporal entre os locais de coleta.

2.3.3 Similaridade espacial e formação de grupos

A análise de cluster permite o agrupamento de amostras de água de um rio, com base em suas semelhanças físicas e químicas. Para analisar melhor as variações espaciais e temporais da qualidade da água e a similaridade dos locais amostrados, os dados obtidos das

variáveis físicas e químicas do rio Guaribas foram submetidos à análise de cluster pelo método de Ward. O dendrograma dos locais de coleta nos dois períodos avaliados, mostrou três grupos significativos e bem diferenciados (Figura 4). Tal como observados nos estudos de Wang et al. (2012), Li et al. (2011), Bouza-Deano et al. (2008), e Shrestha Kazama (2007), onde o processo de aglomeração forma grupos destacados a partir de locais com características e tipos de fontes naturais similares.

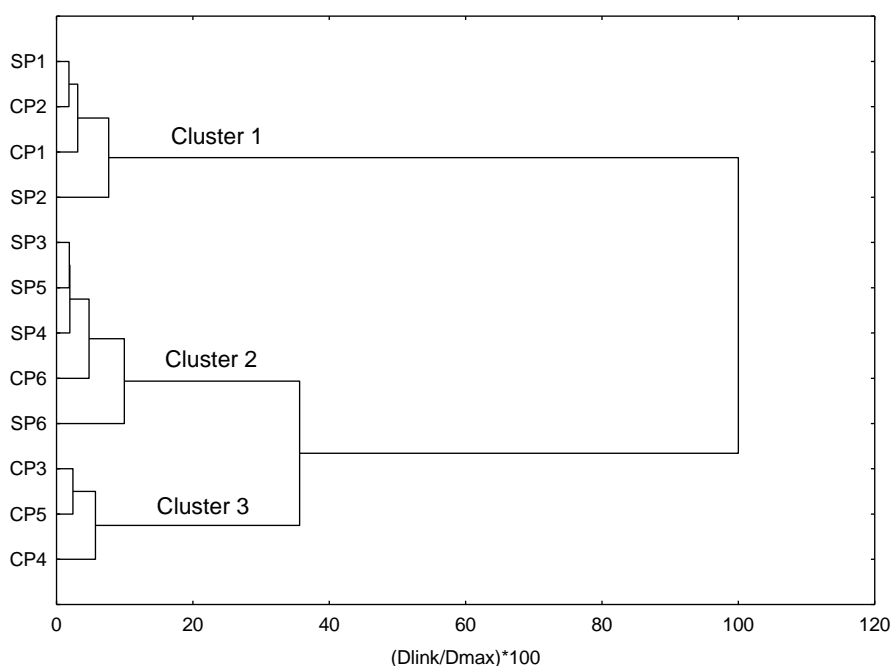


Figura 4: Dendrograma baseado na análise de cluster (método Ward's) para os seis locais de coleta (antes – P1 e P2; dentro – P3 a P5 e depois – P6 da cidade) no rio Guaribas, Brasil, para os períodos de seca (S) e chuva (C).

Os pontos antes da cidade (P1 e P2) formaram o cluster 1. Neste grupo estão os pontos, como mostrado pelo IQA, com “boa” qualidade de água e os mesmos se agruparam independente do período avaliado. Esses pontos representam locais sem influência da principal cidade a margem do rio Guaribas (Picos), nesse caso, locais sem a presença de eutrofização artificial e impacto ambiental. A CA mostra claramente também a diferença entre o cluster 1 e os clusters 2 e 3.

O cluster 2 é constituído por pontos dentro e depois da cidade no período de seca, com exceção ao ponto CP6 (ponto depois da cidade no período chuvoso), já o cluster 3 está formado pelos pontos P3, P4 e P5, todos dentro da cidade e com amostras coletadas no período chuvoso. O dendrograma mostrou a separação entre pontos não influenciados pela ação antropogênica da cidade de pontos com forte influência dessa contaminação orgânica

humana, evidenciando também a separação dos pontos dentro da cidade (P3, P4 e P5) em relação ao período de coleta, além de mostrar que o ponto depois da cidade – P6, independente do período, se mostrou similar durante os 02 anos de coleta.

Estudos, como de Singh et al. (2004); Razmkhah et al. (2010); Phung et al. (2015), utilizaram CA para avaliar similaridades temporais e espaciais em rios. Muangthong e Shrestha (2015), utilizando análise de cluster para estudar a qualidade da água dos rios Nampong e Songkhram, Tailândia, agruparam, 13 locais de amostragem do rio Nampong em dois clusters, e cinco pontos de amostragem do rio Songkhram em três grupos com base na semelhança das suas características de qualidade da água.

A CA foi útil agrupando os diferentes locais em relação aos períodos analisados, porém não conseguiu distinguir as variáveis físicas e químicas que influenciam na formação desses grupos. Assim, foram realizadas análises de variância (ANOVA) para identificar diferenças entre os períodos e entre os locais de coleta e uma análise descritiva com box-plots para avaliar as variações espaciais e temporais nos parâmetros de qualidade da água (Figura 5 e 6). Variáveis que mais contribuíram para a explicação dos dados através da CPA (T, CE, SDT, OS, OD, turb, cor, nitrato, nitrito, DBO, Cl, PT, Al, sulfato e Cu) foram selecionados para explicar melhor as variações temporais e espaciais.

ANOVA revelou a existência de diferenças temporais e espaciais. Diferenças significativas temporais foram encontradas para as seguintes variáveis: T, DBO, cor, turbidez, nitrato, nitrito, sulfato, e Cl. Porém, nenhuma diferença significativa entre períodos de seca e chuva foram encontradas para CE, SDT, OS, OD, PT, Cu e Al. Nota-se que o rio, durante os dois anos estudados, apresentou-se impactado, com valores de variáveis físicas e químicas acima do permitido pela legislação brasileira (CONAMA, 357/2005), independente do período; porém, quando se analisam essas variáveis por período, observam-se diferenças significativas para algumas dessas variáveis. Isto pode estar relacionado com o clima, o índice pluviométrico e a mudança do rio de lântico para lótico no período chuvoso.

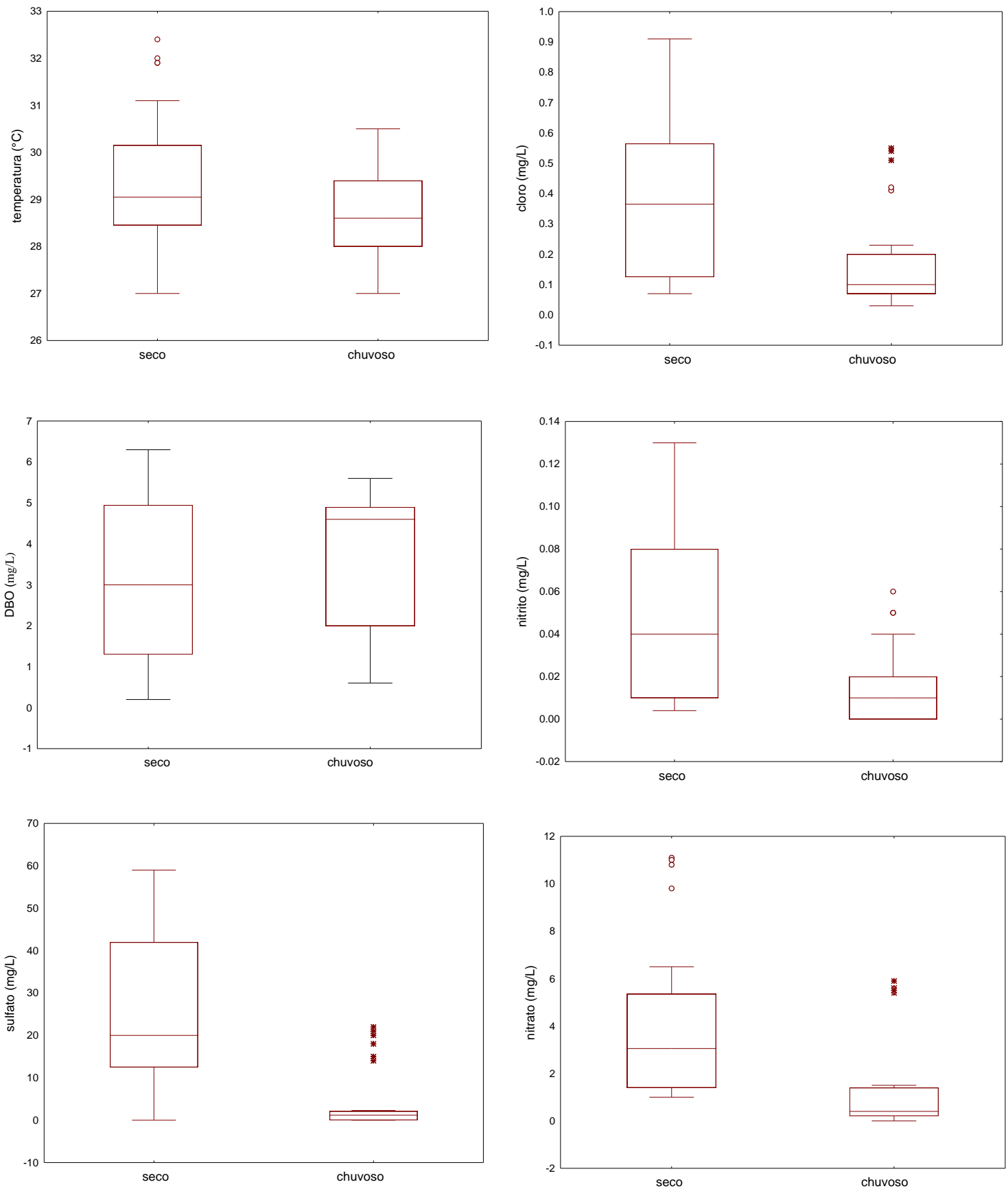


Figura 5: Box plots das variações temporais das variáveis físicas e químicas que mais influenciaram nas CP selecionadas.

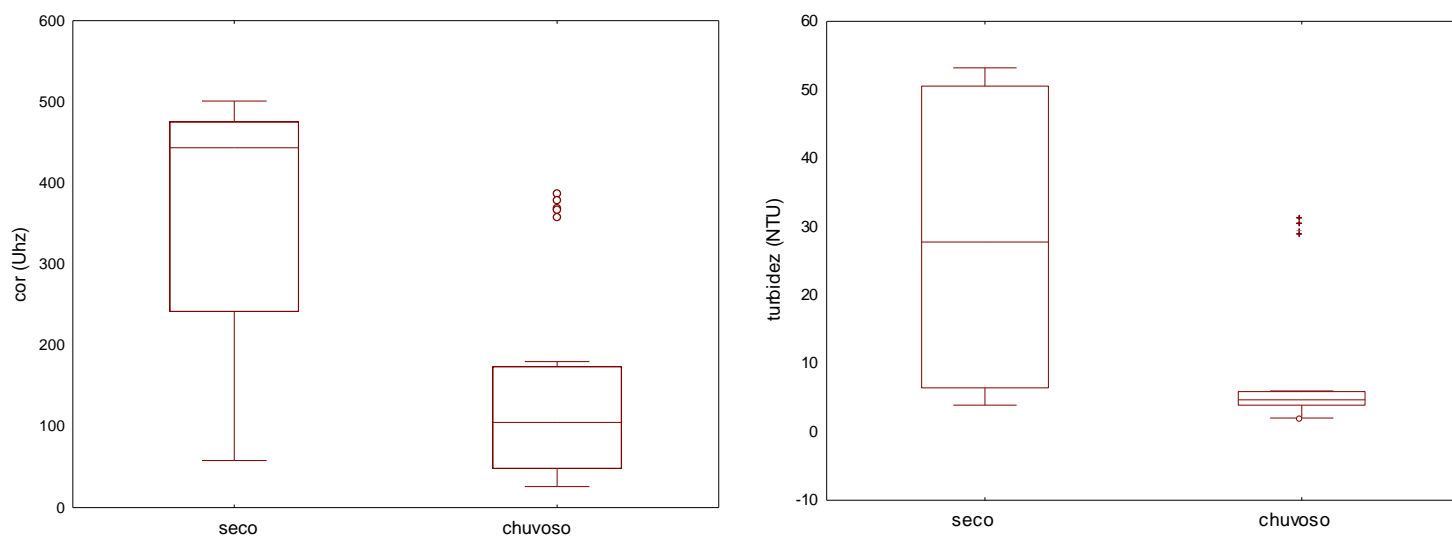


Figura 5: (Continuação). Box plots das variações temporais das variáveis físicas e químicas que mais influenciaram nas CP selecionadas.

A temperatura é um indicador significativo da variação temporal da qualidade da água (Wu et al. 2009). Para o estudo, os valores elevados foram observados no período de seca, com mediana de 29.15 °C, e baixos valores no período chuvoso, com mediana de 28.5 °C. Para o DBO, os valores elevados foram observados no período chuvoso, com mediana de 4.6 mg/L, e os baixos valores no período de seca, com mediana de 3 mg/L. A mediana mais elevada de DBO na estação chuvosa em relação ao seco sugere também poluição nesse período, uma elevada carga de matéria orgânica dissolvida adicionado a partir de recursos terrestres, tais como águas residuais domésticas, atividades agrícolas relacionadas com efluentes industriais (Wu et al. 2009).

Para a cor, no período de seca, a mediana foi de 434 Uhz, já para o período chuvoso, baixo valores foram observados com mediana de 105 Uhz. Para turbidez, os maiores valores foram observados no período de seca com mediana de 27.75 NTU, e para o período de chuva, a mediana foi de 4.68 NTU. Tanto a cor como a turbidez podem representar medidas indiretas de poluição no ambiente, já que os valores de dessas variáveis podem ser influenciadas por liberação de efluentes domésticos, como presentes no rio Guaribas, na região influenciada pela cidade, porém podem apresentar valores elevados devido à influência de ações naturais como escoamento de sedimentos por erosão. Para NO_3^- e NO_2^- , no período de seca foram observadas as maiores medianas, 3.05 mg/L e 0.04 mg/L, respectivamente; já o período chuvoso, medianas 0.40 mg/L e 0.01 mg/L, respectivamente. Para o sulfato, os maiores valores foram constatados no período seco, com mediana de 20 mg/L, e 1.46 mg/L para o

período de chuva. E para o Cl, maior mediana foi encontrada no período de seca, 0.37 mg/L, e mediana de 0.12 mg/L no período chuvoso. Medianas elevadas de NO_3^- , NO_2^- e sulfato, no período de seca confirmam escoamento agrícola para dentro do rio, devido possíveis utilizações de fertilizantes as margens do ambiente estudado. As maiores diferenças encontradas entre medianas por período foram das variáveis cor, turb e sulfato, permitindo, assim, explicar a diferença observada na formação dos cluster 2 e 3, diferenciando os pontos P3, P4 e P5, período de seca dos pontos P3, P4 e P5 no período de chuvoso.

Em relação à escala espacial, e considerando a posição do ponto de coleta (antes, dentro e depois da cidade) observaram-se diferenças significativas para os pontos dentro (P3 a P5) e depois (P6) da cidade em relação aos pontos antes da cidade (P1 a P2) para tais variáveis: CE, OD, OS, SDT, DBO, cor, turbidez, PT, Cl e Al. Sendo todas essas variáveis indicadoras de poluição ambiental, evidenciando assim, o impacto ambiental em locais influenciados pela cidade, definindo bem locais não poluídos (antes da cidade) de locais poluídos (dentro e depois da cidade) (Figura 6).

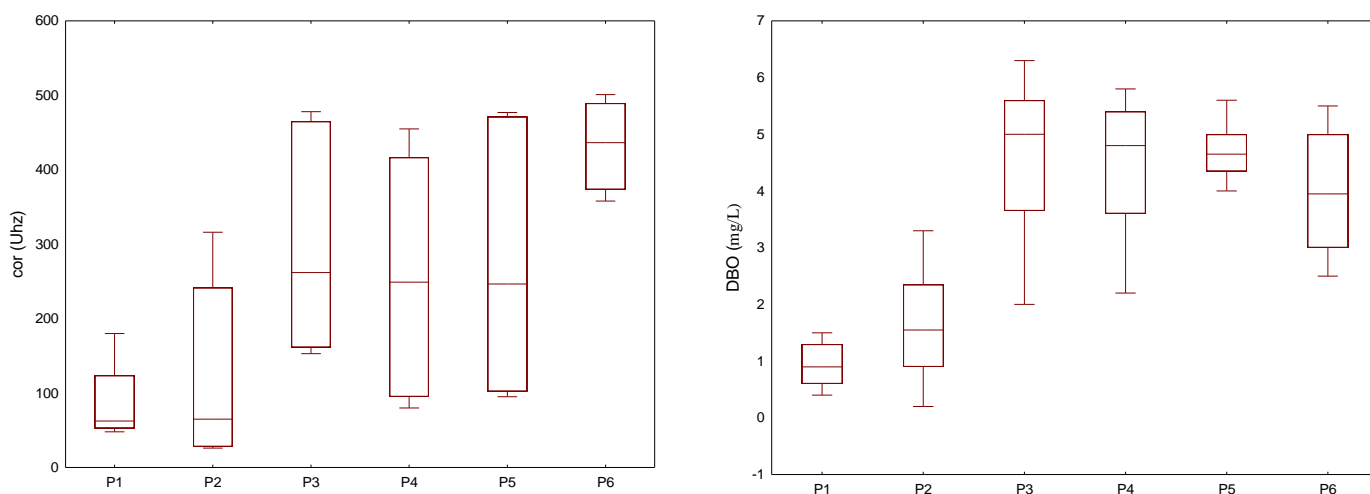


Figura 6: Box plots das variações espaciais das variáveis físicas e químicas selecionadas.

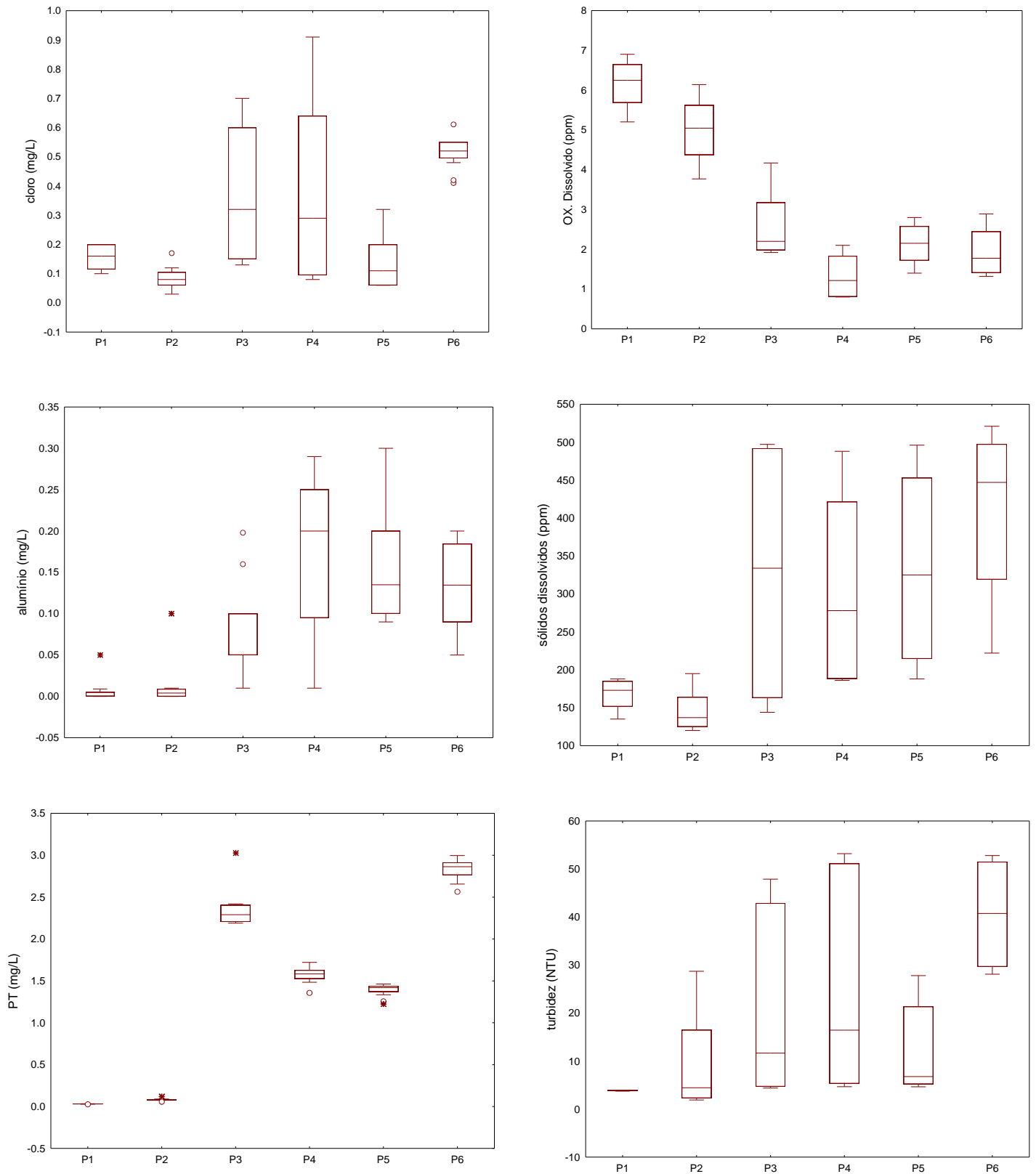


Figura 6: Continuação.

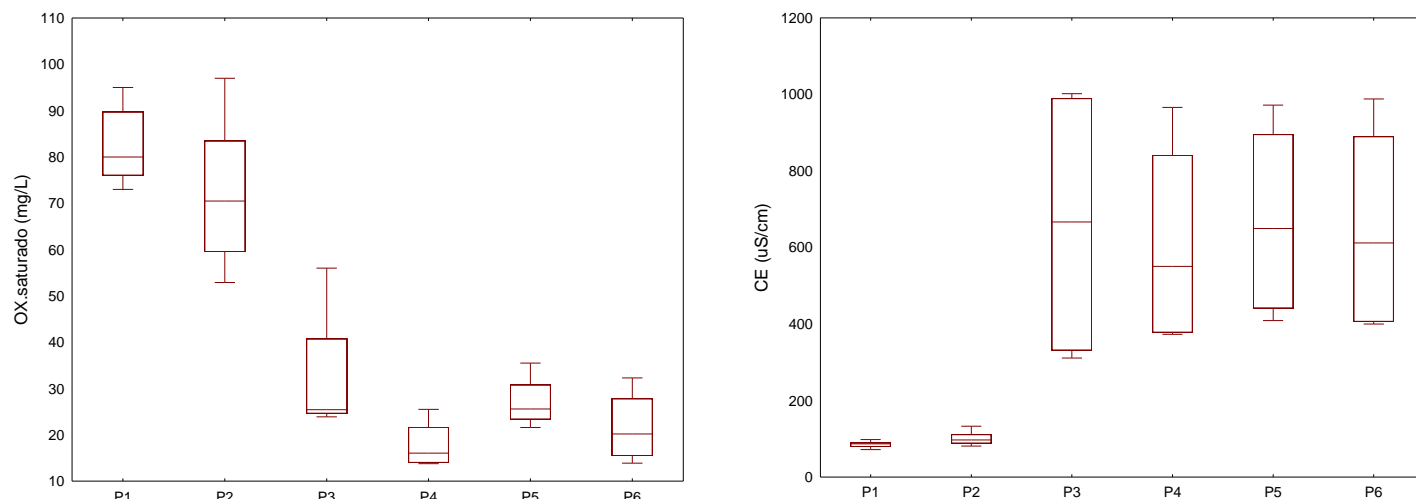


Figura 6: (Continuação). Box plots das variações espaciais das variáveis físicas e químicas selecionadas.

A variação espacial das variáveis físicas e químicas foi claramente evidenciada de acordo com a CPA, CA e box e whisker plots uma separação de locais não poluídos para locais poluídos por efluentes domésticos e agrícolas. As concentrações de parâmetros relacionados com poluição antropogênica, como CE, SDT, DBO, cor, turb, PT, Cl e Al, foram mais elevados em locais poluídos (P3 a P6) do que em locais sem poluição (P1 e P2).

Box plots das variáveis físicas e químicas selecionadas pela CPA e Anova foram construídas para avaliar diferentes padrões associados com variações espaciais na qualidade da água do rio (Figura 6). A variação espacial observada no cluster 1 em relação aos cluster 2 e 3 foi causada pelas variáveis OD, OS, CE, SDT, DBO, cor, turb, PT, Cl e Al. As maiores medianas de OD e de OS ocorreram no ponto antes da cidade (P1), com valores de 6,25 ppm e 80%, respectivamente; enquanto que os menores valores de mediana para essas variáveis foram encontradas no ponto dentro da cidade (P4), com valores de 1,395 ppm e 0,81%, respectivamente. A baixa concentração de OD e OS encontrados nas amostras de água nos locais dentro e depois da cidade (P3 a P6) é extremamente preocupante, uma vez que a falta de oxigênio podem comprometer a manutenção e sobrevivência da biota aquática deste ambiente (Manzano et al., 2015). Estes dados, juntamente com medianas elevadas de CE, SDT e PT dentro e depois da cidade (P3 a P6), confirmam a contaminação e degradação do ambiente pelo lançamento de efluentes domésticos e agrícolas pela cidade.

Portanto, os resultados das variações temporais e espaciais mostram a presença da ação antropogênica e conseqüente poluição no ambiente aquático analisado, dentro e depois da cidade independente do período, apresentando uma elevada eutrofização artificial (PT com medianas com valores de 2,88 mg/L) nesses pontos, e que suas águas não chegam à cidade

com a presença de contaminação ambiental, já que os pontos P1 e P2, antes da cidade, apresentaram variáveis aceitáveis pela legislação vigente do País, e os IQAs foram considerados como “bons”, de acordo com a classificação da CETESB (2005).

2.4 CONCLUSÃO

Neste estudo, os dados de qualidade de água utilizados permitem concluir que o ambiente apresenta-se impactado por processos antropogênicos, destacando para a degradação do rio Guaribas os efluentes domésticos e agrícolas liberados pela principal cidade a sua margem, Picos. O estudo confirmou a hipótese inicial do trabalho sobre a influência da cidade de Picos na formação de grupos distintos entre locais não poluídos, pontos antes da cidade, e locais com forte eutrofização artificial, pontos dentro e depois da cidade. Estes com IQAs considerados como ruins, o que confirma o processo de contaminação ambiental. Essas variações espaciais eram esperadas, devido à presença de populações ribeirinhas, agricultura local as margens do rio, mecânicas e lavadores de carros, além das condições climáticas da região, levando o rio, na maior parte do ano, a um estado lântico.

A hipótese inicial do estudo baseiava-se no fato de encontrar alterações espaciais mais marcantes por causa da cidade do que a sazonalidade ter uma importante influência nas características e qualidade do ambiente, já que o rio encontra-se numa região com índices pluviométricos baixos e temperatura com estreitas variações. A PCA, CA e a ANOVA mostraram a presença de diferenças entre o período de seca e chuva na região sendo determinadas por variáveis como a T, DBO, Cu, turb, nitrato, nitrito, sulfato e Cl,

Além disso, este estudo mostrou a utilidade de técnicas de estatística multivariada para a classificação e processamento de uma grande matriz de dados complexos de parâmetros de qualidade da água, identificação de fatores/fontes de poluição e suas variações espaço-temporais, e a determinação das variáveis físicas e químicas significativamente correspondentes para qualidade da água do rio. Ademais, sobre a qualidade da água, mostra, nesse caso, a necessidade de um acompanhamento constante com programas de monitoramento por parte das autoridades, melhorando as condições ambientais do rio em locais considerados impactados, principalmente se considerar que o mesmo apresenta-se poluído após a cidade de Picos, levando essa contaminação para outras cidades e para outros ambientes aquáticos.

REFERÊNCIAS

- Adams, M.J., 1998. The principles of multivariate data analysis. In : Analytical Methods of Food Authentication, eds P. R. Ashurst and M. J. Dennis, 350 pp. Blackie Academic and Professional, London, UK.
- Alves, I.C.C., El-robrini, M., Santos, M.L.S., Monteiro, S.M. Barbosa, L.P.F., Guimarães, J.T.F., 2012. Qualidade das águas superficiais e avaliação do estado trófico do Rio Arari (Ilha de Marajó, norte do Brasil). *Acta Amazônica* 42 (1), 115 – 12.
- Amr, S.S.A., Yassin, M.M., 2008. Microbial contamination of the drinking water distribution system and its impact on human. *Public Health*, 122, 1275-1283.
- Andrade, E.M., Araújo, L.F.P., Rosa, M. F., Gomes, R.B., Lobato, F.A.O., 2007. Assessment of the surface water quality in the upland of Acaraú watershed, Ceará, Brazil. *Ciência Rural* 37, 1791-1797.
- Andrade, E.M., Queiroz, P.H.A., Souza, I.H., Oliveira, L.R.A., Guerreiro, M.J., 2008. Land use effects in groundwater composition of an alluvial aquifer (Trussu River, Brazil) by multivariate techniques. *Environmental Research* 106, 170–177.
- Astel, S., Tsakovski, P., Barbieri, V., Simeonov., 2007. Comparison of self-organizing maps classification approach with cluster and principal components analysis for large environmental data sets. *Water Research* 41, 4566–4578.
- Barbosa, J.S., Cabral T.M., Ferreira, D.N., Agnez-Lima, L.F., Batistuzzo de Medeiros, S.R., 2010. Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73, 320-325.
- Bianchi, J., Espindola, E.L.G., & Marin-Morales, M. A., 2011. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74, 826–833.
- 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.
- CETESB—Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 2005. Ano 2004: Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo, SP.
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio ambiente. Resolução 357/2005. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/praias/res_conama_357_05.pdf> (Acessado 15/04/2015).
- Cukrov, N., Tepic, N., Omanović, D., Logen, S., Bura-Nakić, S., Vojvodic, E., et al. 2012. Qualitative interpretation of physico-chemical and isotopic parameters in the Krka River (Croatia) assessed by multivariate statistical analysis. *Int. J. Environ. Anal Chem.* 92 (10), 1187–1199.

- Dillon, W.R., Goldstein, M., 1984. *Multivariate analysis methods and applications*. New York: John Wiley e Sons. 587.
- Dimitrovska, O., Markoski. B., Toshevskaa, B.A., Milevski, I., Gorin, S., 2012. Surface water pollution of major rivers in the Republic of Macedonia. *Procedia Environ. Sci.* 14, 32–40.
- Dixon, W., Chiswell, B., 1996. Review of aquatic monitoring program design. *Water Res.* 30, 1935–1948.
- Düsman, E., Luzza, M., Savegnago, L., Lauxen, D., Vicentini, V.E.P., Tonial, I.B., Sauer, T.P., 2014. *Allium cepa* L. as a bioindicator to measure cytotoxicity of surface water of the Quatorze River, located in Francisco Beltrão, Paraná, Brazil. *Environ Monit Assess*, 186, 1793–1800.
- Esteves, F. A., 2011. *Fundamentos de Limnologia*. 3ª Ed. Editora Interciência. Rio de Janeiro.
- Fan, X., Cui, B., Zhao, H., Zhang, Z., Zhang, H., 2010. Assessment of river water quality in Pearl River Delta using multivariate statistical techniques. *Procedia Environmental Sciences*, 2, 1220–1234.
- Fukasawa, E. 2005. Determination of origin of nitrate nitrogen in Fuefuki river using stable isotope method. Bachelor thesis, Department of Ecosocial System Engineering, University of Yamanashi, Japan.
- Helena, B., Pardo, R., Vega, M., Barrado, E., Fernandez, J.M., Fernandez, L., 2000. Temporal evolution of groundwater composition in an alluvial aquifer (Pisuerga river, Spain) by principal component analysis. *Water Res.* 34, 807–816.
- Hu, J., Qiao, Y., Zhou, L., Li, S., 2011. Spatiotemporal distributions of nutrients in the downstream from Gezhouba Dam in Yangtze River, China. *Environ Sci. Pollut. Res* 19, 2849–2859.
- INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA, 2015. Dados meteorológicos. Disponível em: < <http://www.inmet.gov.br/> > (Acessado 12/03/2015).
- Issa, Y.M., Elewa, A.A., Rizk, M.S., Hassouna, A.F.A., 1996. Distribution of some heavy metals in Qaroun lake and river Nile, Egypt, Menofiya. *J. Agric. Res.* 21, 733–746.
- Johnson, R. A., 1998. *Applied Multivariate Statistical Analysis*, 4th ed., Prentice- Hall: Upper Saddle River, 1998.
- Juahir, H., Zain, S.M., Yusoff, M.K., Hanidza, T. I. T., Armi, A.S.M. Toriman, M.E. Mokhtar, M., 2011. Spatial water quality assessment of Langat River Basin (Malaysia) using environmetric techniques. *Environ Monit. Assess.* 173, 625–641.
- Karbassi, A. R., Nouri, J., Mehrdadi, N., Ayaz, G. O., 2008. Flocculation of heavy metals during mixing of freshwater with Caspian Sea water. *Environmental Geology* 53(8), 1811–1816.
- Kazama, F., Yoneyama, M., 2002. Nitrogen generation in the Yamanashi prefecture and its effects on the groundwater pollution. *International Environmental Science* 15 (4), 293-298.

- Kazi, T.G., Arain, M.B., Jamali, M.K., Jalbani, N., Afridi, H.I., Sarfraz, R.A., Baig, J.A., Shah, A.Q., 2009. Assessment of water quality of polluted lake using multivariate statistical techniques: A case study. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 301–309.
- Klobucar, G. I. V., Malev, O., Srut, M., Štambuk, A. N., Lorenzon, S., Cvetkovic, Z., Ferrero, E. A., Maguire, I., 2012. Genotoxicity monitoring of freshwater environments using caged crayfish (*Astacus leptodactylus*). *Chemosphere* 87, 62–67.
- Kumarasamy, P., James, R. A., Dahms, H., Byeon, C.-W., Ramesh, R., 2014. Multivariate water quality assessment from the Tamiraparani river basin, Southern India. *Environmental Earth Sciences* 71, 2441–2451.
- Lourenco, N.D., Chaves, C.L., Novais, J.M., Menezes, J.C., Pinheiro, H.M., Diniz, D., 2006. UV spectra analysis for water quality monitoring in a fuel park wastewater treatment plant. *Chemosphere* 65, 786–791.
- Mackereth, F. Y. H., HERON, J., TALLING, J. F., 1978. Water analysis: some revised methods for limnologists. *Freshw. Biological Assoc.* 36, 1-120.
- Mahbub, H., Syed Munaf, A., Walid, A., 2008. Cluster analysis and quality assessment of logged water at an irrigation project, eastern Saudi Arabia. *Journal of Environmental Management* 86 (1), 297–307.
- Mandal, P., Upadhyay, R., Hasan, A., 2010. Seasonal and spatial variation of Yamuna River water quality in Delhi, India. *Environ Monit Assess* 170(1), 661–670.
- Manzano. B. C., Roberto, M. M., Hoshina, M. M., Menegário, A. A., Marin-Morales, M.A., 2015. 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. *Environ Sci Pollut Res* 22, 1399–1407.
- Marcon, A. E., Ferreira, D. M. F., Moura, M. F. V., Campos, T. F. C., Amaral, V. S., Agnez-Lima, L.F., Medeiros, S. R. B., 2010. Genotoxic analysis in aquatic environment under influence of cyanobacteria, metal and radioactivity. *Chemosphere*, 81, 773–780.
- Massart, D. L., Kaufman, L., 1983. *The Interpretation of Analytical Chemical Data by the Use of Cluster Analysis*. Wiley, New York.
- Matthias, O., 1999. *Chemometrics: statistics and computer application in analytical chemistry*, Wiley – VCH: Weinheim.
- Mingoti, S. A., 2004. *Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada*, 1a ed., Editora UFMG: Belo Horizonte.
- Moura, L.H.A., Boaventura, G.R., Pinelli, M.P., 2010. A qualidade de água como indicador de uso e ocupação do solo: bacia do gama – Distrito Federal. *Quim. Nova* 33, 97-103.
- Muangthong, S., Shrestha, S., 2015. Assessment of surface water quality using multivariate statistical techniques: case study of the Nampong River and Songkhram River, Thailand. *Environ Monit Assess.* 187, 548.

Mustapha, A., Aris, A.Z., Juahir, H., Ramli, M.F., Kura, N.U., 2013. River water quality assessment using environmetric techniques: case study of Jakara River Basin. *Environ Sci. Pollut. Res.* 20, 5630–5644.

Mustapha, A., Nabegu, A.B., 2011. Surface water pollution source identification using principal component analysis and factor analysis in Getsi River, Kano, Nigeria. *Austr. J. Basic Appl. Sci.* 5, 1507–1512.

Nasir, M.F.M., Samsudin, M.S., Mohamad, I., Awaluddin, M.R.A., Mansor M.A., Juahir, H., Ramli, N., 2011. River water quality modeling using combined principle component analysis (PCA) and multiple linear regressions (MLR): A case study at Klang River, Malaysia. *World Applied Sciences Journal.* 14, 3-82.

Nouri, J., Karbassi, A. R., Mirkia, S., 2008. Environmental management of coastal regions in the Caspian Sea. *International Journal of Environment Science and Technology* 5(1), 43–52.

Ogwueleka, T.C., 2015. Use of multivariate statistical techniques for the evaluation of temporal and spatial variations in water quality of the Kaduna River, Nigeria. *Environ Monit Assess.* 187: 137.

Olsen, R.L., Chappell, R.W., Loftis, J.C., 2012. Water quality sample collection, data treatment and results presentation for principal components analysis e literature review and Illinois River watershed case study. *Water research* 46, 3110-3122.

Ouyang, Y., Nkedi-Kizza, P., Wu, Q.T., Shinde, D., & Huang, C.H., 2006. Assessment of seasonal variations in surface water quality. *Water Research*, 40 (20), 3800–3810.

Phung, D., Huang, C., Rutherford, S., Dwirahmadi, F., Chu, C., Wang, X., Nguyen, M., Nguyen, N.H. Do, C.M., Nguyen, T.H., Dinh, T.A.D., 2015. Temporal and spatial assessment of river surface water quality using multivariate statistical techniques: a study in Can Tho City, a Mekong Delta area, Vietnam. *Environ Monit Assess.* 187: 229.

Plano de Ação para o Desenvolvimento Integrado da Bacia do Parnaíba, PLANAP 2014. Síntese executiva: Território Vale do Rio Guaribas / Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba – CODEVASF. – Brasília, DF: TDA Desenhos & Arte Ltda.

Pradhan, U. K., Shirodkar, P.V., Sahu, B.K., 2009. Physico-chemical characteristics of the coastal water off Devi estuary, Orissa and evaluation of its seasonal changes using chemometric techniques. *Curr. Sci.* 96 (9), 1203–1209.

Razmkhah, H., Abrishamchi, A., Torkian, A., 2010. Evaluation of spatial and temporal variation in water quality by pattern recognition techniques: A case study on Jajrood River (Tehran, Iran). *Journal of Environmental Management* 91, 852–860.

Reghunath, R., Murthy, T.R.S., Raghavan, B.R., 2002. The utility of multivariate statistical techniques in hydrogeochemical studies: an example from Karnataka, India. *Water Res.* 36, 2437–2442.

Rezende, R.S., Santos, A.M., Junior, J. F. G. 2012. Avaliação ambiental do rio Pandeiros utilizando macroinvertebrados como indicadores de qualidade da água. *Ecología Austral* 22, 159-169.

Ross P. J., 1988. *Taguchi Techniques for Quality Engineering*. McGraw-Hill, New York.

Ruzdjak, A.M., Ruzdjak, D., 2015. Evaluation of river water quality variations using multivariate statistical techniques. Sava River (Croatia): a case study. *Environ. Monit. Assess.* 187: 215.

Sarbu, C., Pop, H.F., 2005. Principal component analysis versus fuzzy principal component analysis. A case study: the quality of Danube water (1985–1996). *Talanta* 65, 1215–1220.

Simeonov, V., Simeonova, P., Tsitouridou, R., 2004. Chemometric quality assessment of surface waters: two case studies. *Chem. Eng. Ecol.* 11, 449–469.

Singh, K. P., Malik, A., Mohan, D., Sinha, S., 2004. Multivariate statistical techniques for the evaluation of spatial and temporal variations in water quality of Gomti River (India)—a case study. *Water Res* 38, 3980–3992.

Szymanowska, A., Samecka-Cymerman, A., Kempers, A. J., 1999. Heavy metals in three lakes in West Poland. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 43, 21–29.

Tobiszewski, M., Tsakovski, S., Simeonov, V., Namiesnik, J., 2010. Surface water quality assessment by the use of combination of multivariate statistical classification and expert information. *Chemosphere* 80 (7), 740–746.

Vega, M., Pardo, R., Barrado, E., Debaân, L., 1998. Assessment of seasonal and polluting effects on the quality of river water by exploratory data analysis. *Wat. Res.* 32, 3581-3592.

Vittori, AL., Trivisano, C., Gessa, C., Gherardi, M., Simoni, A., Vianello, G. et al., 2010. Quality of municipal wastewater compared to surface waters of the river and artificial canal network in different areas of the eastern Po Valley (Italy). *Water Qual. Expo. Health* 2 (1), 1–13.

Wang, Y. B., Liu, C. W., Liao, P. Y., Lee, J. J., 2014. Spatial pattern assessment of river water quality: implications of reducing the number of monitoring stations and chemical parameters. *Environmental Monitoring and Assessment* 186(3), 1781–1792.

WETSEL, R. G., 2001. *Limnology: Lake and river ecosystems*. Third ed. Academic Press San Diego:

Willet, P., 1987. *Similarity and Clustering in Chemical Information Systems*. Research Studies Press, Wiley, New York.

Wu, M. L., Wang, Y. S., Sun, C. C., Wang, H., Dong, J. D., Han, S. H., (2009). Identification of anthropogenic effects and seasonality on water quality in Daya Bay, South China Sea. *Journal of Environmental Management*, 90, 3082–3090.

Zhou, F., Guo, H., Liu, Y., Jiang, Y., 2007. Chemometric data analysis of marine water quality and source identification in Southern Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin* 54, 745–756.

3 ECOTOXICOLOGIA E GENOTOXICIDADE NA ÁGUA SUPERFICIAL DE UM RIO TROPICAL

RESUMO

Rios tropicais, em geral, estão sobre intenso impacto de ações antrópicas e são utilizados, principalmente, para abastecimento, irrigação e piscicultura. Assim, esse estudo utilizou o sistema teste *Allium cepa* e o teste de micronúcleo em peixes a fim de avaliar os efeitos dessa ação humana sobre um rio tropical, no semiárido brasileiro, em períodos de seca e chuva, em 2014, com parâmetros para toxicidade, citotoxicidade e mutagenicidade. Variáveis toxicogênicas, como crescimentos de raízes, índice mitótico, aberrações cromossômicas, morfologia nuclear, apoptoses e micronúcleos, foram observadas em células vegetais e animais expostas as amostras de água superficiais do rio, coletadas em locais antes, dentro e depois da cidade de Picos, Estado do Piauí. A presença de metais pesados e cianobactérias no ambiente aquático foram avaliadas para explicar a qualidade da água, como também possíveis danos ao ciclo celular e ao DNA. Os resultados mostraram efeitos citotóxicos e mutagênicos para amostras de água coletadas, independente do período, com o dano genético apresentando correlação positiva para metais pesados. Ainda, espécies de cianobactérias mutagênicas foram encontradas em pontos distribuídos ao longo do rio. Esses resultados apontam para a deteriorização da qualidade da água do rio Guaribas causada pela contaminação química, incluindo a ação dos metais, e presença de cianobactérias, com riscos de instabilidade genética para o ecossistema aquático e saúde humana, sendo necessário estabelecer programas de biomonitoramento toxicogênico para a qualidade da água do rio Guaribas.

Palavras-chave: Toxicologia aquática, Metais, Cianotoxinas, Dano genético

ECOTOXICOLOGY AND GENOTOXICITY IN SURFACE WATER OF A TROPICAL RIVER

ABSTRACT

In general, tropical rivers are under strong impact of human activities being mainly used for water supply, irrigation and fish farming. Thus, this study used *Allium cepa* test system and the micronucleus test in fish to evaluate the effects of human action on a tropical river in the Brazilian semi-arid region, during dry and rainy periods of 2014, using parameters for toxicity, cytotoxicity and mutagenicity. Toxicogenetic variables, including root growth, mitotic index, chromosomal aberrations, nuclear morphology, apoptosis and micronuclei, were analyzed in plant and animal cells exposed to river surface water samples taken in sites upstream, within and downstream of the city of Picos, State of Piauí. The presence of heavy metals and cyanobacteria were analyzed to explain water quality and possible damages to cell cycle and DNA. Cytotoxic and mutagenic effects were detected for water samples collected, regardless of the period; and the genetic damage was positively correlated with heavy metals. Mutagenic cyanobacteria species were observed in sites distributed along the river. These results indicate the deterioration of water quality of the Guaribas River, caused by chemical contamination, including the action of metals, and presence of cyanobacteria, with risks of genetic instability to the aquatic ecosystem and human health, being necessary to establish toxicogenetic biomonitoring programs for the water quality of the Guaribas River.

Key words: Aquatic toxicology, Metals, Cyanotoxin, Genetic damage

3.1 INTRODUÇÃO

O rio Guaribas está localizado no nordeste do Brasil, na região do semiárido na parte ocidental do estado do Piauí. É o principal rio da sua bacia hidrográfica. Considerado temporário, por possuir fluxo superficial somente no período chuvoso, é o principal reservatório de água para o município de Picos e mais 30 municípios da microrregião do estado do Piauí, Brasil (Veloso et al. 2014). A região sudeste do estado, onde está localizado é caracterizada por índices pluviométricos baixos e pela irregularidade das chuvas, resumindo sua distribuição a apenas três meses do ano (Andrade-Junior 2006).

Nos últimos anos, este ambiente aquático vem sofrendo com ações antropogênicas desenfreadas com ênfase a cidade de Picos, a principal cidade a sua margem. É nesse ponto urbano que o rio Guaribas é atingido por diversos problemas, como despejo de esgoto residencial e hospitalar sem tratamento, deposição de lixo doméstico, derrubada da mata ciliar e ocupação desordenada do seu leito, resultando em problemas como assoreamento, alagamentos, transmissão de doenças, aceleração da evaporação do espelho de água e superaquecimento das áreas mais densamente povoadas (PLANAP 2014). As ações antropogênicas muitas vezes são prejudiciais para o ecossistema, podendo persistir no ambiente e afetar não só a fauna e flora associadas a eles, mas seres humanos (Manzano et al. 2015).

Ambientes aquáticos, que muitas vezes servem como receptores temporários ou finais de uma grande variedade e uma alta quantidade de contaminantes acabam servindo como um meio de transporte para várias substâncias tóxicas, o que conseqüentemente contamina toda a bacia hidrográfica (Marinelli et al. 2000). Muitos desses compostos tóxicos liberados têm a capacidade de interagir com o material genético, podendo causar alterações ou danos ao DNA, sendo designados como agentes citotóxicos, genotóxicos e/ou mutagênicos (Akinboro et al. 2011). A presença de agentes contaminantes no meio ambiente causam problemas de saúde ao homem, incluindo alguns tipos de câncer (Fátima e Ahmad 2006). Assim, é extremamente importante que ensaios genotóxicos e mutagênicos sejam empregados para monitoramento ambiental e avaliação de riscos para identificar os efeitos dos poluentes nos organismos aquáticos e na saúde humana (Kern et al. 2015).

Na avaliação de efeitos tóxicos e genotóxicos de substâncias químicas ambientais, são utilizados, atualmente, diferentes sistemas-teste. Entre os sistemas biológicos, as plantas são, de acordo com Grant (1994); Leme e Marin-Morales (2009), consideradas excelentes bioindicadores de genotoxicidade, tanto pela sua alta sensibilidade em detectar agentes

mutagênicos em diferentes ambientes como pela capacidade de avaliar esses efeitos por meio de diversos mecanismos genéticos, a partir de mutações pontuais e aberrações cromossômicas.

Entre as plantas, a espécie *Allium cepa* é reconhecida como um dos melhores sistemas teste utilizados na avaliação do potencial genotóxico de substâncias ambientais, devido à sua alta sensibilidade, boa correlação com outros sistemas-teste, fácil manuseio, baixo custo, e por ter cromossomos grandes em número reduzidos ($2n=16$) (Fiskesjo 1985; Leme e Marin-morales 2009; Siddiqui et al. 2011). Já os peixes, como bioindicadores, são uma ferramenta biológica conveniente e específica para avaliação da genotoxicidade de poluentes aquáticos (Bolognesi e Hayashi 2011; Ergene et al. 2007; Klauck et al. 2013).

Danos genéticos a nível cromossômico implicam alterações no número e/ou na estrutura dos cromossomos e tais alterações podem ser avaliados por meio de aberrações cromossômicas (AC) ou frequência de micronúcleos (MN). O estudo de danos no DNA ao nível cromossômico é uma parte essencial da genotoxicologia porque AC é um acontecimento importante no desenvolvimento de mutações. Assim, o ensaio de MN em peixes tem emergido como um dos métodos preferidos para avaliar danos genéticos em estudos de ecotoxicologia aquática, pois permitem mensurar perdas e quebras cromossômicas por esses poluentes aquáticos de forma confiável (Cavas e Ergene-Gozukara 2005; Tsangaris et al. 2011).

Assim, preocupados, com o impacto ambiental e a saúde humana, inúmeros trabalhos, são realizados no sentido de detectar a presença de poluentes no ambiente aquático e seus possíveis efeitos genotóxicos. Entretanto, pouca atenção ainda é dada à presença de agentes genotóxicos e mutagênicos na região do semiárido (Marcon et al. 2010), a exemplo do observado em Picos, que, como uma cidade em crescimento socioeconômico, vem alterando por ações antropogênicas o rio Guaribas. Ainda não existem relatos toxicogenéticos sobre esse ambiente aquático, mas alguns indicativos químicos e biológicos apontam para problemas ambientais, por poluentes, como metais, cianotoxinas e contaminantes orgânicos de origem urbana e hospitalar. O estudo teve como objetivo avaliar o potencial toxicogenético de águas superficiais do rio Guaribas, em diferentes pontos e períodos do ano, utilizando o sistema-teste *Allium cepa* e o teste de micronúcleos em peixe.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Área de estudo e pontos de coleta

Para avaliação toxicogenética sobre a qualidade da água do rio Guaribas, a partir de indícios sobre a influência da cidade de Picos para o ambiente aquático em estudo, foram definidos pontos para coletas de amostras de água, antes, dentro e depois da cidade, como caracterizados a seguir: Como controle negativo foram usadas amostras de água da Barragem de Bocaina, localizada a 32 km antes da cidade de Picos (06° 56' 33" S e 41° 19' 21" W); P1 (ponto 1): antes da cidade de Picos (município de Sussuapara) (07° 03' 864" S e 41° 25' 788" W); P2 (ponto 2), (07° 04' 964" S e 41° 27' 879" W), P3 (ponto 3), (07° 05' 3135" S e 41° 28' 007" W); P4 (ponto 4) (07° 05' 487" S e 41° 28' 678" W), locais dentro da cidade e P5 (ponto 5), (07° 06' 047" S e 41° 29' 145"), local depois da cidade de Picos (município de Aroeira) (Figura 1). Os pontos dentro da cidade foram definidos de forma que ficassem igualmente distantes e próximos a locais com água proveniente de pequenos córregos que recebem efluentes de esgotos domésticos, dejetos hospitalares, postos de gasolina e locais onde há a presença constante de populações ribeirinhas. Já os pontos antes e depois da cidade foram igualmente distantes para a entrada e saída da cidade, respectivamente.

As coletas de água foram realizadas nos meses de fevereiro e setembro de 2014, períodos de chuva e seca na região Nordeste do Brasil, respectivamente. As amostras de águas foram na sub-superfície (0,25cm), com auxílio de garrafas plásticas de polietileno de 1.5 L e galões de 150 L, previamente descontaminados, por várias lavagens com água destilada e assepsia com ácido clorídrico a 10%. Todas as amostras de 1.5 L foram estocadas em isopor com gelo e levadas imediatamente para o Laboratório para serem estocadas a 4°C, e posteriormente utilizadas para análise química, presença de cianobactérias e avaliação toxicogenética utilizando o bioensaio *Allium cepa*. Já as amostras, para o teste de MN em peixes, foram colocadas imediatamente nos aquários previamente identificados para os diferentes pontos de coleta.

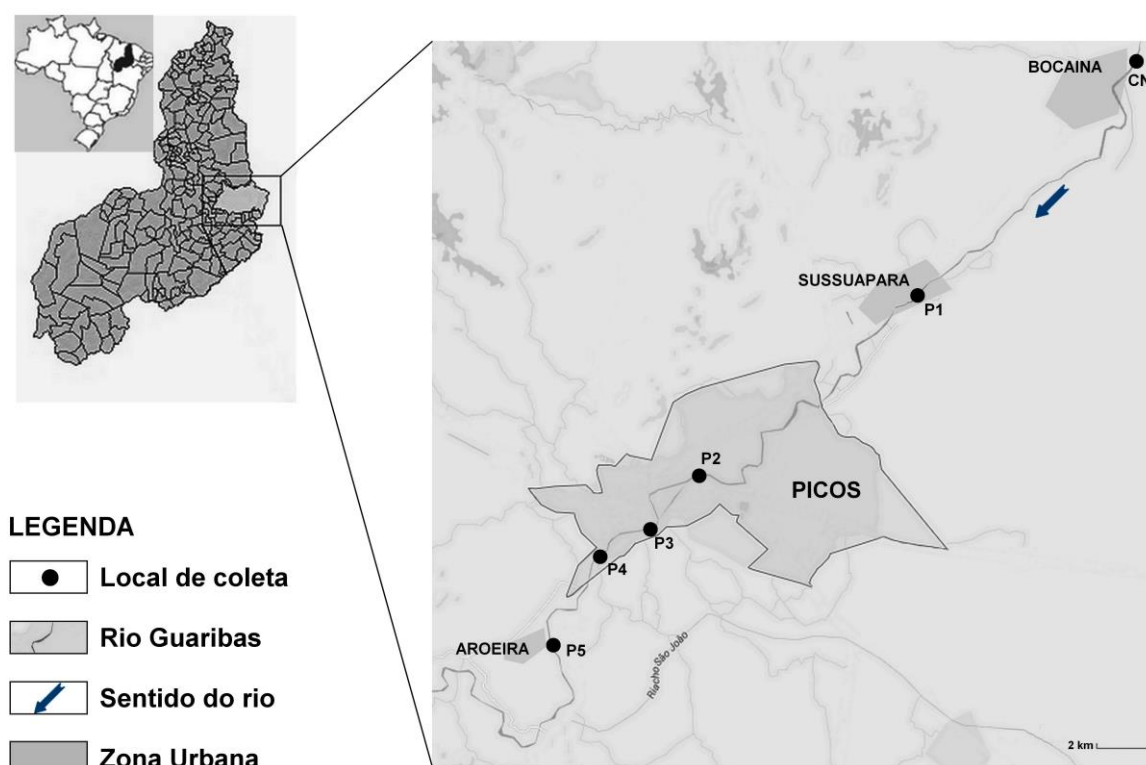


Figura 01: Localização Geográfica da região de estudo e dos pontos amostrais (Ponto 1 – antes da cidade; Ponto 2 a Ponto 4 – dentro da cidade; Ponto 5 – Depois da cidade) do rio Guaribas, Picos-PI/Brasil. (Adaptado Google maps).

3.2.2 Teste *Allium cepa*

Para caracterizar o potencial toxicogenético da água do rio, o teste *A. cepa* foi conduzido, de acordo com Guerra e Souza (2002). Inicialmente, os bulbos de uma única variedade (Baia Periforme) e de um mesmo lote foram germinados em água destilada, durante 48 horas, à temperatura ambiente, em laboratório. Após a germinação, as raízes foram expostas às amostras de água coletadas nos tempos de exposição (TE) de 48, 72 e 168 horas. Após cada TE, as raízes foram medidas com o auxílio de régua sendo desprezadas aquelas muito curtas ou muito longas, e o tamanho das raízes foi utilizado como avaliação de toxicidade. Após a mensuração, as raízes foram recolhidas e fixadas em etanol-ácido acético (3:1), durante 24h. Depois de fixadas, as raízes foram lavadas em água destilada e hidrolisadas em HCl 1M a 60 ° C, durante 10 minutos e coradas com orceina acética a 2 %. O potencial mutagênico foi avaliado por meio de análise de alterações cromossômicas e de micronúcleos nas células meristemáticas de *A. cepa*, observando 1000 células por bulbo. O potencial citotóxico foi determinado pelo índice mitótico (IM). O IM de cada bulbo foi

definido como o número de células em divisão por 1000 células. As análises foram realizadas em microscópio óptico 400X. Repetições de cinco bulbos foram analisadas para cada local de coleta. O controle positivo (CP) usado para o teste de *Allium cepa* foi o sulfato de cobre 0,0006 mg/ml diluído em água destilada.

3.2.3 Teste do micronúcleo (MN) e Anormalidades nucleares (AN)

A espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia) foi o sistema-teste animal utilizado para os ensaios *in vivo* em condições de laboratório. Os animais foram aclimatados (29 ± 2 °C, pH 7,8 \pm 0,3) e posteriormente transferidos para aquários contendo amostras de água dos diferentes pontos nas mesmas condições anteriores. Cada aquário com capacidade de 40 L recebeu um exemplar que permaneceu exposto à água do rio durante os tempos de exposição 03, 06 e 09 dias. Foram utilizados 03 organismos por ponto e por grupo controle, totalizando 21 exemplares.

Após o período de exposição, foi retirado de cada animal 0,5ml de sangue, por meio de punção branquial com auxílio de seringas heparinizadas, para a realização do teste do MN. O bioensaio foi conduzido de acordo com Da Silva Souza e Fontanetti (2006). As lâminas foram preparadas com esfregaços de sangue de peixes e fixadas em metanol, durante 10 minutos, sendo finalmente coradas com Giemsa 10 %. Um total de 3.000 células foram analisadas para cada indivíduo utilizando microscópio óptico com uma ampliação de 1000X. Os micronúcleos e alterações morfológicas nucleares encontradas nos eritrócitos dos peixes foram caracterizados de acordo com Carrasco et al. (1990). O controle positivo usado para o teste MN em peixes foi a ciclofosfamida na concentração de 4 mg/L, injetado intraperitonealmente, abaixo da nadadeira peitoral (Bolognesi e Hayashi 2011). O estudo foi aprovado pelo comitê de Ética Animal da Universidade Federal do Piauí com o número: 108/14.

3.2.4 Análise química da água

Os níveis de ferro, níquel, cádmio, zinco, cobre e cromo foram determinados por espectrofotometria em chama de absorção atômica de acordo com APHA (2005). Imediatamente depois da coleta, as amostras de água foram acidificadas e posteriormente submetidas à digestão ácida e subsequente concentração para leitura em espectrofotômetro de absorção atômica (modelo Varian-AA50B). Cada amostra foi quantificada em triplicata. Já o

alumínio foi quantificado pelo Standard methods for the examination of water and wastewater (Rice et al. 2012).

3.2.5 Análise de cianobactérias

Duas amostras de 250 mL de água, por ponto e período de coleta, foram coletadas para identificação e quantificação das cianobactérias. Essas análises foram realizadas no Laboratório de Fitoplâncton, no Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (Nupélia), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), e utilizando a técnica de microscopia de luz (Microscópio Nikon Eclipse 200), seguindo o metodologia descrita pela Associação Americana de Saúde Pública (APHA 2005), e adaptada por Marcon et al. (2010).

3.2.6 Análise estatística

Para iniciar as análises estatísticas, foram realizados testes de normalidade (Teste de Kolmogorov – Smirnov) e homocedasticidade (Teste de Levene) para saber se seriam usados testes paramétricos ou não paramétricos para resolução dos mesmos. Os dados se apresentaram com distribuição normal e homogêneos. Assim, para detectar diferenças estatísticas na avaliação toxicogenética entre os períodos e entre os locais de coleta analisados foi utilizado Nested RM-MANOVA, com pós teste de Tukey. Correlação de Pearson e Regressão simples foram utilizadas para avaliar a relação entre os danos genotóxicos e os metais acumulados, como também, entre os danos genotóxicos dos dois testes utilizados. Todos os dados foram analisados com o software STATISTIC 6.0, e os resultados das análises foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Efeitos toxicogenéticos

3.3.1.1 Avaliação da toxicogenética com o Teste *Allium cepa*

A caracterização toxicogenética de amostras das águas do rio Guaribas foi monitorada por parâmetros macroscópicos e citogenéticos: Tamanho das raízes (TR); Índice mitótico (IM), e Alterações cromossômicas (AC). Diferenças estatisticamente significantes para TR, IM, mas não para AC, foram observadas em relação aos períodos de chuva e seca, com

indicativos de efeitos tóxicos e citotóxicos. O controle negativo e o Ponto 1 (P1) não apresentaram citotoxicidade e mutagenicidade, em meristemas de raízes de *Allium cepa*, porém amostras de água dos pontos localizados dentro (P2 a P4) e depois da cidade (P5) da cidade de Picos apresentaram-se citotóxicas e mutagênicas em pelo menos um tempo de exposição (TE), no período estudado, quando comparados com CN e o P1 (Tabela 1) (Figura 2).

Tabela 1: Tamanho das raízes (TR), índice mitótico (IM), e alterações cromossômicas (AC) (média \pm desvio padrão) de espécimes de *Allium cepa* expostas as águas de diferentes pontos do rio Guaribas (Picos – PI/Brasil).

Período	Ponto	TE	IM	TR	AC
CHUVOSO	CN	48 hs	12,10 \pm 0,50	4,20 \pm 0,70	7,00 \pm 2,80
	P1		11,04 \pm 0,90	3,40 \pm 0,30	9,60 \pm 3,30
	P2		10,04 \pm 1,60	3,00 \pm 0,80	29,60 \pm 3,30 ^{ab}
	P3		11,50 \pm 0,60	2,00 \pm 0,20 ^a	43,80 \pm 5,30 ^{ab}
	P4		8,20 \pm 1,20	2,40 \pm 0,40	15,00 \pm 4,40
	P5		6,10 \pm 2,10 ^{ab}	2,80 \pm 0,40	10,80 \pm 1,80
	CP		12,50 \pm 1,10	3,80 \pm 0,20	24,80 \pm 5,10 ^{ab}
	CN	72 hs	13,70 \pm 1,30	6,10 \pm 0,70	11,80 \pm 2,20
	P1		9,40 \pm 2,60	5,20 \pm 0,50	6,40 \pm 4,10
	P2		8,30 \pm 0,80 ^a	5,10 \pm 0,60	26,80 \pm 2,50 ^{ab}
	P3		5,00 \pm 1,80 ^{ab}	3,30 \pm 0,90 ^a	28,60 \pm 5,70 ^{ab}
	P4		5,60 \pm 2,00 ^{ab}	4,40 \pm 0,30	20,00 \pm 2,40
	P5		6,40 \pm 0,80 ^b	5,30 \pm 0,30	13,40 \pm 1,90
	CP		9,30 \pm 1,10 ^a	3,90 \pm 0,20 ^a	36,60 \pm 6,10 ^{ab}
	CN	168 hs	13,80 \pm 1,30	8,90 \pm 1,30	11,20 \pm 3,40
	P1		9,40 \pm 0,60	7,90 \pm 0,50	12,00 \pm 3,60
	P2		8,10 \pm 1,50 ^a	6,60 \pm 1,60 ^a	23,60 \pm 7,40
	P3		5,00 \pm 1,90 ^a	5,70 \pm 1,10 ^a	38,00 \pm 8,40 ^{ab}
	P4		6,90 \pm 0,80 ^a	7,30 \pm 0,50	25,40 \pm 6,30
	P5		2,50 \pm 0,90 ^{ab}	7,50 \pm 0,70	15,80 \pm 1,50
	CP		7,60 \pm 1,20 ^a	6,70 \pm 0,30 ^a	49,80 \pm 1,10 ^{ab}
SECO	CN	48 hs	15,10 \pm 0,30	1,70 \pm 0,50	5,20 \pm 1,80
	P1		13,80 \pm 0,40	1,90 \pm 0,40	8,00 \pm 2,40
	P2		9,20 \pm 1,10 ^a	1,10 \pm 0,10	32,00 \pm 6,40 ^{ab}
	P3		10,90 \pm 0,20	1,20 \pm 0,50	46,40 \pm 4,70 ^{ab}
	P4		10,70 \pm 0,30	1,20 \pm 0,30	12,20 \pm 3,40
	P5		11,50 \pm 0,50	1,60 \pm 0,20	8,40 \pm 1,00
	CP		12,50 \pm 1,10	1,20 \pm 0,20	33,00 \pm 4,00 ^{ab}
	CN	72 hs	15,70 \pm 0,80	2,90 \pm 0,60	12,20 \pm 2,90
	P1		13,40 \pm 0,10	2,70 \pm 0,60	13,20 \pm 1,50
	P2		5,90 \pm 2,60 ^{ab}	1,70 \pm 0,10	31,60 \pm 3,90 ^{ab}
	P3		7,70 \pm 2,50 ^{ab}	1,20 \pm 0,20 ^{ab}	34,80 \pm 9,00 ^{ab}
	P4		10,50 \pm 1,80 ^a	2,00 \pm 0,30	19,00 \pm 3,20
	P5		10,60 \pm 2,30 ^a	1,40 \pm 0,40 ^{ab}	23,60 \pm 2,40 ^a
	CP		9,30 \pm 1,10 ^{ab}	1,10 \pm 0,01 ^{ab}	44,60 \pm 7,50 ^{ab}
	CN	168hs	11,40 \pm 0,90	9,00 \pm 0,80	10,80 \pm 1,00
	P1		13,60 \pm 0,90	9,10 \pm 1,20	13,60 \pm 3,10
	P2		7,40 \pm 2,50	8,00 \pm 1,30	18,80 \pm 4,20
	P3		5,10 \pm 0,80 ^{ab}	6,50 \pm 1,20 ^{ab}	44,00 \pm 5,60 ^{ab}
	P4		2,50 \pm 0,80 ^{ab}	6,60 \pm 1,10 ^{ab}	30,00 \pm 4,80 ^{ab}
	P5		9,30 \pm 3,10	8,60 \pm 0,50	24,60 \pm 4,80 ^b
	CP		7,60 \pm 1,30 ^a	6,50 \pm 0,20 ^{ab}	61,00 \pm 4,80 ^{ab}

CN: Controle negativo; CP: água destilada com sulfato de cobre, 0.0006 mg/mL; TE: Tempo de exposição. Nested RM-MANOVA – seguido do Teste de Tukey. ^a: Diferença significativa em relação ao controle negativo, $p < 0,05$. ^b: Diferença significativa em relação ao Ponto 01, $p < 0,05$.

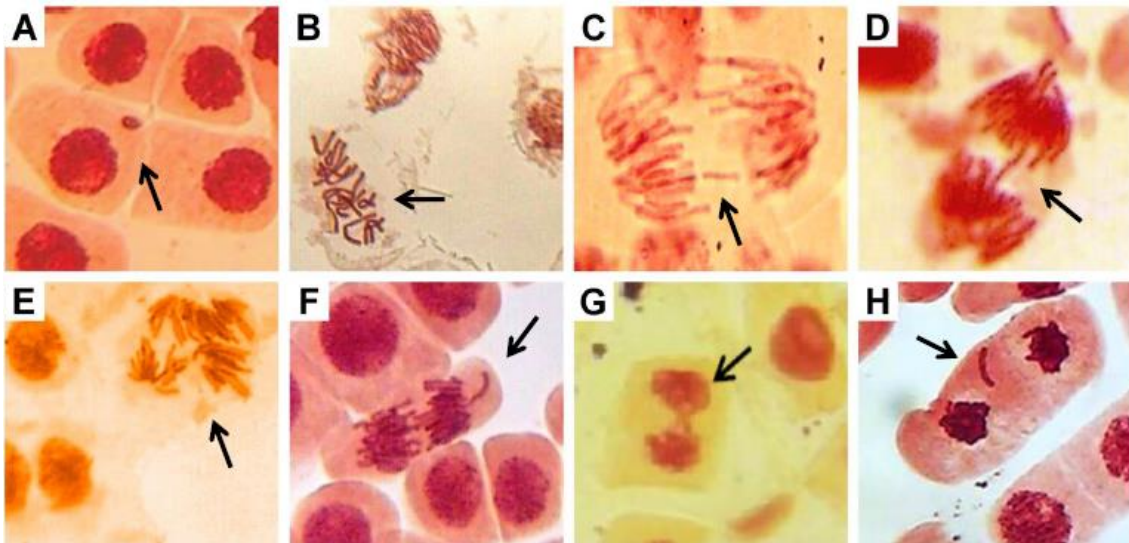


Figura 2: Alterações cromossômicas encontradas em células meristemáticas de *A. cepa* após a exposição a amostras de água coletadas em diferentes locais do rio Guaribas. A: Células interfásicas com micronúcleo (MN); B: c-metáfase; C: Anáfase com quebra cromossômica; D: Anáfase com ponte cromossômica; E: Anáfase multipolar; F: Anáfase com cromossomo solto; G: telófase com ponte cromossômica; H: Telófase com perda cromossômica.

3.3.1.2 Avaliação das frequências de micronúcleos e de anormalidades nucleares em *O. niloticus*

A análise da frequência de MN e AN foram executadas para detectar poluentes liberados pela ação antropogênica da cidade de Picos capazes de promover mutações cromossômicas, morte celular e alterações nucleares em eritrócitos de *O. niloticus* expostos a amostras de águas do rio Guaribas. O período chuvoso não diferiu estatisticamente do período de seca, em relação ao total de danos celulares. A comparação dos tempo de exposições (TE) entre os períodos mostrou diferença estatística apenas para o primeiro tempo analisado (3 dias). Como mostrado na Tabela 2, para o período chuvoso, o P3, P4 e P5 foram citotóxicos e mutagênicos pelo menos em um TE analisado. Já para o período de seca, todos os pontos dentro da cidade, P2 a P4, mais o P5 apresentaram também citotoxicidade e mutagenicidade de suas águas superficiais.

Tabela 2: Médias e Desvio Padrão (DP) do total de danos celulares (cromossômicos + nucleares) em eritrócitos de *O. niloticus* submetidos a amostras de água coletadas nos cinco pontos do rio Guaribas (Picos-PI/Brasil) e controles negativo (CN) e positivo (CP).

Ponto	Período chuvoso/ 2014 (Média ± DP) TE			Período de seca / 2014 (Média ± DP) TE		
	3 dias	6 dias	9 dias	3 dias	6 dias	9 dias
	CN	14,00 ± 3,20	30,40 ± 3,50	31,70 ± 5,70	34,00 ± 3,70	40,90 ± 4,00
P1	13,00 ± 3,40	26,30 ± 5,60	41,10 ± 4,70	28,00 ± 3,50	38,70 ± 6,00	49,10 ± 5,10
P2	26,00 ± 7,30	36,80 ± 6,90	37,10 ± 6,50	43,80 ± 7,00	53,30 ± 5,40 ^{ab}	65,20 ± 9,00 ^{ab}
P3	29,30 ± 5,40 ^{ab}	57,10 ± 7,60 ^{ab}	70,80 ± 7,20 ^{ab}	70,30 ± 9,10 ^{ab}	58,40 ± 6,20 ^{ab}	73,10 ± 5,40 ^{ab}
P4	29,80 ± 12,70 ^{ab}	59,40 ± 6,20 ^{ab}	91,40 ± 7,30 ^{ab}	53,10 ± 5,90 ^{ab}	40,00 ± 5,10	54,80 ± 2,90
P5	20,80 ± 6,40	39,70 ± 6,60	62,10 ± 4,70 ^a	50,70 ± 6,00 ^{ab}	48,00 ± 8,80	57,40 ± 6,00
CP	22,70 ± 3,30	83,30 ± 8,00 ^{ab}	92,70 ± 7,40 ^{ab}	45,20 ± 6,40	74,20 ± 6,40 ^{ab}	102,60 ± 6,40 ^{ab}

CN: Controle negativo; CP: água destilada com ciclofosfamida a 4 mg/L; TE: Tempo de exposição. Nested RM-MANOVA – seguido do Teste de Tukey. ^a: Diferença significativa em relação ao controle negativo, $p < 0,05$. ^b: Diferença significativa em relação ao Ponto 01, $p < 0,05$.

A presença de MN e os tipos de alterações nucleares encontradas foram: brotos nucleares, eritrócitos exibindo fatores de morte celular (núcleo vacuolado, fragmentação celular, cariólise e citoplasma vacuolado), além de eritrócitos com AN, classificados, de acordo com Carrasco et al. (1990), como notched, lobed e blebbed (Figura 3) (Tabela 3).

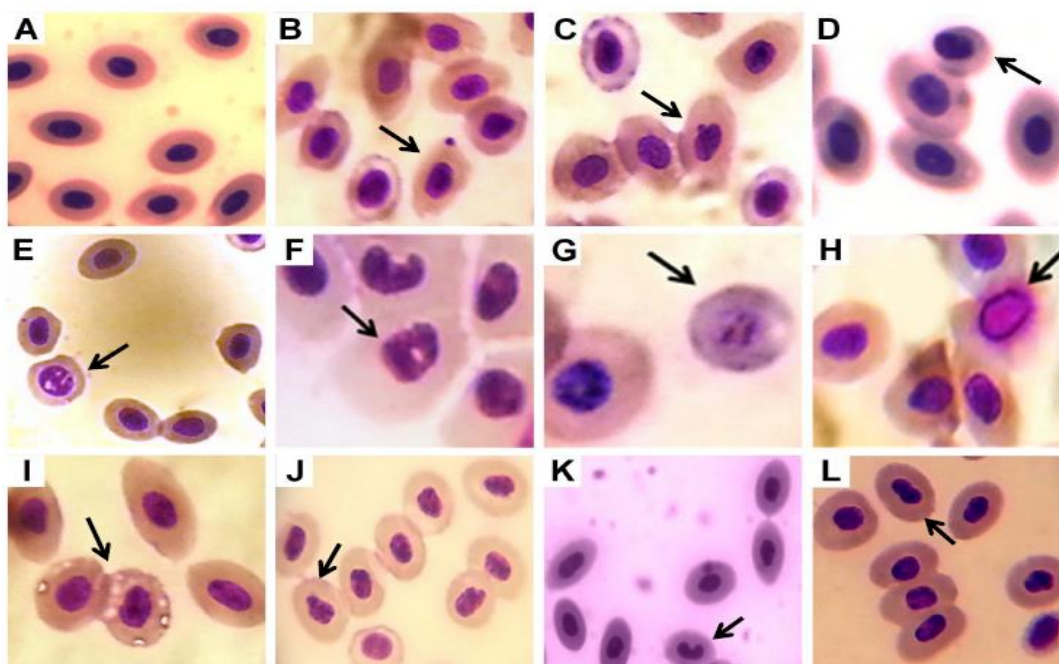


Figura 3: MN, fatores de morte celular e AN encontradas em eritrócitos de *O. niloticus* expostos a água de diferentes pontos do rio Guaribas (Picos-PI/Brasil). (A) células normais; (B) micrô-núcleo (MN); (C) broto nuclear; (D) micrô-cito; (E) e (G) fragmentação nuclear; (F) núcleo vacuolado; (H) cariólise; (I) citoplasma vacuolado; (J) eritrócito com núcleo do tipo “notched”; (K) eritrócito com núcleo do tipo “lobed”; e (L) eritrócito com núcleo do tipo “blebbed”. (1000X).

Tabela 3: Médias e Desvio Padrão de anormalidades celulares em eritrócitos de *O. niloticus* expostos a águas de diferentes pontos do rio Guaribas (Picos – PI/Brasil) e nos diferentes períodos.

Período	Danos	TE (dias)	CN	CP	Diferentes pontos de coleta de água ao longo do rio Guaribas				
					P1	P2	P3	P4	P5
CHUVOSO	MN	3	2,05 ± 1,10	3,90 ± 1,80	4,10 ± 1,78	3,75 ± 2,10	2,93 ± 1,56	4,84 ± 1,40	4,08 ± 2,10
		6	4,75 ± 0,90	19,11 ± 4,00 ^{ab}	6,80 ± 1,06	5,12 ± 1,80	20,13 ± 4,20 ^a	10,14 ± 1,45 ^a	4,40 ± 1,89
		9	3,20 ± 1,76	7,60 ± 2,89	12,10 ± 2,55 ^a	9,60 ± 4,50	20,83 ± 5,66 ^a	23,10 ± 6,0 ^{ab}	7,11 ± 3,89
	Eritrócitos em apoptose	3	3,40 ± 2,40	6,10 ± 2,40	1,40 ± 1,60	2,90 ± 1,90	5,00 ± 2,60	2,50 ± 2,10	2,20 ± 1,90
		6	0,10 ± 0,30	2,70 ± 2,50	1,00 ± 1,30	1,20 ± 1,90	4,90 ± 2,10 ^a	4,30 ± 2,30 ^a	2,70 ± 2,20
		9	2,00 ± 2,10	3,30 ± 2,00	1,60 ± 1,90	0,50 ± 1,10	3,90 ± 1,10	5,20 ± 1,50 ^a	0,80 ± 0,10
	Eritrócitos com AN	3	8,20 ± 1,30	12,30 ± 4,20	7,30 ± 1,20	19,50 ± 4,60	21,20 ± 5,30 ^{ab}	21,70 ± 13,20 ^{ab}	16,0 ± 6,60
		6	24,70 ± 3,50	60,50 ± 5,80 ^{ab}	18,00 ± 4,60	30,10 ± 4,10	30,20 ± 4,70	43,50 ± 3,80 ^{ab}	31,30 ± 6,50 ^a
		9	25,30 ± 3,30	81,30 ± 5,10 ^{ab}	26,90 ± 2,90	25,70 ± 5,30	45,10 ± 8,10 ^a	60,60 ± 3,60 ^{ab}	53,10 ± 1,50 ^{ab}
SECO	MN	3	2,90 ± 1,88	18,6 ± 3,20 ^{ab}	4,30 ± 1,30	11,30 ± 3,89 ^{ab}	7,50 ± 3,10	7,10 ± 1,37	3,33 ± 1,18
		6	3,90 ± 1,79	8,10 ± 1,87	6,80 ± 1,55	7,11 ± 1,39	11,45 ± 3,10 ^a	7,87 ± 1,57	10,90 ± 4,61 ^a
		9	4,86 ± 0,50	12,35 ± 3,60 ^{ab}	5,34 ± 1,10	14,50 ± 2,60 ^{ab}	7,77 ± 1,50	6,37 ± 1,90	7,88 ± 1,88
	Eritrócitos em apoptose	3	0,80 ± 1,30	6,80 ± 2,70 ^{ab}	1,00 ± 0,60	0,80 ± 1,30	9,30 ± 3,40 ^{ab}	6,50 ± 2,90 ^{ab}	0,10 ± 0,10
		6	1,10 ± 1,20	2,80 ± 2,30	2,40 ± 1,80	2,50 ± 2,30	80 ± 2,00	5,40 ± 4,00	6,50 ± 3,90 ^a
		9	1,60 ± 1,60	4,40 ± 1,90	2,00 ± 2,20	4,40 ± 1,20	4,10 ± 1,40	4,10 ± 1,20	7,50 ± 1,70 ^{ab}
	Eritrócitos com AN	3	28,70 ± 3,10	18,80 ± 2,50	21,40 ± 3,10	30,40 ± 4,20	51,3 ± 9,10 ^{ab}	38,0 ± 5,50	46,10 ± 6,30 ^{ab}
		6	34,70 ± 3,30	61,70 ± 4,10 ^{ab}	26,80 ± 6,00	42,30 ± 5,70	44,2 ± 4,90 ^{ab}	25,80 ± 4,10	25,40 ± 3,50
		9	45,0 ± 4,00	84,80 ± 3,00 ^{ab}	40,2 ± 4,90	44,20 ± 4,40	60,0 ± 4,00	43,40 ± 1,90	40,20 ± 4,90

AN: Alterações nucleares. TE: Tempo de Exposição. MN: micronúcleo. CN: Controle Negativo. CP: Controle Positivo. Nested RM-ANOVA seguido do Teste de Tukey. ^a: Diferença significativa em relação ao controle negativo, $p < 0,05$. ^b: Diferença significativa em relação ao P1, $p < 0,05$.

3.3.2 Análise química da água

Os resultados apontam a presença de metais pesados ao longo do rio. A análise da água mostrou valores de Fe, Zn, Cu, Cr e Al acima dos valores permitidos pela Legislação Ambiental Brasileira (CONAMA-357/2005) nos pontos dentro (P2 a P4) e depois da cidade (P5), para os dois períodos estudados. Entre os metais analisados, apenas o Fe mostrou diferença significativa entre os períodos. Comparando os pontos de coleta, foi constatado que os pontos, P3, P4 e P5 foram os que mais diferiram em relação ao CN e ao P1 (Tabela 4).

Tabela 04: Níveis de metais presentes nos pontos coletados do rio Guaribas-PI/Brasil analisados por espectrofotometria em chama de absorção atômica. (média \pm desvio padrão).

		Metais (mg/L)						
		Fe	Ni	Cd	Zn	Al	Cu	Cr
VMP		0,3	0,025	0,001	0,18	0,1	0,009	0,05
Período	Pontos							
Chuvoso	CN	0.01 \pm 0.004	nd	nd	0.02 \pm 0,001	0.004 \pm 0.003	0.001 \pm 0,001	0.006 \pm 0.004
	P1	0.07 \pm 0.002	nd	nd	0.03 \pm 0.001	0.006 \pm 0.004	0.016 \pm 0.009*	0.012 \pm 0.005
	P2	0.15 \pm 0,000 ^a	nd	nd	0.08 \pm 0.007	0.007 \pm 0.002	0.005 \pm 0.003	0,055 \pm 0.01 ^{ab*}
	P3	0.13 \pm 0.006 ^a	nd	nd	0.07 \pm 0.002	0.240 \pm 0.003 ^{ab*}	0.08 \pm 0,001 ^{ab*}	0.052 \pm 0.03 ^{ab*}
	P4	0.15 \pm 0.002 ^a	nd	nd	0.19 \pm 0.001 ^{ab*}	0.16 \pm 0.04 ^{ab*}	0.01 \pm 0,001 ^{a*}	0.042 \pm 0.02 ^a
	P5	0.60 \pm 0.005 ^{ab*}	nd	nd	0.21 \pm 0.007 ^{ab*}	0.13 \pm 0.05 ^{ab*}	0.02 \pm 0.006 ^{a*}	0.055 \pm 0.01 ^{ab*}
Seco	CN	0.01 \pm 0.004	nd	nd	0.049 \pm 0.02	0.01 \pm 0.02	0.005 \pm 0.003	0.005 \pm 0,001
	P1	0.01 \pm 0.004	nd	nd	0.055 \pm 0.03	0.03 \pm 0.04	0.001 \pm 0,001	0.004 \pm 0.001
	P2	0.04 \pm 0,01	nd	nd	0.005 \pm 0.001	0.15 \pm 0,001 ^{a*}	0.02 \pm 0.006*	0.004 \pm 0.002
	P3	0.01 \pm 0.07	nd	nd	0.100 \pm 0,001	0.22 \pm 0.07 ^{ab*}	0.035 \pm 0,001 ^{ab*}	0.077 \pm 0.002 ^{ab*}
	P4	0.05 \pm 0.003 ^{ab}	nd	nd	0.350 \pm 0.001 ^{ab*}	0.156 \pm 0.02 ^{ab*}	0.49 \pm 0.21 ^{ab*}	0.055 \pm 0.001 ^{ab*}
	P5	0.08 \pm 0.008 ^{ab}	nd	nd	0.215 \pm 0.01 ^{ab*}	0.16 \pm 0,01 ^{ab*}	0.10 \pm 0.02 ^{ab*}	0.03 \pm 0.006 ^{ab}

VMP: Valor máximo permitido em mg/L. nd: Valor não detectado. (*) Não atendimento aos padrões de qualidade das leis brasileiras - CONAMA 357/05. ^a: Diferença significativa em relação ao controle negativo, $p < 0,05$. ^b: Diferença significativa em relação ao Ponto 01, $p < 0,05$.

3.3.3 Correlações estatísticas entre os parâmetros toxicogenéticos com a presença de metais.

Os danos citogenéticos (DC), obtidos nos testes *Allium cepa* e com *O. niloticus*, foram correlacionados estatisticamente com os resultados de quantificação de metais pesados. As aberrações cromossômicas evidenciadas em células de meristemas de *Allium cepa* (DC1) foram correlacionadas positivamente e significativamente com as dosagens de Cu ($r = 0,473$), Cr ($r = 0,677$), Al ($r = 0,736$), no período chuvoso e com o Cu ($r = 0,568$), Al ($r =$

0,551), período de seca. Para o teste com *O. Niloticus* os metais Zn ($r = 0,536$) e Al ($r = 0,769$); Cu ($r = 0,691$) e Al ($r = 0,751$) mostraram mais correlacionados com os danos citogenéticos (DC2) (micronúcleos e apoptose) para os períodos de chuva e seca, respectivamente. Dentre os metais analisados, o Al foi o que melhor respondeu ao modelo de regressão simples para os dois períodos avaliados: $DG = 84,03 + 426,78 \times Al$ (chuvoso) e $DG = 119,67 + 346,39 \times Al$ (seca). Os DC1 do teste de *Allium cepa* apresentaram-se correlacionados positivamente e significativamente para os DC2 obtidos em eritrócitos de *O. Niloticus* para os dois períodos estudados (Figura 4).

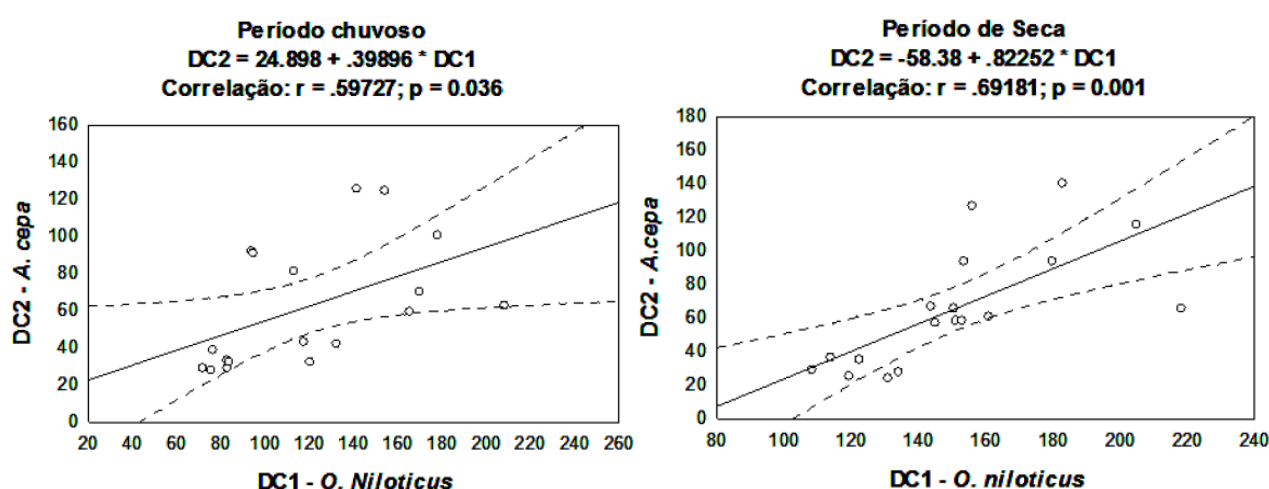


Figura 4: Correlação entre os danos citogenéticos obtidos para os dois testes mutagênicos utilizados para os períodos de chuva e de estiagem.

3.3.4 Identificação e densidade de cianobactérias nas amostras de água do rio

Nenhuma espécie apresentou valores de densidade acima dos valores permitidos pela Legislação Brasileira em nenhum dos pontos ou períodos analisados (Tabela 4). Porém foi observada a presença de espécies potencialmente produtoras de cianotoxinas mutagênicas e/ou cancerígenas, como *Oscillatoria* sp, *Aphanizomenon* sp e *Synechocystis aquatilis*, produtoras de microcistinas (MCs); *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Aphanizomenon* sp, produtoras de Cilindrospermopsina (CYN), sendo que todas ocorreram nos pontos dentro (P2 a P4) e após a cidade (P5), em pelo menos um período, e *Planktothrix agardhii*, produtora de Anatoxina-a (Antx-a), esteve presente no ponto dentro da cidade (P2), no período de seca (Tabela 4).

Tabela 4. Identificação e densidade de cianobactérias (células/mL⁻¹) de amostras de água de diferentes pontos do rio Guaribas/PI-Brasil, nos períodos de estudo.

Ponto	Período chuvoso		Período de seca	
CN	<i>Aphanizomenon</i> sp.	1	<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	16
	<i>Cyanoduction imperfectum</i>	32398	<i>Cyanoduction imperfectum</i>	3615
	<i>Cyanoduction</i> sp.	818	<i>Merismopedia tenuissima</i>	3632
	<i>Planktolynghya limnetica</i>	17999		
	<i>Pseudanabaena</i> sp.	245		
	<i>Romeria gracilis</i>	491		
P1	<i>Cyanoduction</i> sp.	965	<i>Cyanoduction</i> sp.	196
	<i>Merismopedia tenuissima</i>	930	<i>Merismopedia tenuissima</i>	98
	<i>Romeria elegans</i>	144	<i>Romeria elegans</i>	785
			<i>Romeria gracilis</i>	65
P2	<i>Aphanizomenon</i> sp.	1136	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	890
	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	480	<i>Phormidium</i> sp.	1789
	<i>Phormidium</i> sp.	6546	<i>Synechocystis aquatilis</i>	256
	<i>Planktothrix agardhii</i>	988	Oscillatoriaceae	3589
	Oscillatoriaceae	500		
P3	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	256	<i>Aphanizomenon</i> sp.	670
	<i>Oscillatoria</i> sp.	820	<i>Oscillatoria</i> sp.	768
	<i>Phormidium formosum</i>	1489	<i>Phormidium</i> sp.	456
	<i>Synechocystis aquatilis</i>	2869	<i>Pseudanabaena limnetica</i>	32
			Oscillatoriaceae	811
P4	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	784	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	2387
	<i>Cyanoduction imperfectum</i>	65	<i>Cyanoduction imperfectum</i>	33
	<i>Merismopedia glauca</i>	16	<i>Merismopedia glauca</i>	1
	<i>Merismopedia tenuissima</i>	16	<i>Merismopedia tenuissima</i>	49
	<i>Oscillatoria</i> sp.	3941	<i>Oscillatoria</i> sp.	930
	<i>Phormidium</i> sp.	323	<i>Phormidium formosum</i>	1239
	<i>Synechocystis aquatilis</i>	834		
P5	<i>Aphanizomenon</i> sp.	1728	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	3615
	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	336	<i>Phormidium formosum</i>	230
	<i>Phormidium formosum</i>	102	<i>Phormidium</i> sp.	167
	<i>Synechocystis aquatilis</i>	895	Oscillatoriaceae	496
	Total	78131		26815

50.000 células/mL⁻¹: Valor máximo permitido pela Resolução 357 do CONAMA/2005.

3.4 DISCUSSÃO

A poluição ambiental aquática é um problema grave e crescente, com o número cada vez maior de produtos químicos industriais, agrícolas e domésticos no ambiente aquático podendo levar a vários efeitos deletérios sobre os organismos que habitam essas áreas, além da saúde humana (Yu et al. 2013). Entre os efeitos letais e sub-letais causados por estas misturas complexas em água, existem problemas de fertilidade, bem como celular, metabólicas, e alterações no DNA (Bianchi et al. 2011).

O impacto de materiais tóxicos para a integridade e funcionamento do DNA celular pode ser investigado em muitos organismos sob condições de campo e laboratório (Bombail et al. 2001). Nesse contexto, vários bioensaios e biomarcadores genéticos têm sido utilizados como ferramentas, tanto para a detecção da exposição à poluição genotóxica, bem como dos efeitos dessa poluição no ambiente e nos organismos que estão em contato direto ou indireto como esses poluentes (Klobucar et al. 2012; kern et al. 2015).

Dentre os bioensaios utilizados, o teste de *Allium cepa* se destaca como eficiente ferramenta para estudos de biomonitoramento genético ambiental. Este teste é um ensaio genético fácil e rápido para elucidar efeitos citotóxicos e genotóxicos de água poluída e outras substâncias químicas na mitose e na estrutura dos cromossomos em células meristemáticas de *A. cepa* (Leme e Marin-Morales 2008; Radić et al. 2009; Sousa et al. 2013; Teerarak et al. 2009). A extensa proliferação e diferenciação celular nos meristemas apicais podem ser correlacionadas diretamente com a taxa de crescimento da raiz em *A. cepa*. Assim, o IM e o TR avaliados nesse tipo de estudo podem ser usados para determinar a taxa de crescimento da raiz e assim avaliar a citotoxicidade dos poluentes químicos presentes no ambiente aquático (Yildiz et al. 2009). Em adição, esse bioensaio detecta também micronúcleos (MN) e alterações cromossômicas no fuso mitótico quando suas células meristemáticas são expostas a contaminantes químicos ambientais (Leme e Marin-Morales 2009; Masood e Malik 2013).

O estudo utilizando o sistema-teste *A. cepa*, avaliou amostras de água superficiais do rio Guaribas, detectando efeitos citotóxicos e mutagênicos para os pontos dentro (P2 a P4) e depois (P5) da cidade de Picos-PI para os 02 períodos analisados (chuvoso e seco/2014) (tabela 2).

No teste de *A. cepa*, resultados de estudos macroscópicos (TR) e microscópicos (IM) são relacionados entre si e geralmente um dá suporte ao outro (Akinboro e Bakare 2007). Portanto, a inibição de crescimento da raiz pelas amostras de água com a influência da cidade de Picos pode ser explicada devido os inferiores IM estatisticamente observados ($p < 0.05$) em comparação ao CN e P1. Assim, a citotoxicidade desses pontos foi evidente no estudo, principalmente para os TE de 72 e 168 horas. IM tem sido utilizado para medir o nível de efeitos tóxicos que os contaminantes químicos presentes nas amostras de água têm sobre a divisão celular (Yildiz et al. 2009). A indução de valores mais baixos de IM observados pelas amostras de água em pontos dentro e depois da cidade sugere a inibição da divisão celular nas células meristemáticas apicais de *A. cepa*, apoiando os resultados da avaliação macroscópica sobre a redução do crescimento da raiz (TR).

O efeito genotóxico significativo observado, no presente trabalho, foi a presença de micronúcleos, c-metáfases, quebras cromossômicas, pontes cromossômicas, anáfases com multipolaridades, perdas de cromossomos inteiros e outras alterações cromossômicas (AC) também ligadas a problemas no fuso mitótico (Figura 2). A mutagenicidade dos pontos contaminados foi estatisticamente significativa para os três TE analisados nos períodos de chuva e seca na região, caracterizando assim, a presença de mutagênicos nos efluentes domésticos da cidade Picos o ano todo, bioacumulando-se no rio Guaribas, já que o ambiente aquático estudado, na maior parte do ano, apresenta-se com vazão extremamente reduzida e provavelmente, com pouco poder de biodegradação. Resultados semelhantes foram discutidos em outros trabalhos como de Akinboro et al. (2011); Athanásio et al. (2014); Düsman et al. (2014). Tabet et al. (2015), utilizando o mesmo bioensaio em diferentes ambientes aquáticos.

Os danos que conduzem às alterações cromossômicas, como pontes nucleoplasmáticas, c-mitoses, anáfase multipolar, dentre outras, são consideradas decorrentes de ação tipicamente genotóxica do ambiente. O aparecimento de MN é derivado de ação clastogênica de um dado composto químico presente no rio Guaribas ou do sinergismo de potenciais compostos genotóxicos presentes, sendo considerado uma alteração indicadora de mutagenicidade. Marco et al. (2010) avaliaram a citotoxicidade e mutagenicidade de amostras de água do açúde de Lucreia, localizado também na região Nordeste do Brasil. Os resultados mostraram-se semelhantes aos encontrados para o rio Guaribas com efeitos citotóxicos e mutagênicos durante o ano todo independente do período do ano. Esse trabalho juntamente com os trabalhos de Bianchi et al. (2011); Manzano et al. (2015), utilizando o teste de *Allium cepa*, relacionaram os efeitos citotóxicos e mutagênicos encontrados em ambientes aquáticos com a presença de metais pesados liberados por efluentes domésticos, agrícolas e industriais.

O aumento dos níveis de metais em ambientes aquáticos causados por efluentes industriais e domésticos é um dos principais indicadores de contaminação química (Manzano et al. 2015). Os metais pesados analisados no estudo, como Zn, Cr, Cu e Al apresentaram valores acima dos permitidos pelo CONAMA (357/2005) para pontos dentro e depois da cidade (tabela 4), sendo alguns deles correlacionados positivamente para os danos citotóxicos e genotóxicos encontrados no teste de *Allium cepa*. Trabalhos como Beyersmann e Hartwig (2008), Klauck et al. (2013), Siddiqui et al. (2011) e Turkoglu (2007) observaram alterações cromossômicas provocados pela presença de metais pesados como Zn, Cr, Cu, e Al de forma isolada ou em associação presentes em águas poluídas.

Concentrações elevadas de Cu inibem o índice mitótico de *A. cepa* e causam alterações interfásicas, como a presença anormal de material cromossômico condensado

dentro de aglomerados de heterocromatina (Fiskesjö 1988). O Cr juntamente com o Zn residuais, advindo de efluentes industriais ou domésticos induzem efeito mutagênico nas células meristemáticas radiculares de *A. cepa*, constatado pela alta frequência de anomalias cromossômicas, células com aderência entre cromossomos, micronúcleos, células multinucleadas, quebras cromossômicas e cromatídicas, pontes intracromossômicas e fragmentos cromossômicos (Matsumoto e Marin-Morales 2004; Matsumoto et al. 2006).

Já o Al, que melhor respondeu ao modelo de regressão, é o terceiro metal mais abundante da crosta terrestre (Achary, et al. 2008). É um metal altamente citotóxico para as plantas (Pejchar et al. 2002), tendo como a mais importante consequência fisiológica a interrupção do crescimento da raiz das plantas e a mudança na morfologia radicular (Dovgalyuk et al. 2003; Achary et al. 2008). Voutsinas et al. (1997) sugerem que o citoesqueleto seja a estrutura alvo do Al, pois este metal tem ação sobre a polimerização das tubulinas e, conseqüentemente, na formação do fuso mitótico, explicando assim, as AC encontradas no presente trabalho.

Várias alterações celulares foram relatadas para *A. cepa*, após exposição ao Al, sendo esse metal relacionado com a interferência na cinética de divisão celular, promovendo aderência cromossômica e fragmentação nuclear (Panda et al. 2014), quebras cromossômicas e formação de MN (Misik et al. 2014) e efeitos citotóxicos, c-metáfase, anáfases multipolares e cromossomos soltos (Dovgaliuk et al. 2001). Assim, a presença de elementos metálicos em amostras de água poluídas do rio Guaribas, nos pontos dentro e depois da cidade, pode ser um dos fatores que aumentaram o dano genético nas células vegetais, justificando assim a presença de alterações celulares no ciclo celular de *Allium cepa* e os efeitos citotóxicos e mutagênicos encontrados.

Nas últimas décadas, muitos pesquisadores têm utilizado peixes como um modelo genético para monitorar poluentes e contaminantes tóxicos em ambientes aquáticos (Hoshina et al. 2008). De acordo com Cavas e Ergene-Gozukara (2005), a espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia) é um excelente sistema-teste para ensaios laboratoriais, sendo frequentemente utilizadas para a investigação da toxicidade de substâncias contaminantes de ecossistemas aquáticos. Esta espécie é comumente encontrada em estuários de todo o mundo, sendo reconhecida pela sua sensibilidade em responder, rapidamente, às alterações ambientais (Jha 2004).

O teste de micronúcleo (MN) nas células sanguíneas desse bioindicador é um método sensível para várias substâncias genotóxicas, mostrando boa correlação com os resultados obtidos em células humanas (Linde-Arias et al. 2008). No mesmo teste, observam-se as

alterações nucleares (AN), como os núcleos notched, lobed e blebbed, os quais vários estudos têm descrito a presença dessas anormalidades em células de peixes expostos a substâncias genotóxicas (Cavas e Ergene-Gozukara 2003). Em geral, estas alterações são consideradas indicadores de dano genotóxico e, portanto, podem complementar os resultados de genotoxicidade de compostos químicos, juntamente com a presença de MN e apoptose (Monteiro et al. 2011).

O bioensaio genotóxico com os eritrócitos de *O. Niloticus*, no estudo, apresentou citotoxicidade e mutagenicidade das amostras de água do rio Guaribas para pontos dentro e depois da cidade de Picos, com valores estatisticamente significativos de MN, apoptose e AN quando comparados com o controle e em alguns momentos para o P1 em pelo menos um TE analisado (tabela 2 e 3). Estudos como os de Erbe et al. (2011); Duarte et al. (2012); Klobucar et al. (2010); Marcon et al. (2010) e Oliva et al. (2012), utilizando-se da técnica de MN e AN em peixes, detectaram relações entre danos genéticos encontrados nos eritrócitos desse animal com a presença de metais pesados no ambiente aquático estudado.

Os efeitos tóxicos do Cu foram diagnosticados para vários organismos aquáticos (Franklin et al. 2002), inclusive os peixes (Arkhipchuk e Garanko, 2005; Manzl et al., 2003). Rau et al. (2004) demonstraram que células de peixes são mais sensíveis ao Cu que células de mamíferos, dados estes corroborados pelos estudos realizados por Arkhipchuk e Garanko (2005), em eritrócitos de *Carassius auratus gibelio*, que mostraram um aumento do índice de micronúcleo e AN, após exposição ao Cu, exibindo assim a mutagenicidade desse metal quando exposto as células animais em ambiente aquático.

No estudo, os valores de Cr variaram de 0,04 a 0,07 mg/L para pontos dentro e depois da cidade de Picos. Zhu et al. (2004) encontraram resultados positivos em eritrócitos de *Cyprinus carpio* expostos a concentrações de cromo hexavalente, variando entre 0,001 a 0,1 mg/L. De acordo com Matsumoto et al. (2006), as concentrações de cromo total de 0,01 mg/L foram capazes de promover um aumento nos índices de eritrócitos micronucleados e AN em *O. niloticus*. O Cr pode danificar o DNA de várias maneiras, incluindo rupturas de filamentos duplos (DSBs) que geram aberrações cromossômicas, formação de micronúcleos, troca de cromátide irmãs, formação de adutos de DNA e alterações na replicação do DNA e transcrição (Peng et al. 2015).

A exposição ao Al conduz a efeitos tóxicos para células animais. A maioria dos estudos sobre o potencial genotóxico e citotóxicos de alumínio foi realizado in vitro e em culturas de células (Lima et al. 2008). Tem sido demonstrado que o Al induz micronúcleos e aberrações cromossômicas (Ternjej et al. 2010). Pereira et al. (2013) evidenciam uma elevada

toxicidade induzida pelo alumínio em culturas de células de peixe e indica a importância da avaliação de genotoxicidade em organismos vivos em água contaminada por esse metal.

A presença associada desses metais pesados dentro da célula, também, provocam a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Chakraborty et al. 2009), sendo os mesmos responsáveis por vários tipos de fragmentação do DNA e morte celular (Gómez-Mendikute e Cajaraville 2003). No estudo, foram encontradas médias estatisticamente significantes para morte celular (apoptose) nos pontos P3, P4 (período chuvoso) e P3, P4 e P5 (período seco) (tabela 03), com células evidenciando núcleos fragmentados e vacuolados, células em cariólise e citoplasma vacuolado (figura 3E-I). Células em apoptose encontradas, no estudo, podem estar relacionadas com o aumento da produção de ROS dentro da célula, como também pelo desenvolvimento, por parte dos eritrócitos, de mecanismos adaptativos de tolerância ao estresse causado pelos metais pesados em sinergismo com outros produtos químicos potencialmente genotóxicos, que promovem, assim, um aumento na taxa de células mortas para manter as condições fisiológicas normais do organismo (Mersch et al. 1996).

Além de estudos genotoxicológicos com metais pesados em ambientes aquáticos, outra preocupação marcante para o genoma dos organismos e a qualidade da água é a presença de florações de espécies de cianobactérias produtoras de toxinas potencialmente mutagênicas e cancerígenas (Humpage et al. 2000). No estudo, nenhuma espécie apresentou valores de densidade acima dos valores limites permitidos pelas leis brasileiras, porém observou-se a presença preocupante de cianobactérias potenciais produtoras de cianotoxinas genotóxicas, como *Oscillatoria* sp, *Aphanizomenon* sp, *Synechocystis aquatilis*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Aphanizomenon* sp e *Planktothrix agardhii*, em pontos com influência direta da cidade.

As espécies *Oscillatoria* sp, *Aphanizomenon* sp e *Synechocystis aquatilis* são potenciais produtoras de microcistinas (MCs). As MCs são um dos grupos de cianotoxinas mais estudados com relação a sua atividade genotóxica (Zegura et al. 2011). Da Silva et al. (2011), observaram a presença de MN, fragmentação de DNA e morte celular em eritrócitos de *Oreochromis niloticus* quando expostos a extratos de cianobactérias contendo diferentes concentrações de microcistinas. Já Chen et al. (2011) avaliaram os efeitos genotóxicos de MCs em células vegetais, observando fragmentação de DNA por RAPD quando exposto a esse tipo de toxina.

As espécies *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Aphanizomenon* sp, produtoras de Cilindrospermopsina (CYN), foram encontradas nos pontos dentro e após a cidade, em pelo menos um período analisado, e a espécie *Planktothrix agardhii*, potencial produtora de

Anatoxinas (Antx), foi encontrada em um dos pontos dentro da cidade, no período de seca. Sieroslawska (2013), avaliando a mutagenicidade dessas duas cianotoxinas, observou que, em sinergismo, as mesmas tem a capacidade de causar mutações em linhagens de bactérias utilizando o teste Ames.

O fato da baixa densidade de algumas espécies pode estar relacionado com o período do ano de amostragem, pois algumas espécies de cianobactérias possuem suas florações no início do período chuvoso, sendo que o estudo foi desenvolvido no meio do período chuvoso e na seca. Além disso, normalmente as condições ambientais (concentrações de nutrientes, estratificação e temperatura) vão determinar o momento da intensidade dessas florações (Chellapa e Costa 2003), o que não, necessariamente, foi observado.

A presença de espécies potencialmente tóxicas no rio pode propiciar a liberação de cianotoxinas genotóxicas no local, criando assim um ambiente genotoxicológico, formado pela mistura de metais pesados, cianotoxinas e outros contaminantes químicos, liberados pela ação antropogênica da cidade não estudados. Os PHAs (hidrocarbonetos Aromáticos e Policíclicos) e os compostos organoclorados, apesar de não estudados e quantificados no estudo, são normalmente liberados e frequentes em ambientes aquáticos que sofrem com ações antropogênicas oriundas de efluentes industriais, agrícolas e domésticos, como exemplificado para a cidade de Picos. Assim, esses compostos comprovadamente genotóxicos podem também está influenciando os efeitos citotóxicos e mutagênicos observados para as amostras de água estudadas (Di Giorgio et al. 2011; Mai et al. 2013; Manzano et al. 2015).

Portanto, organismos expostos a esse tipo de ambiente vão apresentar em pequena ou maior escalar problemas na divisão celular, mutações gênicas e/ou cromossômicas a nível celular, além da possibilidade de prejuízos a sua reprodução e conseqüentemente do seu sucesso no ambiente (Farmer e Sing 2008; Leme e Marin-Morales 2009). Assim, os organismos utilizados na pesquisa (*Allium cepa* e *O. niloticus*) mostraram-se como biondicadores sensíveis aos mutagênicos liberados pela ação antropogênica da cidade de Picos, evidenciado pelos efeitos citotóxicos e mutagênicos apresentados em amostras de água com influência da cidade.

3.5 CONCLUSÃO

Assim, pelos resultados da avaliação genética nos bioindicadores utilizados, da presença de metais e de cianobactérias, observou-se que as amostras de água dos pontos dentro e depois da cidade de Picos possuem uma baixa qualidade devido à presença de diferentes metais pesados acima dos valores permitidos e uma significativa atividade citotóxica e mutagênica. Esses pontos apresentam uma degradação ambiental certamente ocasionada pela ação antropogênica da cidade. Portanto, se fazem necessários estudos adicionais para determinar a presença de outros mutagênicos liberados por essa ação nesse ambiente aquático bem como estudos de parâmetros físicos e químicos para conceituar melhor a qualidade do recurso hídrico tão importante para o abastecimento, lazer e atividades agrícolas na região.

REFERÊNCIAS

- Akinboro, A., Bakare, & A. A. (2007). Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. *Journal of Ethnopharmacology* 112, 470–475.
- Akinboro, A., Mohammed, K., Rathnasamy, S., & Muniandy, V.R. (2011). Genotoxicity Assessment of Water Samples from the Sungai Dua River in Pulau Pinang, Malaysia, Using the *Allium cepa* Test. *Tropical Life Sciences Research* 22, 23–35.
- Amr, S.S.A., & Yassin, M.M. (2008). Microbial contamination of the drinking water distribution system and its impact on human. *Public Health* 122, 1275-1283.
- Andrade- Júnior, A.S., Silva, E.F.E.S., Bastos, E.A., Melo, F.B., & Leal, C.M., (2006). Use and quality of groundwater for irrigation in semi-arid region of the Piauí State, Brazil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 10, 873-880.
- APHA, AWWA, WPCF. (2005) *Standard Methods for the Examination of water and Wastewater*. 21st ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- Athanásio, C.G., Prá,D., & Rieger, A. Water Quality of Urban Streams: The *Allium cepa* Seeds/Seedlings Test as a Tool for Surface Water Monitoring. *The Scientific World Journal*.
- Barbosa, J. S., Cabral, T. M., Ferreira, D. N., Agnez-Lima, L. F., & Medeiros, S. R. B. (2010). Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73, 320–325.
- Beyersmann, D., & Hartwig, A., (2008). Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Arch. Toxicology*. 82, 493–512.

- Bianchi, J., Espindola, E.L.G., & Marin-morales, M. A. (2011). Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74, 826–833.
- Boer, J., & Hoeijmakers, J.H.J. (2000). Nucleotide excision repair and human syndromes. *Carcinogenesis* 21, 453–460.
- Bolognesi, C., & Hayashi, M. (2011). Micronucleus assay in aquatic animals. *Mutagenesis*. 26, 205-13.
- Bolognesi, C., Perrone, E., Roggeri, B., Pampanin, D.M., & Sciutto, A., (2006). Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions. *Aquatic Toxicology*. 78, 93–98.
- Bombail, V., Aw, D., Gordon, E., & Batty, J. (2001). Application of the comet and micronucleus assays to butterfish (*Pholis gunnelus*) erythrocytes from the Firth of Forth, Scotland, *Chemosphere* 44, 383–392.
- Carrasco, K.R., Tilbury, K.L., & Mayers, M.S., (1990). Assessment of the piscine micronuclei test as an in situ biological indicator of chemical contaminations effects. *J. Fish Aquat. Sci.* 47, 2123–2136.
- Cavas, T., & Ergene-Gozukara, S. (2005). Micronucleus test in fish cells: A bioassay for in situ monitoring of genotoxic pollution in the marine environment. *Environ. Mol. Mutagen.* 46, 64–70.
- Cavas, T., & Ergene-Gozukara, S. (2005). Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* following exposure to petroleum refinery and chromium processing plant effluents. *Aquatic Toxicology* 74, 264–271.
- Chakraborty, R., Mukherjee, A., & Mukherjee, A. (2009). Evaluation of genotoxicity of coal fly ash in *Allium cepa* root cells by combining comet assay with the *Allium* test. *Environment. Monitoring. Assessment* 153, 151–157.
- Chellappa, N.T., & Costa, M.A.S. (2003). Dominant and co-existing species of cyanobacteria from a eutrophicated reservoir of Rio Grande do Norte State, Brazil. *Acta Oecologica* 24, 3-10.
- Chen, J.Z., Ye, J.Y., Zhang, H.Y., Jiang, X.J., Zhang, Y.X., & Liu, Z.L. (2011). Freshwater toxic cyanobacteria induced DNA damage in apple (*Malus pumila*), rape (*Brassica napus*) and rice (*Oryza sativa*). *Journal of Hazardous Materials* 190, 240–244.
- CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), 2005. Resolução no. 357. Ministério do Meio Ambiente, MMA, Brasília, Distrito Federal. [http:// www.mma.gov.br/](http://www.mma.gov.br/). Accessed 16 june 2015.
- Da Silva Souza, T., & 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* 605, 87-93.

Da Silva, P.R.R., Pires, O.R., & Grisolia, C.K. (2011). Genotoxicity in *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) induced by *Microcystis* spp bloom extract containing microcystins. *Toxicol. Environ. Contam.* 8, 259–264.

De Sousa, C.C., Padula, L., Silva, L.F., & Irazusta, S.P. (2013). Validação dos Bioensaios de Toxicidade como Adjuvantes no Monitoramento de Efluentes para Descarte. *Ecotoxicol. Environ. Contam.* 8, 01-07.

Di Giorgio, C., Malleret, L., Gueydon-Morin, C., Rigaud, S., & De Méo, M. (2011). Comparison of two extraction procedures for the assessment of sediment genotoxicity: Implication of polar organic compounds. *Mutation Research* 725, 1– 12.

Dovgaliuk, A.I., Kaliniak, T.B., & Blium, I.B. (2001). Cytogenetic effects of toxic metal salts on apical meristem cells of *Allium cepa* L. seed roots. *Tsitol Genet.* 35, 3-10.

Duarte, I. D., Dias, M. C., David, J. A. O., & Matsumoto, J. S. (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. Biociências* 10, 211-219.

Düsman, E., Luzzi, M., Savegnago, L., Lauxen, D., & Vicentini, VEP., Tonial, I.B., Sauer, T.P. (2014). *Allium cepa* L. as a bioindicator to measure cytotoxicity of surface water of the Quatorze River, located in Francisco Beltrão, Paraná, Brazil. *Environment Monitoring Assessment*. 186, 1793–1800.

Erbe, M.C.L., Ramsdorf, W.A., Vicari, T., & Cestari, M.M. (2011). Toxicity evaluation of water samples collected near a hospital waste landfill through bioassays of genotoxicity piscine micronucleus test and comet assay in fish *Astyanax* and ecotoxicity *Vibrio fischeri* and *Daphnia magna*. *Ecotoxicology* 20, 320–328.

Ergene, S., Cavas, T., Celik, A., Koleli, N., & Aymak, C., (2007). Evaluation of river water genotoxicity using the piscine micronucleus test. *Environment. Molecular. Mutagen.* 48, 421–429.

Farmer, P.B., & Singh, R. (2008). Use of DNA adducts to identify human health risk from exposure to hazardous environmental pollutants: the increasing role of mass spectrometry in assessing biologically effective doses of genotoxic carcinogens. *Mutation Research* 659, 68–76.

Fiskesjo, G. (1985). The *Allium* test as standard environmental monitoring. *Hereditas* 102, 99–112.

Fiskesjö, G. (1988). The *Allium* test – an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mutation Research*, 197, 243-260.

Gómez-mendikute, A., & Cajaraville, M.P., (2003). Comparative effects of cadmium, copper, paraquat and benzo[a]pyrene on the actin cytoskeleton and production of reactive oxygen species (ROS) in mussel haemocytes. *Toxicology in Vitro* 17, 539–546.

Grant, W.F. (1994). The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutation. Research.* 310, 175–185.

Guerra, M., & Souza, M.J. (2002). *Como observar cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana*. Funpec, São Paulo.

Hoshina, M.M., de Angelis, D.F., & Marin-Morales, M.A. (2008). Induction of micronucleus and nuclear alterations in fish (*Oreochromis niloticus*) by a petroleum refinery effluent. *Mutation. Research.* 656, 44–48.

Humpage, A.R., Fenech, M., Thomas, P., & Falconer, I.R., (2000). Micronucleus induction and chromosome loss in transformed human white cells indicate clastogenic and aneugenic action of the cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Mutation Research.* 472, 155–161.

Jha, A.N., (2004). Genotoxicological studies in aquatic organisms: an overview. *Mutation Research.* 552, 1–17.

Kern, D.I., Schwaickhardt, R.O., Lutterbeck, C.A., Kist, L.T. Alcayaga, E.A.L., & Machado, E.L., (2015). Ecotoxicological and Genotoxic Assessment of Hospital Laundry Wastewaters. *Arch Environ Contam Toxicol.* 68, 64–73.

Klauck, C.R., Rodrigues, M.A.R., & Silva, L.B. (2013). Toxicological evaluation of landfill leachate using plant (*Allium cepa*) and fish (*Leporinus obtusidens*) bioassays. *Waste Management and Research* 31, 1148–1153.

Klobucar, G.I., Malev, O., Šrut, M., Štambuk, A., Lorenzon, S., Cvetković, Ž., Ferrero, E.A., & Maguire I. (2012). Genotoxicity monitoring of freshwater environments using caged crayfish (*Astacus leptodactylus*). *Chemosphere* 87, 62–67.

Leme, D.M., & Marin-Morales, M.A. 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research* 682, 71–81.

Leme, D.M., & Marin-Morales, M.A., (2008). Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water—a case study. *Mutation. Research.* 650, 80–86.

Lima, P.D., Leite, D.S., Vasconcellos, M.C., Cavalcanti, B.C., Santos, R.A. Costa- Lotufo, L.V., Pessoa, C., Moraes, M.O., & Burbano., R.R. (2007). Genotoxic effects of aluminum chloride in cultured human lymphocytes treated in different phases of cell cycle, *Food Chem. Toxicology.* 45, 1154–1159.

Linde-Arias, A.R., Inácio, A.F., Albuquerque, C., Freire, M.M., & Moreira, J.C., (2008). Biomarkers in an invasive fish species, *Oreochromis niloticus*, to assess the effects of pollution in a highly degraded Brazilian River. *Sci. Total Environ.* 399, 186–192.

Mai, H., Morin, B., Pardon, P., Gonzalez, P., Budzinski, H., & Cachot, J. (2013). Environmental concentrations of irgarol, diuron and S-metolachlor induce deleterious effects on gametes and embryos of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Marine Environmental Research* 89, 1-8.

- Manzano, B.C., Roberto, M.M., Hoshina, M.M., Menegário, A.A., & Marin-Morales, M.A. (2015). 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. *Environment Science Pollution Research* 22, 1399–1407.
- Marcon, A.E., Ferreira, D.M.F., Moura, M.F.V., Campos, T.F.C., Amaral, V.S., Agnez-Lima, L.F., & Medeiros, S.R.B. (2010). Genotoxic analysis in aquatic environment under influence of cyanobacteria, metal and radioactivity. *Chemosphere*, 81, 773–780.
- Marinelli, C.E., MORETTO, E.M., Brucha, G., & Lucca, J.V. 2000. Limnologia. In: Espíndola, E.L.G., Silva, J.S.V., Marinelli, C.E., & Abdon, M.M. (Eds.), *A Bacia Hidrográfica do Rio do Monjolinho*. Rima, São Carlos.
- Masood, F., & Malik, A. (2013). Mutagenicity and genotoxicity assessment of industrial wastewaters. *Environment Science Pollution Research*. 20, 7386–7397.
- Matsumoto, S. T. et al. (2006). Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome alterations in onion root-tips. *Genetic and Molecular Biology* 29, 148-158.
- Matsumoto, S. T., & Marin-Morales, M. A. (2004). Mutagenic potential evaluation of the water of a river that receives tannery effluent using the *Allium cepa* test system. *Cytologia* 69, 399-408.
- Mišík, M., Burke, I.T., Reismüller, M., Pichler, C., Rainer, B., Mišíková, K., Mayes, W.M., & Knasmueller, S. (2014). Red mud a byproduct of aluminum production contains soluble vanadium that causes genotoxic and cytotoxic effects in higher plants. *Science of the Total Environment* 493, 883–890.
- Monteiro, V., Cavalcante, D.G.S.M., Vilela, M.B.F.A., Sofia, S.H., & Martinez, C.B.R., (2011). In vivo and in vitro exposures for the evaluation of the genotoxic effects of lead on the Neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*. *Aquat. Toxicol.* 104, 291–298.
- Oliva, M., José Vicente, J., Gravato, C., Guilhermino, L., & Dolores Galindo-Riaño, M. (2012). Oxidative stress biomarkers in Senegal sole, *Solea senegalensis*, to assess the impact of heavy metal pollution in a Huelva estuary (SWSpain): Seasonal and spatial variation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 75. 151–162.
- Panda, B.B., & Achary, V.M.M. (2014). Mitogen-activated protein kinase signal transduction and DNA repair network are involved in aluminum-induced DNA damage and adaptive response in root cells of *Allium cepa* L. *Frontiers in Plant Science*. 5, 1-10.
- Peng, C., Muthusamy, S., Xia, Q., Lal, V., Denison, M.S., & Ng, J.C. (2015). Micronucleus formation by single and mixed heavy metals/loids and PAH compounds in HepG2 cells. *Mutagenesis*. 30, 593-602.
- Pereira, S., Cavalie, I., Camilleri, V., Gilbin, R., & Adam-Guillermin, C. (2013). Comparative genotoxicity of aluminium and cadmium in embryonic zebrafish cells. *Mutation Research* 750. 19– 26.

PLANAP: Plano de Ação para o Desenvolvimento Integrado da Bacia do Parnaíba. (2014). Síntese executiva: Território Vale do Rio Guaribas / Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba – CODEVASF. – Brasília, DF: TDA Desenhos & Arte Ltda.

Radić, S., Stipaničev, D., Vujčić, V., Rajčić, M.M., Širac, S. & Pevalek-Kozlina, B. (2010). The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. *Sci. Total Environ.* 408, 1228-1233.

Rice, E.W. et al. (2012). Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, *Water Environment Federation*, 22.

Siddiqui, A.H., Tabrez, S., & Ahmad, M. (2011). Validation of plant based bioassays for the toxicity testing of Indian waters. *Environment Monitoring Assessment* 179, 241–253.

Sieroslawska, A. (2013). Assessment of the mutagenic potential of cyanobacterial extracts and pure cyanotoxins. *Toxicon* 74, 76–82.

Tabet, M., Abda, A., Benouareth, D.E., Liman, R. Konuk, M., Khallef, M., & Taher, A. (2015). Mutagenic and genotoxic effects of Guelma's urban wastewater, Algeria. *Environment Monitoring Assessment*. 187, 26.

Teerarak, M., Kisana, B., Sompop, T., & Chamroon, L. (2009). The impact of sodium chloride on root growth, cell division, and interphase silver-stained nucleolar organizer region (AgNORs) in root tip cells of *Allium cepa* L. *Scientia Horticulture* 121, 228–232.

Ternjej, I., Mihaljevi, Z., Stankovi, I., Kerovec, M., Sipos, L., Zeljezi, D., & Kopjar, N. (2010). Estimation of DNA integrity in blood cells of eastern mosquito fish (*Gambusia holbrooki*) inhabiting an aluminium-polluted water environment: an alkaline comet assay study, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 59, 182–193.

Tsangaris, C., Vergolyas, M., Fountoulaki, E., & Goncharuk, V.V. (2011). Genotoxicity and oxidative stress biomarkers in *Carassius gibelio* as endpoints for toxicity testing of Ukrainian polluted river waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74, 2240–2244.

Turkoglu, S., (2007). Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. *Mutation. Research.* 626, 4–14.

Veloso, R.L., Deus, M.S.M., Peron, A.P., & Gonçalves, N.M.N. (2014). Plantas aquáticas: conhecimento de alunos do ensino médio da rede Pública de ensino sobre sua proliferação no rio Guaribas, Picos – PI. *Ambiência* 10, 363 – 378.

Voutsinas, G., Zarani, F.E., & Kappas, A. (1997). The effect of environmental aneuploidy-inducing agents on the microtubule architecture of mitotic meristematic root cells in *Hordeum vulgare*. *Cell Biology International*, 21, 411-418.

Yildiz M, Ibrahim H C, Muhsin K, Fatih A F., & Hakan T. (2009). Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. *Chemosphere* 75, 934–938.

Yu, J., Dong, H.W., Shi, L.T., Jiang, H.L., Yu, J.W., Zhao, Q.W., Cai, S.V., Han, D., Tang, X.Y., & Liu, J.L. (2013). Re-Examination of the Genotoxic Activity of Water Taken From the Songhua River in P. R. China. *Arch Environ Contam Toxicol.* 65, 78–88.

Zegura, B., Straser, A., & Filipi, M. (2011). Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins – a review. *Mutation. Research.* 727, 16–41.

ANEXO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
 Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP: 64049-550
 Telefone (86) 3215-5734 _e-mail: ceeapi@ufpi.edu.br



Teresina, 19 de Dezembro de 2014.

Ilmo.

Prof. Dr. HORÁCIO FERREIRA JÚLIO JUNIOR.
Departamento: Biologia/ CCN/ UFPI.

Senhor Pesquisador,

Em reunião na presente data (19 de Dezembro de 2014), a Comissão de Ética e Experimentação no Uso de Animais em Pesquisa, da Universidade Federal do Piauí, analisou e **Aprovou** no que diz respeito aos aspectos de natureza da ética em experimentação animal, sob o número **108/14**, o projeto de pesquisa intitulado **"Biomonitoramento das águas da Bacia hidrográfica do Rio Guaribas (Picos- PI/BRASIL) por meio de testes de toxicidade em sistema teste animal e vegetal"**, sob a sua responsabilidade. Informamos que este projeto tem Período de Vigência de Janeiro/2015 à Dezembro/2015, e serão usados 42 Peixes (Machos e Fêmeas).

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEEA/UFPI, o relatório final sobre a pesquisa, (Lei Procedimentos para o Uso Científico de Animais – Lei Nº 11.794, 8 de outubro de 2008).

Atenciosamente,


Prof. Ivete L. de Mendonça
 Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI
 Coordenadora

4 CONCLUSÕES GERAIS

As principais fontes de poluição foram os efluentes domésticos e agrícolas, mostrando, assim, como o rio vem sofrendo, nos últimos dois anos, forte pressão antrópica em locais dentro e depois da cidade de Picos. Nesse sentido, o índice de qualidade da água do rio foi considerado como ruim para locais com forte influência da cidade de Picos, e esse fato foi corroborado nas análises estatísticas, o que demonstra que essas técnicas são ferramentas úteis e importantes para estudos de monitoramento ambiental.

Algumas variáveis físicas e químicas (oxigênio dissolvido, turbidez, cor, demanda bioquímica de oxigênio e fósforo total) e alguns metais (cloro, zinco, cobre, cromo e alumínio) apresentaram valores acima dos permitidos pelo CONAMA (Resolução 357/2005), o que caracteriza o ambiente aquático poluído. Ademais, elevados valores de fósforo total apontam eutrofização artificial no ambiente aquático estudado.

Essa ação antrópica proporcionou, ainda, a liberação na água de compostos químicos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos, tais como metais pesados (Zn, Cu, Cr e Al). Os mesmos foram responsáveis, juntamente com outros potenciais mutagênicos presentes no ambiente, porém não quantificados, por alterações cromossômicas, problemas no fuso mitótico, morte celular (apoptose) e alterações nucleares em células meristemáticas de *Allium cepa* e *O. niloticus*. Assim, os bioensaios, biomarcadores genéticos e bioindicadores utilizados no estudo mostraram-se eficientes e úteis para o monitoramento biológico do rio.

Portanto, o rio Guaribas apresenta-se, independente do período, como um ambiente aquático poluído, com eutrofização artificial no seu trajeto dentro da cidade de Picos, e continua com essa degradação ambiental após a cidade. Além disso, a ação humana, presente o ano todo, faz com que a água superficial do rio cause danos genéticos aos organismos que vivem nesse ambiente, podendo afetar a saúde humana. Nesse caso, se faz necessário o monitoramento constante no ambiente estudado, além de intervenções governamentais para melhorar a qualidade do rio Guaribas, já que o mesmo tem sua importância histórica e econômica para o estado piauiense.