

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Regina Gabriela de Lima Santos

**Volta Redonda (RJ) - a cidade do aço: citogenotoxicidade da água do Rio
Paraíba do Sul**

Juiz de Fora

2023

Regina Gabriela de Lima Santos

**Volta Redonda (RJ) - a cidade do aço: citogenotoxicidade da água do Rio
Paraíba do Sul**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de Juiz
de Fora como requisito parcial à obtenção
do título de bacharel em Ciências
Biológicas.

Orientador: Professor José Marcello Salabert de Campos.

Juiz de Fora

2023



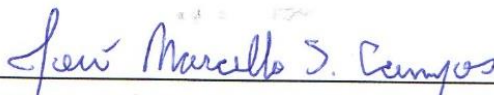
Regina Gabriela de Lima Santos

**Volta Redonda (RJ) - a cidade do aço: citogenotoxicidade da água do Rio
Paraíba do Sul**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Juiz de Fora como requisito parcial à
obtenção do título de bacharel em
Ciências Biológicas.

Aprovada em 14 de julho de 2023

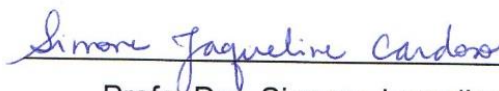
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr José Marcello Salabert de Campos - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dr. Saulo Marçal Sousa
Universidade Federal de Juiz de Fora



Profa. Dra. Simone Jaqueline Cardoso
Universidade Federal de Juiz de Fora

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho não teria sido realizado sem o apoio e a ajuda de muitas pessoas. Serei eternamente grata a minha família, que nunca duvidou do meu potencial, sempre me motivou e ouviu todas as minhas reclamações. Mãe, pai, Camila e Isaque, amo vocês.

Agradeço também ao meu orientador, professor José Marcello, por todo conhecimento compartilhado, pelo tempo dedicado e por não se limitar a ser apenas um professor, mas também um amigo. Tenho certeza que aprendi muito ao longo da nossa jornada e espero continuar aprendendo.

A graduação e o TCC seriam muito mais difíceis e chatos se a Gabriela Matias não tivesse me acompanhado durante esses processos. Seu incentivo, sua companhia e fé em mim me motivam a cada dia. Muito obrigada por tudo, amo você.

Aos meus colegas de curso e laboratório, obrigada pela ajuda, pela troca de conhecimentos e pelo companheirismo.

RESUMO

Volta Redonda, uma cidade situada no estado do Rio de Janeiro, é considerada um dos grandes pólos industriais do país. A cidade foi estrategicamente escolhida para abrigar a CSN (Companhia Siderúrgica Nacional), uma das maiores indústrias do país. A cidade é apelidada, então, como a cidade do aço. Como consequência de sua atividade industrial, Volta Redonda-RJ é uma das cidades mais poluídas do Brasil, com aspectos de poluição do solo, água e ar. Neste trabalho, estudamos os efeitos citogenotóxicos de amostras de água coletadas no Rio Paraíba do Sul. O ponto de referência para o estudo foi a existência de uma montanha de rejeitos industriais sólidos descartados pela CSN, denominada escória siderúrgica, que fica situada em uma área próxima à CSN. Esse rejeito chega a estar a apenas 60m do Rio Paraíba do Sul, provavelmente um ponto de contaminação do Rio. Amostras de água foram coletadas, então, na entrada do rio na cidade (P1), um pouco à frente da montanha de escória (P2) e na saída do rio da cidade (P3). Água destilada foi utilizada como um tratamento controle (CN). Os tratamentos foram avaliados quanto ao seu potencial citogenotóxico através do ensaio em *Allium cepa* L., utilizando tecnologia de citogenética e citometria de fluxo. Os tratamentos foram arranjados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) composto por três repetições (três lâminas para análise citogenética ou 3 amostras para análise por citometria de fluxo). A análise citogenética demonstrou uma redução significativa dos IMs em todos os tratamentos investigados, exceto para o P2 onde o índice mitótico aumentou em relação ao CN (Dunnett, $p < 0,05$). Neste mesmo tratamento (P2) foi observado um aumento do IPro significativo (Dunnett, $p < 0,05$). Na presente análise, foram observados efeitos significativos tanto para as alterações clastogênicas, quanto para as aneugênicas, com uma maior predominância de alterações aneugênicas induzidas pela água do Rio Paraíba do Sul. No caso deste tipo de alteração, todos os tratamentos (P1, P2, P3) apresentaram um aumento no percentual de sua ocorrência em relação ao CN (Dunnett, $p < 0,05$). No tratamento P2 e P3, o índice deste tipo de alteração é elevado e significativo (Dunnett, $p < 0,05$), devido principalmente à ocorrência de uma alteração do comportamento do fuso mitótico que conduz a um tipo de alteração genética denominada de c-metáfase. Esta alteração demonstrou uma elevação no seu percentual nos tratamentos P2 e P3, estatisticamente significativa (Dunnett, $p < 0,05$). O aumento do IM em P2 parece estar relacionado, então, tanto ao aumento de prófases como metáfases. Corroborando este efeito, na análise por citometria de fluxo de fluxo ocorreu um aumento do percentual de núcleos em G2/Prófase tanto no tratamento P2, como no tratamento P3. Com relação aos indicadores de morte celular (Sub-G1, FSC, SSC, IFa e CV), os tratamentos P2 e P3 foram aqueles que demonstraram uma ocorrência de morte celular, mas este efeito não parece ser muito proeminente. Fica demonstrado neste trabalho piloto que a água do Rio Paraíba do Sul em Volta Redonda-RJ apresenta efeitos citogenotóxicos, necessitando de uma análise mais abrangente de seus efeitos.

Palavras-chave: Siderúrgica; poluição em rios; mutagênese ambiental.

ABSTRACT

Volta Redonda, a city located in the state of Rio de Janeiro (Brazil), is considered one of the great industrial centers in the country. The city was strategically chosen to house CSN (Companhia Siderúrgica Nacional), one of the largest industries in the country. The city is nicknamed, then, as the city of steel. As a consequence of its industrial activity, Volta Redonda-RJ is one of the most polluted cities in Brazil, with aspects of soil, water and air pollution. In this work, we studied the cytogenotoxic effects of water samples collected in the Paraíba do Sul River. The reference point for the study was the existence of a mountain of solid industrial waste discarded by CSN, called steel slag, which is located in an area close to CSN. This waste is only 60m from the Paraíba do Sul River, probably a point of contamination in the river. Water samples were collected, then, at the entrance of the river in the city (P1), a little ahead of the slag mountain (P2) and at the exit of the river from the city (P3). Distilled water was used as a negative control treatment (NC). The treatments were evaluated for their cytogenotoxic potential through the assay on *Allium cepa* L., using cytogenetic technology and flow cytometry. Treatments were arranged in a completely randomized design consisting of three replications (three slides for cytogenetic analysis or 3 samples for analysis by flow cytometry). Cytogenetic analysis showed a significant reduction of MIs in all investigated treatments, except for P2 where the mitotic index increased in relation to NC (Dunnett, $p < 0.05$). In this same treatment (P2) a significant increase in IPro was observed (Dunnett, $p < 0.05$). In the present analysis, significant effects were observed for both clastogenic and aneugenic alterations, with a greater predominance of aneugenic alterations induced by water from the Paraíba do Sul river. In the case of this type of alteration, all treatments (P1, P2, P3) showed an increase in the percentage of its occurrence in relation to the NC (Dunnett, $p < 0.05$). In treatments P2 and P3, the rate of this type of change is high and significant (Dunnett, $p < 0.05$), mainly due to the occurrence of a alteration in the behavior of the mitotic spindle that leads to a type of genetic alteration called c-metaphase. This alteration showed a statistically significant increase in its percentage in treatments P2 and P3 (Dunnett, $p < 0.05$). The increase in MI in P2 seems to be related, therefore, to both the increase in prophases and metaphases. Corroborating this effect, in the analysis by flow cytometry, there was an increase in the percentage of nuclei in G2/Prophase both in treatment P2 and in treatment P3. With regard to cell death indicators (Sub-G1, FSC, SSC, IFa and CV), treatments P2 and P3 were those that demonstrated an occurrence of cell death, but this effect does not seem to be very prominent. It is demonstrated in this pilot work that the water of the Paraíba do Sul River in Volta Redonda-RJ has cytogenotoxic effects, requiring a more comprehensive analysis of its effects.

Keywords: Ironworks; pollution in rivers; environmental mutagenesis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Regiões hidrográficas do estado do Rio de Janeiro. Volta Redonda localiza-se no Médio Paraíba do Sul.....	13
Figura 2	– Localização da Companhia Siderúrgica Nacional (CSN) em Volta Redonda. Rio Paraíba do Sul destacado em azul.....	14
Figura 3	– Montanha de escória (destacada em vermelho) em Volta Redonda.....	21
Figura 4	– Percentual de c-metáfases após exposição aos diferentes tratamentos.....	36
Figura 5	– Imagens representativas das alterações.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Comparação entre as concentrações de metais pesados encontrados em um condomínio em Volta Redonda (RJ), os limites estabelecidos pela FAO e pela CETESB e as concentrações de metais pesados encontrados em Mariana e Barra Longa (MG) após o rompimento da barragem de Fundão.	24
Tabela 2	– Citogenotoxicidade de amostras de água coletadas no Rio Paraíba do Sul em Volta Redonda-RJ. Dados obtidos através do emprego do ensaio de <i>Allium cepa</i>	36
Tabela 3	– Dados obtidos pela citometria de fluxo após exposição aos diferentes tratamentos (amostras de água coletada no Rio Paraíba do Sul) em Volta Redonda-RJ.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CSN	Companhia Siderúrgica Nacional
CERHI/RJ	Conselho Estadual de Recursos Hídricos do Estado do Rio de Janeiro
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
INEA	Instituto Estadual do Ambiente
P1	Ponto 1
P2	Ponto 2
P3	Ponto 3
RJ	Rio de Janeiro
VR	Volta Redonda
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
Ba	Bário
Zn	Zinco
Fe	Ferro
Mn	Manganês
Ni	Níquel
Co	Cobalto
Cu	Cobre
Cr	Cromo
Rb	Rubídio
Sr	Estrôncio
Pb	Chumbo
Ti	Titânio
V	Vanádio
IM	Índice mitótico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	VOLTA REDONDA (RJ).....	12
1.2	VOLTA REDONDA E POLUIÇÃO AMBIENTAL.....	16
1.2.1	POLUIÇÃO DO SOLO.....	17
1.2.2	POLUIÇÃO AQUÁTICA.....	25
1.3	ECOTOXICOLOGIA, MUTAGÊNESE AMBIENTAL E CITOGENOTOXIDADE.....	29
1.3.1	O ENSAIO EM <i>Allium cepa</i> L.....	30
2	OBJETIVO(S) GERAL E ESPECÍFICOS.....	33
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1	LOCAIS DE AMOSTRAGEM.....	33
3.2	MODELO BIOLÓGICO.....	33
3.3	MONTAGEM DO EXPERIMENTO EM <i>A. cepa</i>.....	34
3.4	ENSAIO DE CITOGENOTOXIDADE.....	34
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
4	RESULTADOS.....	35
5	DISCUSSÃO.....	39
6	CONCLUSÕES.....	43
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

1.1 VOLTA REDONDA (RJ)

Volta Redonda é um município localizado no estado do Rio de Janeiro, na região do Médio Vale do rio Paraíba do Sul (INEA) com um território de aproximadamente 182 km² e população de 261.584 pessoas de acordo com o censo de 2022 (IBGE, 2023). Circundado pelas cidades de Barra do Piraí, Barra Mansa, Pinheiral, Piraí e Rio Claro, a cidade está a 127 quilômetros da capital, Rio de Janeiro (IBGE).

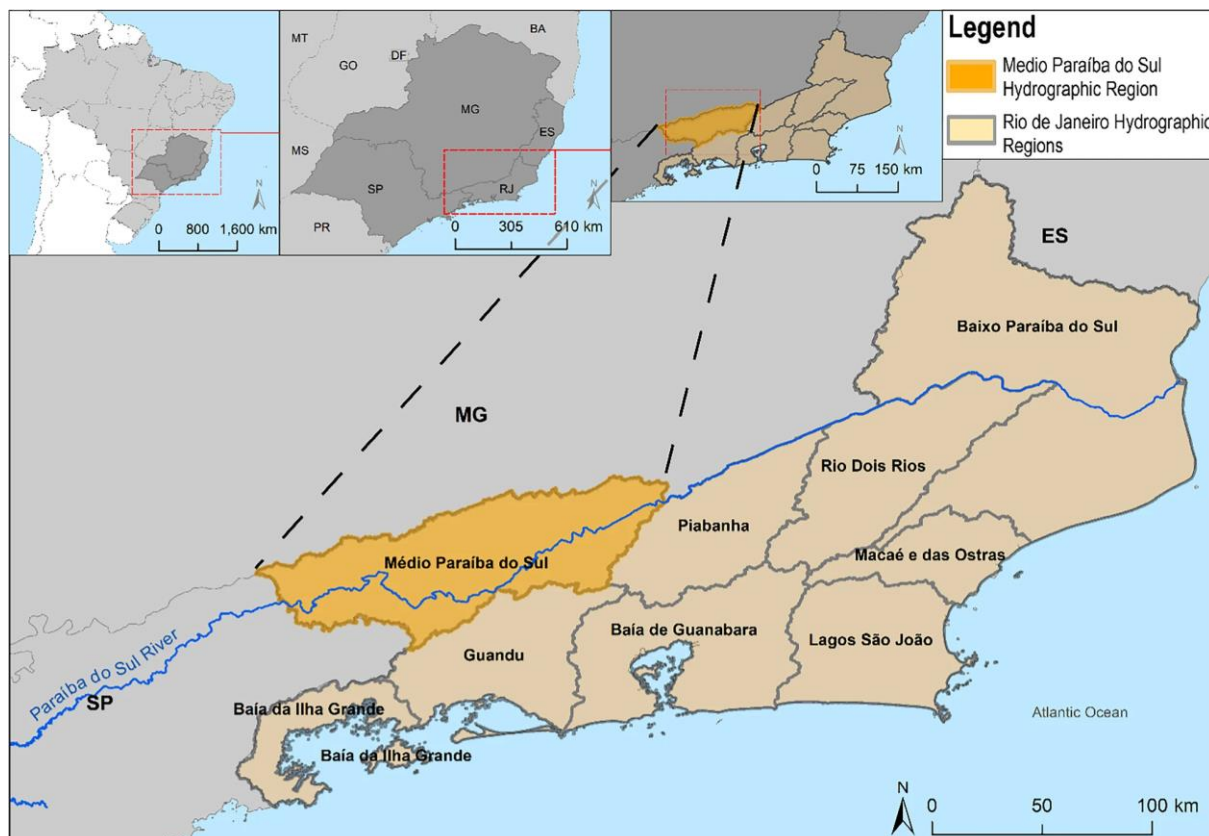
A temperatura média da cidade se situa em torno de 21°C com média mínima anual de 16,5°C e média máxima anual de 27,8°C. O índice pluviométrico da cidade anual é de 1.337mm com uma umidade média anual de 77% sendo os meses mais chuvosos os de dezembro, janeiro e fevereiro e os meses de junho, julho e agosto aparecem como os mais secos. O clima predominante é tropical mesotérmico, com inverno frio e seco, verão quente e chuvoso e a direção predominante do vento é no sentido noroeste (IBGE).

A cidade de Volta Redonda é cortada pelo rio Paraíba do Sul, que perfaz um percurso total de 1.137 km, desde a nascente do rio Paraitinga, no Nordeste Paulista, até a foz em Atafona (São João da Barra), no Norte Fluminense, abrangendo 26 municípios, sendo 19 mineiros e 7 fluminenses (ANA). O rio flui de oeste para leste.

A bacia hidrográfica do Paraíba do Sul abrange 184 municípios, sendo 39 em São Paulo, 57 no Rio de Janeiro e 88 em Minas Gerais (FICO et al., 2022). O estado do Rio de Janeiro é dividido em 9 regiões hidrográficas, estabelecidas pela Resolução nº 107/2013 do Conselho Estadual de Recursos Hídricos do Estado do Rio de Janeiro - CERHI/RJ. Volta Redonda faz parte da Região Hidrográfica III (Médio Paraíba do Sul), assim como os municípios de Itatiaia, Resende, Porto Real, Quatis, Barra Mansa, Pinheiral, Valença, Rio das Flores, C. Levy Gasparian, além dos municípios que estão inseridos parcialmente nesta região hidrográfica (RIO DE JANEIRO, 2013).

As regiões hidrográficas do estado do Rio de Janeiro são demonstradas na Figura 1.

Figura 1: Regiões hidrográficas do estado do Rio de Janeiro. Volta Redonda localiza-se no Médio Paraíba do Sul.



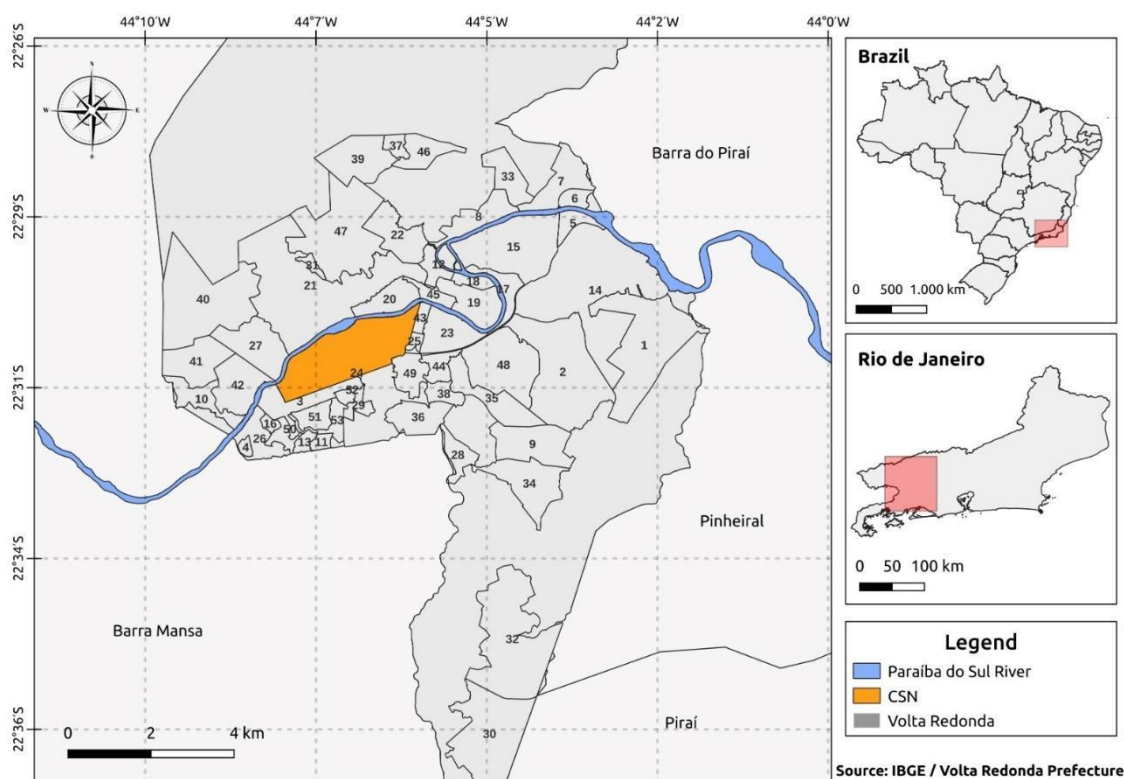
Fonte: FICO et al. (2022).

Por estar localizado em uma das regiões mais industrializadas do país, o rio Paraíba do Sul possui importância social e econômica, além de sua utilização na agricultura e para o abastecimento da população (FICO et al., 2022). Ele é a principal fonte de abastecimento de água para Volta Redonda-RJ, mas também desempenha um papel importante no abastecimento de outras cidades, principalmente na região metropolitana do Rio de Janeiro, incluindo a capital.

O Rio Paraíba do Sul sofre um desvio das águas para a bacia hidrográfica do rio Guandu, com a finalidade de gerar energia e abastecer a população da Região Metropolitana do Rio de Janeiro. Forma-se, assim, o Sistema Hidráulico do rio Paraíba do Sul - um complexo conjunto de estruturas hidráulicas, que interliga as duas bacias e é responsável pelo abastecimento de cerca de nove milhões de pessoas na Região Metropolitana do Rio de Janeiro (ANA, INEA).

Em 2018, teve início a transposição de água do reservatório de Jaguari (bacia do rio Paraíba do Sul) para o Sistema Cantareira (Reservatório de Atibainha, bacia do rio de Piracicaba), realizada pela Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (Sabesp). As condicionantes operativas referentes à transposição do reservatório da UHE Jaguari para o reservatório Atibainha se tornaram públicas através da Resolução ANA nº 1931/2017 (INEA).

Figura 2: Localização da Companhia Siderúrgica Nacional (CSN) em Volta Redonda. Rio Paraíba do Sul destacado em azul.



Nota: Bairros: 1) Vila Rica; 2) Água Limpa; 3) Conforto; 4) Jardim Suíça; 5) Brasilândia; 6) Dom Bosco; 7) São Luiz; 8) Pinto da Serra; 9) Jardim Belvedere; 10) Jardim Belmonte; 11) São Cristovão; 12) Voldac; 13) Minerlândia; 14) Três Poços; 15) Santo Agostinho (Volta Grande I, II, III e IV); 16) Jardim Europa; 17) Vila Americana; 18) Barreira Cravo; 19) Aeroclube; 20) Vila Mury; 21) Retiro; 22) São João Batista; 23) Aterrado; 24) Vila Santa Cecília; 25) Jardim Paraíba; 26) Ponte Alta; 27) Belmonte; 28) Siderópolis; 29) Bela Vista; 30) Roma; 31) Belo Horizonte; 32) Rio das Flores; 33) Candelária; 34) Casa de Pedra; 35) São Geraldo; 36) Sessenta; 37) Santa Cruz 2; 38) Monte Castelo; 39) Santa Rita do Zarur; 40) Açude; 41) Jardim Padre Jósimo Tavares; 42) Siderlândia; 43) Nossa Senhora das Graças; 44) São João; 45) Niterói; 46) Santa Cruz; 47) Vila Brasília; 48) Jardim Amália; 49) Laranjal; 50) Duzentos e Quarenta e Nove; 51) Eucaliptal; 52) Rústico; 53) São Lucas.

Até 1954, a cidade era o distrito de Santo Antônio de Volta Redonda, pertencente ao município de Barra Mansa. Volta Redonda foi o nome dado ao município devido ao desenho geográfico de uma curva no Rio Paraíba do Sul (OLIVEIRA, 2013).

Em 1941, antes mesmo de ser um município, Volta Redonda foi escolhida como o local de implantação da Companhia Siderúrgica Nacional (CSN), devido a fatores técnicos, econômicos e de segurança militar. A Figura 2 demonstra o município de Volta Redonda, os seus bairros, a localização da CSN e o rio Paraíba do Sul.

Os fatores de ordem técnica envolvem a proximidade da região com as principais fontes produtoras de minério de ferro, localizadas no Médio Vale do Rio Doce (ES), Antonina (PR) e no eixo Lafaiete-Belo Horizonte (MG). Além disso, em termos logísticos, a proximidade – via transporte marítimo – de Santa Catarina era importante em função da utilização do carvão na produção do aço. Outro fator locacional relevante foi a proximidade da cidade em relação aos portos do Rio de Janeiro (RJ) e de Santos (SP) (OLIVEIRA, 2017).

A posição central no eixo Rio de Janeiro-São Paulo também representa a importância dos fatores econômicos, tendo em vista que estas duas cidades constituem os principais mercados consumidores do aço no país, além das principais rotas de exportação deste produto. Por fim, o Médio Vale do Paraíba encontra-se próximo dos portos, mas longe o suficiente para evitar qualquer tipo de ataque militar, uma posição de grande valia para um contexto de guerra mundial (OLIVEIRA, 2017).

Outra característica geográfica daquele local que foi importante para a implantação da CSN foi a presença do Rio Paraíba do Sul. Além disso, esse processo foi permeado por motivos simbólicos, isto é, a implantação de um novo modelo econômico representaria a ruptura com o antigo modelo praticado no país, o modelo agrário-exportador. A ideia de uma nova fase reinaria nesse lugar, uma vez que a região era pouco habitada, facilitando o surgimento de uma nova sociedade, a industrial (MOTTA, 2007).

Nas décadas de 30 e 40, a economia assumiu um caráter mais nacionalista e industrialista, característico do governo Vargas. A construção da CSN é um dos principais símbolos do projeto de industrialização concebido por Getúlio Vargas. Além da CSN, a criação de diversas outras empresas estatais fizeram parte da política de industrialização do país, a saber: a Companhia Vale do Rio Doce (1942), a Fábrica Nacional de Motores (1943), a Hidrelétrica do São Francisco (1945), dentre outras.

Estas empresas seriam a base do processo de industrialização do país e da consequente urbanização, principalmente na região Sudeste (OLIVEIRA, 2017).

Apesar de ser fundada em 1941, a CSN só começou a operar no final de 1946. Para muitos, a CSN é considerada um marco no processo de industrialização do país. Sua criação teve grande relevância para o Brasil, pois foi a primeira usina siderúrgica integrada do país (OLIVEIRA, 2013).

Após 8 anos de operação da CSN, em 1954, o distrito de Santo Antônio de Volta Redonda se emancipou, tornando-se a cidade de Volta Redonda. A emancipação ocorreu devido à necessidade de autonomia e cuidado que não havia quando a cidade era apenas um distrito, sem nenhum poder político e econômico. Em 1961 a companhia foi denominada Usina Presidente Vargas (OLIVEIRA, 2013).

Apesar de emancipada, Volta Redonda ainda não possuía muita autonomia, visto que estava sob grande influência da própria CSN, que era proprietária de casas e edifícios, fornecia serviços de educação, saúde e lazer para os seus empregados e dependentes. No regime militar, o município passou a ser área de segurança nacional e os prefeitos eram indicados pelo poder central (RAGGI, 2020).

Em 80, com o estouro da crise econômica, o Estado buscou se reinventar, e como consequência, o Estado passou a interferir o mínimo na economia nacional. Dentro das primeiras atitudes tomadas em prol do modelo de Reforma do Estado encontra-se o ajuste fiscal e as privatizações de empresas estatais, dentre elas a Companhia Siderúrgica Nacional – CSN, que foi privatizada em 1993 (COSTA et al, 2013).

A criação da CSN e de Volta Redonda são histórias totalmente interligadas, de modo que ao falar de uma, é necessário abordar a outra (SOUTO, 2007; FONTES e LAMARÃO, 1986).

1.2 VOLTA REDONDA E A POLUIÇÃO AMBIENTAL

Todas as atividades humanas podem gerar poluição ambiental. As principais preocupações estão voltadas para as repercussões que os resíduos podem ter sobre a saúde humana e sobre o meio ambiente (solo, ar, água e paisagens). Os resíduos perigosos, produzidos sobretudo pela indústria, são particularmente preocupantes, pois, quando incorretamente gerenciados, tornam-se uma grave ameaça ao meio ambiente (PEREIRA JUNIOR E VANZELA, 2019).

A atividade industrial siderúrgica pode produzir poluição do solo, atmosférica e da água, além de poluição sonora e visual. Além disso, há o uso expressivo de energia, principalmente na forma de carvão mineral (MILANEZ, 2008). A poluição permeia todo o processo produtivo, de modo que para entender como ela está relacionada ao processo e resulta dele, é necessário entendê-lo.

Segundo Caron e Pereira (1967) “siderurgia, palavra que deriva do grego *sideros* – ferro e *ergon* – trabalho, é a arte de fabricar o ferro”. Na indústria siderúrgica, a matéria-prima é o minério de ferro.

As usinas siderúrgicas podem ser classificadas em integradas, semi-integradas e não-integradas, de acordo com seu processo produtivo (INSTITUTO AÇO BRASIL, 2020). Nas usinas integradas, a matéria prima é o coque e o minério de ferro, de modo que o seu processo produtivo se inicia no tratamento da matéria-prima e se estende até a laminação, que é onde sai o produto final, já nas usinas semi-integradas a matéria-prima é a sucata metálica, ferro-gusa ou ferro-esponja, então seu processo produtivo começa na aciaria e não na coqueria (CALDAS, 2011). Por fim, as usinas não-integradas são as que apenas executam a etapa de redução ou processamento, de modo que não produzem o aço (INSTITUTO AÇO BRASIL, 2020).

A indústria siderúrgica tem como objetivo final a produção de aço em suas múltiplas variedades e seu processo pode ser resumido pelas seguintes etapas:

- mineração e tratamento de matérias-primas;
- redução no alto-forno de minério de ferro a ferro gusa líquido;
- refino na aciaria, etapa na qual são retiradas as impurezas da liga metálica e reduzido o teor de carbono, obtendo-se o aço propriamente dito;
- lingotamento (solidificação) do aço líquido;
- laminação e o acabamento, etapa onde é feita a conformação mecânica do metal na forma de produto, ou seja, como chapas, barras, fios, tubos, etc (MOURÃO et al., 2007; BAER, 1970).

1.2.1 POLUIÇÃO DO SOLO

É no solo onde a maior parte dos resíduos produzidos pelas indústrias são depositados. Em regiões com intensa atividade antrópica, diversos fatores contribuem para a emissão e deposição de metais pesados e outros poluentes no solo, como

atividade industrial, combustível fóssil utilizado por veículos e ferrovias e deposição de resíduos (BARBOSA et al., 2019).

O solo precisa ser preparado antes de ser utilizado como local de deposição de resíduos, mas em Volta Redonda isso não aconteceu. Há um depósito de resíduo siderúrgico em área aberta e diretamente no solo nu, não impermeabilizado, desde a década de 70 (MPF, 2018).

O resíduo em questão é o agregado siderúrgico de alto-forno e aciaria, também conhecido como escória, que é o principal resíduo produzido em uma siderurgia. Juntos, eles correspondem a 65% da produção de resíduos das empresas associadas ao Instituto Aço Brasil (INSTITUTO AÇO BRASIL, 2020).

A escória é um subproduto gerado na fabricação do ferro e do aço. Basicamente, ela é produzida como resultado da oxidação de impurezas do metal, que ocorre através da adição de fundentes, principalmente óxido de cálcio e fluorita, à carga metálica (gusa líquido e/ou sucata) (O'CONNOR et al., 2021; LEITE, 1997). Algumas das impurezas presentes na carga metálica são silício, manganês, fósforo e enxofre, logo, elas estão presentes na escória (O'CONNOR et al., 2021).

Devido às variações no processo de purificação na indústria siderúrgica, cada escória produzida é única. As características físico-químicas das escórias dependem de vários fatores. Desse modo, a escória varia em teor de nutriente, teor de elementos potencialmente tóxicos, condutividade elétrica, área superficial, porosidade e pH. A maioria das escórias siderúrgicas são alcalinas devido à matriz do material ser solúvel, liberando óxidos de magnésio e cálcio (O'CONNOR et al., 2021).

A utilização da escória é ampla, com potencial para aplicação em diversas áreas. Na construção civil ela pode ser empregada na combinação de cimentos de escória de alto-forno com cura térmica; produção de cimento de escória de alto-forno sem clínquer; produção de telhas e placas prensadas; e a produção de painéis arquitetônicos pré-fabricados destinados à vedação de fachadas (SALVIANO, 2010).

Além disso, ela pode ser utilizada na pavimentação de vias, como revestimento primário, bases e sub-bases, substituindo a brita e outros materiais na construção civil. Em alguns casos, pode ser aplicado também na agricultura, como fertilizante (ANNUNZIATA e COLL, 2012), já que possuem nutrientes valiosos, principalmente fósforo e micronutrientes, além de serem ricas em CaO, P₂O₅, SiO₂, MgO, MnO e óxidos de Fe (O'CONNOR et al., 2021), e também pode ser utilizada como corretivo de acidez de solo devido a sua alcalinidade (DAS et al., 2019; CORRÊA et al., 2007).

Alguns tipos de escória podem ter metais pesados, logo, para o seu reaproveitamento e utilização são necessários estudos quanto à sua composição e comportamento, principalmente no que diz respeito ao processo de lixiviação dos metais pesados (HU et al., 2020; DE WINDT et al., 2011). Devido a presença de metais pesados, a escória também pode oferecer riscos socioambientais quando armazenada e reutilizada incorretamente.

Alias et al. (2021) avaliaram a toxicidade e genotoxicidade de escória siderúrgica, em comparação com agregados naturais, para permitir seu reuso seguro em aplicações de engenharia. Foram obtidos soluções de lixiviação, que então foram submetidas a uma análise química para quantificar os metais pesados presentes, ao teste de toxicidade em *Daphnia magna* e testes de mutagenicidade/genotoxicidade em *Salmonella typhimurium*, *Allium cepa* e leucócitos e fibroblastos humanos (ALIAS et al., 2021).

Os lixiviados de escória se mostraram mais ricos em metais, principalmente Ba e V, e apresentaram Cr, mas todos os valores ficaram abaixo do limite previsto pela legislação italiana para a recuperação de resíduos não perigosos (ALIAS et al., 2021).

Quanto aos resultados do ensaio com *A. cepa*, todas as amostras não diluídas do lixiviado de escória induziram um aumento estatisticamente significativo na frequência de aberrações cromossômicas, mas não aumentaram a frequência de micronúcleo. Os efeitos clastogênicos e aneugênicos detectados por meio desse teste podem ser decorrentes da presença de metais. Os efeitos clastogênicos do cromo e de alguns de seus compostos que têm ação direta sobre o DNA, induzindo aberrações cromossômicas, são bem conhecidos. Uma vez que apenas aberrações cromossômicas, mas não micronúcleos, foram detectadas, pode-se supor que, durante o ciclo celular, as células vegetais danificadas entram em apoptose (ALIAS et al., 2021).

Da mesma forma, nenhuma das amostras produziu micronúcleo em diferentes tipos de células humanas (linfócitos e fibroblastos), conforme observado através do ensaio Cytokinesis-block Micronucleus Cytome. O ensaio também permitiu o monitoramento de um forte efeito apoptótico induzido pelas amostras testadas em uma clara relação dose-resposta. A apoptose pode ser causada por metais pesados como o V em concentrações da ordem de grandeza de μM , que foram encontradas neste estudo (de 1,3 a 4,5 μM) (ALIAS et al., 2021).

A genotoxicidade também foi avaliada por meio do teste do cometa em leucócitos humanos. Todas as amostras induziram danos ao DNA com uma tendência dose-resposta. Além disso, todas as amostras demonstraram a capacidade de induzir danos de maneira estatisticamente significativa, pelo menos na dose mais alta testada, correspondente a 250 µl de solução de lixiviação não diluída (ALIAS et al., 2021).

No teste de imobilização de *D. magna*, a toxicidade foi observada em duas amostras de escória, que foram as únicas com um nível quantificável de cromo total. Embora abaixo do limite da legislação italiana, a presença de níveis (relativamente) altos de cromo poderia explicar a toxicidade para *D. magna*. Quanto ao teste em *S. typhimurium*, atividade mutagênica estava ausente nas amostras de escória (ALIAS et al., 2021).

Segundo o Relato Integrado de 2022 da CSN, onde constam as quantidades de escória de alto forno e aciaria produzidas ao longo dos últimos anos, 100% da escória de alto forno gerada na unidade em Volta Redonda é utilizada como matéria-prima na CSN Cimentos e não há dados sobre a reutilização da escória de aciaria, mas “consta na carteira de projetos o desenvolvimento de novas rotas para o seu processamento” (CSN, 2022).

Apesar do grande potencial de reaproveitamento da escória e dos dados apresentados pela CSN, é notório que, em Volta Redonda, a produção desse resíduo vem superando a sua reutilização, já que ele se acumula desde a década de 70 e formou uma verdadeira montanha na cidade (MPF, 2018).

Atualmente, essa montanha de escória, que é um centro de beneficiamento, de responsabilidade da CSN e HARSCO Metals é um dos maiores motivos de preocupação socioambiental em Volta Redonda. A CSN, proprietária do imóvel, utiliza a área situada na Rodovia BR 393, km 12,5 como depósito de resíduos siderúrgicos, enquanto a HARSCO, prestadora de serviço à CSN, opera o beneficiamento da escória, mantendo-a na maior parte em depósito, e também destinando atualmente cerca de 38% do volume recebido no mês a adquirentes interessados na fabricação de cimento, pavimentação de ruas e apoio de vias férreas (MPF, 2018).

O depósito contínuo formou uma montanha de escória que ultrapassa 20m de altura, sendo que o INEA impõe um limite de 4m (MPF, 2018). Com o passar do tempo a montanha de escória aumenta de tamanho e segundo Pagliari et al. (2021) ela já atingiu 30 m de altura.

O depósito de escória, cuja composição é, em parte, incerta, ocupa 757.959,64 m² e abrange, em parte, a área de preservação permanente (APP) do rio Paraíba do Sul, além disso, a mata ciliar do rio Paraíba do Sul integra unidade de conservação estadual de proteção integral: Refúgio de Vida Silvestre do Médio Paraíba (MPF, 2018).

Há trechos em que a distância do depósito de escória e o rio é de aproximadamente 60 metros. A proximidade das pilhas de escória com as ocupações humanas e o leito do rio é vedada pela NT/ABNT 13896/97, que exige, para aterros de resíduos não perigosos, a distância mínima de 500m com relação a ocupações humanas e 200m com relação a corpos hídricos. Apesar disso, a montanha de escória se localiza próximo aos bairros Volta Grande II, Volta Grande IV, Santo Agostinho e Brasilândia. A população desses bairros é uma das mais afetadas pela montanha de escória, devido a sua proximidade, já que a escória superficial, especialmente no topo das pilhas, deve sofrer arraste eólico, levando poeira a esses bairros. A escória é irritante ao toque, desse modo, pode ser responsável por problemas respiratórios na população local (MPF, 2018).

Mesmo que o rejeito não seja liberado diretamente no rio, a grande proximidade da montanha com o rio pode desencadear problemas ecotoxicológicos, uma vez que a chuva e a lixiviação podem levar parte desse resíduo ao rio, de modo que a montanha de escória pode comprometer não só a qualidade da água local como também a dos diversos municípios pelos quais o rio percorre e abastece. Na Figura 3 podemos observar o limite dessa montanha, sua proximidade com os bairros residenciais e com o Rio Paraíba do Sul. É possível observar a montanha de escória localizada próxima ao Rio Paraíba do Sul na Figura 3.

Figura 3: Montanha de escória (destacada em vermelho) em Volta Redonda. Fonte: Google Earth.



Além disso, há os danos causados à população local e ao ambiente devido a poeira da escória ser carregada pelo vento. Atualmente, conforme amplamente noticiado, são diversas as reclamações da população residente na área circunvizinha a montanha de escória, que sofre com a reiteração de doenças respiratórias relacionadas à má qualidade do ar. E quanto maior o volume de escória no local, maiores são as consequências e os riscos potenciais e efetivos (MPF, 2018).

A escória, quando suspensa no ar e inalada, acarreta risco de dano irreparável à saúde humana. A exposição da população à escória remonta a meio século e se dá de modo ininterrupto, fato que a torna ainda mais perigosa (MPF, 2017).

Estudos que analisam a poluição do solo em função da atividade industrial, principalmente em relação ao depósito de escória, já vem sendo realizados em Volta Redonda. Pagliari et al. (2021) analisaram amostras de solo de um terreno que foi doado pela CSN para a construção de um condomínio. Até então, a siderúrgica utilizava o terreno para destinar toneladas de resíduos perigosos, dentre eles, a escória. Foram feitas análises de concentração no solo de Zn, Ni, Cu, Cr e Pb.

Como resultado, os autores encontraram a concentração de Zn no solo muito acima do que é estabelecido pela Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO, 2011) da Organização Mundial da Saúde e pela CETESB. A concentração de Ni encontrada no condomínio estava acima do estabelecido pela FAO, mas abaixo do estabelecido pela CETESB. Foi destacado que as concentrações de Zn e Ni encontradas no condomínio em Volta Redonda foram maiores do que as concentrações dos mesmos elementos encontrados no solo em Mariana e Barra Longa após o rompimento da barragem do Fundão (SILVA et al., 2019).

Os valores encontrados para o Cu, Cr e Pb estavam acima do que é estabelecido pela FAO, mas abaixo do que é estabelecido pela CETESB. Os estudos realizados em Mariana e Barra Longa não avaliaram a presença de cromo, mas também relataram concentrações de cobre e chumbo abaixo das encontradas no condomínio. Os dados apresentados neste trabalho são mostrados na Tabela 1.

Além disso, Pagliari et. (2021) avaliaram o risco de exposição ao Zn, Ni, Cu, Cr e Pb no solo do condomínio para a população residente por diferentes vias de exposição (dérmica, respiratória e oral) e observaram que a dose diária aceitável para crianças é menor por ingestão e por via cutânea, o que significa que essa faixa etária é mais suscetível a essas vias. As doses aceitáveis para adultos já representam um risco para a saúde das crianças, logo, as crianças não podem ser expostas às

mesmas doses que os adultos, pois são mais suscetíveis e correm o risco de maiores danos à saúde. Os resultados mostraram um risco carcinogênico imediato pela ingestão de cromo para crianças. No entanto, o efeito combinado para cada via de exposição para adultos está próximo de se tornar inaceitável após a exposição ao Cr por ingestão.

Após a exposição ao solo por qualquer via, a contaminação por metais é mais provável de ocorrer entre crianças do que adultos em níveis de exposição semelhantes. Assim, o condomínio construído sobre uma área contaminada por rejeitos da indústria siderúrgica gera preocupação, exigindo o monitoramento contínuo de sua população (PAGLIARI et al., 2021).

Tabela 1 – Comparação entre as concentrações de metais pesados encontrados em um condomínio em Volta Redonda (RJ), os limites estabelecidos pela FAO e pela CETESB e as concentrações de metais pesados encontrados em Mariana e Barra Longa (MG) após o rompimento da barragem de Fundão.

Elementos analisados	Concentrações encontradas no condomínio em VR (PAGLIARI et al., 2021)	Limites (FAO, 2011) ¹	Limites da CETESB, VQR e VP, respectivamente ²	Concentrações em Mariana e Barra Longa, respectivamente, após o rompimento da barragem de Fundão (SILVA et al., 2019)
Zn	36.3 a 130.5 mg Kg ⁻¹	2.0 mg Kg ⁻¹	60 e 86 mg Kg ⁻¹	0.01 a 18.62 mg Kg ⁻¹ e 0.01 a 32.35 mg Kg ⁻¹
Ni	7.7 a 20.3 mg Kg ⁻¹	0.20 mg Kg ⁻¹	13 e 30 mg Kg ⁻¹	0.05 a 4.59 mg Kg ⁻¹ e 0.005 a 13.49 mg Kg ⁻¹
Cu	11.8 a 28.1 mg Kg ⁻¹	0.20 mg Kg ⁻¹	35 e 60 mg Kg ⁻¹	0.002 a 8.29 mg Kg ⁻¹ e 0.002 a 10.32 mg Kg ⁻¹
Cr	36.7 a 70.5 mg Kg ⁻¹	0.50 mg Kg ⁻¹	40 e 70 mg Kg ⁻¹	-
Pb	12.2 a 23.2 mg Kg ⁻¹	0.35 mg Kg ⁻¹	17 e 72 mg Kg ⁻¹	0.005 a 12.63 mg Kg ⁻¹ e 0.005 a 8.47 mg Kg ⁻¹

¹estabelecidos pela Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO, 2011) da OMS;

²VRQ (Valor de Referência de Qualidade) é a concentração de determinada substância no solo, que define-o como limpo. VP (Valor de Prevenção) é a concentração de determinada substância, acima da qual podem ocorrer alterações prejudiciais à qualidade do solo. Essas classes de valores são estabelecidas pela Resolução nº. 420/2009, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), mas cada estado estabelece seu próprio VQR (PAGLIARI et al., 2021)

Em outro estudo conduzido na mesma área, com representantes da própria CSN, a origem de hidrocarbonetos presentes no solo do Bairro Residencial Volta Grande IV foi investigada (ROCHA GOUVEA JUNIOR et al., 2021).

O solo da porção leste do bairro Volta Grande IV apresentou assinaturas químicas similares ao alcatrão de hulha, compatível com resíduos de origem siderúrgica. Já as amostras coletadas nas demais regiões apresentaram assinatura química compatível com gasolina não degradada, asfalto degradado e fuligem, compatíveis com um cenário típico de ocupação urbana. Logo, resíduos siderúrgicos foram detectados apenas na região leste do bairro (cerca de 10% da extensão total da área investigada) entre 1 e 3 m de profundidade (ROCHA GOUVEA JUNIOR et al., 2021).

Em um estudo semelhante, Garcia-Guinea et al. (2010) avaliou a presença de metais pesados no solo de uma área na Espanha que foi utilizada como depósito de escória por mais de 40 anos. A amostragem foi realizada em uma fazenda e nas áreas limítrofes entre as fazendas. Analisando Cu, Ni, Co, Zn, Pb, Cr, V e Ba, no geral, os resultados apresentam valores de metais pesados abaixo dos valores recomendados. Entretanto, os autores observaram que em algumas amostras das fazendas, alguns metais pesados estavam próximos (Co) e acima (Pb e V) do limite admitido pelas autoridades locais para esse uso. Nas amostras das áreas limítrofes, o teor de Cr supera o limite admitido para qualquer uso possível, enquanto Pb ultrapassa o limite para usos urbanos e Cu, Co, Zn e V ultrapassam os limites para outros usos (por exemplo, uso agrícola). Esses valores são preocupantes, pois envolvem risco à saúde humana.

Além da poluição do solo, a poluição aquática é um aspecto dos mais importantes.

1.2.2 POLUIÇÃO AQUÁTICA

A siderurgia é uma grande consumidora de recursos hídricos, que possui uma utilização bem diversa dentro desse tipo de indústria, como: restaurantes, vestiários, sanitários, limpezas diversas, banhos ácidos e nos processos de resfriamento possuem um papel de destaque, já que são os responsáveis por grande parte do volume de água captada (FRANÇA, 2012; SANTOS, 2014).

A utilização da água em unidades siderúrgicas varia consideravelmente de acordo com os requerimentos de processo. De uma maneira geral, a água é utilizada para três propósitos principais: resfriamento, controle de poluição do ar e condicionamento de gases e de materiais (JOHNSON, 2003).

A atividade industrial é a segunda maior consumidora de água, portanto regiões altamente industrializadas são mais suscetíveis ao estresse hídrico. Nesse sentido, estratégias de reuso têm sido amplamente discutidas e utilizadas em todo o mundo, porém, essa ainda é uma estratégia pouco explorada no Brasil, seja por falta de incentivos, questões culturais ou pouca regulamentação do assunto. Nas últimas décadas, são notórios os avanços nos níveis de tratamento, permitindo a reutilização de águas residuais para diferentes fins, porém, o reaproveitamento para consumo humano ou produção agrícola ainda são muito questionados, sendo o reuso em processos industriais o mais aceito pela opinião pública (FICO et al., 2022).

Apesar do potencial de reaproveitamento hídrico, o processo siderúrgico é caracterizado por elevadas perdas de água por evaporação, que ocorrem em operações como granulação de escória nos altos fornos e aciaria, apagamento de coque, aspersão de água para resfriamento de aço no lingotamento e laminação, além de perdas por evaporação e respingos em torres de resfriamento, utilizadas amplamente em sistemas de resfriamento tanto por contato direto como por contato indireto (JOHNSON, 2003).

Fico et al. (2022) analisaram as concessões de captação superficial e subterrânea de água para uso industrial da RH III, dentre as quais destacou-se a CSN - Usina Presidente Vargas, no município de Volta Redonda, com outorga de 119.994.480,00 m³/ano. Localizada às margens do Rio Paraíba do Sul, a empresa possui a outorga nº. 1.416, de 17/06/2020, com vigência até 24/09/2023, para captação de água neste corpo hídrico.

Quanto à captação superficial e subterrânea de água para uso industrial, os municípios de Volta Redonda, seguidos de Resende, Barra Mansa e Barra do Piraí são os que apresentam maior volume coletado, Volta Redonda respondendo por cerca de 84% de todo o volume anual da região (FICO et al., 2022).

Apesar da constante ameaça sob o rio Paraíba do Sul e, consequentemente, sob todos os organismos que dependem dele, são poucos os estudos acerca do tema. Torres et al. (2002) investigando a concentração e destino de diferentes tipos de micro-poluente ao longo do rio Paraíba do Sul, concluíram que os inseticidas

organoclorados estavam presentes em quantidades muito reduzidas nas amostras, provavelmente refletindo as restrições contra o uso dessa classe de compostos no mercado brasileiro. Entretanto, os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) mostravam níveis elevados, que podem ser mais de 40 vezes maiores, ao redor de uma grande indústria siderúrgica na cidade de Volta Redonda. Tal contaminação deve-se, provavelmente, ao uso maciço de carvão nesta indústria. Esses resultados indicam que contaminantes industriais, principalmente PAHs, estão atingindo importantes reservatórios que são utilizados para o consumo de água e esse fato merece uma investigação e monitoramento mais aprofundados, a fim de proteger a saúde humana.

Pereira et al. (2006) identificaram e quantificaram os elementos Ti, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Rb, Sr, Ba e Pb em sedimentos do rio Paraíba do Sul. Os autores seguiram o critério da NOAA que classifica os sedimentos de acordo com o efeito que os poluentes podem causar baseado na sua concentração. Foram amostrados 4 regiões ao longo do rio: nascente, porção média superior, média inferior, na qual Volta Redonda está inclusa, e a porção inferior. Com exceção do Fe, que apresentou efeito severo na região de Volta Redonda, todos os metais apresentaram efeito moderado na porção média inferior do rio.

Parente et al. (2015) investigaram as respostas de dois biomarcadores (atividade hepática de EROD e a frequência de micronúcleo em sangue periférico) à poluição e mediram os níveis de sete metais pesados no músculo de duas espécies de peixes nativas e comestíveis do rio Paraíba do Sul, *Geophagus brasiliensis* e *Hypostomus* sp. Como resultado, os autores observaram que, em conjunto, as concentrações de metais pesados no tecido muscular, as atividades de EROD no fígado e a frequência de eritrócitos com micronúcleos indicam que a contaminação de peixes comestíveis da bacia do rio por metais, PAHs, PCDD/Fs PCBs e compostos relacionados, não era uma ameaça para a saúde humana no momento da amostragem (2003). Alguns focos de poluição, no entanto, foram detectados. Os maiores valores de frequência de micronúcleos e atividade EROD foram encontrados em peixes coletados no trecho médio da bacia hidrográfica entre os municípios de São José dos Campos e Sapucaia, que inclui Volta Redonda.

Parente et al. (2015) destacam que ao utilizar biomarcadores em um estudo, é necessário ter em mente que eles respondem à biodisponibilidade de contaminantes para organismos-alvo. Logo, um resultado negativo não indica, necessariamente, que

um ambiente está livre de contaminantes, mas pode indicar que eles estão indisponíveis para os peixes, seja por estarem depositados no fundo do rio ou por outro motivo.

A ameaça ao rio Paraíba do Sul não se limita a questão da grande captação de água, já que ele também pode ser poluído através do lançamento de efluentes contaminados como resultado da atividade siderúrgica ou ainda pela montanha de escória, devido a sua proximidade com o rio, já que em alguns trechos ela está a 50 metros de distância. Além disso, a escória pode sofrer arraste eólico ou pluvial e chegar ao rio (MPF, 2018).

Os rios vêm sendo depósitos de rejeitos por muitos anos, alterando profundamente o estado natural do meio aquático, que representa uma das maiores evidências do impacto das atividades humanas sobre a biosfera. Um dos principais impactos ambientais da atividade siderúrgica sobre os rios é a liberação de efluentes contaminados com metais pesados (DE SOUZA et al., 2014; PEREIRA JUNIOR E VANZELA, 2019). Outra fonte de contaminação é o esgoto doméstico sem tratamento (PEREIRA et al., 2006; PARENTE et al., 2015).

Esses metais têm papel de destaque como indicadores de qualidade da água em regiões industriais. Tais elementos possuem características que lhe conferem as propriedades de bioacumulação, biomagnificação na cadeia alimentar, persistência no ambiente e distúrbios nos processos metabólicos dos seres vivos (MARENGONI et al., 2014). Essas substâncias são capazes de interagir com o organismo vivo causando múltiplas alterações que podem gerar graves consequências em populações, comunidades ou ecossistemas, dependendo do grau de contaminação e tempo de exposição (TERRA FILHO E KITAMURA, 2006).

Neste contexto, somente é possível avaliar o efeito de metais potencialmente tóxicos em ecossistemas aquáticos por meio de uma avaliação integrada, utilizando dados relativos à análise da água, sedimentos e bioindicadores (COSTA et al., 2008).

Altas concentrações de metais pesados no ambiente aquático podem causar danos diversos, inclusive danos ao DNA dos organismos expostos, como a população que utiliza a água poluída diariamente (GUAN et al., 2017). O potencial citogenotóxico da água do rio Paraíba do Sul, ou seja, sua capacidade de causar danos ao DNA, é quase que desconhecido devido à carência de estudos.

Desse modo, fica evidente que há uma urgência em suprir a lacuna de estudos envolvendo a poluição ambiental, principalmente no que diz respeito à poluição aquática, em Volta Redonda.

1.3 ECOTOXICOLOGIA, MUTAGÊNESE AMBIENTAL E CITOGENOTOXICIDADE

A ecotoxicologia é a área da ciência responsável pelo estudo dos efeitos tóxicos de agentes químicos, físicos e biológicos sobre os organismos vivos (VASSEUR al., 2021). Os efeitos desses agentes podem ser analisados em diferentes escalas, variando de células, indivíduos, populações e comunidades até ecossistemas e a biosfera (TLILI; MOUNEYRAC, 2021).

Dentre os diversos efeitos que esses agentes podem causar, estão os danos ao DNA ou ao fuso mitótico, que são estudados em uma das sub-áreas da ecotoxicologia, a mutagênese ambiental.

Os danos ao DNA podem ocorrer devido a ação genotóxica (que incluem a mutagênese e as alterações cromossômicas em longa escala). Já as alterações do fuso mitótico podem ser compreendidas como um efeito citotóxico que podem também conduzir a efeitos genotóxicos. Uma das consequências principais destes efeitos é a indução de morte celular, que podemos entender como um processo tóxico final (COSTA, 2022). Costumamos unir os efeitos cito-genotoxícos em uma única expressão, “citogenotoxicidade”

Os agentes citogenotóxicos podem ser classificados em dois tipos: agentes clastogênicos, aqueles que causam quebras no DNA e cromossomos e os agentes aneugênicos, que afetam o fuso mitótico, causando alterações no número de cromossomos nas células-filhas (COSTA, 2022).

A mutagênese implica a fixação de alterações na sequência do DNA em mutações que podem ser propagadas pela divisão celular, potencialmente levando à carcinogênese ou outros processos degenerativos crônicos e à teratogênese (COSTA, 2022).

Os ensaios citogenotóxicos são essenciais para a avaliação destes efeitos em um contexto ambiental. Estes ensaios diferem em função do ambiente avaliado: água, solo, ar; pelo tipo de organismo modelo utilizado: bactérias, fungos, plantas, invertebrados, vertebrados, ou ainda pela metodologia aplicada: in vivo ou in vitro (WIECZERZAK et al., 2016).

Quanto maior a diversidade de ensaios e modelos biológicos utilizados em um trabalho, maior é a robustez das conclusões. Vários modelos biológicos estão disponíveis para o acesso a efeitos citogenotóxicos de agentes químicos ou físicos, tais como: *Salmonella* (EL MZIBRI et al., 1996), *Drosophila* (REYES-RODRÍGUEZ et al., 2021), *Danio rerio* (CANEDO et al., 2021), ratos ou camundongos (DE OLIVEIRA et al., 2021; GUO et al., 2022), células humanas (BALAJEE; HADJIDEKOVA, 2021; JIRSOVA et al., 2021; MIŠÍK et al., 2021), entre outros.

As plantas superiores também têm se apresentado como excelentes modelos de avaliação de citogenotoxicidade, tais como *Allium cepa* (PANDEY; KUMAR, 2021), *Vicia faba* (BASU; TRIPURA, 2021), *Zea mays* (HEMANTH KUMAR; JAGANNATH, 2020), *Tradescantia* (CAMPOS et al., 2020), *Nicotiana tabacum* (GHOSH et al., 2016), *Crepis capilaris* (GADEVA; DIMITROV, 2008) e *Hordeum vulgare* (YUN et al., 2019).

1.3.1 O ENSAIO EM *Allium cepa* L.

Dentre os bioensaios conduzidos com os mais variados organismos modelos, os bioensaios utilizando plantas demonstraram ser os mais simples, eficientes, sensíveis e de baixo custo, características essas, demonstradas por uma série de estudos colaborativos internacionais do início dos anos 80 (GRANT, 1999; MA et al., 1995).

Apesar das diferenças entre organismos vegetais e animais, os resultados obtidos com o uso de bioensaios vegetais demonstram boas correlações com sistemas animais, incluindo humanos (GRANT, 1999; REIS et al., 2017). Além disso, os ensaios com plantas revelaram excelentes faixas de resposta e diferenças significativas entre locais altamente contaminados, industriais, rurais/agrícolas e de referência (WHITE E CLAXTON, 2004).

Quanto aos bioensaios utilizando plantas, o organismo mais comumente usado entre as plantas superiores em testes de citogenotoxicidade é *Allium cepa*, (WIECZERZAK et al., 2016).

Nos ensaios realizados com *A. cepa*, os meristemas radiculares são comumente utilizados já que são usualmente os primeiros a serem expostos aos químicos espalhados na natureza, no solo e na água (FISKESJÖ, 1985).

O uso do teste de *Allium cepa* tem uma longa história na literatura científica, desde a sua primeira utilização por Levan et al (1938) passando pelas adaptações

para torná-lo um organismo modelo para monitoramento ambiental feitas por Fiskesjö (1985), além da padronização da metodologia. Posteriormente, Rank e Nielsen (1993) e então Rank (2003) também propuseram modificações a fim de melhorar e padronizar o teste.

O teste de *Allium cepa* foi introduzido por Levan e colaboradores na década de 40 (LEVAN, 1938) demonstrando distúrbios no fuso mitótico devido ao uso de colchicina. Em 1945, o mesmo autor mostrou que diferentes soluções de sais orgânicos induzem vários tipos de aberrações cromossômicas em células meristemáticas radiculares de *A. cepa* (LEVAN, 1945). Desde então, modificações técnicas no teste de *A. cepa* foram feitas para permitir uma avaliação mais abrangente de substâncias químicas, como as misturas complexas, que abrangem a maioria das amostras ambientais, e as substâncias puras (LEME E MARIN-MORALES, 2009).

Allium cepa L. possui um genoma diplóide ($2n=2x=16$) com cromossomos monocêntricos, com número básico de cromossomos $x = 8$. Os cromossomos são relativamente grandes e, portanto, apropriados para a detecção de alterações cariomorfológicas (BONCIU et al., 2018).

Allium cepa é amplamente utilizada devido a sua sensibilidade, facilidade na obtenção dos organismos e no cultivo, tolerância a diferentes condições de cultivo, germinação rápida e padronizada, rápido desenvolvimento das plântulas, além de possuir elevado número de células em divisão e índice mitótico (IM), mas principalmente devido aos grandes cromossomos em número reduzido ($2n = 16$) (FISKESJÖ, 1995; SILVEIRA et al., 2017). Essas características facilitam a avaliação de diferentes parâmetros genéticos, como o índice mitótico, aberrações cromossômicas, anormalidades nucleares e micronúcleos (LEME E MARIN-MORALES, 2009).

Além disso, o teste de *Allium cepa* é mais rentável e não levanta questões éticas quando comparado a testes que utilizam animais e ainda fornece uma grande quantidade de dados com técnicas de cultivo mais fáceis (BONCIU et al., 2018). Quando comparado os efeitos de agentes citogenotóxicos em *A. cepa* e em linhagens de células animais, os resultados obtidos foram semelhantes e comparáveis (TEDESCO E LAUGHINGHOUSE 2012).

Diversos *endpoints* (variáveis) podem ser avaliados no ensaio em *A. cepa*, tais como índice mitótico, índice de fases, percentuais de alterações cromossômicas aneugênicas e clastogênicas e parâmetros indicativos de morte celular.

O Índice Mitótico (IM) é definido como o número de células em mitose dividido pelo número total de células avaliadas (percentual de células em divisão). Esse caractere pode ser medido com um número variável de repetições, cada uma com uma observação microscópica de um determinado tamanho medido na lâmina em um determinado aumento. Todos os estágios da mitose devem ser incluídos na contagem (BONCIU et al., 2018). IM maiores e menores em relação ao controle podem estar relacionados a uma alteração dos mecanismos de mitose como resultado de efeitos citogenotóxicos (FERNANDES et al., 2007).

Dentre as alterações cromossômicas há dois tipos: numéricas e estruturais. As aberrações cromossômicas numéricas (aneuploidia, poliploidia) ocorrem como consequência da ação de agentes aneugênicos, isto é, agentes que causam interferência na formação e funcionamento do fuso mitótico, levando a segregação cromossômica anormal, que pode ser observada através da presença de perdas cromossômicas, atrasos, multipolaridade e c-metáfases durante a divisão celular (LEME E MARIN-MORALES, 2009).

Já as alterações cromossômicas estruturais podem ser induzidas por diversos fatores, sendo um deles, a quebra de DNA, causada por agentes clastogênicos. No geral, pontes e quebras cromossômicas são indicadores de uma ação clastogênica (LEME E MARIN-MORALES, 2009).

As anormalidades nucleares são caracterizadas por alterações morfológicas nos núcleos interfásicos. Geralmente, essas alterações podem ser observadas como núcleos lobulados, núcleos com gemas nucleares, células polinucleares, mini células, entre outras (LEME E MARIN-MORALES, 2009).

Os micronúcleos têm sido considerados por muitos autores como o *endpoint* mais eficaz e simples para analisar o efeito de agentes citogenotóxicos. Isso se deve ao fato de os micronúcleos resultarem de danos nas células parentais, sendo facilmente observada em células filhas como uma estrutura semelhante ao núcleo principal, mas em tamanho reduzido (LEME E MARIN-MORALES, 2009).

Os micronúcleos são estruturas resultantes de diferentes ações, como as que têm ação direta sobre o material genético de um organismo exposto, promovendo a ruptura desta molécula e gerando fragmentos acêntricos (ação clastogênica) ou as que têm ação indireta, onde o agente indutor interage com outras moléculas ou estruturas celulares, como proteínas do fuso mitótico, levando à perda de cromossomos inteiros do conjunto cromossômico celular (ação aneugênica) (HARA E

MARIN-MORALES, 2017). Além disso, eles podem ser formados a partir da eliminação do excesso de DNA para restaurar o nível normal de ploidia em casos de poliploidização (LEME E MARIN-MORALES, 2009).

2 OBJETIVO(S) GERAL E ESPECÍFICOS

Diante do exposto, fica evidente que há uma urgência em suprir a lacuna de estudos envolvendo a poluição ambiental em Volta Redonda. Portanto, o objetivo geral do presente estudo foi analisar o potencial citogenotóxico da água do Rio Paraíba do Sul em diferentes pontos de coleta em Volta Redonda-RJ para avaliar os impactos da poluição sobre o rio.

Os objetivos específicos foram:

- Coletar amostras de água superficial em 3 pontos de coleta em Volta Redonda, na entrada do Rio Paraíba do Sul na cidade, próximo a montanha de escória da CSN e na saída do Rio na cidade.
- Avaliar parâmetros citogenotóxicos destas amostras através do ensaio em *Allium cepa* pelas ferramentas citogenética e citometria de fluxo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAIS DE AMOSTRAGEM

As amostras de água foram coletadas em três pontos ao longo do rio Paraíba do Sul em Volta Redonda. O primeiro ponto (P1) está localizado na entrada da cidade, no bairro Ponte Alta, aproximadamente 12,6 km antes do depósito de escória. O segundo ponto (P2) está localizado no bairro Cailândia, a 200 m depois do depósito de escória e o último ponto, o terceiro (P3) está localizado na saída da cidade, no bairro Três Poços, aproximadamente 3,8 km depois do depósito de escória.

3.2 MODELO BIOLÓGICO

Para as análises realizadas neste estudo foi utilizado o modelo de investigação *Allium cepa* L. ($2n=2x=16$ cromossomos). Os bulbos de *A. cepa* foram obtidos do comércio local.

3.3 MONTAGEM DO EXPERIMENTO EM *A. cepa*.

Os tratamentos investigados no presente estudo foram as amostras coletadas nos pontos 1, 2 e 3 do Rio Paraíba do Sul (P1, P2 e P3, respectivamente) e água destilada utilizada como controle negativo (CN).

Os tratamentos foram arranjados em delineamento inteiramente casualizado (DIC), compostos por 3 repetições (3 bulbos), dos quais as raízes foram coletadas para a confecção de lâminas por citogenética e amostras por citometria de fluxo.

3.4 ENSAIO DE CITOGENOTOXICIDADE

Os bulbos de *Allium cepa* foram pré-expostos em água destilada para emissão das raízes por um período de 48h. Posteriormente, foram transferidos para os tratamentos por um período de 24h. Após os tratamentos, as raízes foram coletadas, lavadas e secas cuidadosamente e transferidas para o fixador etanol/ácido acético (3:1) por um período mínimo de 24h.

As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento. Resumidamente, as raízes foram expostas a HCl 5M por 15 minutos (em temperatura ambiente), sendo posteriormente colocadas em lâmina. Após a adição sobre a raiz disposta na lâmina de uma gota de ácido acético 45%, os meristemas foram seccionados, descartando-se o restante da raiz. Os meristemas foram então esmagados entre lâmina/lamínula, sendo posteriormente as lamínulas retiradas em nitrogênio líquido. As lâminas foram, então, coradas com Giemsa. Ao microscópio de luz foram então avaliados os seguintes parâmetros:

- 1) Ciclo celular: Índice mitótico (IM); índice profásico (IPr); índice metafásico (IMe); índice anafásico (IAn) e índice telofásico (ITe).
- 2) Alterações cromossômicas: Percentuais de pontes cromossômicas, quebras (alterações clastogênicas), c-metáfases, segregação tardia, perdas cromossômicas, multipolaridade (alterações aneugênicas), cromossomos aderentes, núcleos condensados (relacionados à morte celular) e micronúcleos.

Parte das raízes obtidas no experimento foi destinada para análise por citometria de fluxo.

Para a análise por citometria de fluxo, 12 meristemas radiculares foram obtidos para cada amostra. Os meristemas foram triturados em placa de Petri contendo o tampão de lise celular WPB, obtendo-se uma suspensão nuclear. Essa suspensão foi filtrada em filtro com malha de 40 micrômetros e coleta em um tubo de poliestireno. A este tubo foram acrescentados 50 microlitros de iodeto de propídeo (1mg/1ml), procedendo-se à análise no citômetro de fluxo. Os seguintes parâmetros foram avaliados: percentuais de subpartículas-G1, núcleos em G1, S e G2/prófase, FSC (diâmetro nuclear), SSC (complexidade nuclear), IFa (Índice de fluorescência dos núcleos em G1) e CV (coeficiente de variação dos núcleos em G1).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) acompanhada pelo teste de comparação de médias Dunnett ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos na análise citogenética no ensaio de *Allium cepa* são demonstrados na Tabela 2. Os resultados de IM (índice mitótico) demonstraram efeitos significativos para todos os pontos de coleta analisados (Dunnett, $p < 0,05$). Reduções no índice mitótico foram observadas nos pontos de coleta P1 e P3 e aumento do índice mitótico foi observado no ponto de coleta 2, P2 (Dunnett, $p < 0,05$). As reduções do IM em P1 e P3 em comparação com o valor de IM do controle negativo foram respectivamente de 20,12% e 34,28%. Já o aumento do IM no P2 foi de 15,72% em relação ao valor do controle negativo (Dunnett, $p < 0,05$).

A análise dos índices de fases (profásico, metafásico, anafásico e telofásico), só demonstraram efeito significativo no tratamento P2, onde foi possível verificar um aumento no percentual de prófases em relação ao controle negativo (Dunnett, $p < 0,05$).

Com relação às alterações citogenotóxicas, o percentual total de alterações clastogênicas demonstraram um efeito significativo nos tratamentos P2 e P3 (Dunnett, $p < 0,05$). No entanto, os percentuais deste tipo de alterações não se demonstraram com valores muito elevados, chegando ao máximo em 2,21% no tratamento P2. Separadamente, as pontes cromossômicas e fragmentos cromossômicos não demonstraram efeitos significativos nos tratamentos investigados.

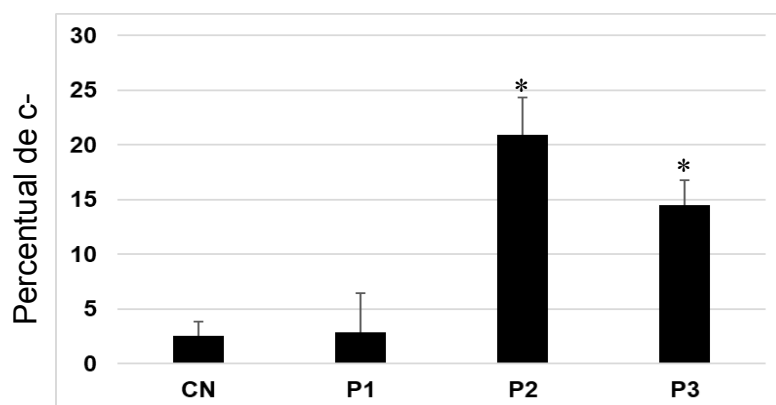
Tabela 2 - Citogenotoxicidade de amostras de água coletadas no Rio Paraíba do Sul em Volta Redonda-RJ. Dados obtidos através do emprego do ensaio de *Allium cepa*.

Tratamentos	IM	% Alterações clastogênicas	% Alterações aneugênicas
CN	7,06	0,92	3,86
P1	5,64*	1,78	6,41*
P2	8,17*	2,21*	18,43*
P3	4,64*	2,16*	9,91*

IM - Índice mitótico; CN, P1, P2, P3 - controle negativo, ponto de coleta 1, ponto de coleta 2 e ponto de coleta 3, respectivamente. As médias seguidas por um * diferem estatisticamente do CN (Dunnett, $p < 0,05$).

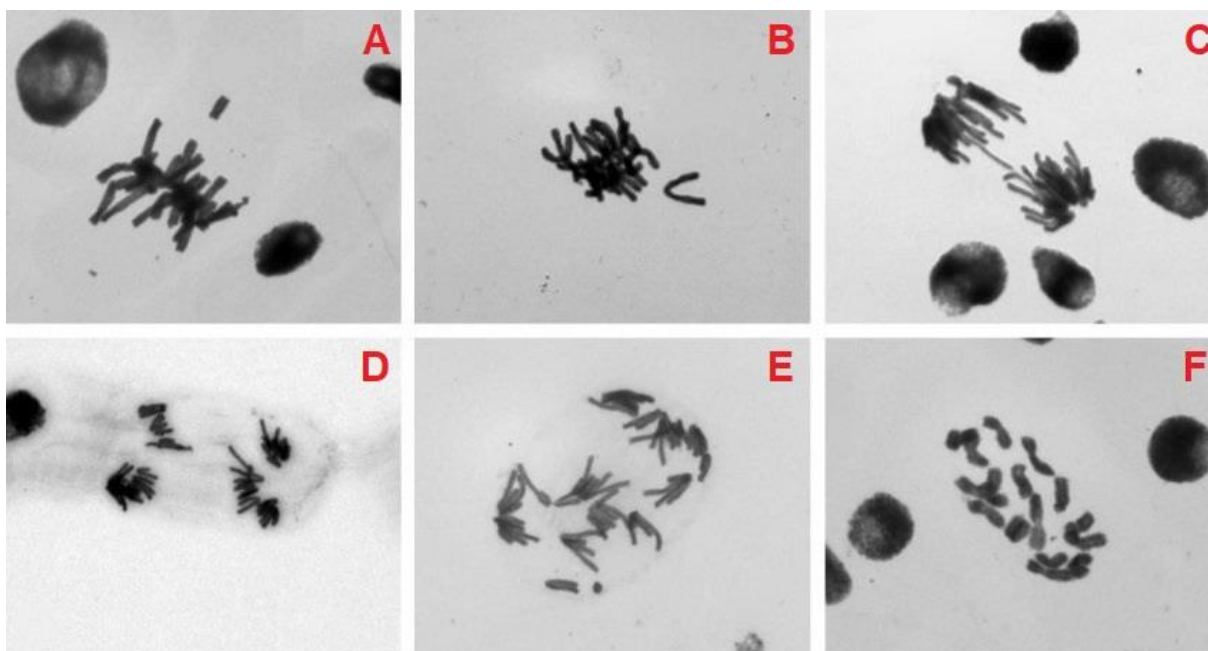
Já as alterações aneugênicas em conjunto demonstraram efeitos significativos em todos os tratamentos investigados (Dunnett, $p < 0,05$). E em valores elevados, chegando-se, por exemplo, a 18,43% no tratamento P2. Neste caso, este valor foi 4,77 vezes maior do que o valor observado no tratamento controle. Também os tratamentos P1 e P3 induziram aumentos significativos neste tipo de alteração cromossômica (Dunnett, $p < 0,05$). Com relação às alterações individuais, foram observados efeitos significativos para c-metáfase, como demonstrado na Figura 4.

Figura 4 – Percentual de c-metáfases após exposição aos diferentes tratamentos. CN - Controle negativo; P1 – Ponto de coleta 1; P2 – Ponto de coleta 2; P3 – Ponto de coleta 3 no rio Paraíba do Sul. As médias seguidas por um asterisco são estatisticamente diferentes do CN (Dunnett, $p < 0,05$).



Imagens representativas das alterações observadas na análise citogenética são demonstradas na Figura 5.

Figura 5 – Imagens representativas das alterações. A - fragmento cromossômico; B - perda cromossômica; C - segregação tardia; D – E - multipolaridade; F - c-metáfase.



Os resultados obtidos na análise por citometria de fluxo são demonstrados na Tabela 3. Com relação aos dados de comportamento do ciclo celular (% de G1, S e G2/Prófase) percebe-se um aumento no percentual de núcleos em G2/Prófase. Este comportamento é estatisticamente significativo para os tratamentos P2 e P3 (Dunnett, $p < 0,05$). Em P2 ocorre um incremento de 7,58 pontos percentuais de núcleos em G2/Prófase em comparação com o CN. Este valor em P3 foi de 6,50 pontos percentuais (Dunnett, $p < 0,05$).

Já quando observamos os indicadores de morte celular como sub-G1, FSC, SSC, IF_a e CV, primeiramente percebemos um aumento significativo de subpartículas G1 (Sub-G1) também nos tratamentos P2 e P3 (Dunnett, $p < 0,05$). Aumentos da ordem de 1,49 e 1,31 vezes, respectivamente, foram observados. As variáveis FSC e SSC demonstraram significância estatística somente no tratamento P2 (Dunnett, $p < 0,05$). Neste caso o FSC aumentou em 3,22 pontos percentuais e o SSC 7,66 pontos percentuais em relação ao CN. A IF_a reduziu tanto no tratamento P2 como no tratamento P3 (Dunnett, $p < 0,05$). Já para o CV não foi verificado efeito significativo.

Tabela 3 – Dados obtidos pela citometria de fluxo após exposição aos diferentes tratamentos (amostras de água coletada no Rio Paraíba do Sul) em Volta Redonda-RJ

Tratamentos	Sub-G1	G1	S	G2/Prófase	FSC	SSC	IF _a	CV
CN	8,21	61,34	15,34	15,11	100	100	100	3,75
P1	9,13	57,63	15,78	17,46	101,23	97,23	99,38	3,89
P2	12,21*	48,78*	16,32	22,69*	96,78*	92,34*	94,32*	4,10
P3	10,74*	50,43*	15,99	21,61*	98,93	98,25	93,78*	4,23

CN – Controle negativo; P1 – Ponto de coleta 1; P2 – Ponto de coleta 2; P3 – Ponto de coleta 3; FSC – diâmetro nuclear; SSC – complexidade nuclear; IF_a – Intensidade de fluorescência dos núcleos em G1; CV – Coeficiente de variação das intensidades de fluorescência dos núcleos em G1.

5. DISCUSSÃO

Os rios são o destino final de todos os poluentes encontrados no meio ambiente (HARA E MARIN-MORALES, 2017), logo, eles são considerados uma mistura ambiental complexa, na qual há diversos tipos de poluentes, com ações únicas, mas cujas interações também podem resultar em efeitos adversos, dentre eles, efeitos citogenotóxicos.

No presente estudo foram observadas alterações no índice mitótico em todos os tratamentos (P1, P2, P3) em relação ao controle negativo. Esse resultado também foi encontrado por Amaral et al. (2007) ao analisar amostras de água de um rio que faz parte da bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul, o rio Tapanhon, em Pindamonhangaba (SP), utilizando *A. cepa*.

A redução no índice mitótico que foi encontrada para os P1 e P3 nesse estudo pode ser resultado da inibição de células à divisão celular (LIU et al., 1992). Um declínio do índice mitótico abaixo de 22% em relação ao controle pode causar efeito letal ao organismo (ANTONSIIEWICZ, 1990), sendo que para o P1 esse valor foi de 20,12% e para o P3, 34,28%.

Já para o P2 observamos um aumento do índice mitótico, que também foi encontrado em todas as amostras testadas por Amaral et al. (2007). Em ambos os casos, o aumento do IM pode ser explicado por resíduos ricos em fósforo e nitrogênio, que no caso de Amaral et al. (2007), são oriundos do esgoto urbano, mas que no caso deste estudo, a origem pode ser a escória, que devido ao seu alto teor de fósforo e micronutrientes pode até mesmo ser aplicada na agricultura (O'CONNOR et al., 2021).

Em P2, o aumento do IM está relacionado com o aumento observado no índice profásico (IPr) e com a alta porcentagem de c-metáfases encontradas no mesmo ponto. Isso também é corroborado pelo aumento de núcleos em G2/Prófase em P2 em comparação com o CN. Esses resultados podem ser explicados pela ativação do checkpoint G2 por danos no DNA. O bloqueio de células neste ponto de checagem pode ter sido responsável pelo acúmulo e identificação de células em G2 tardio/prófase inicial na transição de G2 para mitose (ANDRADE-VIEIRA et al., 2012).

Andrade-Vieira et al. (2012) também observaram aumentos e diminuições do IM analisando diferentes concentrações do lixiviado de SPL através do ensaio com *A. cepa*. O SPL, assim como a escória, é um resíduo industrial sólido complexo, que é

composto de sais orgânicos e de flúor, cianetos inorgânicos, metais (alumínio, cádmio, cobre, ferro, chumbo, manganês, zinco e sódio).

Assim como no presente estudo foi encontrado um IM maior no P2, Sacramento et al. (2020) encontrou IM maiores estatisticamente que o CN analisando amostras do rio Pirai, a jusante da transposição do rio Paraíba do Sul, que ocorre no município de Barra do Pirai, que fica a jusante de VR. Segundo esses autores, “Um aumento do índice mitótico indica a ocorrência de aumento da divisão celular, causando proliferação descontrolada, induzida por componentes presentes nas amostras analisadas. Esse efeito é prejudicial às células, pois a proliferação descontrolada é o ponto de partida para a posterior formação de tumores.” Outro estudo que encontrou IM maiores que o CN foi o de Barbério et al. (2009), que analisou, através do ensaio com *A. cepa*, amostras do rio Paraíba do Sul em 2005 e 2006 nas cidades de Tremembé e Aparecida (SP).

Em relação às alterações cromossômicas observadas, houve um efeito estatisticamente significativo para as alterações clastogênicas em P2 e P3, mas com percentuais relativamente baixos. Já para as alterações aneugênicas foram estatisticamente significativas em todos os pontos de coleta (Dunnett, $p < 0,05$), e em valores elevados, chegando, por exemplo, a 18,43% no tratamento P2. Neste caso, este valor foi 4,77 vezes maior do que o valor observado no tratamento controle. Isso sugere uma ação majoritariamente aneugênica dos poluentes presentes no rio Paraíba do Sul em VR, principalmente no P2, onde esse efeito foi maior.

A ação clastogênica de alguns poluentes já é bem conhecida, que é o caso de alguns metais pesados, como o cromo e alguns de seus compostos, cuja ação direta sobre o DNA é bem descrita (ALIAS et al., 2021).

A ação aneugênica observada nos resultados deste estudo pode ser causada por outros metais e seus compostos. Dovgalyuk et al. (2001) realizaram uma análise comparativa da influência dos sais de Cd, Pb, Ni, Al, Cu e Zn nas concentrações 10^{-6} e 10^{-3} M sobre parâmetros citogenéticos de células de meristema apical de *Allium cepa*. Os compostos investigados de cádmio, chumbo, níquel e alumínio foram considerados aneugênicos mais eficazes do que clastogênicos. O NiSO_4 teve a atividade antimitótica mais forte (aumentou a porcentagem de atraso cromossômico, anáfases multipolares, C-mitoses em 69,6 vezes em comparação com o controle). Os resultados apresentados permitem sugerir que o citoesqueleto pode ser um alvo celular para sais de alguns metais, especialmente para NiSO_4 , que se demonstrou o maior indutor de anormalidades da citocinese.

Além de Dovgalyuk et al. (2001), Voutsinas et al. (1997) também observaram um papel aneugênico do Al. Esses autores sugeriram que o citoesqueleto seja a estrutura alvo do Al, pois esse metal atua na polimerização das tubulinas e, consequentemente, na formação do fuso mitótico. Desse modo, esses metais com ação aneugênica podem estar presentes em maiores concentrações próximo ao P2, onde esse efeito foi mais observado, devido à presença da montanha de escória na proximidade.

Em relação à análise do ciclo celular por citometria de fluxo, percebe-se um aumento no percentual de núcleos em G2/Prófase estatisticamente significativo para os tratamentos P2 e P3 (Dunnett, $p < 0,05$). A interrupção da divisão mitótica com acúmulo de células na interfase ocorre para que a maquinaria de reparo atue antes que as alterações sejam irreversíveis (PELAYO et al., 2003).

Também no P2 e P3 foram observados um aumento significativo de subpartículas G1 (Sub-G1) e redução de intensidade de fluorescência dos núcleos em G1 (Dunnett, $p < 0,05$). Ambos são indicativos de morte celular: as partículas em sub-G1 incluem fragmentos cromossômicos que podem ser oriundos de apoptose e a intensidade de fluorescência dos núcleos em G1 é indicativo da extensão da condensação da cromatina, cuja redução de fluorescência indica condensação da cromatina nuclear (ANDRADE-VIEIRA et al., 2012).

As variáveis FSC e SSC demonstraram significância estatística somente no tratamento P2 (Dunnett, $p < 0,05$). A redução desses parâmetros indicam que houve condensação da cromatina nuclear, que é um indicativo de morte celular (ANDRADE-VIEIRA et al., 2012).

Já para o coeficiente de variação (CV) das intensidades de fluorescência dos núcleos em G1 não foi verificado efeito significativo. Variações são normais, mas o aumento do CV pode estar relacionado a ação citogenotóxica de poluentes (MONTEIRO et al., 2010).

Muitos efeitos estatisticamente significativos observados em P2 também foram observados em P3, como efeitos aneugênicos, clastogênicos, aumento de partículas em sub-G1, diminuição de núcleos em G1, aumento de núcleos em G2 e redução de IF_a. A montanha de escória está localizada próxima ao P2, mas a observação de efeitos citogenotóxicos tanto em P2 como em P3 pode ser um indício de que a contaminação causada pela escória percorre o rio e atinge pontos distantes.

Os efeitos citogenotóxicos foram observados em algum nível em todos os pontos de coleta do rio Paraíba do Sul em Volta Redonda, mas com destaque para o ponto 2 e 3, e podem estar relacionados a diversas fontes de poluição. Uma delas é a presença de metais pesados no rio, cuja toxicidade já é bem conhecida, inclusive a citogenotoxicidade (GUAN et al., 2017).

Os metais pesados podem estar naturalmente presentes no ambiente e alguns são importantes para os seres vivos, mas podem ser descartados em quantidades significativas pelas atividades humanas, incluindo esgoto urbano, atividades industriais, agrícolas e de mineração (MATOS et al., 2017). Logo, as atividades antrópicas podem aumentar as concentrações naturais de metais pesados no meio aquático, levando à poluição (BARBOSA et al., 2019).

A siderurgia é uma fonte de emissão de metais pesados através de efluentes contaminados (DE SOUZA et al., 2014; PEREIRA JUNIOR E VANZELA, 2019), de emissões atmosféricas (RAGGI, 2020; SOUZA et al., 2019) e da deposição inadequada de resíduos, como a escória (O'CONNOR et al., 2021).

Os metais pesados podem chegar ao rio diretamente pelos efluentes contaminados, mas também pela deposição atmosférica e pela lixiviação da escória (HU et al., 2020; DE WINDT et al., 2011). Alias et al. (2021) encontraram metais pesados no lixiviado de escória e inclusive avaliaram a toxicidade e genotoxicidade de escória através do ensaio com *Allium cepa*, que demonstrou aberrações cromossômicas estatisticamente significativas, além dos resultados obtidos com os outros testes.

A deposição de escória em Volta Redonda é feita de maneira irregular, a céu aberto e solo não impermeabilizado (MPF, 2018), logo a lixiviação da escória pode ser a origem dos metais pesados presentes no solo, principalmente em áreas bem próximas à montanha de escória e ao rio Paraíba do Sul, que já é confirmada por vários estudos. Um deles é o de Pagliari et al. (2021), que encontrou concentrações acima do estabelecido pela CETESB e pela FAO, e também concentrações acima das encontradas em Mariana e Barra Longa após o rompimento da barragem de Fundão. De Souza et al. (2016) realizou um estudo na mesma área que Pagliari et al. (2021), que foi utilizada como local de deposição de escória por décadas, e também encontrou concentrações de metais pesados acima do estabelecido pela CETESB.

Do mesmo modo que a lixiviação da escória pode ter liberado os metais pesados no solo, ela pode liberá-los no rio, ainda mais se considerarmos a

proximidade da escória com o rio e as condições inadequadas do depósito (MPF, 2018). Além disso, o próprio solo pode sofrer lixiviação e também liberar os metais pesados no rio.

Outros poluentes presentes no rio também podem contribuir para os efeitos citogenotóxicos observados. Alguns hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs) são altamente mutagênicos, cujo potencial carcinogênico fez com que fossem listadas pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) como poluentes prioritários (TORRES et al., 2002). Os HAPs foram encontrados por Torres et al. (2002) no rio Paraíba do Sul em Volta Redonda em concentrações que podem ser 40 vezes maiores do que em outras cidades, fato que deve-se, provavelmente, ao uso maciço de carvão nesta indústria.

6. CONCLUSÕES

A água coletada do rio Paraíba do Sul demonstrou efeito citogenotóxico, principalmente aneugênico, logo, são necessários mais estudos nesta cidade e nas cidades vizinhas para melhor compreender os efeitos citogenotóxicos observados e a suas origens. A análise química da água e da escória, a utilização de mais pontos de amostragem, em diferentes estações, e mais modelos biológicos, além de análises de outros ambientes, como solo e ar, são ferramentas essenciais para uma análise mais robusta e completa.

Além disso, é necessário a regularização da montanha de escória em Volta Redonda, já que ela vem causando vários impactos socioambientais. Medidas preventivas também são necessárias, como o monitoramento da qualidade da água, ar e solo em Volta Redonda, a fiscalização do cumprimento ou não das leis ambientais e a aplicação das devidas penalidades em casos de descumprimento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS (ANA). “Hidrografia” Disponível em: <http://gripbsul.ana.gov.br/Hidrografia.html>. Acesso em: ago. 2021.

AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS (ANA). "Paraíba do Sul - Saiba Mais". Disponível em: <https://www.gov.br/ana/pt-br/sala-de-situacao/paraiba-do-sul/paraiba-do-sul-saiba-mais>. Acesso em: out 2022.

ALIAS, C.; FERETTI, D.; BENASSI, L. et al. The release of contaminants from steel slags and natural aggregates: Evaluation of toxicity and genotoxicity. **Environ Mol Mutagen** p. 66– 77. 2021. <https://doi-org.ez25.periodicos.capes.gov.br/10.1002/em.22407>

AMARAL, A. M.; BARBÉRIO, A.; VOLTOLINI, J. C.; BARROS, L. Avaliação preliminar da citotoxicidade e genotoxicidade, da água da bacia do rio Tapanhon (SP-Brasil) através do teste Allium (Allium cepa). **Revista Brasileira de Toxicologia** v. 20, n.1 e 2, p. 65-72, 2007.

ANDRADE-VIEIRA, L. F., DE CAMPOS, J. M. S., & DAVIDE, L. C. Effects of Spent Pot Liner on mitotic activity and nuclear DNA content in meristematic cells of Allium cepa. **Journal of Environmental Management**, v. 107, p. 140-146. 2012.

ANNUNZIATA, T.; COLL V. Possible Uses of Steelmaking Slag in Agriculture: An Overview. **Material Recycling - Trends and Perspectives**. InTech. 2012 DOI: 10.5772/31804.

Antonsiewicz D. Analysis of the cell cycle inn the root meristem of Allium cepa under the influence of Ledakrin. *Folia Histochem Cyto* 1990; 28:79-96

BASU, S.; TRIPURA, K.. Differential sensitivity of Allium cepa L. and Vicia faba L. to aqueous extracts of Cascabela thevetia (L.) Lippold. **South African Journal of Botany**, v. 139, p. 67-78, 2021.

BALAJEE, A. S., & HADJIDEKOVA, V. Retrospective cytogenetic analysis of unstable and stable chromosome aberrations in the victims of radiation accident in Bulgaria. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 861, 503295. 2021.

- BAER, W. Siderurgia e Desenvolvimento Brasileiro. Edição da Zahar, Rio de Janeiro, 1970.
- BARBOSA, I. D. S.; BRITO, G. B.; DOS SANTOS, G. L.; SANTOS, L. N.; TEIXEIRA, L. S.; ARAUJO, R. G.; KORN, M. G. A. Multivariate data analysis of trace elements in bivalve molluscs: Characterization and food safety evaluation. **Food Chemistry**, v. 273, p. 64-70. 2019.
- BARBÉRIO, A.; BARROS, L. A. Y. R. A.; VOLTOLINI, J. C.; MELLO, M. L. Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, p. 837-842. 2009.
- BETTIOL, C., DE VETTORI, S., MINERVINI, G., ZUCCON, E., MARCHETTO, D., GHIRARDINI, A. V., ARGESE, E. Assessment of phenolic herbicide toxicity and mode of action by different assays. **Environmental science and pollution research international**, v. 23, n. 8, p. 7398–7408. 2016. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5958-5>
- BONCIU, E.; FIRBAS, P.; FONTANETTI, C.; WUSHENG, J.; KARASMAILOĞLU, C.; LIU, D.; MENICUCCI, F.; PESNYA, D.; POPESCU, A.; ROMANOVSKY, A.; SCHIFF, S.; ŚLUSARCZYK, J.; DE SOUZA, C.; SRIVASTAVA, A.; SUTAN, A.; PAPINI, A. An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. **Caryologia**. v. 71. 1-19. 2018. 10.1080/00087114.2018.1503496.
- CAMPOS, C. F. et al. Analysis of genotoxic effects on plants exposed to high traffic volume in urban crossing intersections. **Chemosphere**, v. 259, p. 127511, 2020.
- CANEDO, A; ROCHA, T. L.. Zebrafish (*Danio rerio*) using as model for genotoxicity and DNA repair assessments: Historical review, current status and trends. **Science of The Total Environment**, v. 762, p. 144084, 2021.

- CALDAS, J. A. C. Análise de Duas Rotas Tecnológicas na Siderurgia Brasileira com Foco na Eficiência Energética. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Produção)—Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2011.
- CARON, M. L. E; PEREIRA, A. O. Manual de Siderurgia. Edição da Assetec, São Paulo, p. 15, 1967.
- CORRÊA, J. C.; BÜLL, L. T.; CRUSCIOL, C. A. C.; MARCELINO, R.; MAUAD, M. Correção da acidez e mobilidade de íons em Latossolo com aplicação superficial de escória, lama cal, lodos de esgoto e calcário. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 9, p. 1307–1317. 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000900013>
- COSTA, P. M. Current aspects of DNA damage and repair in ecotoxicology: a mini-review. **Ecotoxicology** v. 31, p. 1–11, 2022. <https://doi.org.ez25.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s10646-021-02487-2>
- COSTA, C. R., OLIVI, P., BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820–1830. 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700038>
- COSTA, M. A. N; LOSICER, C. D. R; OLIVEIRA, J. G. I; FARIA, B. S. The territorial social responsibility in the city of Volta Redonda, Brazil: The case of CSN. The Governance of Risk (Developments in Corporate Governance and Responsibility, Vol. 5), **Emerald Group Publishing Limited**, Bingley, pp. 181-202, 2013.
- DAS, S., KIM, G. W., HWANG, H. Y., VERMA, P. P.; KIM, P. J. Cropping With Slag to Address Soil, Environment, and Food Security. **Frontiers in microbiology**, 10, 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01320>

- DEARFIELD, K.L.; CIMINO, M.C.; MCCARROLL., N.E.; MAUER, I.; VALCOVIC, L.R. Genotoxicity risk assessment: a proposed classification strategy. **Mutation Research**, v. 521, p. 121-135, 2002.
- DE OLIVEIRA, L. C., DE MELO BISNETO, A. V., PUGA, S. C., FERNANDES, A. S., VÉRAS, J. H., CARDOSO, C. G. & CHEN-CHEN, L. Prednisone is genotoxic in mice and *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 865, 503334. 2021.
- DE SOUZA, C. da C. B.; PEREIRA, A. C. C.; OLIVEIRA, D. F. de; PIMENTEL, C. T.; SANTOS, A. M. dos; SANTOS, F. S. dos. Diagnóstico ambiental da poluição dos solos no bairro Volta Grande IV, Volta Redonda - RJ. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, v. 11, n. 30, p. 13–22, 2016. DOI: 10.47385/cadunifoa.v11.n30.348.
- DE WINDT, L.; CHAURAND, P.; ROSE, J. Kinetics of steel slag leaching: Batch tests and modeling. **Waste management** v. 31, p. 225-35. 2011. 10.1016/j.wasman.2010.05.018.
- DE SOUZA, J. R.; DE MORAES, M. E. B.; SONODA, S. L.; SANTOS, H. C. R. G. A importância da qualidade da água e os seus múltiplos usos: caso Rio Almada, sul da Bahia, Brasil. **REDE-Revista Eletrônica do Prodem**, v. 8, n. 01, 2014.
- DOVGALYUK, A.I.; KALINYAK T. B.; BLUME Y. A. B. Cytogenetic Effects of Toxic Metal Salts on Apical Meristem Cells of *Allium cepa* L. **Seeding Roots, Tsitol Genet.**, v. 35, n. 2, p. 3-10. 2001.
- EL MZIBRI, M., DE MEO, M. P., LAGET, M., GUIRAUD, H., SEREE, E., BARRA, Y., & DUMÉNIL, G. The *Salmonella* *sulA*-test: a new in vitro system to detect genotoxins. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 369, n. 3-4, 195-208. 1996.

FAO. Working document for information and use in discussions related to contaminants and toxins in the Gsctff. Fifth Session. The Hague, 2011. 90 p. Available in: http://www.FAO.org/tempref/codex/Meetings/CCCF/CCCF5/cf05_INF.pdf. Access in: 19 Mar. 2020.

FERNANDES, T.C.C; MAZZEO, D.E.C.; MARIN-MORALES, M.A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pest. Biochem. Physiol.**, v. 88, p. 252-259, 2007.

FICO, G.C., DE AZEVEDO, A.R.G., MARVILA, M.T. et al. Water reuse in industries: analysis of opportunities in the Paraíba do Sul river basin, a case study in Presidente Vargas Plant, Brazil. **Environ Sci Pollut Res** v. 29, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20475-9>

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas** v. 102, n. 1, p 99–112, 1985. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>

FONTES, A. M. M; LAMARÃO, S. T. N. Volta Redonda: história de uma cidade ou de uma usina?. Revista Rio de Janeiro, n.4, set.-dez. de 1986.

FRANÇA, ANDRÉ LUIZ FELISBERTO. MINIMIZAÇÃO DO CONSUMO DE ÁGUA E DA GERAÇÃO DE EFLUENTES LÍQUIDOS EM SIDERURGIA. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro [Rio de Janeiro] 2012. 173 p.

GARCIA-GUINEA, J.; CORRECHER, V.; RECIO-VAZQUEZ, L.; CRESPO-FEO, E.; GONZALEZ-MARTIN, R.; TORMO, L. Influence of accumulation of heaps of steel slag on the environment: determination of heavy metals content in the soils. **Anais Da Academia Brasileira De Ciências**, v. 82, n. 2, p. 267–277. 2010. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652010000200003>

GRANT, W.F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations-a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 426, p. 107–112. 1999. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(99\)00050-0](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(99)00050-0).

GHOSH, M. et al. Effects of ZnO nanoparticles in plants: cytotoxicity, genotoxicity, deregulation of antioxidant defenses, and cell-cycle arrest. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 807, p. 25-32, 2016.

GUAN, Y.; WANG, X.; WONG, M.; SUN, G.; AN, T.; GUO, J.; ZHANG, G. Evaluation of Genotoxic and Mutagenic Activity of Organic Extracts from Drinking Water Sources. **PloS one**, v. 12, n. 1, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170454>

HARA, R.V.; MARIN-MORALES, M.A. In vitro and in vivo investigation of the genotoxic potential of waters from rivers under the influence of a petroleum refinery (São Paulo State - Brazil). **Chemosphere**, v. 174, p. 321-330. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.142>

HU, R.; XIE, J.; WU, S.; YANG, C.; YANG, D. Study of Toxicity Assessment of Heavy Metals from Steel Slag and Its Asphalt Mixture. **Materials** (Basel, Switzerland), v. 13, n. 12, 2020. <https://doi.org/10.3390/ma13122768>

INSTITUTO AÇO BRASIL. Relatório de Sustentabilidade, 2020. Disponível em: <https://www.acobrasil.org.br/relatoriodesustentabilidade/assets/pdf/PDF-2020-Relatorio-Aco-Brasil-COMPLETO.pdf> Acessado em: 6 de out de 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). "Cidades e estados: Volta Redonda". Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/rj/volta-redonda.html> Acesso em: jul 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Cidades – Rio de Janeiro, Volta Redonda. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=330630> Acesso: Out/2022.

Instituto Estadual do Ambiente (INEA). "Plano de Recursos Hídricos - Maciço Paraíba do Sul - Agenda Azul". Disponível em: <http://www.inea.rj.gov.br/Portal/Agendas/GESTAODEAGUAS/InstrumentosdeGestodeRecHid/PlanodeRecursosHidricos/MadioParaibadoSulAgendaAzul/index.htm#ad-image-0>. Acesso em: mar 2023.

Instituto Estadual do Ambiente (INEA). "Monitoramento dos reservatórios do Paraíba do Sul". Disponível em: <http://www.inea.rj.gov.br/ar-agua-e-solo/seguranca-hidrica/monitoramento-dos-reservatorios-do-paraiba-do-sul/>. Acesso em: mar 2023.

JOHNSON, R. Water Use in Industries of the Future: Steel Industry. Washington, D.C: U.S. Department of Energy, jul. 2003.

KUMAR, N. K. H.; JAGANNATH, S.. Cytological effects of herbicide alachlor in somatic cells of maize (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* Merrill.). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 24, p. 101560, 2020.

LEITE, P.P.N., BUZATO, A., COSTA, L.R.T. Uma contribuição para pesquisa e desenvolvimento da escória de aciaria da Companhia Siderúrgica de Tubarão. p.12-70, 1997.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71-81, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>

LEVAN, A. The effect of colchicines in root mitosis in *Allium*, **Hereditas** v. 24, p. 471–486, 1938.

- LEVAN, A. Cytological reactions induced by inorganic salt solutions, **Nature** v. 156 p. 751–752, 1945.
- LIU D, JIANG W, LI MAOXIE. Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. **Hereditas**; 117:23-29. 1992.
- MA, T.H.; XU, Z.; XU, C.; MCCONNELL, H.; VALTIERRA RABAGO, E.; ADRIANA ARREOLA, G.; ZHANG, H. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects** v. 334, p. 185–195. 1995. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(95\)90010-1](https://doi.org/10.1016/0165-1161(95)90010-1)
- MARENGONI, N. G.; WILD, M. B.; JUNIOR, A. C. G.; VIVIAN, M. M. P. S.; De Moura, M. C. Bioacumulação de metais pesados em tilápia do nilo e retenção no solo e sedimento dos viveiros com adição de probióticos na dieta. *Bioscience Journal*, v. 30, n. 4, 2014.
- MATOS, L. A., CUNHA, A. C. S., SOUSA, A. A., MARANHÃO, J. P. R., SANTOS, N. R. S., GONÇALVES, M. M. C., DANTAS, S. M. M. M., SOUSA, J. M. C. E., PERON, A. P., SILVA, F. C. C. D., ALENCAR, M. V. O. B., ISLAM, M. T., AGUIAR, R. P. S., MELO-CAVALCANTE, A. A. C., BONECKER, C. C., & JUNIOR, H. F. J. The influence of heavy metals on toxicogenetic damage in a Brazilian tropical river. **Chemosphere**, v. 185, p. 852–859. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.103>
- MILANEZ, B. A ferro e fogo: impactos da siderurgia para o ambiente e a sociedade após a reestruturação dos anos 1990. IV Encontro Nacional da Anppas, Distrito Federal/Brasília, junho de 2008.
- MINISTÉRIO PÚBLICO FEDERAL. Inquéritos Civis Públicos n. 08120.001452/97-04 e 1.30.010.000159/2000-29. Ação Civil Pública – 3a Vara Federal de Volta Redonda. Volta Redonda, 2018.

- MONTEIRO, M. S. et al. Flow cytometric assessment of Cd genotoxicity in three plants with different metal accumulation and detoxification capacities. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 6, p. 1231-1237, 2010.
- MOURÃO, M. B.; YOKOJI, A.; MALYNOWSKYJ, A.; TAKANO, C. A. da S. L.; QUITES, E. E. C; GENTILE, E. F.; SILVA, G. F. B. L.; BOLOTA, J. R.; GONÇALVES, M.; FACO, R. J. Introdução à siderurgia. São Paulo: Associação Brasileira de Metalurgia e Materiais, 2007.
- MOTTA, T. C. P. A formação da cidade de Volta Redonda a partir da implantação da Companhia Siderúrgica Nacional, Viçosa/MG, 2007.
- OLIVEIRA, Sarah Almeida de. Vulnerabilidade Ambiental na "Cidade do Aço": a Geotecnogênese na Construção de Paisagens de Perigo no Setor Leste de Volta Redonda (RJ). Rio de Janeiro, 2017. 215 f. Orientadora: Maria Naíse de Oliveira Peixoto. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Geociências, Departamento de Geografia, Programa de Pós-Graduação em Geografia, 2017.
- Oliveira, Jéssica Guerra Inácio de. Responsabilidade Social da Companhia Siderúrgica Nacional (CSN) e suas externalidades negativas na saúde da população do município de Volta Redonda, no período de 2008 a 2012. Orientador: Luis Henrique Abegão. Trabalho (Conclusão de Curso) – Instituto de Ciências Humanas e Sociais, Universidade Federal Fluminense, Volta Redonda, RJ, 2013.
- O'CONNOR, J. et al. Production, characterisation, utilisation, and beneficial soil application of steel slag: A review. **Journal of hazardous materials** v. 419. 2021. doi:10.1016/j.jhazmat.2021.126478
- PAGLIARI, B. G.; MOREIRA, M. DE F. R.; MANNARINO, C. F.; SANTOS, G. B. dos. Risk of exposure to metals in soil contaminated by steel industry waste for a population in Volta Redonda, RJ. **Revista Ambiente & Água**, v. 16, n. 4, 2021. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2696>

- PANDEY, H.; KUMAR, S. Butylated hydroxytoluene and Butylated hydroxyanisole induced cyto-genotoxicity in root cells of *Allium cepa* L. **Heliyon**, v. 7, n. 5, 2021.
- PARENTE, T. E. M.; SANTOS, L. M. F. dos; OLIVEIRA, A. C. A. X. de; TORRES, J. P. de M.; ARAÚJO, F. G.; DELGADO, I. F.; PAUMGARTTEN, F. J. R. The concentrations of heavy metals and the incidence of micronucleated erythrocytes and liver EROD activity in two edible fish from the Paraíba do Sul river basin in Brazil. **Vigil Sanit Debate, Rio de Janeiro**, "Rio de Janeiro, Brasil", v. 3, n. 1, p. 88–92, 2015. Doi: 10.3395/2317-269x.00278.
- PELAYO, H. R.; PINCHEIRA, J.; GIMÉNEZ-ABIÁN, J. F.; CLARKE, D. J.; DE LA TORRE, C. p53-independent checkpoint controls in a plant cell model. **Biol. Res**, v. 36, n. 3-4, p. 381- 388, 2003.
- PEREIRA JUNIOR, M.; VANZELA, L. S. Impacto de efluentes de siderúrgia na água do córrego piquiá, município de Açailândia - MA. **Revista Científica ANAP Brasil**, v. 12, n. 24, 2019. DOI: 10.17271/19843240122420191980.
- PEREIRA, M., CALZA, C., ANJOS, M. et al. Metal concentrations in surface sediments of Paraíba do Sul River (Brazil). **J Radioanal Nucl Chem** v. 269, p. 707–709. 2006. <https://doi.org/10.1007/s10967-006-0290-7>
- QUADRA, G. R., ROLAND, F., BARROS, N., MALM, O., LINO, A. S., AZEVEDO, G. M., THOMAZ, J. R., ANDRADE-VIEIRA, L. F., PRAÇA-FONTES, M. M., ALMEIDA, R. M., MENDONÇA, R. F., CARDOSO, S. J., GUIDA, Y. S., & CAMPOS, J. M. S. (2019). Far-reaching cytogenotoxic effects of mine waste from the Fundão dam disaster in Brazil. *Chemosphere*, 215, 753–757. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.104>
- RAGGI, Fernando Augusto Santos. Uso de *Oeceoclades maculata* (Lindley) Lindley como bioindicadora de metais pesados no ar atmosférico da cidade de Volta Redonda, RJ. 2020. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação

em Tecnologia Ambiental, Universidade Federal Fluminense, Volta Redonda, 2020.

RANK, J. The method of Allium anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Ekologija*. 1:38–42. 2003.

RANK, J.; NIELSEN, M.H. A modified Allium test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. *Hereditas*, v. 18, p. 49-53, 1993.

REIS, G.B. dos, ANDRADE-VIEIRA, L.F., MORAES, I. DE C., CÉSAR, P.H.S., MARCUSSI, S., DAVIDE, L.C. Reliability of plant root comet assay in comparison with human leukocyte comet assay for assessment environmental genotoxic agents. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 142, p. 110–116. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.004>.

REYES-RODRÍGUEZ, M. A., SANTOS-CRUZ, L. F., GARCÍA-CASTRO, C., DURÁN-DÍAZ, Á., CASTAÑEDA-PARTIDA, L., DUEÑAS-GARCÍA, I. E., ... & RODRÍGUEZ-MERCADO, J. J. Genotoxicity and cytotoxicity evaluation of two thallium compounds using the Drosophila wing somatic mutation and recombination test. **Heliyon**, v. 7, n. 5, 2021.

Relato Integrado Grupo CSN 2022. Disponível em: <https://api.mziq.com/mzfilemanager/v2/d/29633c00-23f7-4765-9594-926012179477/b2ccde72-14cf-dd5a-f15b-55098bc81db1?origin=1> Acessado em: jun de 2023.

RIO DE JANEIRO. Resolução nº 107 de 22 de maio de 2013 do Conselho Estadual de Recursos Hídricos do Estado do Rio de Janeiro - CERHI. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2013.

ROCHA GOUVÊA JÚNIOR, J. C.; BERTOLO, R. A.; HART, S. T.; MOURA, T.; SIMÃO E SILVA, F.; STUART ODLE, W. UTILIZAÇÃO DA ANÁLISE PIANO PARA DETERMINAÇÃO DE ASSINATURAS QUÍMICAS DE HIDROCARBONETOS: CASO DO BAIRRO RESIDENCIAL VOLTA GRANDE IV, VOLTA REDONDA,

RJ, BRASIL. Águas Subterrâneas, [S. l.], 2021. Disponível em: <https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/29340>. Acesso em: 3 jul. 2023.

SACRAMENTO, E. B., AZEVEDO, C. De A., ABREU, S. T., BORBA, H. R., & LIMA, V. M. de. Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de águas da Bacia do Rio Paraíba do Sul - RJ por meio do sistema de teste de espécies *Allium* . *Journal of Environment & Water* , v. 15, n. 3, 2020. <https://doi.org/10.4136/ambi-water.2521>

SANTOS, Anderson Baptista dos. Reuso de efluentes no processo de siderurgia. Orientador: Prof. Dr. Pedro Magalhães Sobrinho. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2014.

SALVIANO, A. B. Avaliação de escória de aciaria para o controle e abatimento de drenagem ácida de mineração. 2010. 187 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2010.

SILVA, A. P.; ASMUS, C. I. F.; PAVIN, J. L. P.; LACERDA, J. C. V.; SALES, L. B. F.; RESENDE, M. T. et al. Estudo de avaliação de risco à saúde humana em localidades atingidas pelo rompimento da barragem do Fundão – MG. 2019. São Paulo: AMBIOS, 2019. 369 p.

SILVEIRA, G. L. ; LIMA, M. G. F.; REIS, G. B. dos; PALMIERI, M. J.; ANDRADE-VIERIA, L. F.. Toxic effects of environmental pollutants: comparative investigation using *allium cepa* L. and *lactuca sativa* L.. **Chemosphere**, v. 178, p. 359-367, 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.048>.

SOUTO, B. F. Volta Redonda, hoje: “novos movimentos migratórios, primeiras aproximações”. V Encontro Nacional sobre Migrações, Campinas, 2007.

- SOUZA, T. S; BARONE, L. da S. F; LACERDA, D; VERGILIO, C dos S; OLIVEIRA, B. C. V de; ALMEIDA, M. G. de; THOMPSON, F; REZENDE, C. E. de. Cytogenotoxicity of the water and sediment of the Paraopeba River immediately after the iron ore mining dam disaster (Brumadinho, Minas Gerais, Brazil). *Science Of The Total Environment*, v. 775, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145193>.
- SOUZA, M. S. P. A. DE ., SANTOS, F. S. DOS ., MAGALHÃES, L. M. S., FREITAS, W. K. DE ., GOIS, G. DE ., & OLIVEIRA, J. F. DE. Poincianella pluviosa as biomonitor of heavy metals in the municipality of Volta Redonda, RJ, Brazil. *Revista Brasileira De Engenharia Agrícola E Ambiental*, v. 23, n 1, pg 71–76. 2019. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v23n1p71-76>
- TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE I. V. H. D. Bioindicator of genotoxicity: the *Allium cepa* test. In: Srivastava J, editor. *Environmental contamination*. Croatia: InTech; p. 137–156. 2012.
- TERRA FILHO, M E KITAMURA, S. Câncer pleuropulmonar ocupacional. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v. 32, p. S60-S68. 2006. <https://doi.org/10.1590/S1806-37132006000800011>.
- TLILI, S.; MOUNEYRAC, C. New challenges of marine ecotoxicology in a global change context. **Marine pollution bulletin**, v. 166, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112242>
- TORRES, J. P. M.; MALM, O.; VIEIRA, E. D. R.; JAPENGA, J.; KOOPMANS, G. F. Organic micropollutants on river sediments from Rio de Janeiro State, Southeast Brazil. **Cadernos De Saúde Pública**, v. 18, n. 2, p. 477–488. 2002. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2002000200012>
- VASSEUR, P.; MASFARAUD, JF; BLAISE, C. Ecotoxicology, revisiting its pioneers. **Environ Sci Pollut Res** v. 28, p. 3852–3857. 2021. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11236-7>

VOUTSINAS, G.; ZARANI, F.; KAPPAS, A. The effect of environmental aneuploidy-inducing agents on the microtubule architecture of mitotic meristematic root cells in *Hordeum vulgare*. **Cell. Biol. Int.**, v. 21, p. 411-418. 1997.

WHITE, P.A., CLAXTON, L.D. Mutagens in contaminated soil: a review. **Mutation Research** - Reviews in Mutation Research 567, 227–345. 2004.
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2004.09.003>.