

INSTITUTO ENSINAR BRASIL  
FACULDADES UNIFICADAS DOCTUM

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA NA BARRAGEM AÉCIO FERREIRA  
CUNHA EM TEÓFILO OTONI/MG, ATRAVÉS DE PARÂMETROS FÍSICO-  
QUÍMICOS E TOXICOLÓGICOS**

TEÓFILO OTONI  
2017



INSTITUTO ENSINAR BRASIL  
FACULDADES UNIFICADAS DOCTUM DE TEÓFILO OTONI  
ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA

KILDER CRISTIANO SILVEIRA  
MAYNE LUISA SILVA VERONESI

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA NA BARRAGEM AÉCIO FERREIRA  
CUNHA EM TEÓFILO OTONI/MG, ATRAVÉS DE PARÂMETROS FÍSICO-  
QUÍMICOS E TOXICOLÓGICOS**

**Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Engenharia  
Ambiental e Sanitária das Faculdades  
Unificadas de Teófilo Otoni, como  
requisito parcial à obtenção do título de  
Bacharel em Engenharia Ambiental e  
Sanitária.**

**Área de Concentração: Qualidade de água**

**Orientadora: Prof. MSc Valéria Rosado.**

TEÓFILO OTONI

2017





## FACULDADES UNIFICADAS DOCTUM DE TEÓFILO OTONI

### FOLHA DE APROVAÇÃO

O Trabalho de Conclusão de Curso intitulado: Avaliação Da Qualidade da Água Na Barragem Aécio Ferreira Cunha em Teófilo Otoni/MG, Através de Parâmetros Físico-Químicos e Toxicológicos, elaborado pelos alunos KILDER CRISTIANO SILVEIRA e MAYNE LUISA SILVA VERONESI foi aprovado por todos os membros da Banca Examinadora e aceita pelo curso de Engenharia Ambiental e Sanitária das Faculdades Unificadas Teófilo Otoni, como requisito parcial da obtenção do título de

**BACHAREL EM ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA.**

Teófilo Otoni, 13 de dezembro de 2017

---

Prof. Msc. Valéria Rosado  
Orientadora

---

Victor Luiz

---

Larissa Petrini



*Dedico este trabalho aos meus pais que representam símbolo de força e inteligência, aos meus irmãos, amigos, minha namorada pelo apoio durante esta jornada e a Mayne Veronesi que ao longo do curso me representou um exemplo de dedicação e perseverança.*

*K.C.S*

*Dedico este trabalho à minha mãe Sandra de Oliveira da Silva, à minha irmã Nyara Veronesi e aos meus avós Edelvirge Rodrigues e Orly Maria, pela formação de valores, pelo amor, carinho, apoio e compreensão, que a mim dedicaram.*

*M.L.S.V.*



## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por ter nos dado sabedoria e honra para não desistirmos;

À nossa colega de laboratório Thamires Torres, por ter nos apoiado em todos os momentos, principalmente, naqueles que pareciam que tudo estava contra nós;

À Marcia Cristina, pela grande ajuda, esforço e carinho que nos dedicou;

Ao Movimento Pró Rio Todos os Santos e Mucuri pelo apoio na execução e desenvolvimento deste estudo;

Ao Grupo de Extensão e Pesquisa em Agricultura Familiar (GEPAF), em especial à Luiz Ricardo pela paciência, compartilhamento de experiências e contribuição para o nosso desenvolvimento pessoal e profissional;

À todos os nossos amigos que estavam ao nosso lado e fizeram com que essa jornada se tornasse mais fácil;

Aos nossos familiares que nos apoiaram, incentivaram e nos fizeram acreditar que seríamos capazes, apesar de todas as adversidades;

À nossa orientadora, pelo suporte que nos deu e pelo tempo que nos dedicou;

À todos os profissionais e colegas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.



## ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

AC – Alterações Cromossômicas

AGROFIT – Banco de informações de produtos agroquímicos registrados no Ministério da Agricultura

ANA – Agência Nacional das Águas

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CMR – Crescimento Médio de Raízes

CTI – Cálculo da taxa de inibição

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente

COPASA – Companhia de Saneamento de Minas Gerais

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

ETA – Estação de Tratamento de Água

FUNDACENTRO – Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho

IGAM – Instituto Mineiro de Gestão da Águas

IM – Índice Mitótico

IQA – Índice de Qualidade de Água

MN – Micronúcleos

pH - Potencial Hidrogeniônico

SAAE – Serviço autônomo de água e esgoto

UNEP – Programa Nacional da Nações Unidas

UNT – Unidades Nefelométricas de Turbidez

uT – Unidade de Turbidez

UV – Radiação Ultravioleta



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Extensão do Rio Todos os Santos.....	37
FIGURA 2 – Área entorno da barragem Aécio Ferreira Cunha.....	38
FIGURA 3 – Microfotografia das fases de Mitose em células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> , encontradas em amostra de água da barragem Aécio Ferreira Cunha.....	45
FIGURA 4 – Microfotografia de alterações cromossômicas em células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> , encontradas em amostra de água da barragem Aécio Ferreira Cunha .....	47
FIGURA 5 – Microfotografia de micronúcleo em Intérfase em células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> .....	48
TABELA 1 – Valores obtidos pelas análises dos parâmetros físico-químicos.....	43
TABELA 2 – Crescimento médio das raízes .....	44
TABELA 3 – Valores obtidos no bioensaio <i>Allium cepa</i> para avaliação da citotoxicidade em amostra de água através do índice mitótico .....	45
TABELA 4 – Valores obtidos no teste de <i>Allium cepa</i> para avaliação da genotoxicidade em amostra de água na barragem Aécio Ferreira Cunha.....	48
TABELA 5 – Valores obtidos no teste de <i>Allium cepa</i> para avaliação da mutagenicidade através da formação de MN em amostra de água da barragem Aécio Ferreira Cunha.....	49
QUADRO 1 - Classificação dos corpos hídricos de água doce segundo o CONAMA .....	22
QUADRO 2 - Efeitos da exposição aos agrotóxicos .....	25
GRÁFICO 1 - Células em mitose apresentadas nas lâminas analisadas.....	47



## RESUMO

Os corpos hídricos estão sujeitos à contaminação, seja difusa ou pontual, de origem natural ou antropogênicas. A degradação dos recursos hídricos pode interferir negativamente na saúde humana, no desenvolvimento de atividades industriais e agropecuárias, gerando assim impactos significativos nos âmbitos, sociais, econômicos e ambientais. Este estudo realizou a análise da qualidade da água através de parâmetros físico-químicos e toxicológicos. O local de estudo foi a barragem Aécio Ferreira Cunha, no município de Teófilo Otoni/MG, que é a fonte de abastecimento da cidade de Teófilo Otoni/MG. Foi realizada uma coleta em um ponto definido, no Rio Todos os Santos, pertencente à bacia hidrográfica do Rio Mucuri. Os parâmetros analisados foram: físico-químicos através da determinação de pH, Turbidez, temperatura e oxigênio dissolvido. Foram realizados estudos de citotoxicidade genotoxicidade, e mutagenicidade através do biomonitor *Allium cepa*, sendo os parâmetros avaliados: taxa de crescimento das raízes, índice mitótico, aberrações cromossômicas e micronúcleos. Os resultados obtidos nas análises dos parâmetros físico-químicos estão dentro dos valores recomendados pela Resolução CONAMA 357/2005. Os resultados obtidos nas análises do ensaio *Allium cepa* não apresentaram potencial citotóxico, genotóxico, tampouco apresentou alteração em relação ao potencial mutagênico.

**Palavras – chave:** Mutagenicidade. Genotoxicidade. *Allium cepa*. Qualidade de água.



## ABSTRACT

The water bodies are subject to contamination, whether diffuse or punctual, of natural or anthropogenic origin. Degradation of water resources can adversely affect human health, the development of industrial and agricultural activities, and thus generate significant impacts in the social, economic and environmental spheres. This study carried out the analysis of water quality through physical-chemical and toxicological parameters. The study site was the Aécio Ferreira Cunha dam, in the municipality of Teófilo Otoni / MG, which is the source of supply for the city of Teófilo Otoni / MG. A collection was carried out at a defined point on the Todos os Santos River, belonging to the Mucuri River basin. The analyzed parameters were: physical-chemical through the determination of pH, Turbidity, temperature and dissolved oxygen. Genotoxicity, cytotoxicity and mutagenicity studies were performed through the *Allium cepa* biomonitor, with the following parameters being evaluated: mitotic index, chromosomal aberrations and micronucleio. The results obtained in the analyzes of the physical-chemical parameters are within the values recommended by CONAMA Resolution 357/2005. The results obtained in the analyzes of the *Allium cepa* assay showed no cytotoxic or genotoxic potential, nor did presented alteration in relation to the mutagenic potential.

**Key words:** Mutagenicity. Genotoxicity. *Allium cepa*. Water quality.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	21
<b>2.1 Qualidade de água</b> .....	21
2.1.1 Classificação de corpos hídricos .....	22
<b>2.2 Toxicidade</b> .....	22
<b>2.3 Agrotóxicos e saúde humana</b> .....	23
<b>2.4 Essencialidade e Toxicidade dos Metais</b> .....	26
<b>2.5 Parâmetros físico-químicos de água</b> .....	27
2.5.1 Turbidez .....	27
2.5.2 Temperatura.....	27
2.5.3 pH.....	28
2.5.4 Oxigênio dissolvido.....	28
<b>2.6 Genotoxicidade</b> .....	29
2.6.1 Citotoxicidade .....	29
2.6.1.1 <i>Índice Mitótico</i> .....	30
2.6.2 Presença de micronúcleos .....	30
<b>2.7 Allium cepa como organismo teste</b> .....	31
<b>3 METODOLOGIA E PROCEDIMENTOS TÉCNICOS DA PESQUISA</b> .....	35
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	43
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	51
<b>REFERÊNCIAS</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente a disponibilidade de água doce está reduzida e o consumo indiscriminado em diversas áreas e setores tem contribuído para esta redução, podendo interferir diretamente na qualidade do recurso hídrico. No Brasil esse recurso tornou-se motivo de preocupação devido às intensas mudanças climáticas, a redução do índice pluviométrico e as formas de captação irracionais. A escassez hídrica promove disputas geopolíticas por fontes de águas, questões cada vez mais frequentes.

Partindo desta preocupação com os recursos hídricos desenvolveu-se o presente estudo, contemplando a barragem Aécio Ferreira Cunha de Teófilo-Otoni/MG, construída em abril de 2012, pela Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA). A barragem atende à demanda de abastecimento da cidade e beneficia cerca de 130.000 pessoas, com a previsão de oferta de água para os próximos 50 anos, mesmo nos períodos de estiagem mais severos<sup>1</sup>.

A microbacia do rio Todos os Santos tem como principais impactos aqueles relacionados a contaminação e degradação dos recursos hídricos, através da atividade agropecuária de forma extensiva com manejo inadequado, podendo conter elementos químicos tóxicos, dentre eles os metais e os praguicidas, bem como a disposição incorreta de efluente doméstico com elevada carga orgânica.

Quando é realizado o uso de praguicidas, principalmente na agricultura, os recursos hídricos são os principais prejudicados por serem integradores dos processos biogeoquímicos (LOURENCETTI *et al.*, 2007). Sendo assim os efeitos dos agentes químicos ao longo do tempo representam um grande risco para a saúde pública, sendo necessários o monitoramento e a vigilância desses produtos em águas.

Devido às atividades realizadas ao longo da microbacia do rio Todos os Santos, surgiu a necessidade de se realizar o diagnóstico da qualidade da água a partir da análise dos parâmetros físico-químicos, e da determinação de níveis de toxicidade da amostra.

De acordo com a resolução 357/2005 do CONAMA, para águas superficiais, os

---

<sup>1</sup> [http://www.copasa.com.br/wps/portal/internet/imprensa/noticias/releases/2012/abril/destaque-20120416-ie2359/!ut/p/a0/04\\_Sj9C-Pykssy0xPLMnMz0vMAfGjzOJ9DLwdPby9Dbz8gzzdDBY9g\\_zd\\_T2dgvx8zfULsh0VAfwq3lw!](http://www.copasa.com.br/wps/portal/internet/imprensa/noticias/releases/2012/abril/destaque-20120416-ie2359/!ut/p/a0/04_Sj9C-Pykssy0xPLMnMz0vMAfGjzOJ9DLwdPby9Dbz8gzzdDBY9g_zd_T2dgvx8zfULsh0VAfwq3lw!/). Acesso em: 15 de abril de 2017

parâmetros avaliados contemplam parâmetros físico químicos, microbiológicos e toxicológicos, dentre este último, apenas os valores máximos permitidos para metais, não contemplando outros estudos toxicológicos, dentre eles a genotoxicidade em organismos vivos.

Para a avaliação dos possíveis efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos, foi utilizado o bioindicador *Allium cepa*, que é considerado um excelente ensaio, devido à sua sensibilidade e facilidade de análise em amostras ambientais, sendo amplamente utilizado para avaliação da qualidade da água (LEME *et al.*, 2009). Os parâmetros que foram avaliados no ensaio de *Allium cepa* contemplam observações macroscópicas como tamanho da raiz e análises microscópicas como divisões celulares, aberrações cromossômicas e presença de micronúcleos.

Os resultados dos parâmetros físico-químicos foram comparados com os valores estabelecidos pela resolução CONAMA 357/2005 para rios de água doce de classe II, os resultados do potencial de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade das amostras foram encontrados a partir de análises estatísticas utilizando o software GraphPad Prism versão 7.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Qualidade de água

Segundo Wrege (2000), morre uma criança a cada 14 segundos, vítima de doenças adquiridas através do consumo de água contaminada, nos países em desenvolvimento estima-se que 80% das enfermidades e aproximadamente um terço das mortes são causadas pela água contaminada. A disposição incorreta dos esgotos domésticos e águas residuárias são causas importantes dessa deterioração da qualidade da água (AGENDA 21, 1996). Alguns efluentes contêm misturas tóxicas, como praguicidas, metais tóxicos, produtos industriais e uma variedade de outras substâncias (VEGA *et al.*, 1996).

A ação antropogênica sobre os recursos hídricos é a responsável pela maioria das alterações no meio aquático. Os rios vêm servindo de depósitos de rejeitos por muitos anos, alterando profundamente o estado natural dos recursos. As alterações da qualidade da água representam uma das maiores evidências do impacto das atividades humanas sobre a biosfera (PORTO *et al.*, 1991).

A contaminação hídrica pode ser originada de diversas fontes, podendo ser elas pontuais e difusas, dentre as quais se destacam os efluentes domésticos, os efluentes industriais e a carga difusa urbana e agrícola. Essas fontes estão associadas ao tipo de uso e ocupação do solo. Cada uma dessas fontes possui características próprias quanto aos poluentes que carregam. Os esgotos domésticos apresentam contaminantes orgânicos biodegradáveis, nutrientes e bactérias (PORTO *et al.*, 1991).

Nas últimas décadas, tem ocorrido uma aceleração na degradação dos recursos hídricos disponíveis para uso e consumo no país. Essa deterioração é anunciada com o aumento do desenvolvimento econômico e renda per capita de determinadas regiões, que vem acompanhada pelo incremento da pressão sobre os recursos hídricos superficiais e subterrâneos. Para a população, a disponibilidade de água de boa qualidade se traduz em garantia de sobrevivência através do consumo direto e constitui um suporte básico para o desenvolvimento econômico e social (FROTA, 2000).

O Índice de Qualidade das Águas (IQA) avalia a qualidade das águas considerando nove parâmetros: oxigênio dissolvido, coliformes termotolerantes, pH, demanda bioquímica de oxigênio, temperatura, nitrogênio total, fósforo total, turbidez

e sólidos totais. Trata-se de um índice que avalia a condição de utilização da água para fins de abastecimento público, considerando um tratamento convencional (BRASIL, 2012).

O Índice de Qualidade das Águas (IQA) foi desenvolvido pela *National Sanitation Foundation* em 1970 e adaptado pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) em 1975. Atualmente, ele é o índice de qualidade da água mais utilizado pelas Unidades da Federação. O conceito de qualidade da água sempre tem relação com o uso que se faz dessa água, existe uma grande variedade de indicadores que expressam aspectos parciais da qualidade das águas (BRASIL, 2012).

### 2.1.1 Classificação de corpos hídricos

De acordo com a resolução 357/2005 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, as águas doces podem ser classificadas em:

QUADRO 1 - Classificação dos corpos hídricos de água doce segundo o CONAMA

<b>Classificação</b>	<b>Destinação</b>	<b>Tratamento</b>
Classe especial	Abastecimento humano	Desinfecção
Classe I	Abastecimento humano	Simplificado
Classe II	Abastecimento humano	Convencional
Classe III	Abastecimento humano	Convencional ou avançado
Classe IV	Navegação e a harmonia paisagística.	_____

Fonte: CONAMA - Resolução 357/2005

## 2.2 Toxicidade

A normativa brasileira 10.004 define que a toxicidade é uma propriedade inerente à substância que produz efeitos danosos aos organismos expostos durante um determinado tempo, a uma concentração específica, esses efeitos adversos podem ser: imobilidade, mortalidade, inibição da reprodução e redução do crescimento dos organismos teste (ABNT, 2004).

Segundo Rocha (2009), é considerada tóxica, toda substância que tem o potencial de provocar lesão no organismo, que pode ocorrer prejudicando o seu normal funcionamento, ou destruindo-o, podendo alterar suas funções vitais de forma reversível ou irreversivelmente. Este efeito é causado sempre que um agente tóxico entra em contato com o organismo.

A resolução 357/2005 do CONAMA determina que para o corpo hídrico em estudo não pode haver efeito tóxico agudo a organismos e que os critérios estabelecidos devem ser implantados por um órgão ambiental competente, sendo necessário fazer monitoramento através de análises padronizadas.

Essa mesma resolução dispõe sobre o controle de despejo de efluentes em corpos d'água e dá outras providências, entretanto o difícil acesso ao saneamento básico e à informação nas comunidades rurais faz com que os proprietários disponham seus efluentes de forma incorreta.

### **2.3 Agrotóxicos e saúde humana**

Agrotóxicos, defensivos agrícolas, pesticidas, praguicidas, remédios de planta, veneno. Essas são algumas das inúmeras denominações relacionadas a um grupo de substâncias químicas utilizadas no controle de pragas animais e vegetais e doenças de plantas (FUNDACENTRO, 1998). São utilizados em florestas, nos recursos hídricos, nas áreas urbanas e industriais e, demasiadamente na agropecuária.

Os agrotóxicos abrangem várias substâncias químicas, além de algumas de origem biológica, que podem ser classificadas de acordo com o tipo de praga que controlam, com a estrutura química das substâncias ativas e com os efeitos à saúde humana e ao meio ambiente (AGROFIT, 1998).

A Organização Mundial da Saúde estima que, a cada ano, entre três e cinco milhões de pessoas são contaminadas por agrotóxicos em todo o mundo (JEYARATNAM, 1990; ILO, 1997). Alguns autores acreditam que tais números podem chegar a 25 milhões de trabalhadores por ano, somente nos países em desenvolvimento (JEYARATNAM, 1990). É um problema que vem crescendo, sobretudo nos países em desenvolvimento, responsáveis por aproximadamente 20% do consumo mundial de agrotóxicos e onde estão localizados 70% dos casos de intoxicação (ILO, 1997).

A América Latina foi a região onde se observou um maior aumento no consumo desses produtos, aproximadamente 120%. Isto ocorreu, devido a influência do Brasil, que no período de 1964 a 1991 aumentou seus gastos na aquisição desses insumos de 1 para 2,2 bilhões de dólares por ano, o consumo de agrotóxicos aumentou 276,2%, em relação a um aumento de 76% na área plantada<sup>2</sup>.

Em 2001, o Brasil consumiu 328.413 toneladas de agrotóxicos. Considerando o consumo dos dez principais países consumidores desses produtos, que representam 70% do mercado mundial, o Brasil aparece em 7º lugar no ranking, com os estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais contribuindo com aproximadamente 50% do montante total utilizado no país (ANVISA, 2002).

Os efeitos sobre a saúde humana podem ser de dois tipos:

- Efeitos agudos, ou aqueles resultantes da exposição a concentrações de um ou mais agentes tóxicos capazes de causarem dano efetivo aparente em um período de 24 horas;
- Efeitos crônicos, ou aqueles resultantes de uma exposição continuada a doses relativamente baixas de um ou mais produtos.

Efeitos causados pelos agrotóxicos estão representados no quadro 2.

---

<sup>2</sup> MMA (Ministério do Meio Ambiente). Informativo MMA, 2000. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/ascom/imprensa/marco2000/informma15.html>.

QUADRO 2 - Efeitos da exposição aos agrotóxicos

<b>Classificação quanto à praga que controla</b>	<b>Classificação quanto ao grupo químico</b>	<b>Sintomas de intoxicação aguda</b>	<b>Sintomas de intoxicação crônica</b>
<b>Inseticidas</b>	<b>Organofosforados e carbamatos</b>	Fraqueza; Cólicas abdominais; Vômitos; Espasmos musculares; Convulsões.	Efeitos neurotóxicos retardados; Alterações cromossômicas; Dermatites de contato.
	<b>Organoclorados</b>  <b>Piretróides sintéticos</b>	Náuseas; Vômitos; Contrações musculares involuntárias; Irritações das conjuntivas; Espirros; Excitação; Convulsões; Tonteiras; Vômitos;	Lesões hepáticas; Arritmias cardíacas; Lesões renais; Neuropatias periféricas; Alergias; Asma brônquica; Irritações nas mucosas; Hipersensibilidade; Alergias respiratórias; Dermatites; Doença de Parkinson; Cânceres.
<b>Fungicidas</b>	<b>Ditiocarbamatos</b>	Tremores musculares; Dor de cabeça.	
	<b>Fentalamidas</b>		Teratogêneses.
<b>Herbicidas</b>	<b>Dinitrofenóis e pentaclorofenol</b>	Dificuldade respiratória; Hipertermia; Convulsões.	Cânceres (PCP – formação de dioxinas); Cloroacnes.
	<b>Fenoxiacéticos</b>	Perda do apetite; Enjôo; Vômitos; Fasciculação muscular.	Indução da produção de enzimas hepáticas; Cânceres; Teratogênese.
	<b>Dipiridilos</b>	Sangramento nasal; Fraqueza; Desmaios; Conjuntivites.	Lesões hepáticas; Dermatites de contato; Fibrose pulmonar.

Fonte: WHO, 1990; OPS, 1996

Os efeitos de uma exposição crônica podem aparecer semanas, meses, anos ou até mesmo gerações após o período de contato com os produtos, sendo, portanto, mais difícil de identificar a causa. Em muitos casos podem até ser confundidos com outros distúrbios, ou simplesmente não relacionados ao agente causador (PERES, 2003).

Segundo Peres (2003), os corpos hídricos atuam como transporte destes contaminantes para fora das áreas em que são utilizados. Se uma região agrícola, onde o agrotóxico é usado extensivamente estiver localizada próxima a um recurso hídrico que abastece uma cidade, a qualidade da água consumida está sob risco de contaminação, embora a mesma possa estar localizada distante da região agrícola. Dessa forma não só a população residente próxima à área agrícola estará exposta aos agrotóxicos, mas também toda a população da cidade abastecida pela água contaminada.

## **2.5 Essencialidade e Toxicidade dos Metais**

Segundo Beckett (1991), a toxicidade nas plantas e animais é devido aos metais presentes em seus tecidos após absorção, devendo ser monitorado através das seguintes variáveis: diminuição do crescimento ou redução na colheita, sintomas visíveis como aberrações em células alterando a composição do tecido.

Os metais podem entrar no organismo através de micropartículas presentes no ar, ou pela ingestão de alimentos e água (CAUSSY *et al.*, 2003).

Entende-se por metal essencial aquele que é importante no ciclo de vida completo do organismo, e sua ausência produz características específicas de deficiência (ROCHA, 2009).

Atividades industriais podem gerar grandes quantidades de metais tóxicos, estes são geralmente lançados nos afluentes, resultando em um potencial de contaminação no meio ambiente. As agências reguladoras exigem que o efluente seja tratado para que ocorra a remoção destes metais lançados nos cursos d'água (CONAMA 357/2005).

## 2.5 Parâmetros físico-químicos de água

Considerando a qualidade da água em suas características físicas, espera-se que esta seja transparente, sem cor, odor e sabor, para estar adequada ao consumo humano. Os parâmetros químicos são os mais importantes para se caracterizar a qualidade da água, pois permitem classificá-la por seu conteúdo mineral, determinar o grau de contaminação, caracterizar picos de concentração de poluentes tóxicos, bem como suas possíveis fontes e avaliar o equilíbrio bioquímico que é necessário para a manutenção da vida aquática (MACÊDO, 2001).

### 2.5.1 Turbidez

A turbidez ocorre devido a presença de materiais sólidos em suspensão que reduzem a transparência da água.

pode ser provocada também pela presença de algas, plâncton, matéria orgânica e muitas outras substâncias, como o zinco, ferro, manganês e areia, resultantes do processo natural de erosão ou de despejos domésticos e industriais. [...] É um indicador sanitário e padrão de aceitação da água de consumo humano (PALUDO, 2010, p. 32).

A turbidez caracteriza “o grau de interferência com a passagem da luz através da água, conferindo uma aparência turva à mesma”. A forma do constituinte responsável são os sólidos em suspensão, podendo ser caracterizado também por matéria orgânica presente no recurso hídrico. A unidade de medida da turbidez é o uT (Unidade de Turbidez – unidade de Jackson ou nefelométrica) (VON SPERLING, 1996).

### 2.5.2 Temperatura

É o parâmetro físico responsável pela determinação “da intensidade de calor” (VON SPERLING, 1996). A unidade de temperatura usada no Brasil é o grau Celsius (°C). Segundo o mesmo autor, as “elevações da temperatura aumentam a taxa das reações químicas e biológicas (na faixa usual de temperatura); elevações da temperatura diminuem a solubilidade dos gases (ex: oxigênio dissolvido)” (VON

SPERLING, 1996). Podendo interferir nos organismos aquáticos que são afetados por temperaturas fora de seus limites de tolerância térmica.

### 2.5.3 pH

De acordo com Von Sperling (1996), o potencial hidrogeniônico “representa a concentração de íons hidrogênio  $H^+$  (em escala anti-logarítmica), dando uma indicação sobre a condição de acidez, neutralidade ou alcalinidade da água” em uma faixa de 0 a 14. Sólidos dissolvidos e gases dissolvidos são a forma do constituinte responsável pelo pH. Em se tratando de nascentes e poços, a origem natural do pH ocorre através da dissolução de rochas, absorção de gases da atmosfera, oxidação da matéria orgânica e fotossíntese.

O pH é um parâmetro de suma importância no tratamento da água, ainda de acordo o autor: “Nos laboratórios das estações de tratamento ele é medido e ajustado sempre que necessário para melhorar o processo de coagulação/ floculação da água e também o processo de desinfecção” (PALUDO, 2010, p. 32).

Nas estações de tratamento a correção do pH é efetuada através da adição de produtos químicos para que a água não se torne excessivamente ácida. A acidez possibilita a corrosão de tubulações e equipamentos. No entanto, correntes excessivamente alcalinas podem provocar incrustações. Para ajuste do pH, são utilizados dois produtos distintos, que variam suas utilizações de acordo com as características da água a serem dosadas. Estes são Carbonato de Sódio (Barrilha) e Cal Hidratada (SAAE, 2006).

### 2.5.4 Oxigênio dissolvido

A forma constituinte responsável pelo mesmo é o gás dissolvido. A unidade do oxigênio dissolvido é mg/L. A sua origem natural é por meio da dissolução do oxigênio atmosférico e produção pelos organismos fotossintéticos (VON SPERLING, 1996). Tem-se como valor de referência para o oxigênio dissolvido  $> 6$ , sendo este considerado ideal para o desenvolvimento da fauna aquática.

## 2.6 Genotoxicidade

Os organismos vivos estão constantemente suscetíveis a exposição de substâncias mutagênicas, estas podem causar danos celulares, ocasionando alterações genéticas e até cromossômicas. Os danos podem ser induzidos por agentes químicos, físicos ou biológicos, levando a processos cancerosos e morte celular. Pelo fato de causarem lesões no material genético, essas substâncias são conhecidas como genotóxicas (BAGATINI *et al.*, 2007).

Existe duas grandes categorias de mutação: gênicas e cromossômicas. As mutações gênicas são alterações que ocorrem na sequência de nucleotídeos do DNA do indivíduo e as cromossômicas são possíveis de detectar através de alterações no número ou na estrutura dos cromossomos e através de análises citogenéticas celulares, essas alterações cromossômicas podem ser reparadas pela própria célula, sem tantos danos maiores ao indivíduo (LUCIO NETO, 2011).

Os agentes genotóxicos interagem quimicamente com o material genético, formando adutos, alteração oxidativa ou mesmo quebras na molécula de DNA. Na grande maioria dos casos o dano é reparado pelo próprio organismo ou a célula é eliminada. Caso essa lesão seja fixada, provocando alterações hereditárias (mutações), que podem se perpetuar nas células filhas durante o processo de replicação, o agente é denominado mutagênico (OBE *et al.*, 2004). Embora ocorram mutações espontâneas, a maioria delas é induzida por agentes físicos, químicos ou biológicos, aos quais os seres humanos e outros organismos podem ser expostos (CALVIELLOA *et al.*, 2005).

### 2.6.1 Citotoxicidade

Sabe-se que linhagens celulares quando mantidas em cultura dividem-se e multiplicam-se continuamente. A base dos ensaios de citotoxicidade está exatamente na avaliação da interferência induzida por agentes químicos nos processos metabólicos celulares e na investigação a respeito da maneira em que esses processos podem vir a intervir no crescimento ou multiplicação celular, ou até mesmo culminar na morte celular, reduzindo, assim o número de células viáveis se comparado com culturas controles não-tratadas. Estes ensaios tendem a simplificar os eventos

quantificados, contudo, por serem métodos simples, de baixo custo e reprodutíveis são extensamente empregados em processos de triagem (FRESHNEY, 1994).

### 2.6.1.1 Índice Mitótico

O parâmetro utilizado como indicador de proliferação adequada das células é definido como Índice mitótico, (IM) (BAGATINI *et al.*, 2007) a finalidade é a avaliação da citotoxicidade da amostra. Índices mitóticos com valores menores que aqueles do controle negativo indicam alterações advindas de substâncias químicas no desenvolvimento dos organismos expostos e IM maiores que o controle negativo resultam do aumento na divisão celular, levando a proliferação celular desordenada (LEME *et al.*, 2009).

Define-se o índice mitótico, em porcentagem, dividindo o número de células em mitoses pelo número total de células analisada, multiplicando o valor encontrado por 100. Com o índice mitótico, é possível analisar o potencial de uma determinada substância em inibir ou acelerar a proliferação celular (MACHADO, 2013). Segundo Conceição (2010), “o grau de citotoxicidade pode ser definido pela taxa de diminuição do índice mitótico”.

### 2.6.2 Presença de micronúcleos

O micronúcleo “é um parâmetro eficiente para avaliar o efeito mutagênico promovido por substâncias químicas” (LEME *et al.*, 2009). O teste é considerado “umas das técnicas mais promissoras, baratas e rápidas para avaliação de mutagenicidade” (LANDOLT *et al.*, 1983; HEDDLE *et al.*, 1983), pode “ser usado em qualquer população celular em crescimento, sem a necessidade de conhecer previamente o seu cariótipo” (MASCHIO, 2008). É “um teste simples, servindo para biomonitoramento da qualidade da água” (BURGETOT *et al.*, 1995; VENTURA, 2004).

Os micronúcleos são massas de cromatina com aparência arredondada ou ovalada que está perto do núcleo, resultante da condensação de fragmentos cromossômicos acêntricos ou cromossomos inteiros que atrasaram sua migração para os polos (SCHIMID, 1976; AL-SABTI *et al.*, 1995; VENTURA, 2004).

O micronúcleo pode ser formado espontaneamente, porém, a formação induzida é comumente usada para se encontrar danos genotóxicos e mutagênicos, resultantes de contato a um agente tóxico (HEDDLE *et al.*, 1983).

Segundo Maschio (2008), eventos celulares resultam na formação de micronúcleos levando a fragmentação das características do material genético, como por exemplo, ao ocorrer quebras cromossômicas surgem os fragmentos acêntricos durante o processo de divisão celular ou ainda durante o ciclo celular, ocorre perdas de cromossomos inteiros pois não são incorporados ao núcleo principal, pela inativação do fuso mitótico.

Assim entende-se que o “surgimento de micronúcleos no processo de divisão celular resulta em quebras cromossômicas comprovando a manifestação de distúrbios do processo mitótico” (BAGATINI *et al.*, 2007).

## **2.7 *Allium cepa* como organismo teste**

O método da avaliação de aberração cromossômica em raízes de *Allium cepa* é garantido pelo Programa Internacional de Segurança Química e pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de poluentes ambientais (PASTORI, 2015).

É possível quantificar vários parâmetros morfológicos e citogenéticos, dentre eles a morfologia e o desenvolvimento da raiz, o grau do índice mitótico, a indução de micronúcleos e de metáfases, anáfases e telófases aberrantes (GRANT, 1994; EVSEEVA *et al.*, 2003; EGITO *et al.*, 2007; LEME *et al.*, 2009).

A mutação é uma alteração na estrutura do material genético de um ser vivo, sendo uma fonte extremamente relevante de variabilidade genética nas populações de seres (BURNS; BOTTINO, 1991). Entretanto mesmo a curto prazo, do ponto de vista do ciclo do organismo, alteração genética é quase sempre prejudicial, especialmente em organismos multicelulares, no qual as alterações genéticas tendem a perturbar o desenvolvimento e a fisiologia extremamente complexos (ALBERTS *et al.*, 2002).

A mutação é observada a partir da formação de micronúcleos contendo DNA, é possível localiza-los no citoplasma e se apresentam em células por divisão, originados a partir das quebras cromossômicas, formando fragmentos acêntricos, ou com sequências de cromossomos inteiros que não se prendem ao fuso mitótico e

dessa forma, não chegam aos polos das células durante a mitose ou a meiose (SILVA *et al.*, 2015).

O material que desenvolve mudança metabólica nas células em cultura, que pode ocasionar ou não em morte celular é denominado citotóxico. Culturas de células utilizadas *in vitro* torna-se cada vez comum em controles da qualidade.

Testes *in vitro* vêm ganhando espaço diante dos ensaios *in vivo*, principalmente pelo seu baixo custo, alta reprodutibilidade, facilidade de realização e apresentar resultados rápidos<sup>3</sup>.

Além da sensibilidade na detecção dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos, a espécie *Allium cepa* tem sido indicada como um eficiente organismo-teste, devido às características que possui, podendo ser citados: conhecimento do seu ciclo celular, resposta à inúmeros mutágenos conhecidos, o rápido crescimento de suas raízes, o grande número de células em divisão, a sua alta tolerância às diversas condições de cultivo, a sua disponibilidade, pelo seu fácil manuseio e por possuir cromossomos em número reduzido e de grande tamanho, fator fundamental para estudos de avaliação de danos cromossômicos ou de distúrbios do ciclo de divisão celular, incluindo riscos de aneuploidia (FISKEJÖ, 1985).

De acordo com Kristen (1997) as células meristemáticas de *Allium cepa* constituem um material citogenético eficaz para analisar aberrações cromossômicas causadas pela poluição ambiental, além de todas as vantagens mencionadas acima, o teste tem mostrado alta sensibilidade e boa correlação quando comparado com outros sistemas-teste, principalmente com os de mamíferos.

Segundo Ferreira *et al.* (2012), resultados do teste com *Allium cepa* podem indicar a presença de agente tóxicos, citotóxicos e mutagênicos no ambiente, e que colocam em risco a sobrevivência dos organismos.

A análise de germinação e crescimento radicular de testes em vegetais pode ser utilizada na avaliação de toxicidade, como testes iniciais a fim de obtenção de dados iniciais para realização de pesquisas mais profundas (LOPEZ *et al.* 2008) ou ser usado como teste base da pesquisa de impacto ambiental (CHARLES *et al.*, 2011).

Segundo Fernandes (2005) vegetais superiores são sistemas genéticos muito utilizados para a indicação de contaminação ambiental, pois possuem sensibilidade a interferências externas e ambientes desfavoráveis, o crescimento radicular é

---

<sup>3</sup> <http://bcrj.org.br/servicos/testes-de-citotoxicidade/>

diminuído e a taxa de germinação afetada quando o organismo teste é exposto a agentes contaminantes.



### **3 METODOLOGIA E PROCEDIMENTOS TÉCNICOS DA PESQUISA**

O presente estudo caracteriza-se pela natureza quantitativa, ou seja, os resultados obtidos através das análises toxicológicas foram quantificados para posteriormente serem mensurados através de análises estatísticas a fim de avaliar o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do recurso hídrico em questão, enquanto os resultados obtidos nas análises dos parâmetros físico-químicos foram comparados com a resolução vigente.

#### **3.1 Classificação quanto aos fins**

A pesquisa teve como finalidade testar a hipótese de contaminação da água analisada de forma pontual. Para esta verificação foi necessário coletar dados, interpretar e identificar possíveis causas para o resultado obtido, neste contexto o presente estudo é caracterizado pelo nível explicativo.

Segundo Vergara (2007), a pesquisa explicativa tem como principal finalidade tornar os dados obtidos em escrita de fácil compreensão, explicando os seus principais motivos.

#### **3.2 Classificação quanto aos meios**

Segundo Vergara (2007), a pesquisa é classificada como experimental quando há investigação empírica na qual o pesquisador manipula e controla variáveis independentes e observa os resultados destas manipulações. Quanto aos meios a pesquisa é classificada como experimental partindo de um fenômeno delimitado a priori, sobre o qual foi formulada as hipóteses susceptíveis de verificação, estabelecendo os métodos de verificação a serem utilizados, através dos quais tentou-se controlar as condições dos experimentos com intuito de não inferir sobre a qualidade da água analisada.

### 3.3 Tratamento de dados

#### 3.3.1 Área de estudo

A área de estudo é a barragem de abastecimento da cidade de Teófilo Otoni, município pertencente a Mesorregião do Vale do Mucuri no interior do estado de Minas Gerais.

O empreendimento foi implantado para funcionar como um reservatório que armazena a água da chuva, podendo evitar que o rio transborde e para abastecer a cidade de Teófilo Otoni. A barragem tem 196 metros de comprimento, 33 metros de altura e capacidade de armazenamento de 12 bilhões de litros d'água<sup>4</sup>.

Os estudos de reservatórios são de grande importância, tendo em vista a ampla distribuição desse tipo de ambiente e os seus usos múltiplos, a relevância dos estudos aumenta significativamente quando se trata de abastecimento público (LANDA, 1998).

O rio Todos os Santos (Figura 1), tem aproximadamente 172 Km de sua nascente até desaguar no rio Mucuri, percorrendo os municípios de Poté, Teófilo Otoni e Carlos Chagas. A vazão média de suas águas é de 700 L/s, reduzindo nos períodos de estiagem. Desta vazão, a concessionária responsável, através de pontos de captação absorve acima de 260 L/s para abastecer a cidade de Teófilo Otoni (FIGUEIREDO, 2014).

A barragem é a fonte de abastecimento para a cidade, fornecendo água para cerca de 130.000 pessoas, com a previsão de oferta hídrica para os próximos 50 anos mesmo nos períodos de estiagem mais severos<sup>3</sup>.

---

<sup>4</sup> <http://www.iof.mg.gov.br/index.php?/geral/geral/Barragem-evita-enchentes-em-Teofilo-Otoni.html>



FIGURA 2 - Área entorno da barragem Aécio Ferreira Cunha



Fonte: Acervo próprio

Os parâmetros Oxigênio dissolvido e temperatura foram aferidos no local de coleta, para a análise de pH e turbidez foram utilizados frascos Falcon® com capacidade de cinquenta mL. Na coleta, foi mergulhado um frasco no corpo d'água a ser coletado, e depois de cheio foi identificado com uma etiqueta contendo os dados do ponto em questão. Na coleta para o teste de *Allium cepa*, foram utilizados dois tubos Falcon® livres de metais (Metal free), com capacidade de 50 mL. Antes da coleta, cada tubo foi identificado e depois de coletada as amostras de água foram fechados e lacrados com fita PARAFILM, a fim de evitar vazamentos, evaporação ou contaminação das amostras.

### 3.3.3 Parâmetros físico-químicos

Sabendo das classificações e tipos de tratamento, o corpo hídrico em estudo pode ser classificado como classe II, destinada ao abastecimento para consumo humano, com tratamento convencional, pois a cidade de Teófilo Otoni possui uma estação de tratamento de água (ETA), atendendo ao município. Os valores de referência utilizados para comparação estão de acordo com a resolução 357/2005, águas doces, classe II.

### 3.3.3.1 Turbidez

Foi utilizado o turbidímetro Hanna®, modelo HI98703 Fast Tracker para as análises de turbidez das amostras coletadas. Os resultados foram expressos em unidades nefelométricas de turbidez (UNT), previamente, o turbidímetro foi calibrado com seus padrões de calibração de 0,10; 15; 100 e 750 UNT.

### 3.3.3.2 Temperatura e Oxigênio dissolvido

A temperatura e o oxigênio dissolvido foram determinados diretamente no local da coleta, mergulhando o sensor de um oxímetro da marca Lutron®, modelo DO-5519, sendo este calibrado antes do uso.

### 3.3.3.3 pH

O pH das amostras foi aferido com o uso de um peagâmetro Digimed®, modelo DM-22. A determinação foi realizada nas amostras e o peagâmetro foi previamente calibrado com suas duas soluções padrões de calibração, com pH iguais a 4,01 e 6,86.

### 3.3.4 *Allium cepa*

Para avaliação da citotoxicidade, as raízes foram medidas com um paquímetro digital, a fim de calcular a média do crescimento das raízes.

O teste que utiliza o biomonitor *Allium cepa*, foi adaptado de Fiskejö (1985).

Para o teste *Allium cepa*, utilizaram-se vários materiais e a preparação dos mesmos foi feita de maneira minuciosa, a fim de se evitar a contaminação com possíveis agentes mutagênicos e/ou microrganismos que porventura pudessem interferir nas análises e influenciar nos resultados obtidos. Inicialmente, houve a descontaminação em solução de ácido nítrico, na qual, placas de Petri de 15 cm de diâmetro, utilizadas para a germinação das raízes, ficaram submersas por 48 horas.

Após isso, filtros de papel com 12,50 cm de diâmetro foram colocados dentro das placas, estas, depois de embaladas, em papel kraft, lacradas com fita crepe de identificação para esterilização, foram levadas a autoclave vertical Phoenix, modelo

AV-30, para esterilização. Juntamente com as placas, foram auto clavados a água ultra-pura, usada para o controle negativo no teste, ponteiras, utilizadas na pipeta, para cada um dos pontos e controles, e duas pinças para espalhar as sementes nas placas.

No controle positivo, utilizou-se uma solução de Sulfato de Cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) com uma concentração de  $06 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ . A semeadura foi feita dentro de uma cabine de segurança biológica Thermo Scientific, modelo 1300 Series A2, previamente limpa com álcool 70% e deixada à exposição de luz ultravioleta por um período de 15 minutos.

Colocou-se na capela para desinfecção por UV, um pipetador Thermo Scientific, modelo S1 Pipet Filler, um Becker para auxílio das pipetas de 5mL que foram utilizadas na pipetagem das águas e controles, e outro Becker utilizado para descarte. As sementes de *Allium cepa* utilizadas no teste foram da marca Isla sem a presença de agrotóxicos e com germinação de 84%. Passados 15 minutos, iniciou-se o procedimento, e para diminuir possíveis contaminações foi utilizada a chama para flambar as pinças utilizadas e na abertura das amostras, e foi adicionado um volume de 4 mL de amostra em cada placa. Logo após, espalhou-se sobre o filtro as sementes de cebola. Este primeiro procedimento foi repetido para os controles. Feitas todas as semeaduras, limpou-se a capela com álcool 70% novamente, deixando-a por mais 15 minutos para desinfecção por UV.

Após a retirada das placas com as sementes, foram passadas fitas PARAFILM no entorno de cada placa, para evitar a evaporação da água e, conseqüentemente, o não crescimento das raízes nas sementes. As placas ficaram na germinadora, sob luz artificial, durante um período de cinco dias corridos, para a germinação das sementes. Depois deste tempo, as raízes que germinaram das sementes foram cortadas, medidas e colocadas em tubos eppendorf, com respectiva identificação, contendo 1 mL de fixador Carnoy (ácido acético e álcool, proporção de 3:1) e deixadas em geladeira comum por 24 horas. Decorrido esse tempo, com uma pipeta de Pasteur, retirou-se toda a solução e colocou-se de molho em 1 mL de álcool 70% por mais 24 horas.

Após algum tempo, retirou-se o álcool e colocou outro por mais 24 horas. Depois disso retirou-se o álcool e as raízes foram lavadas com água destilada por três vezes. Após a lavagem das raízes, deixaram-nas de molho em Ácido Clorídrico 1

molar (HCl 1M) para remoção da parede celular por 9 minutos e, simultaneamente, num banho-maria à 60°C.

Para a coloração das raízes, tubos do tipo eppendorf foram identificados e revestidos com papel alumínio para não ocorrer entrada de luz nos mesmos. Em seguida, as raízes foram transferidas para os novos tubos, e neles foi adicionado o reagente Schiff (corante), onde permaneceram por duas horas. Decorrido o tempo, as raízes foram transferidas para uma placa de Petri, onde, com o auxílio de um bisturi, separou-se das raízes a sua ponta mais corada (coifa), colocando-as nas lâminas. Posteriormente, adicionou-se às coifas Carmim Acético 2% por 9 minutos para contrapor as raízes.

Após a fixação da cor, fez-se o corte do meristema das coifas, para fixar a lamínula usou-se o Entelan. Com o auxílio da lamínula fez-se o maceramento das coifas nas lâminas, que depois de prontas foram identificadas. Terminada a identificação das lâminas, as mesmas foram analisadas em microscópios Bel Photonics, com aumento final de 1000x sob imersão, para verificar a qualidade do corte da coifa e das células analisadas, definindo-se, então, se a lâmina seria utilizada ou descartada.

As lâminas de boa qualidade passaram por uma leitura microscópica minuciosa, observando 500 células por lâmina (sendo 10 lâminas por amostra, totalizando 5000 células por amostra), identificando e registrando a quantidade de células em divisão mitótica e verificando a presença de aberrações cromossômicas e micronúcleos.

### 3.3.5 Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade

Para avaliação da citotoxicidade foi analisado o tamanho das raízes e a quantidade de células em divisão (ALVIM *et al.*, 2011; CORRÊA, 2016).

A partir do tamanho das raízes é calculado o crescimento médio das raízes (CMR), que é utilizado para o Cálculo da Taxa de Inibição (CTI). Conforme fórmula (1) abaixo:

$$CTI = \frac{CMR (C -) - CMR (Amostra)}{CMR (C-)} * 100 \quad (1)$$

Onde,

CTI = Cálculo da taxa de inibição;

CMR = Crescimento médio das raízes;

C- = Controle negativo;

C+ = Controle positivo.

A partir da quantidade de células em divisão é obtido o índice mitótico (IM) que é calculado, em porcentagem, dividindo o número de células em mitose pelo número total de células analisadas, esse cálculo apresentará o percentual de divisão celular (ALVIM *et al.*, 2011; KRETTLI *et al.*, 2016). Conforme fórmula (2) abaixo:

$$IM = \frac{NCM}{NTC} * 100 \quad (2)$$

Onde,

IM = Índice mitótico;

NCM = Número de células em mitose;

NTC = Número total de células analisadas.

A avaliação da genotoxicidade foi realizada a partir da observação das alterações cromossômicas presentes em células que se encontravam em divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase). A fim de avaliar a atividade mutagênica foi realizado a contagem do número de micronúcleos (MN) em Intérfase.

As análises de genotoxicidade e mutagenicidade foram realizadas com auxílio do programa estatístico GraphPad Prism versão 7 (versão estudante), através do teste não paramétrico Mann-Whitney com nível de significância menor ou igual a 0,05.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Parâmetros físico-químicos

Neste estudo as análises dos parâmetros físico-químicos foram realizadas para verificação da qualidade da água no ponto selecionado na barragem Aécio Ferreira Cunha. Na Tabela 1 estão apresentados os valores de pH, turbidez, oxigênio dissolvido e temperatura, obtidos a partir de uma coleta, realizada no dia 04 de outubro de 2017 às 7:00 da manhã.

TABELA 01 - Valores obtidos pelas análises dos parâmetros físico-químicos

Parâmetros	Valores obtidos	Valores de referência para Águas doces de Classe II *
pH	7,08	6 a 9
Turbidez	11,6	Até 100 UNT
Oxigênio Dissolvido	7,1	> 5 mg/L
Temperatura	25,3	22 a 26 °C

\*Águas que podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional (Resolução CONAMA 357/05).

Fonte: Dados da própria pesquisa

As análises foram realizadas e comparadas com os valores de referências definidos pela resolução 357/2005 do CONAMA que é o órgão responsável pelas condições e padrões de qualidade das águas.

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas mostraram-se satisfatórios, pois estão de acordo os valores estabelecidos pela resolução vigente, o que comprova qualidade da água referente a estes parâmetros analisados.

## 4.2 Citotoxicidade

### 4.2.1 Crescimento médio das raízes

A citotoxicidade é a propriedade nociva de uma substância em relação às células, neste sentido esta análise teve intuito de identificar se existe a presença de agentes contaminantes.

A Tabela 2 apresenta a citotoxicidade através dos resultados do tamanho médio das raízes, realizando o cálculo da taxa de inibição.

TABELA 2 - Crescimento médio das raízes

Amostras	Médias obtidas
Controle Positivo *	3,41
Controle Negativo **	10,24
Barragem Aécio Ferreira Cunha	10,16

\* Sulfato de cobre

\*\* Água destilada

Fonte: Dados da própria pesquisa

CTI (barragem) = 0,78% <sup>6</sup>

CTI (C+) = 66,7% <sup>6</sup>

Como esperado, o controle positivo mostrou-se eficiente em relação a taxa de inibição de crescimento e inibição de germinação, apresentando assim alto percentual de inibição em relação ao controle negativo, O controle negativo por sua vez, apresentou a maior média de crescimento, por não possuir natureza contaminante.

De acordo o resultado obtido através do cálculo da taxa de inibição, a água da barragem apresenta um pequeno percentual em relação ao controle negativo, sendo assim, entende-se que a amostra não apresentou citotoxicidade através da análise realizada pelo crescimento das raízes.

<sup>6</sup> Calculado através da fórmula (1)

#### 4.2.2 Índice Mitótico

A partir da exposição de células meristemáticas de *Allium cepa* às amostras da água coletada, no período de outubro de 2017, no Rio Todos os Santos, na barragem Aécio Ferreira Cunha, em Teófilo Otoni, observou-se processos de divisão celular na fase mitótica, conforme Figura 3.

FIGURA 3 – Microfotografia das fases de Mitose em células meristemáticas de *Allium cepa*, encontradas em amostra de água da barragem Aécio Ferreira Cunha



Legenda: A) Metáfase; B) Anáfase; C) Prófase; D) Telófase. Aumento 1000X  
Fonte: Acervo próprio

A Tabela 3 apresenta a citotoxicidade através dos resultados do Índice Mitótico, e respectivo desvio padrão, para cada amostra.

TABELA 3 - Valores obtidos no bioensaio *Alium cepa* para avaliação da citotoxicidade em amostra de água através do índice mitótico

Amostras	Nº total de células analisadas	Nº total em intérfase	Nº total em mitose	Índice Mitótico(%)* e desvio padrão
Controle Negativo**	5000	4881	119	2,38 ± 1,45
Controle Positivo***	5000	4979	21	0,42 ± 4,22 <sup>a</sup>
Barragem Aécio Ferreira Cunha	5000	4751	139	2,78 ± 5,85

\*Calculado através da fórmula (2)

\*\*Água destilada

\*\*\* Sulfato de cobre

<sup>a</sup> Diferença significativa em relação ao controle negativo (p<0,05)

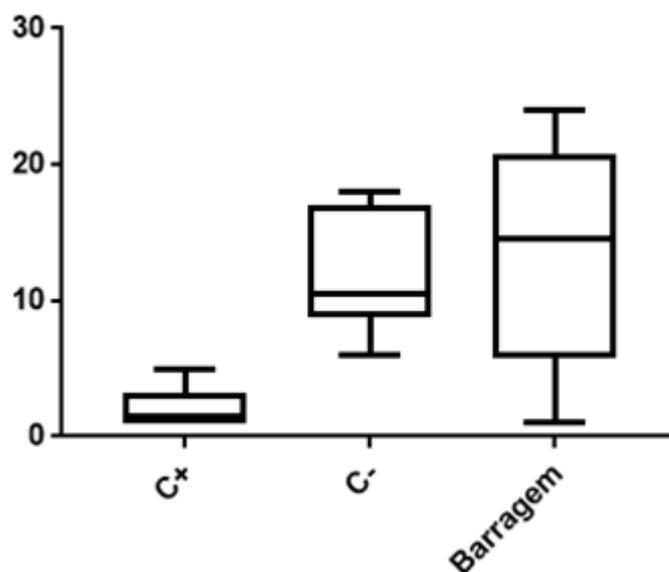
Fonte: Dados da própria pesquisa

A partir dos resultados encontrados através do cálculo do índice mitótico foi possível verificar que apenas o controle positivo apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle negativo, considerando o nível de significância de 0,05. Diante disso, é possível afirmar que a amostra de água coletada, na barragem Aécio Ferreira Cunha em Teófilo Otoni, no período de outubro de 2017 não apresentou potencial citotóxico. Diante do estudo realizado por Alvin *et al.*, (2011), onde é relatado que mudanças nas condições ambientais, principalmente em decorrência da poluição podem acarretar citotoxicidade em plantas, esta realidade não foi observada no presente estudo.

Para melhor visualização dos dados apresentados na tabela, segue gráfico 1.

O gráfico não apresenta outliers, sendo assim todos os dados foram utilizados para o cálculo dos resultados da média e desvio padrão.

GRÁFICO 1 - Células em mitose apresentadas nas lâminas analisadas



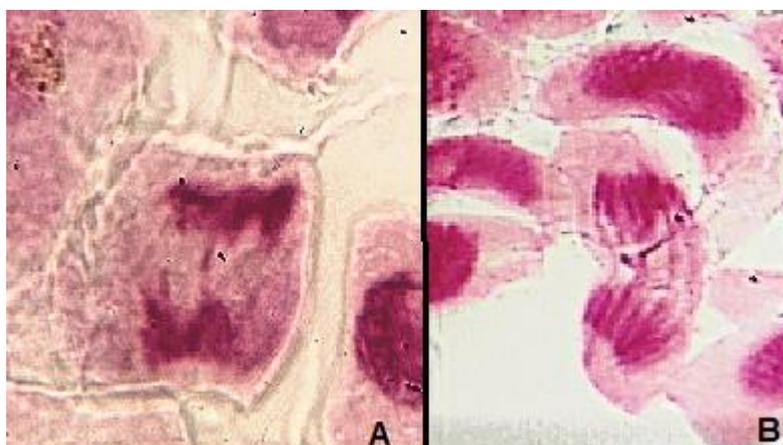
Fonte: Dados da própria pesquisa

### 4.3 Genotoxicidade

A genotoxicidade foi verificada através da quantidade e da diversidade de alterações cromossômicas (AC) nas fases da mitose. As alterações encontradas no presente estudo foram: pontes e atrasos. Na Figura 4 são apresentadas essas alterações.

FIGURA 4 – Microfotografia de alterações cromossômicas em células meristemáticas de *Allium cepa*, encontradas em amostra de água da barragem

Aécio Ferreira Cunha



Legenda: A) Anáfase com ponte; B) Anáfase com atraso. Aumento 1000X

Fonte: Acervo próprio

Os resultados referentes as alterações cromossômicas, podem ser observados na tabela 4.

TABELA 4 - Valores obtidos no teste de *Alium cepa* para avaliação da genotoxicidade em amostra de água na barragem Aécio Ferreira Cunha

Amostras	Nº total de células analisadas	Ponte	Atraso	$\mu$ das AC** e desvio padrão
Controle Positivo*	5000	2		0,2 $\pm$ 0,42
Barragem Aécio Ferreira Cunha	5000	3	1	0,4 $\pm$ 0,52

\*Sulfato de cobre

\*\* Média obtida através das alterações cromossômicas

Fonte: Dados da própria pesquisa

O controle negativo não foi demonstrado na tabela, pois não apresentou alterações cromossômicas, conforme esperado.

A partir do teste não paramétrico de Mann-Whitney foi possível identificar que a água da barragem Aécio Ferreira Cunha não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle negativo ( $p < 0,05$ ), portanto não possui potencial genotóxico.

#### 4.4 Mutagenicidade

A mutagenicidade foi avaliada através da observação de anormalidades nucleares, que são caracterizadas por alterações morfológicas nos núcleos interfásicos, conforme figura 5 (LEME *et al.* 2009).

FIGURA 5 – Microfotografia de micronúcleo em Intérfase em células meristemáticas de *Allium cepa*



Fonte: Acervo próprio

TABELA 5 - Valores obtidos no teste de *Allium cepa* para avaliação da mutagenicidade através da formação de MN em amostra de água da barragem Aécio Ferreira Cunha

Amostras	Nº total de células analisadas	Nº de MN	$\mu$ MN em intérfase* e desvio padrão
Controle Positivo**	5000	55	5,5 $\pm$ 4,2
Barragem Aécio Ferreira Cunha	5000	9	0,9 $\pm$ 1,37

\* Média obtida através da presença de Micronúcleos

\*\* Sulfato de cobre

Fonte: Dados da própria pesquisa

Os dados do controle negativo não constam na tabela 5, pois não foram observadas células micronucleadas.

A análise do potencial mutagênico foi feita através do teste não paramétrico Mann-Whitney. Os controles foram comparados entre si e comparados com a amostra, o valor de significância adotado foi  $p < 0,05$ .

A água da barragem apresentou comportamento semelhante ao controle negativo, o valor encontrado na análise estatística realizada pelo programa GraphPad Prism foi  $p = 0,0867$  quando comparados o controle negativo e a água da barragem,

dessa forma pode-se afirmar que o recurso hídrico em estudo não apresentou potencial mutagênico.

## 5 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia estabelecida e os resultados encontrados, conclui-se que, em relação a qualidade da água na barragem Aécio Ferreira Cunha no município de Teófilo Otoni/MG, foi observado que os resultados dos parâmetros físico-químicos, quando comparados com os estabelecidos pela resolução CONAMA 357/2005 para rios de água doce de classe II, não apresentaram alterações, se encontrando dentro dos limites estabelecidos pela resolução, ou seja, apresenta qualidade satisfatória em relação à turbidez, temperatura, oxigênio dissolvido e pH.

A amostra submetida ao bioensaio *Allium cepa* não apresentou potencial citotóxico, genotóxico, tampouco observou-se potencial mutagênico.

É importante salientar que os dados apresentados no presente estudo se tratam de uma análise pontual, realizada através de coleta em um único local, sendo assim, não é possível afirmar que esses resultados serão constantes. Acredita-se que novos estudos devem ser realizados com o objetivo de monitorar a área em questão.



## REFERÊNCIAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. *NBR 10004: Classificação de Resíduos Sólidos*, 2004.

ALBERTS, B. *et al.* *Fundamentos da Biologia Celular*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 864p.

ALVIN, L. B. *et al.* Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa*. *Ambiente e Água*, Taubaté, v. 6, n.2, p. 255-265, outubro de 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.198>. Acesso em: 7 de novembro de 2017.

AL-SABTI, K. *et al.* Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 343, p. 121-135, junho de 1995. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0165121895900780?via%3Dihub>. Acesso em: 20 de outubro de 2017.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos: relatório anual 04/06/2001-30/06/2002. Brasília, 2002.

BAGATINI, D. M. *et al.* Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.17, n.3, p. 444-447, setembro de 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v17n3/18.pdf> Acesso em: 14 de outubro de 2017.

BECKETT, P. H. T. Critical tissue concentrations as indicators of toxicity. *Suelos Ecuatoriales*, Bogotá, v. 21, p. 39-44, 1991.

BRASIL. Panorama da qualidade das águas superficiais do Brasil: 2012/ Agência Nacional de Águas - Brasília: ANA, 2012.

\_\_\_\_\_. AGROFIT Base de dados de produtos agrotóxicos e fitossanitários. Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária/Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1998.

\_\_\_\_\_. AGENDA 21. Proteção da qualidade e do abastecimento dos recursos hídricos: aplicação de critérios integrados no desenvolvimento, manejo e uso dos recursos hídricos. Suplemento das Águas, 1996. p.14-33.

\_\_\_\_\_. CONAMA. Resolução 357, 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasil, 18 de março de 2005.

\_\_\_\_\_. Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos / Companhia Ambiental do Estado de São Paulo; Organizadores: Carlos Jesus Brandão et al. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2011.

BURGEOT, T. *et al.* The micronucleus assay in *Crassostrea gigas* for the detection of seawater genotoxicity. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 345, p. 125-140, dezembro. 1994. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0165121895900225?via%3Dihub> Acesso em: 15 de outubro de 2017.

BURNS, G. W.; BOTTINO, P. J. *Genética*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1991. 381p.

CALVIELLO A. G. *et al.* DNA Damage and Apoptosis Induction by the Pesticide Mancozeb in Rat Cells: Involvement of the Oxidative Mechanism. *Toxicology and Applied Pharmacology*, Roma, v. 211, n. 2, p. 87-96, março de 2006. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X05003649>. Acesso em: 19 de setembro de 2017.

CAUSSY, D. *et al.* Lessons from case studies of metals: Investigating exposure bioavailability and risk. *Ecotoxicol Environmental Safety*, Nova York, v.56, p.32-44 agosto de 2003. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651303000496>. Acesso em: 17 de outubro de 2017.

CHARLES, J. *et al.* Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Nova York, v.74 p. 2057-2064, agosto de 2011. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651311002120?via%3Dihub>. Acesso em: 15 de setembro de 2017.

CONCEIÇÃO, T. S. *Efeito antiproliferativo, mutagênico e antineoplásico de produtos comerciais da erva mate (Ilexparaguariensis)*. 2010. 72p. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste, Universidade Federal de Mato grosso do Sul, Campo Grande, 2010. Disponível em:

[https://www.google.com.br/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://sistemas.ufms.br/sigpos/portal/trabalhos/download/155/cursold:89&ved=0ahUKEwiD7O\\_rMPXAhWBg5AKHcTMDm0QFggfMAA&usg=AOvVaw3WEmStV55\\_FBxNGOLVRK0](https://www.google.com.br/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://sistemas.ufms.br/sigpos/portal/trabalhos/download/155/cursold:89&ved=0ahUKEwiD7O_rMPXAhWBg5AKHcTMDm0QFggfMAA&usg=AOvVaw3WEmStV55_FBxNGOLVRK0). Acesso em: 27 de agosto de 2017.

CORRÊA, L. R. S. *Diagnóstico da qualidade da água na bacia hidrográfica do Rio Mucuri*. 2016. 105 p. Dissertação (Mestrado Programa de Pós-Graduação em Tecnologia, Ambiente e Sociedade). Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Teófilo Otoni, 2016.

EGITO, L. C. M. *et al.* Potencial citotóxico e genotóxico das águas superficiais do rio Pitimbu, nordeste / RN Brasil. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 30, n. 2, p. 435-441, março de 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S141547572007000300023](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141547572007000300023). Acesso em: 03 de outubro de 2017.

EVSEEVA, T. I. *et al.* Genotoxicity and toxicity assay of water sampled from a radium production industry storage cell territory by means of Alliumtest. *Journal of Environmental Radioactivity*, Oxford, v. 68, p. 235-248, abril de 2003.

FERNANDES, T. C. C. *Investigação dos efeitos tóxicos, mutagênicos e genotóxicos do herbicida trifluralina, utilizando Allium Cepa e Oreochromis Niloticus como sistemas-testes*. 2005, 198p. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2005.

Disponível em:

<https://www.google.com.br/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://repositorio.unesp.br/handle/11449/87698&ved=0ahUKEwirvNKKu8PXAhWFTJAKHUeqB34QFgggtMAI&usg=AOvVaw2fQOJ1-yJTOvlykpTm8Jlw>. Acesso em: 12 de agosto de 2017.

FERREIRA, C. F. *et al.* Avaliação da citotoxicidade das águas dos ribeirões Varginha (Califórnia-PR) e Tabatinga (Mandaguari-PR), em Allium cepa L. *Saúde e Biologia*, v.7, n. 2, p. 46-54, agosto de 2012. Disponível em:

<<http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios2/article/view/1121>> Acesso em: 10 de outubro de 2017.

FIGUEIREDO, M. S. F. *Implicações do novo código florestal brasileiro sobre a conservação da microbacia do rio de todos os santos*. 2014. 136p. Dissertação (PósGraduação stricto sensu em Gestão Integrada do Território). Universidade Vale do Rio Doce, Governador Valadares, 2014. Disponível em:

[http://univale.br/cursos%5Ctipos%5Cpos-graduacao\\_strictu\\_sem\\_su%5CDissertacoes-GIT-APPG-2015%5CDisserta%C3%A7%C3%A3o%20%20Marcio%20Schubert%20Ferreira%20Figueiredo%20%202014.pdf](http://univale.br/cursos%5Ctipos%5Cpos-graduacao_strictu_sem_su%5CDissertacoes-GIT-APPG-2015%5CDisserta%C3%A7%C3%A3o%20%20Marcio%20Schubert%20Ferreira%20Figueiredo%20%202014.pdf). Acesso em: 05 de maio de 2017.

FISKEJÖ, G. The Allium test as a standart in environmental monitoring. *Hereditas Lund*, v.102, p.99-112, 1985.

FRESHNEY, R.I. *Cultureof Animal Cells: A Manual of Basic Technic*. 3 thedition. New Yok: Wiley-Liss. 1994.

FROTA, J. A. D. *et al.* Projeções da nova ordem mundial sobre a Amazônia Brasileira. *Revista Suffragium*, Fortaleza. v. 1. n. 246. Agosto de 2000. Disponível em: <http://congressos.ifal.edu.br/index.php/connepi/CONNEDI2010/paper/view/1779/1039> Acesso em: 27 de agosto de 2017.

FUNDACENTRO. Prevenção de acidentes no trabalho com agrotóxicos: segurança e saúde no trabalho, n. 3. São Paulo: Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho, Ministério do Trabalho, 1998.

GRANT, W. The present status of higher plants bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 310, n. 2, p. 175-85, outubro de 1994. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0027510794901120>. Acesso em: 4 de novembro de 2017.

HEDDLE, J. A. *et al.* The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity: a measure of the US environmental protection agency gene-tox program. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 123, n. 1, p. 61-118, 1983.

IGAM, 2008. Disponível em: <<http://comites.igam.mg.gov.br/comites-estaduais/47mu1-rio-mucuri>> Acesso em: 14 de junho de 2017.

ILO - International Labour Organization. Warning to agricultural workers: mortality rates remain high, and pesticides pose an increasing health risk. *World of Work*, 22 de dezembro de 1997.

JEYARATNAM, J. Acute pesticide poisoning: a major global health problem. *World Health Status Quaterly*, Genève, v. 43, p. 139-144, 1990. Disponível em: [https://www.google.com.br/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/51746/1/WHSQ\\_1990\\_43\\_n3\\_p139-144\\_eng.pdf&ved=0ahUKEwj147Ok8PXAhVGHZAKHXCuAwUQFggpMAE&usg=AOvVaw3ZcHhdA2JoGtevJyp\\_jUh2](https://www.google.com.br/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/51746/1/WHSQ_1990_43_n3_p139-144_eng.pdf&ved=0ahUKEwj147Ok8PXAhVGHZAKHXCuAwUQFggpMAE&usg=AOvVaw3ZcHhdA2JoGtevJyp_jUh2). Acesso em: 18 de setembro de 2017.

KRETTLI, C.W.D.M. *et al.* *Monitoramento da qualidade da água de minas e poço raso em comunidade rural do município de Carlos Chagas/MG através de parâmetros físico-químicos e toxicológicos*. 2016.65 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Hídrica) – Instituto de Ciência, Engenharia e

Tecnologia, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Teófilo Otoni, 2016.

KRISTEN, U. Use of higher plants as screens for toxicity assessment. *Toxicology in vitro*, United Kingdom, v. 11, p. 181-191, abril de 1997. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233397000052>. Acesso em: 10 de outubro de 2017.

LANDA, G. G. Contribuição ao estudo da comunidade zooplanctônica em uma área sob influência na bacia do Rio Jequitinhonha. *Cadernos De Departamento De Ciências Biológicas Da PUC Minas*, Belo Horizonte, v. 5, n.5, p. 69-80, dezembro de 1998.

LANDOLT, M. L. *et al.* Fish cell cytogenetics: a measure of the genotoxic effects of environmental pollutants. *Aquatic Toxicology*, New York, v. 4, p. 336-353, 1983.

LEME, D. M. *et al.* Allium cepa test In environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 682, p. 71-81, 2009. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574209000404>. Acesso em: 22 de setembro de 2017.

LOPEZ, G. D. *et al.* Germination of Lactuca sativa seeds as pre-screening in toxicology studies in higher plants. *Toxicology Letters*, v.180, p.32–46, 2008.

LOURENCETTI, C. *et al.* Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: Avaliação preliminar. *Química Nova*, São Paulo, vol. 30, n. 3, junho de 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010040422007000300031](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010040422007000300031). Acesso em: 30 de junho de 2017.

LÚCIO NETO, M. P., *Avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica do composto 3-(2-cloro-6-fluorobenzil) – imidazolidina-2,4-diona em células eucarióticas*. 2011. 128p. Dissertação (Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011. Disponível em: [https://www.google.com.br/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://www4.fsnet.com.br/revista/index.php/saudeemfoco/article/view/694&ved=0ahUKEwiOpMban8PXAhWLgpAKHc88CUIQFggiMAE&usg=AOvVaw33WIA0\\_1qR45YSN8\\_W8Xkz](https://www.google.com.br/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://www4.fsnet.com.br/revista/index.php/saudeemfoco/article/view/694&ved=0ahUKEwiOpMban8PXAhWLgpAKHc88CUIQFggiMAE&usg=AOvVaw33WIA0_1qR45YSN8_W8Xkz). Acesso em: 26 de maio de 2017.

MACHADO, A. T. *Avaliação do potencial mutagênico do efluente do terminal petroquímico almirante soares (Osório-RS-Brasil) através do sistema teste de Allium cepa*. 2013. 45 f. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Imbé, 2013. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/80497>. Acesso em: 19 de agosto de 2017.

MACÊDO, J. A. B. *Águas e Águas: Métodos laboratoriais de análise físico-químicas e microbiológicas*. São Paulo: Varela, 2001. 302 p. Disponível em: [https://books.google.com.br/books/about/%C3%81guas\\_%C3%A1guas.html?id=eedGAAAACAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.br/books/about/%C3%81guas_%C3%A1guas.html?id=eedGAAAACAAJ&redir_esc=y). Acesso em: 18 de agosto de 2017.

MASCHIO, L. R. *Avaliação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico das águas do rio preto na área de influência da região de São José do Rio Preto/SP*. 2008. 193p. Tese (Doutorado em Genética) Universidade Estadual Paulista, São José, 2008. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/102733>. Acesso em: 24 de setembro de 2017.

OBE, G. *et al.* Chromosomal Aberrations: Formation, Identification and Distribution. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 504, n.5, p. 17-36, julho de 2002. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0027510702000763>. Acesso em: 17 de agosto de 2017.

OPS - Organização Pan-americana da Saúde. Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Brasília: Organização Pan-americana da Saúde/OMS, 1996.

PALUDO, D. *Qualidade da água nos poços artesianos do Município de Santa Catarina do Sul*. 2010, 75p. Monografia (Bacharel em Química Industrial), Centro Universitário Univates, Lajeado, 2010. Disponível em: <https://www.google.com.br/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://www.univates.br/bdu/bitstream/10737/458/3/DiegoPaludo.pdf&ved=0ahUKEwj-an-OAnsPXAhUKC5AKHXFKDoMQFgguMAA&usq=AOvVaw1-GJkK0VkBgOL9pDUYPEtL>. Acesso em: 19 de abril de 2017.

PASTORI, T. *et al.* Ação genotóxica e antiproliferativa de *Polygonum punctatum* Elliott (Polygonaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v. 17, n. 2, p. 186-194, junho de 2015. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-05722015000200186](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722015000200186). Acesso em: 17 de outubro de 2017.

PERES, F. *et al.* *É veneno ou é remédio? : Agrotóxicos, saúde e ambiente*. 20. ed. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2003. p. 384. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/sg3mt>. Acesso em: 27 de setembro de 2017.

PORTO, R.L.L. *et al.* *Hidrologia Ambiental*, 3. ed. São Paulo: EDUSP, 1991. 414 p.

ROCHA, A. F. Cádmio, Chumbo, Mercúrio: *A problemática destes metais pesados na Saúde Pública?*. 2009. 48p. Monografia (Curso de Ciências da Nutrição) Universidade do Porto, Porto, 2009. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10216/54676>. Acesso em: 28 de julho de 2017.

SAAE. Sistemas de Tratamento de Água, 2006. Disponível em: < [http://www.saaeara.com.br/arquivos/outros/ Tratamento\\_de\\_Agua.pdf](http://www.saaeara.com.br/arquivos/outros/Tratamento_de_Agua.pdf) >. Acesso em: 10 de junho de 2017.

SCHMID, W. *The micronucleus test for cytogenetics analysis: principles and methods for their detection*. 2 ed. New York: Plenum Press, 1976. 53p.

SILVA, A. E. P. *et al.* Avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica da turnera ulmifolia L. (chanana) em células eucarióticas. *Saúde em foco*, Teresina. v. 2, n. 1, p. 25-48, julho de 2015. Disponível em: <https://www.google.com.br/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://www4.fsanet.com.br/revista/index.php/saudeemfoco/article/download/694/842&ved=0ahUKEwjbz4CHuMPXAhVCIpAKHskWC7gQFggcMAA&usg=AOvVaw3pHnRe7ptTsitaPcySM-sr>. Acesso em: 3 de novembro de 2017.

VEGA M. M. *et al.* Biological and chemical tools in the toxicological risk assessment of Jarama River, Madrid, Spain. *Environ Pollut*, London, v. 93, p.135-139, 1996. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0269749196000346?via%3Dihub>. Acesso em: 27 de agosto de 2017.

VENTURA, B. C. *Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do herbicida atrazina, utilizando Allium cepa e Oreochromis niloticus como sistemas-teste*. 2004. 133 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2004. Disponível em: [https://www.google.com.br/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/87721/ventura\\_bc\\_me\\_rcla.pdf%3Fsequence%3D1&ved=0ahUKEwilzea7sMPXAhXPqZAKHXkjD1YQFggeMAA&usg=AOvVaw1rrVnar97H4NLRG-f3NChC](https://www.google.com.br/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/87721/ventura_bc_me_rcla.pdf%3Fsequence%3D1&ved=0ahUKEwilzea7sMPXAhXPqZAKHXkjD1YQFggeMAA&usg=AOvVaw1rrVnar97H4NLRG-f3NChC). Acesso em: 2 de novembro de 2017.

VERGARA, S. C. *Projetos e relatórios de pesquisa em administração*. 5. ed. São Paulo: Atlas, 2007. 96p. Disponível em: [https://books.google.com.br/books/about/Projetos\\_e\\_rel%C3%B3rios\\_de\\_pesquisa\\_em\\_ad.html?id=HDWTQAAACAAJ&redir\\_esc=y&hl=pt-BR](https://books.google.com.br/books/about/Projetos_e_rel%C3%B3rios_de_pesquisa_em_ad.html?id=HDWTQAAACAAJ&redir_esc=y&hl=pt-BR). Acesso em: 14 de novembro de 2017.

VON SPERLING M. *Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos*. 2. ed. Belo Horizonte: UFMG, 1996. v. 1, 470 p.

WHO - World Health Organization. Public health impact of pesticides used in agriculture. World Health Organization: Geneva, 1990.

Wrege M. A ética da água. *InformANDES*, Brasília, n.96, p.12, 2000.