

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
MESTRADO PROFISSIONAL EM REDE NACIONAL EM GESTÃO E
REGULAÇÃO DE RECURSOS HÍDRICOS - PROFÁGUA

VANESSA DAUFENBACH

**TOXICIDADE DE CROMO E MERCÚRIO SOBRE *Allium Cepa* L. EM
CONCENTRAÇÕES OBSERVADAS APÓS O ROMPIMENTO DA
BARRAGEM DE BRUMADINHO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CAMPO MOURÃO

2021

VANESSA DAUFENBACH

**TOXICIDADE DE CROMO E MERCÚRIO SOBRE *Allium cepa* L. EM
CONCENTRAÇÕES OBSERVADAS APÓS O ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE
BRUMADINHO**

**Toxicity of chromium and mercury on *Allium cepa* L. in concentrations
observed after the rupture of the Brumadinho dam**

Dissertação apresentada como requisito para
obtenção do título de Mestre em Gestão e Regulação
de Recursos Hídricos da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Elton Celton de Oliveira.

Coorientadora: Morgana Suszek Gonçalves.

CAMPO MOURÃO

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho,
para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s)
autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra
não são cobertos pela licença.



VANESSA DAUFENBACH

**TOXICIDADE DE CROMO E MERCÚRIO SOBRE ALLIUM CEPA L. EM CONCENTRAÇÕES
OBSERVADAS APÓS O ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE BRUMADINHO**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Instrumentos Da Política De Recursos Hídricos.

Data de aprovação: 26 de Fevereiro de 2021

Prof Elton Celton De Oliveira, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Ana Paula Peron, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Eudes Jose Arantes, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Morgana Suszek Goncalves, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 26/02/2021.

À memória de um grande amigo, Rodolfo
Pereira Ramos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, que como pôde me apoiou em todas as etapas da minha vida acadêmica.

Ao Paulo Henrique da Silva por todo apoio, paciência, compreensão e amor me dado nesses anos difíceis.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Elton Celton de Oliveira, pelos ensinamentos, críticas pertinentes, discussões e contribuições grandiosas que me guiaram nessa trajetória e no meu crescimento profissional.

À minha coorientadora Prof.^a Dr.^a Morgana Suszek Gonçalves, pela disponibilidade, direcionamento e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Ao laboratório Acqua Sollus, pelo apoio estrutural que me concederam, e aos colegas de trabalho Vanessa Jorge, Maykon Rodrigues Alves, e Fernanda Valin Fortunato e demais colegas, pelo apoio técnico que me foi prestado.

Aos meus amigos, Michelly R. C. Molina, Guilherme Garcia e Nidia Marinho, pela amizade que mesmo a distância são presentes na minha vida.

Aos meus colegas do mestrado, pela amizade e excelente cooperação profissional que o mestrado proporcionou.

À Secretaria do Curso, pela cooperação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Agradecemos também ao Programa de Mestrado Profissional em Rede Nacional em Gestão e Regulação de Recursos Hídricos - ProfÁgua, Projeto CAPES/ANA AUXPEN^o.2717/2015, e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná–UTFPR pelo apoio recebido.

O Homem é parte da natureza e a sua guerra contra a natureza é, inevitavelmente, uma guerra contra si mesmo (CARSON, 1962).

RESUMO

A barragem B1 do complexo da mina do Córrego do Feijão, em Brumadinho-MG, se rompeu em janeiro de 2019, provocando a morte de centenas de pessoas e animais, e causando danos incalculáveis ao meio ambiente. A pluma de rejeitos espalhou vários metais dissolvidos, tais como cromo e mercúrio, ao longo do rio Paraopeba, alcançando até o rio São Francisco. Devido ao potencial de bioacumulação nos organismos e biomagnificação na cadeia trófica, os metais são elementos perigosos ao meio ambiente e a população ribeirinha e, por isso, necessitam de acompanhamento e investigação de seus impactos. Dessa forma, o sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador pode ser usado para avaliar o potencial tóxico desses contaminantes no ecossistema. O presente estudo avaliou a toxicidade em sementes de *A. cepa* expostas a amostras sintéticas de cromo ($0,025$ e $2,47 \text{ mg.L}^{-1}$), mercúrio ($0,1$ e $4,23 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) e uma solução composta com os dois metais ($2,47 \text{ mgCr.L}^{-1}$ e $4,23 \text{ } \mu\text{gHg.L}^{-1}$). As concentrações foram selecionadas com base nos dados da legislação brasileira para rios classe 2 e nos relatórios de qualidade da água do rio Paraopeba, logo após o desastre. Os ensaios foram realizados em quadruplicatas e em ambiente com fotoperíodo e temperatura controlados. Os parâmetros de germinação e comprimento radicular foram avaliados durante 288h e o ciclo celular, as aberrações cromossômicas e as massas fresca e seca em 120h. Os resultados indicaram que os metais diminuem a taxa de germinação das sementes, interferem no ciclo celular e induzem aberrações cromossômicas, principalmente a solução composta com ambos os metais. Mesmo as menores concentrações, permitidas em legislação, causaram efeito citogenotóxico, evidenciando o elevado potencial de resposta do teste com *A. cepa* e a fragilidade da legislação brasileira em relação às concentrações permitidas e ao efeito sinérgico de misturas. Através desses resultados, pode-se inferir que a utilização da área afetada pela lama deve ser evitada ao máximo e o uso desse tipo de ensaio ecotoxicológico intensificado.

Palavras-chave: Rejeitos tóxicos. Citogenotoxicidade. Taxa de germinação. Aberrações cromossômicas.

ABSTRACT

The B1 dam of the Córrego do Feijão mine complex, in Brumadinho-MG, broke in January 2019, causing the death of hundreds of people and animals, and causing incalculable damage to the environment. The tailings plume spread several dissolved metals, such as chromium and mercury, along the Paraopeba River, reaching as far as the São Francisco River. Due to the potential for bioaccumulation in organisms and biomagnification in the food chain, metals are elements that are dangerous to the environment and the riverside population and, therefore, need monitoring and investigation of their impacts. Thus, the *Allium cepa* test system as a bioindicator can be used to assess the toxic potential of these contaminants in the ecosystem. The present study evaluated the toxicity in *A. cepa* seeds exposed to synthetic samples of chromium (0.025 and 2.47 mg.L⁻¹), mercury (0.1 and 4.23 µg.L⁻¹) and a compound solution with the two metals (2.47 mgCr.L⁻¹ and 4.23 µgHg.L⁻¹). Concentrations were selected based on data from Brazilian legislation for class 2 rivers and water quality reports from the Paraopeba River, shortly after the disaster. The tests were performed in quadruplicates and in an environment with controlled photoperiod and temperature. The germination parameters and root length were evaluated during 288h and the cell cycle, chromosomal aberrations and fresh and dry masses in 120h. The results indicated that the metals decrease the germination rate of the seeds, interfere in the cell cycle and induce chromosomal aberrations, mainly the compound solution with both metals. Even the smallest concentrations, permitted in legislation, caused cytogenotoxic effect, evidencing the high response potential of the test with *A. cepa* and the fragility of the Brazilian legislation in relation to the permitted concentrations and the synergistic effect of mixtures. Through these results, it can be inferred that the use of the area affected by the mud should be avoided as much as possible and the use of this type of ecotoxicological test intensified.

Keywords: Toxic waste. Cytogenotoxicity. Germination. Chromosomal aberrations.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Pontos de monitoramento da área atingida pela lama.....	24
Figura 2 – Taxa de germinação das sementes de <i>A. cepa</i> em relação ao tempo de exposição (A) e em relação aos grupos experimentais (B). F = resultado da ANOVA; p = probabilidade de aceitar a hipótese nula. As letras sobre as barras indicam a significância pelo teste de <i>post hoc</i> de Fisher.....	34
Figura 3 - Média \pm intervalo de confiança dos comprimentos das radículas de <i>A. cepa</i> em função dos grupos experimentais (Tratamentos) e do tempo de exposição (96h e 288h). As letras sobre as barras indicam a significância pelo teste de <i>post hoc</i> de Fisher.....	36
Figura 4 - Valores médios \pm intervalo de confiança da massa fresca e seca de <i>A. cepa</i> submetidos aos diferentes tratamentos.....	37
Figura 5 - Índice mitótico (IM) observado em <i>A. cepa</i> expostas aos diferentes tratamentos com cromo (Cr) e Mercúrio (Hg), bem como aos controles negativo e positivo (MMS).....	38
Figura 6 - Frequência percentual das fases do ciclo celular das plântulas de <i>A. cepa</i> submetidas aos diferentes tratamentos com cromo (Cr) e Mercúrio (Hg), bem como aos controles negativo e positivo (MMS). (Asterisco * = p < 0,05).....	39
Figura 7 - Aberrações cromossômicas em células de <i>A. cepa</i> após a exposição aos diferentes tratamentos com cromo (Cr) e Mercúrio (Hg), bem como aos controles negativo e positivo (MMS). a) pontes anafásicas, b) atraso cromossômico, indicadas pelas setas.....	40
Figura 8 - Índice de aberrações cromossômicas (IAC) observado em plântulas de <i>A. cepa</i> submetidas aos diferentes tratamentos com cromo (Cr) e Mercúrio (Hg), bem como aos controles negativo e positivo (MMS).....	40
Figura 9 - Média \pm desvio-padrão de cada aberração cromossômica (pontes anafásicas e quebras e atrasos cromossômicos) registrada para <i>A. cepa</i> submetido aos diferentes tratamentos com cromo (Cr) e Mercúrio (Hg), bem como aos controles negativo e positivo (MMS).....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos utilizados nos biensaíais com sementes de A. cepa.....	29
--	----

LISTA DE SIGLAS

ANA	Agência Nacional de Águas
ANM	Agência Nacional de Mineração
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
COPASA	Companhia de Saneamento do Estado de Minas Gerais
CPRM	Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais
IBAMA	Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IGAM	Instituto Mineiro de Gestão de Águas
SGB	Serviço Geológico do Brasil

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 GERAL	15
2.2 ESPECÍFICOS	15
3 JUSTIFICATIVA	16
4 REVISÃO DE LITERATURA	17
4.1 Implicações gerais do rompimento	17
4.2 Efeitos dos metais tóxicos nos organismos	18
4.3 Toxicidade do Cromo	19
4.4 Toxicidade do Mercúrio	21
4.5 Rede emergencial de monitoramento após o rompimento	22
4.6 Perspectivas Socioambientais	25
4.7 Sistema teste de <i>Allium cepa</i> de citogenotoxicidade	26
5 MATERIAIS E MÉTODOS	28
5.1 Delineamento Experimental	28
5.1.1 Preparo de Soluções	30
5.1.1.1 Solução de cromo	30
5.1.1.2 Solução de mercúrio	30
5.2 Parâmetros Fitotóxicos	31
5.3 Parâmetros Citogenotóxicos	31
5.4 Análise Estatística	32
5.5 Elaboração de um Boletim Informativo	32
5.6 Elaboração de uma Recomendação ao CONAMA 357/2005	32
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
6.1 Fitotoxicidade	34
6.2 Citogenotoxicidade	38
7 PRODUTO	43
7.1 Boletim Informativo	43
7.2 Recomendação à Resolução CONAMA 357/2005	43
8 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45
APÊNDICE A - Recomendação ao conama 357/2005	58
ANEXO A - Análise estatística dos resultados de cromo total no período de 2000 a 2018, em estações de monitoramento do rio paraopeba	61
ANEXO B - Análise estatística dos resultados de mercúrio total no período de 2000 a 2018, em estações de monitoramento do Rio Paraopeba	63

1 INTRODUÇÃO

A barragem B1 do complexo da mina do Córrego do Feijão, em Brumadinho-MG, se rompeu em janeiro de 2019, provocando a morte de centenas de pessoas e animais, causando danos incalculáveis ao meio ambiente. Esta estrutura era utilizada para contenção de rejeitos do processo de beneficiamento de minério de ferro da mineradora Vale S.A (IGAM, 2019 a), a qual continha partículas finas, como areia fina e lama, e metais dissolvidos provenientes da fase anteriormente sólida e dos reagentes usados no processo de beneficiamento (QUEIROZ et al., 2018).

O extravasamento deste conteúdo espalhou rejeitos ao longo de todo o Rio Paraopeba, alcançando inclusive a calha do Rio São Francisco, de modo que amplificou ainda mais o alcance dos contaminantes, causando danos à biota aquática e tornando a água imprópria para qualquer uso (IGAM, 2019 c). Desastre semelhante ocorreu em 2015 na Barragem de Fundão, pertencente a Samarco Mineração S.A – que também é controlada pela mineradora Vale S.A, em Mariana-MG, atingindo o Rio Doce, que levou a pluma de rejeitos até o ambiente marinho (IBAMA, 2015). Ambos os desastres causaram danos ambientais sem precedentes na história do Brasil, carreando, depositando, ressuspensando e integrando metais e outros contaminantes aos sistemas hídricos. Esse processo de longo prazo precisa ser investigado e monitorado para que a biota e as populações locais sejam resguardadas (THOMPSON et al., 2019).

Com o objetivo de avaliar e monitorar a qualidade da água após o desastre, a Agência Nacional de Águas (ANA), o Instituto Mineiro de Gestão de Águas (IGAM), a Companhia de Saneamento do Estado de Minas Gerais (COPASA) em conjunto com o Serviço Geológico do Brasil (SGB/CPRM) elaboraram um plano emergencial de monitoramento para a bacia do Rio Paraopeba. Nesse plano foram contemplados os parâmetros de qualidade da água e dos sedimentos, pontos estratégicos e frequência para a coleta, bem como definidas as atribuições de cada órgão envolvido. É importante ressaltar que, antes do rompimento da barragem, o trecho afetado já possuía vários pontos de monitoramento e relatórios com resultados disponíveis, o que possibilitou a comparação dos números da série histórica com o pós-desastre (IGAM, 2019 b). Os dados compilados desse monitoramento foram divulgados ao público em diversos boletins, revelando quantidades elevadas de metais perigosos, tais como o mercúrio (Hg) e o cromo (Cr).

Dada a necessidade de estudar o comportamento e a interação desses metais no ambiente, ensaios com organismos bioindicadores podem ser ferramentas importantes e, desta forma, utilizados como instrumentos de apoio nas tomadas de decisões dos gestores. Organismos de diversos grupos taxonômicos podem ser utilizados para esta finalidade, bem como os nativos ou exóticos de uma bacia (HOLT, MILLER, 2010). Neste caso, em particular, devido à natureza e amplitude do desastre e a escassez de espécies locais (alta mortalidade), a utilização de bioindicadores exóticos se mostra mais adequada. Além disso, é recomendável que a espécie escolhida seja sensível, de fácil manejo, tenha baixo custo operacional, fácil reprodução e grande aceitação na comunidade científica (MERCADO; CALEÑO, 2019). Neste sentido, a espécie *Allium cepa* (Linnaeus, 1753) - reino Plantae, família Liliaceae - se destaca (YEKEEN et al., 2017), sendo utilizada por diversos países em ensaios padrões para avaliação de toxicidade de contaminantes.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a toxicidade do cromo e mercúrio sobre sementes de *A. cepa* submetidas às concentrações encontradas no Rio Paraopeba, após o rompimento da barragem da mina Córrego do Feijão, em Brumadinho-MG.

2.2 Específicos

- Avaliar a taxa de germinação e o crescimento radicular (fitotoxicidade) de *A. cepa* submetidos ao cromo e ao mercúrio e a solução composta por ambos os metais;
- Analisar o índice mitótico e os danos citogenéticos em *A. cepa* expostos ao cromo e ao mercúrio e a solução composta por ambos os metais;
- Produzir um informativo circular divulgando os resultados e alertando a população e as autoridades locais dos riscos do uso do solo e da água contaminados pelo rejeito;
- Elaborar uma recomendação à Resolução CONAMA 357/2005 de inclusão de ensaios citogenotóxicos com *A. cepa* na água e no sedimento dos rios.

3 JUSTIFICATIVA

Antes do desastre, o Rio Paraopeba possuía rica biodiversidade (ALVES, 2007; MOLOZZI et al., 2013), a qual foi suprimida pelo rejeito logo após o rompimento da barragem (IBAMA, 2019). A turbidez e os sólidos em suspensão aumentaram drasticamente, bem como a mortalidade instantânea de um grande volume de peixes após o rompimento. A lama espalhada, rica em metais perigosos, sedimentou-se em alguns dias, porém sabe-se que o sedimento será constantemente revolvido pelo movimento das águas, causados por chuvas intensas, ações de dragagem e operações de barragens que possam ser realizadas (ROMÃO et al., 2019).

Ademais, os metais contidos na pluma de rejeito, que foram espalhados por centenas de quilômetros, têm grande potencial de se bioacumular e biomagnificar, podendo comprometer os processos ecossistêmicos na região e a viabilidade da biota e, por conseguinte, a saúde da população do entorno - que venha a ter contato direto ou indireto com o rio ou outro local afetado. Assim, é essencial a existência de ferramentas de avaliação de impactos da exposição a esses contaminantes, visto que há uma previsibilidade na legislação brasileira à realização de ensaios ecotoxicológicos nestes casos. O ensaio com *A. cepa* apresenta características favoráveis à normatização, assim como, a fácil execução, o baixo custo, e o uso já reconhecido em pesquisas em todo o mundo (PALMIERI et al., 2014).

Sabendo disso, o presente estudo buscou justamente testar essa premissa e averiguar pontos positivos e negativos do ensaio com sementes de *A. cepa*, expostas às concentrações realísticas de cromo e mercúrio. A partir disso, para garantir a segurança dos usuários propõe-se fazer uma recomendação de inclusão de testes citogenotóxicos com *A. cepa* à Resolução CONAMA 357/2005, tanto na água quanto nos sedimentos de corpos de água.

Além disso, é fundamental que a população tenha acesso a toda essa informação, com linguagem simples e clara e adaptada aos diversos tipos de públicos e faixas etárias. Essa atividade precisa ser constante e pensada em longo prazo, devido à característica persistente dos rejeitos. Diversas formas de estratégias educacionais podem ser adotadas, tal como o desenvolvimento de um informativo circular, que divulgue os resultados dos experimentos e alerte sobre os riscos do uso do solo e da água contaminados pelo rejeito.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Implicações gerais do rompimento

O rompimento da barragem B1 em Brumadinho provocou o maior desastre socioambiental da história do Brasil, espalhando aproximadamente 12 milhões de metros cúbicos de rejeito úmido de minério de ferro. A lama avançou rapidamente do ribeirão Ferro-Carvão para as instalações da empresa administradora, atingindo o Córrego do Feijão, onde várias propriedades rurais foram varridas. Logo em seguida, alcançou as propriedades do interior da cidade de Brumadinho, chegando até o Rio Paraopeba, importante tributário do rio São Francisco - causando a morte de mais de 250 pessoas (THOMPSON et al., 2019). Foram destruídos 269,84 ha de mata, sendo 133,27 ha de floresta tropical nativa e 70,65 ha de área de proteção permanente (APP), segundo o levantamento do IBAMA (2019).

O rejeito retido em barragens desse tipo geralmente tem granulometria variando de coloides a areia, e retém metais dissolvidos em concentrações potencialmente tóxicas, proveniente, seja do processo de extração de minério, ou pela mobilidade, disposição ou solubilização desses elementos no solo (GUILHERME et al., 2005).

Ao ser introduzido em um ecossistema aquático os metais tendem a decantar e conseqüentemente incorporar-se aos sedimentos nos leitos dos rios. Por esse motivo é rara a detecção desses elementos em águas superficiais. Após a decantação e agregação aos sedimentos, a quantidade de metais biodisponíveis depende de alguns fatores como a ressuspensão, podendo ser originada pela própria correnteza, pelo movimento de organismos agregados aos sedimentos, e de reações redox de associação ligante-suporte, com ácidos húmicos, óxidos de ferro e sulfetos metálicos. Mesmo que a concentração total do metal seja maior que a concentração biodisponível, essa dinâmica pode disponibilizar quantidades perigosas de metais tóxicos para os organismos (VOIGT, et al., 2016).

O efeito tóxico de metais sobre as plantas (organismos produtores) é observado pela alteração no crescimento e desenvolvimento, já que por serem imóveis, as raízes absorvem esses elementos que não metabolizados são modificados em formas mais toleráveis para o organismo. Devido a essa

característica, as plantas têm potencial para uso em biorremediação de áreas contaminadas (LABRA et al., 2006; PRADO et al., 2010).

4.2 Efeitos dos metais tóxicos nos organismos

Nos organismos vegetais, assim que absorvidos, os metais se ligam a sulfidrila de proteínas– que normalmente formam as ligações dissulfeto, responsáveis pela manutenção da sua estrutura tridimensional– inativando a sua função, rompendo a estrutura ou até mesmo deslocando algum elemento essencial, de modo a promover deficiência. Ao intervir dessa maneira, várias enzimas citoplasmáticas são inativadas (LASAT, 2002). A primeira estrutura afetada pelo contato com esses elementos é a membrana plasmática, a qual pode ter a sua estrutura básica alterada, principalmente em relação à permeabilidade, o que pode levar ao extravasamento da célula (ROMERO-PUERTAS, 2006).

Contudo, as células apresentam mecanismos de defesa e detoxificação celular, de modo a restabelecer a homeostase. Nesse processo, pode haver acúmulo de espécies reativas de oxigênio e inibição do sistema antioxidante, resultando em estresse oxidativo. Este, por sua vez, prejudica macromoléculas vitais da célula, como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, ocasionando a peroxidação de lipídios (aumento da permeabilidade), a inativação ou degradação de proteínas e efeitos mutagênicos ao DNA (HALL, 2002; SANTOS et al., 2011). Na literatura já foram relatados também danos à respiração mitocondrial e ao metabolismo de carboidratos (LABRA et al., 2006; PRADO et al., 2010).

O estresse oxidativo se dá pelo desbalanço entre as moléculas pró-oxidantes e o sistema antioxidante em favor do primeiro. As espécies reativas de oxigênio são: o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical superóxido (O_2^-), ou a hidroxila (OH^-), que em determinadas concentrações causam desequilíbrio e por consequência o estresse. Dessa forma, a presença de certos metais provoca a síntese de fitoquelatinas, diminuindo os níveis do sistema antioxidantes, constituído principalmente pela glutathione, (HALL, 2002; SANTOS et al., 2011) além de gerar as espécies reativas de oxigênio, como já relatado.

Por conseguinte, as enzimas que realizam a biossíntese dos pigmentos clorofila e carotenoides, e algumas enzimas do ciclo de Calvin podem ser inativadas,

e a condutância estomática reduzida, comprometendo a fotossíntese. Interferências na cadeia transportadora de elétrons e no metabolismo de macro e micronutrientes também são relatados na literatura (KÜPPER et al., 2007; SÁ et al., 2011).

Em animais e seres humanos a exposição a esses contaminantes ocorre tanto pelas vias respiratória e cutânea como pela via trófica. Esses elementos também causam estresse oxidativo em células animais, levando a contínuos processos inflamatórios em exposições prolongadas (LEITE et al., 2015). Nessas condições ocorrem anomalias nos componentes celulares, inclusive no DNA e nos seus mecanismos de reparo, gerando instabilidade genômica. O crescimento e reprodução celular por meio de vias de sinalização são paralisadas, e o desequilíbrio de oncogêneses e genes supressores de tumor também é observado. Essas ocorrências sintetizam o modo como alguns metais tendem a induzir a carcinogênese em humanos e animais (KOEDRITH, SEO, 2011).

Apesar da exposição a certos metais ter potencial de afetar qualquer órgão, estudos relatam uma incidência maior de problemas no rim e no sistema nervoso central, especialmente relacionados à contaminação de mercúrio, chumbo e cádmio (todos presentes na lama em Brumadinho). Desde os anos 80, estudos vêm apontando que a contaminação por metais representa elevado risco à saúde da população, porém alguns grupos etários e socioeconômicos são mais vulneráveis que outros (BERNARD, 2011; VÄNSKA, et al. 2019).

Os danos ao sistema nervoso central associado a metais podem levar a doenças como depressão, Parkinson, Alzheimer e autismo. Desordens no trato gastrointestinal, sistema cardiovascular, hematopoiético, também já foram relatadas (SHARMA et al, 2014), bem como alterações no processo reprodutivo e no desenvolvimento embrionário (ATSDR, 2012 a b).

4.3 Toxicidade do cromo

O cromo é um elemento químico amplamente disponível na natureza. Sua forma elementar não é encontrada *in natura*, apenas combinada com outros elementos formando compostos. Esse elemento é relativamente abundante na crosta terrestre, e a extração para uso comercial é realizada principalmente da cromita $\text{FeO} \cdot \text{Cr}_2\text{O}_3$, que é economicamente mais viável que outros compostos. O cromo possui estados de oxidação que variam de Cr^{-2} a Cr^{+6} , porém o divalente

(Cr⁺²), o trivalente (Cr⁺³), e o hexavalente (Cr⁺⁶) são encontrados mais comumente. A forma divalente tende a ser menos estável, por ser oxidada para forma trivalente. Portanto, o estado trivalente e o hexavalente têm maior importância ecológica, sendo mais estáveis no meio ambiente. No ciclo do cromo a forma trivalente pode ser oxidada para a hexavalente por óxidos de manganês de valência maior, já a redução do hexavalente para o trivalente é facilitada por compostos orgânicos, Fe⁺² e Sn⁺² (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1974).

Esses dois estados do cromo diferem tanto nas propriedades físico-químicas como na reatividade biológica. O cromo hexavalente nas formas iônicas Cr₂O₇²⁻, Cr₂O₇²⁻ e CrO₄²⁻ são biodisponíveis e altamente móveis no meio ambiente, além de serem letais para a maioria dos organismos (LI et al., 2013). Por possuir a capacidade de atravessar membranas celulares facilmente, pode degradar proteínas e causar danos ao DNA em plantas, animais e seres humanos (OLIVEIRA, 2012). Enquanto que o trivalente na forma de óxido, hidróxido ou sulfato é menos solúvel, relativamente imóvel e considerado um oligoelemento necessário para o metabolismo de glicose, lipídios e aminoácidos nos organismos (MORALES-BARRERA et al., 2008).

Várias doenças são reconhecidamente causadas pela exposição ao cromo hexavalente, a “Agency for Toxic Substances and Disease Registry” (ATSDR, 2012 a) descreve esse elemento como muito perigoso para a saúde humana, podendo provocar lesões no trato respiratório, problemas hepáticos, imunológicos, neurológicos, reprodutivos, diversos tipos de câncer e morte.

Hossain et al. (2012) relatam que em células vegetais através de agentes redutores, como o complexo enzimático NADPH, o FADH₂ e várias pentoses, o Cr⁺⁶ é convertido em Cr⁺³ que é menos tóxico. Nesse processo os radicais livres liberados causam danos para a planta. Nesse sentido, vários estudos têm sido realizados, com algumas espécies mais resistentes a essa toxicidade, com o objetivo de criar modelos de fitorremediação (TAVARES, OLIVEIRA, SALGADO, 2013).

Alguns casos de contaminação de cromo ocorreram ao longo da história, como em Mutare no Zimbábue em 2012, e em Hinkley - uma pequena vila na Califórnia, EUA - entre os anos 1952 e 1966 são os mais conhecidos. Em Mutare as empresas mineradoras iniciaram a busca por diamantes em 2009, o que causou a poluição extrema do Rio Save, que passou a ser considerado impróprio para

qualquer uso, por apresentar concentrações muito altas de cromo e níquel. Em Hinkley a empresa PG&E utilizava o cromo hexavalente na água que resfriava os motores compressores de gás para evitar a oxidação dos mesmos. Muitos casos de complicações na saúde da população foram relatados pelo uso da água contaminada na região (AHUJA, 2019).

4.4 Toxicidade do Mercúrio

O mercúrio é encontrado naturalmente no meio ambiente, oriundo de atividades geotérmicas ou de rochas intemperizadas (RIAZ et al., 2016). Sua forma elementar é líquida em temperatura ambiente, mas pode estar associado ao cloro, enxofre e o oxigênio na forma inorgânica, formando sais. Quando esse metal se combina com o carbono - forma orgânica - pode formar um número potencialmente grande de compostos, entretanto o mais comum no ambiente é o metilmercúrio (CH_3Hg^+), considerado muito prejudicial para os organismos sendo essa a forma mais tóxica (CROWE et al., 2016).

Apesar de o mercúrio ser apontado como extremamente tóxico, o uso inconsequente em diversas atividades é realizado em larga escala em todo o mundo. Estima-se que cerca de 80% do mercúrio introduzido no ambiente seja liberado no ar, como na mineração, combustão de combustíveis fósseis, fundição e incineração de resíduos sólidos. Cerca de 15% é liberado no solo a partir do uso de fertilizantes, fungicidas e resíduos sólidos (que contenham baterias, termômetros e interruptores elétricos, por exemplo), e os 5% restantes liberados através de águas residuais de indústrias (ATSDR, 2012 b).

Ainda que a maior parte da contaminação por mercúrio seja em sua forma metálica e inorgânica, vários microrganismos como bactérias e fungos são capazes de converter essas formas em metilmercúrio. Esse composto, uma vez liberado no solo ou na água, pode se prender a outras partículas e permanecer por longos períodos, podendo ser absorvidos por organismos de diversos níveis tróficos. Desse modo, também é um elemento que apresenta características que tendem a bioacumulação e biomagnificação (GUTIÉRREZ-MOSQUERA et al., 2017; EQANI et al., 2016).

Shahid et al. (2019) evidenciam diversos estudos relatando a toxicidade do mercúrio para plantas em concentrações que excedem 5 mg/Kg. Quando no estado de oxidação Hg^{+2} a toxicidade em espécies vegetais é maior, já em estado elementar, tem pouca afinidade para que seja absorvido pelas células. A toxicidade induzida em plantas pode ser observada pela inibição do crescimento, desequilíbrio de elementos, fotossíntese comprometida, estresse oxidativo, peroxidação lipídica e genotoxicidade.

O metilmercúrio é facilmente absorvido pelas células animais, e apesar do mercúrio elementar e inorgânico não possuem as mesmas características que facilitam sua entrada, ao serem absorvidos são convertidos em metilmercúrio imediatamente, podendo causar danos à saúde humana como distúrbios neurológicos, insuficiência renal, tremores, anomalias reprodutivas e morte (HSIAO, ULLRICH, TANTON, 2011; ATSDR, 2012 b).

O caso mais conhecido de contaminação por mercúrio aconteceu em Minamata (província de Kumamoto, Japão). Durante muitos anos, a ChissoMinamatafactory produziu metilmercúrio como um subproduto do mercúrio inorgânico, que foi usado como catalisador no processo de produção de acetaldeído. Esse subproduto foi dispensado diretamente na baía de Minamata. Anos mais tarde, foram observadas mortandades de peixes, moluscos e aves, porém não foram associadas à contaminação. Em 1956 o primeiro caso de contaminação humana foi registrado. Cerca de 700 pessoas morreram em decorrência do consumo de animais contaminados. No sedimento dragado da baía contaminada foram detectadas concentrações superiores a 25 $\mu g/g$ de mercúrio total (SAKAMOTO et al., 2019).

4.5 Rede emergencial de monitoramento após o rompimento

Logo após o rompimento da barragem, o IGAM (Instituto Mineiro de Gestão das Águas), COPASA (Companhia de Saneamento do Estado de Minas Gerais), ANA (Agência Nacional de Águas), e o CPRM (Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais) uniram esforços para instituir uma rede integrada de monitoramento da qualidade de águas e sedimentos. Os pontos monitorados se estenderam do trecho diretamente afetado pelo rompimento da barragem até o reservatório da usina hidrelétrica de Três Marias. Essas organizações realizavam um

monitoramento rotineiro na região antes do desastre, no entanto, passaram a intensificar a frequência e adicionaram pontos emergenciais, somando 47 no total (Figura 1).

O monitoramento emergencial dos pontos ao longo do Rio Paraopeba foi iniciado no dia seguinte ao evento, e os resultados foram divulgados diariamente, exceto a série de metais que requeriam 4 dias. Os limites de referência estabelecidos nos boletins consideraram rios de Classe 2 (classificação do rio Paraopeba), tal como o estabelecido na Resolução CONAMA nº 357/2005 (BRASIL,2005) que classifica corpos de água de acordo com o uso preponderante, atual e futuro, determina diretrizes ambientais para o enquadramento, e estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes.

Os limites máximos estabelecidos pela Resolução CONAMA nº357/2005 para rios Classe 2 e pela Portaria da Consolidação nº 5 do Ministério da Saúde, que versa sobre potabilidade da água, para o cromo é de $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$. Para o mercúrio, os limites estabelecidos na Resolução nº 357/2005 é de $0,2 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ em corpos de água classe 2 e na Portaria de Consolidação nº 5 é de $1 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$.

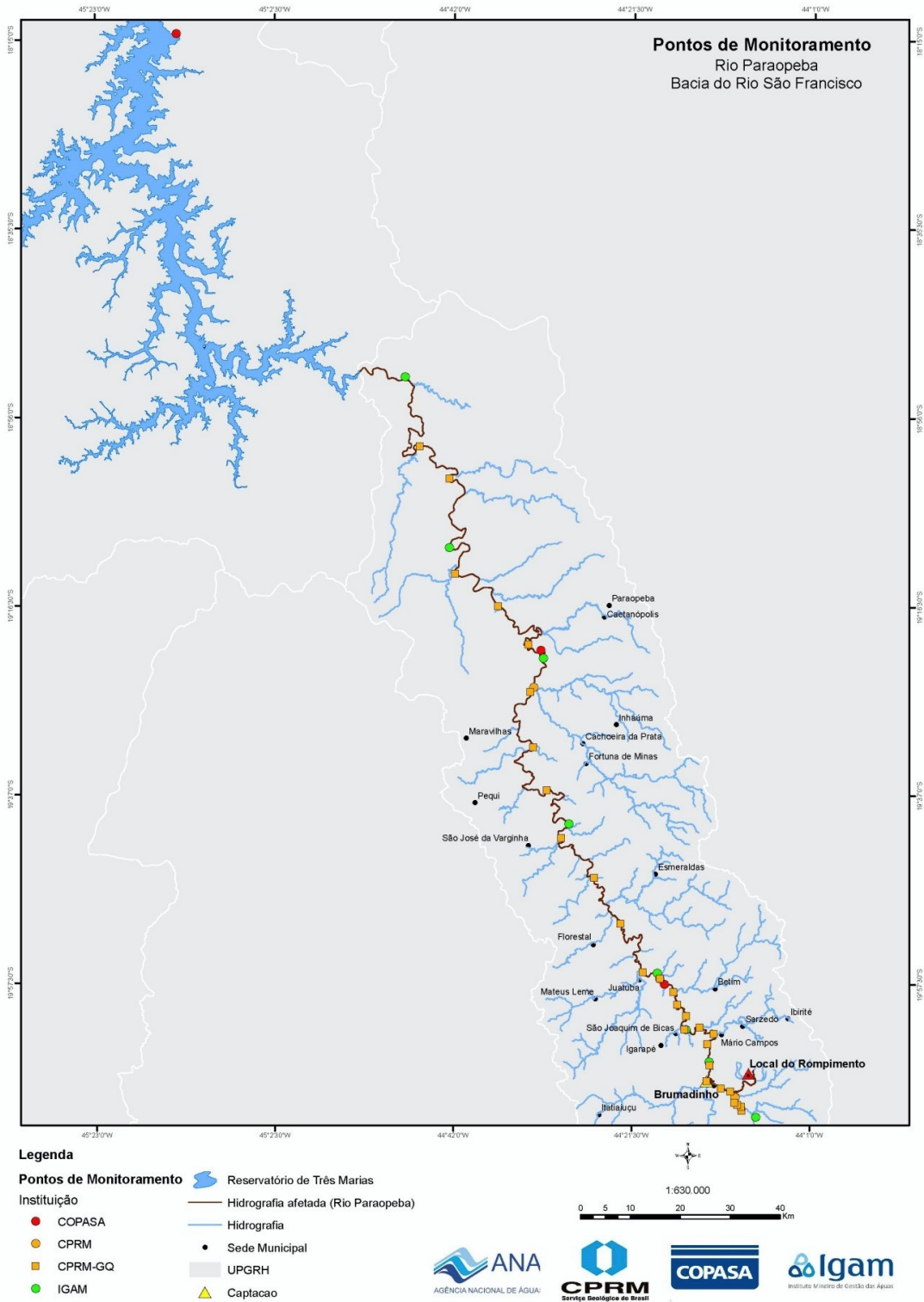
Complementando e alterando parcialmente a resolução CONAMA nº357/2005, a Resolução CONAMA 430/2011 dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, que devem obedecer aos parâmetros exigidos pela mesma. Dentre esses padrões são permitidos até $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ de cromo hexavalente, 1 mg.L^{-1} de cromo trivalente e $0,01 \text{ mg.L}^{-1}$ de mercúrio total. Ambas as resoluções preveem ensaios ecotoxicológicos para verificação de efeitos tóxicos aos organismos.

A série histórica disponibilizada pelo IGAM (2019), com dados dos anos 2000 a 2018, de oito pontos amostrais do Rio Paraopeba, monitorados regularmente, sendo que um ponto se localiza a montante do trecho impactado e os outros a jusante, mostram que para o mercúrio não havia nenhum registro de violação ao limite estabelecido em legislação. Já analisando o cromo algumas raras ocorrências de extrapolação de limites foram registradas.

No entanto, após o rompimento o cromo, o mercúrio e outros metais perigosos foram detectados em concentrações que excedem muito os limites estabelecidos nas legislações. A concentração de cromo chegou a ultrapassar 50 vezes esse valor – de $2,47 \text{ mg.L}^{-1}$, no ponto de monitoramento na captação da COPASA em Brumadinho - e o mercúrio 20 vezes – de $4,23 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, no ponto de

monitoramento 5 km a jusante da captação da COPASA em Brumadinho (IGAM, 2019 c).

Figura 1- Pontos de monitoramento da área atingida pela lama.



Fonte: IGAM (2019) c.

4.6 Perspectivas Socioambientais

Os impactos socioambientais causados pelo rompimento da barragem permanecerão evidentes em longo prazo. A estimativa do número de vítimas diretamente atingidas pela tragédia, segundo Romão et al. (2019), é de 3485, cerca de 1090 domicílios, correspondente a 10% da população de Brumadinho. Estendendo para os 18 municípios afetados – em 250 km - se observado 500 metros de raio, 147 comunidades representadas por indígenas, silvicultores, pescadores e quilombolas, foram atingidas diretamente. Se o raio for aumentado em 1000 metros esse número aumenta para 424 comunidades.

Além do grande número de mortes e desaparecidos, outros danos de contexto amplo devem ser discutidos e remediados com sensibilidade, como o impacto socioeconômico, visto que o solo e os recursos hídricos foram contaminados pelo rejeito. Somam-se a isso, os incontáveis prejuízos à saúde da população, seja pelo trauma psicológico ou pelos efeitos do contato direto com o rejeito, através da propagação de doenças endêmicas, tais como a febre amarela e a esquistossomose, pelo aumento do risco de doenças deletérias ou ainda pelo impacto no saneamento da região (ROMÃO et al., 2019).

A alta de preços e o aumento da demanda por *commodities* de mineração nos últimos anos estão intimamente ligados ao aumento de desastres causados por rejeito de mineração (DAVIES; MARTIN, 2009). O crescente número de doenças e desastres envolvendo as barragens de contenção deverá continuar, já que novas tecnologias facilitam a mineração em reservas ainda menores, produzindo maiores quantidades de rejeitos (BOWKER; CHAMBERS, 2015).

Dada a situação, e a urgência do desenvolvimento de sistemas regulatórios mais eficientes, para que essas tragédias não se repitam, a ANM (Agência Nacional de Mineração) determinou através da Resolução nº 13, de 8 de agosto de 2019, a proibição de novas barragens construídas pelo método de alteamento a “montante” (como a de Mariana e de Brumadinho), e estabeleceu prazos para outras ações como o descomissionamento progressivo dessas estruturas (ANM, 2019).

Contudo, após a tragédia de Brumadinho algumas ações são imprescindíveis para abrandar os danos causados, visto que nunca poderão ser

compensados. O monitoramento adequado da qualidade do solo e recursos hídricos - bem como o acesso à informação sobre o uso desses recursos após o desastre - e subsídio social para as pessoas atingidas, que devem ser assegurados. Nesse contexto, sendo a educação um instrumento de construção de conhecimento, de habilidades, e comportamentos indispensáveis a resiliência da comunidade em geral em situações de desastres (CAMPOS et al. 2017), a pauta da educação ambiental deve ser debatida e intervenções a respeito devem ser efetivadas na comunidade.

4.7 Sistema teste de *Allium cepa* para avaliação de citogenotoxicidade

Desenvolvido por Levan (1938) e adaptado para análises de monitoramento ambiental por Fiskesjö (1985) o sistema teste de *A. cepa* vem sendo utilizado para investigar impactos de diversas substâncias tóxicas na homeostase do metabolismo celular, seja de substâncias isoladas ou compostas (PALMIERI et al., 2014; YEKEEN et al., 2017).

A germinação da semente de *A. cepa* é do tipo epígea – ocorre o alongamento do hipocótilo elevando os cotilédones acima do solo – e no início desse processo a semente absorve água e aumenta seu peso, e concomitantemente, ativa seu metabolismo. Assim que a raiz primária emerge, o transporte de nutrientes e outros elementos obtidos do meio, inclusive metais potencialmente perigosos passa a ocorrer (MENDES, 2008).

Fiskesjö (1988) descreveu os efeitos de metais em teste de *Allium cepa* e concluiu que são altamente tóxicos. Através da interrupção de reações fotoquímicas, ocorre o impedimento da transpiração celular, bloqueando a captação do transporte de nutrientes e induzindo o estresse oxidativo. Como efeitos colaterais, a presença desses metais causa genotoxicidade e impede o crescimento das plantas (CALGAROTO, 2009).

A semelhança na morfologia cromossômica (FIRBAS, AMON, 2014; PRAJITHA, THOPPIL, 2016) e a correlação existente entre células de *A. cepa* e células de mamíferos (MOURA, 2016; GRANT, 1982), é uma das vantagens do uso deste teste. O meristema radicular repleto de células em divisão facilita o reconhecimento dos efeitos nas células e o número reduzido de cromossomos ($2n = 16$) facilita a avaliação de efeitos em escala cromossômica após a exposição a

elementos tóxicos. A fácil execução e o baixo custo do ensaio também são benefícios para a escolha desse bioindicador (MERCADO; CALEÑO, 2019). Além disso, o uso desse ensaio para o monitoramento ambiental de citotoxicidade e genotoxicidade é validado pela UNEP (United Nations Environment Program) e pelo Programa Internacional sobre segurança química (IPCS, OMS) (CABRERA; RODRIGUES, 1999).

Dessa forma, o teste pode ser realizado com o bulbo, ou com a semente, nesse caso, além dos parâmetros macroscópicos de crescimento e massa da raiz, ainda pode ser avaliada a taxa de germinação das sementes expostas ao contaminante de interesse. Com relação aos parâmetros microscópicos é possível avaliar o índice mitótico e anormalidades nas divisões celulares (SHAHID et al. 2019).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Delineamento Experimental

Os ensaios foram conduzidos entre os meses de junho e agosto de 2020 no laboratório de análise de sementes do Laboratório Acqua Sollus de Campo Mourão/PR, o qual atua há alguns anos no ramo de análises ambientais e agronômicas e dispõe da estrutura e insumos para os experimentos.

Para a realização do bioensaio foram selecionados dois metais pesados (cromo-Cr e mercúrio-Hg), em duas concentrações distintas cada, bem como uma solução composta envolvendo as maiores concentrações de ambos os metais. As concentrações foram estabelecidas com base nos valores estabelecidos na resolução CONAMA nº 357/2005 para rios classe 2 e também considerando os valores encontrados no rio Paraopeba, após o rompimento da barragem de Brumadinho-MG. Adicionalmente, foram estabelecidos os controles negativo e positivo, conforme pode ser observado em detalhes na tabela 1.

A escolha destes metais para a realização dos bioensaios ocorreu por apresentarem elevado potencial de toxicidade (SHARMA et al., 2014) e concentrações muito acima do permitido pela legislação no rio Paraopeba, em Brumadinho-MG, após o rompimento da barragem da Vale S/A.

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos utilizados nos bioensaios com sementes de *A. cepa*.

Grupo	Substância	Concentrações	Referência
1	Água purificada	0	Controle negativo, conforme Silva et al. (2013).
2	Cromo	0,025 mg.L ⁻¹	Metade da concentração máxima permitida para rios Classe 2 (CONAMA nº 357/2005).
3	Cromo	2,47 mg.L ⁻¹	Concentração mais alta encontrada no rio Paraopeba após o rompimento da barragem de Brumadinho (IGAM, 2019 c).
4	Mercúrio	0,10 µg.L ⁻¹	Metade da concentração máxima permitida para rios Classe 2 (CONAMA nº 357/2005).
5	Mercúrio	4,23 µg.L ⁻¹	Concentração mais alta encontrada no rio Paraopeba após o rompimento da barragem de Brumadinho (IGAM, 2019 c).
6	Cromo + Mercúrio	Cr: 2,47 mg.L ⁻¹ + Hg: 4,23 µg.L ⁻¹	Solução composta pelas concentrações mais altas de cromo e mercúrio encontradas no rio Paraopeba após o rompimento da barragem de Brumadinho (IGAM, 2019 c).
7	Metil Metano Sulfonato (MMS)	10 mg.L ⁻¹	Controle positivo, conforme Silva et al. (2013).

Fonte: Autoria própria (2020).

As sementes utilizadas foram de *A. cepa* L. cv. Baia Periforme (Isla[®]) sem adição de reagentes químicos no envase, para que não houvesse interferência nos resultados.

A metodologia de incubação utilizada foi baseada no procedimento proposto por Fiskesjö (1985) e Fernandes, Mazzeo e Marin-Morales (2007), com adaptações. Em placas de Petri, previamente autoclavadas e forradas com duas camadas de papel germitest, foram pipetados 3 mL das soluções teste e dispostas 20 sementes por placa, sendo realizadas 4 repetições por tratamento (quadruplicatas). Para validação do bioensaio e comparação com os tratamentos contendo metais foram utilizados tanto o controle negativo, em que as sementes foram submetidas somente

a água purificada, como o controle positivo, no qual as sementes foram expostas a uma solução metil metanosulfonato (MMS) a 10 mg.L^{-1} . O MMS é amplamente utilizado como controle em modelos experimentais por ser um indutor de dano genético, através da modificação das bases adenina e guanina, induzindo ao erro o pareamento e impedindo a replicação do DNA (LUNDIN et al., 2005).

5.1.1 Preparo de Soluções

A solução de cromo foi obtida a partir de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) e de mercúrio a partir de cloreto de mercúrio (HgCl_2) (DE COEN; JANSSEN, 1997; BERTOLETTI, 2009), realizando-se os cálculos proporcionais para estabelecer a concentração correta apenas dos metais.

5.1.1.1 Solução de cromo sintético

Primeiramente foi feito uma solução estoque de cromo 100 mg.L^{-1} a partir de $0,2829 \text{ g}$ do reagente dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) grau P.A, previamente seco em estufa a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ por 3 horas. A partir da solução estoque preparou-se 1 L de solução de cromo $0,025 \text{ mg.L}^{-1}$ e $2,47 \text{ mg.L}^{-1}$, por meio da diluição com água destilada.

Para a realização dos cálculos utilizou-se os valores da massa molar (MM) do $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ($294,18 \text{ g. mol}^{-1}$) e do Cr^{6+} ($51,99 \text{ g. mol}^{-1}$).

5.1.1.2 Solução de mercúrio sintético

Inicialmente, preparou-se uma solução estoque de mercúrio de 100 mg.L^{-1} pela dissolução de $0,1353 \text{ g}$ de cloreto de mercúrio (HgCl_2) em 1 L de água. Posteriormente, pela solução estoque preparou-se uma solução de Mercúrio de $4,23 \text{ } \mu\text{g. L}^{-1}$ e a partir desta uma de $0,1 \text{ } \mu\text{g. L}^{-1}$.

Para a realização dos cálculos utilizou-se os valores da massa molar (MM) do HgCl_2 ($271,50 \text{ g. mol}^{-1}$) e do Hg^{2+} ($200,59 \text{ g. mol}^{-1}$).

5.2 Parâmetros Fitotóxicos

Após a exposição aos tratamentos, as placas foram incubadas em estufa BOD a 25°C e fotoperíodo de 12h. Para analisar a fitotoxicidade foram analisadas a taxa de germinação, o crescimento de radícula (em milímetros – mm) e massa fresca e seca, em gramas (g). Para estabelecer a taxa de germinação foi realizada a contagem de sementes germinadas a cada 24 h, iniciando a partir de 72h e finalizando em 288h. Considerou-se germinadas as sementes que apresentaram protrusão da radícula de no mínimo 1 mm. Para avaliar o crescimento radicular, 5 sementes de cada placa que haviam germinado foram selecionadas aleatoriamente, e suas radículas foram medidas com paquímetro universal após 96h e 288h de incubação.

As análises de massa fresca e seca foram realizadas em outra fase do experimento, utilizando-se das placas em que se realizou os ensaios citogenotóxicos. Foram selecionadas aleatoriamente 5 radículas de cada placa - com 120h de incubação – para o registro da massa fresca, colocando-as em cadinhos (com peso previamente registrado) e pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001 g. Em seguida, foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar a 60°C até peso constante, e pesadas novamente para consolidar a massa seca.

5.3 Parâmetros Citogenotóxicos

Após a exposição aos tratamentos, as placas foram incubadas em estufa BOD a 25°C, fotoperíodo de 12h durante 120h. As análises citogenéticas foram realizadas conforme o procedimento descrito por Guerra e Souza (2002). Para a avaliação das fases do ciclo celular e suas anormalidades e determinação dos índices mitótico (IM) e das aberrações cromossômicas (IAC), 10 radículas de cada placa foram aleatoriamente coletadas e fixadas em solução Carnoy (álcool etílico/ácido acético 3:1 v/v) após 120 horas de exposição. A hidrólise foi realizada com HCL 1 N a 60°C, estabilizada em banho termostático, respeitando o intervalo de 8 a 11 minutos, para não danificar o material. A coloração foi realizada com carmim acético 2%. A avaliação das lâminas foi realizada às cegas por meio de microscopia de luz, com aumento de 40X, sendo analisadas 4000 células por placa.

Na análise das lâminas foram quantificadas as células em cada fase do ciclo celular (intérfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase). A partir disso se estabeleceu o índice mitótico (IM), o qual foi calculado através da equação 1:

$$IM = \frac{\text{Número de células em divisão}}{\text{Número de células avaliadas}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Nas células mitóticas foram observadas e quantificadas as aberrações cromossômicas, permitindo o cálculo do índice de aberrações cromossômicas (IAC) (equação 2):

$$IAC = \frac{\text{Número de células com aberrações cromossômicas}}{\text{Número de células avaliadas}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

5.4 Análise estatística

As variáveis dependentes deste estudo foram previamente checadas pelas análises dos pressupostos de normalidade e homogeneidade das variâncias a partir do teste de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Para os dados de germinação e comprimento radicular foi aplicado o protocolo ANOVA bifatorial, seguido pelo teste *post hoc* de Fisher. No caso da germinação aplicou-se a ANOVA de medidas repetidas. As fases do ciclo celular foram comparadas pelo teste de contingência do qui-quadrado, visando estabelecer algum tipo de associação entre as frequências do ciclo com os tratamentos. Os dados de IM, IAC e massa fresca e seca foram submetidos à ANOVA de uma via, seguido do teste *post hoc* de Fisher. Uma PERMANOVA de uma via foi usada para avaliar a relação de todas as aberrações cromossômicas encontradas com os grupos experimentais. Todas as análises foram realizadas ao nível de significância de 5%.

5.5 Elaboração de um Boletim Informativo

Um boletim informativo foi criado utilizando-se de linguagem acessível, abordando os riscos associados ao uso da água e solos contaminados. Os dados

produzidos por essa pesquisa, foram utilizados para referenciar o informativo, destinado à população afetada pelo desastre de Brumadinho.

5.6 Elaboração de uma Recomendação à Resolução CONAMA 357/2005

Uma recomendação de uso de ensaios citogenéticos com *A. cepa* foi elaborada para casos que envolverem a contaminação de moléculas com potencial mutagênico, tal como observado nos recentes desastres relacionados à exploração de minérios no Brasil. Essa recomendação estará em conformidade com a Resolução CONAMA nº 357/2005, visto que é previsto a utilização de ensaios ecotoxicológicos em casos que podem causar danos aos seres vivos.

A recomendação foi elaborada a partir dos resultados técnicos obtidos no presente estudo e em outras referências bibliográficas, de modo a assegurar a qualidade de corpos d'água e os critérios de biossegurança para a população.

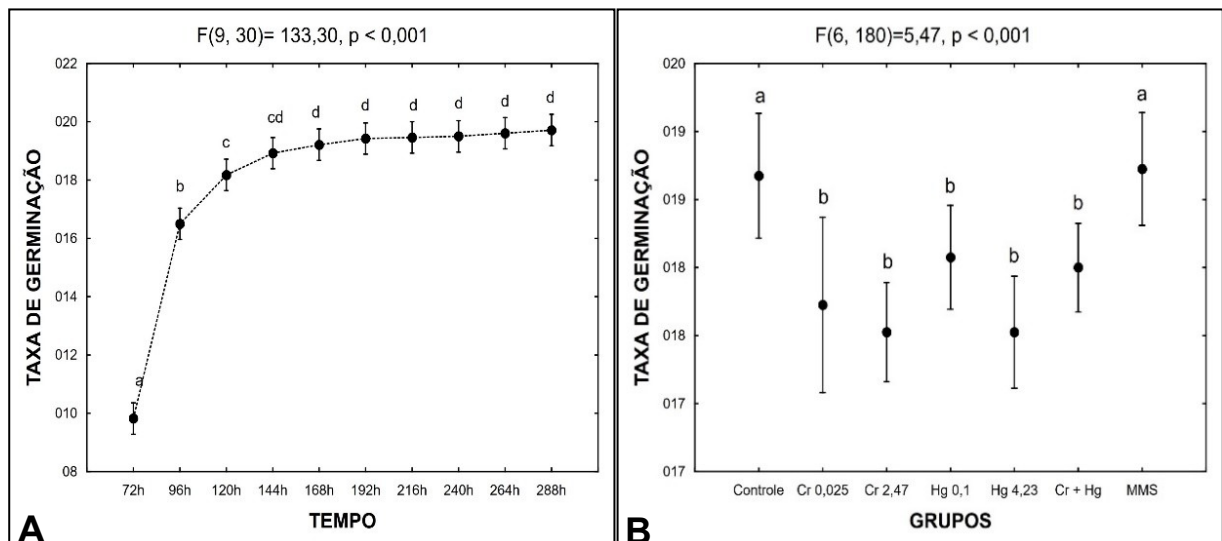
A minuta da recomendação foi elaborada com base no manual de elaboração de atos administrativos (BRASIL, 2017).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Fitotoxicidade

A taxa de germinação foi influenciada de forma significativa pelos grupos experimentais, sendo maior nos grupos controle (negativo e positivo) e menor nos grupos tratados, independente do metal, da concentração e/ou mistura (Figura 2). Além disso, observou-se um incremento significativo progressivo na germinação das sementes ao longo do tempo de exposição, sendo que, em média, metade das sementes germinaram após 72 horas e quase 100% após 144 horas, independente do grupo. Ainda, cabe ressaltar que não houve interação entre o grupo experimental e o tempo de exposição na resposta da taxa de germinação ($F_{54,180} = 0,60$; $p = 0,98$).

Figura 2 - Taxa de germinação das sementes de *A. cepa* em relação ao tempo de exposição (A) e em relação aos grupos experimentais (B). F = resultado da ANOVA; p = probabilidade de aceitar a hipótese nula. As letras sobre as barras indicam a significância pelo teste de *post hoc* de Fisher.



Fonte: Autoria própria (2020).

A diminuição da taxa de germinação de *A. cepa*, submetidas ao cromo e mercúrio, corroboram com resultados de Mendes (2008), onde concentrações significativamente maiores de cromo, entre 50 a 300 mg.L⁻¹, e de mercúrio 0,5 a 2,5 mg. L⁻¹, foram testadas, e causaram gradualmente a inibição da germinação, conforme as concentrações aumentavam. Outras espécies vegetais também

apresentaram resultados similares. Em estudos com sementes de *Raphanus sativus* L. (rabanete) expostas em solução com concentração de 0 a 25 mg.L⁻¹ de Cr, Prakash et al. (2004) também chegaram a conclusão de que esse metal diminui a germinação das sementes. Além destes, a germinação das sementes de *Oryza sativa* (arroz) foi reduzida ao ser exposta a concentrações de cromo (SHARMA, et al., 2016; PATRA; SHARMA, 2000), bem como *Triticuma estivum* (trigo) (DOTANIYA et al., 2014), *Avena sativa* (aveia) (LOPEZ-LUNA et al., 2009), *Echinochloa colona* (capim jaú) (ROUT et al., 2000), e *Eruca sativa* (rúcula) (KAMRAN et al., 2017).

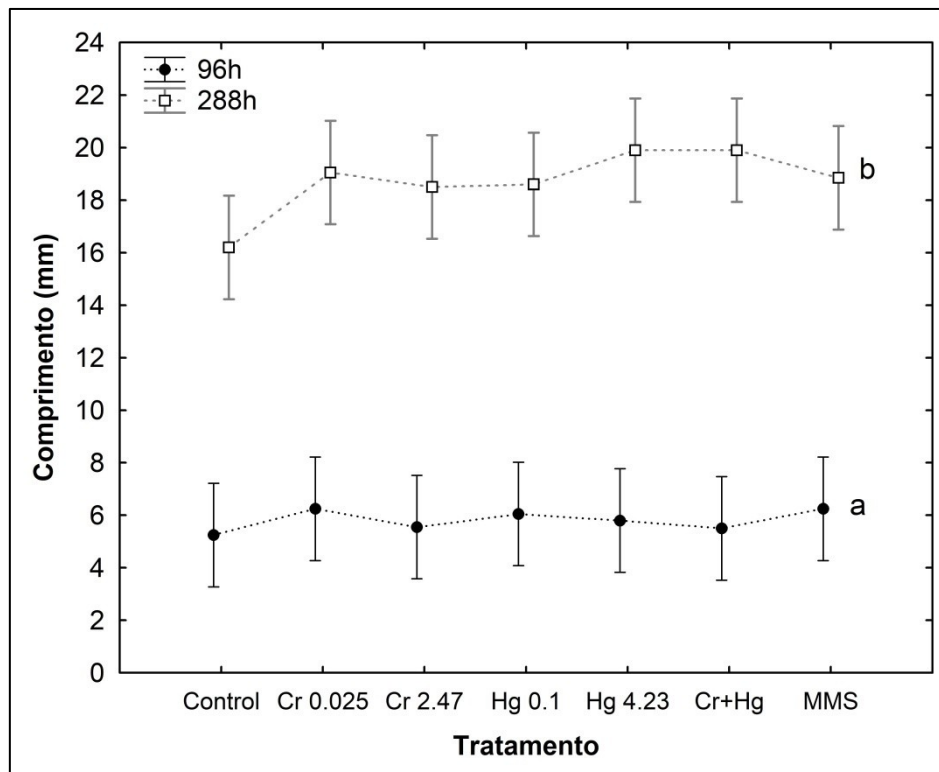
Estudos que avaliaram a capacidade do mercúrio de atuar como fator limitante da germinação também chegaram a resultados semelhantes, como nas espécies *Triticuma estivum* (trigo), e *Oryza sativa* (arroz) (PATRA; SHARMA, 2000). Deste modo, a interferência na taxa de germinação de *A. cepa* observada no presente estudo, mesmo em concentrações permitidas pela legislação brasileira, demonstra a suscetibilidade das células a esses metais, e evidencia a gravidade das consequências do rompimento da barragem de Brumadinho.

A germinação é um processo muito sensível na fisiologia das plantas, portanto quando há contato com metais tóxicos através do tegumento da semente, esses metais podem causar estresse oxidativo, interferindo na atividade da α e β amilase, responsáveis pela hidrólise do amido que possibilita o fornecimento de açúcar para a germinação do embrião (ZIED, 2001; HARGER, 1982). Dua e Sawhney (1991) em um experimento com sementes de ervilha expostas ao Cr concluíram que esse metal interfere na atividade de enzimas hidrolíticas (α e β amilase, ribonuclease e fitase), na mobilização de amido, RNA e fitina durante a germinação. Conseqüentemente, a atividade respiratória da semente fica comprometida, devido à restrição de glicose causada pela diminuição da atividade enzimática da α e β amilase, maltase e invertase. A diminuição da germinação causada pelo Hg também está associada a alterações na função enzimática, estrutura das proteínas, transporte de cálcio, inibição do transporte de glicose. Essas condições inibitórias estão associadas a ligação do Hg ao radical hidroxila nos aminoácidos (SHARMA, 1985; GARCIA, REYES, 2001; PATRA et al., 2004)

O comprimento radicular foi influenciado de forma significativa somente pelo tempo de exposição, sendo observado radículas maiores em 288 horas e menores em 96 horas ($F_{1,48} = 612,04$; $p < 0,001$), independente do grupo (Figura 3). Ao avaliar

o comprimento das radículas entre os tratamentos não se identificou diferenças significativas, em nenhum dos tempos. Também não se observou interação entre os fatores “tratamento” e “tempo de exposição” ($F_{6,48} = 0,70$; $p = 0,67$).

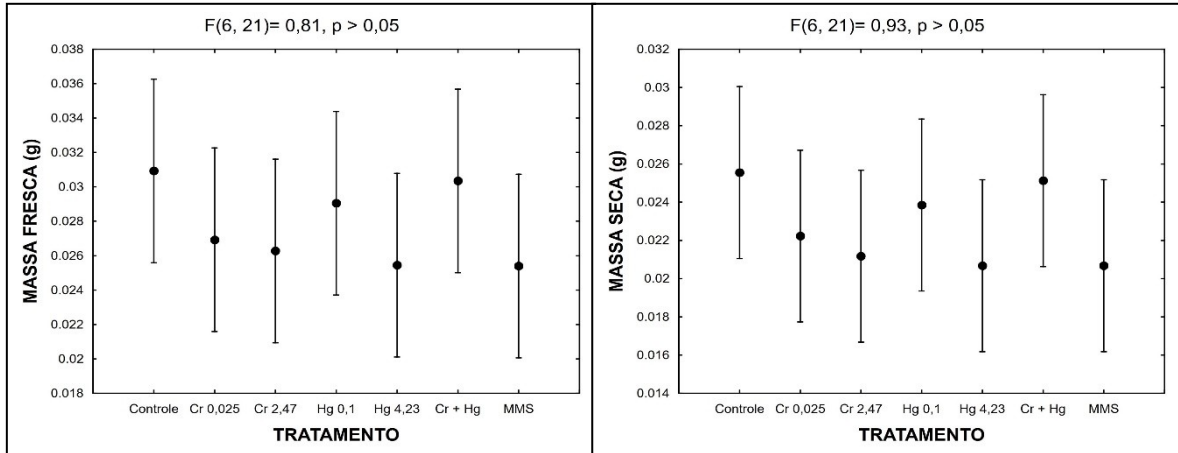
Figura 3 - Média \pm intervalo de confiança dos comprimentos das radículas de *A. cepa* em função dos grupos experimentais (Tratamentos) e do tempo de exposição (96h e 288h). As letras sobre as barras indicam a significância pelo teste de *post hoc* de Fisher.



Fonte: Autoria própria (2020).

A partir de uma ANOVA unifatorial verificou-se que a massa fresca e seca tiveram valores similares entre os tratamentos, não demonstrando significância (figura 4).

Figura 4 - Valores médios \pm intervalo de confiança da massa fresca e seca de *A. cepa* submetidos aos diferentes tratamentos.



Fonte: Autoria própria (2020).

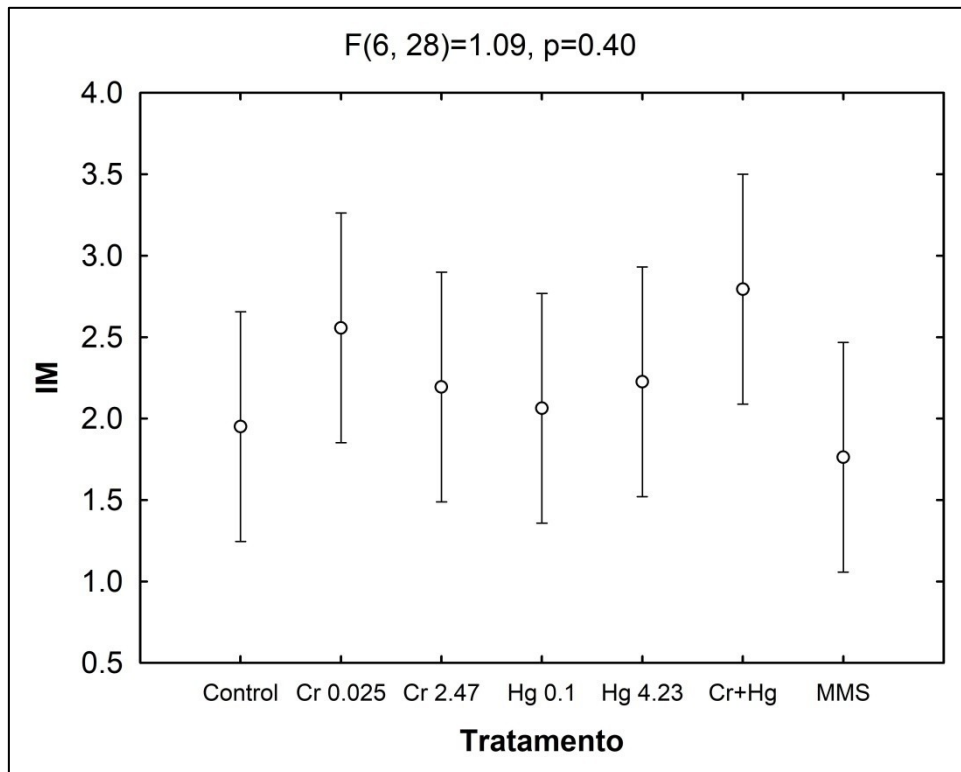
Os resultados obtidos dos ensaios de fitotoxicidade (figuras 3 e 4) sugerem que nenhum tratamento, nem mesmo o controle positivo (MMS), afetou o crescimento, nem as massas seca e fresca das radículas de *A. cepa*. Em outras espécies vegetais, Jun et al. (2009) testaram o efeito no crescimento do cromo em concentrações de 0 a 25 mM, em 6 espécies de plantas e concluíram que esse metal tem efeitos diferentes no crescimento de cada espécie. Nesse estudo a *Dumasia villosa* (feijão preto) não apresentou diferença no crescimento em relação ao controle. Em estudos com mercúrio, Ahammad et al. (2018) concluíram que esse metal causou diminuições significativas do crescimento em 4 espécies de plantas nativas, que eram irrigadas com água e 10 ml de solução 5 mg.L⁻¹ de HgCl₂.

Resultados semelhantes, com alterações significativas no crescimento e massa de *A. cepa*, somente foram obtidos em concentrações maiores desses metais (KUMARI et al., 2016; COSTA et al., 2016; MENDES, 2008), sugerindo que concentrações realísticas, como as aqui testadas, não apresentam influência a curto prazo, provavelmente pelo pouco tempo para bioacumulação. Contudo, a acumulação bem como a biomagnificação destes metais na cadeia trófica são assuntos amplamente difundidos e reconhecidos pela ciência (HOLT; MILLER, 2010). Assim, sugere-se que indicadores fitotóxicos que envolvam maior tempo de exposição podem não ser adequados para analisar a toxicidade em curto prazo, considerando situações de desastres ambientais, tal como observado em Brumadinho-MG. Para ensaios crônicos ou com outros objetivos obviamente estes indicadores podem ser relevantes.

6.2 Citogenotoxicidade

A partir da ANOVA verificou-se que o índice mitótico (IM) não difere entre os grupos experimentais, demonstrando que a proporção de células em divisão celular, em relação às em interfase, se manteve similar aos controles (Figura 5).

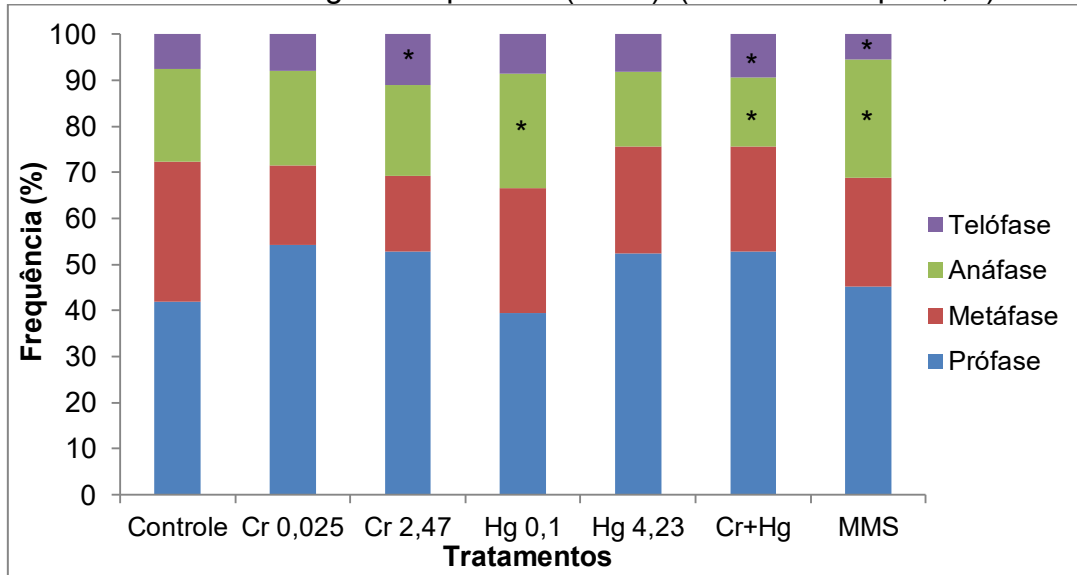
Figura 5 - Índice mitótico (IM) observado em *A. cepa* expostas aos diferentes tratamentos com cromo (Cr) e Mercúrio (Hg), bem como aos controles negativo e positivo (MMS).



Fonte: Autoria própria (2020).

Ao analisar individualmente as fases do ciclo celular entre os grupos experimentais notou-se que as frequências de prófase e metáfase foram similares entre todos os tratamentos, representando juntas cerca de 70% das células em divisão celular. Contudo, a frequência de anáfase foi estatisticamente maior no grupo Hg 0,01 $\mu\text{g.L}^{-1}$, bem como no controle positivo (MMS), e menor no grupo tratado com a mistura de metais. Conforme esperado, o grupo controle positivo apresentou radículas com uma significativa menor frequência de telófases. As plântulas dos grupos Cr 2,47 mg.L^{-1} e o tratado com a mistura de metais apresentaram estatisticamente maiores frequências de telófases (Figura 6).

Figura 6 - Frequência percentual das fases do ciclo celular das plântulas de *A. cepa* submetidas aos diferentes tratamentos com cromo (Cr) e Mercúrio (Hg), bem como aos controles negativo e positivo (MMS). (Asterisco * = $p < 0,05$).

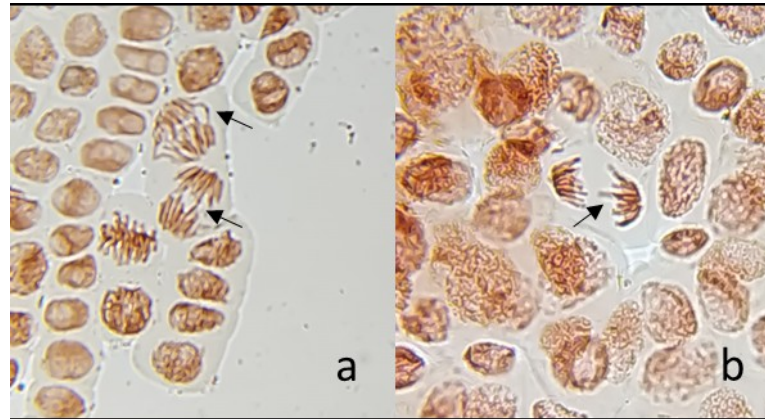


Fonte: Autoria própria (2020).

O maior percentual de telófases observadas nos tratamentos de maior concentração de cromo e na mistura de metais indica uma tendência de estímulo à divisão celular. Esse resultado pode ter relação com o efeito “hormesis”, definido como o estímulo que determinado contaminante induz em plantas e outros organismos em concentrações baixas, enquanto que em doses altas o efeito oposto é observado (supressão) (CALABRESE; BLAIN, 2009). A hormese como uma reação adaptativa ao contaminante, representa uma plasticidade biológica (CALABRESE; MATTSON, 2011). Outros trabalhos com cromo corroboram que baixas doses desse metal podem induzir esse tipo de resposta (PATNAIK et al., 2013; ZAYED; TERRY, 2003; PRASAD et al., 2010).

As aberrações cromossômicas encontradas na mitose de *A. cepa* foram classificadas em pontes anafásicas, atrasos e perdas cromossômicas, conforme ilustrado na figura 7.

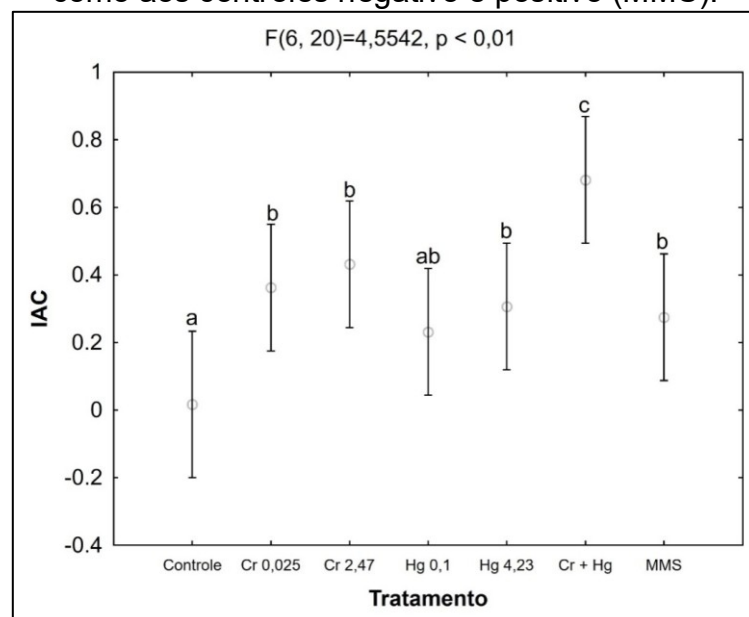
Figura 7 - Aberrações cromossômicas em células de *A. cepa* após a exposição aos diferentes tratamentos com cromo (Cr) e Mercúrio (Hg), bem como aos controles negativo e positivo (MMS). a) pontes anafásicas, b) atraso cromossômico, indicadas pelas setas.



Fonte: Autorial própria (2020).

Na avaliação do índice de aberrações cromossômicas (IAC) pela ANOVA foi constatado que os tratamentos apresentaram diferenças significativas entre si (Figura 8). O tratamento que mais apresentou aberrações foi o de Cr+Hg, evidenciando maior citogenotoxicidade. Ainda, se observou que mesmo nas menores concentrações de Cr e Hg (permitidas pela legislação) foram constatados efeitos semelhantes ao controle positivo (MMS) e maiores que o controle negativo.

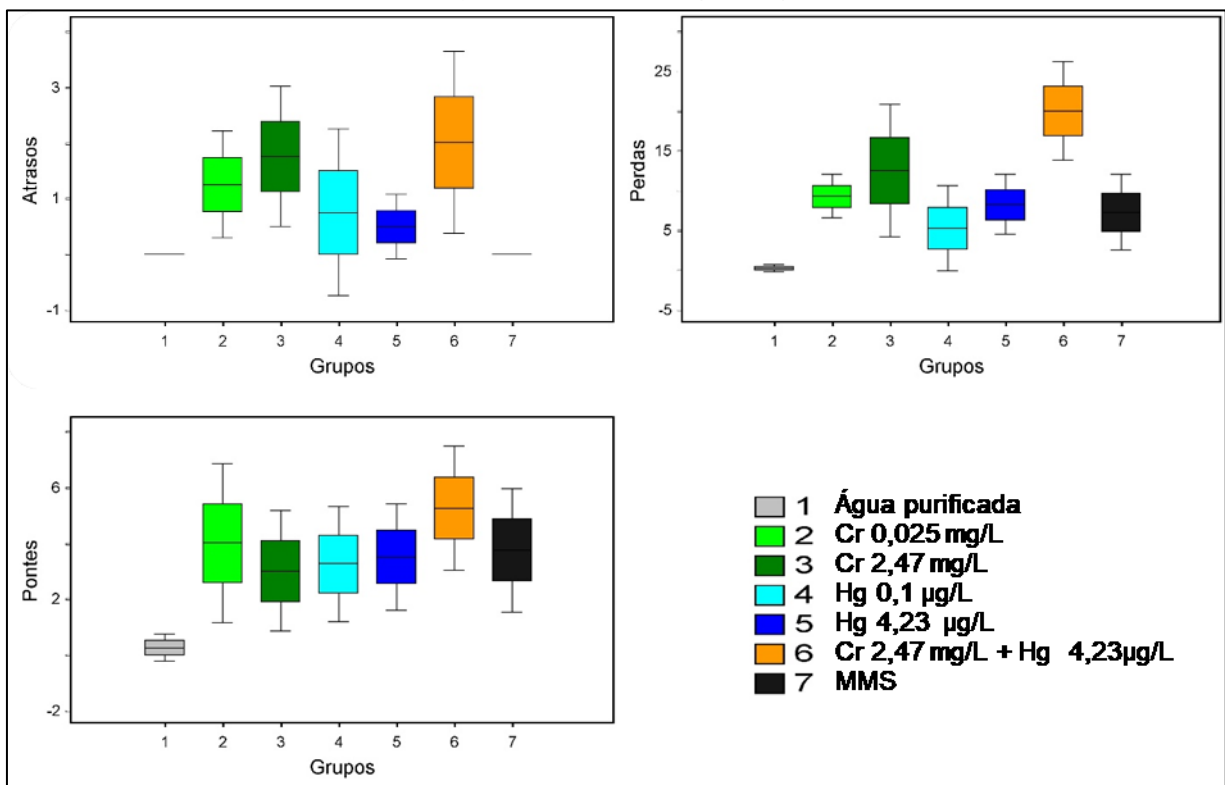
Figura 8 - Índice de aberrações cromossômicas (IAC) observado em plântulas de *A. cepa* submetidas aos diferentes tratamentos com cromo (Cr) e Mercúrio (Hg), bem como aos controles negativo e positivo (MMS).



Fonte: Autorial própria (2020).

Resultados semelhantes ao IAC foram constatados ao analisar as aberrações cromossômicas (pontes anafásicas, atrasos e pontes cromossômicas) de forma conjunta pela análise permutativa multivariada (PERMANOVA: $F_{6, 27} = 5,21$, $p = 0,0038$). Foi evidenciado um maior potencial genotóxico no grupo tratado com a mistura de metais (Cr+Hg), principalmente devido à elevada contagem de perdas cromossômicas (Figura 9). Os grupos tratados somente com cromo (Cr) ou somente com o mercúrio (Hg), independente da concentração, apresentaram valores intermediários em todos os danos, tendo um efeito similar ao controle positivo (MMS). O grupo controle negativo representou a taxa basal de aberrações cromossômicas, sendo inferior em todos os danos encontrados.

Figura 9 - Média \pm desvio-padrão de cada aberração cromossômica (pontes anafásicas e quebras e atrasos cromossômicos) registrada para *A. cepa* submetido aos diferentes tratamentos com cromo (Cr) e Mercúrio (Hg), bem como aos controles negativo e positivo (MMS).



Fonte: Autoria própria (2020).

A citogenotoxicidade evidenciada através do IAC e pelas médias de aberrações cromossômicas demonstraram o potencial nocivo desses metais às células de *A. cepa*. Vários estudos já demonstraram que o Cr e o Hg causam

aberrações em células vegetais e animais, promovendo desde desequilíbrios no ecossistema a doenças graves em humanos e animais (MENDES, 2008; SABEEN et al., 2020; ATSDR, 2012 a b).

Essas aberrações tiveram maior ocorrência com o tratamento da mistura dos dois metais, indicando que a mistura de metais teve um efeito sinérgico, aumentando os riscos da exposição. Considerando que além do Cr e do Hg o rompimento da barragem introduziu na bacia do rio Paraopeba mais de dez contaminantes diferentes (IGAM, 2019 d), que foram monitorados, na prática a interação entre eles pode ser ainda mais danosa para os seres vivos, ecossistemas e para saúde da comunidade ribeirinha, que dependem para bacia para sua sobrevivência. Vale destacar que os metais complexados ao material sedimentado no leito do rio são ressuspensos por eventos pluviométricos, extravasamento da calha do rio, entre outros, além de que outros eventos que podem biodisponibilizar esses metais por inúmeras reações, aumentando o poder nocivo por um período maior de tempo (VOIGT et al., 2016).

É importante destacar que mesmo as menores concentrações de Cr e Hg causam aberrações cromossômicas em *A. cepa*, sendo que representaram apenas metade da concentração máxima permitida pela Resolução CONAMA nº 357/2005 para rios classe 2. Além disso, a referida resolução CONAMA trata apenas de forma muito incipiente a capacidade tóxica de misturas entre compostos, sem determinar concentrações e/ou proporções dos elementos permitidos. Assim, torna-se fundamental fazer recomendações adicionais à legislação vigente e também alertar sobre a necessidade de mais estudos complementares, com outras espécies e que seja abrangida a interação desses elementos. Para esse tipo de metal, essa necessidade de testar a segurança é iminente, visto que podem atingir as pessoas através do consumo, irrigação e pesca, por exemplo.

Uma vez que o processo de espalhamento e sedimentação tornam a detecção desses metais, através de testes químicos, cada vez mais difícil, as análises por meio de bioindicadores podem ser mais responsivas e monitorar a bioacumulação e biomagnificação, que podem prejudicar indiretamente a saúde da população de maneira silenciosa (HOLT; MILLER, 2010).

7 PRODUTOS

7.1 Informativo Circular

Um dos produtos gerados como o desenvolvimento deste trabalho, foi um informativo circular abordando os riscos associados ao uso da água e solos contaminados. O informativo tem por finalidade apresentar resultados produzidos por essa pesquisa, à população afetada pelo desastre de Brumadinho.

Esse informativo está disponível gratuitamente para download no repositório da biblioteca da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, através do link: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/>, caso haja interesse em sua distribuição.

7.2 Recomendação à Resolução CONAMA 357/2005

Outro produto gerado foi uma recomendação de uso de ensaios citogenéticos com *A. cepa* para casos que envolverem a contaminação de moléculas com potencial mutagênico. Essa recomendação visa a complementação da Resolução CONAMA nº 357/2005, em relação à utilização de ensaios ecotoxicológicos em casos que podem causar danos aos seres vivos. Essa recomendação se encontra no Apêndice A desta dissertação.

8 CONCLUSÃO

As respostas obtidas nos bioensaios com *A. cepa* associado às informações da literatura científica sugerem que o Cr e o Hg, presente na lama após o desastre de Brumadinho, apresentam potencial nocivo para a biodiversidade local e população do entorno, uma vez que diminuiu a germinação das sementes e induziu danos citogenotóxicos no bioindicador.

Adicionalmente, verificou-se que há parâmetros mais responsivos para ensaios de curta duração, tais como os citogenotóxicos, e outros que necessitam de um período mais prolongado de exposição e/ou de concentrações mais elevadas, tais como o comprimento radicular e as massas fresca e seca. Portanto, no teste com *A. cepa* os parâmetros de análise precisam ser selecionados conforme o tempo de exposição, a concentração e, ainda, a fase de desenvolvimento do bioindicador (se semente ou bulbo).

A interação dos metais intensificou os danos citogenotóxicos no bioindicador, sugerindo um efeito sinérgico. Além disso, observou-se que as menores concentrações testadas (metade do valor máximo permitido no CONAMA 357/2005) induziram resposta citogenotóxica em *A. cepa*. Destaca-se, portanto, a necessidade de uma revisão nesses valores permitidos, levando em consideração a interação desses contaminantes.

A partir dos resultados obtidos neste estudo e de outras investigações científicas, pode-se inferir que a utilização da área afetada pela lama deve ser evitada ao máximo pela população, principalmente próximo aos córregos, rios e áreas terrestres sujeitas a inundações que podem ser alcançadas pelos rejeitos.

Os resultados reafirmam que a *A. cepa* é bastante sensível aos metais testados, apresentando alterações na germinação e números significativos de aberrações cromossômicas, dessa forma, recomenda-se a utilização desse teste para contaminantes ambientais principalmente em áreas onde há atividades de extração de minérios.

REFERÊNCIAS

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY

(a). **Toxicological profile for chromium**. Georgia, U.S. Department of Health and Human Services, 2012. p. 49-214. Disponível em:

<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp7.pdf>. Acesso em: 26 abr. 2019.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY

(b). **Toxicological profile for mercury**. Georgia, U.S. Department of Health and Human Services, 2012. p. 49-214. Disponível em:

<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.pdf>. Acesso em: 26 abr. 2019.

AHAMMAD SJ, SUMITHRA S, SENTHILKUMAR P. Mercury uptake and translocation by indigenous Plants. **Rasayan journal of chemistry**, v.11, n. 1 p. 1-12, 2018. Disponível em: https://rasayanjournal.co.in/admin/php/upload/308_pdf. Acesso em: 10 dez. 2020.

AHUJA, S. Lessons learned from water disasters of the world. Evaluating water quality to prevent future disasters. **Separation Science and Technology**, v. 11, p. 417–427, 2019. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128157305000168>. Acesso em: 17 jan. 2020.

ALLOWAY, B.J. (ed) **Heavy Metals in Soils**. New York: John Wiley & Sons Inc., 2013.

ALVES, C. B. M. Evaluation of fish passage through the Igarapé Dam fish ladder (rio Paraopeba, Brazil), using marking and recapture. **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 233-236, 2007. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-62252007000200019&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 16 dez. 2019.

ASADUZZAMAN K. et al. Heavy metals in human teeth dentine: A bio-indicator of metals exposure and environmental pollution. **Chemosphere**, v.176, p. 221–230, 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653517303028>. Acesso em: 07 jan. 2020.

ALVARENGA, P. et al. Evaluation of chemical and ecotoxicological characteristics of biodegradable organic residues for application to agricultural land. **Environment International**, v.33, n.4, p.505–513, 2007. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412006001851>. Acesso em: 02 fev. 2020.

BERNARD, A. Renal and neurological effects heavy metals in the environment.

Encyclopedia of environmental health, p. 801-805, 2011. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978044463951600615X>. Acesso em: 11 jan. 2020.

BERTOLETTI, E. Determinação da ecotoxicidade crônica para *Danio rerio*. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 4, n. 1-3, p. 1-7, 2009.

BOWKER, L.N., CHAMBERS, D.M. The Risk, Public Liability, & Economics of Tailings Storage Facility Failures. **Research Paper**, Stonington, p. 1-56, 2015. Disponível em: https://earthworks.org/cms/assets/uploads/archive/files/pubs-others/BowkerChambers-RiskPublicLiability_EconomicsOfTailingsStorageFacility%20Failures-23Jul15.pdf. Acesso em: 23 jan. 2020.

BRASIL. LEI nº 9.433, de 8 de janeiro de 1997. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal, e altera o art. 1º da Lei nº 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei nº 7.990, de 28 de dezembro de 1989. **Diário Oficial da União**, Brasília, 8 jan. 1997. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L9433.htm. Acesso em: 27 abr. 2019.

BRASIL. Portaria GM nº 776, de 5 de setembro de 2017. Estabelece normas e diretrizes para a elaboração, redação, alteração, revisão e consolidação de atos normativos no âmbito do Ministério da Justiça e Segurança Pública. **Diário Oficial da União**, Brasília, 8 set. 2017. Disponível em: https://www.justica.gov.br/seus-direitos/elaboracao-legislativa/manual_elaboracao_atos_normativos_mj-sp-portaria-gm-n-776-de-5-de-setem.pdf. Acesso em: 04 fev. 2021.

CABRERA, G., RODRIGUEZ, D. M. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 426, n.2, p. 211-214, 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0027510799000706?via%3Dihub>. Acesso em: 03 fev. 2020.

CARSON, R. **Primavera silenciosa**. São Paulo: Gaia, 2010. 256 p.

CALGAROTO, N. S. **Efeitos fisiológicos do mercúrio em plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen**. 2009. 108 p. Dissertação (Mestrado - Programa de pós-graduação em agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/handle/1/4995?show=full>. Acesso em 26 abr. 2019.

CALABRESE, E.J., BLAIN, R.B. Hormesis and plant biology. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 1, p. 42-48, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0269749108004077?via%3Dihub>. Acesso em: 12 dez. 2020.

CALABRESE, E.J., MATTSON, M.P. Hormesis provides a generalized quantitative estimate of biological plasticity. **Journal of Cell Communication and Signaling**, v.5, n. 1, p. 25-38, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3058190/>. Acesso em: 12 dez. 2020.

CAMPOS, R. B. F. et al. Risco, desastre e educação ambiental: a terceira margem do rio Doce. **Revista PerCursos**, Florianópolis, v. 18, n. 36, p. 66 - 94, 2017.

Disponível em:

<http://www.revistas.udesc.br/index.php/percursos/article/view/1984724618362017066/pdf>. Acesso em: 23 jan. 2020.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA N° 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 17 mar. 2005.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA N° 430, DE 13 DE MAIO DE 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. **Diário Oficial da União**, 16 mai. 2011.

COSTA, M. H. P., SILVA, P. C. C., ROCHA, C. A. M. Efeitos do cromo hexavalente sobre o crescimento de raízes e ciclo celular no meristema da ponta da raiz de *Allium cepa*. **Biota Amazônia**, v. 6, n. 3, p.40-44, 2016. Disponível em: <https://periodicos.unifap.br/index.php/biota/article/view/2235/v6n3p40-44.pdf>. Acesso em: 09 dez. 2020.

CROWE, W. et al. Mercury as an environmental stimulus in the development of 3 autoimmunity – A systematic review. **Auto immunity Reviews**, v. 16, p. 72-80, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1568997216302154?via%3Di> hub. Acesso em: 21 abr. 2019.

DAVIES, M., MARTIN, T. Mining market cycles and tailings dam incidents. *In*: 13TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON TAILINGS AND MINE WASTE, 2009, Alberta. **Anais** [...]. Alberta: University of Alberta, Geotechnical Center and Oil Sands Tailings Research Facility, 2009. Disponível em: <https://docplayer.net/14797608-Mining-market-cycles-and-tailings-dam-incidents.html>. Acesso em: 23 jan. 2020.

DE COEN, W. M., JANSSEN, C. R. The use of biomarkers in *Daphnia magna* toxicity testing II. Digestive enzyme activity in *Daphnia magna* exposed to sublethal concentrations of cadmium, chromium and mercury. **Chemosphere**, v. 35, n. 5, p. 1053-1067, 1997.

DEFOREST, D. K.; BRIX, K. V.; ADAMS, W. J. Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: The inverse relationship between bioaccumulation factors, trophic transfer factors and exposure concentration. **Acquatic toxicology**, v. 84, p. 236-246, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166445X07002287>. Acesso em: 16 nov. 2019.

DESMARIAS, T.L., COSTA, M. Mechanisms of chromium-induced toxicity. **Current opinion in toxicology**, v. 14, p. 1-7, 2019. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468202019300294>. Acesso em: 26 nov. 2019.

DOTANIYA, M., DAS, H., MEENA, V. Assessment of chromium efficacy on germination, root elongation, and coleoptile growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) at different growth periods. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, p. 2957–2963, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10661-013-3593-5>. Acesso em: 29 nov. 2020.

DOYI, I. et al. Spatial distribution, accumulation and human health risk assessment of heavy metals in soil and groundwater of the Tano Basin, Ghana. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 165, p. 540-546, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651318308613>. Acesso em: 05 abr. 2019.

DUA, A., SAWHNEY, S. K. Effect of chromium on activities of hydrolytic enzymes in germinating pea seeds. **Environmental and Experimental Botany**, v.31, n.2, p. 133–139, 1991. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/009884729190063T>. Acesso em: 27 jan. 2021.

EQANI, S. A. M. A. S. E. et al. Mercury contamination in deposited dust and its bioaccumulation patterns throughout Pakistan. **Science of the Total Environment**, v. 569, n. 570, p.585-593, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716313614>. Acesso em: 07 jun. 2019.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, p. 252-259, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048357506001945>. Acesso em: 02 fev. 2020.

FIRBAS, P., AMON, T. Chromosome damage studies in the onion plant *Allium cepa* L. **Caryologia**, v.67, n. 1, p. 25-35, 2014. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00087114.2014.891696?needAccess=true>. Acesso em: 20 mar. 2021.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v.102, p. 99-112, 1985. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>. Acesso em: 20 Jan. 2020.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test -- an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mutation Research**, v. 197, p. 243-260, 1988.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE (MG). Inventário de barragens do Estado de Minas Gerais: ano 2017 / Fundação Estadual do Meio Ambiente. --- Belo

Horizonte: FEAM, 2018. Disponível em:
http://www.feam.br/images/stories/2018/BARRAGENS/Invent%C3%A1rio_de_Barragens_2017.pdf. Acesso em: 02 jan. 2019.

GARCIA, E.M., REYES R. E. Synthesis pattern of an Hg-binding protein in *Acetabularia calyculus* during short-term exposure to mercury. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 66, p. 357-364, 2001. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s001280013>. Acesso em: 27 jan. 2021.

GIBB H, O'LEARY, KG. Mercury exposure and health impacts among individuals in the artisanal and small-scale gold mining community: a comprehensive review. **Environmental Health Perspect**, v. 122, p. 667–672, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4080518/>. Acesso em: 04 nov. 2019.

GRANT, W. Chromosome aberration assays in *Allium*. A report of the U. S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**, v. 99, p. 273 – 291, 1982. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/016511108290046X>. Acesso em: 20 jan. 2020.

GUILHERME, L.R.G. et al. Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos. **Tópicos em Ciências do Solo**, v. 4, p. 345-390, 2005. Disponível em: http://www.geocities.ws/giuliano_marchi/Top_V4_N9.pdf. Acesso em: 02 jan. 2019.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana**. São Paulo: FUNPEC, 2002. 131 p. Disponível em: docplayer.com.br/7523241-Como-observar-cromossomos-um-guia-de-tecnicas-em-citogenetica-vegetal-animal-e-humana.html. Acesso em: 22 mar. 2020.

GUTIÉRREZ-MOSQUERA, H. et al. Mercury levels in human population from a mining 2 district in Western Colombia. **Journal of Environmental Sciences**, v. 68, p. 83-90, 2017.

HALL, J. L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p.1-11, 2002. Disponível em: <https://academic.oup.com/jxb/article/53/366/1/547244>. Acesso em: 06 jan. 2020.

HAO, Z. et al. Heavy metal distribution and bioaccumulation ability in marine 2 organisms from coastal regions of Hainan and Zhoushan, China. **Chemosphere**, v. 226, p. 340-350, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653519305740>. Acesso em: 16 nov. 2019.

HARGER et al. Amilase Fúngica. *In*: **Bioquímica das Fermentações**, p. 56, 1982.

HOLT, E.A., MILLER, S.W. Using organisms to measure environmental impacts. **Nature Education Knowledge**, v. 3, 2010. Disponível em:

<https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/bioindicators-using-organisms-to-measure-environmental-impacts-16821310/>. Acesso em: 01 fev. 2020.

HONG, Y. S., KIM, Y. M., & LEE, K. E. Methylmercury exposure and health effects. **Journal of preventive medicine and public health**, v. 45, p. 353–363, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3514465/>. Acesso em: 04 dez. 2019.

HOSSAIN, M. A.; PIYATIDA, P.; SILVA, J. A. T; FUJITA, M. Molecular Mechanism of Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: Central Role of Glutathione in Detoxification of Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal and in Heavy Metal Chelation. **Journal of Botany**, V. 2012, P. 1-37, 2012.

HSIAO, H.; ULLRICH, S. M.; TANTON, T. W. Burdens of mercury in residents of Temirtau, Kazakhstan I: Hair mercury concentrations and factors of elevated hair mercury levels. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 2272-2280, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Laudo Técnico Preliminar: Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais**. 2015. Disponível em: <https://jornalismosocioambiental.files.wordpress.com/2016/01/laudo-preliminar-do-ibama-sobre-mariana.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Rompimento de barragem da Vale em Brumadinho MG destruiu 269,84 hectares**. 2019. Disponível em: <https://bit.ly/2WPdzVN>. Acesso em: 16 dez. 2019.

INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS (a). **Nota de esclarecimento 1 – desastre barragem B1**. Belo Horizonte, 25 jan. 2019. Disponível em: <http://www.igam.mg.gov.br/banco-de-noticias/2031-nota-de-esclarecimento-brumadinho>. Acesso em: 25 out. 2019.

INSTITUTO MINEIRO DAS ÁGUAS (b). **Informativo Especial - Avaliação da série histórica entre 2000 e 2018**. Belo Horizonte, 12 de fevereiro de 2019. Disponível em: http://www.meioambiente.mg.gov.br/images/stories/2019/DESASTRE_BARRAGEM_B1/informativos_qualidade_agua/Informativo_Especial__Serie_Hist%C3%B3rica_2000_a_2018_140219.pdf. Acesso em: 25 out. 2019.

INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS (c). **Informativo Nº 39**. Belo Horizonte, 2019. Disponível em: http://www.meioambiente.mg.gov.br/images/stories/2019/DESASTRE_BARRAGEM_B1/Informativo_39_IGAM_COPASA_9-04-2019.pdf. Acesso em: 26 abr. 2019.

INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS (d). **Informativo Nº 52**. Belo Horizonte, 2019. Disponível em: <http://200.198.57.118:8080/jspui/handle/123456789/3178>. Acesso em: 14 dez. 2019.

INTER-ORGANIZATION PROGRAMME FOR THE SOUND MANAGEMENT OF CHEMICALS. **Guidance for Identifying Populations at Risk from Mercury**

Exposure. Geneva, SWI. UNEP DTIE Chemicals Branch/ WHO Department of Food Safety Zoonoses/Foodborne Diseases, p. 1-180. Disponível em: https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/11786/IdentifyingPopnatRiskExposuretoMercury_2008Web.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 04 nov. 2019.

JAKIMSKA, A. et al. Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals, part I: the role and impact of heavy metals on organisms. **Polish journal of environmental studies**, v. 20, p. 1117-1125, 2011. Disponível em: <http://www.pjoes.com/Bioaccumulation-of-Metals-in-Tissues-r-nof-Marine-Animals-Part-I-the-Role-and-Impact,88659,0,2.html>. Acesso em: 16 nov. 2019.

JUN, R., LING, T., GUANGHUA, Z. Effects of chromium on seed germination, root elongation and coleoptile growth in six pulses. **International Journal of Environment Science and Technology**, v.6, n. 4, p. 571-578, 2009. Disponível em: <http://www.bioline.org.br/request?st09063>. Acesso em: 14 dez. 2020.

KAMRAN, M.A. et al. Phyto-extraction of chromium and influence of plant growth promoting bacteria to enhance plant growth. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 182, Part B, p. 269 – 274, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037567421630214X?via%3Dihub>. Acesso em: 29 nov. 2020.

KHAN, F., MOMTAZ, S., & ABDOLLAHI, M. The relationship between mercury exposure and epigenetic alterations regarding human health, risk assessment and diagnostic strategies. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 52, p. 37-47, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0946672X18304681>. Acesso em: 01 fev. 2020.

KOEDRITH, P., SEO, Y. R. Advances in Carcinogenic Metal Toxicity and Potential Molecular Markers. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, p. 9576-9595, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22272150>. Acesso em: 07 jan. 2020.

KUMARI, V. et al. Genotoxicity evaluation of tannery effluent treated with newly isolated hexavalent chromium reducing *Bacillus cereus*. **Journal of Environmental Management**, v.183, p.204-211, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479716305552>. Acesso em: 09 dez. 2020.

KÜPPER, H. et al. Cadmium-induced inhibition of photosynthesis and long-term acclimation to cadmium stress in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. **New Phytologist**, v. 175, p. 655-674, 2007. Disponível em: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-8137.2007.02139.x>. Acesso em: 06 jan. 2020.

LABRA, M. et al. Zeamays L. protein changes in response to potassium dichromate treatments. **Chemosphere**, v. 62, p. 1234-1244, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653505009057>. Acesso em: 06 jan. 2020.

LASAT, M. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. **Journal of Environmental Quality**, v. 31, p.109-120, 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11837415>. Acesso em: 06 jan. 2020.

LEITE, A., SILVA, R., CUNHA, E. Aplicação de um caso prático de doenças profissionais: relevância médico-legal metais pesados e carcinogênese. **Arquivos de Medicina**, Porto, v. 29, n. 4, p. 93-97, 2015. Disponível em: http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-34132015000400002&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 07 jan. 2020.

LEVAN, A. The effects of colchicine on root mitoses in *Allium*. **Hereditas**, v. 24, p. 471-486, 1938. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1601-5223.1938.tb03221.x>. Acesso em: 20 jan. 2020.

LI, M. et al. Molecular cloning and characterization of cat, gpx1 and Cu/Zn-sod genes in pengzeczucian carp (*Carassius auratus* var. Pengze) and antioxidant enzyme modulation induced by hexavalent chromium in juveniles. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C. 157, p. 310-321, 2013.

LOBATO, L. M., COSTA, M. A. **Recursos minerais no cenário geológico de Minas Gerais**. 2018. Belo Horizonte: Companhia de Desenvolvimento de Minas Gerais (CODEMGE). p. 6-8, 2018. Disponível em: <http://recursomineralmg.codemge.com.br/wp-content/uploads/2018/10/RecMinCenarioGeologicoMG.pdf>. Acesso em: 28 out. 2019.

LOPEZ-LUNA, J. et al. Toxicity assessment of soil amended with tannery sludge, trivalent chromium and hexavalent chromium, using wheat, oat and sorghum plants. **Journal of Hazardous Materials**, v.163, p. 829 – 834, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389408010649>. Acesso em: 29 nov. 2020.

LUNDIN et al. Methyl methanesulfonate (MMS) produces heat-labile DNA damage but no detectable in vivo DNA double-strand breaks. **Nucleic acids research**, v. 33, n. 12, p. 3799-3811, 2005. Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article/33/12/3799/2400965>. Acesso em: 07 dez. 2020.

MANOJ, S. R. et al. Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria: A review. **Journal of Environmental Management**, v.254, p. 1-14, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479719314975>. Acesso em: 06 jan. 2020.

MENDES, M. S. **Trace element in *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L.** 2008. 160 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

MERCADO, S. A. S., CALEÑO, J. D. Q. Cytotoxic evaluation of glyphosate, using *Allium cepa* L. as bioindicator. **Science of The Total Environment**, v.700, p. 1-33,

2019. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719344432>. Acesso em: 02 fev. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria de Consolidação nº número 5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Brasília, 28 set. 2017. Disponível em:

<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/marco/29/PRC-5-Portaria-de-Consolida----o-n---5--de-28-de-setembro-de-2017.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2019.

MOLOZZI, J. et al. Maximum ecological potential of tropical reservoirs and benthic invertebrate communities. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 185, p. 6591–6606, 2013. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10661-012-3049-3>. Acesso em: 16 dez 2019.

MORALES- BARREIRA, L. et al. Isolation, identification and characterization of a *Hypocreatawa* strain with high Cr (VI) reduction potential. **Biochemical Engineering Journal**, v. 40, p. 284-292, 2008. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X0800003X>. Acesso em: 17 jan. 2020.

MOURA, A. G., et al. Cytotoxicity of cheese and Cheddar cheese food flavorings on *Allium cepa* L root meristems. **Brazilian Journal of Biology**. v. 76, n. 2, p. 439- 443, 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842016000200439. Acesso em: 20 jan. 2020.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Medical and biologic effects environmental pollutants: Chromium**. Washington, DC: The National Academies Press, 1974.

p.166. Disponível em: <https://www.nap.edu/catalog/20099/chromium>. Acesso em: 16 jan. 2020.

OLIVEIRA, H. Chromium as an Environmental Pollutant: Insights on Induced Plant Toxicity. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1-8, 2012.

PALMIERI et al. Cytogenotoxic effects of spent pot liner (SPL) and its main components on human leukocytes and meristematic cells of *Allium cepa*. **Water Air Soil Pollution**, v. 227, p. 1-10, 2016. Disponível

em: <http://repositorio.ufla.br/handle/1/31413>. Acesso em: 20 jan. 2020.

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

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10725-013-9816-5>. Acesso em: 12 dez. 2020.

PATRA, M. et al. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. **Environmental Experimental Botany**, v. 52, n. 3, p. 199-223, 2004. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098847204000346?via%3Dihub>. Acesso em: 27 jan. 2021.

PATRA M, SHARMA A. Mercury toxicity in plants. **The Botanical Review**, v. 66, p. 379-422, 2000. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02868923>. Acesso em: 29 nov. 2020.

PRADO, C. et al. Uptake of chromium by *Salvinia minima*: effect on plant growth, leaf respiration and carbohydrate metabolism. **Journal of Hazardous Materials**, v. 177, p. 546-553, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389409020561>. Acesso em: 06 jan. 2020.

PRAJITHA, V., THOPPIL, J., 2016. Genotoxic and antigenotoxic potential of the aqueous leaf extracts of *Amaranthus spinosus* Linn. using *Allium cepa* assay. **South African Journal of Botany**, v. 102, p. 18-25, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629915003531>. Acesso em: 20 mar. 2021.

PRASAD, A. et al. Effect of chromium and lead on yield, chemical composition of essential oil, and accumulation of heavy metals of mint species. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 41, n. 18, p. 2170-2186, 2010. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00103624.2010.504798>. Acesso em: 12 dez. 2020.

PROCTOR, D. M., SUH, M., CAMPLEMAN, S.L., THOMPSON, C. M. Assessment of the mode of action for hexavalent chromium-induced lung cancer following inhalation exposures. **Toxicology**, v. 325, p. 160-179, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X14001681>. Acesso em: 26 nov. 2019.

QUEIROZ, H. M. et al. The Samarco mine tailing disaster: A possible time-bomb for heavy metals contamination? **Science of the Total Environment**, v. 637, n. 638, p. 498-506, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718315547>. Acesso em: 04 abr. 2020.

RAJESHKUMAR, S., LI, X. Bioaccumulation of heavy metals in fish species from the Meiliang Bay, Taihu Lake, China. **Toxicology Reports**, v. 5, p. 288-295, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750018300477>. Acesso em: 16 nov. 2019.

RIAZ, A. et al. Mercury contamination in the blood, urine, hair and nails of the gold washers and its human health risk during extraction of placer gold along Gilgit, Hunza and Indus rivers in Gilgit-Baltistan, Pakistan. **Environmental Technology & Innovation**, v. 5, p. 22-29, 2016.

ROMÃO, A. et al. Avaliação preliminar dos impactos sobre a saúde do desastre da mineração da Vale (Brumadinho, MG). *In: DESASTRE DA VALE EM*

BRUMADINHO: IMPACTOS SOBRE A SAÚDE E DESAFIOS PARA A GESTÃO DE RISCOS, 2019, Rio de Janeiro. **Anais [...]** Rio de Janeiro: ENSP, ICICT, IOC, 2019. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/32268>. Acesso em: 20 dez. 2019.

ROMERO-PUERTAS, M. C. et al. Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme. **New Phytologist**, v. 170, p. 43 - 52, 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16539602>. Acesso em: 06 jan. 2020.

ROUT, G.R., SAMANTARAY, S., DAS, P. Effects of chromium and nickel on germination and growth in tolerant and non-tolerant populations of *Echinochloa colona* (L.) Link. **Chemosphere**, V.40, p. 855 – 859, 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653599003033>. Acesso em: 29 nov. 2020.

SÁ, T. C. L. L. et al. Respostas Fisiológicas e Anatômicas de Plantas Jovens de Eucalipto Expostas ao Cádmiio. **Revista Árvore**, v. 35, n. 5, p.997-1006, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622011000600005. Acesso em: 06 jan. 2020.

SABBEN, M. et al. Allium cepa assay based comparative study of selected vegetables and the chromosomal aberrations due to heavy metal accumulation. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, p. 1368-1374, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X19303110>. Acesso em: 14 dez. 2020.

SAKAMOTO, M et al. Mercury speciation in preserved historical sludge: Potential risk from sludge contained within reclaimed land of Minamata Bay, Japan. **Environmental Research**, v. 180, p. 1-7, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935119304657>. Acesso em: 18 jan. 2020.

SANTOS, F. S. et al. Resposta antioxidante, formação de fitoquelatinas e composição de pigmentos fotoprotetores em *Brachiariadecumbens* Stapf submetida à contaminação com Cd e Zn. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p.16-20, 2011. Disponível em: http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=4288. Acesso em: 06 jan. 2020.

SATO, H. et al. Association of chromium exposure with multiple primary cancers in the nasal cavity. **Auris, Nasus, Larynx**, v. 30, p. 93-96, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12589859>. Acesso em: 26 nov. 2019.

SHAHID, N. et al. A critical review of mercury speciation, bioavailability, toxicity and detoxification in soil-plant environment: Ecotoxicology and health risk assessment. **Science of the total environment**, p. 1-86, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719347400>. Acesso em: 18 jan. 2020.

SHARMA, B., et. al. Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems. **BioMed research international**, v. 2014, p. 1 – 26, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25184144>. Acesso em: 15 jan. 2020.

SHARMA, P. et al. Plant steroidal hormone epibrassinolide regulate - Heavy metal stress tolerance in *Oryza sativa* L. by modulating antioxidant defense expression. **Environmental and Experimental Botany**, v. 122, p. 1 – 9, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098847215300083?via%3Di> hub. Acesso em: 29 nov. 2020.

SHARMA, S.S. Effect of mercury on germination and seedling growth, mobilization of food reserves and activity of hydrolytic enzymes in *Pisum sativum*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 25, n.3, p. 189-193, 1985. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0098847285900024>. Acesso em: 27 jan. 2021.

SILVA, D. S. B. S. et al. Investigation of protective effects of *Erythrina velutina* extract against MMS induced damages in the root meristem cells of *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 2, p. 273-278, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X1370036X>. Acesso em: 20 mar. 2020.

TAVARES, S. R. L., OLIVEIRA, S. A., SALGADO, C. M. Avaliação de espécies vegetais na fitorremediação de solos contaminados por metais pesados. In: XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 2013, Florianópolis. **Anais [...]** 2013. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/89312/1/AVALIACAO-DE-ESPECIES-VEGETAIS.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2019.

THOMPSON, F. et. al. Severe impacts of the Brumadinho dam failure (Minas Gerais, Brazil) on the water quality of the Paraopeba River. **Science of The Total Environment**, v. 705, p. 1-20, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719359091#!>Acesso em: 15 dez. 2019.

TREVIZANI, T. H. **Bioacumulação de metais pesados e avaliação da biomagnificação na biota do Baía do Almirantado, Ilha Reo Jorge, Antártica**. 2014. 117 p. Dissertação (Mestrado em ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 2014.

VÄNSKA, M. et. al. Toxic Environment of war: Maternal prenatal heavy metal load predicts infant emotional development. **Infant Behavior and Development**, v. 55, p. 1-9, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163638318300845>. Acesso em: 11 jan. 2020.

VARNERO, M.T., ROJAS, C., ORELLANA, R. Phytotoxicity indices of organic residues during composting. **Revista de La ciência Del suelo y nutrición vegetal**, v.7, p.28–37, 2007. Disponível em: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0718-27912007000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 02 fev. 2020.

VOIGT, C. L., SILVA, C. P., CAMPOS, S. X. Avaliação da bioacumulação de metais em *Cyprinus carpio* pela interação com sedimento e água de reservatório. **Química Nova**, São Paulo, v. 39, n. 2, p. 180-188, 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422016000200180&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 13 jan. 2020.

YEKEEN, T. A. Safety evaluation of green synthesized Cola nitida pod, seed and seed shell extract-mediated silver nanoparticles (AgNPs) using an *Allium cepa* assay. **Journal of Taibah University for Science**, Medina, v. 11. p. 895-909, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658365517300602>. Acesso em: 26 abr. 2019.

ZAYED, A.M., TERRY, N. Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. **Plant and Soil**, v. 249, p. 139-156, 2003. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1022504826342>. Acesso em: 12 dez. 2020.

ZAHIR, F. et al. Low dose mercury toxicity and human health. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 20, p.351–360, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668905000700>. Acesso em: 01 fev. 2020.

ZHANG, L. et al. The estimated six-year mercury dry deposition across North America. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 50, n. 23, p. 12864-12873, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27934281>. Acesso em: 01 mai. 2019.

ZIED, I. Responses of Phaseolus Vulgaris Chromium and Cobalt Treatments. **Biologia Plantarum**, v. 44, p.111-115, 2001. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1017934708402>. Acesso em: 05 jan. 2021.

ZUCCONI, F., PERA, A., FORTE, M., DE BERTOLDI, M. Evaluating toxicity of Immature compost. **BioCycle**, v. 22, p. 54–57, 1981.

ZUCCONI, F., MONACO, A., FORTE, M., DE BERTOLDI, M. Phytotoxins during the stabilization of organic matter. *In*: GASSER, J.K.R. (org.). **Composting of Agricultural and Other Wastes**, London: Elsevier, 1985 p. 73–85.

APÊNDICE A- Recomendação ao CONAMA 357/2005

Assunto: proposta de recomendação de uso de bioensaios com *Allium cepa* para avaliar potenciais efeitos toxicológicos em sistemas aquáticos contaminados por rejeitos de mineração.

RECOMENDAÇÃO Nº XX/2021

Considerando a gravidade dos danos ambientais causados pelo rompimento da barragem B1 do complexo da mina do Córrego do Feijão, em Brumadinho-MG, em janeiro de 2019;

Considerando o monitoramento realizado pelo Instituto Mineiro de Gestão de Águas (IGAM), Companhia de Saneamento do Estado de Minas Gerais (COPASA), Serviço Geológico do Brasil (SGB/CPRM) e a Agência Nacional de Águas (ANA) que revelou a presença de metais tóxicos em concentrações exponencialmente maiores do que o permitido pela Resolução CONAMA nº 357/2005;

Considerando que os contaminantes introduzidos a partir dos desastres ambientais são extremamente perigosos para o meio ambiente e para a saúde humana, e que o rio Paraopeba era utilizado pela população local para o abastecimento público, irrigação de culturas, pesca e demais atividades;

Considerando o Art. 8º, § 3º da Resolução CONAMA nº 357/2005 que prevê a avaliação da qualidade dos ambientes aquáticos por meio de indicadores biológicos, quando apropriado;

Considerando o Art. 8º, § 4º da Resolução CONAMA nº 357/2005 que prevê que as possíveis interações entre substâncias, tais como metais, devem ser investigadas utilizando-se ensaios ecotoxicológicos reconhecidos cientificamente;

Considerando a necessidade de avaliar os potenciais efeitos tóxicos oriundos de rejeitos de minérios de forma rápida, barata e eficaz;

Considerando que o sistema *Allium cepa* é reconhecido pela literatura científica, recomendado pela Agência Norte-Americana de Proteção Ambiental (US EPA) e reconhecido pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS);

Considerando que em estudo prévio, realizado em laboratório e com a aplicação de um método científico apropriado de investigação, o sistema *Allium cepa* se mostrou responsivo a concentrações realísticas de cromo e mercúrio, bem como

a mistura de ambos, apresentando respostas citogenotóxicas significativas em ensaios de curta duração;

Considerando que diversos outros trabalhos científicos, testando o efeito de outros metais e concentrações sobre o sistema *Allium cepa*, apresentaram resultados citogenotóxicos semelhantes;

Recomenda-se a utilização do teste com *Allium cepa* para fins de investigação de contaminação por metais tóxicos em sistemas aquáticos contaminados por rejeitos de mineração. Adicionalmente, devem-se priorizar os parâmetros citogenotóxicos em ensaios de curta duração (até 120h).

ANEXO A- Análise estatística dos resultados de cromo total no período de 2000 a 2018, em estações de monitoramento do rio Paraopeba.

Cromo total - mg/L	N Válido	Mín.	P10	P25	Mediana	P75	P90	Máx.	Média	DP	Violações
BP036 - Melo Franco	47	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,055	0,041	0,003	2%
BP068 - Mário Campos	46	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,06	0,041	0,004	2%
BP070 - S. J. de Bicas	47	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,041	0,002	0%
BP072 - Betim	62	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,057	0,041	0,003	2%
BP082 - Esmeraldas	47	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,041	0,002	0%
BP083 - Paraopeba	47	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,002	0%
BP078 - Pompéu	47	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,002	0%
BP099 - jusante UHE Retiro Baixo	30	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0	0%

Limite DN nº 1/2008: 0,05 mg/L

Fonte: IGAM (2019 b).

ANEXO B - Análise estatística dos resultados de mercúrio total no período de 2000 a 2018, em estações de monitoramento do Rio Paraopeba.

Mercúrio Total - µg/L	N Válido	Mín.	P10	P25	Mediana	P75	P90	Máx.	Média	DP	Violações
BP036 - Melo Franco	38	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0%
BP068 - Mário Campos	37	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0%
BP070 - S. J. de Bicas	38	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0%
BP072 - Betim	38	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0%
BP082 - Esmeraldas	38	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0%
BP083 - Paraopeba	38	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0%
BP078 - Pompéu	38	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0%
BP099 - jusante UHE Retiro Baixo	22	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0%

Limite DN nº 1/2008: 0,2 µg/L

Fonte: IGAM (2019 b).