

Avaliação química, ecotoxicológica e genotoxicológica de águas de cavas de mineração a céu aberto

Chemical, ecotoxicological and genotoxicological evaluation of waters of open pit mine lakes

Vinícius Fagundes Bárbara^{1*} , Maria Gizelda de Oliveira Tavares² ,
Natalia Cristina D'Alessandro² , Daniela de Melo e Silva² , Nelson Roberto Antoniosi Filho² 

RESUMO

Lagos artificiais formados em áreas de mineração a céu aberto são unidades complexas e se constituem em passivos ambientais emergentes advindos da indústria da mineração. Embora estejam aumentando em número em várias partes do globo, são um problema ambiental recente e ainda pouco estudado, especialmente no tocante à qualidade e à toxicidade de suas águas, que podem apresentar riscos ambientais preocupantes, dado seu potencial de contaminação. O presente trabalho descreve os resultados da análise sazonal de aspectos químicos, ecotoxicológicos e genotoxicológicos das águas de três cavas de mineração de ouro desativadas localizadas em Mara Rosa, Goiás, Brasil. Amostras de água foram coletadas em perfil em duas estações climáticas distintas – inverno e verão – e foram analisadas quimicamente para determinação de metais e ânions. Também foram desenvolvidos testes ecotoxicológicos e ensaios cometa com peixes da espécie *Danio rerio*. Os resultados indicaram que as concentrações das espécies químicas analisadas se mostraram predominantemente crescentes no sentido da superfície ao fundo e mais elevadas durante a estação seca. As águas do Lago Azul demonstram estar quimicamente comprometidas, pois são ácidas e ricas em analitos potencialmente tóxicos, como alumínio, cádmio, chumbo, cobre, manganês, níquel e zinco. Não foram identificadas alterações ecotoxicológicas significativas para nenhuma das amostras analisadas, todavia, em termos genotoxicológicos, o Lago Azul apresentou danos ao DNA a partir da concentração de 25% na estação seca e de 50% na estação chuvosa.

Palavras-chave: avaliação ambiental; áreas contaminadas; ensaio cometa; cavas de mineração; ecotoxicologia.

ABSTRACT

Artificial lakes formed in open pit mining areas are complex units and constitute emerging environmental liabilities arising from the mining industry. Although they are increasing in number in several parts of the world, they still form a recent and little studied environmental problem, especially regarding the quality and toxicity of its waters, which may represent worrying environmental risks. This study describes the results of the seasonal analysis of chemical, ecotoxicological and genotoxicological aspects of the waters of three disused gold mining pit lakes located in Mara Rosa, Goiás, Brazil. Samples were collected in profile in two different climatic seasons, winter and summer, and were chemically analyzed to determine their load of metals and anions. Ecotoxicological Tests and Comet Assays were also developed with fish of the *Danio rerio* species. The results indicated that the concentrations of the chemical species analyzed were predominantly increased in the surface-bottom direction and higher during the dry season. Lago Azul waters have been shown to be chemically more compromised as they are acidic and rich in potentially toxic analytes such as aluminum, cadmium, lead, copper, manganese, nickel, and zinc. No significant ecotoxicological alterations were identified for any of the analyzed samples, although, in genotoxicological terms, Lago Azul presented DNA damage from concentrations of 25% in the dry season and 50% in the wet season.

Keywords: environmental assessment; contaminated areas; comet assay; open pit mine lakes, ecotoxicology.

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás - Goiânia (GO), Brasil.

²Universidade Federal de Goiás - Goiânia (GO), Brasil.

*Autor correspondente: viniciu.fagundes@gmail.com

Recebido: 24/02/2017 - Aceito: 30/10/2017 - Reg. ABES: 176320

INTRODUÇÃO

Os impactos ambientais associados à indústria da mineração são intensos e de difícil gerenciamento, como a drenagem ácida de mina (DAM), identificada como uma das principais causas de degradação de recursos naturais em áreas mineradas, como solo e águas superficiais e subterrâneas (INDA *et al.*, 2010). A DAM surge quando as condições originais de estabilidade química do solo são alteradas pela ação de intempéries, principalmente das águas pluviais e do ar que, ao entrarem em contato com rochas sulfetadas originalmente em condições de equilíbrio, desencadeiam reações geradoras de um percolado ácido e rico em metais potencialmente tóxicos, fomentando, assim, o surgimento de áreas contaminadas (SISINNO & OLIVEIRA-FILHO, 2013).

Cavas de mineração são um problema mundial notadamente intensificado a partir de 1990, quando as primeiras minas a céu aberto de grande porte começaram a se exaurir de forma mais intensa (VON SPERLING; JARDIM; GRANDCHAMP, 2004). Em determinadas partes do globo, os volumes hídricos acumulados nesses lagos artificiais são necessários para uso humano ou utilizados como alternativas de recuperação ambiental (DELGADO-MARTIN *et al.*, 2013; MOLLEMA *et al.*, 2015). Entretanto, por apresentarem comportamento ambientalmente complexo, muitos se apresentam qualitativamente comprometidos, oferecendo riscos aos seres vivos e tornando sua gestão ambiental desafiadora (CASTENDYK; MAUK; WEBSTER, 2005).

Dada a crescente demanda por minérios, há a clara tendência de aumento do número de cavas em diversos países nas próximas décadas, especialmente no Brasil (MONJEZI *et al.*, 2009). Apesar dos riscos ambientais e sociais que essas unidades de origem antrópica representam, seus efeitos ecológicos ainda são pouco conhecidos (PELLICORI; GAMMONS; POULSON, 2005; SÁNCHEZ-ESPAÑA *et al.*, 2008; VILLAIN; ALAKANGAS; ÖHLANDER, 2013). Por outro lado, a maior parte dos poucos estudos sobre o tema publicados internacionalmente se limitaram à análise de aspectos geoquímicos das águas de cavas que, apesar de importantes, retratam apenas estados qualitativos instantâneos, não indicando os possíveis efeitos da ação biológica combinada dos elementos químicos de interesse ambiental presentes em lagos de mineração (HERLORY *et al.*, 2013).

Uma abordagem mais profunda para avaliação sinérgica dos efeitos de contaminantes de cavas sobre os seres vivos é necessária e indispensável para que se compreenda melhor esse problema ambiental emergente (COSTA *et al.*, 2008; MAGALHÃES & FERRÃO FILHO, 2008), o que pode ser alcançado com o desenvolvimento de estudos ecotoxicológicos (SÄMY; TORRENS; MEDEIROS, 2010), por exemplo. Por outro lado, análises genotoxicológicas agregam ainda mais elementos às avaliações ambientais, pois permitem mensurar os efeitos degradantes de diversas substâncias em nível celular. Nesse sentido, embora alguns trabalhos com enfoque em ecotoxicologia de cavas já tenham sido desenvolvidos (GAGNAIRE *et al.*, 2015), ainda são

raros, recentes e representam pouco conhecimento acumulado sobre o assunto. Adicionalmente, pesquisas com abordagens toxicológicas em nível genético desses ambientes são desconhecidas.

Portanto, o presente trabalho objetivou analisar as águas de três cavas de ouro localizadas no município de Mara Rosa, Goiás, Brasil, mediante a avaliação sazonal combinada de aspectos químicos, ecotoxicológicos e genotoxicológicos.

METODOLOGIA

Caracterização da área de estudo

A cidade de Mara Rosa conviveu com extrações auríferas em garimpos de aluvião por décadas. Todavia, nos últimos anos, essa atividade rudimentar deu lugar a grandes empresas de mineração a céu aberto que se instalaram na região. Atualmente desativadas, seus passivos ambientais não foram recuperados a contento, uma vez que continuam desencadeando impactos negativos no meio natural local. São constituídos, principalmente, de três lagos de mineração situados na área rural do município, denominados, neste estudo, de Cava Maior (com área aproximada de 1,7 ha), Cava Menor (0,7 ha) e Lago Azul (2,8 ha). Em linha reta, as duas primeiras distam cerca de 250 m entre si e aproximadamente 10 km do Lago Azul (Figura 1).

As Cavas Maior e Menor, exploradas até o ano de 1995, são cercadas para coibir o acesso e estão parcialmente circundadas por vegetação. Por não possuir nenhum dispositivo de controle de acesso, o Lago Azul, também formado nos anos 90, é muito utilizado por pessoas da região de Mara Rosa e de outras partes do País como ponto de lazer, recreação, prática de mergulho e esportes náuticos. Constitui-se no principal ponto turístico do município, sendo constantemente frequentado por grupos variados de pessoas de diversas faixas etárias.

Delineamento experimental

Amostras de água foram coletadas na superfície (S), no meio (M) e no fundo (F) de cada lago em dois momentos distintos: fim das estações chuvosa (1ª campanha: abril de 2014) e seca (2ª campanha: setembro de 2014). Esse delineamento experimental é comum em estudos de cavas, já que possibilita avaliar a qualidade hídrica em perfil e suas possíveis correlações com a sazonalidade (EDBERG; ANDERSON; HOLMSTRÖM, 2012). As coordenadas geográficas de cada ponto de coleta foram obtidas com um aparelho de *global positioning system* (GPS) da marca Garmin®, modelo GPSMAP 62sc (Tabela 1).

Primeiramente, as cavas foram submetidas a levantamentos batimétricos com um *acoustic doppler current profiler* (ADCP), modelo Riveray ADCP (600 kHz), da RD Instruments®, acoplado ao *software* WinRiver II. Os resultados possibilitaram estabelecer as profundidades de coleta (S, M e F) para cada lago.

As coletas foram realizadas com o auxílio de um bote inflável da marca Intex®, modelo Seahawk 3, e de uma Garrafa de Van Dorn Horizontal de PVC (2 L), da Alfakit®, ligada a um cabo de 4 mm de diâmetro e 60 m de comprimento, presa a um disparador metálico.

As análises de metais foram realizadas em um espectrômetro de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), da marca Thermo Fisher Scientific®, modelo ICAP 6300 Duo, com medida espectral de 166 a 847 nm e detector simultâneo *charge injection device* (CID). O gás de formação do plasma e da purga da ótica foi o Argônio 5.0, de alta pureza, da marca IBG®. Os acessórios utilizados para a introdução das amostras foram tubos de *tygon*, nebulizador concêntrico, câmara de nebulização ciclônica e tubo central de 2 mm. As soluções-padrão utilizadas foram da marca Specsol®. Os comprimentos de onda foram escolhidos levando-se em consideração as linhas de maior intensidade e menor número de interferentes. Ao todo, foram

analisados 35 elementos químicos, a saber: alumínio (Al), antimônio (Sb), arsênio (As), bário (Ba), berílio (Be), bismuto (Bi), boro (B), cádmio (Cd), cálcio (Ca), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), crômio (Cr), enxofre (S), estanho (Sn), estrôncio (Sr), ferro (Fe), fósforo (P), lítio (Li), magnésio (Mg), manganês (Mn), mercúrio (Hg), molibdênio (Mo), níquel (Ni), ouro (Au), potássio (K), prata (Ag), selênio (Se), sódio (Na), tálio (Tl), telúrio (Te), titânio (Ti), urânio (U), vanádio (V) e zinco (Zn). As análises foram feitas em triplicata.

Para ânions, foi utilizado um equipamento eletroforese de capilar da marca Agilent Technologies®, modelo 7100, dotado de capilar de sílica fundida com diâmetro interno de 50 μm e com 72 cm de comprimento. O modo de injeção foi o hidrodinâmico, com pressão de 50 mbar durante 4 segundos, e a tensão aplicada para separação foi de -30 kV. A seguinte solução tampão da marca Agilent® (pH 7,7) foi empregada: hidróxido hexametônico 0,75 mmol.L^{-1} ; hidróxido de sódio 6,50 mmol.L^{-1} ; ácido

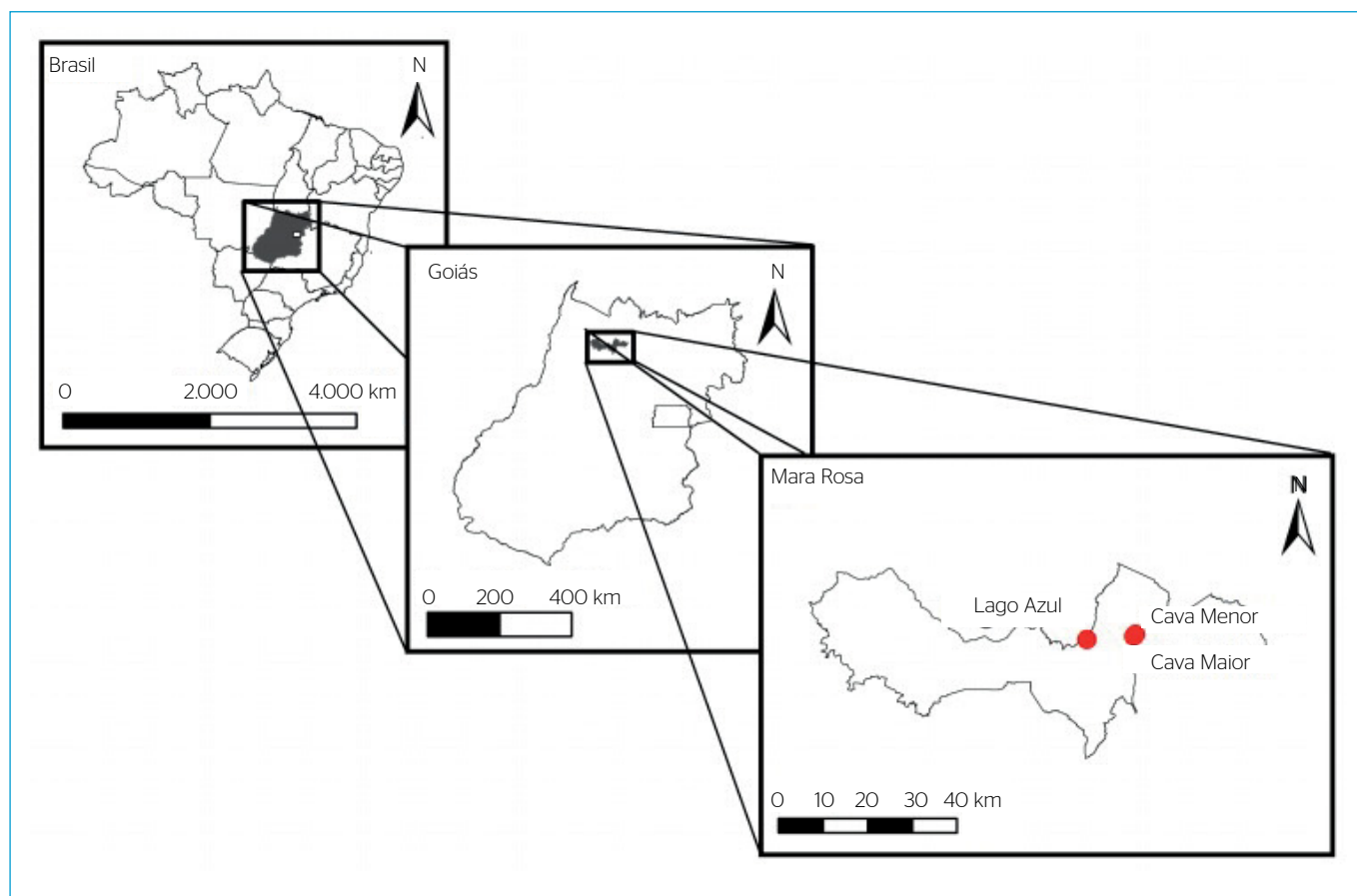


Figura 1 - Localização da área de estudo: Cavas Maior e Menor e Lago Azul, situadas no município de Mara Rosa, no norte do Estado de Goiás.

Tabela 1 - Dados detalhados das campanhas de campo.

Local	Coordenadas geográficas	1ª campanha	2ª campanha
Cava Menor	13°58'16,65"S/49°10'34,33"O	07/04/2014 (07h23)	22/09/2014 (08h24)
Cava Maior	13°58'28,37"S/49°10'45,17"O	07/04/2014 (08h45)	22/09/2014 (10h02)
Lago Azul	13°58'51,01"S/49°16'27,24"O	07/04/2014 (11h21)	22/09/2014 (12h49)

piromelítico 2,25 mmol.L⁻¹; e trietanolamina 1,60 mmol.L⁻¹. O equipamento foi acoplado a um detector arranjo de diodos (DAD) controlado pelo *software* Agilent Chemstation. Empregaram-se os comprimentos de onda de 350 nm para leitura e de 245 nm como referência, com varredura de 80 nm e 10 nm, respectivamente. No início das análises, o capilar foi pré-condicionado mediante lavagem com hidróxido de sódio 0,1 mmol.L⁻¹ durante 5 minutos, seguido de água por 2 minutos e eletrólito de corrida por 5 minutos. Os seguintes elementos foram mensurados: cloreto, nitrato, nitrito, brometo, sulfato, sulfeto, fluoreto e fosfato. As análises foram feitas em triplicata.

Os resultados de metais e ânions foram comparados com os limites máximos estabelecidos pela Resolução nº 357/2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que dispõe sobre a classificação dos corpos de água superficiais e estabelece diretrizes para o seu enquadramento. Aqui, adotaram-se os valores para corpos d'água de classe II.

As análises ecotoxicológicas foram realizadas com amostras hídricas de fundo das cavas, em consonância com as diretrizes estabelecidas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2007a; 2007b). Foram empregados peixes dulcícolas da espécie *Danio rerio*, organismo-teste utilizado mundialmente em bioensaios (ZHU *et al.*, 2007; BERTOLETTI, 2009; ALUMA; HASSETT; JOHNSON, 2011). Ao serem adquiridos, os exemplares foram acondicionados em aquários de 80 litros dispostos em sala dotada de controle de temperatura ambiente e submetidos a intervalos de fotoperíodo de 12 horas. Cada aquário possuía aerador, filtro, termostato e tampa. A alimentação foi feita com ração floculada específica para peixes, fornecida diariamente.

O método escolhido para os ensaios ecotoxicológicos foi o estático, recomendado para substâncias-teste que apresentam características como estabilidade no meio aquoso e não interferência nas concentrações de oxigênio dissolvido (BERTOLETTI, 2009). Foram desenvolvidos testes agudos, de 48 horas de duração, divididos em duas etapas: ensaios preliminar e definitivo. O primeiro tem a finalidade de estabelecer um intervalo de soluções-teste a ser utilizado no ensaio definitivo e consiste na transferência de três peixes para cada aquário de 1 L contendo a substância-teste diluída nas seguintes concentrações (volume/volume), conforme estabelecido pela ABNT (2007a; 2007b): 3,1; 6,2; 12,5; 25,0; 50,0 e 100,0%, além do grupo-controle negativo. Por sua vez, o ensaio definitivo, realizado em duplicata, consiste na introdução de 10 peixes em aquários de 3 L, preenchidos com a substância-teste diluída nos intervalos de concentrações estabelecidos no ensaio preliminar. O objetivo desses ensaios foi identificar a concentração letal mediana (CL50), definida como a concentração nominal da amostra que causa efeito na sobrevivência de 50% dos organismos no tempo de exposição.

Complementarmente, para a avaliação dos possíveis danos genéticos sofridos pelos organismos-teste, foi realizado o ensaio cometa,

capaz de detectar danos ao DNA em células individualizadas (OLIVE; BANÁTH; DURAND, 1990; SILVA; ERDTMANN; HENRIQUES, 2003; BUCHER; CARVALHO; ALVES-GOMES, 2006). A metodologia empregada foi a descrita por Singh *et al.* (1988), com modificações. No laboratório, após o término do teste ecotoxicológico definitivo, cinco peixes sobreviventes expostos a cada concentração foram eutanasiados. O sangue foi coletado por meio da secção transversal na base da cauda, sendo o organismo inserido em um tubo *ependorff* contendo 1 mL de soro fetal bovino. Após 15 minutos de imersão, os peixes foram retirados e os tubos contendo as suspensões celulares foram centrifugados a 1.000 rpm durante 5 minutos. Na sequência, foram retirados 15 µL da suspensão celular e embebidos em 120 µL de agarose *low melting point* (0,5%), mantida em banho-maria a 37°C. A mistura foi colocada em lâminas previamente preparadas com uma pré-cobertura de agarose *normal melting* (1,5%) e coberta com uma lamínula. Em seguida, foram colocadas na geladeira a 6°C durante 10 minutos para a solidificação do material.

Na sequência, as lamínulas foram retiradas e as lâminas foram então imersas em solução de lise (1 mL Triton X-100, 10 mL de DMSO e 89 mL de solução de lise estoque, pH 10,0) por 24 horas, a uma temperatura de 6°C, e mantidas protegidas da luz. Posteriormente, foram retiradas da lise e colocadas em uma cuba horizontal de eletroforese, imersas em solução alcalina (NaOH 300 mmol.L⁻¹+ EDTA 1 mmol.L⁻¹, pH>13) por 30 minutos. A corrida eletroforética foi realizada por 25 minutos, a 25 volts e com uma corrente ajustada para 300 mA. Uma vez removidas da cuba, a neutralização das lâminas foi feita com solução tampão (Tris-HCl 0,4 mmol.L⁻¹, pH 7,5) por três vezes, em intervalos de 5 minutos. Na sequência, foram lavadas duas vezes com água destilada, colocadas para secar em temperatura ambiente e fixadas em etanol absoluto (alta pureza) por dez minutos.

As lâminas foram coradas com adição de 20 µL de solução de brometo de etídio (concentração final de 0,2 mg.mL⁻¹), sendo esta recoberta por uma lamínula, de forma que seja evitado o contato direto com o material. Para cada indivíduo, foram contabilizados 100 nucleoides. A visualização foi feita por um sistema de microscopia de fluorescência Axioplan-Imaging®, usando o *software* Isis, com um filtro de excitação de 510-560 nm e um filtro barreira de 590 nm, com aumento de 200x. Para avaliação dos danos ao DNA, foi utilizado o *plug-in* OpenComet para a plataforma de processamento de imagem popular ImageJ. Esse último pode exibir, processar e analisar imagens e é muito utilizado em microscopia (GYORI *et al.*, 2014). Para a análise dos cometas, foi selecionado o parâmetro quantitativo porcentagem de DNA na cauda (% DNA), considerado o que melhor representa a quantidade real de dano sofrido pela célula (HARTMANN *et al.*, 2003; KUMARAVEL & JHA, 2007). As análises estatísticas dos dados foram feitas com o auxílio do *software* STATISTICA 7 (StatSoft Inc., 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises químicas

Os valores médios e os desvios padrões obtidos para os metais estão listados nas Tabelas 2, 3 e 4. Para todas as curvas de calibração, os coeficientes de correlação permaneceram acima de 0,99. Valores em negrito estão acima do preconizado pela Resolução CONAMA nº 357/2005. Os metais que não tiveram concentrações detectadas não foram incluídos nas tabelas.

Observou-se que as Cavas Menor e Maior não apresentaram águas com teores de metais acima do permitido, embora, no geral, suas

concentrações tenham se mostrado predominantemente crescentes no sentido da superfície ao fundo e mais elevadas na estação seca. Verificou-se que as condições edáficas locais não estão favorecendo a alteração negativa da qualidade hídrica desses lagos, provavelmente porque as fontes geológicas são geoquimicamente estáveis.

Denimal *et al.* (2005), Delgado-Martin *et al.* (2013) e Gammons *et al.* (2013) obtiveram resultados semelhantes aos das Cavas Maior e Menor em termos de qualidade da água, pois também não constataram concentrações de metais acima do permitido, contudo essa característica ambiental aparentemente satisfatória não deve ser entendida como constante, pois sabe-se que águas de lagos de mineração podem

Tabela 2 - Resultados das concentrações de metais analisados para a Cava Menor durante a 1ª e 2ª campanhas, incluindo os respectivos valores máximos estabelecidos pela Resolução nº 357/2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

Concentração dos elementos químicos detectados: metais (mg.L ⁻¹)							
	Cava Menor 1ª campanha (estação chuvosa)			Cava Menor 2ª campanha (estação seca)			Limite CONAMA nº 357/05
	S: 0,20 m	M: 9,00 m	F: 18,00 m	S: 0,20 m	M: 9,00 m	F: 18,00 m	
Ba	<LQ	0,01±0,00	0,01±0,00	0,02±0,00	0,02±0,00	0,02±0,00	0,7
Ca	6,4±1,7	11,7±4,8	12,5±1,7	29,9±0,3	30,2±0,2	31,5±0,3	-
S	31,7±5,5	40,5±4,6	48,9±4,6	87,2±1,1	86,4±0,7	89,6±0,2	-
Sr	0,01±0,00	0,01±0,00	0,04±0,00	0,19±0,00	0,19±0,00	0,19±0,00	-
Fe	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,01±0,00	0,02±0,01	0,3
Li	0,002±0,001	0,003±0,002	0,003±0,002	0,01±0,00	0,01±0,00	0,05±0,00	2,5
Mg	0,2±0,1	0,7±0,1	0,3±0,1	3,9±0,9	5,8±1,9	6,3±0,4	-
Mn	0,002±0,001	0,002±0,001	0,001±0,000	0,002±0,001	0,01±0,00	0,01±0,00	0,1
K	0,9±0,3	2,2±0,6	1,2±0,3	14,4±0,4	14,8±0,4	14,8±0,1	-
Na	3,3±0,5	2,3±0,1	3,2±0,1	5,8±0,1	6,2±0,2	6,8±0,2	-

S: superfície; M: meio; F: fundo; LQ: limite de quantificação.

Tabela 3 - Resultados das concentrações de metais analisados para a Cava Maior durante a 1ª e 2ª campanhas, incluindo os respectivos valores máximos estabelecidos pela Resolução nº 357/2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

Concentração dos elementos químicos detectados: metais (mg.L ⁻¹)							
	Cava Maior 1ª campanha (estação chuvosa)			Cava Maior 2ª campanha (estação seca)			Limite CONAMA nº 357/05
	S: 0,20 m	M: 15,50 m	F: 31,00 m	S: 0,20 m	M: 15,50 m	F: 31,00 m	
Ba	<LQ	<LQ	0,008±0,000	0,03±0,00	0,03±0,00	0,04±0,00	0,7
Ca	0,4±0,1	1,0±0,1	1,5±0,3	9,5±0,1	10,0±0,3	10,3±0,2	-
S	11,8±0,6	16,7±0,5	18,8±1,2	25,6±0,1	25,9±0,1	27,8±0,4	-
Sr	0,01±0,00	0,01±0,00	0,003±0,001	0,07±0,00	0,07±0,00	0,07±0,00	-
Fe	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,03±0,01	0,05±0,01	0,3
Mg	1,4±0,2	1,6±0,1	2,1±0,2	3,5±0,0	3,6±0,1	3,7±0,1	-
Mn	0,002±0,001	0,002±0,001	0,01±0,00	0,001±0,000	0,008±0,001	0,004±0,001	0,1
Mo	<LQ	<LQ	0,003±0,000	0,004±0,000	0,004±0,000	0,004±0,000	-
K	1,2±0,1	1,4±0,1	1,8±0,1	8,3±0,3	8,0±0,3	8,3±0,3	-
Na	1,5±0,1	1,7±0,2	2,0±0,1	1,9±0,1	2,0±0,3	2,1±0,1	-
Ti	<LQ	<LQ	<LQ	0,004±0,000	0,004±0,000	0,005±0,000	-

S: superfície; M: meio; F: fundo; LQ: limite de quantificação.

não se comportar de forma quimicamente estável ao longo do tempo (HRDINKA *et al.*, 2013). Antunes *et al.* (2007), por exemplo, comprovaram que as concentrações de alguns elementos presentes nas águas da Mina Cunha Baixa, no Distrito de Viseu, em Portugal, diminuíram temporalmente, enquanto de outros aumentaram.

Tratando-se do Lago Azul, os elementos cujas concentrações ficaram acima dos limites máximos estabelecidos pela legislação brasileira foram alumínio, cádmio, chumbo, cobre, manganês, níquel e zinco. Sazonalmente, foi durante a estiagem que se observou a diminuição mais intensa da qualidade hídrica dessa cava, quando as concentrações dos analitos se apresentaram predominantemente crescentes em direção ao fundo e maiores que as observadas nas amostras coletadas no fim da época de monções (1ª campanha).

As elevadas concentrações de alguns metais dissolvidos associadas ao fato de as águas do Lago Azul serem ácidas ($\text{pH} < 4,50$) comprovam a ocorrência de DAM na área, o que pode ser explicado pela existência de uma bancada de rocha de cerca de 40 m de altura e de um depósito de estereis expostos às intempéries em suas imediações diretas. O favorecimento da contaminação hídrica pela intemperização geoquímica de cavas já foi comprovada em algumas pesquisas, como as desenvolvidas por Bowell e Parshley (2005), Lottermoser, Ashley e Costelloe (2005), Pellicori, Gammons e Poulson (2005),

Triantafyllidis e Skarpelis (2006), Migaszewski *et al.* (2008) e Sánchez-España *et al.* (2008).

Lottermoser, Ashley e Costelloe (2005), por exemplo, identificaram um intenso processo de degradação na Mina Mary Kathleem (Austrália), ao comprovarem que rochas a céu aberto liberavam elementos químicos como cobre e níquel, responsáveis pela alteração da qualidade da água de uma cava de urânio. Da mesma forma, Pellicori, Gammons e Poulson (2005), estudando o lago Berkeley (EUA), identificaram concentrações crescentes de cobre, manganês, alumínio e zinco no perfil hídrico. Por sua vez, Triantafyllidis e Skarpelis (2006) obtiveram dados similares para ferro, chumbo, zinco, arsênio e cobre em uma mina grega. Davis e Ashenberg (1989) e Gammons *et al.* (2013) também identificaram altas concentrações de metais nas águas do Lago Berkeley (EUA), bem como Czop *et al.* (2011), que comprovaram teores altos de alumínio, arsênio, crômio, molibdênio e vanádio no Lago Gorka (Polônia). Adicionalmente, Antunes *et al.* (2007) pesquisaram a qualidade das águas de uma mina portuguesa abandonada e encontraram concentrações de manganês, ferro, alumínio, urânio e estrôncio acima dos limites permitidos. Yucel e Baba (2013) pesquisaram cinco cavas turcas formadas em antigas áreas de exploração de carvão e também observaram águas com elevados índices de alumínio, ferro e manganês. Hrdinka *et al.* (2013) analisaram a qualidade

Tabela 4 – Resultados das concentrações de metais analisados para o Lago Azul durante a 1ª e 2ª campanhas, incluindo os respectivos valores máximos estabelecidos pela Resolução nº 357/2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

Concentração dos elementos químicos detectados: metais (mg.L ⁻¹)							
	Lago Azul 1ª campanha (estação chuvosa)			Lago Azul 2ª campanha (estação seca)			Limite CONAMA nº 357/05
	S: 0,20 m	M: 23,00 m	F: 46,00 m	S: 0,20 m	M: 23,00 m	F: 46,00 m	
Al	0,05±0,01	0,21±0,05	0,41±0,12	0,43±0,06	1,21±0,03	1,17±0,10	0,1
Ba	0,01±0,02	0,02±0,01	0,03±0,02	0,01±0,02	0,03±0,01	0,03±0,03	0,7
Cd	0,001±0,000	0,002±0,001	0,003±0,001	0,003±0,001	0,005±0,001	0,01±0,00	0,001
Ca	8,9±2,2	18,5±3,0	35,8±2,9	13,1±2,2	23,3±3,6	24,4±3,1	-
Pb	<LQ	<LQ	0,02±0,00	<LQ	0,03±0,01	0,03±0,01	0,01
Co	0,02±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01	0,02±0,00	0,03±0,01	0,05±0,02	0,05
Cu	0,01±0,00	0,04±0,01	0,07±0,01	0,07±0,00	0,14±0,00	0,14±0,00	0,009
S	40,7±1,4	58,8±6,1	71,7±8,8	90±2,9	95,3±0,3	102,4±1,6	-
Sr	0,003±0,000	0,01±0,00	0,03±0,01	0,02±0,00	0,07±0,00	0,07±0,00	-
Fe	0,02±0,00	0,05±0,01	0,09±0,02	0,01±0,00	0,10±0,01	0,12±0,01	0,3
Li	0,002±0,000	0,005±0,002	0,004±0,001	0,002±0,000	0,002±0,000	0,006±0,001	2,5
Mg	8,6±1,3	18,0±2,4	17,3±2,8	12,0±1,3	14,3±3,0	28,6±2,6	-
Mn	0,28±0,05	0,73±0,07	0,79±0,03	0,30±0,05	0,47±0,10	0,89±0,07	0,1
Ni	0,02±0,01	0,06±0,02	0,11±0,03	0,10±0,01	0,16±0,02	0,27±0,01	0,025
K	1,3±0,1	4,3±0,9	8,0±2,2	3,4±0,6	5,7±0,9	8,7±0,3	-
Na	0,6±0,0	0,6±0,1	1,0±0,3	1,9±0,3	2,9±0,5	6,7±1,0	-
Zn	0,14±0,03	0,33±0,07	0,49±0,10	0,44±0,05	0,62±0,06	0,88±0,04	0,18

S: superfície; M: meio; F: fundo; LQ: limite de quantificação.

da água do lago Hromnice em perfil, localizado na República Tcheca, formado após o encerramento de mais de um século de atividades de mineração. Os autores constataram concentrações crescentes de cálcio, magnésio, sódio, potássio, ferro e alumínio.

Complementarmente, Marques *et al.* (2012) esclarecem que o pH é fator determinante no controle da precipitação ou dissolução de minerais presentes na água, ou seja, quanto maior a acidez hídrica, mais elevada é a tendência de que metais se dissolvam. De fato, a máxima acidez do Lago Azul foi observada na época de estiagem (2ª campanha), momento em que as concentrações dos parâmetros analisados se apresentaram mais elevadas que aquelas observadas ao fim da estação chuvosa.

Com relação às análises de ânions, observou-se que nitrato, nitrito, brometo, sulfato e fosfato ficaram abaixo do limite de quantificação em todas as alíquotas, demonstrando que o sulfeto proveniente da drenagem ácida de mina não está se convertendo a sulfato e que o meio, aparentemente, não é oxidante. Entretanto, observou-se a presença de cloreto e fluoreto nas amostras analisadas, conforme pode ser visualizado nas Tabelas 5 e 6, respectivamente. Para todas as curvas de calibração plotadas para os ânions analisados, os coeficientes de correlação linear (R_2) tiveram pelo menos duas casas acima de 0,99. Valores em negrito estão acima do preconizado pela Resolução CONAMA nº 357/2005.

Verificou-se que as águas do Lago Azul apresentam concentrações elevadas de cloreto e fluoreto, bem como as da Cava Menor em relação a cloreto. No geral, as concentrações dessas espécies foram mais elevadas durante a seca e também se mostraram crescentes no sentido da superfície ao fundo.

De acordo com Shuqair (2002), o cloreto pode ocorrer nas águas subterrâneas em função da intemperização geológica natural ou de ações antrópicas, como o uso de defensivos agrícolas, por exemplo. No caso, as três cavas se localizam na zona rural de Mara Rosa, onde são utilizados produtos químicos em lavouras, aparentemente importantes

fontes da introdução de cloretos nas águas dos lagos estudados, em especial na Cava Menor e no Lago Azul.

Com relação ao fluoreto, o Lago Azul foi o único que apresentou concentrações acima do permitido. Ribeiro (1992) esclarece que essa espécie química pode ser comumente encontrada em rochas magmáticas, tipo de formação geológica que ocorre na região de Mara Rosa. Adicionalmente, Mirlean, Casartelli e Garcia (2002) destacam que compostos fluoretados também são oriundos de produtos utilizados em diferentes atividades antrópicas, como fertilizantes, por exemplo. Assim, uma vez presentes no ar, podem ser transportados pelas águas pluviais ou correntes atmosféricas, alterando a qualidade do solo e das coleções hídricas superficiais próximas. Como o Lago Azul se situa na zona rural de Mara Rosa, local onde são utilizados insumos agrícolas, esse também pode ser um dos motivos que explicam as elevadas concentrações desse elemento em suas águas. Em termos sazonais, as concentrações de fluoreto se apresentaram mais elevadas no período de precipitação, o que pode ser explicado pelo carreamento pluvial desse elemento advindo tanto de fontes naturais quanto antrópicas.

Análises ecotoxicológicas

Nos ensaios ecotoxicológicos realizados, não foram observadas a mortandade ou alterações na motilidade de organismos-teste para as águas de nenhuma das cavas, mesmo nas concentrações mais elevadas. Entretanto, as amostras nas concentrações de 50 e 100% do Lago Azul obtidas no período de estiagem (2ª campanha) demonstraram efeitos comportamentais significativos sobre os organismos-teste, que apresentaram diversos momentos de agitação intensa seguida de breve letargia. Esse comportamento provavelmente é reflexo da baixa qualidade das águas da cava, ácidas e com presença de metais potencialmente tóxicos: alumínio, cádmio, chumbo, cobre, manganês, níquel e zinco (ANSARI; MARR; TARIQ, 2004; MOERI; COELHO; MARKER, 2004; CHAALAL; ZEKRI; ISLAM, 2005; AHMAD; ZAFAR; AHAMAD, 2005;

Tabela 5 – Concentrações de cloreto para os três lagos: Azul, Maior e Menor.

Local	Profundidade	Cloreto (precipitação) (mg.L ⁻¹)	Cloreto (estiagem) (mg.L ⁻¹)	Limite CONAMA nº 357/05
Lago Azul	S (0,20 m)	206,15±0,01	296,17±0,01	250,00
	M (23,00 m)	256,94±0,23	392,89±0,48	
	F (46,00 m)	277,69±0,12	442,53±0,31	
Cava Maior	S (0,20 m)	76,07±0,02	104,50±0,01	
	M (15,50 m)	82,71±0,07	107,11±1,12	
	F (31,00 m)	95,56±0,04	110,40±0,86	
Cava Menor	S (0,20 m)	272,98±0,11	530,92±0,01	
	M (9,00 m)	243,84±0,55	571,16±0,02	
	F (18,00 m)	316,34±0,12	586,65±0,18	

CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente; S: superfície; M: meio; F: fundo.

Tabela 6 – Concentrações de fluoreto para os três lagos: Azul, Maior e Menor.

Local	Profundidade	Fluoreto (precipitação) (mg.L ⁻¹)	Fluoreto (estiagem) (mg.L ⁻¹)	Limite CONAMA nº 357/05
Lago Azul	S (0,20 m)	<LQ	<LQ	1,40
	M (23,00 m)	<LQ	2,66±0,34	
	F (46,00 m)	4,40±0,01	2,34±0,01	
Cava Maior	S (0,20 m)	0,81±0,05	<LQ	
	M (15,50 m)	0,83±0,12	<LQ	
	F (31,00 m)	0,97±0,05	0,49±0,08	
Cava Menor	S (0,20 m)	0,51±0,23	0,70±0,16	
	M (9,00 m)	0,73±0,04	0,54±0,01	
	F (18,00 m)	0,84±0,20	0,72±0,02	

CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente; S: superfície; M: meio; F: fundo; LQ: limite de quantificação.

DURUIBE; OGWUEGBU; EGWURUGWU, 2007; ARUNAKUMARA & XUECHENG, 2008; VALE *et al.*, 2011).

Nesse sentido, o cádmio, por exemplo, pode afetar de forma aguda os rins, o fígado, o pâncreas e as gônadas de peixes e desencadear problemas associados a alterações no metabolismo do cálcio, danos hepáticos e efeitos negativos em seus sistemas cardiovasculares. Por sua vez, o zinco tende a apresentar efeito sinérgico em relação ao cádmio, aumentando sua toxicidade para organismos aquáticos (SISINNO & OLIVEIRA-FILHO, 2013).

A não ocorrência de mortalidade dos organismos-teste submetidos a bioensaios é um resultado ainda pouco relatado em estudos sobre o tema, pois normalmente os dados obtidos por meio de testes ecotoxicológicos permitem estabelecer uma clara relação denexo causal entre a substância testada e seus efeitos sobre os organismos-teste, como no caso dos trabalhos desenvolvidos por Antunes *et al.* (2007), Neil *et al.* (2009), Aluma, Hassett e Johnson (2011), Rocha *et al.* (2011), Rozon-Ramilo *et al.* (2011), Herlory *et al.* (2013) e Gagnaire *et al.* (2015). Rozon-Ramilo *et al.* (2011), por exemplo, utilizaram peixes da espécie *Rutilus rutilus* para mensurarem o potencial de toxicidade das águas e dos sedimentos de um complexo canadense de cavas abandonadas. Para tanto, exemplares da espécie foram confinados em gaiolas dispostas nas águas do lago durante 28 dias. Ao longo desse período, foram avaliados aspectos como estresse oxidativo, neurotoxicidade e alterações de parâmetros fisiológicos, tendo sido identificadas claras relações entre os contaminantes de interesse e os organismos-teste.

Considerando os resultados das análises químicas descritos no presente artigo, a ausência de indícios de efeitos adversos explícitos dos contaminantes sobre os organismos-teste e o fato de que os trabalhos identificados ao longo da revisão bibliográfica realizada até então desenvolveram processos investigativos que avançaram até, no máximo, a associação das abordagens química e ecotoxicológica, foram realizados testes genotoxicológicos.

Análises genotoxicológicas

Os resultados do ensaio cometa obtidos podem ser observados nas Figuras 2, 3 e 4, respectivamente. Segundo Dallegrave *et al.* (2003) e Collins *et al.* (2008), pesquisas genotoxicológicas objetivam mensurar os possíveis efeitos de substâncias específicas sobre organismos-teste que, quando expostos a elementos químicos potencialmente tóxicos, podem apresentar danos genéticos advindos de quebras em fitas simples ou duplas do DNA. Caso essas mutações atinjam a população exposta nos quesitos reprodução e taxa de crescimento, se fixem e provoquem alterações hereditárias, então a estrutura de uma dada comunidade que porventura venha a entrar em contato com as substâncias de interesse poderá ser afetada, causando desequilíbrios ambientais (ACHARY *et al.*, 2008; BARBOSA *et al.*, 2010).

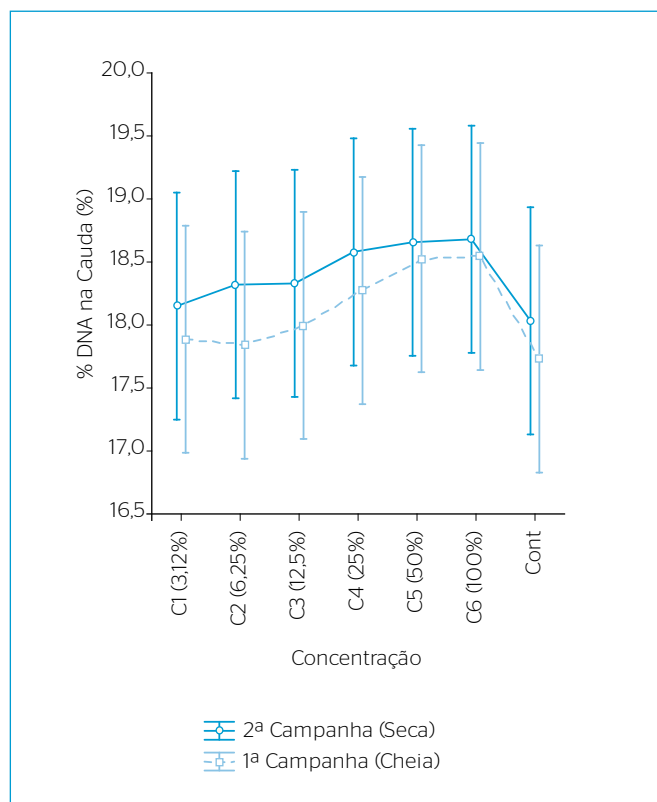


Figura 2 - Resultados do parâmetro porcentagem de DNA na cauda para a amostra de água da Cava Maior.

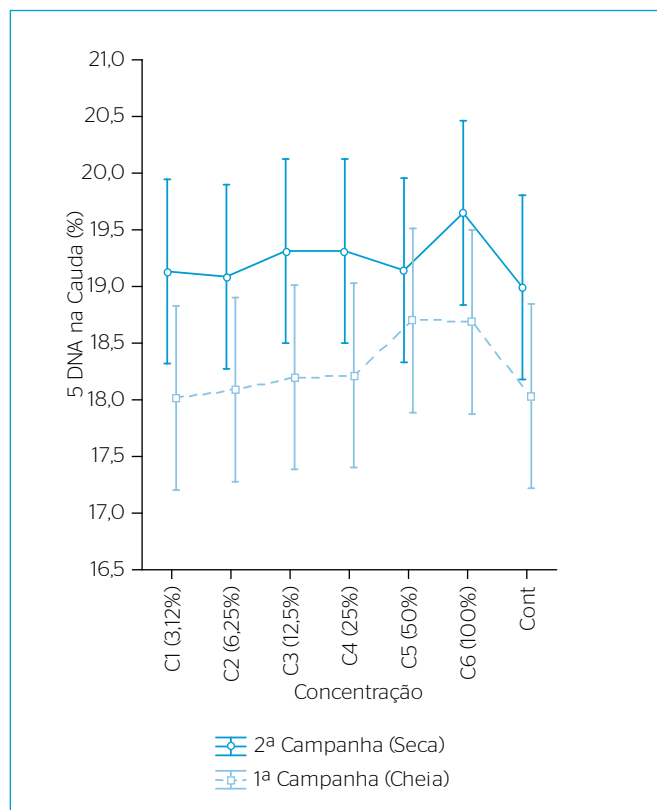


Figura 3 - Resultados do parâmetro porcentagem de DNA na cauda para a amostra de água da Cava Menor.

As águas das Cavas Maior e Menor não acusaram potencial genotóxico estatisticamente significativo nos ensaios realizados, pois, em nenhuma delas, independente da estação climática, o parâmetro porcentagem de DNA na cauda mostrou-se maior, em termos percentuais, do que o grupo-controle. Contudo, as águas do Lago Azul apresentaram genotoxicidade para as duas estações sazonais avaliadas, especialmente a de seca: danos ao DNA dos exemplares de *Danio rerio* foram estatisticamente significativos para o Lago Azul a partir da concentração 25% (C4) nas amostras obtidas durante a 2ª campanha (estação seca) e de 50% (C5) nas da 1ª (estação chuvosa). Nas demais concentrações desse lago, não foram observadas diferenças relevantes.

Sazonalmente, as águas do Lago Azul apresentaram maior potencial genotóxico durante a estiagem, o que era esperado, uma vez que as amostras coletadas durante essa estação apresentaram concentrações das espécies químicas analisadas mais elevadas que as observadas naquelas coletadas durante o período chuvoso.

Os metais são, em sua grande maioria, cumulativos ao longo da cadeia alimentar e podem provocar diversos danos à saúde dos organismos, como alterações nos sistemas nervoso, digestivo, intestinal e cardiovascular, interferências na medula óssea e nos rins, destruição de mucosas e órgãos internos e desenvolvimento de câncer (MOERI; COELHO; MARKER, 2004; MOERI; RODRIGUES; NIETERS, 2007).

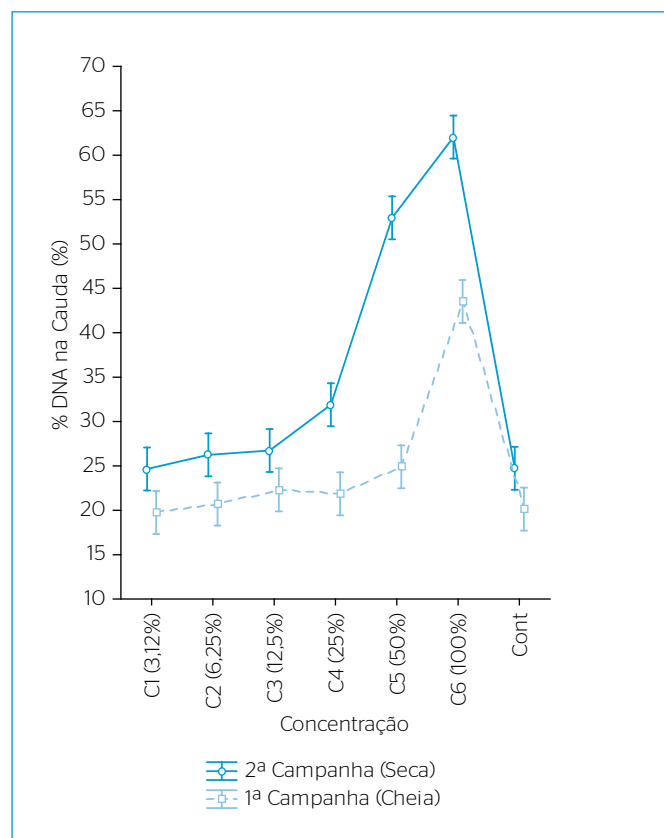


Figura 4 - Resultados do parâmetro porcentagem de DNA na cauda para a amostra de água do Lago Azul.

No caso deste estudo, todos os metais encontrados nas águas do Lago Azul em elevadas concentrações — chumbo, cádmio, alumínio, cobre, manganês, níquel e zinco — são reconhecidamente perigosos aos seres vivos em geral e justificam os resultados de genotoxicidade obtidos nos experimentos realizados.

Segundo Duarte *et al.* (2012), a maioria das mutações observadas em organismos expostos a uma determinada situação de estresse ambiental é induzida pelos agentes com os quais tiveram contato, principalmente em virtude da afinidade bioquímica de ligação entre os componentes celulares e as substâncias tóxicas de interesse. No caso, as águas do Lago Azul, além de serem ácidas, apresentam elevadas concentrações de substâncias químicas tóxicas, aspectos prejudiciais à integridade dos organismos expostos. Portanto, a combinação desses dois fatores promoveu danos ao DNA dos organismos-teste, mesmo não tendo sido observado nenhum efeito degradante explícito durante os ensaios ecotoxicológicos.

CONCLUSÕES

As águas das três cavas pesquisadas demonstraram diferenças significativas de concentrações dos elementos e das espécies químicas analisadas, predominantemente crescentes no sentido da superfície ao fundo e mais elevadas durante a estação seca (inverno). As Cavas Maior e Menor apresentaram qualidade hídrica satisfatória, à exceção da concentração de cloreto para a última. Por sua vez, o Lago Azul se encontra em desacordo com a legislação ambiental vigente, pois suas águas estão em processo de mineralização e condicionamento geológico intenso, apresentando elevadas concentrações dos metais tóxicos alumínio, cádmio, chumbo, cobre, manganês, níquel e zinco. Considerando sua baixa qualidade hídrica e os limites estabelecidos pelo CONAMA, o Lago Azul apresenta características que permitem seu enquadramento em classes inferiores de recursos hídricos, como a classe 4.

Os resultados dos bioensaios não demonstraram a ecotoxicidade hídrica de nenhuma das cavas estudadas, mas apenas alterações comportamentais nos organismos-teste expostos às concentrações de 50 e 100% das amostras advindas do Lago Azul coletadas durante o período de estiagem, resultado que corrobora a baixa qualidade das águas desse ambiente.

Os ensaios genotóxicos demonstraram que apenas as águas do Lago Azul apresentaram comprometimento, já que foram observadas frequências elevadas de cometas em relação ao controle negativo a partir da concentração de 25% (estação seca) e de 50% (estação chuvosa). Verifica-se, portanto, que de fato os processos geoquímicos na área dessa cava se apresentam intensos, notadamente no período de estiagem.

Finalmente, embora as Cavas Maior e Menor não tenham se mostrado qualitativamente alteradas em termos hídricos, o

comprometimento ambiental de ambas ainda não está descartado, pois, considerando que as concentrações de elementos e espécies químicas se mostraram predominantemente crescentes no sentido da superfície ao fundo em suas águas, é possível que seus sedimentos estejam ambientalmente comprometidos. Nesse sentido, alterações do equilíbrio químico podem resultar na modificação da qualidade das águas dessas cavas mediante a dissolução de elementos e

espécies químicas concentradas nos sedimentos, além de comprometer a biota de fundo.

FONTE DE FINANCIAMENTO

Universidade Federal de Goiás, Ministério Público de Goiás e Instituto Federal de Goiás.

REFERÊNCIAS

- ACHARY, V.M.M.; JENA, S.; PANDA, K.K.; PANDA, B.B. (2008) Aluminium induced oxidative stress and DNA damage in root cells of *Allium cepa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 70, n. 2, p. 300-310. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.10.022>
- AHMAD, I.; ZAFAR, S.; AHAMAD, F. (2005) Heavy metal biosorption potential of *Aspergillus* and *Rizopus* sp. isolated from wastewater treated soil. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, v. 9, n. 1, p. 123-126.
- ALUMA, E.; HASSETT, R.P.; JOHNSON, K. (2011) Short communication: a 24 hour ecotoxicity test for acid mine drainage using hatching success in *Daphnia magna*. *Journal of Applied Science and Environmental Management*, v. 15, n. 1, p. 231-234. <http://dx.doi.org/10.4314/jasem.v15i1.65704>
- ANSARI, T.M.; MARR, I.L.; TARIQ, N. (2004) Heavy metals in marine pollution perspective: a mini review. *Journal of Applied Sciences*, v. 4, n. 1, p. 1-20. <http://dx.doi.org/10.3923/jas.2004.1.20>
- ANTUNES, S.C.; FIGUEIREDO, D.R.; MARQUES, S.M.; CASTRO, B.B.; PEREIRA, R.; GONÇALVES, F. (2007) Evaluation of water column and sediment toxicity from an abandoned uranium mine using a battery of bioassays. *Science of the Total Environment*, v. 374, n. 2-3, p. 252-259. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.11.025>
- ARUNAKUMARA, K.K.I.U.; XUECHENG, Z. (2008) Heavy metal bioaccumulation and toxicity with special reference to microalgae. *Journal of Ocean University of China*, v. 7, n. 1, p. 60-64. <https://doi.org/10.1007/s11802-008-0060-y>
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). (2007a) *Norma brasileira de regulamentação nº 15.469: ecotoxicologia aquática - preservação e preparo de amostras*. São Paulo: ABNT.
- _____. (2007b) *Norma brasileira de regulamentação nº 15.499: ecotoxicologia aquática - toxicidade crônica de curta duração - método de ensaio com peixes*. São Paulo: ABNT.
- BARBOSA, J.S.; CABRAL, T.M.; FERREIRA, D.N.; AGNEZ-LIMA, L.F.; DE MEDEIROS, S.R.B. (2010) Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 73, n. 3, p. 320-325. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.10.008>
- BERTOLETTI, E. (2009) Determinação da toxicidade crônica para Danio Rerio. *Jornal da Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia*, v. 4, n. 1-3, p. 1-7. <https://doi.org/10.5132/jbse.2009.01.001>
- BOWELL, R.J.; PARSHLEY, J.V. (2005) Control of pit-lake water chemistry by secondary minerals, Summer Camp pit, Getchell mine, Nevada. *Chemical Geology*, v. 215, p. 373-385. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2004.06.052>
- BÜCHER, A.; CARVALHO, W.; ALVES-GOMES, J.A. (2006) Avaliação da mutagênese e genotoxicidade em *Eigenmania virescens* (Teleostei: Gymnotiformes) expostos ao benzeno. *Acta Amazonica*, v. 36, n. 3, p. 357-364. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672006000300011>
- CASTENDYK, D.N.; MAUK, J.L.; WEBSTER, J.G. (2005) A mineral quantification method for wall rocks at open pit mines, and application to the Martha Au-Ag mine, Waihi, New Zealand. *Applied Geochemistry*, v. 20, n. 1, p. 135-156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeochem.2004.07.001>
- CHAALAL, O.; ZEKRI, A.Y.; ISLAM, R. (2005) Uptake of heavy metals by microorganisms: an experimental approach. *Energy Sources*, v. 27, p. 87-100. <https://doi.org/10.1080/00908310490448136>
- COLLINS, A.R.; OSOZ, A.A.; BRUNBORG, G.; GAIVÃO, I.; GIOVANNELLI, L.; KRUSZEWSKI, M.; SMITH, C.C.; STETINA, R. (2008) The comet assay: topical issues. *Mutagenesis*, v. 23, n. 3, p. 143-151. <https://doi.org/10.1093/mutage/gem051>
- COSTA, C.R.; OLIVI, P.; BOTTA, C.M.R.; ESPINDOLA, E.L.G. (2008) A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Química Nova*, v. 31, n. 7, p. 1820-1830.
- CZOP, M.; MOTYKA, J.; SRACEK, O.; SZUWARZYNSKI, M. (2011) Geochemistry of the hyperalkaline Gorka pit lake (pH>13) in the Chrzanow region, southern Poland. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 214, n. 1-4, p. 423-434.
- DALLEGRAVE, E.; MANTESE, F.D.; COELHO, R.S.; PEREIRA, J.D.; DALSENTER, P.R.; LANGELOH, A. (2003) The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup in Wistar rats. *Toxicology Letters*, v. 142, n. 1-2, p. 45-52.

- DAVIS, A.; ASHENBERG, D. (1989) The aqueous geochemistry of the Berkeley Pit, Butte, Montana, U.S.A. *Applied Geochemistry*, v. 4, n. 1, p. 23-36. [https://doi.org/10.1016/0883-2927\(89\)90056-5](https://doi.org/10.1016/0883-2927(89)90056-5)
- DELGADO-MARTIN, J.; JUNCOSA-RIVERA, R.; FALCÓN-SUÁREZ, I.; CANAL-VILA, J. (2013) Four years of continuous monitoring of the Meirama end-pit lake and its impact in the definition of future uses. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 20, n. 11, p. 7520-7533. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1618-9>
- DENIMAL, S.; BERTRAND, C.; MUDRY, J.; PAQUETTE, Y.; HOCHART, M.; STEINMANN, M. (2005) Evolution of the aqueous geochemistry of mine pit lakes - Blanzly-Montceau-les-Mines coal basin (massif central, France): origin of sulfate contents; effects of stratification on water quality. *Applied Geochemistry*, v. 20, n. 5, p. 825-839. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeochem.2004.11.015>
- DUARTE, I.D.; DIAS, M.C.; DAVID, J.A.O.; MATSUMOTO, S.T. (2012) A qualidade da água da Lagoa Jacuném (Espírito Santo, Brasil) em relação a aspectos genotóxicos e mutagênicos, mensurados respectivamente pelo ensaio do cometa e teste do micronúcleo em peixes da espécie *Oreochromis niloticus*. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 10, 211-219.
- DURUIBE, J.O.; OGWUEGBU, M.O.C.; EGWURUGWU, J.N. (2007) Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Science*, v. 2, n. 5, p. 112-118.
- EDBERG, F.; ANDERSON, A.F.; HOLMSTRÖM, S.J.M. (2012) Bacterial community composition in the water column of a lake formed by a former uranium open pit mine. *Microbial Ecology*, v. 64, n. 4, p. 870-880. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0069-z>
- GAGNAIRE, B.; BADO-NILLES, A.; BÉTOULLE, S.; AMARA, R.; CAMILLERI, V.; CAVALIÉ, I.; CHADILI, E.; DELAHAUT, L.; KERAMBRUN, E.; ORJOLLET, D.; PALLUEL, O.; SANCHEZ, W. (2015) Former uranium mine-induced effects in caged roach: a multiparametric approach for the evaluation on in situ metal toxicity. *Ecotoxicology*, v. 24, n. 1, p. 215-231. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1374-8>
- GAMMONS, C.H.; PAPE, B.L.; PARKER, S.R.; POULSON, S.R.; BLANK, C.E. (2013) Geochemistry, water balance, and stable isotopes of a "clean" pit lake at an abandoned tungsten mine, Montana, USA. *Applied Geochemistry*, v. 36, p. 57-69. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeochem.2013.06.011>
- GYORI, B.M.; VENKATACHALAM, G.; THIAGARAJAN, P.S.; HSU, D.; CLEMENT, M.V. (2014) Open Comet: An automated tool for comet assay image analysis. *Redox Biology*, v. 2, p. 457-465. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.020>
- HARTMANN, A.; AGURELL, E.; BEEVERS, C.; BRENDLER-SCHWAAB, S.; BURLINSON, B.; CLAY, P.; COLLINS, A.; SMITH, A.; SPEIT, G.; THYBAUD, V.; TICE, R.R. (2003) Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. *Mutagenesis*, v. 18, n. 1, p. 45-51.
- HERLORY, O.; BONZOM, J.M.; GILBIN, R.; FRELON, S.; FAYOLLE, S.; DELMAS, F.; COSTE, M. (2013) Use of diatom assemblages as biomonitor of the impact of treated uranium mining effluent discharge on a stream: case study of the Ritord watershed (center-west France). *Ecotoxicology*, v. 22, n. 8, p. 1186-1199. <https://doi.org/10.1007/s10646-013-1106-5>
- HRDINKA, T.; SOBR, M.; FOTT, J.; NEDBALOVÁ, L. (2013) The unique environment of the most acidified permanently meromictic lake in the Czech Republic. *Limnologica*, v. 43, n. 6, p. 417-426. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2013.01.005>
- INDA, A.V.; QUIÑONES, O.R.G.; GIASSON, E.; BISSANI, C.A.; DICK, D.P.; NASCIMENTO, P.C. (2010) Atributos químicos relacionados ao processo de sulfurização em solos construídos após mineração de carvão. *Ciência Rural*, v. 40, n. 5, p. 1060-1067. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782010000500010>
- KUMARAVEL, T.S.; JHA, A.N. (2007) Reliable comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals. *Mutation Research*, v. 605, n. 1-2, p. 7-16. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.03.002>
- LOTTERMOSER, B.G.; ASHLEY, P.M.; COSTELLOE, M.T. (2005) Contaminant dispersion at the rehabilitated Mary Kathleen uranium mine, Australia. *Environmental Geology*, v. 48, n. 6, p. 748-761. <https://doi.org/10.1007/s00254-005-0014-2>
- MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. (2008) A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Ecology Brasil*, v. 12, n. 3, p. 355-381.
- MARQUES, E.D.; TUBBS, D.; GOMES, O.V.O.; SILVA-FILHO, E.V. (2012) Influence of acid sand pit lakes in surrounding groundwater chemistry, Sepetiba sedimentary basin, Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Geochemical Exploration*, v. 112, p. 306-321. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2011.10.002>
- MIGASZEWSKI, Z.M.; GALUSZKA, A.; HALAS, S.; DOLEGOWSKA, S.; DABEK, J.; STARNAWSKA, E. (2008) Geochemistry and stable sulfur and oxygen isotope ratios of the Podwisniówka pit pond water generated by acid mine drainage (Holy Cross Mountains, south-central Poland). *Applied Geochemistry*, v. 23, n. 12, p. 3620-3634. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2008.09.001>
- MIRLEAN, N.; CASARTELLI, M.R.; GARCIA, M.R.D. (2002) Propagação da Poluição Atmosférica por Flúor nas Águas Subterrâneas e Solos de Regiões Próximas às Indústrias de Fertilizantes (Rio Grande, RS). *Química Nova*, v. 25, n. 2, p. 191-195. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000200004>
- MOERI, E.N.; COELHO, R.; MARKER, A. (2004) *Remediação e revitalização de áreas contaminadas*. São Paulo: Signus.
- MOERI, E.N.; RODRIGUES, D.; NIETERS, A. (2007) *Áreas contaminadas: remediação e revitalização*. São Paulo: Signus.
- MOLLEMA, P.N.; STUYFZAND, P.J.; JUHÁSZ-HOLTERMAN, M.H.A.; VAN DIEPENBEEK, P.M.J.A.; ANTONELLINI, M. (2015) Metal accumulation in an artificially recharged gravel pit lake used for drinking water supply. *Journal of Geochemical Exploration*, v. 150, p. 35-51. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2014.12.004>
- MONJEZI, M.; SHAHRIAR, K.; DEGHANI, H.; NAMIN, F.S. (2009) Environmental impact assessment of open pit mining in Iran. *Environmental Geology*, v. 58, n. 1, p. 205-216. <https://doi.org/10.1007/s00254-008-1509-4>

- NEIL, L.L.; MCCULLOUGH, C.D.; LUND, M.A.; EVANS, L.H.; TSVETNENKO, Y. (2009) Toxicity of acid mine pit lake water remediated with limestone and phosphorus. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 72, n. 8, p. 2046-2057. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.08.013>
- OLIVE, P.L.; BANÁTH, J.P.; DURAND, R.E. (1990) Heterogeneity in radiation induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the "Comet" Assay. *Radiation Research*, v. 122, n. 1, p. 86-94.
- PELLICORI, D.A.; GAMMONS, C.H.; POULSON, S.R. (2005) Geochemistry and stable isotope composition of the Berkeley pit lake and surrounding mine Waters, Butte, Montana. *Applied Geochemistry*, v. 20, n. 11, p. 2116-2137. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeochem.2005.07.010>
- RIBEIRO, R.A. (1992) *Contribuição ao Estudo do Fluoreto nas Águas Subterrâneas da Bacia do Médio Tietê - caracterização e metodologias propostas para sua extração*. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ROCHA, L.; RODRIGUES, S.M.; LOPES, I.; SOARES, A.M.V.M.; DUARTE, A.C.; PEREIRA, E. (2011) The water-soluble fraction of potentially toxic elements in contaminated soils: relationships between ecotoxicity, solubility and geochemical reactivity. *Chemosphere*, v. 84, n. 10, p. 1495-1505. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.04.035>
- ROZON-RAMILO, L.D.; DUBÉ, M.G.; RICKWOOD, C.J.; NIYOGI, S. (2011) Examining the effects of metal mining mixtures on fathead minnow (*Primephales promelas*) using field-based multi-trophic artificial streams. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 74, n. 6, p. 1536-1547. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.05.005>
- SÂM, C.H.; TORRENS, B.M.O.; MEDEIROS, S.H.W. (2010) Estudo do impacto ambiental na bacia do rio do Braço através de análises ecotoxicológicas. *Revista de Ciências Ambientais*, v. 4, n. 2, p. 45-55. <http://dx.doi.org/10.18316/84>
- SÁNCHEZ-ESPAÑA, J.; PAMO, E.L.; PASTOR, E.S.; ERCILLA, M.D. (2008) The acidic mine pit lakes of the Iberian Pyrite Belt: an approach to their physical limnology and hydrogeochemistry. *Applied Geochemistry*, v. 23, n. 5, p. 1260-1287. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeochem.2007.12.036>
- SHUQAIR, S.M.S. (2002) *Estudo da Contaminação do Solo e Água Subterrânea por Elementos Tóxicos Originados dos Rejeitos de Minas de Carvão de Figueira no Estado do Paraná*. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. (2003) *Genética toxicológica*. Porto Alegre: Alcance.
- SINGH, N.P.; MCCOY, M.T.; TICE, R.R.; SCHNEIDER, E.L. (1988) A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, v. 175, n. 1, p. 184-191.
- SISINNO, C.L.S.; OLIVEIRA-FILHO, E.C. (2013) *Princípios de toxicologia ambiental*. Rio de Janeiro: Interciência.
- TRIANAFYLLIDIS, S.; SKARPELIS, N. (2006) Mineral formation in an acid pit lake from a high-sulfidation ore deposit: Kirki, NE Greece. *Journal of Geochemical Exploration*, v. 88, n. 1, p. 68-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2005.08.017>
- VALE, M.S.; ABREU, K.V.; GOUVEIA, S.T.; LEITÃO, R.C.; SANTAELLA, S.T. (2011) Efeito da toxicidade de Cr (VI) e Zn (II) no crescimento do fungo filamentoso *Aspergillus niger* isolado de efluente industrial. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 16, n. 3, p. 237-244.
- VILLAIN, L.; ALAKANGAS, L.; ÖHLANDER, B. (2013) The effects of backfilling and sealing the waste rock on water quality at the Kimheden open-pit mine, northern Sweden. *Journal of Geochemical Exploration*, v. 134, p. 99-110. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2013.08.003>
- VON SPERLING, E.; JARDIM, F.A.; GRANDCHAMP, C.A.P. (2004) Qualidade da água durante a formação de lagos profundos em cavas de mineração: estudo de caso do lago de Águas Claras - MG. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 9, n. 3, p. 250-259. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522004000300011>
- YUCEL, D.S.; BABA, A. (2013) Geochemical characterization of acid mine lakes in northwest Turkey and their effect on the environment. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 64, n. 3, p. 357-376. <http://dx.doi.org/10.1007/s00244-012-9843-7>
- ZHU, X.; ZHU, L.; LI, Y.; DUAN, Z.; CHEN, W.; ALVAREZ, P.J.J. (2007) Developmental toxicity in zebrafish (*Danio rerio*) embryos after exposure to manufactured nanomaterials: buckminsterfullerene aggregates (nC60) and fullerol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 26, n. 5, p. 976-979.