



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Ouro Preto
Escola de Minas – Departamento de Engenharia Ambiental
Curso de Graduação em Engenharia Ambiental

Manoela Xavier Rioga

**USO DO *ALLIUM CEPA* COMO FERRAMENTA DE MONITORAMENTO PARA
RECUPERAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS POR ELEMENTOS METÁLICOS
PROVINDOS DA MINERAÇÃO**

Ouro Preto
2023

Uso do *Allium cepa* como ferramenta de monitoramento para recuperação de áreas contaminadas por elementos metálicos provindos da mineração

Manoela Xavier Rioga

Trabalho Final de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Engenharia Ambiental na Universidade Federal de Ouro Preto.

Orientadora: Prof. D.Sc. Mônica Cristina Teixeira – **UFOP**

Ouro Preto
2023



FOLHA DE APROVAÇÃO

Manoela Xavier Rioga

Uso de *Allium cepa* como ferramenta de monitoramento para recuperação de áreas contaminadas por elementos metálicos advindos da mineração

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro

Aprovada em 30 de março de 2023.

Membros da banca

Dra. Mônica Cristina Teixeira - Orientador(a) (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dra. Maria Elvira Poleti Martucci - (Universidade Federal de Ouro Preto)
MSc. Alcyane Caldeira Santos - (Universidade Federal de Ouro Preto)

Mônica Cristina Teixeira, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 13/04/2023



Documento assinado eletronicamente por **Monica Cristina Teixeira, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 13/04/2023, às 10:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0508251** e o código CRC **95341875**.

RESUMO

Os metais e metaloides (semimetais) explorados e concentrados por atividades mineradoras possuem potenciais efeitos toxicológicos aos seres vivos. Este projeto teve como objetivo verificar a viabilidade do uso de testes ecotoxicológicos com cebola comum (*Allium cepa*) como bioindicador para monitoramento de ambientes impactados por resíduos da mineração. O projeto iniciou-se a partir de uma busca bibliográfica por pesquisas que utilizassem essa estratégia para avaliar riscos toxicológicos de diferentes contaminantes. Foram também realizados testes laboratoriais utilizando bulbos e sementes de cebola que foram expostos a soluções sintéticas de contaminantes inorgânicos e resíduos sólidos da mina de ouro abandonada, Mina do Chico Rei (Ouro Preto, MG) contendo teores variados de elementos potencialmente tóxicos-EPT's, principalmente arsênio, geralmente associado aos resíduos da mineração do ouro. A fração CR04, coletada na mina, constituída por partículas finas (0,053-0,088 mm) contendo altos teores de EPT's (4453 mg de As.Kg⁻¹, quantidade 300 vezes superior ao valor de referência da legislação) foi utilizada para os testes de germinação de sementes. Nos testes com bulbos, concentrações de As acima de 5 mg. L⁻¹ foram inibitórias, comprometendo o desenvolvimento de raízes. Quando em associação com outros EPT's (Cd, 0,1 e Mn 10 mg. L⁻¹), 1 mg.L⁻¹ de As foi suficiente para inibir o desenvolvimento das plantas que apresentaram menor proliferação de raízes sendo essas frágeis e curtas. Nos testes de germinação, soluções contendo 0,5-2 mg. L⁻¹ de As inibiram o desenvolvimento das plântulas, reduzindo seu peso médio de 0,43 g (irrigação com água) para 0,28g. Ao se utilizar água para irrigação porém, utilizando-se 0,34; 3,37 e 33,7% da fração CR04 na composição do substrato, novamente observaram-se alterações nas plântulas, como menor peso e menores índice e velocidade de germinação. Com o aumento da proporção de CR04 na mistura, a quantidade média de sementes por dia caiu de 1,2 para 0,071 sementes.dia⁻¹, enquanto o índice de germinação caiu de 95 para 80%. Com base nos resultados obtidos percebe-se que os testes ecotoxicológicos com *Allium cepa*, escolhidos com base na análise bibliográfica, são ótimas ferramentas para o monitoramento de áreas degradadas pela mineração pois demonstraram tratar-se de métodos sensíveis, simples e eficientes.

Palavras-chaves: *Allium cepa*, Arsênio, Contaminantes Inorgânicos, Resíduos Sólidos de Mineração, Testes Ecotoxicológicos.

ABSTRACT

Metals and metalloids (semi-metals) exploited and concentrated by mining activities have potential toxicological effects on living beings. This project aimed to verify the feasibility of using ecotoxicological tests using common onion (*Allium cepa*) as a bioindicator for monitoring environments impacted by mining waste. The project started from a bibliographical search for studies that used this strategy to assess the toxicological risks of different contaminants. Laboratory tests were also carried out with bulbs and onion seeds exposed to synthetic solutions of inorganic contaminants and solid residues from the abandoned gold mine; Mina do Chico Rei (Ouro Preto, MG), which contains high levels of potentially toxic elements - EPT's, mainly arsenic, usually associated with gold mining waste. The fraction CR04, collected in the mine, consisting of fine particles (0.053-0.088 mm) containing high levels of EPT's (4453 mg of As.Kg-1, amount 300 times higher than the reference value of the legislation) was used for the tests of seed germination. In tests with bulbs, As concentrations above 5 mg. L-1 were inhibitory, compromising root development. When associated with other EPT's (Cd, 0.1 and Mn 10 mg. L-1), 1 mg.L-1 of As was enough to inhibit the development of plants that showed less proliferation of roots, which were more fragile and shorter. In germination tests, solutions containing 0.5-2 mg. As L-1 inhibited seedling development, reducing its average weight from 0.43 g (irrigation with water) to 0.28 g. When using water for irrigation, however, using 0.34, 3.37, and 33.7% of the CR04 fraction in the composition of the cultivation substrate, changes were observed in seedlings, such as lower weight and lower index and speed of germination. As the proportion of CR04 in the mixture increased, the average amount of seeds from 1.2 to 0.071 seeds.day-1, while the germination rate dropped from 95 to 80%. Based on the results obtained, we confirmed that the ecotoxicological tests with *Allium cepa*, chosen based on the bibliographical analysis, are excellent tools for monitoring areas degraded by mining, as they are sensitive, simple, and efficient methods.

Keywords: *Allium cepa*, Arsenic, Inorganic Contaminants, Solid Mining Waste, Ecotoxicological Tests.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Relação entre metais e efeitos tóxicos sobre organismos	7
Figura 2 - Etapas da mineração.....	15
Figura 3 - Percurso dos metais no processo da mineração.....	17
Figura 4 – Ciclo do acompanhamento do estudo e intervenção para riscos ambientais.....	21
Figura 5 - Experimento do bulbo de <i>Allium cepa</i> em corte	31
Figura 6 – Pesagem e montagem experimental do teste de desenvolvimento de raízes de <i>Allium cepa</i>	32
Figura 7 – Montagem experimental dos testes de germinações.....	35
Figura 8 – Componentes da caixa de germinação.....	36
Figura 9 - Corte esquemático do bioensaio com sementes e solução de arsênio	37
Figura 10 – Filtros para testes de germinação.....	37
Figura 11 - Experimento em corte do ensaio com sementes e solo MCR	41
Figura 12 – Divisão das concentrações na caixa de germinação T ₁ (CR04 0,3368%), T ₂ (CR04 3,337%) e T ₃ (CR04 33,37%).....	41
Figura 13 – Estrutura da montagem do ensaio de germinação de sementes utilizando diluições de solo da Mina do Chico Rei – fração CR04 + S _{nut}	42
Figura 14 - Imagem das cebolas por grupos. Sendo A - 100 (mg As).L ⁻¹ ; B - 10 (mg As).L ⁻¹ ; ; C -7,5 (mg As).L ⁻¹ ; D - 5 (mg As).L ⁻¹ ; E - 2 (mg As).L ⁻¹ ; F - 1 (mg As).L ⁻¹ ; e G - Água destilada.	57
Figura 15 - Imagem das cebolas por grupos para mistura de metaloides. Sendo A – T1 (100 x VR*); B – T2 (10 x VR); e C -T3 (1 x VR).....	59
Figura 16- Desenvolvimento de sementes de <i>Allium cepa</i> – efeito da concentração de arsênio.....	62

Figura 17 - Desenvolvimento de plântulas de <i>Allium cepa</i> irrigadas com diferentes concentrações de Arsênio. Massa dos brotos (g) por grupo de amostras	66
Figura 18 - Registro de crescimento das cebolas do ensaio com solo da MCR fração CR04. Sendo A (T1: 1 x VR*); B (T2: 10 x VR); e C (T3: 100 x VR).	72
Figura 19 - Desenvolvimento de plântulas de <i>Allium cepa</i> cultivadas com diferentes proporções de solo proveniente da Mina de Chico Rei (MCR). Massa dos brotos (g) por grupo de amostras	72
Figura 20 – Anomalias de temperaturas no Brasil nos períodos de realização de testes.....	73
Figura 21 - Anomalias de precipitação no Brasil nos períodos de realização de testes.....	74

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Resultados das buscas de artigos, dentro da base Web of Science, no site do Periódicos Capes. Palavras chaves usadas: Monitoramento, Contaminação, <i>Allium cepa</i> , Mineração, Toxicidade, e Ensaios.	44
Quadro 2 - Resultados buscas de artigos, dentro da base Scopus, no site do Periódicos Capes. Palavras-chave pesquisadas: Palavras chaves usadas: Monitoramento, Contaminação, <i>Allium cepa</i> , Mineração, Toxicidade e Ensaios.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores para fatores de carcinogenicidade (Fc) para alguns elementos metálicos e semimetálicos	25
Tabela 2 - Grupos experimentais e concentrações de arsênio empregadas.....	33
Tabela 3 - Grupos experimentais e concentrações da mistura (As+Cd+Mn) empregadas	34
Tabela 4 - Distribuição granulométrica e pH das amostras da Mina de Chico Rei	39
Tabela 5 – Percentuais da distribuição granulométrica do solo da mina Chico Rei	39

Tabela 6 – Composição da fração granulométrica CR04 (0,053 - 0,088 mm).....	40
Tabela 7 – Preparação de solos para ensaios.....	40
Tabela 8 – Condições iniciais para testes de geração de raízes por bulbos de <i>Allium cepa</i> em presença de diferentes concentrações de As.*	55
Tabela 9 - Testes de desenvolvimento de raízes - Resultados	56
Tabela 10 - Condições iniciais para testes de germinação de raízes na presença de misturas de EPT's	58
Tabela 11 - Testes de desenvolvimento de raízes – Resultados mistura de metaloides.....	59
Tabela 12 - Aspectos iniciais das soluções de irrigação controle	61
Tabela 13 - Germinação de sementes de <i>Allium cepa</i> – Condição controle. Número de sementes germinadas e índice de germinação	63
Tabela 14 - Aspectos iniciais e finais das soluções de irrigação - 2ª bateria de testes	64
Tabela 15 - Germinação de sementes de <i>Allium cepa</i> - 2ª bateria de testes	64
Tabela 16 - Aspectos iniciais e finais das soluções irrigantes - 3ª bateria de testes	65
Tabela 17 - Germinação de sementes de <i>Allium cepa</i> - 3ª bateria de testes	65
Tabela 18 - Germinação de sementes em diferentes concentrações de arsênio. Percentuais médios por grupo de amostra.....	67
Tabela 19 - Aspectos iniciais e finais da solução irrigante – Testes de germinação com amostras de solo da Mina do Chico Rei – Fração CR04 (Condições experimentais: T1=VR _{As solo} ; T2=10*VR _{As solo} ; T3=100*VR _{As solo} . VR _{As solo} =15 mg.Kg ⁻¹).....	69
Tabela 20 - Testes de germinação de sementes de <i>Allium cepa</i> em substratos contendo solo da Mina do Chico Rei – Fração CR04 (Condições experimentais: T1=VR _{As solo} ; T2=10*VR _{As solo} ; T3=100*VR _{As solo}	70

SUMÁRIO

1	Introdução.....	1
1.1	Objetivo Geral.....	4
1.1.1	Objetivos Específicos.....	4
2	Revisão Bibliográfica.....	5
2.1	Metais e semi-metais – origem, propriedades aspectos toxicológicos	5
2.1.1	Definições básicas – Geodisponibilidade, biodisponibilidade, bioacessibilidade	6
2.1.1.1	Geodisponibilidade	7
2.1.1.2	Biodisponibilidade	8
2.1.1.3	Bioacessibilidade	8
2.1.2	Elementos potencialmente tóxicos mais conhecidos	9
2.1.2.1	Alumínio (Al)	9
2.1.2.2	Cádmio (Cd).....	10
2.1.2.3	Chumbo (Pb) -	10
2.1.2.4	Mangânes (Mn) –.....	10
2.1.2.5	Mercúrio (Hg) –.....	11
2.1.2.6	Arsênio (As)	11
2.2	A indústria mineradora.....	12
2.2.1	Os metais nos resíduos na mineração.....	13
2.2.2	A origem dos rejeitos - Conceitos e etapas da mineração	14
2.2.3	Recuperação de área degradada pela mineração	17
2.2.3.1	Técnicas mais utilizadas para remediação de solo contaminado 18	
2.2.3.2	Monitoramento ambiental.....	20
2.3	Uso do <i>Allium cepa</i> na Ecotoxicologia.....	22
2.3.1	Risco Ecológico.....	23
2.3.2	Testes (eco)toxicológicos.....	25
2.3.2.1	Testes ecotoxicológicos com <i>Allium cepa</i> :.....	26
3	Materiais e métodos.....	29
3.1	Materiais	29

3.2	Métodos.....	30
3.2.1	Verificação da possibilidade do uso de testes (eco)toxicológicos usando <i>Allium cepa</i> para monitoramento de ambientes com EPT's.....	30
3.2.2	Levantamento e identificação dos principais usos do <i>Allium cepa</i> na área ambiental.....	30
3.2.3	Testes ecotoxicológicos utilizando <i>Allium cepa</i>	30
3.2.3.1	Testes de desenvolvimento de raízes nos bulbos vegetais	31
3.2.3.2	Testes de germinação de sementes	34
4	Resultados e Discussão	43
4.1	Levantamentos bibliográficos - uso do <i>Allium cepa</i> para avaliação da qualidade ambiental.....	43
4.2	Ensaio ecotoxicológico usando <i>Allium cepa</i>	55
4.2.1	Avaliação da capacidade de geração de raízes por bulbos de <i>Allium cepa</i> – efeito da presença de EPT's	55
4.2.1.1	Ensaio com Arsênio	55
4.2.2	Testes com as sementes da espécie <i>Allium cepa</i>	60
4.2.2.1	Teste de germinação de sementes - Substrato S _{nut} irrigado com diferentes soluções de arsênio	61
4.2.2.2	Substrato misturado com solo da Mina do Chico Rei	68
5	Conclusão.....	75
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Federal de Ouro Preto e a instituição FAPEMIG, que me ofereceram apoio e condições a realização do projeto de iniciação científica: “Bioacessibilidade e ecotoxicidade de Misturas de metais e metaloides em resíduos de minas”, que foi de grande importância a este estudo, devido ao auxílio na escolha de tema e me deu base para construção de conhecimento descritos aqui. Agradeço também a minha orientadora de iniciação e de TCC, Mônica Cristina Teixeira, que me acompanhou, me tirou dúvidas e me direcionou a este momento.

1 INTRODUÇÃO

Ouro Preto, cidade explorada há anos pela presença de minerais valiosos, possui inúmeras minas de ouro subterrâneas desativadas, minas a céu aberto, barragens e pilhas de depósitos de rejeito, inclusive em áreas urbanas (ARAÚJO, 2019; SANTOS, 2019).

Os minerais de ouro da região de Ouro Preto são reconhecidos pela sua alta concentração de Arsênio (SANTOS, 2019). Na época da grande atividade exploratória do ouro, sobretudo no século XVII, não existiam discussões ou preocupações à respeito de cuidados ambientais e muito menos, sobre a remediação de áreas impactadas pela atividade mineradora, portanto, não se tem informações de quaisquer tratamentos ou processos de recuperação realizados na área do município naquela época.

Dessa forma, não se pode descartar o risco associado de que as pessoas do local, há séculos, venham sendo expostas a elementos químicos potencialmente tóxicos (EPT's) (SANTOS, 2019) devido à influência antrópica no meio. É importante citar ainda que os EPT's podem ser também liberados no ambiente devido à erosão e lixiviação natural dos minerais, que causam a mobilidade de elementos (PEREIRA, 2020).

Os metais e metaloides (semimetais), podem causar efeitos toxicológicos diversos aos seres humanos, causando manifestações de gravidade variável que podem, inclusive, resultar em óbito. Geralmente, alguns destes elementos tóxicos, possuem a característica de bioacumular-se em diversos organismos, permanecendo na cadeia trófica, até atingir o topo do sistema (WALKER, SIBLY, *et al.*, 2012; UDODENKO, 2022; CESAR, CASTILHOS, *et al.*, 2014). Esses elementos, uma vez absorvidos, podem interagir com diferentes órgãos e sistemas dos seres vivos. Em alguns casos, é possível que os EPT's, uma vez absorvidos, substituam elementos essenciais nas cadeias metabólicas vitais aos indivíduos (CORTECCI, 2013).

Dois fatos recentes e de grande importância, dadas às suas magnitudes, que merecem atenção particulares por reforçar as preocupações ambientais referentes

aos potenciais impactos das atividades mineradoras e seus resíduos à saúde dos organismos vivos e à manutenção da qualidade ambiental. Um deles trata-se de novembro de 2015, quando a barragem de despejo de resíduos da Companhia Samarco, em Mariana – MG. Os resíduos atingiram o Rio Doce e o oceano e foram então, encontradas altas concentrações de elementos (alguns potencialmente tóxicos) como Arsênio (As), Cádmio (Cd), Ferro (Fe), Alumínio (Al) e Manganês (Mn), vêm sendo detectadas na bacia do Rio Doce (SEGURA, NUNES, *et al.*, 2016). Similarmente, o outro fato, foi o rompimento da barragem em Brumadinho, que dispersou uma pluma de rejeitos no rio Paraopeba. Esses fatos, conseqüentemente, representam diversos riscos aos seres vivos (humanos e animais) das bacias hidrográficas do Brasil e ecossistemas co-dependentes (PEREIRA, 2020; BIANCHI, ESPINDOLA e MARIN-MORALES, 2011; SOUZA, PERÓN, *et al.*, 2017), a dependerem da rota do metabolismo que teve-se interferência, podendo variar entre doenças agudas ou crônicas (ANDRADE e ROCHA, 2014; CORTECCI, 2013), considerando-se as três vias possíveis de exposição dos organismos: ingestão, inalação e contato dérmico (SANTOS, 2019).

Portanto, tal projeto de estudo justifica-se pelo fato de que o acompanhamento do desempenho das ações para reparações ambientais (diagnóstico e pós-tratamento) de áreas impactadas pela atividade mineradora, ricas em resíduos possivelmente tóxicos (YOON, KIM, *et al.*, 2022; FREITAS, RAMBO, *et al.*, 2017), é necessário. Essas ações de remediação visam prevenir contaminações em massa tanto das populações periféricas quanto daquelas sob influência direta da atividade econômica. É importante considerar ainda que, afetando-se o sistema local, pode-se prejudicar a todos que dependem ou estão ligados ao ecossistema em questão (UDODENKO, 2022). Em regiões que estão sendo recuperadas, por meio do emprego de técnicas de remediação, com a finalidade de prevenir possíveis intoxicações ambientais aos organismos vivos que dependem desses ambientes, o uso de bioindicadores costuma ser uma ferramenta eficaz para o monitoramento da qualidade ambiental (GERAS'KIN, EVSEEVA e OUDALOVA, 2011; ARRAES e LONGHIN, 2012; SPARLING, 2017; OECD, 2006).

Dentro desta perspectiva, este estudo se concentrará no tema Ecotoxicidade, visando melhor compreender os princípios que estruturam as respostas de organismos bioindicadores a estresses químicos, com o intuito de fornecer subsídios

para as eventuais medidas de análise de risco e remediação de áreas impactadas, justificando-se se na importância das atitudes de prever, impedir e prevenir intoxicações ambientais.

Este projeto propõe-se a verificar a eficácia do emprego de testes ecotoxicológicos utilizando o bioindicador *Allium cepa*, popularmente denominada como cebola para avaliar a qualidade de ambientes impactados por atividades mineradoras (SEGURA, NUNES, *et al.*, 2016; QUADRA, BIOROLAND, *et al.*, 2018; PEREIRA, 2020). A espécie *Allium cepa* foi escolhida como bioindicadora dado ao seu baixo custo, desenvolvimento rápido (BORTOLINI, 2022; ARRAES e LONGHIN, 2012) e alta sensibilidade aos contaminantes (GERAS’KIN, EVSEEVA e OUDALOVA, 2011; LEME e MARIN-MORALES, 2009), além da facilidade de execução dos testes, propriamente ditos.

1.1 Objetivo Geral

Este estudo objetiva verificar a possibilidade do uso de testes (eco)toxicológicos, usando o *Allium cepa*, para monitoramento de riscos associados aos resíduos de minerais, tratados ou não, dispostos em ambientes degradados pela mineração.

1.1.1 Objetivos Específicos

Dentro do proposto, os objetivos específicos deste trabalho são:

- Levantar dados sobre a utilização do organismo *Allium cepa* no monitoramento ambiental;
- Testar a sensibilidade do *Allium cepa* a elementos potencialmente tóxicos (EPT's), geralmente presentes em resíduos de mineração, tanto em contaminações diretamente nos solos, quanto em soluções aquosas resultantes da lixiviação do solo contaminado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Metais e semi-metais – origem, propriedades e aspectos toxicológicos

Os metais pesados e semimetais são elementos químicos presentes na crosta terrestre. Suas fontes principais no ambiente podem ser tanto naturais (geológicas) quanto antropogênicas. Neste último caso, de acordo com Cesar e colaboradores (2014), e Kossoff e colaboradores (2014), as atividades que se utilizam desses elementos são principalmente relacionadas à geração de energia, às indústrias de siderurgia e metalurgia, aos sistemas de produção de fármacos e cosméticos, às indústrias petroquímicas, às atividades de mineração e à aplicação de agroquímicos. Dada essa extensão das atividades econômicas, não é difícil antever a importância da exploração desses elementos já que eles estão presentes em muitos produtos que usamos no nosso dia a dia. No caso específico da indústria mineradora, Carvalho e seus colaboradores (CARVALHO, MESQUITA, *et al.*, 2018), comentam que ela provoca riscos tanto à saúde e segurança do trabalhador, quanto à comunidade e ainda influencia nos diretos humanos; causa impactos socioeconômicos na área de influência da mina e impacta negativamente o meio ambiente.

É importante conhecer como esses EPT's podem prejudicar nossa saúde. O mercúrio (Hg), elemento de reconhecida toxicidade, embora não possua função biológica conhecida para nenhum organismo vivo, quando em sua forma orgânica, metil-mercúrio (MeHg), é facilmente bioacumulado em pescados, podendo ser consumidos por nós, seres humanos no nosso cotidiano, causando impacto significativo à saúde (CESAR, CASTILHOS, *et al.*, 2014). Ou seja, a cadeia trófica também pode ser a principal fonte das intoxicações metálicas de alguns ETP's.

Alguns exemplos de EPT's encontrados facilmente no Quadrilátero Ferrífero são o Arsênio (As), Chumbo (Pb), Mercúrio (Hg), Cádmiio (Cd) e Cromo (Cr), de acordo com alguns estudos na região (SEGURA, NUNES, *et al.*, 2016; QUADRA, BIOROLAND, *et al.*, 2018; ARAÚJO, 2019). Esses elementos são naturalmente encontrados na natureza e apresentam potencial mobilidade entre os mais diversos ambientes como na água do mar e sedimentos, todavia, suas concentrações acabam aumentadas pelas atividades econômicas já citadas, dentre as quais, encontra-se a

mineração (SANTOS, 2019; SEGURA, NUNES, *et al.*, 2016; GERAS'KIN, OUDALOVA, *et al.*, 2011).

Um detalhe importante a se ressaltar é que a toxicidade inerente desses metais também pode ser afetada pelas suas associações mineralógicas. Nessa perspectiva (SANTOS, 2019) usa como exemplo o arsênio. A associação desse elemento com outros como, exemplo, carbono (C), oxigênio (O), hidrogênio (H), enxofre (S), cloro (Cl), assim como a sua forma de ocorrência, em matriz orgânica ou inorgânica, potencializam sua toxicidade. Assim, vemos quão complexo é o estudo da toxicidade dos elementos inorgânicos pois, para cada caso, existe uma particularidade.

2.1.1 Definições básicas – Geodisponibilidade, biodisponibilidade, bioacessibilidade

Alguns conceitos geoquímicos, são fundamentais para o entendimento dos riscos de exposição dos indivíduos aos elementos metálicos e semimetálicos.

Os metais atravessam caminhos complexos, desde a sua origem nos minerais, passando aos sedimentos e resíduos, sendo transportados por meio dos diferentes compartimentos ambientais (BIANCHI, ESPINDOLA e MARIN-MORALES, 2011; FREITAS, RAMBO, *et al.*, 2017; YOON, KIM, *et al.*, 2022; BLAGOJEVIC, STAMENKOVIC´ e VUJOŠEVIC, 2009) até que atinjam os organismos vivos para, assim, exercer seus efeitos tóxicos como demonstrado na

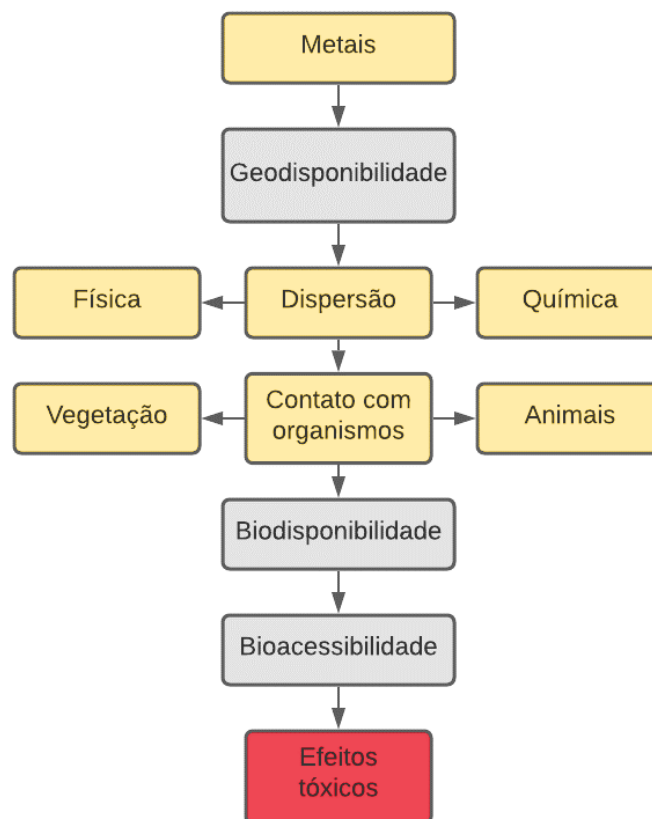
Figura 1 que correlaciona conceitos de extrema importância, como a geodisponibilidade, a biodisponibilidade e a bioacessibilidade.

A dispersão dos contaminantes depende de características do material em questão (tamanho, densidade, solubilidade); da sua interação com o meio e com outros elementos; ou o estado de valência em que cada elemento se encontra (SPARLING, 2017; WALKER, SIBLY, *et al.*, 2012; CESAR, CASTILHOS, *et al.*, 2014).

Além da possibilidade de contaminação direta dos animais e vegetais, alguns EPT's, como o mercúrio, que podem, indiretamente, influenciar na cadeia trófica do reino *Animalia* já que esses, ao se alimentarem de outros animais ou vegetais contaminados, as substâncias tóxicas irão sendo transferidas entre os organismos

pelo processo conhecido como magnificação se bioacumulando em alguns deles durante todo o seu ciclo de vida. É por esta acumulação biológica que é sabido que a concentração dos EPT's nos animais tende a ser maior os valores observados na água (CESAR, CASTILHOS, *et al.*, 2014; SPARLING, 2017). Assim, o ser humano ao se alimentar desses peixes absorve não apenas os nutrientes contidos no organismo animal, como também essa contaminação.

Figura 1 – Relação entre metais e efeitos tóxicos sobre organismos



Fonte: Elaboração própria

2.1.1.1 Geodisponibilidade

Dentro da geoquímica ambiental, o termo “contaminação” aparece ligado à noção de geodisponibilidade, já que existe uma relação de influência entre ambos. De acordo com Cortecci (2013), a geodisponibilidade é entendida como a concentração total do

elemento (refletida pela sua abundância) no meio geológico tanto na água, ar, solos ou sedimentos. Dependente de fatores como a topografia, o clima, a porosidade e permeabilidade das rochas e a estrutura geológica.

2.1.1.2 Biodisponibilidade

O conceito de biodisponibilidade, como mencionado Cesar e seus colaboradores (CESAR, CASTILHOS, *et al.*, 2014), possui relação direta com a presença do elemento na fração dissolvida, como íon e, conseqüentemente, com a mobilidade geoquímica. Resumidamente, frações geoquímicas solúveis e de alta mobilidade são frequentemente reconhecidas como aquelas potencialmente biodisponíveis para absorção e incorporação no organismo humano, seja pela ingestão (quando se come ou bebe algo contaminado), inalação (quando se respira poeiras ou particulados) ou contato dérmico (quando a contaminação pode acontecer por meio do contato com a pele).

2.1.1.3 Bioacessibilidade

Bioacessibilidade é o termo referente a fração biodisponível do metal ou contaminante que é, de fato, absorvida pelos processos metabólicos do organismo. Pereira (PEREIRA, 2020). Esse termo descreve qual a fração do contaminante poderia, de fato, se dissolver nos fluidos corporais. Os testes de bioacessibilidade mais comumente empregados são os testes de bioacessibilidade oral e bioacessibilidade respiratória que simulam a solubilização dos agentes potencialmente tóxicos nos fluidos corporais presentes nos sistemas digestório e respiratório dos seres vivos. O pH desses fluidos corporais influencia fortemente na solubilidade dos contaminantes. Geralmente os contaminantes inorgânicos são mais solúveis em fluidos ácido como o fluido estomacal e os fluidos pulmonares (ANDRADE e ROCHA, 2014; PEREIRA, 2020). É necessário ainda, nesse contexto, que se consideram os efeitos sinérgicos, aditivos e antagônicos da ação de contaminantes sobre o metabolismo do organismo em questão (CORTECCI, 2013).

2.1.2 Elementos potencialmente tóxicos mais conhecidos

Quando se fala da exposição de seres vivos a contaminantes, sejam eles ambientais ou não, é importante que se tenha em mente a relação entre a dose e o efeito. Deve-se estar atento tanto à exposição dos indivíduos às doses letais, que são quantidades suficientes para causar morte dos mesmos, quanto à exposição às doses sub-letais, por longos períodos de tempo, que podem resultar em exposições crônicas (lentas e prolongadas) (SPARLING, 2017). Exposições rápidas dos indivíduos a baixas doses dos contaminantes em intervalos curtos de tempo podem não ser suficientes para evidenciar os efeitos dos contaminantes, entretanto, não significam que o risco deva ser negligenciado.

São vários os metais ou metaloides potencialmente tóxicos. Porém, aqui serão descritos apenas alguns elementos que serão abordados, justificados pelo foco aqui, tanto pela frequência de aparições em buscas quanto pela presença no solo que foi estudado em laboratório. Dentre eles o Alumínio (Al), o Cádmio (Cd), o Chumbo (Pb), o Manganês (Mn), o Mercúrio (Hg) e o Arsênio (As), foram objeto principal desta pesquisa.

2.1.2.1 Alumínio (Al)

Elemento metálico branco leve, macio, porém resistente, de densidade relativa 1,5. Este metal é um dos mais comuns na crosta terrestre, seu estado de valência varia de 2⁻ a 3⁺. O Alumínio é muito insolúvel em água, considerando um pH neutro a ligeiramente ácido. Em valores de pH de 4,5, tem-se um aumento significativo da solubilidade do elemento, o que pode elevar os riscos de intoxicação, sendo uma das causas mais importantes de mortalidade de peixes em lagos acidificados. Também é fato conhecido que a acidificação das águas pode afetar o crescimento e o desenvolvimento ósseo de jovens aves aquáticas visto que o Al pode formar complexos insolúveis com o fósforo, alterando a formação do tecido ósseo dos animais (WALKER, SIBLY, *et al.*, 2012; SPARLING, 2017).

2.1.2.2 Cádmiu (Cd)

Metal considerado não essencial ao ser humano, encontrado na crosta, em concentrações de 0,1 a 1,0 mg.kg⁻¹, considerado carcinogênico, teratogênico e sua forma divalente (Cd²⁺) é facilmente acumulada pelos rins, com severos danos ao sistema excretor. De acordo com Pereira (2020), a bioacumulação de cádmio em animais é bem maior em relação a outros metais, sendo que ele é assimilado de forma rápida e excretado lentamente. Em solos contaminados pela mineração de Pb e Zn, especificamente encontrada no sudoeste da China, testes de bioacessibilidade oral revelaram maior concentração bioacessível, na fase gástrica (78%) e na fase intestinal (40%) (PEREIRA, 2020). O metal afeta o ciclo metabólico do cálcio, do fósforo e da vitamina D (WALKER, SIBLY, *et al.*, 2012; CESAR, CASTILHOS, *et al.*, 2014; SANTOS, 2019).

2.1.2.3 Chumbo (Pb)

Capaz de produzir efeitos neurológicos muito graves em humanos e animais selvagens (ROCHA, 2009). Assim como o mercúrio, é um metal macio, maleável e o elemento não radioativo mais pesado da tabela periódica. Pode ser encontrado na natureza como Pb elementar ou Pb²⁺. Possui solubilidade em água de 6,4×10³ mg.L⁻¹ para temperaturas na faixa de 20 a 25°C. Grande quantidade do Pb extraído anualmente utilizado é para a produção de baterias. Antes da descoberta de seus efeitos tóxicos, o elemento foi utilizado indiscriminadamente pela indústria, principalmente para a produção de tintas, pesticidas e outros produtos comerciais (SPARLING, 2017; WALKER, SIBLY, *et al.*, 2012).

2.1.2.4 Mangânes (Mn)

Metal de transição, sólido na temperatura ambiente com brilho metálico característico. Possui alta dureza (resistência ao risco), porém é quebradiço (fracas ligações estruturais). Não há padrões legislativos estabelecidos para concentração de manganês e ferro (FREITAS, RAMBO, *et al.*, 2017) em sedimentos, porém vários estudos já realizados (BARBOSA, CABRAL, *et al.*, 2010; SEGURA, NUNES, *et al.*, 2016; QUADRA, BIOROLAND, *et al.*, 2018; SANTOS, 2019) apresentam resultados que apontam os possíveis efeitos toxicológicos do elemento, inclusive levando em

consideração os seus diversos estados de oxidação. O Mn, pode estar presente no ambiente em associações com os metais e metaloides aqui descritos.

2.1.2.5 Mercúrio (Hg)

Capaz de produzir efeitos neurológicos muito graves em humanos e animais selvagens, pois não tem nenhuma função biológica conhecida, mas é um metal raro na crosta terrestre com concentração média de $0,08 \text{ mg.kg}^{-1}$ em solos e sedimentos e seus estados de valência mais comuns variam entre 0, 1 e 2. É também capaz de formar complexos orgânicos como o metilmercúrio (MeHg) (CESAR, CASTILHOS, *et al.*, 2014), que é solúvel em gorduras. Isso auxilia na concentração e biomagnificação do elemento nos tecidos dos organismos vivos e, conseqüentemente, ao longo das cadeias alimentares. (SPARLING, 2017; WALKER, SIBLY, *et al.*, 2012)

2.1.2.6 Arsênio (As)

Trata-se de um metaloide de coloração acinzentada, cristalino e sólido, com estados de oxidação 3^- , 0, 3^+ e 5^+ , com predomínio das espécies 3^+ e 5^+ em água, a depender do pH e do potencial de oxidação do meio. Em solos considerados não contaminados, a concentração normal de As é de $5-10 \text{ mg.kg}^{-1}$, sendo que a dose de As inorgânico letal para humanos é de $6 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ (TEIXEIRA, 2004). Dentre as valências apresentadas, o elemento na forma trivalente (arsenito, As^{3+} ou AsIII) é dez vezes mais tóxico que sua forma pentavalente (arsenato, As^{5+} ou AsV) e ainda apresenta uma mobilidade no meio ambiente significativamente maior (CESAR, CASTILHOS, *et al.*, 2014; ANDRADE e ROCHA, 2014).

O AsIII dilui-se e permanece solúvel em água com valores de pH próximo da neutralidade, aumentando a chance de contaminação do ambiente, enquanto o arsênio pentavalente (AsV), por ter termodinamicamente uma estrutura menos estável, pode interagir com outros íons também solubilizados na água, formando precipitados ou complexos de menor solubilidade (TEIXEIRA, 2004). Assim sendo, o AsIII possui maior biodisponibilidade que o AsV e, portanto, conseqüentemente tem

mais possibilidade a incorporação ao organismo humano. É importante considerar-se que a água, além de ser essencial aos organismos vivos, é o meio que facilita a entrada dos contaminantes nos mesmos.

A toxicidade do As é causa de preocupação. As frações biodisponíveis do elemento, podem ser absorvidas pelos organismos vivos. No caso do AsV, sua semelhança com um nutriente essencial ao corpo humano, o fósforo, pode causar sua substituição pelo metaloide, entretanto, uma vez dentro da célula, o As não cumprirá as mesmas funções metabólicas esperadas para o fósforo. O As irá se acumular nas mitocôndrias inibindo a respiração celular (ANDRADE e ROCHA, 2014). O As interfere também em outras vias metabólicas importantes e é provável, de maneira ainda não muito esclarecida, que também interfira no metabolismo do ferro (TEIXEIRA, 2004). Além disso, já se conhece a potencial ação cancerígena das espécies de arsênio.

2.2 A indústria mineradora

Dada a realidade atual, é quase impossível imaginar como seria nossa vida sem a atividade da mineração. Ela torna possível o uso de diversos produtos essenciais e faz a economia fluir, sendo uma das bases de tantos processos industriais que garantem ampla geração de empregos. No entanto, tanto a mineração quanto tantas outras diversas atividades, modificam o ambiente e possuem impactos ambientais diversos (SOUZA e LINS, 1989; UDODENKO, 2022; PEREIRA, 2020).

Dentre os principais danos causados ao ambiente pelos processos envolvidos na atividade, estão: diminuição da cobertura verde; contaminação do solo; perda parcial ou total da fauna e flora, incluindo ecossistemas florestais; a redução da quantidade e qualidade dos recursos hídricos; a poluição do ar; danos à saúde; perda de habitação (SANTOS, 2017).

Esse setor da indústria, produz enormes volumes de resíduos volumes esses, de milhares de milhões de toneladas por ano de misturas processadas, sem valor econômico viável no momento da exploração, que possuem risco de contaminar vastas regiões (KOSSOFF, DUBBIN, *et al.*, 2014). Foi pensando nisso que Carvalho e seus colaboradores (CARVALHO, MESQUITA, *et al.*, 2018) situaram o Brasil como um dos maiores fornecedores mundiais de bens minerais do mundo, o que nos mostra

ainda que, além de grande, o volume de resíduos deve crescer ainda mais no país, futuramente.

Analisando um pouco mais esta temática da mineração, atualmente, um dos grandes problemas comentados tanto pela comunidade científica quanto pelos leigos, é a questão da segurança das barragens de rejeitos, preocupação essa agravada pelos episódios de rompimento ocorridos nos últimos anos. Lembramos aqui tratar-se, infelizmente, de eventos frequentes, tanto em barragens do Brasil quanto em outras espalhadas pelo mundo.

Por tais apontamentos, este trabalho concentra-se no estudo do potencial risco de exposição de seres vivos a alguns tipos de resíduos gerados por este setor da economia. Tratam-se de resíduos que, mesmo tratados, necessitam de controle frequente e acompanhamento.

2.2.1 Os metais nos resíduos na mineração

Como mencionado no tópico 2.1, vários metais são potencialmente tóxicos aos seres humanos. Dentre os resíduos pontuados, estudos de impactos ambientais (EIA's) de pilhas de estéreis, com As, Pb, Cu, Zn e Cd, mostraram em algumas situações ocorrerem fracas correlações entre teores altos dos metais nos resíduos e teores baixos em animais selvagens da localidade de deposição, enquanto em outros casos houve clara correlação entre os teores dos resíduos e os teores acumulados em animais e plantas (CORTECCI, 2013).

Simplesmente, encontrar um local para deposição final de rejeitos e estéreis não soluciona os eventuais problemas de toxicidade inerentes aos EPT's. Em processos em que se extrai metais do solo, é fato que o resíduo, seja estéril ou rejeito, irá possuir uma dada concentração metálica residual, ainda mais se sabendo que muitos metais se encontram geralmente associados e não são todos que possuem viabilidade econômica, no momento da exploração (MATOS, CUNHA, *et al.*, 2017; MORAIS, TEIXEIRA e MAXIMIANO, 2014).

Os recentes casos de rompimento de barragens (barragem de Fundão da empresa Samarco em novembro de 2015 e barragem de Brumadinho da empresa Vale, em janeiro de 2019) mostram como o risco de contaminação e dispersão podem vir a ocorrer em um instante. Além das mortes instantâneas, considerando-se o potencial risco toxicológico inerente dos resíduos pode-se imaginar que os impactos dessa contaminação poderão perdurar por dezenas ou centenas de anos assim, a situação é bastante problemática (QUADRA, BIOROLAND, *et al.*, 2018).

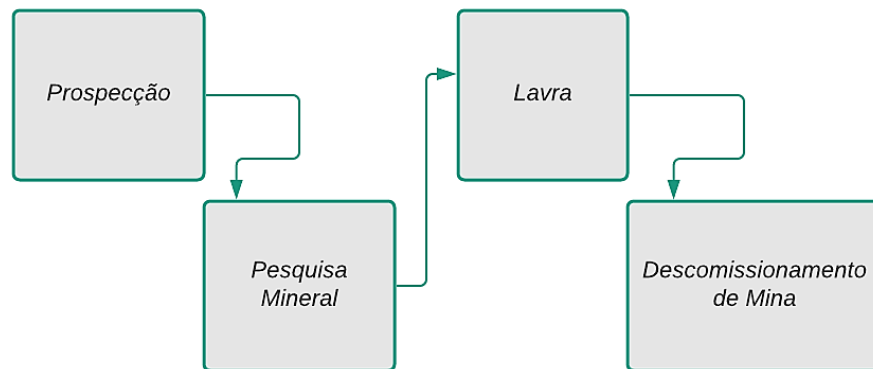
Como já mencionado, as formas químicas e físicas (especiação) de um elemento, dependem de uma série de características, como o pH e as condições de redox do meio, a valência e a disponibilidade de agentes complexantes, a formação de complexos e atuação de processos biogeoquímicos (CESAR, CASTILHOS, *et al.*, 2014; CORTECCI, 2013). Portanto, o produto residual do processo da mineração pode ser disposto com maior ou menor risco, a depender das suas características.

Assim, estar atento aos riscos toxicológicos potenciais dos elementos presentes nos rejeitos é essencial, mesmo quando se imagina ter a situação sob controle, já que não se sabe ou pode-se prever com precisão absoluta acontecimentos atípicos que podem causar a exposição direta (acidentes como os comentados) ou indireta (acumulação na cadeia trófica ou contaminação em água) dos seres humanos e outros seres vivos a tais contaminantes.

2.2.2 A origem dos rejeitos - Conceitos e etapas da mineração

Para entender um pouco mais sobre as características dos rejeitos da atividade mineradora, é fundamental explorar um pouco as etapas geradoras destes materiais residuais, cujas características, refletem e são influenciadas pelas etapas do processo de extração.

Conceitualmente, a mineração é uma atividade que visa extrair, preparar e concentrar um elemento bruto que seja economicamente rentável (mineral - minério), para indústria, de acordo com suas especificações. Na Figura 2 estão esquematizadas as etapas mais gerais da atividade mineradora.

Figura 2 - Etapas da mineração

Fonte: Elaboração própria

É preciso destacar que a descrição feita aqui será condicionada a uma generalização para simplificação do estudo, já que cada exploração mineral, possui suas especificidades.

A **prospecção** é a primeira etapa do processo e se divide em estudos preliminares e no reconhecimento geológico, em que se engloba operações como análises dos ambientes geológicos, métodos aéreos indiretos e prospecção geoquímica. Os resultados obtidos são a seleção de província mineral e do alvo a pesquisar possibilitando seu inicial planejamento (CARVALHO, MESQUITA, *et al.*, 2018). Nessa etapa é definida, ainda que superficialmente, toda área possível de se explorar.

Na segunda etapa do processo, temos a **pesquisa mineral** que se ramifica nos procedimentos de exploração, definidos como delineamento e avaliação, utilizando de técnicas de mapeamento geológico, controle da mineralização, quantificação e caracterização tecnológica. Aqui o nível de detalhamento aumenta, e a delimitação do local se torna mais precisa, obtendo-se as características da ocorrência mineral, do depósito e a jazida, sendo determinada a exequibilidade de seu aproveitamento econômico (CARVALHO, MESQUITA, *et al.*, 2018). Neste ponto, se tem mais segurança das escolhas realizadas pelo planejamento.

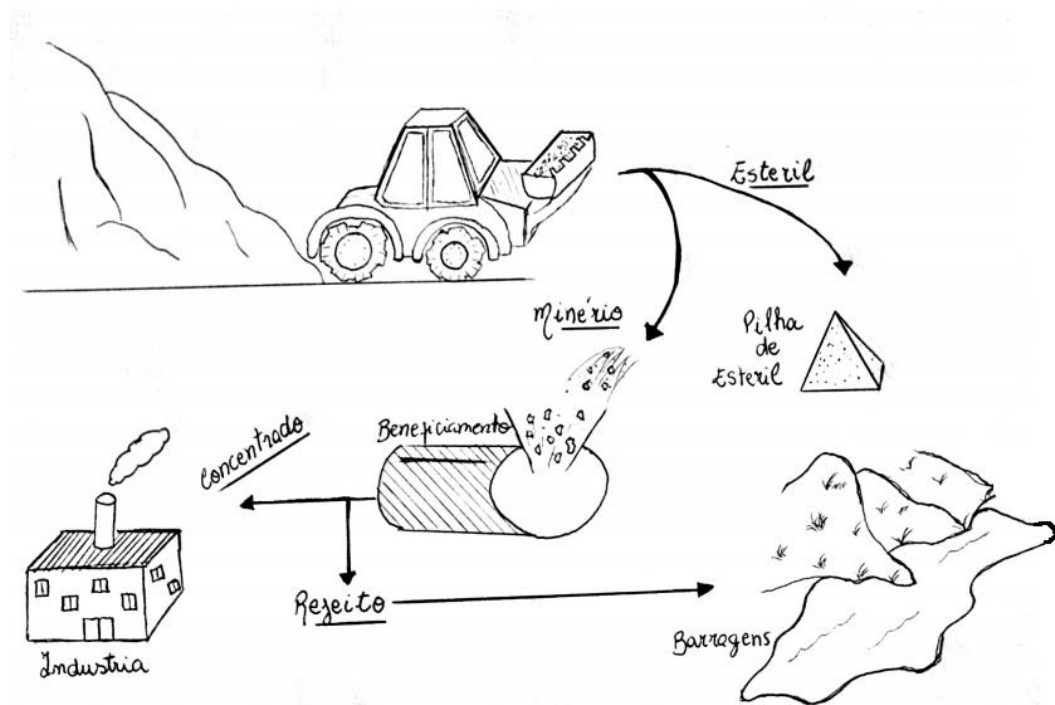
A seguir tem lugar a etapa da **lavra**. Esta etapa já envolve um conjunto de atividades e operações para o aproveitamento industrial das jazidas, que inclui:

- Projeto e desenvolvimento da mina;
- Preparação das frentes de lavra;
- Abertura da mina;
- Extração do minério; e
- Beneficiamento.

Nessas etapas, ocorre a geração de efluentes, tanto sólidos quanto líquidos e gasosos. Os resíduos em maiores volumes são os resíduos sólidos de extração, em geral deixados na área da própria mina (**estéril**); e resíduos do tratamento/beneficiamento (**rejeito**). A maioria das lavras no Brasil são feitas em minas superficiais, assim expondo um determinado material, ao ambiente. Quanto ao tipo de mina, é algo definido de acordo com as características analisadas nos tópicos trabalhados anteriormente (CARVALHO, MESQUITA, *et al.*, 2018).

Inicialmente é feita uma preparação para exploração, abertura da mina e definição das técnicas de extrações. A última etapa, objetiva preparar o material de acordo com a granulometria pedida, concentrar ou purificar para as indústrias ou demais clientes. Geralmente, esta pode ser química ou física, e possui fragmentação primária; granulação (fragmentação secundária e terciária); moagem; classificação; e concentração (CARVALHO, MESQUITA, *et al.*, 2018). Lembrando-se que esses são processos de modificação de características daquele material extraído. A Figura 3 retrata genericamente, o caminho do material metálico dentro dos processos feitos.

Figura 3 - Percurso dos metais no processo da mineração



Fonte: Elaboração própria

Por fim, quando as atividades minerárias precisam ser encerradas, tem lugar as atividades de **descomissionamento da mina** que é o conjunto de operações necessárias para a desativação da mina, incluindo a desmobilização da lavra, o fechamento e a recuperação ambiental, visando devolver o local para outros usos pela comunidade. Aqui são realizadas as compensações de todos impactos causados pelas etapas vistas.

2.2.3 Recuperação de área degradada pela mineração

Como visto, essa é uma das etapas da mineração, contidas no Descomissionamento da Mina, mas pode ser considerada uma etapa realizada concomitante às demais. A importância de se adentrar mais nesta etapa, se justifica pela hipótese definida nesse estudo, ser aplicada a verificação da toxicidade em

ambientes que foram destinados a receber rejeitos (barragens) ou estéreis (pilhas de estéreis), que, por lei devem ser remediadas.

A reabilitação dessas áreas de exploração que estão contaminadas é complexa (WALKER, SIBLY, *et al.*, 2012). O método usualmente utilizado para reabilitação é o capeamento em que o depósito contaminado é coberto com uma camada impermeável, para em seguida, cobrir a camada com solo rico em nutrientes visando possibilitar o plantio de árvores.

Quanto aos aspectos legais, partimos da lei Federal Nº 6.938/81, da Política Nacional do Meio Ambiente que, no seu Artigo 3º do inciso II (BRASIL, 1981) define a degradação da qualidade ambiental como sendo a alteração adversa das características do meio ambiente. Adicionalmente, dentre as normas ABNT, tem-se a Norma ABNT – NBR 13030, que objetiva a fixar diretrizes para elaboração e apresentação de projeto de reabilitação de áreas degradadas pelas atividades de mineração, pois os impactos negativos da mineração devem ser sempre compensados e revertidos (ARTIOLA, PEPPER e BRUSSEAU, 2004). Durante a elaboração e apresentação dos projetos de reabilitação de áreas degradadas pela mineração é importante considerar a conformação topográfica e paisagística; a estabilidade; o controle de erosão e drenagem; a adequação paisagística; a revegetação; o monitoramento; os cronogramas físicos e financeiro. Dentro dessa perspectiva, surge o Plano de Recuperação de Áreas Degradadas (PRAD), que legalmente deve ser previamente elaborado e aprovado pelo órgão governamental competente.

O PRAD é um sistema de medidas que visam a garantia da segurança e da saúde pública, através do restabelecimento de equilíbrio dinâmico e a devolução de áreas degradadas pelas ações humanas, retornando-as às condições desejáveis e necessárias à implantação de um uso posterior, previamente eleito e socialmente aceitável. Cada situação pede uma PRAD específico (IBAMA, 2019). Estas medidas devem ser constantemente acompanhadas, para que sejam efetivas.

2.2.3.1 Técnicas mais utilizadas para remediação de solo contaminado

Algumas técnicas têm sido descritas como eficazes para a recuperação de solos degradados pela atividade mineradora. Abrangem tanto tratamentos que acontecem

no mesmo local (*in situ*) ou que demandam retirada e transporte do material para um local diferente, onde acontecerá o tratamento proposto (*ex situ*). A seguir, algumas delas serão apresentadas, resumidamente.

De acordo com (SANTOS, 2017; ARTIOLA, PEPPER e BRUSSEAU, 2004), algumas das técnicas mais comumente utilizadas em solo seriam:

- **Escavação** – Método rápido *ex situ* que busca remover e dispor fisicamente um solo contaminado em um aterro designado. Suas desvantagens são a exposição dos trabalhadores ao solo, além de requerer tratamento e/ou descarte adequado e viabilidade apenas para áreas pequenas e/ou rasas.
- **Lavagem do solo / Extração de ácido** – Método *ex situ*, em que há suspensão ou dissolução do metal numa solução de lavagem à base de H₂O. Como no processo descrito anteriormente, produz efluente contaminado, que exige tratamento posterior.
- **Encapsulamento/ Capeamento** – Método *in situ*, em que uma capa dura e pouco permeável é disposta na superfície do solo contaminado. Trata-se de um método simples que, porém, não prevê a remoção dos contaminantes do solo. Este método acaba por isolar a área, sem submetê-lo a nenhum tipo de tratamento de descontaminação sendo, portanto, uma solução provisória.
- **Solidificação** - Método *in situ*, que mistura o solo contaminado com estabilizantes, reduzindo a mobilidade dos contaminantes. Tal qual o procedimento anterior, não é uma técnica de tratamento, mas sim de isolamento.
- **Vitrificação** - Método *in situ*, em que o metal é quimicamente ligado dentro de uma matriz de silício;
- **Biorremediação** – Método *in situ*, que se vale da atividade de micro-organismos, que ocorrem de forma natural, para descontaminar os locais contaminados. Podem ser empregadas técnicas tanto *in situ* quanto *ex situ* ou ainda, esse processo pode vir a ocorrer de forma natural no ambiente.

Neste caso pode ser preciso também adição de oxigênio e nutrientes para estimular o processo.

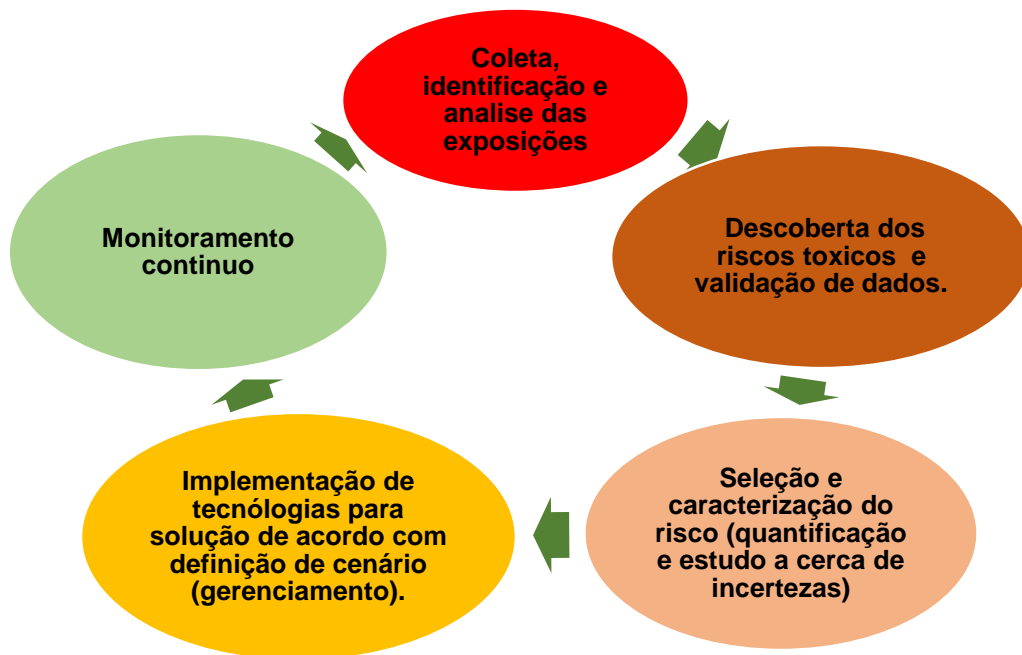
- **Biolixiviação** - Remoção *ex situ* de metais contaminantes ao solo, realizado por lixiviação microbiana, ou outro meio biológico.
- **Métodos eletrocinéticos** – A partir da criação de um campo elétrico na subsuperfície por meio de um par ou série de eletrodos na região a ser tratada, contaminantes com características singulares que possibilitem tal processo, são retirados por atração eletromagnética.
- **Fitorremediação/ fitoextração**: Método *in situ*, em que se utiliza de plantas que podem extrair metais pesados do solo e acumulá-los na biomassa acima do solo. Assim como na biorremediação pode ser necessário o incremento de oxigênio e nutrientes. Ainda que seja feita essa etapa, posteriormente é necessário também dar tratamento e destinação correta à matéria orgânica, para evitar que seja esse, outro meio de contaminação.

Após a análise do contaminante e conhecidas algumas das técnicas disponíveis, faz-se a escolha pela estratégia de remediação a ser utilizada e sua implementação. Para análise da efetividade da estratégia escolhida e para manutenção da mesma, é feito o monitoramento ambiental.

2.2.3.2 Monitoramento ambiental

O monitoramento ambiental é uma importante atividade que se dá por meio de observação, coleta de informações e validação de dados, visando acompanhamento contínuo e sistemático de variáveis ambientais, sociais, econômicas e institucionais com a intenção de identificar qualitativa e quantitativamente as condições de uma área, sendo considerada metodologia científica, pois, o conjunto de observações geram informações valiosas (ARTIOLA, PEPPER e BRUSSEAU, 2004; MORAIS, TEIXEIRA e MAXIMIANO, 2014) . Essa atividade é realizada com a meta de impedir e prevenir problemas, em uma situação na qual se suspeita de degradação (diagnóstico) ou em uma área em processo de remediação. A Figura 4 apresenta, de forma simplificada o fluxo de um processo de avaliação de risco.

Figura 4 – Ciclo do acompanhamento do estudo e intervenção para riscos ambientais



Fonte: Adaptado de (SPARLING, 2017; MORAIS, TEIXEIRA e MAXIMIANO, 2014)

Para realização desse monitoramento, são utilizadas diversas ferramentas e estratégias. Uma dessas estratégias baseia-se no uso de indicadores que devem ser sensíveis o suficiente para detectar variações no sistema como resultado das práticas de remediação ou restauração. Santos (SANTOS, 2017) comenta que se obtém através delas, informações quanto a eficácia ecológica da implementação do projeto de remediação e restauração.

O uso dos bioindicadores possibilita identificar mudanças especiais e temporais da área contaminada (a toxicidade pode aumentar ou reduzir-se com o tempo e/ou influências externas); identificar fontes de risco para os recursos naturais existente na área degradada; e caracterizar aspectos físico-químicos do solo. Isso por meio de observações amostrais representativas de uma população considerando parâmetros importantes (ARTIOLA, PEPPER e BRUSSEAU, 2004). Morais e colaboradores

(MORAIS, TEIXEIRA e MAXIMIANO, 2014) complementam que a coleta, a análise e a validação de dados coletados, visam estabelecer uma base de informações para o desenvolvimento da etapa de avaliação da exposição.

De acordo com a legislação vigente na resolução Conama 01/86, Artigo 2º (MMA, 1986) é prevista a elaboração de Estudo de Impacto Ambiental e o Relatório de Impacto Ambiental, descritos pelo inciso IX no qual se especifica a necessidade para extração de minério definidos no código de mineração. Ainda nessa resolução, no Artigo 6º, inciso IV, uma das atividades a serem realizadas para esses estudos é a elaboração do programa de acompanhamento e monitoramento dos impactos positivos e negativos, indicando os fatores e parâmetros a serem considerados.

Destaca-se ainda a grande importância das normas do CONAMA na estipulação dos valores de referências que limitam o teor de algumas substâncias, tanto no lançamento de efluentes, quanto em solo. As resoluções CONAMA mais relevantes seriam:

- a) A resolução Conama 357 de 2005 (complementada pela resolução 430 de 2011):

“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” (MMA, 2005).

- b) A resolução Conama 420 de 2009:

“Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas” (MMA, 2009).

O teor de contaminantes (orgânicos e inorgânicos) no ambiente, demanda monitoramento constante, daí a importância dos estudos ecotoxicológicos.

2.3 Uso do *Allium cepa* na Ecotoxicologia

A Ecotoxicologia, é um ramo da toxicologia ambiental, que analisa os efeitos nocivos provocados à biota, decorrentes da exposição a agentes tóxicos (MANAHAN,

2013; BARBOSA, CABRAL, *et al.*, 2010) . Seus princípios se estruturam em respostas de organismos bioindicadores a estresses químicos por meio dos ensaios toxicológicos destinados ao controle e monitoramento da qualidade dos ecossistemas (ARRAES e LONGHIN, 2012; SPARLING, 2017). No caso deste trabalho, explicitou-se o teste com uso do *Allium cepa* tanto na fase vegetal (adulta), quanto na fase (semente).

2.3.1 Risco Ecológico

Conceitua-se o risco ecológico como um processo lógico, em que se avalia a probabilidade de ocorrência de efeitos adversos à saúde dos ecossistemas, por algum estresse ambiental causado por atividades antrópicas ou naturais. Incrementando tal conceito temos uma ordem de impactos que abrangem em primeiro momento o contato com poluente, mudanças bioquímicas, mudanças fisiológicas, resposta do organismo, mudança na comunidade, alteração na composição da população e enfim, interferência nos ecossistemas. Cada autor a seguir, descreve uma forma de abordagem, com diferentes estratégias (CESAR, CASTILHOS, *et al.*, 2014; ARTIOLA, PEPPER e BRUSSEAU, 2004; MMA, 2009; OGA, CAMARGO e BATISTUZZO, 2014) mas, de modo consensual, suas etapas, em essência, são:

- **Criação do problema:** Definição dos agentes tóxicos de interesse (em geral, substâncias/elementos de maior toxicidade), dos receptores ecológicos e das vias de exposição associadas aos diferentes organismos, e da definição dos componentes de alta relevância ecológica.
- **Avaliação da exposição:** Estimativa da taxa de incorporação dos contaminantes de interesse pelos organismos, dependente de variáveis como: concentração dos agentes tóxicos (no ar, água, solo, sedimento, rocha), vias de exposição consideradas (taxas de ingestão, inalação, hábitos alimentares, peso corpóreo, contato dérmico), tempo de exposição e o comportamento biogeoquímico dessas substâncias/elementos no ambiente.

- **Avaliação da toxicidade:** Determina-se a dose ou concentração aceitável para receptores específicos que podem estar expostos nas condições atuais (antes da implementação do empreendimento) sem risco ou com um risco mínimo de desenvolvimento de efeitos adversos. Geralmente essa avaliação ocorre na comparação de referências padronizadas para uma determinada localização. Aqui é identificado o perigo por meio de testes e bioensaios físico-químicos e toxicológicos.
- **Caracterização do risco:** Probabilidade de ocorrência e severidades, ou seja, é uma etapa que comparação dos resultados da avaliação da exposição e da avaliação da toxicidade para encontrar o potencial das substâncias químicas provenientes do local de causar risco à saúde dos receptores ecológicos. Uma das maneiras de calcular este risco (MORAIS, TEIXEIRA e MAXIMIANO, 2014; SANTOS, 2019), é pelo produto da concentração ingerida (C_{in}) de uma substância hipotética **X**, dada em $mg.kg^{-1}.dia^{-1}$, pelo fator de carcinogenicidade (F_c) da substância **X**, em $mg.kg^{-1}.dia^{-1}$ como identificado na equação 1. Tais cálculos podem ser feitos para diferentes compartimentos ambientais.

$$Risco_x = C_{in} * F_c \quad (\text{Eq. 1})$$

(Fórmula para elementos potencialmente cancerígenos)

O fator de carcinogenicidade, como verificado pela Tabela 1 pode ser encontrado em agências e organismos nacionais e internacionais reguladores, de acordo com as possibilidades de exposição aos receptores, como por exemplo a duração e via de exposição. Algumas dessas conhecidas agencias são a US EPA (United States Environmental Protection Agency) e a IRIS (Integrated Risk Information System).

É importante ainda lembrar que, em um compartimento (solo, ar ou água), o risco total é a soma dos riscos (equação 2) de cada substância isolada (SPARLING, 2017;

MORAIS, TEIXEIRA e MAXIMIANO, 2014). Lembrando que esse cálculo é uma estimativa e não considera o risco de tal, quando ele se encontra associado a outros.

$$Risco_{total} = Risco_x + Risco_y + Risco_z + (\dots) \quad (\text{Eq. 2})$$

Tabela 1 – Valores para fatores de carcinogenicidade (Fc) para alguns elementos metálicos e semimetálicos

EPT	Dose de referência		Fator de Carcinogenicidade (Fc)		Fator de Carcinogenicidade (Fc)- Água potável ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
	Ingestão ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	Inalação ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$)	Ingestão ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	Inalação ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$)	
Alumínio	1	$1,4 \times 10^{-3}$	NC	NC	NC
Arsênio e seus compostos inorgânicos	3×10^{-4}	$1,5 \times 10^{-5}$	15	$4,3 \times 10^{-3}$	5×10^{-5}
Bário e seus compostos	7×10^{-2}	$1,4 \times 10^{-4}$	NC	NC	NC
Cádmio e seus compostos	1×10^{-3}	$1,5 \times 10^{-5}$	6,3	$1,8 \times 10^{-3}$	NC
Chumbo e seus compostos inorgânicos	NC	NC	$8,5 \times 10^{-3}$	NC	NC
Cobalto e seus compostos	3×10^{-4}	2×10^{-5}	NC	9	NC
Cromo	3×10^{-3}	1×10^{-4}	NC	$1,2 \times 10^{-2}$	NC
Manganês	$2,4 \times 10^{-2}$	$1,4 \times 10^{-5}$	NC	NC	NC
Mercúrio e seus compostos	NC	3×10^{-4}	NC	NC	NC
Zinco	3×10^{-1}	NC	NC	NC	NC

NC= Não consta nos bancos de dados pesquisados

Fonte: Adaptado (USEPA, 2008), 2023

2.3.2 Testes (eco)toxicológicos

Diversos tipos de organismos, são utilizados na avaliação da toxicidade, assim como no estudo da distribuição espacial e temporal de contaminantes. Por meio da

ideia de monitoramento, a avaliação da toxicidade e da biodisponibilidade é geralmente realizada através da observação de efeitos letais e subletais aos organismos indicadores. O melhor bioindicador a se usar, depende da sensibilidade do organismo, as condições e vantagens da escolha (GERAS’KIN, EVSEEVA e OUDALOVA, 2011). Cada caso possui características específicas e analisando os indivíduos possíveis, é possível determinar o mais eficiente. Para este estudo, sugerimos o uso do *Allium cepa*.

2.3.2.1 Testes ecotoxicológicos com *Allium cepa*:

Allium cepa é o nome científico da cebola. Trata-se de uma espécie vegetal muito sensível a estresses químicos, sendo possível observar já a olho nu, as modificações no seu desenvolvimento (coloração do vegetal, comprimento da planta, tamanho e quantidade das raízes). O *Allium cepa* responde com certa semelhança, à anormalidades induzidas por produtos químicos específicos em sistemas tanto animais quanto vegetais (LEME e MARIN-MORALES, 2009). Os mesmos autores, relatam também que o vegetal possui células grandes que facilitam, em muito, a análise microscópica das eventuais alterações em seu desenvolvimento.

Além dessas facilidades como possibilitar rápida visualização das anomalias quando os exemplares são colocados em contato com elementos metálicos e outros contaminantes, inclusive nanomateriais; trata-se de um vegetal barato e de fácil obtenção (ARRAES e LONGHIN, 2012). Além disso, há reconhecida similaridade na organização cromossômica do vegetal com a dos seres humanos, aliada a uma alta sensibilidade do organismo aos efeitos do meio externo, quando comparado a outras espécies (BLAGOJEVIC, STAMENKOVIC’ e VUJOŠEVIC, 2009; QUADRA, BIOROLAND, *et al.*, 2018). O desenvolvimento do *Allium cepa* depende de diferentes fatores, da região na qual se pretende cultivá-lo, da temperatura, do fotoperíodo e, principalmente, da fertilidade do solo. O cultivo é favorecido em meio com pH entre 5,5 e 6,0 e menores quantidades de fósforo (P), quando comparados aos nutrientes: nitrogênio (N) e potássio (K) (BARBOSA, 2018).

Para o desenvolvimento vegetal, o solo é o principal meio de fornecimento de diversos nutrientes (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+) e o facilitador da infiltração e dinâmica da

água para absorção pelas raízes. Solos bem estruturados apresentam maior porosidade, facilitam as trocas gasosas, dão condições a existência de uma microbiota favorável, influenciando em melhores condições para o desenvolvimento das raízes das plantas (BORTOLINI , 2022). De acordo com (ARATANI, 2009) a capacidade produtiva de um vegetal e a sustentabilidade do sistema de manejo é apenas um reflexo do grau de degradação do solo, degradação esta, influenciada por diversos fatores, como: clima local, tipologia associada, textura, ocupação e manejo do solo. Considerando tais fatores como de extrema importância ao desenvolvimento das plantas vê-se que o desenvolvimento inadequado do *Allium cepa* pode facilmente ser considerado como um forte indício de que algo está errado com o solo ou com a água absorvida pelo vegetal.

Os testes (eco)toxicológicos que utilizam o *Allium cepa*, foram desenvolvidos como um método para triagem rápida de produtos químicos e amostras ambientais em que geralmente, os testes são realizados para verificar efeitos citotóxicos (toxicidade relacionada a mutações nas células ou em suas funções) e genotóxicos (toxicidade relacionada a mutações no DNA) (GERAS’KIN, EVSEEVA e OUDALOVA, 2011; JAYAWARDENA, WICKRAMASINGHE e UDAGAMA, 2021; PATHIRATNE, HEMACHANDRA e SILVA, 2015). O protocolo 208 da **OECD** - GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS apresenta um guia para avaliar os efeitos da exposição à produtos químicos presentes no solo (ou outra matriz) em mudas de plantas superiores e no crescimento inicial dessas plantas (OECD, 2006).

A) Testes com bulbos de *Allium cepa* – desenvolvimento de raízes:

O *Allium cepa* possui a possibilidade de expor o organismo teste diretamente para misturas complexas (ARRAES e LONGHIN, 2012). O teste de desenvolvimento de raízes consiste na exposição (de 48 horas pelo menos) dos bulbos de indivíduos já em fase adulta, à substância(s) potencialmente tóxicas para avaliação do efeito dessa exposição no crescimento radicular da planta.

A imersão do bulbo em substância líquida composta pelos contaminantes extraídos do solo, pode provocar inibição do crescimento das raízes e efeitos adversos causados aos cromossomos das células meristemáticas do vegetal (ARRAES e LONGHIN, 2012). Isso ocorre pela absorção da solução diretamente pelo bulbo. Portanto é possível verificar aspectos como: quantidades e tamanho das raízes e, de forma microscópica, as alterações celulares das raízes. É importante garantir mesmas condições ambientais (quantidade de solução, tamanhos e pesos das cebolas, temperatura e umidade) aos diferentes grupos (controles e testes) para as comparações serem válidas.

B) Testes de germinação de sementes de *Allium cepa*:

Neste caso é feita a observação do desenvolvimento dos organismos em sua fase inicial, utilizando-se sementes da espécie escolhida. A semente semeada em solo (contaminado ou irrigado com solução contaminada) é observada por algumas semanas, para verificação da inibição da brotação da espécie e do desenvolvimento das plântulas. A avaliação final ocorre após, geralmente, 14 a 21 dias, após se observar 50% da emergência das mudas no grupo de controle. Nesse momento são realizadas a avaliação visual da emergência das mudas; medição do peso do broto seco (alternativamente peso do broto fresco); comparação da altura do broto, assim como também há possibilidade de avaliação microscópica nas raízes (OECD, 2006).

A solo pode ser usado já contaminado de início, ou de maneira mais controlada pode ser utilizado a contaminação por meio da irrigação de substância avaliada na forma diluída em um substrato inicialmente saudável. Novamente, é importante, garantir a uniformidade nas condições do teste.

Dessa forma, esse trabalho de conclusão de curso, assim como outros estudos previamente publicados (PATHIRATNE, HEMACHANDRA e SILVA, 2015), (GERAS'KIN, EVSEEVA e OUDALOVA, 2011) objetiva avaliar o potencial do uso da espécie *A. cepa* em bioensaios, como ferramenta complementar simples e economicamente viável, para a avaliação da toxicidade de efluentes e resíduos sólidos da mineração.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

- Para alcançar os objetivos específicos 1 e 2: Artigos e materiais bibliográficos foram coletados na plataforma Periódicos Capes;
- Para alcançar o objetivo específico 3:
 - 1) Indivíduos vegetais de *Allium cepa* - bulbos de pequeno tamanho (pesos entre aproximadamente a faixa de 18 g a 30g); adquiridos em supermercados e mercados da cidade.
 - 2) Sementes de *Allium cepa* (fornecedor, Feltrin sementes – Sementes de cebola amarela – pacotes de 400 mg) adquiridos em lojas de suplementos agrícolas da cidade
 - 3) Amostra de solo da mina do Chico Rei. Descrito no tópico 3.2.3.2;
 - 4) Soluções padrão de Arsênio (As) - 1000 mg.L⁻¹ (Fluka); Cádmiio (Cd) – 997 mg.L⁻¹; Manganês (Mn) – 1000 mg.L⁻¹ (SpecSol)
 - 5) Água destilada;
 - 6) Substratos: Terra Fértil (Terra vegetal, esterco de curral, composto orgânico, calcário dolomítico e finos de carvão) e Vitaplan (casca de pinus, areia para substrato, vermicomposto e vermiculita), adquiridos em lojas de suplementos agrícolas da cidade;
 - 7) Caixas de germinação com luz led b-box- 20 cm (comprimento) x 20 cm (largura) x 8 cm(altura) (Fornecedor Brota Company);
 - 8) Copos de poliestireno com capacidade de 50 ml (CopoPlast) e 100 ml (CopoZan);
 - 9) Palitos roliços de madeira (caixa de 100 unidades da marca Gina);
 - 10) Filtros biodegradáveis (filtros de cigarros - 6mm de diâmetro e 1,5 de comprimento; marca Papelito);
 - 11) Béqueres, pipetas, balança, tubos Falcon, balões volumétricos de 250 ml;
 - 12) Material de papelaria;
 - 13) Reagentes: Ácido acético glacial e álcool etílico absoluto.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Verificação da possibilidade do uso de testes (eco)toxicológicos usando *Allium cepa* para monitoramento de ambientes com EPT's

Buscando atingir cada meta definida dentro do tópico objetivos específicos, apresentam-se aqui as descrições das etapas experimentais desenvolvidas:

3.2.2 Levantamento e identificação dos principais usos do *Allium cepa* na área ambiental

Utilizando-se a plataforma Periódicos Capes (<https://www-periodicos-capes-gov-br.ez1.periodicos.capes.gov.br/index.php?>) pretendeu-se buscar textos cujas palavras-chaves representassem os assuntos referentes ao objetivo específico 1, de forma abrangente. As palavras definidas para essa finalidade foram: Monitoramento, *Allium cepa*, toxicidade, metais, ensaio, genotoxicidade. Cada palavra foi buscada individualmente em inglês (Monitoring, *Allium cepa*, toxicity, metals, assay e genotoxicity), seguido de um cruzamento de resultados dentro de cada base para refinamento de informações. As bases de pesquisas escolhidas, foram a Web of Science e Scopus.

Após a análise e identificação de cada caso dos textos coletados, foram elaboradas tabelas contendo as descrições dos principais dados de cada texto selecionados visando levantar detalhes de estudos que possam melhor sustentar a hipótese do uso dos testes com *Allium cepa*.

3.2.3 Testes ecotoxicológicos utilizando *Allium cepa*

Para validar o uso dos testes laboratoriais com *Allium cepa*, tanto com o bulbo do indivíduo vegetal e a semente da espécie, foram feitos ensaios com a finalidade de verificar a sensibilidade e resposta do vegetal a elementos metálicos e metaloides que foram parte da metodologia aplicada para atingir objetivo específico 4. Serão usados para esta atividade, soluções contendo As, Mn e Cd, e amostras de solo coletadas da mina de Chico.

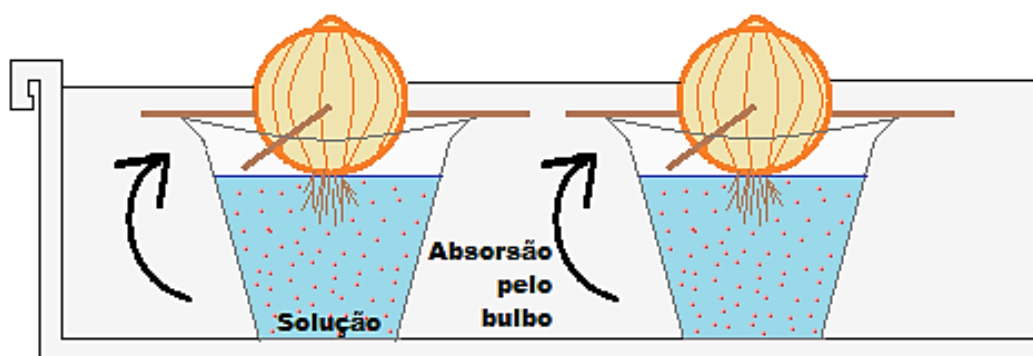
3.2.3.1 Testes de desenvolvimento de raízes nos bulbos vegetais

Estes testes foram adaptados tendo base na metodologia proposta por FISKESJÖ (1985) citada por Arraes e colaboradores (2012) o qual enfatiza que o parâmetro macroscópico mais importante a ser analisado é o crescimento das raízes podem ser realizados com a finalidade de se avaliar os efeitos da contaminação dos compartimentos aquosos sobre a espécie vegetal estudada.

O bioensaio trata-se, de testes de resposta mais rápida, quando comparados aos ensaios de germinação (informação obtida pós análise laboratorial e considerando período de resposta até 48 horas), podendo assim ser executados como um teste exploratório. Para esses ensaios utilizaram-se cebolas (*Allium cepa*) compradas em mercados. Foram escolhidos vegetais pequenos com aproximadamente mesmo peso e tamanho, para facilitar o manuseio e padronizar as condições dos testes. Assim, antes de cada experimento cada bulbo foi pesado e identificado.

Para a montagem experimental, colocou-se 40 ml de cada solução problema em 1 pote de 50 ml de capacidade. Cada bulbo de cebola foi fixado na superfície dos potes com o auxílio de palitos de madeira com angulação de 90 graus (cruzados), de forma que apenas a base da cebola encostasse na solução, conforme corte do sistema de ensaios demonstrado na Figura 5.

Figura 5 - Experimento do bulbo de *Allium cepa* em corte



Fonte: Elaboração própria

Para melhor organização e visualização, os grupos experimentais (5 organismos por grupo) foram organizados em fileiras, dentro de um recipiente plástico como mostrado na Figura 6. Os grupos experimentais foram mantidos em observação por 1 semana, com o cuidado de garantir que o vegetal se mantivesse em contato com o fluido durante todo o tempo de duração do experimento.

Figura 6 – Pesagem e montagem experimental do teste de desenvolvimento de raízes de *Allium cepa*



Ao fim da exposição, as raízes desenvolvidas foram medidas e pesadas. As três raízes mais desenvolvidas em cada bulbo foram separadas e preservadas em solução Carnoy (1ml de ácido acético glacial + 6 ml de Etanol 70 %) para possibilidades de testes futuros que não objetivos deste trabalho.

Os testes de brotação foram feitos com o emprego de soluções formuladas com diferentes concentrações de As (Tabela 2), para estudo dos efeitos isolados do metaloide e As, Cd e Mn, em diferentes proporções (Tabela 3), para estudo da interação entre os EPT's.

Efeito inibitório de diferentes concentrações de arsênio isolado

As concentrações que foram usadas para este ensaio estão descritas na Tabela 2. A escolha das concentrações deve-se a diluições de solução coletada em

amostra de água próximas a Mina do Chico Rei em Ouro Preto (concentração de 1 g.L⁻¹). Não é uma quantidade comum de ser encontrada, porém é uma situação real do município. Assim teve-se o cuidado de preparar 250 ml de cada solução a fim de garantir a reposição dos volumes, em casos de eventuais perdas no sistema (evaporação e absorção pela planta). Os valores de pH originais das soluções não foram corrigidos. Como controle utilizou-se água destilada.

Tabela 2 - Grupos experimentais e concentrações de arsênio empregadas

Grupo	Concentração de Arsênio (mg.L⁻¹)
A	100
B	10
C	1
D	7,5
E	5
F	2
G	0,5
Controle	0

Primeiramente foi realizada uma batelada de testes com 100 mg.L⁻¹; 10 mg.L⁻¹; 1 mg.L⁻¹ e controle, obtidas por solução inicial de 1 g.L⁻¹ diluídas em água destilada. A partir da solução mais concentrada T1, produziu-se as demais, por diluição. Após definidos os resultados nessa fase inicial, foram refinados os testes dentro de um intervalo menor de abrangência (de 0,5 a 10mg.L⁻¹), sendo estas as concentrações de 7,5; 5; e 0,5 mg.L⁻¹, obtidas de mesma maneira que as soluções anteriores.

Foram montados grupos experimentais, cada um com uma concentração, com 5 indivíduos cada, denominados por ordem alfabética e em ordem decrescente de concentração e assim foram iniciados os testes.

Efeito inibitório de Arsênio (As) + Cádmiio (Cd) + Manganês (Mn)

Após análise da Resolução Conama 357 (MMA, 2005) complementada pela Resolução Conama 430 de 2009, observou-se que os limites de lançamentos em

efluentes dos elementos As, Cd e Mn são, respectivamente, 0,5; 0,2; e 1 mg.L⁻¹. Por outro lado, o limite permitido em corpos d'água de classe 2 para os mesmos elementos são, respectivamente, 0,01; 0,001; e 0,1 mg.L⁻¹. Na tentativa de testar os limites para efluentes e verificar se os limites permitidos para águas classe 2 (água usada muitas vezes para irrigação) seriam tóxicos ao indicador selecionado para os ensaios, escolheu-se trabalhar com concentrações dos contaminantes com valores 100 vezes, 10 vezes e 1 vez maiores que os valores de referência (VR) permitidos para água classe 2, como descrito na Tabela 3. Cada grupo experimental foi composto por cinco indivíduos, devidamente identificados. Da mesma forma, preparou-se volume de solução suficiente para garantir reposição, caso necessário.

Tabela 3 - Grupos experimentais e concentrações da mistura (As+Cd+Mn) empregadas

Grupo	EPT's – Concentração (mg.L ⁻¹)		
	As	Cd	Mn
T ₁ - (100 x VR*)	1	0,1	10
T ₂ - (10 x VR*)	0,1	0,01	1
T ₃ - (1 x VR*)	0,01	0,001	0,1

*VR – Valor de referência, limite de água classe II (MMA, 2005)

3.2.3.2 Testes de germinação de sementes

Para estes ensaios, as sementes de *Allium cepa* foram obtidas em estabelecimentos comerciais. Foram empregadas caixas de germinação de sementes (marca Brota Company – modelo b-box-Led) disponíveis no mercado nacional. As caixas de germinação são dotadas de sistema de iluminação para garantir a incidência de luz por 16 horas. Como demonstrado, Figura 7 e Figura 8, cada caixa possui 6 recipientes para plantio (~ 5 cm de diâmetro, capacidade para 50 g de solo). Os recipientes foram preenchidos com substrato e ficaram em contato com o líquido de irrigação, contido dentro do recipiente maior com capacidade para 1 litro de solução. Por se tratar de sistema fechado, as perdas por evaporação foram desprezíveis.

Para permitir a ascensão da água do compartimento de irrigação ao solo, utilizaram-se pequenos cilindros de celulose biodegradável vendidos comercialmente como filtros para confecção de cigarros artesanais. O sistema de ensaio em corte está

representado na Figura 9, e os filtros de cigarros adquiridos, na Figura 10. Esse aparato experimental foi utilizado para permitir a adoção do protocolo experimental de germinação de sementes 208 da OECD - Guidelines for the Testing of Chemical.

Os ensaios foram realizados de duas formas distintas. Observou-se tanto o efeito da irrigação de solo não contaminado com solução contaminada com arsênio supondo uma situação de contaminação por irrigação ao solo, que pode ocorrer na natureza por fenômeno de lixiviação de substâncias. Em um segundo momento foi testado o solo da Mina do Chico Rei, que possui altos teores de metaloides e semimetais. Foram recolhidos os dados finais após ciclo de germinação (duas semanas), para a análise de resultados, em que foram avaliados o índice de germinação de sementes e o desenvolvimento das plântulas.

Figura 7 – Montagem experimental dos testes de germinações



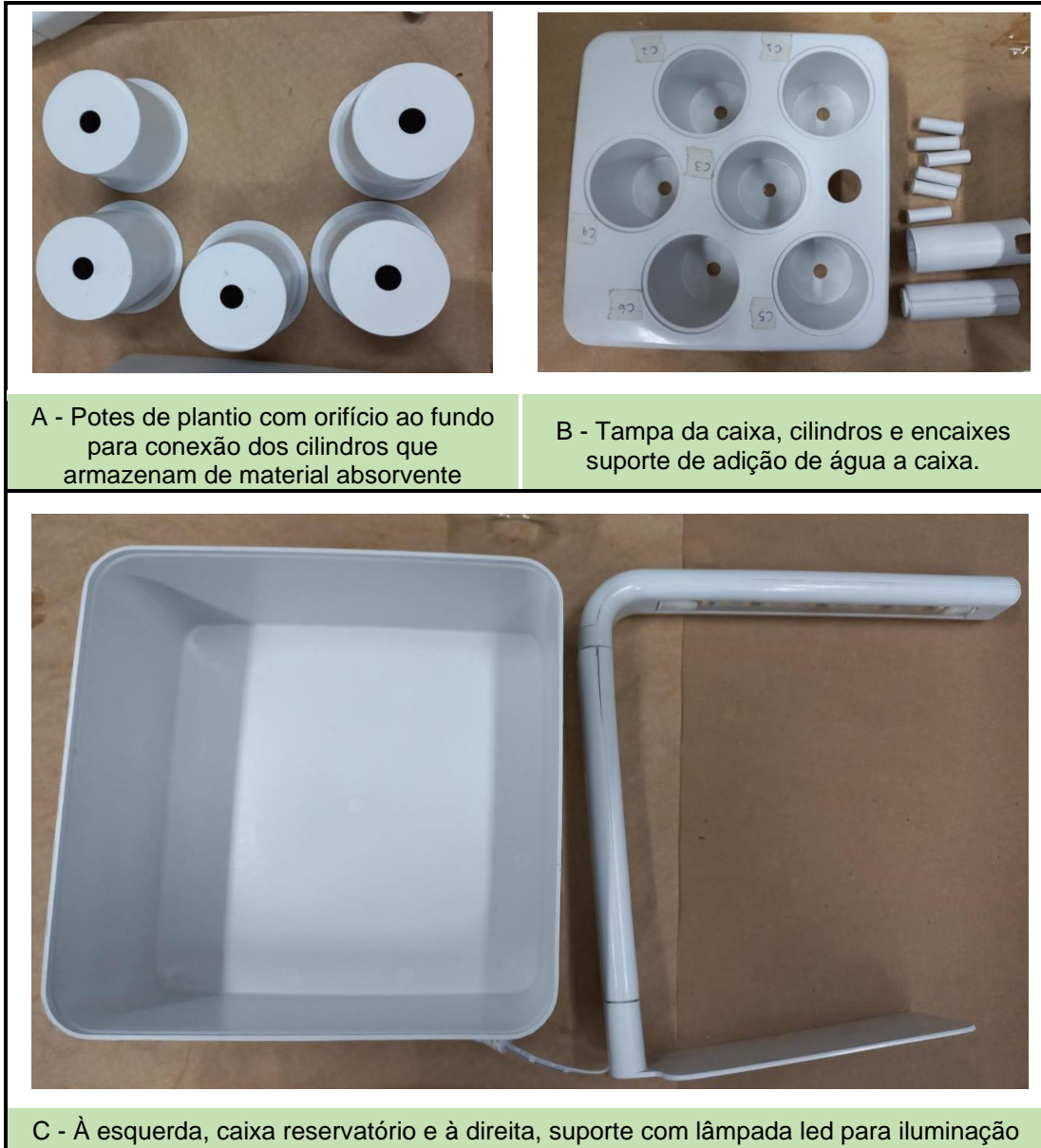
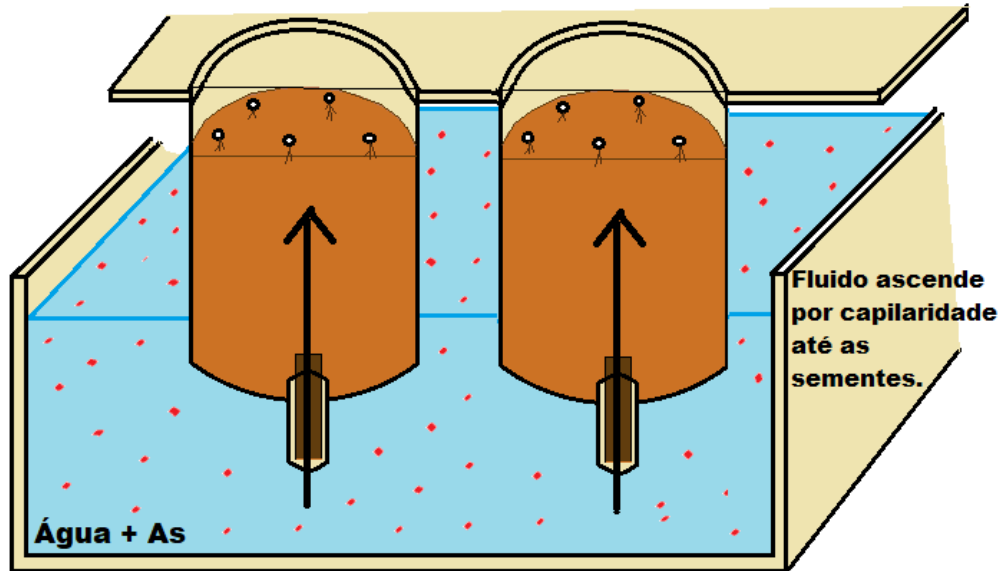
Figura 8 – Componentes da caixa de germinação

Figura 9 - Corte esquemático do bioensaio com sementes e solução de arsênio



Fonte: Elaboração própria

Figura 10 – Filtros para testes de germinação



A) Substrato irrigado com soluções contaminadas com arsênio

Foram feitas 6 replicadas de ensaios para cada concentração de arsênio. Foram escolhidas as mesmas concentrações de As utilizadas nos testes de desenvolvimento das raízes (item 3.2.4.1). Para cada batelada de testes foram usadas duas caixas de germinação ao mesmo tempo, possibilitando sempre usar uma caixa como controle negativo enquanto em outra estudava-se o efeito da adição de algum percentual de arsênio.

Neste caso, utilizaram-se 6 sementes por pote. Neste ensaio também se teve a necessidade de constante manutenção de líquidos no sistema. A iluminação artificial foi mantida por 16 horas (de 7 às 23 horas) simulando um ambiente estável.

Para o ensaio, inicialmente de forma a padronizar os experimentos, foram feitas 1 bateria de teste (Branco) com ambos os sistemas sendo irrigados apenas com água. Comparou-se inicialmente o efeito da água destilada e da água de torneira sobre a brotação. Depois de ser realizada esta bateria de teste, foram feitas mais duas, utilizando do mesmo solo dos testes brancos, simulando um ambiente em contaminação acumulativa, usando as concentrações: $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ e, na sequência 2 mg L^{-1} , com seus respectivos controles. Essas concentrações foram adotadas devido aos resultados obtidos na fase de testes com bulbo, utilizando-se apenas As como contaminante. Tais concentrações foram a menor e a maior concentração nas quais se observou o desenvolvimento significativo de raízes.

B) Solo da Mina do Chico Rei

Alguns autores estudaram o solo da Mina do Chico Rei, também conhecida como Mina da Encardideira, e identificaram os altos níveis de contaminação por metais e outros EPT's, dentre os quais muitos são potencialmente cancerígenos (ARAÚJO, 2019; SANTOS, 2019) nos materiais nela coletados. Mais que isso Santos, verificou os riscos ecológicos associados a adultos e crianças pela exposição (ingestão e inalação) de arsênio disponível e descobriu que os parâmetros se encontram adequados, dentro dos parâmetros definidos ao seu estudo. Porém as concentrações de muitos dos elementos são motivos de atenção.

A composição dos materiais coletados é descrita na Tabela 4 e Tabela 5. Para os ensaios realizados nesse projeto, escolheu-se a fração CR04 (0,053 - 0,088 mm), pela sua maior representatividade granulométrica e por tratar-se de material fino, normalmente mais solúvel (material este obtido, já estudado e delimitado granulometricamente pelo trabalho de preparação de amostra da Alcylane Santos (2019)).

Tabela 4 - Distribuição granulométrica e pH das amostras da Mina de Chico Rei

Identificação	Fração	Diâmetro das partículas (mm)	pH
CR01	Argila (A)	< 0,037	2.09
CR02	Silte (S)	0,037<Dp<0,044	2.46
CR03		0,044<Dp<0,053	3.43
CR04		0,053<Dp<0,088	3.43
CR05	Areia Muito Fina (AMF)	0,088<Dp<0,105	3.44
CR06		0,105<Dp<0,125	3.06
CR07		0,125>Dp>0,177	3.62
CR08	Areia Grossa (AG)	0,177>Dp>0,250	3.49
CR09		0,250>Dp>0,420	3.64

Tabela 5 – Percentuais da distribuição granulométrica do solo da mina Chico Rei

Granulometria	%
0,250 < φ < 0,420 mm	23,30
0,105 < φ < 0,250 mm	25,80
0,088 < φ < 0,105 mm	5,87
0,053 < φ < 0,088 mm	28,67
0,044 < φ < 0,053 mm	11,26
0,044 < φ < 0,037 mm	3,34
φ < 0,037 mm	1,77

Fonte: (ARAÚJO, 2019)

A fração CR04 apresenta uma composição química que merece atenção quando comparada aos limites descritos na Resolução CONAMA Nº 420 DE 2009 (MMA, 2009). Devido ao seu potencial de toxicidade para o desenvolvimento de plantas

optou-se por misturar o solo original com substrato comercial, antes de utilizar o material nos testes de germinação de sementes. O substrato (S_{nut}) foi preparado utilizando-se uma mistura dos substratos comerciais das marcas Vitaplan e Terra Fértil em partes iguais (1:1) (ARAÚJO, 2019). A composição química da fração CR04 do solo coletado na Mina do Chico Rei, encontra-se descrita na Tabela 6.

Tabela 6 – Composição da fração granulométrica CR04 (0,053 - 0,088 mm)

Elemento	Concentração (mg. Kg ⁻¹)	Elemento	Concentração (mg. Kg ⁻¹)
Al	3307,17	Mn	5451,19
As	4453,03	Mo	4,26
Ba	65,75	Ni	88,69
Be	1,39	Pb	25,21
Cd	15,52	Sr	5,45
Co	13,26	Ti	110,04
Cr	10,8	V	9,74
Cu	52,4	Y	12,95
Fe	84986,12	Zn	57,6
Li	2,47		

Fonte: (SANTOS, 2019)

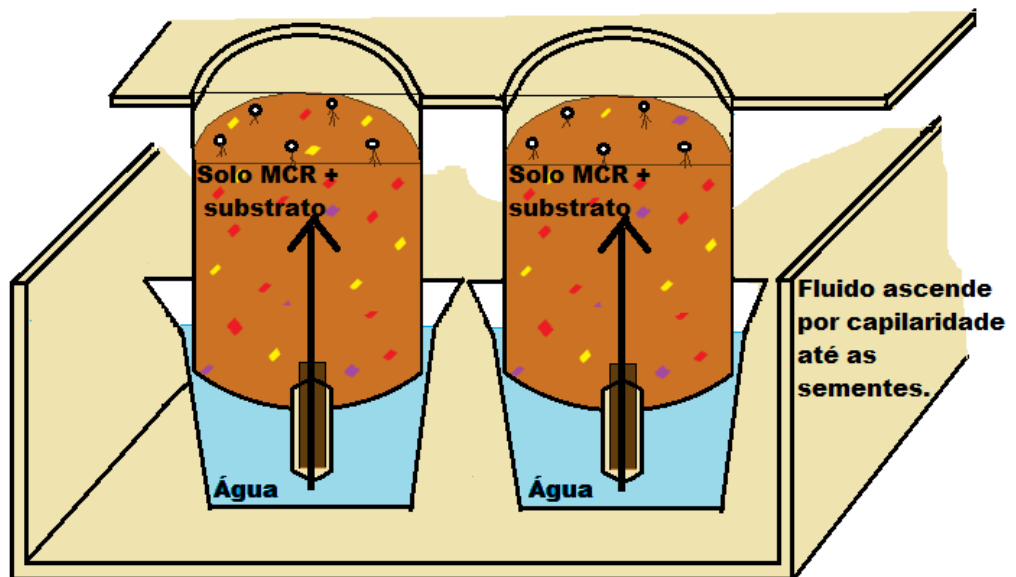
Para o preparo das misturas de substrato e solo, escolheu-se valores de 100 vezes, 10 vezes e 1 vez superiores que os valores de referência permitidos para o arsênio na legislação analisada, ou seja, 15 mg.kg⁻¹ (1,5%).

Os solos para os ensaios de germinação foram preparados conforme Tabela 7. Neste ensaio foi usada a estrutura em corte ilustrada na Figura 11. Nesse caso serão feitas duplicatas para T₁ (CR04 0,3368%), T₂ (CR04 3,337%) e T₃ (CR04 33,37%) como evidenciado na Figura 12.

Tabela 7 – Preparação de solos para ensaios

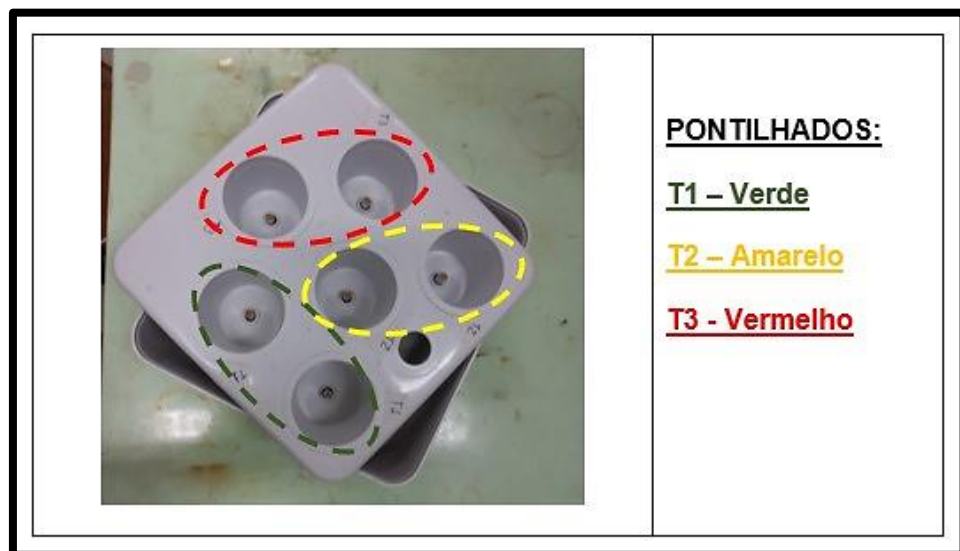
Solo	Concentrações por componente
T ₁	S_{nut} (99,66 g) + CR04 (0,3368 g)
T ₂	S_{nut} (96,632 g) + CR04 (3,368 g)
T ₃	S_{nut} (66,32 g) + CR04 (33,68 g)
Controle	S_{nut} (100 g)

Figura 11 - Experimento em corte do ensaio com sementes e solo MCR



Fonte: Elaboração própria

Figura 12 – Divisão das concentrações na caixa de germinação T₁ (CR04 0,3368%), T₂ (CR04 3,337%) e T₃ (CR04 33,37%)



Para não ocorrer chance de contaminação por dissolução na água no reservatório na base da caixa, já que teremos mais de uma concentração de metais em uma mesma caixa de germinação devido às diferentes proporções de CR04 na mistura, foi colocado um copo de poliestireno de 100 ml no fundo de cada pote de cultivo para não haver contato entre os líquidos de irrigação dos diferentes grupos experimentais, conforme apresentado na Figura 13.

Figura 13 – Estrutura da montagem do ensaio de germinação de sementes utilizando diluições de solo da Mina do Chico Rei – fração CR04 + S_{nut}



Para padronização dos testes, inicialmente fez-se uma observação em duas semanas, com 10 sementes em cada potinho, em duplicatas, utilizando como meio de irrigação, água de torneira, que mantém a umidade do solo e possibilita a germinação. A iluminação artificial foi mantida por 16 horas (de 6 às 22 horas) simulando um ambiente estável.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Levantamentos bibliográficos - uso do *Allium cepa* para avaliação da qualidade ambiental

A partir da análise do material bibliográfico coletado a respeito da possibilidade dos usos do organismo *Allium cepa* na área ambiental, foram construídas tabelas resumindo as principais informações dos textos encontradas nas bases Web of Science e Scopus, situadas no site Periódico Capes. Foram escolhidos alguns artigos e desses foram registradas as informações consideradas essenciais para o estudo.

Abaixo apresenta-se o Quadro 1 com os 8 principais resultados obtidos na base da Web of Science. E logo após, no Quadro 2 apresentam-se os 14 resultados mais relevantes, obtidos na base Scopus.

Quadro 1 - Resultados das buscas de artigos, dentro da base Web of Science, no site do Periódicos Capes. Palavras chaves usadas: Monitoring, *Allium cepa*, toxicity, metals, assay e genotoxicity.

Web of Science			
Título do artigo (traduzido para o português)	Objetivo do uso do <i>Allium cepa</i>	Parte da Planta usada	Conclusão. O teste foi eficiente para a situação contextualizada?
Avaliação da citogenotoxicidade de uma mistura de metais pesados, detectada em um pântano poluído: Micronúcleos e indução cometa no sapo verde indiano (<i>Euphlyctis hexadactylus</i>) eritrócitos e o ensaio de <i>Allium cepa</i> (JAYAWARDENA, WICKRAMASINGHE e UDAGAMA, 2021)	Avaliação da citogenotoxicidade de contaminação metálica antecipadamente evidenciada (Cd, Cr, Cu, Pb e Zn ~5 ppm cada), em ambiente poluído pantanoso urbano, denominado santuário de Bellanwila-Attidiya (BAS) no Sri Lanka, por meio de uma bateria de testes citogenotóxicos.	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	O teste de <i>Allium cepa</i> apresenta efeitos relevantes em questão à toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade, principalmente para as concentrações de teste mais altas (>5 ppm) em que garantem uma mistura de metais pesados potencialmente problemáticas, no ecossistema pantanoso.
Eficácia do sistema de teste de <i>Allium cepa</i> para triagem de citotoxicidade e genotoxicidade de efluentes industriais originados de diversas atividades industriais. (PATHIRATNE, HEMACHAN e SILVA, 2015)	Avaliação de um conjunto de ensaios para triagem de citotoxicidade e genotoxicidade de efluentes tratados originados por quatro tipos de atividades industriais. Duas indústrias têxteis, três indústrias de derivados de borracha, duas estações de tratamento comuns de zonas industriais e duas estações de tratamento de água.	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	Ainda que a maioria dos parâmetros físico-químicos determinados nos efluentes se encontrassem dentro do intervalo de tolerância definidos para descarga de efluentes em águas superficiais interiores, o organismo <i>A. Cepa</i> . detecta que os efluentes possuem contaminantes com ação citotóxicas e genotóxicas que não haviam sido removidas pelos processos de tratamento.

Web of Science			
Título do artigo (traduzido para o português)	Objetivo do uso do <i>Allium cepa</i>	Parte da Planta usada	Conclusão. O teste foi eficiente para a situação contextualizada?
Avaliação da genotoxicidade de cinzas dispersas de carvão a células radiculares de <i>Allium cepa</i> células combinando o ensaio cometa. (CHAKRABORTY, MUKHERJEE e MUKHERJEE, 2009)	Avaliação da toxicidade das cinzas volantes, encontradas em usina termelétrica de Bengala Ocidental, na Índia.	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	O teste se mostrou bastante eficiente. O tradicional e simples teste de <i>Allium cepa</i> pode fornecer dados abrangentes. As próprias cinzas volantes são citotóxicas e retardam o crescimento das raízes.
Ensaio de genotoxicidade de amostras de sedimentos e água das áreas pós-mineração da Alta Silésia, Polônia por meio de <i>Allium</i> -teste. (GERAS'KIN, OUDALOVA, <i>et al.</i> , 2011)	Avaliação do potencial genotóxico de dois compartimentos ambientais (água e sedimento) componentes da Bacia de Carvão da Alta Silésia (USCB), na Polônia, utilizando de células do organismo <i>Allium cepa</i> .	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	Estudo mostra que influência sobre a germinação do bulbo da cebola nas amostras de água e sedimento é relativamente baixa. Mesmo com grande mudança na composição química de amostras de água (da água destilada para a amostra altamente poluída) não foram evidenciadas efeito significativo no índice mitótico do <i>Allium cepa</i> .
Avaliação citotóxica e genotóxica de solos agrícolas de uma região industrial. (MASOOD, PANDEY, <i>et al.</i> , 2021)	Avaliação dos impactos negativos - citotóxicos e genotóxicos em solo agrícola possivelmente contaminado em área industrial de Dera	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	Área agrícola próxima ao polo industrial Dera Bassi está contaminada com compostos genotóxicos e mutagênicos, conforme indicado por diferentes testes realizados. Portanto, mais testes genotóxicos e químicos são necessários para delinear o perfil de toxicidade de amostras de solo de áreas agrícolas nesta região.

Web of Science			
Título do artigo (traduzido para o português)	Objetivo do uso do <i>Allium cepa</i>	Parte da Planta usada	Conclusão. O teste foi eficiente para a situação contextualizada?
	Bassi (Punjab, Índia) com testes com organismos <i>E.coli</i> e <i>Allium cepa</i> .		
Da coleta ao descarte: análises físicas, químicas e biológicas para monitoramento da qualidade da água em piscicultura. (SOUZA, SPOSITO, <i>et al.</i> , 2019)	Avaliação da qualidade da água em duas pisciculturas na localidade de Grande Dourados, Brasil, desde a captação até o local de descarte de efluente, utilizando os testes <i>Allium cepa</i> , <i>Astyanax lacustres</i> e a <i>Salmonella</i> .	Sementes de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes (1,5 cm).	Não houve diferença estatística entre coletas em duas pisciculturas. Concluiu-se também que os danos genéticos identificados podem estar associados à presença de metais e contaminantes nas amostras de efluentes, sugerindo que, produtos químicos encontrados na água, possuem potenciais efeitos genotóxicos e mutagênicos que estão relacionados ao tipo de uso e cobertura do solo na área da região.
Efeitos mutagênicos e genotóxicos das águas residuais urbanas de Guelma, Argélia. (TABET, ABDA, <i>et al.</i> , 2015)	Ensaio sobre a mutagenicidade e genotoxicidade das águas urbanas residuais de Guelma na Argélia, examinadas entre abril de 2012 e abril de 2013. Realizados dois testes biológicos: o teste de Ames (duas cepas de <i>Salmonella typhimurium</i>) e aberrações cromossômicas (CA) em <i>Allium cepa</i> . Para este último, pontas de raiz foram empregadas nas amostras coletadas em cinco diferentes estágios de amostragem.	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	Tanto os metais detectados no estudo em questão, quanto outras classes dos contaminantes, são provavelmente os agentes que induzem a toxicidade genética no local avaliado.

Web of Science			
Título do artigo (traduzido para o português)	Objetivo do uso do <i>Allium cepa</i>	Parte da Planta usada	Conclusão. O teste foi eficiente para a situação contextualizada?
Citotoxicidade e genotoxicidade da água do rio Guaribas (Piauí, Brasil), influenciada pela ação antrópica. (SOUZA, PERÓN, <i>et al.</i> , 2017)	Avaliação da influência citogenotóxicos da água do rio Guaribas (rio brasileiro), entre as estações seca e chuvosa de 2014 usando teste com o <i>Allium cepa</i> . Avaliou-se as variáveis tóxico genéticas, como crescimento radicular, o índice mitótico e as aberrações cromossômicas, em células meristemáticas expostas a amostras de água coletadas a montante, no interior e a jusante da cidade de Picos no estado de Piauí.	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	Comprovação dos efeitos tóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos da água do rio Guaribas em diferentes locais por ensaios em organismo de <i>A. cepa</i> .

Quadro 2 - Resultados buscas de artigos, dentro da base Scopus, no site do Periódicos Capes. Palavras-chave pesquisadas: Monitoring, *Allium cepa*, toxicity, metals, assay e genotoxicity.

Scopus			
Título do artigo (traduzido para o português)	Objetivo do uso do <i>Allium cepa</i>	Parte da Planta usada	Conclusão. O teste foi eficiente para a situação contextualizada?
Atividade fotocatalítica eficiente de nanoesferas de Au e Mg na mineralização de poliestireno: uma estratégia de remediação sustentável na fotodegradação induzida pela luz solar, toxicidade ambiental e detecção de cefixima. (BALASURYA, AL-GHAMDI, <i>et al.</i> , 2022)	Avaliação da genotoxicidade e citotoxicidade antes e depois da degradação fotocatalítica do PS (particulados), por mineralização da substância na cebola. Absorção de nanoparticulados.	Ponta de raiz de <i>A. cepa</i>	Sim. Genotoxicidade do poliestireno em <i>Allium cepa</i> foi realizada antes e após a degradação e os resultados não mostraram nenhuma toxicidade pelo produto degradado. O que comprova hipótese de remediação sustentável.
Avaliação da contaminação por metal(óide) e potencial genotóxico de solos agrícolas. (KUMAR, BHATTI e NAGPAL, 2021)	Avaliação quanto ao seu potencial genotóxico, usando o <i>Allium cepa</i> para estudo de aberração cromossômica radicular.	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	O teste com <i>Allium cepa</i> revelou que as amostras de solo têm potencial risco genotóxico significativos para os seres vivos expostos, que incluem organismos como a microflora do solo, plantas, organismos do solo e seres humanos em contato com os solos.
Avaliação citotóxica e genotóxica de solos agrícolas de uma região industrial. (MASOOD, PANDEY, <i>et al.</i> , 2021)*	Avaliação dos impactos negativos - citotóxicos e genotóxicos em solo agrícola possivelmente contaminado em área industrial de Dera.Bassi (Punjab, Índia) com testes com organismos <i>E.coli</i> e <i>Allium cepa</i> .	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	A área agrícola próxima ao polo industrial Dera Bassi está contaminada com compostos genotóxicos e mutagênicos, conforme indicado por diferentes testes realizados. Portanto, mais testes genotóxicos e químicos são necessários para delinear o perfil de toxicidade de amostras de solo de áreas agrícolas nesta região.
	Avaliação da citogenotoxicidade de contaminação metálica	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>).	O teste de <i>Allium cepa</i> revelou efeitos relevantes em questão de toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade.

Scopus			
Título do artigo (traduzido para o português)	Objetivo do uso do <i>Allium cepa</i>	Parte da Planta usada	Conclusão. O teste foi eficiente para a situação contextualizada?
Avaliação da citogenotoxicidade de uma mistura de metais pesados, detectada em um pântano poluído: Micronúcleos e indução cometa no sapo verde indiano (<i>Euphyctis hexadactylus</i>) eritrócitos e o ensaio de <i>Allium cepa</i> (JAYAWARDENA, WICKRAMASINGHE e UDAGAMA, 2021)*	previamente evidenciada (Cd, Cr, Cu, Pb e Zn ~5 ppm cada), em ambiente de pântano urbano poluído, denominado santuário de Bellanwila-Attidiya (BAS) no Sri Lanka, por meio de uma bateria de testes citogenotóxicos.	Avaliação de crescimento de raízes.	Principalmente para as concentrações de teste mais altas (>5 ppm) em que possui uma mistura de metais pesados potencialmente problemáticas, tidos no ecossistema de pântano.
Da coleta ao descarte: análises físicas, químicas e biológicas para monitoramento da qualidade da água em piscicultura. (SOUZA, SPOSITO, <i>et al.</i> , 2019)*	Avaliação da qualidade da água em duas pisciculturas na localidade de Grande Dourados, Brasil, desde a captação até o local de descarte de efluente, utilizando os testes <i>Allium cepa</i> , <i>Astyanax lacustres</i> e a <i>Salmonella</i> .	Sementes de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes (1,5 cm).	Referente ao <i>A. cepa</i> , não houve diferença estatística entre coletas de duas pisciculturas. Concluiu-se também que os danos genéticos observados podem estar associados à presença de metais e contaminantes nas amostras de efluentes. Sugerindo que, produtos químicos encontrados na água, possuem potenciais efeitos genotóxicos e mutagênicos que estão relacionados ao tipo de uso e cobertura do solo na área da região.
Complexo de prata de ácido salicílico e seu hidrogel-creme na quimioterapia para cicatrização de feridas. (STATHOPOULOU, CHRISTINA, <i>et al.</i> , 2018)	Avaliação da genotoxicidade do complexo de prata de ácido salicílico e seu hidrogel-creme	Exposição de amostra da substância analisada diretamente nas células	Não foi detectada genotoxicidade na substância analisada, indicando que ela é uma candidata ao desenvolvimento de um novo medicamento eficiente à base de metalofármacos à base de prata.

Scopus			
Título do artigo (traduzido para o português)	Objetivo do uso do <i>Allium cepa</i>	Parte da Planta usada	Conclusão. O teste foi eficiente para a situação contextualizada?
		meristemáticas do <i>Allium cepa</i> .	
A influência de metais pesados em danos toxicogenéticos em um rio tropical brasileiro. (MATOS, CUNHA, <i>et al.</i> , 2017)	Avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade realizados em <i>Allium cepa</i> e teste cometa.	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	A análise toxicogenética apresentou efeitos citotóxicos, mutagênicos e genotóxicos significativos em diferentes tempos de exposição e camadas de água, especialmente alterações nos defeitos do fuso mitótico. As correlações entre Fe e citotoxicidade e Al e mutagenicidade foram estatisticamente significativas e apontam para a participação de metais pesados nos danos genotóxicos.
Extração de carvão causa toxidez de sedimentos em ambientes aquáticos em Santa Catarina, Brasil. (FREITAS, RAMBO, <i>et al.</i> , 2017)	Avaliação dos parâmetros da água em lagoas afetadas pela extração de carvão por teste de <i>Allium cepa</i> , usado para medir a genotoxicidade/mutagenicidade dos sedimentos que foram influenciados por atividades de mineração de carvão em Santa Catarina, sul do Brasil.	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	O teste de <i>A. cepa</i> é uma ferramenta simples e útil para análises de genotoxicidade/mutagenicidade para uso em monitoramento e manejo ambiental em áreas influenciadas por atividades de mineração e o ensaio representa uma importante etapa do diagnóstico ambiental.
Riscos potenciais do resíduo do rompimento da barragem da mina da Samarco (Bento Rodrigues, Brasil). (SEGURA, NUNES, <i>et al.</i> , 2016)	Caracterização de material de contaminação (lama), solo de fundo e água nos percursos fluviais. Avaliação de riscos por parâmetros observados devido explosão da barragem.	Sementes da variedade Baia Periforme em ensaio cometa.	Teste cometa revelou possíveis danos citotóxicos e ao DNA. Ba, Sr, Fe, Mn e Al possuem alto potencial de mobilidade.

Scopus			
Título do artigo (traduzido para o português)	Objetivo do uso do <i>Allium cepa</i>	Parte da Planta usada	Conclusão. O teste foi eficiente para a situação contextualizada?
Eficácia do sistema de teste de <i>Allium cepa</i> para triagem de citotoxicidade e genotoxicidade de efluentes industriais originados de diversas atividades industriais. (PATHIRATNE, HEMACHAN e SILVA, 2015)*	Avaliou-se um sistema de ensaios para triagem de citotoxicidade e genotoxicidade de efluentes tratados provenientes de quatro tipos de atividades industriais (duas indústrias têxteis, três indústrias de derivados de borracha, duas estações de tratamento comuns de zonas industriais e duas estações de tratamento de água).	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	Ainda que a maioria dos parâmetros físico-químicos medidos dos efluentes se encontrarem dentro dos limites de tolerância definidos para descarga de efluentes em águas superficiais interiores. O <i>A. cepa</i> revela que os efluentes continham contaminações citotóxicas e genotóxicas que não haviam sido removidas pelos processos de tratamento.
Genotoxicidade e mutagenicidade de amostras de água do rio Monjolinho (Brasil) após recebimento de efluentes não tratados. (BIANCHI, ESPINDOLA e MARIN-MORALES, 2011)	Avaliação dos efeitos de efluentes domésticos e industriais no rio Monjolinho em diferentes estações do ano.	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	Resultados sugerem uma relação entre sazonalidade/temperatura e efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos observados em células radiculares expostas a amostras de água do Rio Monjolinho. No inverno não foram observadas alterações cromossômicas ou celulares nas células de <i>Allium cepa</i> .
Ensaio de genotoxicidade de amostras de sedimentos e água das áreas pós-mineração da Alta Silésia, Polônia por meio de	Avaliação do potencial genotóxico de dois compartimentos ambientais (água e sedimento) componentes da Bacia de Carvão da Alta Silésia (USCB), na Polônia,	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	Estudo mostra que influência sobre a citotoxicidade da germinação do bulbo da cebola nas amostras de água e sedimento é baixa. Mesmo com grande mudança na composição química das amostras de água (da água destilada para a amostra altamente poluída) não

Scopus			
Título do artigo (traduzido para o português)	Objetivo do uso do <i>Allium cepa</i>	Parte da Planta usada	Conclusão. O teste foi eficiente para a situação contextualizada?
Allium-teste. (GERAS'KIN, OUDALOVA, <i>et al.</i> , 2011)*	utilizando o emprego de células do organismo <i>Allium cepa</i> .		evidenciou em efeito significativo no índice mitótico do <i>Allium cepa</i> .
Avaliação da genotoxicidade em ambiente aquático impactado pela presença de metais pesados. (BARBOSA, CABRAL, <i>et al.</i> , 2010)	Avaliação do potencial genotóxico das águas da Lagoa Extremoz na costa Nordeste do Brasil, usando o ensaio com <i>Allium cepa</i> , teste de micronúcleo e ensaio cometa.	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	Os resultados do bioensaio com o <i>A. cepa</i> mostrou mudanças significativas na frequência de aberrações cromossômicas e no índice mitótico em relação ao controle negativo.
Uso de bioensaio de genotoxicidade vegetal para avaliação de eficiência de biofiltros de algas na biorremediação de efluentes industriais tóxicos. (MIGID, AZAB e IBRAIM, 2005)	A toxicidade e a eficácia de uma tecnologia de biorremediação baseada em algas foram avaliadas por meio de bioensaios para o risco ecológico de efluentes industriais contaminados por meio de testes de fitogenotoxicidade conduzidos com <i>Allium cepa</i> e <i>Vicia faba</i> para avaliação da genotoxicidade dos efluentes industriais antes e após o tratamento com diferentes tipos de biofiltros de algas (BF).	Bulbo de cebolas (<i>Allium cepa</i>). Avaliação de crescimento de raízes.	A análise estatística dos dados indica uma redução significativa na genotoxicidade associada a uma notável redução nas concentrações de metais pesados após biorremediação por algas. Os bioindicadores usados possuem abordagem de genotoxicidade foi eficaz no monitoramento de efluentes biorremediados quanto à toxicidade.

*Textos também encontrados na base Web of Scienc

Como observado nas tabelas acima, alguns artigos constavam de ambas as bases consultadas assim, o banco de dados inicial foi reduzido a 17 artigos. Na maioria deles, foram feitos os testes com bulbos de cebola, teste considerados mais práticos para uso direto de efluentes líquidos.

Algumas características dos elementos metálicos foram pontuadas nos artigos e são importantes de serem abordadas. Como se sabe, os metais pesados são extremamente tóxicos em concentrações residuais, mas diferentemente dos poluentes orgânicos, não são biodegradáveis (MIGID, AZAB e IBRAIM, 2005). Um outro aspecto importante de se atentar é que, mesmo após o término das atividades de mineração, os metais pesados podem permanecer no ambiente por muito tempo (FREITAS, RAMBO, *et al.*, 2017).

No estudo produzido por Balasurya e seus colaboradores, trabalhando com nanoesferas (BALASURYA, AL-GHAMDI, *et al.*, 2022), os autores discutem que, mesmo sendo uma técnica simples de bioensaios, o bioindicador foi útil para demonstrar os efeitos de contaminantes emergentes, produzidos mais recentemente, como as nanopartículas.

As aplicações dos ensaios foram diversas. Vemos que alguns artigos foram específicos para verificação da eficácia de tratamentos de efluentes, como vistos os textos: “Eficácia do sistema de teste de *Allium cepa* para triagem de citotoxicidade e genotoxicidade de efluentes industriais originados de diversas atividades industriais” (PATHIRATNE, HEMACHAN e SILVA, 2015); “Atividade fotocatalítica eficiente de nanoesferas de Au e Mg na mineralização de poliestireno: uma estratégia de remediação sustentável na fotodegradação induzida pela luz solar, toxicidade ambiental e detecção de cefixima” (BALASURYA, AL-GHAMDI, *et al.*, 2022); e “Uso de bioensaio de genotoxicidade vegetal para avaliação de eficiência de biofiltros de algas na biorremediação de efluentes industriais tóxicos” (MIGID, AZAB e IBRAIM, 2005).

Os artigos: “Ensaio de genotoxicidade de amostras de sedimentos e água das áreas pós-mineração da Alta Silésia, Polônia por meio de *Allium-teste*” (GERAS'KIN, OUDALOVA, *et al.*, 2011); “Extração de carvão causa toxidez de sedimentos em

ambientes aquáticos em Santa Catarina, Brasil” (FREITAS, RAMBO, et al., 2017); e “Riscos potenciais do resíduo do rompimento da barragem da mina da Samarco (Bento Rodrigues, Brasil)” (SEGURA, NUNES, et al., 2016), por sua vez demonstraram a eficácia dos testes com o uso dos testes dentro do contexto da indústria mineradora.

No quesito sensibilidade e confiança do teste com *A. cepa* possibilitando inferências para o organismo humano, o artigo: “Complexo de prata de ácido salicílico e seu hidrogel-creme na quimioterapia para cicatrização de feridas” (STATHOPOULOU, CHRISTINA, et al., 2018), reflete a confiança da transferência da resposta obtida com o bioindicador para o estudo de resposta para efeitos no organismo humano.

Pelos resultados apresentados, é possível deduzir que o *A. cepa* pode ser utilizado como indicador de toxicidade ambiental em diferentes situações. Avaliando ainda com mais detalhe os resultados apresentados, vê-se a possibilidade do emprego desses ensaios para diferentes efluentes provenientes de atividades industriais diversas (PATHIRATNE, HEMACHAN e SILVA, 2015). Os testes podem ser empregados para se comparar diferentes efluentes (líquidos e sólidos) de uma mesma origem industrial (GERAS'KIN, OUDALOVA, et al., 2011) ou efluentes domésticos e industriais (BIANCHI, ESPINDOLA e MARIN-MORALES, 2011). Alguns autores avaliaram ainda a qualidade de mesmos tipos de efluentes, porém coletados em locais diferentes (SOUZA, SPOSITO, et al., 2019) ou de um mesmo efluente, avaliado em períodos do ano diferentes (SOUZA, PERÓN, et al., 2017), avaliando as variações sazonais.

Em todos artigos, vemos o uso da microscopia para estimar a incidência de mutações no bioindicador *Allium cepa* e possibilidade prática de uso conjunto a outros bioindicadores (sapo verde indiano) como em (JAYAWARDENA, WICKRAMASINGHE e UDAGAMA, 2021).

Seja na verificação da existência de componentes tóxicos residuais no sistema ou para controle temporal da ocorrência do contaminante, o *Allium cepa* se apresenta como forte candidato a bioindicador eficaz para o contexto problemático objeto deste estudo.

4.2 Ensaios ecotoxicológicos usando *Allium cepa*

4.2.1 Avaliação da capacidade de geração de raízes por bulbos de *Allium cepa* – efeito da presença de EPT's

4.2.1.1 Ensaios com Arsênio

Uma etapa de triagem inicial foi realizada empregando-se as concentrações de As de 1, 10 e 100 mg.L⁻¹ (grupos C, B e A) e água destilada como controle.

Numa etapa subsequente, a partir da análise dos resultados obtidos na triagem, avaliando-se a capacidade de resistência das plantas, foi realizada uma segunda bateria de testes, com a concentrações de As variando entre 0 e 10 mg.L⁻¹ para melhor definição de parâmetros como o CENO - concentração mais elevada que estatisticamente não teve efeito observado significativo nas suas respostas em comparação com o teste controle e o valor de CEO, ou seja, a concentração mais baixa, que estatisticamente provocou um efeito observado significativo.

Os grupos experimentais foram assim denominados: D, E, F e G, com concentrações de As de 7,5; 5,0; 2,0 e 0,5 mg.L⁻¹.

Na Tabela 8 temos as condições iniciais (pH e temperatura da solução) dos testes de desenvolvimento de raízes do *Allium cepa* em presença de concentrações crescentes de As.

Tabela 8 – Condições iniciais para testes de geração de raízes por bulbos de *Allium cepa* em presença de diferentes concentrações de As.*

Conc. As (mg.L ⁻¹)	Grupo	pH inicial	Temperatura da solução(°C)	Volume de solução por pote (ml)
100	A	9,63	24,4	40
10	B	7,28	24,7	40
7,5	D	7,33	21,7	40
5	E	7,16	23	40
2	F	6,18	21	40
1	C	6,52	25	40
0,5	G	6,59	17,7	40
0	Água destilada pura	5,28	24,5	40

*Teste realizado em fevereiro de 2022

Percebeu-se, durante a aferição do pH das soluções em temperatura ambiente, que as concentrações com maior quantidade de arsênio apresentaram maior alcalinidade.

Na Tabela 9 estão descritos os resultados experimentais observados nas duas baterias de testes de desenvolvimento de raízes, após uma semana de observação, testes estes realizados no mês de fevereiro de 2022.

Tabela 9 - Testes de desenvolvimento de raízes - Resultados

Conc. As (mg/L)	Grupo	Peso inicial médio (g)	Peso final médio (g)*	Peso final - Peso inicial (g)	Comp. Raízes (cm)	Cebolas com desenv. de raízes	Coletada (raízes)**	Relação do Peso final médio/ Peso inicial médio
100	A	17,576	17,576	0	---	0	0	1
10	B	16,86	16,86	0	---	0	0	1
7,5	D	26,11	26,11	0	---	0	0	1
5	E	23,29	23,29	0	---	0	0	1
2	F	20,272	21,756	1,48	2,9	5	15	0,931
1	C	15,926	17,51	1,58	4,1	4	12	0,909
0,5	G	22,106	23,634	1,53	4,34	4	12	0,935
0	Controle	19,07	21,59	2,52	6,1	5	15	0,883

*Peso das amostras finais em grupos sem crescimento de raízes, foram consideradas iguais;

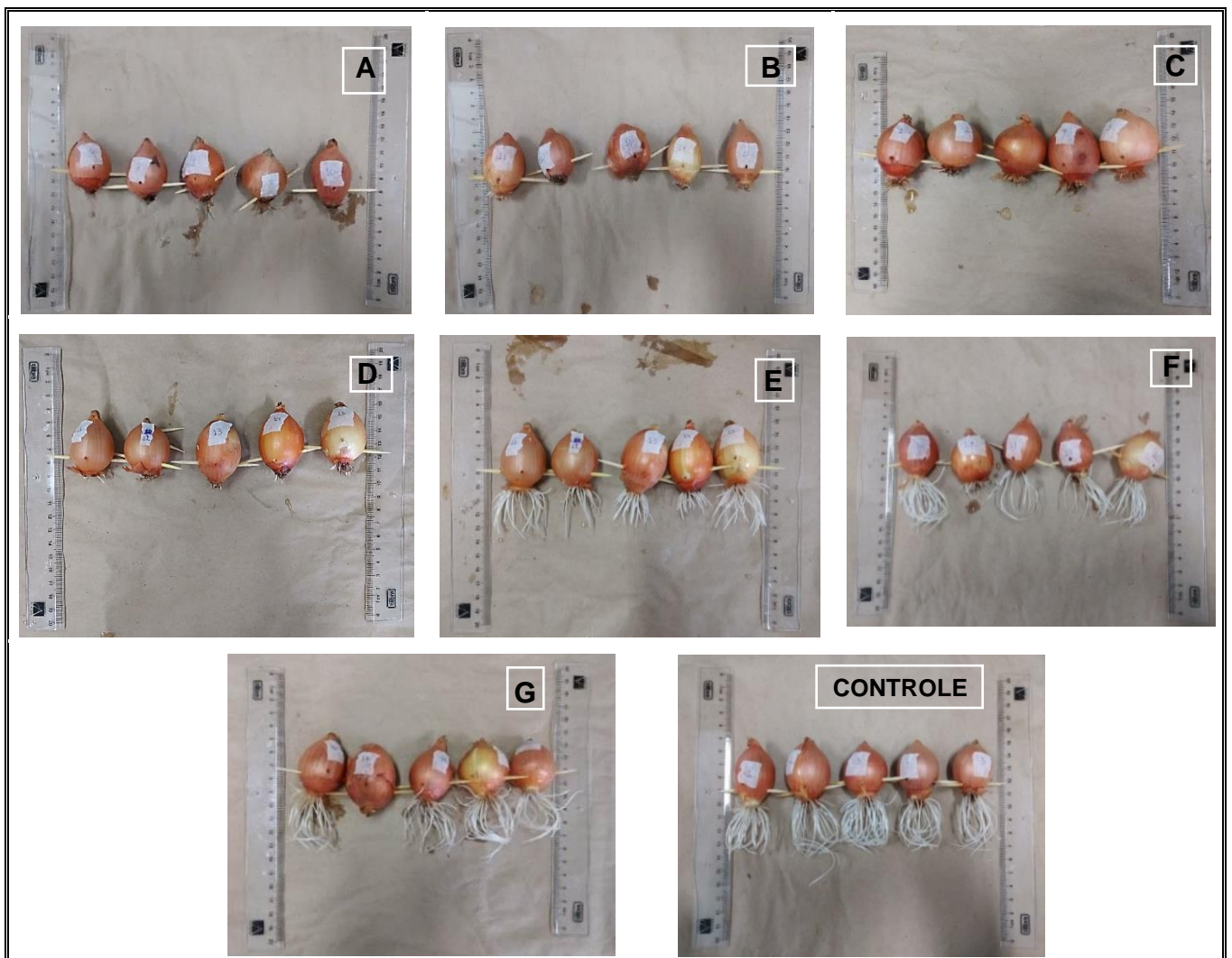
**Coletas de 3 raízes por cebola;

As relações entre o peso inicial e o peso final apontam que quanto mais próximo de 1, menor o desenvolvimento do vegetal. As cebolas dos grupos A, B, D e E não apresentaram desenvolvimento demonstrando que realmente, a partir da concentração de 5 mg.L⁻¹ o arsênio passou a interferir negativamente na planta sendo essa então a concentração máxima de As tolerada pela espécie considerada como a CEO. Mesmo a menor concentração de As empregada, 0,5 mg.L⁻¹ causou alterações na capacidade dos bulbos em emitir raízes.

Na Figura 14 temos as fotos que mostram a diferença visual nos grupos estudados. Apenas os grupos C, F, G e Controle (menores concentrações de As) tiveram desenvolvimento consideráveis comparados aos demais grupos.

Além do comprimento da raiz, outra característica visualmente analisada, que pode ser verificada na Figura 14 é a quantidade de raízes, que decresce à medida que a concentração de Arsênio aumenta. Observou-se também outra questão relevante quanto à fragilidade das raízes das cebolas. Ainda que os bulbos em contato com maiores concentrações de arsênio produzissem raízes, estas eram bem mais finas e com alta facilidade de ruptura da sua estrutura.

Figura 14 - Imagem das cebolas por grupos. Sendo **A** - 100 (mg As).L⁻¹; **B** - 10 (mg As).L⁻¹; ; **C** - 7,5 (mg As).L⁻¹; **D** - 5 (mg As).L⁻¹; **E** - 2 (mg As).L⁻¹; **F** - 1 (mg As).L⁻¹; e **G** - Água destilada.



A) Ensaio com a mistura de ETP's (As + Cd + Mn)

Pela Tabela 10 percebe-se que quanto mais concentrada a solução, mais ácido é o valor do pH da mesma. Os valores de pH das soluções não foram corrigidos, propositalmente.

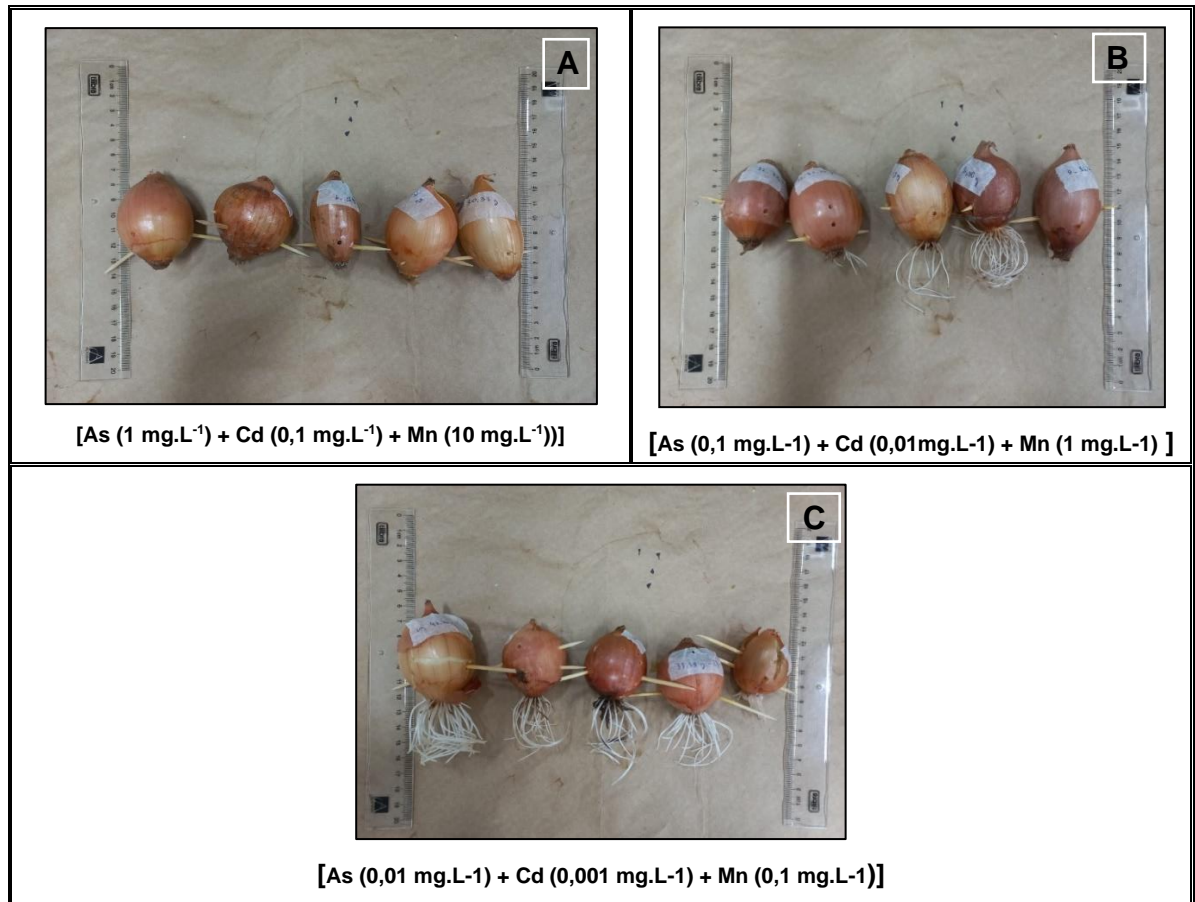
Tabela 10 - Condições iniciais para testes de germinação de raízes na presença de misturas de EPT's

Conc. As (mg.L ⁻¹)	Misturas	Grupo	pH inicial	Temperatura da solução (°C)	Volume de solução por pote (ml)
100 x VR**	As (1 mg.L ⁻¹) + Cd (0,1 mg.L ⁻¹) + Mn (10 mg.L ⁻¹)	T1	2,03	23,5	40
10 x VR	As (0,1 mg.L ⁻¹) + Cd (0,01mg.L ⁻¹) + Mn (1 mg.L ⁻¹)	T2	3	23,4	40
1 x VR	As (0,01 mg.L ⁻¹) + Cd (0,001 mg.L ⁻¹) + Mn (0,1 mg.L ⁻¹)	T3	4,09	23,5	40

*Teste realizado em fevereiro de 2023; **VR= valor de referência CONAMA

Como no teste anterior, foram registradas as imagens finais das cebolas (Figura 15). É possível verificar um desenvolvimento menor das raízes quando se compara ao teste anterior. Outro ponto importante de se mencionar foi a falta da necessidade de reposição de líquido no sistema de ensaio.

Figura 15 - Imagem das cebolas por grupos para mistura de metaloides. Sendo A – T1 (100 x VR*); B – T2 (10 x VR); e C -T3 (1 x VR).



Na Tabela 11 estão descritos os resultados experimentais observados nas duas baterias de testes de desenvolvimento de raízes, após uma semana de observação.

Tabela 11 - Testes de desenvolvimento de raízes – Resultados mistura de metaloides

Conc. As (mg. L ⁻¹)	Grupo	Peso inicial médio (g)	Peso final médio (g)*	Peso final - Peso inicial (g)	Comp. Raízes médio (cm)	Cebolas com desenv. de raízes	Coletada (raízes)**	Relação do Peso final médio/ Peso inicial médio
100 x VR	T1	33,884	33,884	0	---	0	0	1
10 x VR	T2	36,2	36,416	0,416	4,167	3	9	0,994
1 x VR	T3	30,724	31,66	0,936	4,1	5	13	0,9704

*Peso das amostras finais em grupos sem crescimento de raízes, foram consideradas iguais;

**Coletas de 3 raízes por cebola;

A concentração de contaminantes utilizada no teste do grupo T3 é equivalente ao valor limite destes elementos em águas de classe 2 (MMA, 2005). Tais valores foram bem tolerados pelas plantas, entretanto, ao se aumentar a concentração dos contaminantes em uma ou duas ordens de grandeza em relação ao valor de referência (VR) observou-se efeito negativo na proliferação de raízes dos bulbos de cebola.

Observando-se ambos os testes feitos nesta etapa, vemos alguma similaridade, com o uso dos bioensaios. Como esperado, foi possível verificar que a toxicidade da solução aumenta com o aumento da concentração dos EPT's estudados tanto isoladamente ou em mistura. Além do desenvolvimento de raízes propriamente, a vitalidade dos sistemas radiculares das plantas foi influenciada negativamente pela presença de contaminantes inorgânicos, sejam puros ou em misturas. Em ambas as situações foram notadas raízes com estruturas mais fracas e finas quando comparadas aos bulbos dos grupos controles.

No teste contendo apenas o As como contaminante, a concentração 1 mg.L^{-1} não foi suficiente para inibir significativamente o desenvolvimento das raízes, quando em comparação com o grupo controle. Por outro lado, na segunda bateria de testes, a mesma concentração de As, quando em associação a outros elementos, mostrou-se potencialmente tóxica. Conforme discutido anteriormente, o efeito sinérgico dos contaminantes deve ser levado em consideração no cálculo dos riscos de exposição.

Nos ensaios com arsênio isolado, a reposição dos volumes de solução era necessária a cada dois dias, para manter o contato do bulbo com o líquido. No ensaio com misturas de contaminantes a evaporação das soluções foi mais discreta, apenas alguns copos necessitaram de menos de 2 ml de reposição.

4.2.2 Testes com as sementes da espécie *Allium cepa*

Os primeiros testes foram realizados com substrato comercial S_{nut} irrigado com soluções contendo apenas As como contaminante. Na segunda etapa, foi utilizada a fração CR04 do solo coletado na Mina de Chico Rei, diluído com substrato comercial. Nessa bateria de testes, os frascos foram irrigados com água destilada.

4.2.2.1 Teste de germinação de sementes - Substrato S_{nut} irrigado com diferentes soluções de arsênio

Estes testes foram realizados entre os meses de março a abril de 2022 utilizando-se o sistema de brotação da empresa Brota Company.

A fim de padronizar as condições do experimento os potes de cada caixa de cultivo foram inoculados com seis sementes de *Allium cepa* e irrigados com 750 ml de água destilada ou água de torneira. Ao longo do período de teste foi necessária uma reposição de volume de líquido de irrigação (500ml) em cada uma das caixas de cultivo. As condições iniciais e finais dos líquidos de irrigação encontram-se sumarizadas na Tabela 12.

Tabela 12 - Aspectos iniciais das soluções de irrigação controle

	Água destilada (início teste)	Água destilada (final)	Água de torneira (início teste)	Água de torneira (final)
pH	5,76	6,29	6,55	7,8
Temperatura (°C)	23,9	23,7	23,3	23,9

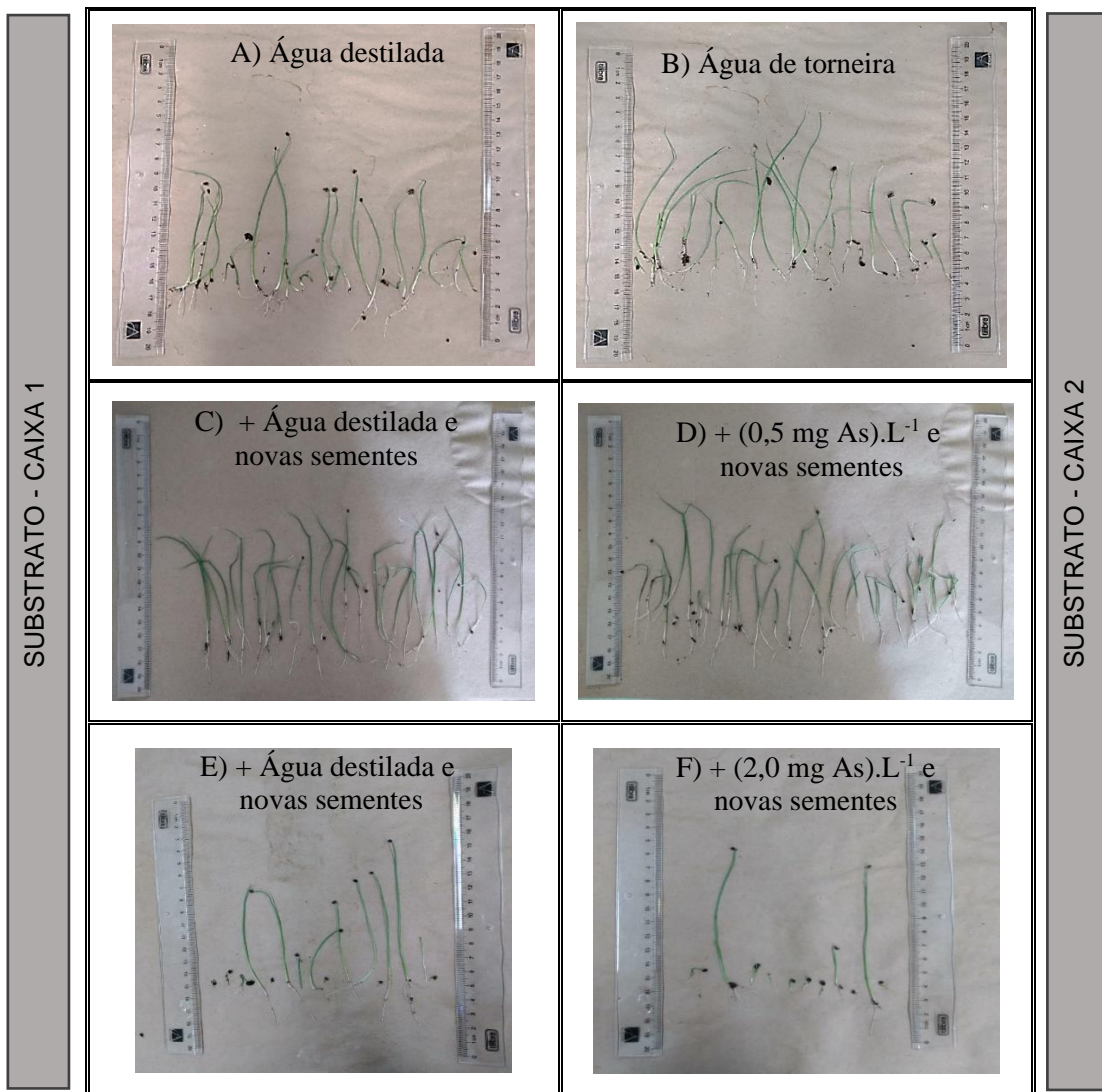
Como pode se observar, o pH da água destilada é naturalmente mais ácido e houve elevação do pH dos líquidos de irrigação ao final do teste de germinação. No caso da água de torneira, o pH do fluido ao final do experimento ficou ligeiramente alcalino enquanto a água destilada permanecia ácida.

Ao fim das duas semanas de acompanhamento, as plântulas obtidas em cada grupo foram pesadas. Neste caso o peso médio das plântulas do grupo irrigado com água destilada foi de 0,58 g enquanto o peso médio das germinações do grupo irrigado com água de torneira foi de 0,69 g, um ganho de massa aproximadamente 19% superior, dessa forma, ficou novamente evidenciado o efeito benéfico da utilização de água não purificada para garantir o desenvolvimento das plantas. Entretanto, embora a água de torneira, aparentemente, forneça mais nutrientes dissolvidos para o desenvolvimento das sementes, permitindo melhor germinação; para garantir a

reprodutibilidade dos resultados, optou-se por utilizar a água destilada nos próximos grupos controle para evitar possíveis interferências com os íons adicionados.

Uma comparação no desenvolvimento das plântulas nessa bateria de testes exploratórios encontra-se resumida na Figura 16 (imagens **A** e **B**). Embora os fornecedores das sementes indiquem percentual de germinação superior 91% os valores encontrados nos testes brancos: 66,7 e 69,4%, considerando-se o emprego de água de torneira e água destilada, respectivamente foram inferiores aos esperados. Estes valores foram adotados como parâmetro para comparação dos resultados nos testes subsequentes.

Figura 16- Desenvolvimento de sementes de *Allium cepa* – efeito da concentração de arsênio



Os valores encontrados nos testes: 66,7 e 69,4%, considerando-se o emprego de água de torneira e água destilada (Tabela 13). Estes valores foram adotados como parâmetro para comparação dos resultados nos testes subsequentes.

Tabela 13 - Germinação de sementes de *Allium cepa* – Condição controle. Número de sementes germinadas e índice de germinação

Tempo (dias)	Data	Água destilada						Índice de germinação IG* (%)	Água de torneira						
		Replicatas							Replicatas						
		1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6	
0	24/03/2022	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	28/03/2022	1	1	0	1	1	1	13	0	0	0	0	0	1	2,78
7	31/03/2022	3	3	4	5	2	4	58,3	1	2	3	1	2	3	33,3
11	04/04/2022	4	3	5	5	2	4	63,8	3	4	5	2	4	4	61,1
15	08/04/2022	4	3	5	5	4	4	69,4	3	4	5	3	5	4	66,7

* IG – Média do N° de sementes germinadas/N° de sementes inoculadas X 100

Após a padronização das condições experimentais, conforme descrito no item anterior, passou-se a avaliar o efeito do emprego de soluções contaminadas com As na germinação das sementes, utilizando dos mesmos solos usados nos experimentos de soluções brancas.

A solução de As com $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ foi obtida a partir da diluição de uma solução estoque de As com concentração original de 1 g.L^{-1} . Como controle, foi utilizada a água destilada e cada pote foi inoculado com 6 sementes. Em cada caixa de cultivo foram adicionados 900 ml de solução de irrigação. Os desenvolvimentos das plantas estão na Figura 16 (imagens **C** e **D**). As condições experimentais ao início e ao final do teste estão apresentadas na Tabela 14.

A germinação das sementes foi acompanhada por um período de 15 dias. O número de sementes e o índice de germinação encontram-se descritos na Tabela 15.

Tabela 14 - Aspectos iniciais e finais das soluções de irrigação - 2ª bateria de testes

	Água destilada (inicial)	Água destilada (final)	Solução As 0,5 mg.L ⁻¹ (inicial)	Solução As 0,5 mg.L ⁻¹ (final)
pH	5,76	6,20	6,66	6,86
Temperatura (°C)	23,9	15,9	23,7	15,8

Tabela 15 - Germinação de sementes de Allium cepa - 2ª bateria de testes

Tempo (dias)	Data	Água destilada						Índice de germinação IG* (%)	As 0,5 mg As.L ⁻¹						
		Replicatas							Replicatas						
		1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6	
0	08/04/2022	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	11/04/2022	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	13/04/2022	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	18/04/2022	4	3	5	3	4	3	61,1	3	4	3	4	3	3	55,6
15	23/04/2022	5	3	6	4	6	4	77,8	4	5	4	6	5	5	80,6

* IG – Média do N° de sementes germinadas/N° de sementes inoculadas X 100

Apesar do índice de germinação de sementes irrigadas por solução contendo As ter sido equivalente ao índice de germinação observado no grupo controle, aproximadamente 80% em ambos, é importante ressaltar que a germinação das plântulas no grupo irrigado com solução de As, aparentemente, foi um pouco mais tardio. Infelizmente, os longos intervalos entre os dias de observação impedem a análise mais precisa desse parâmetro que seria a velocidade de germinação. Por outro lado, o efeito negativo do arsênio no desenvolvimento das sementes pode ser observado ao final do experimento quando as plântulas de cada grupo foram pesadas. Enquanto o peso médio das plântulas irrigadas com água destilada foi 1,10 g, o peso médio dos brotos irrigados com solução de 0,5 mg.L⁻¹ foi de apenas 0,58 g, ou seja, 52,7% do peso médio observado no grupo controle.

O experimento foi repetido tentando-se avaliar o efeito de uma concentração mais elevada de As. Dessa vez, utilizou-se uma solução contendo 2 mg.L⁻¹, porém,

devido à questões experimentais, visando utilizar sementes provenientes de um mesmo lote, os testes foram feitos com uso de apenas 3 sementes por pote. Novamente foram utilizados 900 ml de líquido de irrigação em cada caixa.

As condições ao início e ao final do teste encontram-se descritas na Tabela 16. Os valores de pH finais de ambos os grupos foram semelhantes.

Em comparação de tamanhos das plantas, tem-se imagens **E** e **F** que se encontram Figura 18. Em relação à capacidade de germinação de sementes, o índice de germinação de sementes irrigadas por solução contendo 2 mg.L^{-1} de As, 66,7%, foi inferior ao valor observado no grupo controle, 83,3%, novamente, houve um retardo na germinação das plântulas no grupo irrigado com solução de As (Tabela 17).

Tabela 16- Aspectos iniciais e finais das soluções irrigantes - 3ª bateria de testes

	Água destilada (inicial)	Água destilada (final)	Solução As 2 mg.L^{-1} (inicial)	Solução As 2 mg.L^{-1} (final)
pH	5,60	6,71	6,76	6,73
Temperatura (°C)	21,1	17,6	18,6	18,8

Tabela 17 - Germinação de sementes de *Allium cepa* - 3ª bateria de testes

Tempo (dias)	Data	Água destilada						As 2 mg.L^{-1}								
		Replicatas						Índice de germinação IG* (%)	Replicatas						Índice de germinação IG* (%)	
		1	2	3	4	5	6		1	2	3	4	5	6		
0	23/04/2022	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	26/04/2022	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	29/04/2022	1	0	1	3	1	0	33,3	3	1	0	0	0	1	27,8	
8	04/05/2022	1	0	1	3	2	3	55,6	3	2	2	2	1	1	61,1	
13	09/05/2022	3	1	3	3	2	3	83,3	3	2	3	2	1	1	66,7	

* IG – Média do N° de sementes germinadas/N° de sementes inoculadas X 100

Ao fim do experimento, as plântulas foram pesadas. O peso médio do grupo controle foi 0,43 g enquanto o grupo irrigado com solução contendo arsênio, 2 mg.L⁻¹, apresentou peso médio de 0,28 g. Novamente, fica evidenciado o efeito negativo da presença de As no desenvolvimentos das sementes germinadas.

As diferenças morfológicas das plântulas podem ser observadas nas imagens que se encontram na Figura 16. Os resultados das três baterias de testes encontram-se resumidos no gráfico mostrado pela Figura 17 para permitir melhor comparação do desenvolvimento das sementes germinadas.

Um aspecto interessante a se ressaltar é que nos ensaios de germinação de sementes o nosso grupo de pesquisa vem observando que o desenvolvimento do *Allium cepa* em água destilada é pior do que quando se utiliza água de torneira em mesmas condições de desenvolvimento (ARAÚJO, 2019), isso foi verificado no experimento de padronização. Este fato pode explicar os resultados apresentados na Figura 16 para o grupo controle. Aparentemente, a água de torneira fornece mais nutrientes às plantas do que a água destilada, entretanto, para evitar interações entre os EPT's adicionados aos sistemas e os íons naturalmente presentes na água de torneira, decidiu-se utilizar a água destilada, mesmo cientes das suas limitações, do ponto de vista de nutrição vegetal.

De forma geral os índices de germinação dessas 3 baterias de teste estão apresentados na Tabela 18.

Figura 17 - Desenvolvimento de plântulas de *Allium cepa* irrigadas com diferentes concentrações de Arsênio. Massa dos brotos (g) por grupo de amostras

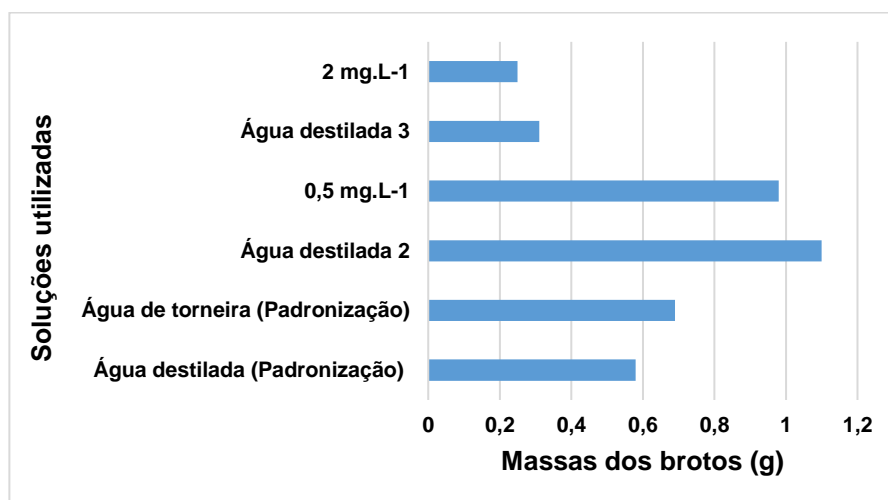


Tabela 18 - Germinação de sementes em diferentes concentrações de arsênio. Percentuais médios por grupo de amostra

Condição experimental	Índice de germinação por replicata (%)						
	1	2	3	4	5	6	Média
Controle A - Água destilada	66,7	50	83,3	83,3	66,7	66,7	69,5
Controle B - Água de torneira	60	66,7	83,3	50	83,3	66,7	68,3
Controle T1 - Água destilada	83,3	50	100	66,7	100	66,7	77,8
Controle T2 - Água destilada	100	33,33	100	100	66,7	100	83,3
Média - controles	74,7						
As 0,5 mg.L ⁻¹	66,7	83,3	66,7	100	83,3	83,3	80,6
As 2,0 mg.L ⁻¹	100	66,67	100	66,7	33,33	33,33	66,7

Percebeu-se que os grupos nos quais o substrato foi irrigado apenas com água, houve maior percentual médio de brotação, quando comparados aos testes irrigados com soluções contendo arsênio. Embora, o As, quando presente em quantidades menores (0,5 mg.L⁻¹), teve efeito ligeiramente positivo na germinação das sementes. Mas de modo geral, até por afirmação dos demais testes ficou evidente que a presença do contaminante, quando aumentada prejudica o desenvolvimento das plântulas, isso é claro pois em um dos controles de água destilada a porcentagem de germinação foi mais alta e em questão da fragilidade das raízes, que ficaram mais visíveis.

Uma questão importante a se observar é que nessa bateria de testes os substratos não foram trocados em nenhum momento, os testes foram iniciados com as menores concentrações de contaminantes e, portanto, existe a questão de acúmulo de contaminante no solo, simulando uma situação real e a limitação de nutrientes no solo, com o passar dos experimentos. É importante ressaltar que tanto o As quanto outros contaminantes presentes na água de irrigação podem ser adsorvidos pelo solo,

concentrando-se nestes, o que aumenta a concentração do elemento no solo. (TEIXEIRA, 2004; CESAR, CASTILHOS, *et al.*, 2014; JAYAWARDENA, WICKRAMASINGHE e UDAGAMA, 2021).

4.2.2.2 Substrato misturado com solo da Mina do Chico Rei

Inicialmente foi planejado o uso de 50% 25% e 12,5% de solo da mina para os testes. Porém, avaliando-se em detalhes os teores de Al, As, Cd, Fe e Mn na amostra, quando comparada à norma CONAMA N° 420 DE 2009 (MMA, 2009), constatou-se o potencial efeito tóxico do material. Por exemplo, analisando-se os limites de As e Cd preconizados pela resolução que são de respectivamente, 15 mg.L⁻¹ e 1,3 mg.L⁻¹, percebeu-se que se utilizássemos quantidades elevadas do solo não seria possível visualizar a influência da concentração desse nos experimentos pois, provavelmente não haveria germinação de sementes e crescimento de plântulas em nenhuma das amostras estudadas. Considerando-se apenas o arsênio, a amostra CR04 possui concentração do elemento aproximadamente 300 vezes superior ao valor limite da norma (4453,03 mg.Kg⁻¹).

Assim, cada 100 g das misturas utilizadas nos testes T1, T2 e T3 continham 0,3368; 3,368 e 33,68 g da fração CR04. Os teores de As em cada condição experimental eram portanto, equivalentes ao Valor de Referência -VR (limite de prevenção) na mistura T1; dez vezes superior ao VR, na mistura T2 e 100 vezes superior ao VR, na mistura T3.

Além dos altos teores de As, a fração CR04 também apresentava altos teores de Mn (5451 mg.Kg⁻¹), sendo este sem especificação de limite para prevenção; Al (3307 mg.Kg⁻¹), também sem especificação de limite de prevenção; e Cd (15,52 mg.Kg⁻¹), com valor quase 12 vezes maior que o limite de prevenção (SANTOS, 2019; MMA, 2009).

Estes testes foram realizados no mês de fevereiro de 2023, iniciados no dia 12, tendo sido empregados como meio sólido para a germinação de sementes o solo da Mina do Chico Rei (Fração CR04) diluído com substrato S_{nut}. A escolha dessa granulometria, se deve a associação das operações que diminuem a granulometria, como facilitadoras e auxiliadoras do aumento da potencialidade tóxica do material disponível. Inclusive, pela descrição composicional do solo, vemos alto percentual de

ETP's potencialmente tóxicos, ainda que se comparados a granulometrias maiores da mesma área (ARAÚJO, 2019; SANTOS, 2019).

Na fase de padronização das condições experimentais optou-se por utilizar 10 sementes por pote e irrigação com água de torneira, pelos melhores resultados que quando comparado a água destilada, utilizando-se duas replicatas. Optou-se também por inserir coletores de plásticos no fundo de cada pote de germinação para evitar misturas dos líquidos lixiviados do solo, em consequência da irrigação. Devido a esta contenção do lixiviado, não houve necessidade de repor a água no sistema.

As condições iniciais observadas, estão descritas na Tabela 19 onde estão apresentadas as características dos líquidos de irrigação ao início e ao final de cada teste demonstrando a importância da introdução dos coletores individuais de líquido irrigante no sistema, a fim de se evitar contaminações e interferências entre os diferentes tipos de solo utilizados. O protocolo experimental adotado, permitiu estudar diferentes diluições de solo simultaneamente.

Tabela 19 - Aspectos iniciais e finais da solução irrigante – Testes de germinação com amostras de solo da Mina do Chico Rei – Fração CR04 (Condições experimentais: T1=VR_{As solo}; T2=10*VR_{As solo}; T3=100*VR_{As solo}. VR_{As solo}=15 mg.Kg⁻¹)

	Água de torneira (inicial)	Água residual T1 (final)	Água residual T2 (final)	Água residual T3 (final)
pH	6,48	7,96	8,01	8,20
Temperatura (°C)	23,4	23	23	23,1

Os resultados demonstrados na Tabela 20 apontam que houve retardo na germinação das sementes e no desenvolvimento das plântulas na presença do solo contaminado.

A demora na germinação e o comprometimento no desenvolvimento das plântulas foi diretamente proporcional ao percentual de fração CR04 no solo.

Novamente, a velocidade da germinação das sementes nos meios contendo maiores proporções da amostra CR04 e, conseqüentemente, maiores teores de As e outros EPT's foi menor. Neste ensaio é importante ter em mente que as concentrações de amostra CR04 misturadas ao substrato S_{nut} foram muito pequenas. As misturas T1, T2 e T3 continham 0,34; 3,37 e 33,7% de fração CR04, respectivamente. Essa diluição foi necessária devido aos altos teores de contaminantes inorgânicos da amostra da Mina do Chico Rei. Assim sendo, o fato de a área de coleta estar localizada em área tão densamente povoada, aponta para o risco de exposição dos moradores de Ouro Preto a estes materiais, tornando-se motivo de preocupação.

Tabela 20 - Testes de germinação de sementes de *Allium cepa* em substratos contendo solo da Mina do Chico Rei – Fração CR04 (Condições experimentais: T1=VR_{As solo}; T2=10*VR_{As solo}; T3=100*VR_{As solo}).

Tempo dias	Data	T1		Índice de	T2		Índice de	T3		Índice de
		[As] = VR		germinação	[As] = 10*VR		germinação	[As] = 100*VR		germinação
		1	2	IG*	3	4	IG*	5	6	IG*
1	12/02/2023	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	15/02/2023	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	19/02/2023	9	8	85	3	7	50	1	0	5
9	21/02/2023	9	9	90	7	9	80	5	6	55
13	25/02/2023	9	9	90	9	9	90	8	8	80
14	26/02/2023	10	9	95	9	9	90	8	8	80

VR_{As solo}=15 mg.Kg⁻¹; * IG = Média do N° de sementes germinadas/N° de sementes inoculadas X 100

Como os testes ocorreram simultaneamente foi possível calcular o tempo médio de germinação (TMG), dividindo-se os valores médios de sementes germinadas pelo tempo decorrido até a sua germinação. Assim ao longo da primeira semana de observação, o TMG foi de 1,2; 0,71 e 0,071 sementes.dia⁻¹ para as amostras T1, T2 e T3, respectivamente. Na Figura 18, visualizamos poucas diferenças entre T1 para T2, porém as diferenças no desenvolvimento ficaram mais evidentes ao se avaliar as amostras do teste T3.

As plantas do grupo T3 (de maior proporção de solo MCR) tiveram menor desenvolvimento e, principalmente, menor desenvolvimento de raízes. Ao final do experimento o solo da amostra T3 também apresentava maior retenção de líquidos. Isso pode ser devido à sua composição já que, na fração CR04, sabe-se existir uma maior proporção de material fino (CR04 enquadrada na fração areia muito fina) em relação as demais frações do solo presente na mina de Chico Rei.

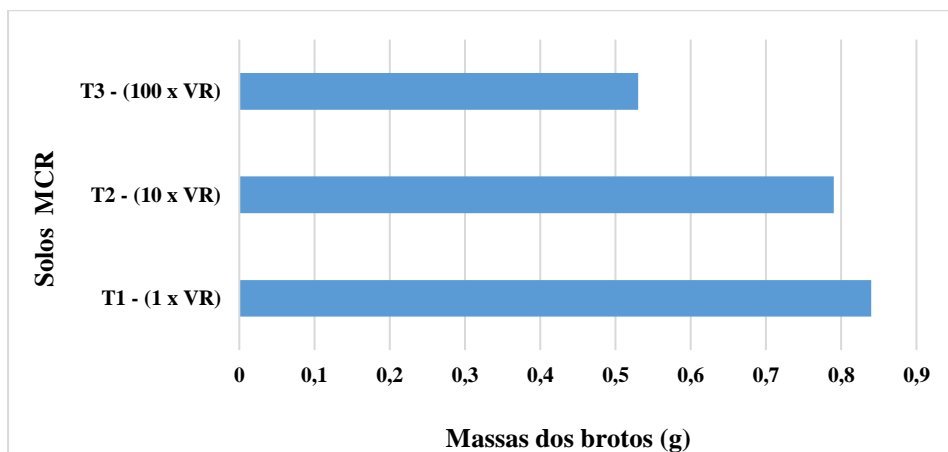
Além das imagens, foram registradas também as massas das brotações obtidas em cada grupo experimental. De acordo com os resultados apresentados na Figura 18 na Figura 19, pode-se confirmar novamente que, quanto maior a concentração de metais no solo, maior o prejuízo ao desenvolvimento da planta. Resultados semelhantes foram observados por Segura e seus colaboradores (SEGURA, NUNES, *et al.*, 2016). Ao analisar o material residual proveniente da lama da barragem de Fundão que foi depositada na bacia do rio Doce, estes autores identificaram o potencial citotóxico e genotóxico dos EPT's nela contidos, ao avaliarem sua influência no desenvolvimento de cebolas.

Figura 18 - Registro de crescimento das cebolas do ensaio com solo da MCR fração CR04. Sendo **A** (T1: 1 x VR*); **B** (T2: 10 x VR); e **C** (T3: 100 x VR).



* VR As solo=15 mg.Kg⁻¹

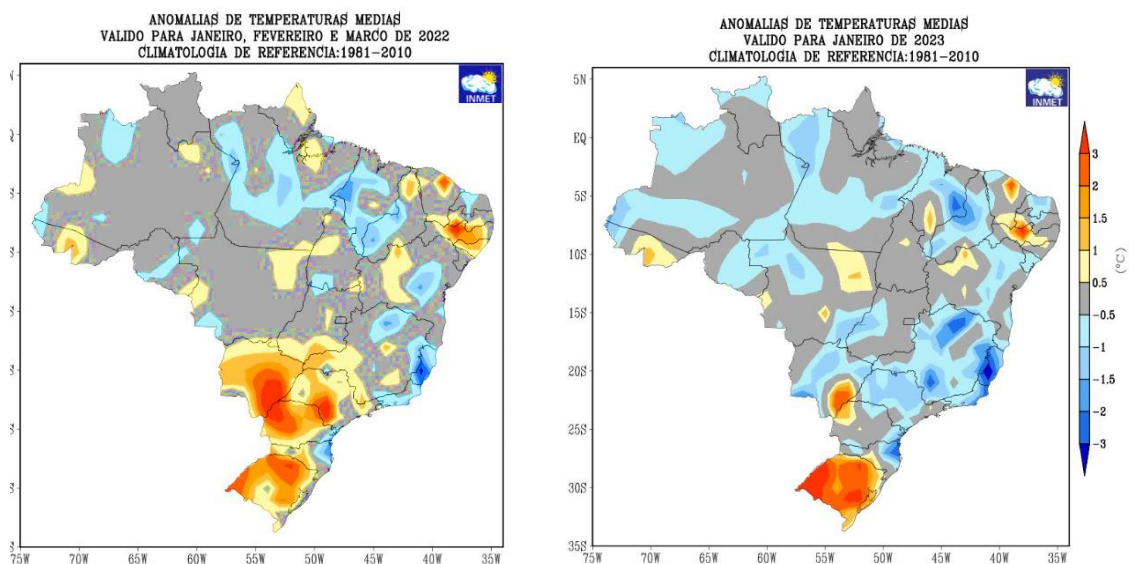
Figura 19 - Desenvolvimento de plântulas de *Allium cepa* cultivadas com diferentes proporções de solo proveniente da Mina de Chico Rei (MCR). Massa dos brotos (g) por grupo de amostras



Um outro detalhe importante de ser ainda comentado diz respeito às alterações climáticas que podem ter causado interferências nos ensaios. Todos os testes foram realizados entre os meses de fevereiro a abril de 2022 e janeiro a março de 2023. Como foi descrito nos resultados, apenas em alguns testes foi necessário fazer reposição de líquidos. Os testes realizados entre fevereiro e abril de 2022 demandaram maior reposição aquosa tanto nos sistemas usados nos testes de proliferação de raízes (bulbos), quanto nas caixas de germinação (sementes). Nos meses referentes ao ano de 2023, não houve necessidade de reposição dos líquidos. Tais diferenças podem ser atribuídas às diferenças de temperaturas no Brasil nos anos de 2022 e 2023 (Figura 20).

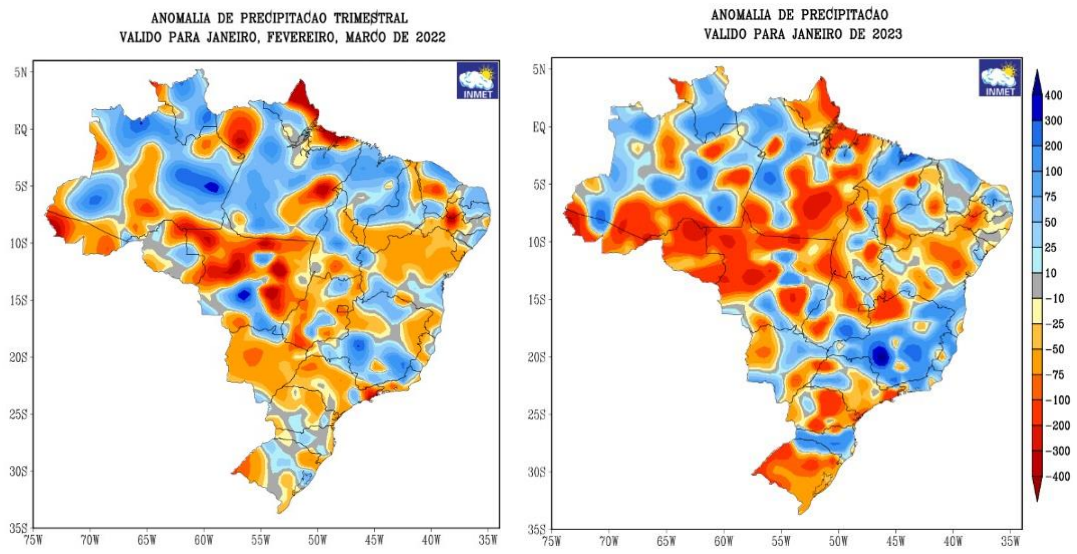
Os sistemas de testes podem ter sido afetados pela umidade local. Em Ouro Preto os meses com umidade relativa mais alta, costumam estar entre meses de novembro a março, meses com maiores precipitações. Vemos um azul mais intenso na região de Minas Gerais, no ano de 2023, como mostrado na Figura 21. Assim, podemos pensar que a umidade neste último ano tenha sido maior que no mesmo período no ano de 2022, o que causou menor necessidade de reposição de água nos sistemas testes.

Figura 20 – Anomalias de temperaturas no Brasil nos períodos de realização de testes



*Últimos dados coletados e divulgados pelo INMET em janeiro de 2023

Fonte: Monitoramento de Precipitação INMET (<https://clima.inmet.gov.br/prec>)

Figura 21 - Anomalias de precipitação no Brasil nos períodos de realização de testes

*Últimos dados coletados e divulgados pelo INMET em janeiro de 2023

Fonte: Monitoramento de Precipitação INMET (<https://clima.inmet.gov.br/prec>)

5 CONCLUSÃO

Os metais são contaminantes químicos preocupantes quando em excesso no meio ambiente, seja a contaminação de origem natural ou não. As atividades humanas acabam por serem facilitadoras da dispersão física (ação hídrica, eólica); química (dissolução); ou biológica (bioacumulação em seres vivos e cadeia trófica) dos contaminantes.

As etapas da mineração alteram características físicas, químicas e disponibilizam na superfície terrestre substâncias de possível assimilação pelos seres vivos. Assim é importante entender que as etapas e processos na mineração, potencializam e são “facilitadoras” da toxicidade de metais.

O *Allium cepa* se mostrou sensível a todas as variações de concentrações de EPT's, quando comparados a controles negativos. Os testes ecotoxicológicos utilizando o bioindicador foram eficazes, simples e baratos, práticos, rápidos, de alta sensibilidade e de fácil controle. Trata-se de bioensaio que permite fácil adaptação. Pode ser aplicado na etapa de diagnóstico, para avaliar a eficiência de um processo de mitigação de poluição enquanto o mesmo esteja transcorrendo ou ainda, pode ser empregado para se confirmar a reabilitação de uma dada área.

Como visto nos textos disponíveis na literatura, tais testes não possuem restrições de usos temporais, ou seja, pode ser aplicado assim que ocorre uma contaminação, ou ao final de um processo de remediação. Isso possibilita o controle de toxicidade em qualquer momento e cria a possibilidade de acompanhamento do status toxicológico do compartimento ambiental analisado, fornecendo base importante ao monitoramento.

Nos testes com bulbos, as concentrações de As acima de 5 mg. L⁻¹ foram inibitórias, comprometendo o desenvolvimento de raízes. Quando em associação com outros EPT's (Cd, 0,1 e Mn 10 mg. L⁻¹), 1 mg.L⁻¹ de As foi suficiente para inibir o desenvolvimento das plantas que apresentaram menor proliferação de raízes sendo essas frágeis e curtas. Nos testes de germinação, soluções contendo 0,5 -2 mg. L⁻¹ de As inibiram o desenvolvimento das plântulas, reduzindo seu peso médio de 0,43 g (irrigação com água) para 0,28g.

A fração de solo CR04, coletada na mina, constituída por partículas finas (0,053-0,088 mm) contendo altos teores de EPT's (4453 mg de As.Kg⁻¹ , quantidade 300 vezes superior ao valor de referência da legislação) utilizadas para os testes de germinação de sementes, mostraram que com o aumento da proporção de CR04 na mistura, a quantidade de germinação caiu de 1,2 para 0,071 sementes.dia⁻¹ , enquanto o índice de germinação caiu de 95 para 80%

Assim, conclui-se que os ensaios ecotoxicológicos que se utilizam da espécie *Allium cepa*, apresentam-se como ótimas ferramentas estratégicas, eficazes para monitoramento de áreas com riscos associados à contaminação por resíduos metálicos tratados ou não, dispostos em ambientes degradados pela mineração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, D. F.; ROCHA, M. S. D. **A TOXICIDADE DO ARSENIO E SUA NATUREZA**. Centro de Pós-Doutorado Oswaldo Cruz. São Paulo, p. 8. 2014.

ARATANI, R. G. . F. O. D. S. . C. J. F. . & A. I. Qualidade física de um Latossolo Vermelho Acriférrico sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 2009. 677-687.

ARAÚJO, L. D. S. S. **PRODUÇÃO DE BISSURFACTANTE POR CONSÓRCIO MICROBIANO E APLICAÇÃO NA REMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO COM ARSÊNIO**. UFOP. Ouro Preto, p. 128. 2019.

ARRAES, I. O. M. E.; LONGHIN, S. R. OTIMIZAÇÃO DE ENSAIO DE TOXICIDADE UTILIZANDO O BIOINDICADOR *Allium cepa* COMO ORGANISMO TESTE. **Centro científico conhecer - Goiás**, 2012.

ARTIOLA, J.; PEPPER, I. L.; BRUSSEAU, M. L. **Environmental Monitoring and Characterization**. [S.l.]: [s.n.], 2004.

BALASURYA, S. et al. Efficient photocatalytic activity of Au@Mg nanospheres on mineralization of polystyrene: A sustainable remediation strategy on sunlight-induced photodegradation, environmental toxicity, and sensing of cefixime. **Journal of Water Process Engineering** **51**, dezembro 2022. 8.

BARBOSA, J. S. et al. Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. **Ecotoxicology and Environmental Safety** , 2010. 6.

BARBOSA, T. M. **Atributos químicos e frações da matéria orgânica do solo em diferentes de manejos sob cultivo de cebola (*Allium cepa* L.)**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, p. 96. 2018.

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E. L. G.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2011. 8.

BLAGOJEVIC, ; STAMENKOVIC', G.; VUJOŠEVIC, M. Potential genotoxic effects of melted snow from an urban area revealed by the *Allium cepa* test. **Chemosphere**, 2009.

BORTOLINI , J. G. **Plantas de cobertura: influência nos atributos físicos, químicos e biológicos em solo sob sistema agroecológico de cultivo de cebola (*Allium cepa* L.)**. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS E VEGETAIS. Florianópolis, SC, p. 128. 2022.

BRASIL. **LEI Nº 6.938, DE 31 DE AGOSTO DE 1981**. [S.l.], p. 22. 1981.

CARVALHO, S. L. D. et al. **Sustentabilidade Socioambiental da Mineração**. [S.l.]: BNDES Setorial, v. 47, 2018.

CESAR, R. G. et al. **(Eco)toxicologia de metais em solos: Conceitos, métodos e Interface com a Geoquímica Ambiental**. Rio de Janeiro: CETEM, 2014.

CHAKRABORTY, R.; MUKHERJEE, A. K.; MUKHERJEE, A. Evaluation of genotoxicity of coal fly ash in *Allium cepa* root cells by combining comet assay with the *Allium* test. **Environ Monit Assess**, 2009. 7.

CORR, D. J. et al. Investigating entrained air voids and Portland cement hydration with low-temperature scanning electron microscopy. **Cement & Concrete Composites**, v. 26, p. 1007–1012, 2004.

CORTECCI, G. **Geología e saúde**. Università degli Studi di Bologna. [S.l.]. 2013.

FREITAS, L. A. D. et al. Coal extraction causes sediment toxicity in aquatic environments in Santa Catarina, Brazil. **Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, 2017. 14.

GERAS'KIN, S.; EVSEEVA, T.; OUDALOVA, A. Plants as a Tool for the Environmental Health Assessment. **Encyclopedia of Environmental Health, Elsevier**, 2011. 571-579.

GERAS'KIN, S. et al. Geno-toxicity assay of sediment and water samples from the Upper Silesia post-mining areas, Poland by means of *Allium*-test. **Chemosphere**, 2011. 14.

IBAMA. **PROGRAMAS DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS (PRADS) EM LICENCIAMENTOS AMBIENTAIS DE MINERAÇÃO**. [S.l.]: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2019.

JAYAWARDENA, A.; WICKRAMASINGHE, D. D.; UDAGAMA, P. V. Cytogenotoxicity evaluation of a heavy metal mixture, detected in a polluted urban wetland: Micronucleus and comet induction in the Indian green frog (*Euphlyctis hexadactylus*) erythrocytes and the *Allium cepa* bioassay. **Chemosphere - Elsevier**, março 2021. 12.

KHISHGEE, C.; AKASAKA, M. Mineralogy of the Boroo gold deposit in the North Khentei gold belt, Central northern Mongolia. **Resource Geology**, 2015. 311-327.

KOSSOFF, D. et al. Mine tailings dams: Characteristics, failure, environmental impacts, and remediation. **Applied Geochemistry, Elsevier**, London, 7 Outubro 2014. 17.

KUMAR, ; BHATTI, S. S.; NAGPAL, A. K. Assessment of Metal(loid) Contamination and Genotoxic Potential. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology of Agricultural Soils**, 2021. 13.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Avaliação da qualidade de águas impactadas por petróleo por meio de sistema-teste biológico (*Allium cepa*) - um estudo de caso.. **4º PDPETRO**, Campinas, SP, Outubro 2007. 21-24.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. Mutation Research-reviews In Mutation Research. **Elsevier B.V., v. 682, n. 1**, Amsterdam, 2009. 71-81.

MANAHAN, E. **Química Ambiental**. <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788565837354/>. Acesso em: 08 jan. 2023. ed. [S.l.]: Grupo A, 2013.

MASOOD, F. et al. Cytotoxic and genotoxic assessment of agricultural soils from an industrial region. **Environ Monit Assess**, 2021. 11.

MATOS, L. A. et al. The influence of heavy metals on toxicogenetic damage in a Brazilian tropical river. **Chemosphere**, Piauí, 2017. 8.

MIGID, H. M. A.; AZAB, Y. A.; IBRAIM, W. M. Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2005. 8.

MMA. **RESOLUÇÃO CONAMA nº 1, de 23 de janeiro de 1986**. CONAMA. Brasília, p. 4. 1986.

MMA. **RESOLUÇÃO CONAMA Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005**. Ministerio do Meio Ambiente - CONAMA. [S.I.]. 2005.

MMA. **RESOLUÇÃO Nº 420, DE 28 DE DEZEMBRO DE 2009**. Ministério do Meio ambiente (MMA) - CONAMA. [S.I.], p. 16. 2009.

MORAIS, S. L.; TEIXEIRA, C. E.; MAXIMIANO, A. M. S. Guia de elaboração de planos de intervenção para o gerenciamento de áreas contaminadas. 1. ed. rev. **São Paulo**: IPT - Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo : BNDES, 2014. Disponível em: <https://www.ipt.br/institucional/campanhas/48-guia_para_gestao_de_areas_contaminadas.htm>. Acesso em: 05 janeiro 2023.

OECD. **OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS - Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test**. [S.I.], p. 21. 2006.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. D. A.; BATISTUZZO, J. A. D. O. Avaliação de Risco - Capítulo 1.5. **FUNDAMENTOS DE TOXICOLOGIA - Editora Atheneu. 704 p.**, 2014. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5835499/mod_resource/content/4/Avalia%C3%A7%C3%A3o%20do%20Risco%20-%20cap.%20livro.pdf>. Acesso em: 14 fevereiro 2023.

PATHIRATNE, ; HEMACHANDRA, C. K.; SILVA, N. D. Efficacy of Allium cepa test system for screening cytotoxicity and genotoxicity of industrial effluents originated from different industrial activities. **Environ Monit Assess**, 2015. 12.

PATHIRATNE, A.; HEMACHAN, C. K.; SILVA, N. D. Efficacy of Allium cepa test system for screening cytotoxicity and genotoxicity of industrial effluents originated from different industrial activities. **Environ Monit Assess**, Novembro 2015. 12.

PEREIRA, W. V. D. S. **FRACIONAMENTO QUÍMICO E BIOACESSIBILIDADE DE ELEMENTOS, POTENCIALMENTE TÓXICOS EM ÁREA DE MINERAÇÃO ARTESANAL DE OURO NA AMAZÔNIA**. Belém, p. 55. 2020.

QUADRA, G. R. et al. Far-reaching cytogenotoxic effects of mine waste from the Fundão dam disaster in Brazil. **Chemosphere**, 2018.

ROCHA, A. F. D. **Cadmium, Lead, Mercury – The issue of these metals in Public Health?** Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação - Universidade de Porto. Porto, p. 63. 2009.

RODRIGUES, G. Z. P.; DALZUCHIO, T.; GÜNTHER, G. Allium cepa L. bioassay and physicochemical and microbiological analysis to evaluate the water quality of the Ilha River, RS, Brazil. **Acta Toxicol. Argent.**, 2016. 8.

SANTOS, A. C. **Biodisponibilidade relativa e bioacessibilidade de elementos potencialmente tóxicos em solo do Quadrilátero Ferrífero**. UFOP. Ouro Preto, p. 129. 2019. (ProAmb).

SANTOS, J. A. G. **Especialização em Mineração e Meio Ambiente: Recuperação e Reabilitação de Áreas Degradadas pela Mineração**. Cruz das Almas: UFRB, 2017.

SEGURA, R. et al. Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). **Environmental Pollution (Elsevier)**, São Paulo, 2016. 13.

SILVA, M. P. et al. Plantas de cobertura e qualidade química e física de Latossolo Vermelho distrófico sob plantio direto. **Agrária**, v. 12, n. 1, 2017. 60-67.

SOUZA, J. P. D. et al. From collection to discharge: physical, chemical, and biological analyses for fish farm water quality monitoring. **Ecotoxicology**, 2019. 13.

SOUZA, M. D. C. E. et al. Cytotoxicity and genotoxicity of Guaribas river water (Piauí, Brazil), influenced by anthropogenic action. **Environ Monit Assess**, 2017. 11.

SOUZA, V. P. D.; LINS, F. A. F. **Recuperação do ouro por Amalgamação e Cianetação - Problemas ambientais e possíveis alternativas**. [S.l.]: Tecnologia Mineral, 1989.

SPARLING, D. W. **Basics of Ecotoxicology**. New York: Taylor & Francis Group, 2017.

STATHOPOULOU, M.-E. K. et al. Silver complex of salicylic acid and its hydrogel-cream in wound healing chemotherapy. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 2018. 15.

TABET, M. et al. Mutagenic and genotoxic effects of Guelma's urban wastewater, Algeria. **Environ Monit Assess**, 2015. 13.

TEIXEIRA, M. C. **Mecanismo de Biossorção Seletiva de Arsênio (III) em Rejeitos Ricos em Proteínas Fibrosas**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 266. 2004.

UDODENKO, Y. G. . R. C. T. . C. J. . B. R. . M. J. . I. E. S. Mercury levels in sediment, fish and macroinvertebrates of the Booro River northern Mongolia, under the legacy of gold mining. **Ecotoxicology**, 2022. 1-12.

USEPA. US EPA ARCHIVE DOCUMENT, 2008. Disponível em: <<https://archive.epa.gov/region9/superfund/web/pdf/04prgtable.pdf>>. Acesso em: 05 fevereiro 2023.

WALKER, C. H. et al. **Principles of Ecotoxicology**. Fourth Edition. ed. New York: CRC Press, 2012.

YOON, et al. Metal(loid)-specific sources and distribution mechanisms of riverside soil contamination near an abandoned gold mine in Mongolia. **Journal of Hazardous Materials** , Wonju, South Korea, November 2022. 14.