



LUCIANO PAZINATO MARTINS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE AMBIENTAL DO ARROIO DEMÉTRIO ATRAVÉS
DE CRITÉRIOS FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS**

CANOAS, 2018

LUCIANO PAZINATO MARTINS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE AMBIENTAL DO ARROIO DEMÉTRIO ATRAVÉS
DE CRITÉRIOS FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS**

Dissertação de Mestrado Acadêmico apresentada para a banca examinadora do Curso de Mestrado em Avaliação de Impactos Ambientais da Universidade La Salle, como exigência parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Anelise Beneduzi da Silveira.

Co-Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Fernanda Rabaioli da Silva.

CANOAS, 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M386a Martins, Luciano Pazinato.

Avaliação da qualidade ambiental do Arroio Demétrio através de critérios físico-químicos, microbiológicos e toxicológicos [manuscrito] / Luciano Pazinato Martins – 2018.

63 f.; 30 cm.

Dissertação (mestrado em Avaliação de Impactos Ambientais) – Universidade La Salle, Canoas, 2018.

“Orientação: Prof^a. Dra. Anelise Beneduzi da Silveira”.

“Coorientação: Prof^a. Dra. Fernanda Rabaioli da Silva”.

Dedico esta dissertação à minha filha Martina a quem amo e pretendo servir de referência por toda a vida, como exemplo de conquistas, respeito e lealdade.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a minha esposa Roberta e a minha filha Martina por compreenderem minha ausência em vários momentos para me dedicar ao mestrado. E sempre, com muito amor e carinho, incentivaram da melhor forma possível.

Aos meus pais Jaime e Ozéla pelo incentivo total ao meu aperfeiçoamento profissional, nunca deixando faltar atenção e recursos em toda minha vida. Seus exemplos de honestidade e trabalho sempre foram pilares sólidos na constituição do meu caráter e na seriedade com que levo, tanto na minha vida familiar quanto profissional.

A minha irmã Roberta pelo apoio e boas conversas, sempre me ajudando na logística e suporte para que minhas demandas acadêmicas sempre fossem atendidas.

Aos meus colegas da DIFISC e DF da Fepam, que sempre compreenderam minhas ausências no trabalho e incentivaram o desenvolvimento do meu mestrado.

Aos estagiários Rafael e Michele pelo apoio tanto no campo quanto no laboratório.

Ao professor Silvio pelo apoio técnico prestado junto ao Laboratório de Estudos Ambientais e Desenvolvimento Nanotecnológico da Universidade La Salle.

A minha Co Orientadora Professora Fernanda que me ensinou a complexidade das coisas simples, como uma simples cebola (*Allium cepa*) pode indicar tantas coisas. Seu ritmo calmo e tranquilizante sempre fez transparecer que tudo iria dar certo, meu sincero agradecimento.

E a minha Orientadora Professora Anelise que sempre foi muito atenciosa e comprometida, demonstrou muito profissionalismo ao me fornecer os melhores caminhos para a conquista. No seu conhecimento além da Universidade, na Fepagro, com certeza a sensibilizou quanto às dificuldades que um acadêmico sem dedicação exclusiva a Universidade possui. Sempre muito ágil e com poucos encontros presenciais fez uma ótima orientação. A ti dedico um especial agradecimento, muito obrigado!

RESUMO

O crescimento demográfico descontrolado nos centros urbanos tem causado enorme impacto na saúde pública e na qualidade ambiental. A liberação de esgoto sem o tratamento adequado causa uma perda significativa da qualidade nos recursos hídricos do Estado do Rio Grande do Sul (RS). O rio Gravataí é um dos rios mais poluídos do país e recebe uma grande quantidade de esgoto sanitário e industrial da região metropolitana de Porto Alegre/RS. Portanto, avaliar a qualidade dos seus afluentes é fundamental para entender e controlar a poluição da água. Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade da água do arroio Demétrio, um dos principais afluentes do rio Gravataí, onde foram realizadas análises físico-químicas, microbiológicas (coliformes totais e termotolerantes) e citogenotóxicas (método *Allium cepa*) em três pontos: próximo a nascente (ponto1) e de acordo com ocupações antrópicas (pontos 2 e 3). O ponto2 está localizado a montante da área mais antropizada e o ponto 3 está à jusante e próximo do encontro com o rio Gravataí. Os resultados obtidos mostraram, que o parâmetro cor variou gradativamente entre as amostras enquadrando todos os pontos na Classe 4 de acordo com a Resolução CONAMA nº 357/2005. O ponto 1 teve taxas de coliformes totais de 54.000/100 ml e coliformes termotolerantes de 700/100 ml, apesar disso permanece classificado como Classe 1 para este critério. As análises químicas indicaram uma concentração de ferro de 0.137 mg/L, o que reduziu a sua classificação para a Classe 3, sendo que este ponto também apresentou alterações cromossômicas significativas e presença de micronúcleos nas análises citogenotóxicas. O ponto 2 apresentou a pior classificação, Classe 4, devido à alta concentração de cobre dissolvido (0,021 mg/L) e a maior quantidade de alterações citogenotóxicas, com uma significativa formação de brotos nucleares. O ponto 3, apresentou uma melhora na qualidade da água em relação ao ponto 2, sendo classificado como Classe 3 com índices de alumínio dissolvidos em 0,127 mg/L, cobre dissolvido em 0,012 mg/L, ferro dissolvido em 0,495 mg/L e manganês em 0.146 mg/L. Os demais critérios analisados não obtiveram alterações, sendo todos enquadrados como Classe 1. Os resultados deste estudo classificaram a qualidade da água do arroio e demonstraram sua dinâmica ao longo dos pontos analisados, sendo constatadas intervenções antrópicas significativas no percurso entre o ponto 1 e o ponto 2, com uma evidente queda de qualidade ambiental e a melhora desta condição no ponto 3 onde a concentração de metais foi diminuída.

Palavras chaves: Arroio Demétrio, qualidade da água, coliformes, citogenotoxicidade, análise físico-química.

ABSTRACT

Uncontrolled population growth near urban centers has a huge impact on public health and environmental quality. Raw sewage release has caused significant environmental quality loss in water resources of Rio Grande do Sul/Brazil. One of the most polluted rivers in Brazil, Gravataí River receives a large load of sanitary and industrial sewage. Therefore, evaluate affluents quality is fundamental for understanding and controlling water pollution. This study focused on the Demétrio stream water quality, Gravataí River main affluent, where physical-chemical, microbiological (total and thermotolerant coliforms) and cytotoxic analyzes (*Allium cepa* method) were performed in three samples: source (sample 1), and according to anthropic occupations (2 and 3 samples). Sample 2 is located upstream of the most anthropized area and sample 3 is downstream and near Gravataí River encounter. The obtained results showed that the color varied gradually between the points sampled by framing all points in Class 4, according to CONAMA Resolution 357/2005. The sample 1 already has total coliforms rates of 54.000/100 ml and thermotolerant coliforms of 700/100 ml, but it remains classified as Class 1. The chemical analyzes indicated iron concentration of 0.137 mg/L, which reduces its classification for Class 3 and what probably interfered in the citogenotoxic analyzes presenting significant alterations in the presences of micronucleus and chromosomal alterations. Sample 2 presents the lowest classification, Class 4, due to dissolved copper concentration of 0.021 mg/L and the highest amount of citogenotoxic changes, also presenting significant formation of nuclear shoots. Sample 3, near the Gravataí River, presents a slight improvement in water quality, being classified as Class 3 with indexes of dissolved aluminum in 0.127 mg/L, dissolved cooper in 0.012 mg/L, iron in 0.495 mg/L and manganese in 0.146 mg/L. The other criteria analyzed did not change, all of them classified as Class 1. The results of this study allowed to classify the water quality of the Demétrio stream and to demonstrate its dynamics through the analyzed samples, anthropic interventions being observed in the course between 1 and 2 samples, with an evident decrease in environmental quality and the improvement of this scenario in sample3 where the concentration of metals was decreased.

Keywords: Demétrio stream, water quality, coliforms, citogenotoxicity, physico-chemical analyze.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1. Objetivo geral	10
1.2. Objetivos específicos.....	10
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1. Qualidade da água	11
2.2. Coliformes e <i>Escherichia coli</i>	14
2.3. Citogenotoxicidade.....	15
2.4. Arroio Demétrio	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1. Coleta de amostras de água do arroio Demétrio.....	21
3.2. Análises físico-químicas	24
3.3. Quantificação dos elementos químicos inorgânicos	25
3.4. Análises microbiológicas	25
3.5. Teste de <i>Allium cepa</i>	27
3.6. Análise estatística.....	28
4. RESULTADOS	29
4.1. Análises físico-químicas da água nos pontos amostrados do arroio Demétrio	29
4.2. Análises Microbiológicas da água nos pontos amostrados do arroio Demétrio	33
4.3. Análise integrada dos fatores físico-químicos e microbiológicos (Análise de Componentes Principais)	34
4.4. Análises Citogenotóxicas da água nos pontos amostrados do arroio Demétrio	35
5. DISCUSSÃO	40
6. CONCLUSÕES.....	50
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
8. ANEXO I: Laudos de análise de metais pesados.....	62

1. INTRODUÇÃO

Embora a água represente o principal constituinte de todos os organismos vivos, nas últimas décadas esse precioso recurso vem sendo ameaçado pelas ações indevidas do homem (KALIBERDA et al., 2008). O comprometimento da qualidade da água para fins de abastecimento doméstico é decorrente da poluição causada por diferentes fontes, tais como efluentes domésticos, efluentes industriais e deflúvio superficial urbano e agrícola (MERTEN e MINELLA, 2002). Os impactos exercidos na qualidade ambiental pelo homem são de dois tipos: o consumo de recursos naturais em ritmo mais acelerado do que aquele no qual eles podem ser renovados pelo sistema ecológico; e o segundo, pela geração de produtos residuais em quantidades maiores do que pode ser integrada ao ciclo natural de nutrientes (MORAES E JORDÃO, 2002). O poder de depuração dos efluentes está diretamente relacionado com o tratamento por ele passado e uma vez que o efluente passe por um tratamento sua depuração torna-se mais fácil e o ambiente consegue comportar essa carga de poluentes com menos impacto ambiental.

A grande demanda de esgoto sanitário lançado em corpos hídricos pode alterar significativamente a qualidade destes, aumentando o despejo de carga orgânica e lançando uma série de microrganismos patogênicos, com impactos eutróficos severos sobre a fauna, a flora e aos seres humanos (CARVALHO E ORSINE, 2011). De 2000 a 2008, no Brasil, houve um aumento de 2.875 para 3.069 no número de municípios com acesso ao esgotamento sanitário, representando um acréscimo de 6,8% (194 municípios) no período. O aumento do número de economias residenciais esgotadas, no entanto, foi de 39,5%, o que sugere que a expansão tenha se dado, principalmente, entre os municípios que já tinham esse tipo de serviço. Em decorrência do crescimento do setor, a proporção de domicílios com acesso à rede coletora de esgoto elevou-se de 33,5%, em 2000, para 44,0%, em 2008. No período, houve também avanços qualitativos, dentre os quais se destacam: os municípios com ampliações ou melhorias no serviço de coleta de esgotamento sanitário passaram de 58,0%, em 2000, para 79,9%, em 2008; o de municípios com tratamento de esgoto passou de 20,2%, em 2000, para 28,5%, em 2008; bem como o esgoto coletado que recebe tratamento, cujo volume passou de 35,3%, em 2000 para 68,8% em 2008 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2008).

Em levantamento mais recente, realizado em 2016 pelo Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento – SNIS através das prestadoras de serviços participantes, com relação aos estados, o índice médio de atendimento urbano com rede coletora de esgotos

apontou valores acima de 70% apenas no Distrito Federal e em três estados: São Paulo, Minas Gerais e Paraná, mesmas Unidades da Federação de 2015. Na faixa de 40% a 70%, apareceram outros sete estados: Rio de Janeiro, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Roraima, Bahia e Paraíba; na faixa logo abaixo, de 20% a 40%, situaram-se nove estados: Rio Grande do Sul, Mato Grosso, Ceará, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Sergipe, Tocantins, Alagoas e Santa Catarina; enquanto que na penúltima faixa, de 10% a 20%, encontravam-se quatro estados: Maranhão, Acre, Piauí e Pará (esse último subiu de faixa em relação a 2015). Por fim, na menor faixa, inferior a 10%, constavam três estados: Amazonas, Amapá e Rondônia (Ministério das Cidades, 2018).

Quando utilizamos o termo "qualidade da água", é necessário compreender que este não se refere, necessariamente, a um estado de pureza, mas simplesmente às características químicas, físicas e biológicas, e que, conforme essas características serão estipuladas diferentes finalidades para os usos da água (MERTEN e MINELLA, 2002).

1.1. Objetivo geral

Avaliar a qualidade ambiental das águas do arroio Demétrio, um dos principais afluentes do rio Gravataí, localizado no Estado do Rio Grande do Sul, através de critérios físico-químicos, microbiológicos e citogenotóxicos.

1.2. Objetivos específicos

- Analisar as amostras coletadas em três pontos do arroio Demétrio quanto às características físico-químicas e microbiológicas (coliformes totais e termotolerantes);
- Avaliar os parâmetros citogenotóxicos da água do arroio;
- Correlacionar os resultados físico-químicos, microbiológicos e citogenotóxicos do arroio Demétrio para avaliar o padrão de poluição;
- Fazer o enquadramento do arroio Demétrio com relação à qualidade das suas águas de acordo com a resolução CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) nº 357/2005.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Qualidade da água

Atualmente, a poluição das águas tem despertado preocupação em nível mundial devido ao aporte de poluentes lançados diariamente nos mais diferentes corpos hídricos. O território brasileiro contém cerca de 12% de toda a água doce do planeta, totalizando 200 mil microbacias espalhadas em doze regiões hidrográficas (Ministério do Meio Ambiente - MMA, 2016).

Apesar de possuir uma grande quantidade de água doce, boa parte encontra-se poluída e devido a isso, a gestão adequada dos recursos hídricos está tornando-se uma necessidade em função do aumento da população e da escassez de água (NAIME e FAGUNDES, 2005). A água potável, limpa, segura e adequada é vital para muitos organismos vivos e para o funcionamento dos ecossistemas, das comunidades e da economia, mas a qualidade da água em todo o mundo é cada vez mais ameaçada à medida que as populações crescem, as atividades agrícolas e industriais se expandem e as mudanças climáticas ameaçam alterar o ciclo hidrológico global (Organização das Nações Unidas - ONU, 2010). A integridade hidrológica de uma região decorre de mecanismos naturais de controle, como a estreita relação existente entre a cobertura vegetal e a água, especialmente nas regiões das nascentes dos rios. Essa relação de equilíbrio, entretanto, vem sendo constantemente alterada pelo homem, ao transformar a paisagem através da expansão da agricultura e da pecuária, da construção de obras de infraestrutura, como a abertura de estradas e todo o processo decorrente da urbanização (Agência Nacional de Águas - ANA e MMA, 2012).

Um dos principais problemas é a crescente contaminação da água. Ela vem sendo rapidamente poluída, principalmente nas zonas litorâneas e nas grandes cidades. A água é usada para o despejo de todo tipo de poluentes e, devido a isso, fica contaminada com numerosas substâncias, passando a ser denominada de água residual. Se esta água residual for para um rio ou para o mar, as substâncias nocivas que transporta irão se acumulando e aumentando assim a contaminação geral das águas, o que traz graves riscos para a sobrevivência dos seres vivos (BRANCO, 2016). A cada dia, milhões de toneladas de esgoto tratado inadequadamente, resíduos agrícolas e industriais são despejados nas águas de todo o mundo. Todos os anos morrem mais pessoas em decorrência da ingestão de água contaminada do que de todas as formas de violência, incluindo a guerra (ONU, 2010).

A compreensão dos recursos hídricos é o principal fator de gerência para a melhoria da qualidade ambiental. O estudo da qualidade da água é fundamental, tanto para a caracterização das consequências de uma determinada atividade poluidora, quanto para estabelecer os meios de utilização da água de forma satisfatória (SPERLING, 2005). O desenvolvimento industrial e o crescimento desordenado da população humana atuam de forma prejudicial ao equilíbrio do meio ambiente, principalmente pela contaminação dos recursos hídricos por efluentes urbanos, industriais e agrícolas. Conseqüentemente, os seres vivos são afetados por perturbações diretas e indiretas, causadas por substâncias nocivas presentes no meio ambiente (FERREIRA et al., 2012). Há uma necessidade urgente da comunidade global, dos setores públicos e privados, no sentido de união para assumir o desafio de proteger e melhorar a qualidade da água nos nossos rios, lagos, aquíferos e torneiras (ONU, 2010). A qualidade da água é tão importante quanto à quantidade, quando se trata de atender às necessidades básicas dos seres humanos e do meio ambiente. Entretanto, apesar das duas questões estarem intimamente interligadas, recentemente a questão da água recebeu bem menos investimento, apoio científico e atenção do público que a quantidade volumétrica (ANA e MMA, 2013).

De acordo com SPERLING (2005) a qualidade da água de uma região é determinada pelas condições naturais e pelo uso e ocupação do solo na bacia hidrográfica. No Brasil, a qualidade e classificação das águas são determinadas conforme os padrões estabelecidos na Resolução CONAMA nº 357/2005 (BRASIL, 2005), na qual dispõe sobre a classificação dos corpos de água e as diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.

No Rio Grande do Sul, 286 municípios (59% das cidades) são abastecidos exclusivamente por águas subterrâneas, enquanto que os mananciais superficiais são utilizados para o abastecimento de 134 sedes urbanas. Os demais municípios (13%) são abastecidos de forma mista, ou seja, mananciais superficiais e subterrâneos (ANA, 2010). A qualidade da água medida pela Resolução CONAMA nº 357/2005 (BRASIL, 2005) avalia um conjunto de condições e padrões de qualidade de água necessários ao atendimento dos usos preponderantes, atuais ou futuros. A própria resolução define as formas de controle e monitoramento das águas para categorização de classes e por consequência de usos. As águas doces são classificadas em:

I - Classe especial- águas destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção;
- b) à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas;
- c) à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.

II - Classe 1- águas que podem ser destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado;
- b) à proteção das comunidades aquáticas;
- c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274/2000;
- d) à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película;
- e) à proteção das comunidades aquáticas em terras Indígenas.

III - Classe 2- águas que podem ser destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional;
- b) à proteção das comunidades aquáticas;
- c) a recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;
- d) à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto;
- e) à aquicultura e a atividade de pesca.

IV - Classe 3- águas que podem ser destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado;
- b) à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;
- c) à pesca amadora;
- d) à recreação de contato secundário;
- e) a dessedentação de animais.

V - Classe 4- águas que podem ser destinadas:

- a) à navegação;
- b) à harmonia paisagística.

2.2. Coliformes e *Escherichia coli*

A contaminação da água por excretas de origem humana ou animal pode torná-la um veículo na transmissão de agentes de doenças infecciosas. Dessa forma, a vigilância da qualidade microbiológica da água é essencial, sendo requerida pelas legislações aplicadas nos mais diversos usos da água (ANA e Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - CETESB, 2011). Uma das formas de avaliar a contaminação de um curso hídrico é através da utilização de bioindicadores tais como as bactérias do grupo coliforme que habitam normalmente o intestino de homens e animais, servindo, portanto, como indicadores da contaminação de uma amostra de água por fezes. Como a maior parte das doenças associadas à água é transmitida por via fecal-oral, isto é, os organismos patogênicos, ao serem eliminados pelas fezes, atingem o ambiente aquático, podendo vir a contaminar as pessoas que se abastecem de forma inadequada desses recursos. Devido a isso, a presença de coliformes na água é um indicador de risco de transmissão dessas doenças (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Os coliformes totais (CT) indicam a presença de bactérias na água que não necessariamente representam problemas para a saúde. As bactérias do grupo coliforme são bacilos Gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase negativos, capazes de desenvolver-se na presença de sais biliares ou agentes tenso-ativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5$ °C em 24-48 horas e que podem apresentar atividade da enzima β -galactosidase (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). As espécies de enterobactérias pertencentes aos gêneros *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter* fazem parte deste grupo (Fundação Nacional de Saúde - FUNASA, 2006).

Os coliformes fecais (ou termotolerantes) são bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes totais sendo caracterizadas pela presença da enzima β -galactosidase e pela capacidade de fermentar a lactose com produção de gás em 24 horas à temperatura de 44-45°C em meios contendo sais biliares ou outros agentes tenso-ativos com propriedades inibidoras semelhantes. Além de presentes em fezes humanas e de animais podem, também, ser encontradas em solos, plantas ou quaisquer efluentes contendo matéria orgânica (Resolução CONAMA nº 274, 2000). *Escherichia coli* é uma bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae, caracterizada pela presença das enzimas β -galactosidase e β -glucuronidase. Cresce em meio complexo a 44-45°C, fermenta lactose e manitol com produção de ácido e gás e produz indol a partir do aminoácido triptofano. A *Escherichia coli* é

abundante em fezes humanas e de animais, tendo, somente, sido encontrada em esgotos, efluentes, águas naturais e solos que tenham recebido contaminação fecal recente (Resolução CONAMA nº 274, 2000). Por isso, é considerado o mais específico indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de organismos patogênicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

2.3. Citogenotoxicidade

Estudos de monitoramento ambiental têm mostrado os efeitos danosos da aplicação indiscriminada de substâncias resultantes de processos antropogênicos no ambiente natural, sejam eles efluentes urbanos, industriais ou da agricultura, tendo levado à realização de avaliações cito e genotóxicas em diversos ambientes aquáticos poluídos como mares, rios e lagos, utilizando, para isso, vários métodos. Em razão da grande complexidade envolvida no meio ambiente que inclui, variados modelos de ecossistemas, cada um deles apresenta-se e responde de forma diferente, devido às interações dos componentes bióticos e abióticos que os compõem (CIRCUNVIS et al., 2012).

A toxicidade é uma propriedade que reflete o potencial de uma substância causar um efeito danoso a um organismo vivo. Os testes de toxicidade são importantes para avaliar o potencial de risco ambiental dos contaminantes, uma vez que somente as análises químicas não possibilitam esse tipo de avaliação (COSTA et al., 2008). Dentro da toxicidade, duas análises servem para medir o impacto sobre agentes danosos nas células: a citotoxicidade, que é a capacidade intrínseca de um material em promover alteração metabólica nas células em cultura, podendo culminar ou não em morte celular (BCRJ, 2016); e a genotoxicidade, que é a capacidade que algumas substâncias têm de induzir alterações no material genético de organismos a elas expostos. Os diferentes testes genotóxicos detectam mutações gênicas e cromossômicas. Dentre eles, o teste do micronúcleo fornece informações primárias, em nível cromossômico, sobre os danos no DNA causados por agentes químicos e físicos (KOLLING et al., 2006).

Os testes de toxicidade têm sido cada vez mais utilizados para a determinação dos efeitos deletérios em organismos aquáticos, em virtude principalmente do potencial risco de transferência de poluentes do ambiente para os organismos, inclusive para o homem. A exposição humana a despejos de diferentes origens tem conduzido a diversos efeitos relacionados com a saúde em geral, como dor de cabeça, náuseas, irritações na pele, reduções

neurológicas, e existem até evidências de efeitos genotóxicos à saúde, como câncer, defeitos congênitos e anomalias reprodutivas (FERREIRA et al., 2012).

Algumas plantas superiores apresentam características que as tornam excelentes modelos genéticos para avaliar a contaminação ambiental (SOUZA et al., 2013). O *Allium cepa* L. (popularmente conhecido como cebola) é um dos mais bem conhecidos e utilizados bioindicadores em estudos para detecção de contaminantes, e o mais sugerido como modelo devido a sua sensibilidade, fácil manuseio, resultados rápidos e alta tolerância a diferentes condições de cultivo (DUARTE et al., 2014). Conforme CARITÁ e MORALES (2008) o *Allium cepa* é um organismo teste eficiente para monitoramento ambiental, especialmente em ambientes aquáticos potencialmente contaminados. As células meristemáticas das plântulas de *Allium cepa* podem quantificar vários parâmetros morfológicos e citogenéticos, incluindo a morfologia e o crescimento da plântula (índice de germinação), a determinação do índice mitótico, assim como a indução de micronúcleos, indicando os efeitos de cito e genotoxicidade (CHRISTOFOLETTI, 2008).

O micronúcleo (MN), uma das alterações observadas no teste de *Allium cepa*, é um núcleo adicional e separado do núcleo principal da célula (Figura 1-C). Essa estrutura pode ser formada por cromossomos (efeito aneugênico) ou fragmento de cromossomos (efeito clastogênico) que não são adicionados no núcleo principal durante a mitose. A origem do MN se deve a alterações estruturais cromossômicas espontâneas ou decorrentes de fatores ambientais ou, ainda, a falhas no fuso mitótico (CARRARD et al., 2007). Outra alteração observada em células de *Allium cepa* é a formação de brotos nucleares, que conforme FERNANDES et al. (2007), trata-se de um excesso de DNA que forma um broto junto ao núcleo celular, fator que possivelmente acarreta na liberação de um micronúcleo ou de uma minicélula (Figura 1-B).

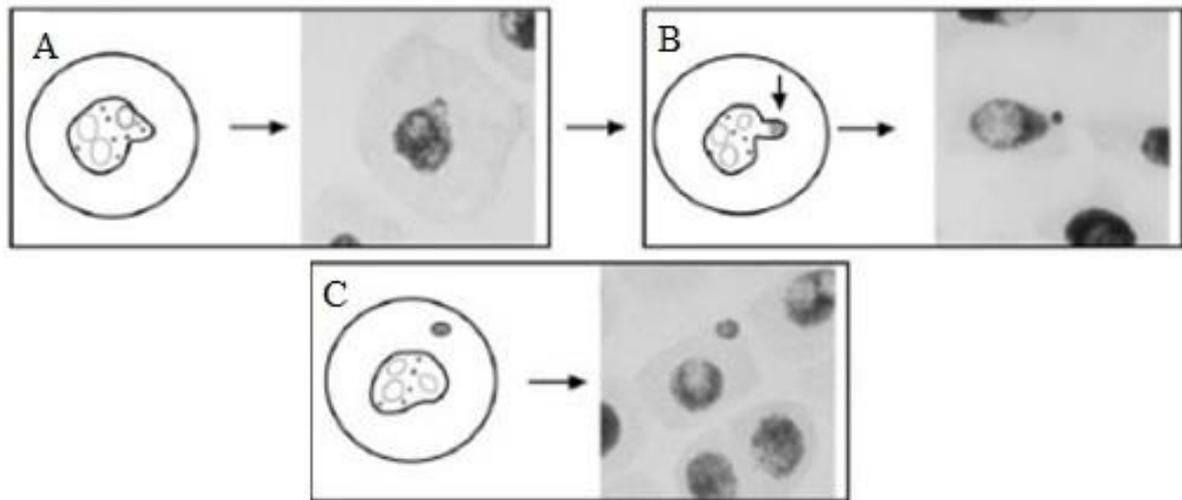


Figura 1. Formação celular demonstrando as alterações celulares decorrentes de exposição citogenotóxica. (A) início da formação irregular do broto nuclear; (B) formação do broto nuclear; (C) liberação de um micronúcleo (Adaptado de FERNANDES et al., 2007).

2.4. Arroio Demétrio

O arroio Demétrio é um dos principais afluentes da margem direita do Rio Gravataí e consequentemente pertence à Bacia Hidrográfica do Gravataí. Conforme o Comitê de Gerenciamento da Bacia Hidrográfica do Rio Gravataí (2016), o arroio Demétrio pertence à região hidrográfica do Médio Gravataí, tendo sua nascente no município de Taquara e sua foz no município de Gravataí (Figura 2). Conforme a Resolução 113/2012 do Conselho de Recursos Hídricos do Rio Grande do Sul - CRH/RS (Rio Grande Do Sul, 2012) o arroio Demétrio está localizado em um ponto divisor de qualidade da água do Rio Gravataí, onde é considerado Classe 3 entre o Banhado Grande e a foz do arroio Demétrio e Classe 4 entre a foz do arroio Demétrio e a foz do rio Gravataí.

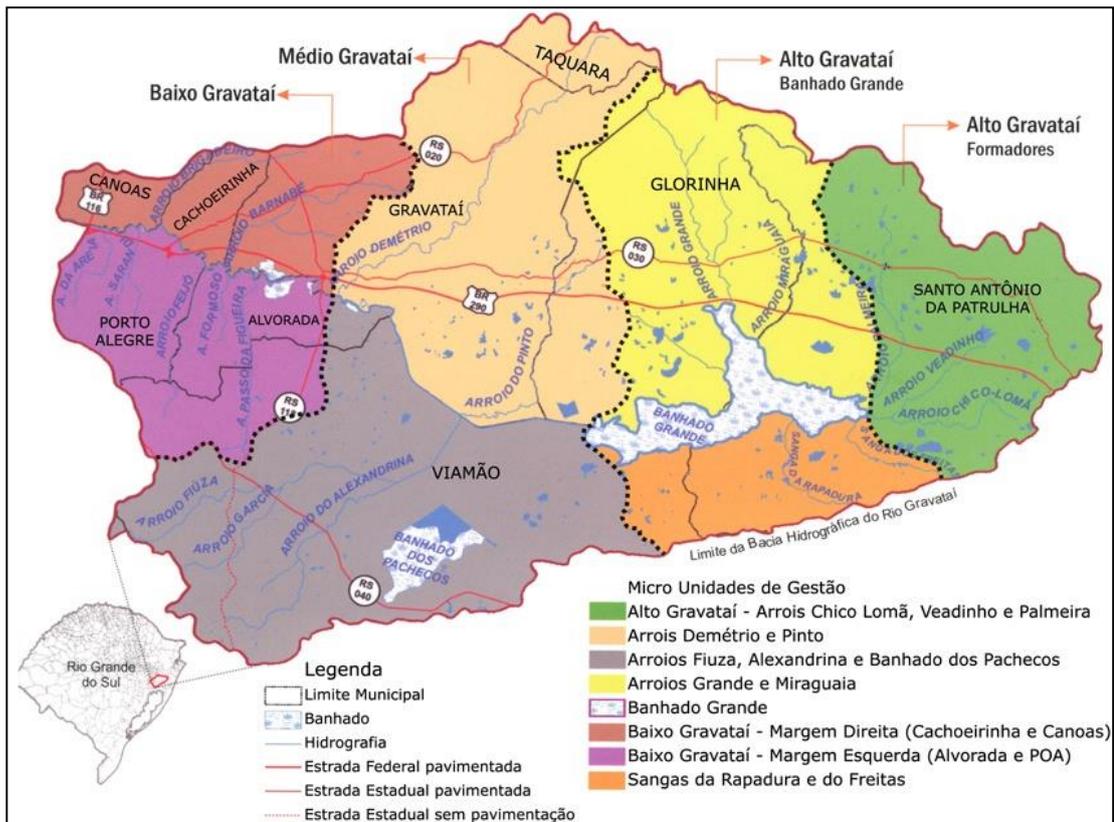


Figura 2. Bacia Hidrográfica do Rio Gravataí com o arroio Demétrio pertencente ao Médio Gravataí (Fonte: Comitê Gravatahy, 2016).

Foram realizados pela BOURSCHEID ENGENHARIA E MEIO AMBIENTE S.A. et al. (2012) coletas no arroio Demétrio, próximo ao encontro com o rio Gravataí, nos meses de março e junho de 2011, e enquadraram o arroio, conforme a Resolução CONAMA nº 357/2005, como Classe 4 no parâmetro cor tanto no verão quanto no inverno e Classe 3 no verão para os critérios: sulfeto, manganês, fósforo total e ferro dissolvido; e no inverno apenas sulfeto o se enquadraram como Classe 3. Os demais elementos analisados ficaram dentro dos limites estabelecidos pela Classe 1 (Tabela 1).

Tabela 1. Variáveis obtidas em coletas de março e julho de 2011, conforme RESOLUÇÃO CONAMA nº 357/2005 (BOURSCHEID ENGENHARIA E MEIO AMBIENTE S.A. et al., 2012).

Variáveis	Unidade	LQ	Resultados analíticos	Resultados analíticos	VMP CONAMA	VMP CONAMA
			Verão	Inverno	357 ART 14	357 ART 15
Cor Verdadeira	Pt/Co	5	100	230	Natural	75
Turbidez	UNT	0,1	15	27	40	100
pH (a 20°C)	--	0-14	6,7	7,3	6 - 9	6 - 9
Alumínio Dissolvido	mg/L	0,0001	0,096	0,094	0,1	0,1
Sulfeto	mg/L	0,05	<0,05	0,07	0,002	0,002
Chumbo	mg/L	0,0005	<0,0005	<0,0005	0,01	0,01
Cobalto	mg/L	0,0001	<0,0001	<0,0001	0,05	0,05
Cobre Dissolvido	mg/L	0,0001	<0,0001	<0,0001	0,009	0,009
Cromo Total	mg/L	0,0001	<0,0001	<0,0001	0,05	0,05
Cádmio	mg/L	0,0001	<0,0001	<0,0001	0,001	0,001
Manganês	mg/L	0,0005	0,413	0,0329	0,1	0,1
Mercúrio	mg/L	0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0002	0,0002
Níquel	mg/L	0,0001	<0,0001	<0,0001	0,025	0,025
Zinco	mg/L	0,0001	0,0334	0,0678	0,18	0,18
Sólidos Dissolvidos Totais	mg/L	2	98	79	500	500
Fósforo Total	mg/L	0,01	0,13	0,09	0,1	0,1
Coliformes Totais	NMP/100mL	100	34480	24190	--	--
Ferro Dissolvido	mg/L	0,002	2,8	0,0873	0,3	0,3
DBO	mg/L	3	<3	<2	3	5
DQO	mg/L	5	21	8,3	--	--
Legenda	Classe 1					
	Classe 2					
	Classe 3					
	Classe 4					

Conforme o estudo encomendado pelo Departamento de Recursos Hídricos da Secretaria de Estado do Meio Ambiente – DRH/SEMA, o arroio Demétrio juntamente com o arroio Pinto corresponde a uma Unidade de Gestão da Bacia Hidrográfica do Rio Gravataí, dentre os estudos realizados foi levantado o balanço hídrico, que consiste na comparação quantitativa entre a disponibilidade e a demanda ou consumo hídricos (BOURSCHEID ENGENHARIA E MEIO AMBIENTE S.A. et al., 2012).

Conforme os dados de BOURSCHEID ENGENHARIA E MEIO AMBIENTE S.A. et al. (2012) a sub-bacia dos arroios Demétrio e Pinto apresenta a situação hídrica mais confortável em comparação com as demais Unidades de Gestão da Bacia do Rio Gravataí no comparativo entre a disponibilidade hídrica e as demandas e consumos de água, sendo consumo (0,6 m³/s) equivalente a 27% da disponibilidade hídrica (2,2 m³/s) (Tabela 2).

Tabela 2. Balanço Hídrico por Unidade de Gestão apresentado pelo Plano de Bacia do rio Gravataí. (BOURSCHEID ENGENHARIA E MEIO AMBIENTE S.A. et al., 2012).

	Q_{lp}	Q_{90}	Q_{95}	DEMANDA	CONSUMO
Alto Gravataí – Formadores	5,4	1,1	1,1	2,5	2
Banhado Grande				0,3	0,3
Arroios Grande e Miraguaia	8	1,7	1,6	1,4	1,1
Sangas da Rapadura e do Freitas	9	1,9	1,8	1,3	1
Arroios Demétrio e Pinto	11,2	2,3	2,2	1,3	0,6
Arroios Fiuza, Alexandrina e Banhado dos Pachecos	12,2	2,5	2,4	7,3	5
Baixo Gravataí – MD	3,9	0,6	0,5	0,6	0,3
Baixo Gravataí – ME	5,2	0,8	0,7	1,2	0,9
Total	54,9	11,1	10,3	15,8	11,2

Legenda: Q_{lp} : Vazão de longo período

Q_{90} : Vazão verificada no rio em 90% do tempo

Q_{95} : Vazão verificada no rio em 95% do tempo

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta de amostras de água do arroio Demétrio

Para identificar a qualidade ambiental do arroio Demétrio foram realizadas as coletas de água no referido curso hídrico no dia 13 de dezembro de 2016 no turno da manhã. Os pontos de coleta foram definidos conforme as características geográficas do arroio, principalmente para escolha do ponto branco próximo à nascente (ponto 1), e de acordo com as ocupações antrópicas (pontos 2 e 3), sendo o ponto 2 a montante da área de maior densidade urbana e o ponto 3 a jusante e próximo do encontro com o Rio Gravataí (Figura 3). Os locais de coleta foram georreferenciados através de GPS, sendo as coordenadas expressas em graus decimais utilizando o *datum* SIRGAS 2000.

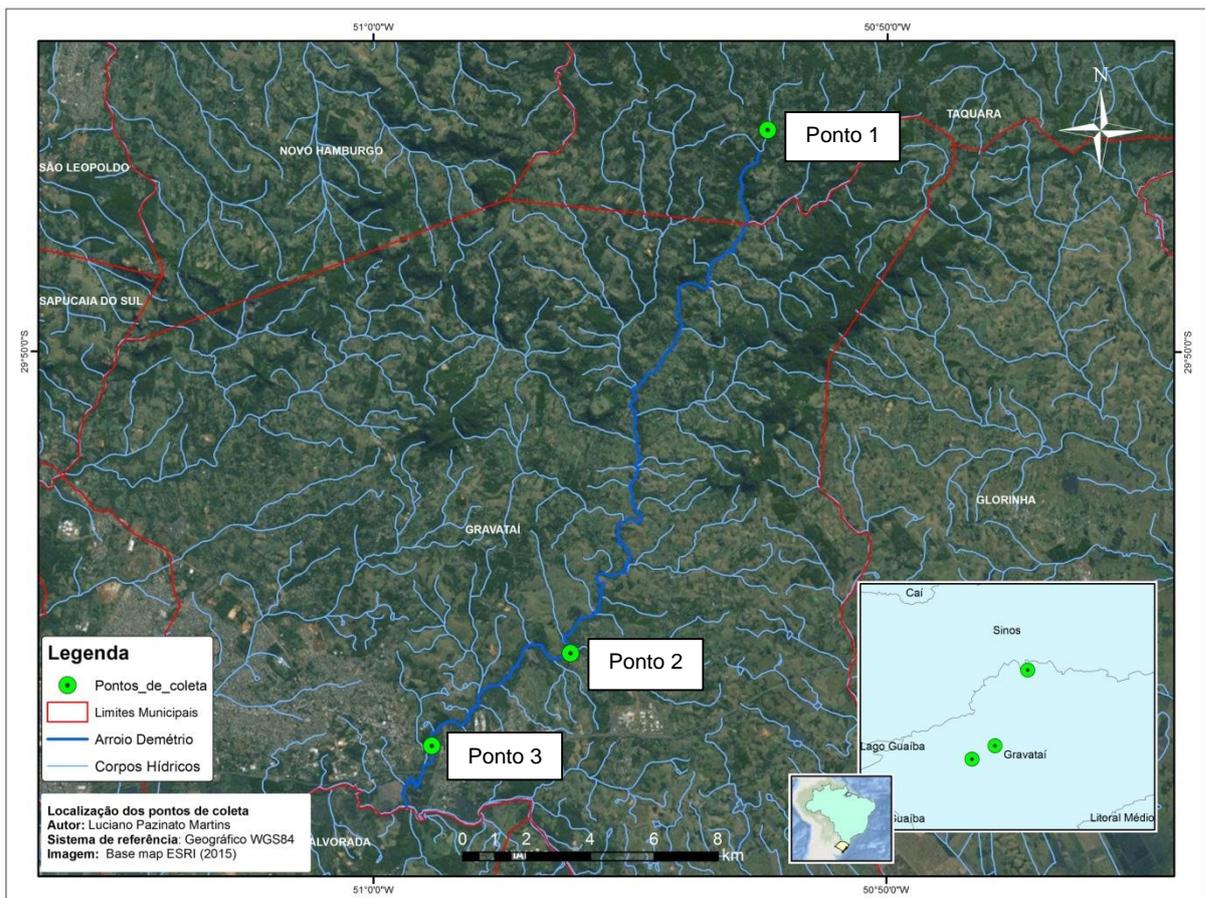


Figura 3. Localização dos pontos de amostragem ao longo do arroio Demétrio.

O ponto 1 (Figura 4), por ser o primeiro ponto e o mais próximo da nascente, foi considerado no quilômetro zero, latitude -29,77029 e longitude -50,872087, sendo escolhido

por ser o local perene mais próximo a nascente, conforme o Sistema de Informação Geográfica -SIG da FEPAM (2005). O local caracteriza-se como uma zona rural do município de Taquara/RS e apresenta ocupação por pequenas propriedades rurais com áreas de cultivo e pequenas criações de animais. Junto às margens do local de coleta, pode-se observar um bom estado de conservação, com uma faixa de mata ciliar densa e vegetação nativa sombreando o curso hídrico.



Figura 4. Local de coleta de água do ponto 1 (nascente) do arroio Demétrio.

O ponto 2 (Figura 5) distancia-se cerca de 21,6 Km do ponto 1, com latitude -29,919287 e longitude -50,935974, conforme as imagens de satélite do *Google Earth* (2017), sendo escolhido por anteceder a área com maior densidade urbana, em sua maioria ocupações residenciais. A região é constituída por uma comunidade em visível estado de vulnerabilidade social, com residências precárias e possivelmente fazendo uso de áreas irregulares (ocupadas) e está situada no Bairro Itatiaia no município de Gravataí/RS. O ponto 2 apresenta uma faixa de mata ciliar na margem direita com inserção de espécimes exótica já apresentando acentuada antropização, enquanto que a margem esquerda apresenta moradias características de área de vulnerabilidade social.



Figura 5. Local de coleta de água do ponto 2 do arroio Demétrio.

O último ponto, denominado ponto 3 (Figura 6) distancia-se 28,3 Km do ponto 1 e 6,7 Km do ponto 2, com latitude $-29,945642$ e longitude $-50,981018$, sendo escolhido por localizar-se na saída da área de maior ocupação humana e anteceder o deságue no rio Gravataí (aproximadamente 2,8 Km antes). Apresenta uma elevação aproximada de 5m em relação à foz no rio Gravataí, conforme o perfil de elevação do *Google Earth* (2017). Tal escolha teve o objetivo de retratar exclusivamente as condições do arroio Demétrio sem interferências de possíveis variações no nível do Rio Gravataí. O local é localizado a cerca de 100 m da Rodovia RS 030 no município de Gravataí/RS e é o único que apresenta características de curso hídrico encaixado, ou seja, com a presença de taludes em ambas as margens. A vegetação da margem direita é rasteira e da margem esquerda conta com presença de espécimes arbóreas exóticas esparsas.



Figura 6. Local de coleta de água do ponto 3 do arroio Demétrio.

A água proveniente das coletas foi armazenada em frascos de vidro de 1.000 ml (1 L) e 500 ml (0,5 L), sendo as preservações específicas para cada tipo de análise, conforme segue: (1) os frascos de vidro (devidamente higienizados) foram submergidos nas águas do local de coleta, para uma lavagem prévia do mesmo com a água do ponto a ser coletado; (2) após este procedimento, os recipientes foram, novamente, submergidos nas águas dos respectivos pontos para a coleta e imediatamente lacrados e refrigerados a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$, para o transporte, mantendo-os sob refrigeração e protegidos da luz até o momento dos testes físico-químicos e biológicos. As amostras de água para as análises de metais pesados foram coletadas em recipientes plásticos de 500 ml (0,5 L) fornecidos pelo Laboratório Green Lab de Porto Alegre/RS. Estes frascos não tiveram enxágue com água do ponto de coleta, pois possuíam uma solução ácida para preservar a amostra, sendo preenchidos com auxílio de balde, este sim, teve enxágue prévio com água do ponto coletado. Após a coleta, as amostras foram vedadas e acondicionadas em recipiente refrigerado a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e protegidas da luz para a entrega ao laboratório.

3.2. Análises físico-químicas

Para a realização das análises físico-químicas das amostras de água estas foram enviadas ao Laboratório de Estudos Ambientais e Desenvolvimento Nanotecnológico da Universidade La Salle. As análises contemplaram parâmetros físico-químicos (cloreto, fluoreto, nitrato, sulfato, turbidez e cor) que permitiram o enquadramento dos pontos

conforme alguns critérios de classificação determinados na Resolução ANA 903 (BRASIL, 2013, Anexo II). Fatores como temperatura e pH tiveram as medições feitas no momento das coletas por intermédio de um medidor pH/ORP HI 8424 (HANNA INSTRUMENTS).

3.3. Quantificação dos elementos químicos inorgânicos

A identificação e a quantificação dos elementos químicos inorgânicos (alumínio dissolvido, cádmio, chumbo, cobalto, cobre dissolvido, cromo total, ferro dissolvido, manganês, mercúrio, níquel e zinco) foram realizadas pelo Laboratório Green Lab de Porto Alegre. O referido laboratório é acreditado pelo INMETRO (CRL 0637), e certificado pela FEPAM (CPOA N° 00049 / 2016-DL). O Método Analítico utilizado é o EPA 200.7/2001, seguindo os requisitos de acreditação CGCRE (Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro). As amostras foram coletadas em recipientes do próprio laboratório e armazenadas nos compartimentos específicos, sendo entregues no mesmo dia da coleta.

3.4. Análises microbiológicas

Para a realização das análises microbiológicas foi empregado o método Colilert® 250 (IDEXX) sendo este um substrato Cromogênico de ONPG –MUG (Orto Nitrofenil Galactopiranosídeo – Metil-umbeliferone), com resultados confirmativos para presença de coliformes totais e *Escherichia coli* em aproximadamente 24 horas pelo desenvolvimento de coloração amarela e observação de fluorescência, sem a necessidade da adição de outros reagentes para confirmação. O método é aprovado pelo EPA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) e incluído no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*.

Este método além de ser reconhecido e válido, é de rápida aplicabilidade e de fácil manuseio. O método Colilert® permite identificar a presença de microrganismos indicadores que, conforme seu número mais provável (NMP) aponta que o ambiente pode apresentar riscos à saúde pública com fortes indicativos da presença de organismos patogênicos. À medida que os coliformes se reproduzem no Colilert®, eles utilizam a β -galactosidase para metabolizar o indicador de nutriente ONPG e alterá-lo de incolor para amarelo. *E. coli* utiliza a β -glucuronidase para metabolizar MUG e emitir fluorescência. Como a maioria dos microrganismos não coliformes não conta com estas enzimas, eles não podem se reproduzir e interferir. Os poucos não coliformes que tem estas enzimas são seletivamente suprimidos pela

matriz especificamente formulada do Colilert®. Esta abordagem diminui a incidência de falso-positivos e falso-negativos (IDEXX, 2016).

A metodologia utilizada é a mesma constante na Decisão de Diretoria nº 134/2007/P (CETESB, 2007) na qual, com auxílio de uma pipeta esterilizada foi transferida 10 mL da amostra bruta para um tubo com 90 mL de água destilada. Preparou-se assim, a primeira diluição decimal (10^{-1}), sendo que 1 mL da mesma corresponde à 0,1 mL da amostra e assim procederam-se para as diluições seguintes. Homogeneizou-se o frasco contendo a diluição 10^{-1} e com uma nova pipeta transferiu-se 10 ml para um novo frasco contendo 90 mL de água destilada, conseguindo assim a segunda diluição decimal (10^{-2}), sendo que 1 mL da mesma corresponde a 0,01 mL da amostra. Procedeu-se desta maneira para as diluições nas sequências desejadas (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , ...). Agitou-se o frasco com a primeira diluição realizada e foi inoculado 1 mL da diluição em cada um dos tubos de meio Colilert®. O procedimento se repetiu mesma forma com as diluições seguintes conforme ilustra a Figura 7.

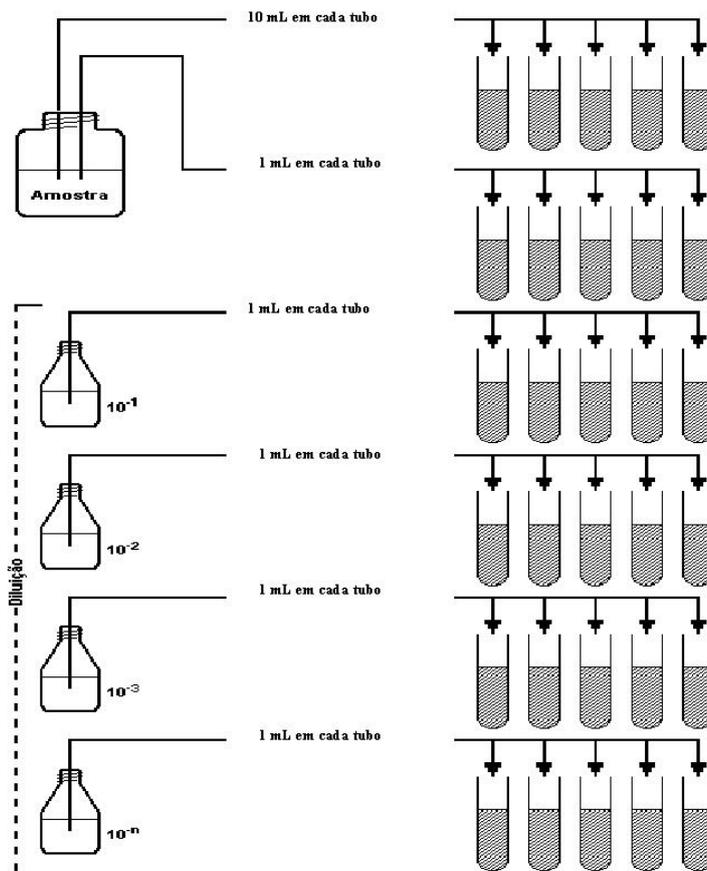


Figura 7. Inoculação da amostra e volumes decimais (CETESB, 2007).

3.5. Teste de *Allium cepa*

O teste com sementes de *Allium cepa* foi realizado de acordo com CARITÁ e MORALES (2008). As sementes da espécie *Allium cepa* L. var. baia periforme foram expostas a diferentes concentrações das amostras de água coletadas (25%, 50% e 100%) em placas de petri. Em cada placa foram colocadas cinquenta sementes sobre papel filtro, sendo usadas duas placas para cada concentração, totalizando cem sementes. As placas de petri com as sementes foram cobertas e armazenadas desprovidas da luz durante o período de germinação até o crescimento da plântula. Para o controle negativo foi utilizada água destilada e para o controle positivo as sementes foram expostas à solução de sulfato de cobre (0,0002 g/L), visto que esta substância já demonstrou inibir de forma satisfatória o crescimento das raízes de *Allium cepa* (SOUZA e.t al, 2014).

As sementes ficaram armazenadas por um período de cinco dias, posteriormente foi efetuada a contagem das plântulas que germinaram para a avaliação da toxicidade. As plântulas foram coletadas e fixadas em solução na proporção de três partes de etanol para uma parte de ácido acético (3:1) por 24 horas. Depois deste período as lâminas foram confeccionadas da seguinte forma: as plântulas foram lavadas com água destilada e colocadas em HCl4N para hidrólise, por 25 minutos à temperatura ambiente; após foram lavadas novamente com água destilada e coradas com *Giemsa*, por aproximadamente 15 minutos; após lavadas com água destilada, o material foi colocado sobre uma lâmina junto a 1 gota de ácido acético 45%, e ali picotada; a seguir foi realizado *squashing* suavemente com a lamínula e a lamínula foi retirada. Ao final, as lâminas foram deixadas *overnight* para secagem e então a lamínula foi fixada sobre a lâmina com Entellan®. A análise foi realizada em microscópio óptico no aumento de 1000 X com óleo de imersão. Foram contadas 500 células por lâmina, para um total de 5000 células por amostras.

A atividade citogenotóxica das amostras foi analisada a partir da frequência do índice mitótico, através da razão entre o número de células em divisão (metáfase, anáfase e telófase) e o número total de células analisadas (TCA). Através de parâmetros macroscópicos foi realizada a análise da toxicidade através da contagem das sementes que germinaram e a avaliação ocorreu por meio do índice de germinação a partir do cálculo da razão entre o número de sementes germinadas e o número total de sementes por placa. O parâmetro para avaliação do efeito genotóxico foi representado pelas frequências de micronúcleos (MN), frequências de brotos nucleares e alterações cromossômicas totais.

3.6. Análise estatística

A normalidade dos dados foi avaliada usando o teste *Kolmogorov-Smirnov*. As variáveis de citogenotoxicidade apresentaram distribuição não-paramétrica então, foi utilizado o teste de *Kruskal-Wallis* associado ao teste de *Dunn* para múltiplas comparações. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos. As análises estatísticas utilizaram o programa *Graphpad Prism* versão 5.0 (*GraphPad*) para as diferentes comparações.

Para as análises de correlações foi utilizada função RQUAD do Microsoft Excel na qual reflete a extensão de uma relação linear entre conjuntos de dados, onde a correlação se apresenta mais intensa quando se aproxima de 1 (100%). Para análise integrada dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos, foi realizada a Análise de Componentes Principais ou *Principal Component Analysis* (PCA) através do software Past 3.14, sendo esta uma técnica de estatística multivariada que consiste em transformar um conjunto de variáveis originais em outro conjunto de variáveis de mesma dimensão denominadas de componentes principais (VARELLA, 2008).

4. RESULTADOS

4.1. Análises físico-químicas da água nos pontos amostrados do arroio Demétrio

Os resultados das análises físico-químicas indicaram uma significativa variação da classificação de qualidade da água entre os pontos analisados ao longo do curso do arroio Demétrio (Anexo I). Em todas as amostras analisadas apenas o padrão de cor obteve alteração que resultasse no enquadramento em Classe 4 (Tabela 3), ou seja, a classificação mais baixa conforme determina a Resolução CONAMA nº 357/2005.

Conforme a Tabela 4, para os elementos químicos, o enquadramento do ferro ficou em Classe 3 em todos os pontos coletados, sendo que a sua elevação foi gradual entre os pontos, sendo o maior nível encontrado no ponto 3 (0,495mg/L) e o menor no ponto 1 (0,137 mg/L). O padrão físico-químico com uma maior variação foi o cobre dissolvido que classificou a água no ponto 1 como Classe 1 ($< 0,006$ mg/L) e teve um aumento significativo no ponto 2 (0,021 mg/L) em que a água foi classificada em Classe 4, sendo que este apresentou uma diminuição no ponto 3 (0,012 mg/L), onde enquadrou-se na Classe 3. O manganês também foi um metal que classificou os pontos 2 e 3 como Classe 3, com 0,172 mg/L e 0,146 mg/L respectivamente. Outro metal que se encontrou como Classe 3, apenas no ponto 3, foi o alumínio dissolvido, onde o aumento da concentração apresentou-se de forma gradativa (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos das águas nos pontos amostrados do arroio Demétrio comparado com os enquadramentos de Classe de acordo com a Resolução CONAMA nº 357/2005: Classe 1 (verde), Classe 2 (não encontrado neste estudo), Classe 3 (amarelo) e Classe 4 (vermelho).

Parâmetros	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3
Alumínio dissolvido (mg/L)	< 0,006	0,089	0,127
Cádmio (mg/L)	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0006
Chumbo (mg/L)	< 0,004	< 0,004	< 0,004
Cloreto (mg/L)	4,938	7,977	6,837
Cobalto (mg/L)	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Cobre Dissolvido (mg/L)	< 0,006	0,021	0,012
Cromo Total (mg/L)	< 0,003	< 0,003	< 0,003
Ferro Dissolvido (mg/L)	0,137	0,445	0,495
Fluoreto (mg/L)	0,086	0,118	0,125
Manganês (mg/L)	0,052	0,172	0,146
Mercúrio (mg/L)	< 0,0002	< 0,0002	< 0,0002
Níquel (mg/L)	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Nitrato (mg/L)	2,433	2,142	3,186
Sulfato (mg/L)	1,868	3,455	3,041
Zinco (mg/L)	< 0,006	< 0,006	< 0,006
Turbidez (UNT)	3,35	6,14	7,48
Cor (MG Pt/L)	92,35	178,61	188,39
pH	6,5	6,7	6,8
Temperatura da água (°C)	21,7	22,5	23,6

Considerando a análise total dos resultados, o ponto 1 (nascente) do arroio Demétrio apresenta, com exceção da cor e da quantidade de ferro, o enquadramento de suas águas como Classe 1. A cor enquadrou todos os pontos amostrados como Classe 4, tendo um aumento crescente do ponto 1 para o ponto 3 e proporcional com o aumento da turbidez (que se manteve como Classe 1 em todos os pontos amostrados), sendo este um dos fatores de interferência no critério de cor. Outro fator importante na alteração da cor é a presença de alguns metais pesados, como o ferro, que apresentou níveis de enquadramento Classe 3 em todos os pontos amostrados, bem como a relativa proporcionalidade de variação com a cor em cada ponto amostrado (Figura 8). O manganês também é um metal que interfere no padrão de cor, apresentando níveis de enquadramento Classe 3 nos pontos 2 e 3, com uma pequena redução do ponto 3 para o ponto 2, não podendo atribuir proporcionalidade específica para o critério de cor, apesar de ser um fator de contribuição.

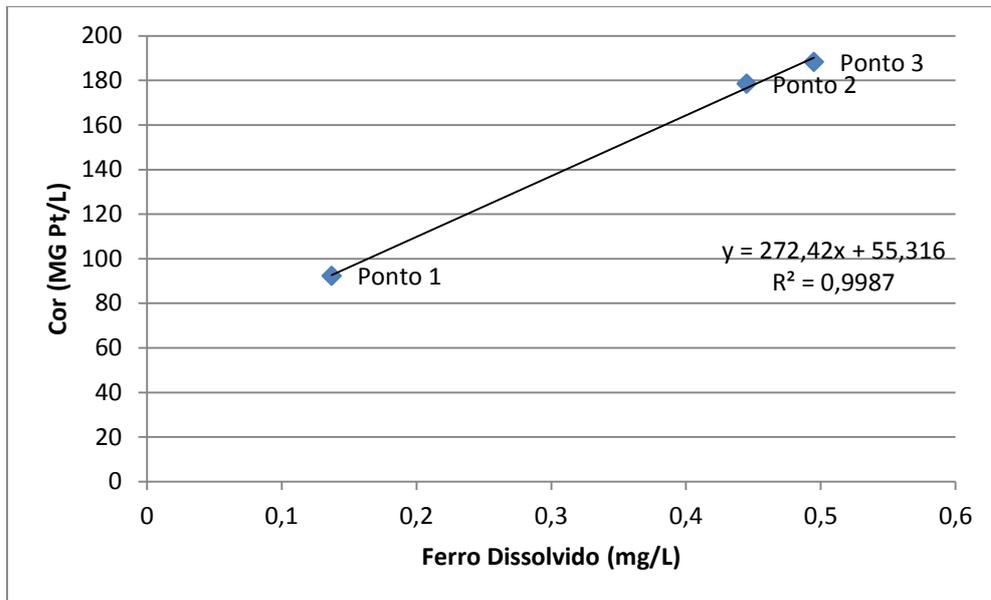


Figura 8. Correlação entre os padrões de Cor e Ferro dissolvido em relação aos três pontos amostrados no arroio Demétrio.

Outro fator que correlaciona os índices de ferro dissolvido, assim como o alumínio dissolvido, a fatores naturais oriundos do solo é a distribuição crescente dos níveis encontrados em relação à distância dos pontos amostrais, conforme ilustra a Figura 9.

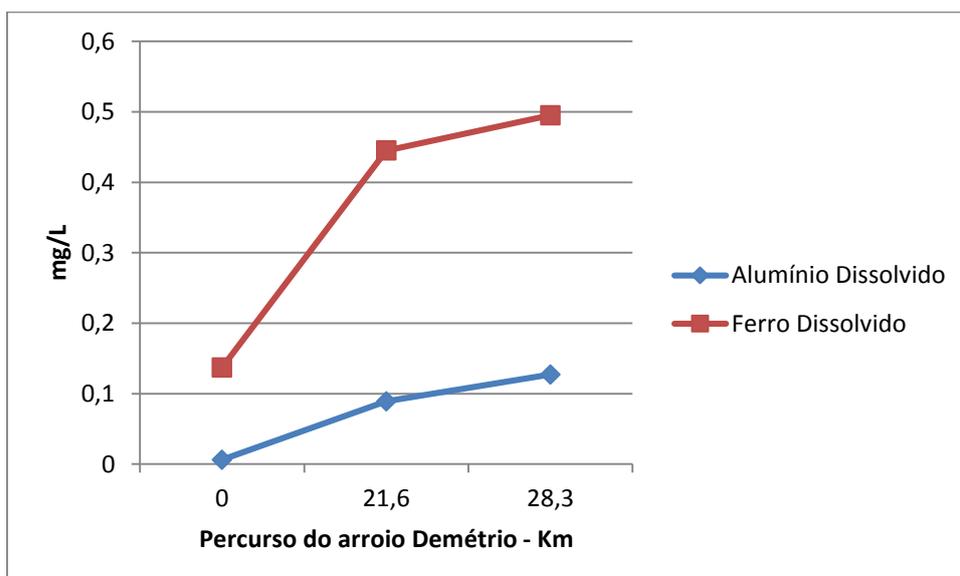


Figura 9. Comparativo entre o alumínio dissolvido e o ferro dissolvido encontrados na água em relação à distância entre os pontos coletados no arroio Demétrio, demonstrando a forte correlação.

A análise de correlações entre o alumínio dissolvido, o ferro dissolvido e a distância em que o arroio Demétrio percorre são muito intensas com uma correlação de 0,98 (RQUAD), fortalecendo a hipótese de aumento natural das concentrações desses dois elementos, não sendo encontrados picos de concentrações anômalas.

Dentre os elementos analisados, o que apresenta fortes características de impactos antrópicos é o cobre dissolvido, cuja a alta concentração não apresenta correlação com possíveis contribuições naturais do solo. O grande aumento de concentração no ponto 2 enquadra-o como Classe 4 conforme a CONAMA nº 357/2005, e a redução da concentração no ponto 3, classifica-o como Classe 3, evidenciando um ponto de descarga deste componente no percurso entre os pontos 1 e 2 (Figura 9).

Outro elemento que também apresentou uma alta concentração foi o manganês, que mesmo não atingindo o enquadramento mais baixo (Classe 4) reduziu a qualidade do arroio quanto a este parâmetro, de Classe 1 no ponto 1 para Classe 3 nos pontos 2 e 3. A concentração, como no caso do cobre dissolvido, também aparenta estar relacionada a impactos antrópicos, visto que teve a maior concentração no ponto 2 e uma evidente diluição no ponto 3, conforme demonstrado na Figura 10.

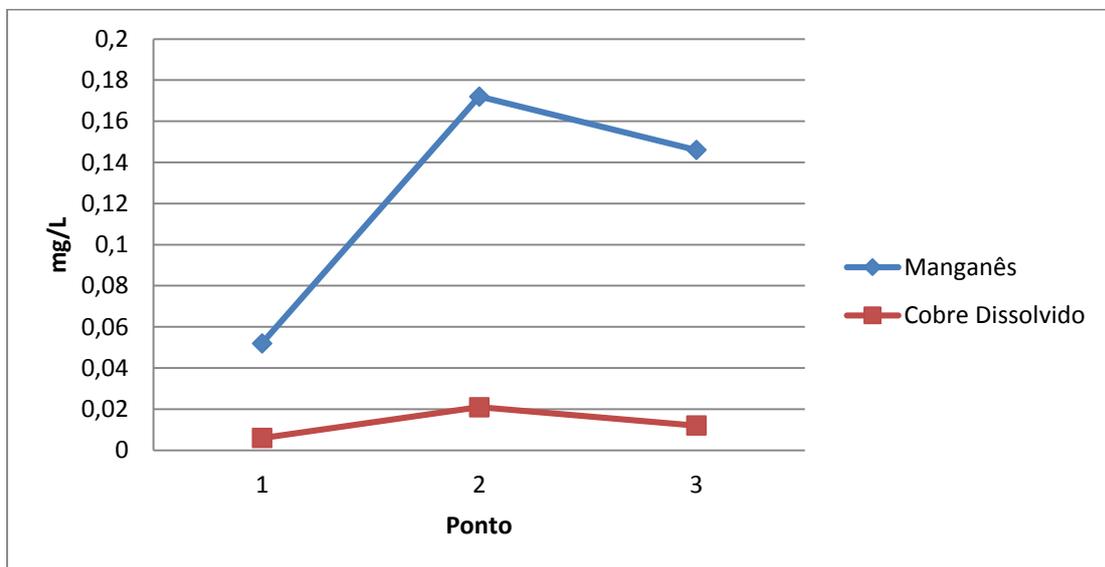


Figura 10. Resultado das análises de cobre dissolvido e manganês nos três pontos amostrais do arroio Demétrio.

4.2. Análises Microbiológicas da água nos pontos amostrados do arroio Demétrio

Os resultados obtidos mostraram que todos os pontos tiveram presença de coliformes totais e termotolerantes (ou fecais), tanto no ponto próximo a nascente (ponto 1) quanto antes e após a passagem pela área de maior densidade urbana (pontos 2 e 3). O valor dos coliformes totais foi de NMP 54.000/100 mL em todos os pontos amostrados. Para os coliformes termotolerantes foi observada uma variação entre os pontos, sendo o maior valor encontrado no ponto 3 com NMP 1700/100 mL enquadrando este ponto como Classe 3, enquanto os dois pontos a montante (ponto 1 e 2) se enquadram como Classe 2 conforme a resolução CONAMA 357/2005, após a saída da área de maior densidade urbana (Figura 11).

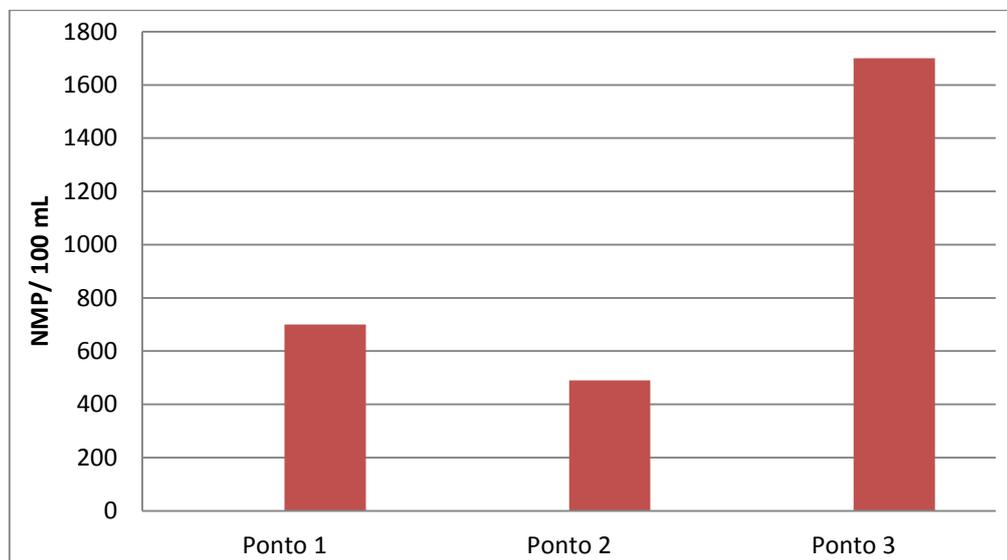


Figura 11. Níveis de coliformes termotolerantes nos três pontos amostrados no arroio Demétrio (NMP/100 mL).

O ponto 1, localizado próximo a nascente, era esperado um valor zero ou próximo de zero para coliformes termotolerantes, pois se presume que quanto mais próximo ao agente formador, menos afetado por possíveis contaminações antrópicas de organismos patogênicos seria o curso hídrico. Os resultados indicaram um NMP de 700/100 mL para coliformes termotolerantes no ponto 1, valor maior do que o ponto 2 que obteve NMP 490/100 mL e que se encontra visualmente mais antropizado.

4.3. Análise integrada dos fatores físico-químicos e microbiológicos (Análise de Componentes Principais)

A análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para investigar as relações entre os parâmetros microbiológicos e os parâmetros físico-químicos encontrados nos pontos amostrados do arroio Demétrio. Os resultados obtidos permitiram constituir, através da representação de vetores, dois componentes distintos de relações, o componente 1 separou o ponto 1 dos demais pontos e de todos os parâmetros analisados.

Conforme a representação na Figura 12, o ponto 1 pode ser considerado como o de melhor qualidade da água, não sendo atribuído a este ponto o aumento das concentrações da maioria dos elementos analisados, pois o componente 2 separou de forma mais intensa apenas a presença de coliformes e nitratos e de forma menos intensa a temperatura. Já o componente 1 relacionou os demais critérios com os pontos 2 e 3, atribuindo a eles a intensidade dos dados, incluindo o aumento das concentrações, indicando o declínio da qualidade ambiental do arroio Demétrio.

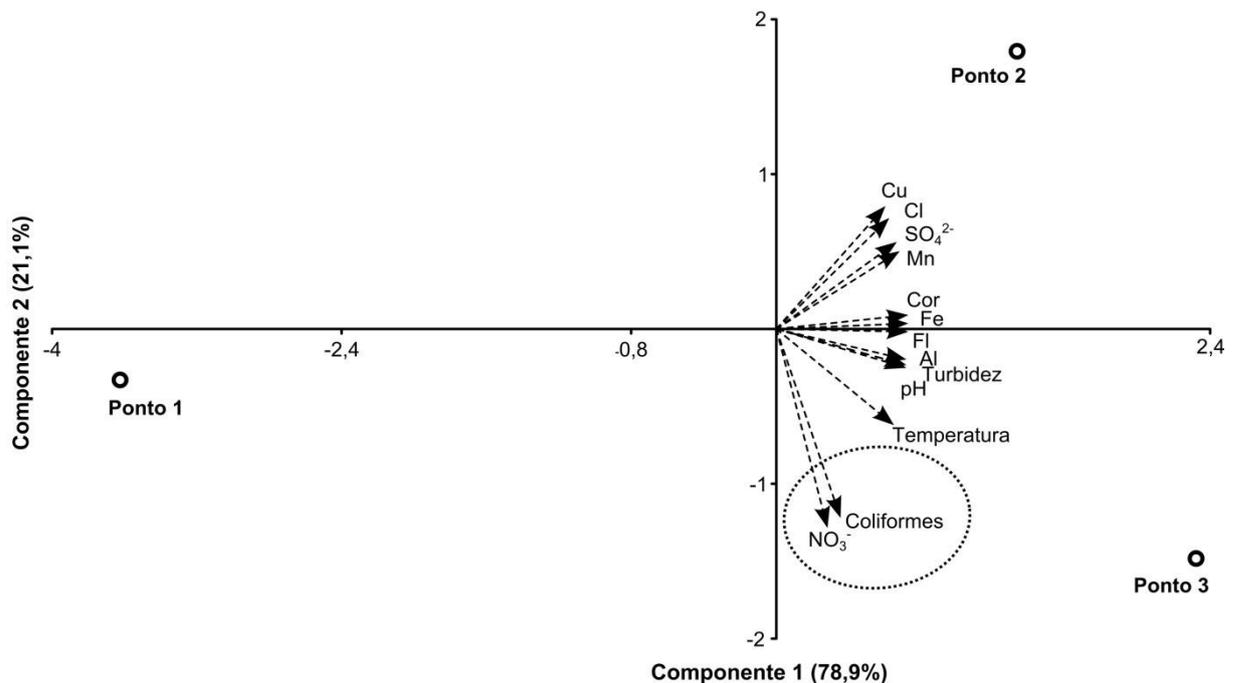


Figura 12. Análise de Componentes Principais (PCA) dos elementos físico-químicos e microbiológicos analisados nos pontos amostrados do arroio Demétrio. Componente 1, com 78,9% de afinidade, separa o componente 2 com 21,1% de afinidade.

4.4. Análises Citogenotóxicas da água nos pontos amostrados do arroio Demétrio

Os resultados obtidos demonstraram alterações significativas por pontos de coleta em relação ao índice germinativo, índice mitótico, frequência de micronúcleos, frequência de brotos nucleares e frequência de alterações cromossômicas. A Figura 13 apresenta algumas das alterações encontradas neste estudo.

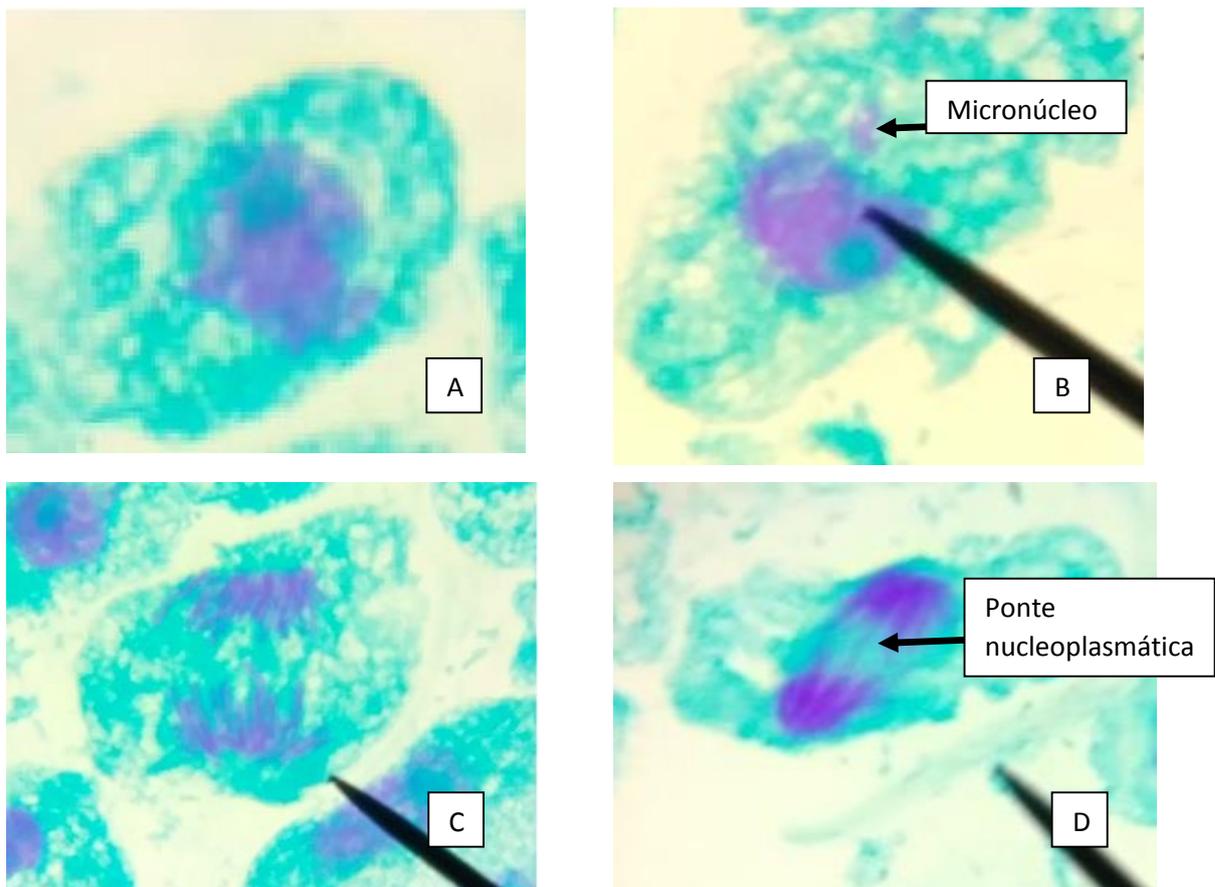


Figura 13. Alterações decorrentes da exposição das amostras de água coletadas do arroio Demétrio. A- célula normal; B- célula com a presença de micronúcleo; C- célula em anáfase; e D- célula em anáfase com ponte nucleoplasmática.

Os índices germinativos (Figura 14) das plântulas de *Allium cepa* não tiveram variações significativas, estando todos com germinação superior à 80%. O ponto 1 obteve o melhor índice de germinação das sementes, com 91% e o ponto 3 o menor índice, com 86% de germinação.

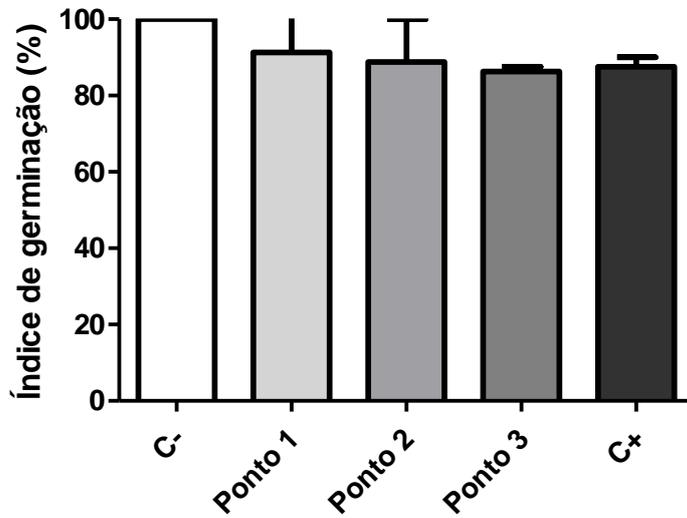


Figura 14. Índice de germinação (%) das sementes de *Allium cepa* expostas às amostras de água dos diferentes pontos do arroio Demétrio (Teste de *Kruskal- Wallis*). Controle negativo (C-) = água destilada e controle positivo (C+) = sulfato de cobre (0,0002 g/L).

Em relação ao índice mitótico (IM), conforme demonstrado na Figura 15, apesar de não ter sido constatada uma variação significativa foi possível observar uma variação decrescente do índice mitótico do ponto 1 ao ponto 3. Neste caso a quantidade de células em processo de mitose teve um indicativo de tendência de redução na medida em que o arroio Demétrio foi se aproximado ao Rio Gravataí.

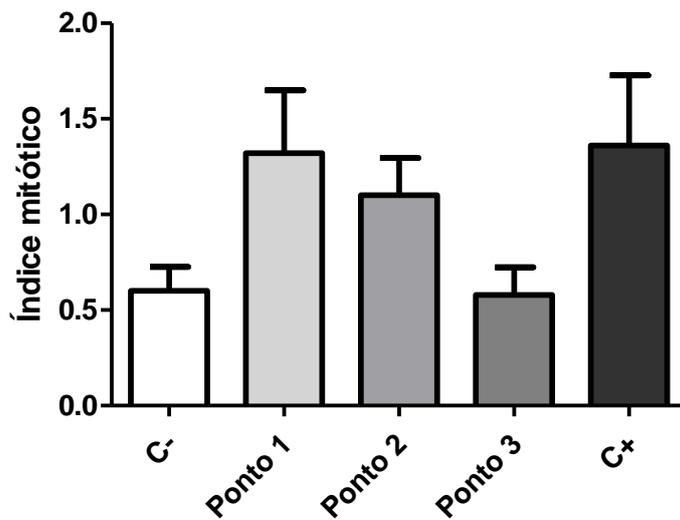


Figura 15. Índice mitótico em células de *Allium cepa* expostas às amostras de água dos diferentes pontos do arroio Demétrio (Teste de *Kruskal-Wallis*, $p < 0,05$). Controle negativo (C-) = água destilada e controle positivo (C+) = sulfato de cobre (0,0002 g/L).

Na frequência de micronúcleos nas células, ou seja, alterações genéticas que produzem além do núcleo celular um pequeno núcleo, de acordo com a Figura 16, foi possível constatar que os pontos 1 e 2 obtiveram variações significativa em relação ao controle negativo ($p < 0,01$).

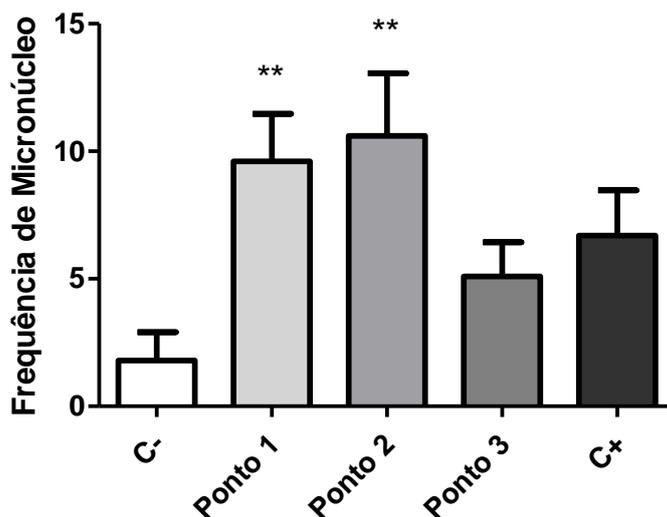


Figura 16. Frequência de micronúcleos observada em células meristemáticas de *Allium cepa* expostas às amostras de água dos diferentes pontos do arroio Demétrio. **Diferença significativa em relação ao grupo controle negativo (C-) (** $p < 0,01$) (Teste de *Kruskal-*

Wallis). Controle negativo (C-) = água destilada e controle positivo (C+) = sulfato de cobre (0,0002 g/L).

Seguindo padrões similares a presença de micronúcleos, conforme demonstra a Figura 17, a frequência de outra anormalidade genética, o broto nuclear em células meristemáticas, também teve o ponto 2 com maior frequência, e o ponto 3 com a menor. Nesta análise foi possível observar uma variação significativa no ponto 2 em relação ao controle negativo ($p < 0,01$).

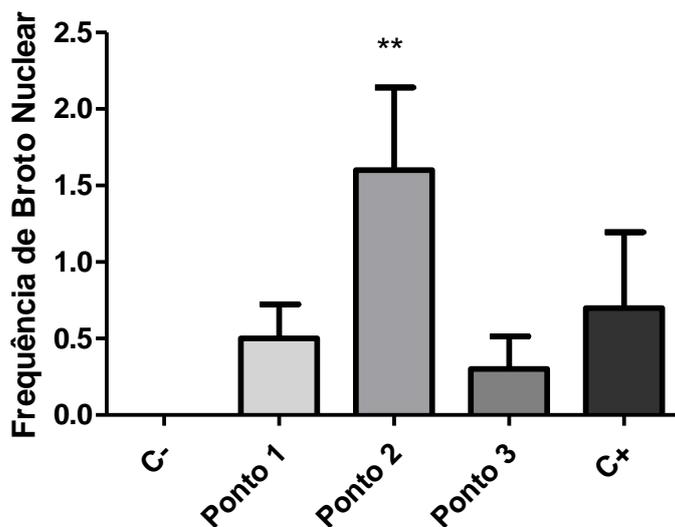


Figura 17. Frequência de broto nuclear observada em células meristemáticas de *Allium cepa* expostas às amostras de água dos diferentes pontos do arroio Demétrio. **Diferença significativa em relação ao grupo controle negativo (C-) ($**p < 0,01$) (Teste de *Kruskal-Wallis*). Controle negativo (C-) = água destilada e controle positivo (C+) = sulfato de cobre (0,0002 g/L).

Conforme as análises da frequência das alterações cromossômicas representadas pela Figura 18 (anáfase com ponte núcleo plasmática, micronúcleo em telófase, anáfase com perda cromossômica, interfase com ponte núcleo plasmática, metáfase com perda cromossômica e telófase com ponte núcleo plasmática) observada em células meristemáticas de *Allium cepa*, foi possível observar uma variação significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle negativo no ponto 1 e uma variação significativa ($p < 0,01$) no ponto 2.

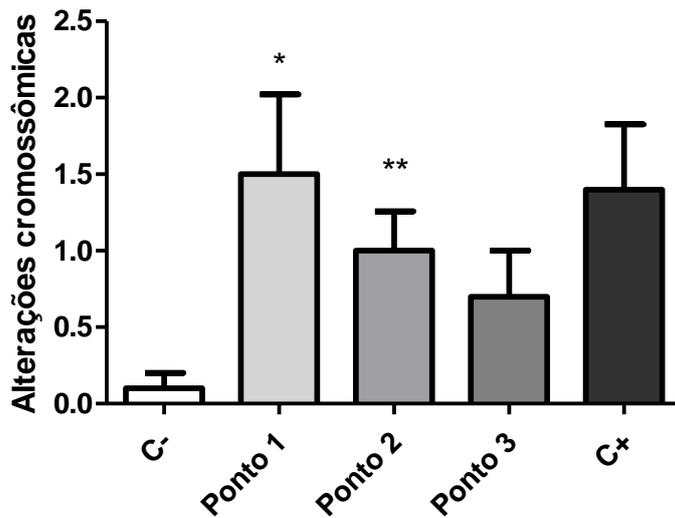


Figura 18. Frequência das alterações cromossômicas observada em células meristemáticas de *Allium cepa* expostas às amostras de água dos diferentes pontos do arroio Demétrio. Diferença significativa em relação ao grupo controle negativo (C-) (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$) (Teste de *Kruskal-Wallis*). Controle negativo (C-) = água destilada e controle positivo (C+) = sulfato de cobre (0,0002 g/L).

Juntando todos os resultados acima é possível verificar que os índices de germinação e os índices mitóticos não obtiveram variações significativas, enquanto a frequência de micronúcleos, a frequência de brotos nucleares e as alterações cromossômicas totais obtiveram variações significativas entre os pontos 1 e 2 em relação ao controle negativo (água destilada).

5. DISCUSSÃO

Em estudos anteriores realizados para o Plano de Bacia do Rio Gravataí, nos meses de março e julho de 2011, foram realizadas duas coletas no arroio Demétrio, próxima a foz do Rio Gravataí para seu enquadramento de classe (Tabela 1). No arroio Demétrio, apenas a Cor Verdadeira atingiu valores enquadrados na Classe 4. Na campanha de verão as variáveis Sulfeto, Manganês, Fósforo Total e Ferro Dissolvido atingiram níveis da Classe 3, enquanto que as demais variáveis analisadas mantiveram-se constantes na Classe 1. Densidades elevadas de coliformes totais foram constatadas, com o máximo de 34.480 NMP/100 mL registrado na campanha de verão. A maior densidade de coliformes totais observada, bem como de fósforo total e Demanda Química de Oxigênio (DQO) no verão podem estar associados à menor diluição de efluentes domésticos provenientes do município de Gravataí, localizado a montante do ponto de coleta (RIO GRANDE DO SUL et al., 2012). Os levantamentos apontaram que independente da época do ano a alteração da cor verdadeira reduz a qualidade do arroio Demétrio enquadrando-o como Classe 4, ou seja, a mais baixa classificação de um curso hídrico. Os sulfetos também apresentaram significativa preocupação, aparecendo com enquadramento Classe 3 nas duas campanhas realizadas.

Os resultados encontrados apontaram a presença de metais pesados nas águas do arroio Demétrio acima dos padrões aceitáveis pela Resolução CONAMA nº 357/2005, sendo eles o ferro (Fe), o manganês (Mn), o alumínio (Al) e o cobre (Cu). A presença destes metais pode estar associada a várias condições, desde fatores naturais vinculados ao tipo de solo até poluentes agrícolas, domésticos e industriais. Independente da forma de contaminação destes metais na água, a forma dissolvida tende a apresentar maior risco aos organismos. ESPERICUETA et al. (2003) fez um estudo de toxicidade com larvas de camarões (*Litopenaeus vannamei*) nos quais estes foram submetidos aos metais cobre, zinco, ferro e manganês e concluíram que os metais na fase dissolvida apresentam maior toxicidade aos organismos, pois são absorvidos com maior facilidade do que em frações de partículas. RIBEIRO et al. (2012) fez um levantamento dos poluentes que interferiam na qualidade da água do Rio São Francisco no estado de Minas Gerais e vinculou os elementos encontrados ao tipo de contaminante: ferro, alumínio e manganês estavam relacionados a poluição doméstica; cobre, cádmio e níquel foram originários de poluição urbano-industrial; na área industrial foram encontrados associados ao lançamento de efluentes líquidos os metais alumínio, ferro, bário, chumbo e cromo com um pico de zinco em suspensão; e a presença de cobre e cádmio estava vinculada a uso agrícola.

De acordo com a FUNASA (2013), a cor da água é proveniente da matéria orgânica, substâncias húmicas, taninos, resíduos industriais fortemente coloridos e também dos metais como ferro e manganês e o que corrobora a correlação do aumento do ferro e da cor. Os níveis encontrados de ferro dissolvido que variou de 0,137 mg/L do ponto 1 até 0,495 mg/L no ponto 3, enquadra os três pontos amostrados como Classe 3 deixando, conforme a CONAMA nº 357/2005, o arroio apto ao abastecimento para consumo humano (após tratamento convencional ou avançado), a irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras, a pesca amadora, a recreação de contato secundário e a dessedentação de animais. Estas altas concentrações de ferro podem ser atribuídas aos tipos de solos em que o arroio Demétrio se encontra. Conforme o Mapa Exploratório de Solos do Rio Grande do Sul (IBGE, 2002) o solo predominante da região onde se encontra o arroio Demétrio é o Argissolo Vermelho-Amarelo Álico que conforme a Agência Embrapa de Informação Tecnológica - AGEITEC (2017) possui cor vermelho-amarelada devido à presença dos óxidos de ferro, hematita e goetita, podendo o óxido de ferro ser a explicação para os altos níveis de ferro dissolvidos encontrados na água. O aumento gradativo do teor de alumínio dissolvido que chega a enquadrar o arroio Demétrio como Classe 3 no ponto 3, com 0,127 mg/L, também pode estar associado ao tipo de solo, pois o Argissolo Álico, em que o curso hídrico percorre no seu maior trecho, apresenta limitações químicas devido à baixa fertilidade natural, forte acidez e alta saturação por alumínio (ATLAS SOCIOECONÔMICO DO RIO GRANDE DO SUL, 2017). De acordo com AGEITEC (2018) o caráter alítico refere-se também ao teor de alumínio extraível igual ou maior do que 4 cmolc/kg de solo, a saturação por alumínio ($100 \text{ Al}^{+3}/\text{S}^{+} \text{ Al}^{+3}$) igual ou maior do que 50% e/ou saturação por bases (V% menor do que 50% - solos Distróficos), sendo, neste caso, associada à atividade de argila igual ou maior do que 20 cmolc/kg de argila, justificando o aumento gradativo da concentração de alumínio na água do arroio Demétrio.

Outro elemento encontrado em concentração elevada, enquadrando o arroio Demétrio como Classe 4 no ponto 2 é o cobre cujo valor encontrado foi de 0,021 mg/L ultrapassando os limites estabelecidos na Classe 3 de 0,013 mg/L, e que conforme a CONAMA nº 357/2005, deixa este percurso do arroio apto apenas para navegação (atividade não evidenciada nos estudos realizados) e harmonia paisagística. Conforme BENITES et al. (2014), o cobre pertence ao grupo dos metais pesados que são importantes poluentes do solo e da água devido à frequente utilização destes nas atividades agrícolas, estando presentes em diversos produtos, incluindo agrotóxicos. Além disso, estes compostos podem ser absorvidos e armazenados no organismo de animais, inclusive naqueles utilizados para consumo humano, como o peixe

(BENITES et al., 2014). Apesar das imagens de satélite não identificarem grandes áreas de cultivos agrícolas próximo aos pontos amostrados do arroio Demétrio, pequenas propriedades rurais e áreas de silvicultura foram visualizadas, explicando a contaminação de cobre das águas por defensivos agrícolas. Outra possibilidade da alta concentração do cobre dissolvido no ponto 2 seria uma descarga industrial de compostos de cobre que são geralmente adicionados em águas onde os parâmetros variam consideravelmente (SAMPAIO; BOIJINK; RANTIN, 2013) o que também poderia justificar o aumento significativo da concentração deste elemento no percurso compreendido entre o ponto 1 e ponto 2, visto a evidente redução de concentração no ponto 3. De acordo com BARBOSA et al. (2010) a concentração de cobre acima dos limites estabelecidos pelos órgãos reguladores pode ocasionar danos no DNA e a formação de câncer.

O manganês, que também apresentou uma variação similar ao cobre dissolvido nos pontos amostrados do arroio Demétrio, também pode estar vinculado às atividades das pequenas propriedades agrícolas e áreas de silvicultura. Conforme MENEZES et al. (2009), este se encontra em resíduos de fertilizantes e fungicidas, como o Mancozeb e o Manzate 800 (nomes comerciais), o que pode justificar as grandes concentrações nas águas superficiais deste estudo.

Na pesquisa desenvolvida pela Fundação de Economia e Estatística - FEE (2012), entre os anos de 2006 e 2009, na qual considerou as classificações do potencial poluidor das indústrias (alto, médio ou baixo), o Índice de Dependência das Atividades Potencialmente Poluidoras da Indústria (Indapp-I) e o Índice de Potencial Poluidor da Indústria (Inpp-I), dos municípios do Rio Grande do Sul em relação aos riscos ambientais, obteve resultados que colocaram o município de Gravataí em 4º colocado no *ranking* de relações entre produção industrial e riscos ambientais. Tal informação destaca o possível risco dos corpos hídricos serem atingidos por contaminantes industriais, dentre eles, os metais pesados como o cobre e o manganês, nos quais foram encontrados neste estudo e que baixaram a qualidade da água do arroio Demétrio.

O lançamento de efluentes orgânicos na água gera um dos principais veículos de transmissão de microrganismos patogênicos, que por sua vez ocasionam inúmeras doenças gerando impactos no âmbito social, econômico e político (MÁRQUEZ et al., 1994). Desta forma, o monitoramento dos níveis de coliformes termotolerantes nos cursos hídricos onde ocorrem as captações de água e as atividades de recreação deve ser realizado periodicamente com o objetivo de promover a saúde pública. Conforme relatos populares realizados no dia das coletas de água deste estudo e pelos indícios evidenciados junto aos pontos de coleta

(trilhas e lixo), foi possível verificar que o arroio Demétrio é utilizado para atividades de recreação como banho e pesca. Mesmo não encontrando pontos de captação de água no arroio Demétrio, o mesmo deságua no rio Gravataí, que possui captação realizada pela Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN) e que, constantemente, tem sua captação interrompida pela baixa qualidade da água, prejudicando o abastecimento de várias cidades (CORSAN, 2016). Conforme BOURSCHEID et al. (2012) o Rio Gravataí abastece 100% da população da cidade de Gravataí e uma parte dos municípios de Alvorada e Viamão.

De acordo com a Resolução CONAMA nº 357/2005, nas águas classificadas como Classe 1 não deve ser excedido o limite de 200 coliformes termotolerantes por 100 mL em 80% das amostras ou mais, de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Pode-se sugerir, já que foram realizadas apenas uma amostragem, que em relação aos aspectos microbiológicos analisados, os pontos tiveram resultados que variavam entre as Classes 2 e 3. O ponto 1, no qual é possível observar o uso da água para atividade de recreação com a presença de trilha junto ao local, indica que a área é utilizada para banho, e mesmo estando próximo a nascente, recebe uma carga de coliformes termotolerantes que o enquadraria como Classe 2, assim como o ponto 2 que antecede a área com maior densidade urbana e, conforme relato, é utilizado para atividades de pesca amadora. Devido à visível vulnerabilidade social e a falta de saneamento básico da maior parte da população residente no percurso entre os pontos 2 e 3, o último ponto (ponto 3) se enquadrou como Classe 3 com o acentuado NMP de coliformes termotolerantes de 1700/100 mL, sendo este, conforme relatos, utilizados para atividades recreativas de banho e pesca. O aumento da densidade urbana em locais com ausência de sistema de coleta de esgotos causa o aumento da concentração de coliformes termotolerantes ao longo dos cursos hídricos que vão passando por áreas habitadas, vindo de encontro aos resultados de ALVES et al. (2015) que realizaram um estudo ao longo do Canal de Passagem localizado na cidade de Vitória/ES e afirmam que os locais mais afetados com poluição fecal estão mais próximos às fontes de contaminações e os menos afetados ficam mais distantes. O estudo realizado por OLIVEIRA et al. (2012) ao longo do arroio Dilúvio, localizado nos municípios de Viamão e Porto Alegre/RS, também confirmou esta tendência, com exceção do último ponto (próximo ao deságue no lago Guaíba) no qual teve redução no NMP de coliformes termotolerantes, pois sofreu interferência da variação de águas do Lago Guaíba. É importante ressaltar que a escolha do ponto 3 deste estudo ocorreu em local distante aproximadamente 2,8 Km do Rio Gravataí, justamente para não sofrer interferência da variação de água do rio na amostragem do arroio Demétrio.

O estudo realizado por MASO (2008), utilizando as informações da CORSAN, constatou um grande déficit de serviços de esgotamento sanitário nas cidades do RS. A infraestrutura beneficia apenas uma parcela dos moradores e não disponibiliza a integralidade desses serviços, pois, em geral, as redes apresentam uma baixa cobertura urbana, com exceção de algumas cidades, como Porto Alegre, Caxias do Sul, Pelotas, Bagé, Santana do Livramento e São Leopoldo. A capacidade das estações de tratamento é muito limitada e, por isso, ocorrem os despejos das águas residuais poluídas diretamente nos mananciais, rios, lagos e mar. O estudo apresenta informações referentes ao ano de 2006 do município de Gravataí, no qual o arroio Demétrio percorre seu maior trecho, e destaca como um dos municípios com maior quantidade de atendimento sanitário, sendo coletado para tratamento 48,1% do esgoto da cidade. Mesmo assim a maior parte segue sendo lançada de forma irregular e pode ser a principal razão para os altos índices de coliformes encontrados neste estudo.

O nível de coliformes encontrado próximo a nascente (ponto 1) provavelmente está relacionada a presença de residências e pequenas criações de animais em propriedades rurais localizadas em cota superior (Figura 19) nas quais varia entre 20 e 30 metros em relação ao arroio Demétrio, e podem lixiviar seus resíduos caso o sistema de fossa e sumidouro não sejam bem projetados. VANZELA et al. (2010) afirma que as áreas habitadas, principalmente as moradias rurais, tendem a aumentar os índices de coliformes termotolerantes em suas águas em virtude dos dejetos e lixos lançados em aterros domésticos, além da criação de animais nos arredores das moradias.



Figura 19. Mapa do perfil de elevação do ponto 1 (nascente) no arroio Demétrio (Google Earth, 2017).

Os resultados indicam que deve haver uma preocupação em especial das condições do ponto 3 pois este, de acordo com as análises microbiológicas, foi considerado impróprio para a utilização que envolva o contato direto com a água, e mesmo não sendo adequado e direcionado para este uso, os relatos apontam a utilização do local para recreação com contato direto. Para os níveis de coliformes termotolerantes encontrados no estudo é possível observar que o ponto 1 é passível de contato direto com a água, tendo NMP inferior a 1000/100 mL; o ponto 2 também possibilita o contato direto com a água, com NMP inferior a 500/100 mL e o ponto 3, que amostrou a saída do arroio com a maior densidade urbana apresentou NMP 1700/100 mL, deixando estas águas impróprias para o uso direto, e autoriza apenas o seu contato secundário.

A análise integrada dos elementos físico-químicos e microbiológicos, realizada através do PCA, demonstrou a divisão dos três pontos de coleta em dois componentes, sendo o Componente 1 composto pelos pontos 2 e 3 representando 78,9% de afinidade dos elementos analisados. O ponto 2 apresentou relação direta com cobre dissolvido, com cloreto, com sulfato e com o manganês, elementos que tiveram a maior concentração neste ponto e posteriormente vieram a se diluir, ficando com concentração menor no ponto 3. Entre os pontos 2 e 3 estão os componentes que tiveram aparente aumento de concentração relacionado a condições naturais do arroio Demétrio, sendo eles: cor, ferro, alumínio, fluoreto, turbidez e pH. O ponto 3 apresentou relação mais intensa com a temperatura, com os coliformes

termotolerantes e com o nitrato. Já o Componente 2, no qual constou o ponto 1, teve apenas 21,1% de afinidade com os elementos, tendo apenas os coliformes termotolerantes e o nitrato como relação, uma vez que estes elementos partiram de uma concentração que foi reduzida no ponto 2 e aumentou novamente no ponto 3, relacionando estes elementos com os pontos 1 e 3.

Os estudos citogenotóxicos são uma importante ferramenta para detectar alterações ocasionadas por diversos contaminantes de corpos hídricos em organismos vivos. SILVA e NASCIMENTO (2013), após estudos realizados com *Allium cepa* com água amostrada do rio Tietê em São Paulo, apontaram que as alterações citogenotóxicas encontradas provavelmente resultam de uma complexa interação dos diversos poluentes de origem doméstica e industrial que são liberados no trecho urbano do rio. Com isso, esta ferramenta deve ser aplicada de forma integrada com levantamentos microbiológicos e físico químicos, para que possa representar a totalidade da qualidade do curso hídrico e seus riscos para as comunidades que fazem utilização da sua água. A entrada de metais tóxicos nas cadeias alimentares por biomagnificações, como, por exemplo, no peixe que é topo da cadeia alimentar aquática e uma parte importante da dieta humana, pode contar com a presença de contaminantes, que mesmo em baixas concentrações, colocam em risco a saúde da população (ANDRADE et al., 2018).

As análises genotóxicas utilizando-se as amostras de águas do arroio Demétrio apontaram as seguintes alterações: presença de micronúcleos, formações de brotos nucleares e alterações cromossômicas (anáfase com ponte nucleoplasmática, micronúcleo em telófase, anáfase com perda cromossômica, interfase com ponte nucleoplasmática, metáfase com perda cromossômica e telófase com ponte nucleoplasmática) que podem estar relacionadas aos índices elevados de metais pesados encontrados nos pontos amostrados (com exceção do ponto 3), sendo as principais alterações encontradas no ponto 2 onde foram encontrados elevados níveis de cobre dissolvido e manganês. A presença destes metais pesados no ponto amostrado vinculou como provável fonte de contaminação o uso de agrotóxicos e fertilizantes próximo ao arroio Demétrio. Corroborando com esta afirmação o estudo realizado por BIANCHI et al. (2011) no rio Mojolinho, localizado no estado de São Paulo, que também apontou o uso de agrotóxicos próximos aos rios como geradores de efeitos citotóxicos e genotóxicos.

Entre os pontos 1 e 2 foi possível constatar um aumento da instabilidade cromossômica. O ponto 2, considerado o ponto de água amostrada de mais baixa qualidade quanto aos aspectos físico químicos também foi o ponto com maiores alterações genotóxicas. As alterações significativas para cobre dissolvido, manganês, ferro e alumínio dissolvido

corroboram com estudos que apontam toxicidade relacionada a concentrações elevadas destes metais. A concentração tóxica de cobre dissolvido, na qual enquadrou o ponto 2 como Classe 4 conforme os critérios da Resolução CONAMA nº 357/2005, vem ao encontro aos estudos realizados por PEDROZO e LIMA (2001) no qual afirmam que o cobre mesmo sendo um elemento essencial aos organismos, em concentrações elevadas passa a desencadear efeitos tóxicos nas células, podendo ser a explicação para as alterações significativas de micronúcleos, brotos nucleares e alterações cromossômicas. MASCHIO (2009) em sua tese de doutorado informou que a presença de metais pesados como o cromo, ferro, cobre, cádmio, chumbo e zinco em ecossistemas aquáticos gera uma grande preocupação ambiental, devido à toxicidade e genotoxicidade destes elementos sob as diversas formas de vida.

Além da toxicidade comprovada do cobre em estudos de *Allium cepa*, este metal também apresenta toxicidade em outros organismos. Estudos realizados por MACEDA et al. (2015) relacionaram o efeito genotóxico do cobre com a formação de micronúcleos em células de peixes. Um experimento realizado por ARAMBASIC et al. (1995) expondo organismos vegetais e animais (*Allium cepa* L., *Lepidium sativum* L., *Daphnia magn*) a diferentes concentrações de cobre, chumbo, zinco, fenol e sódio relacionou o potencial tóxico deste elementos, sendo o cobre o mais tóxico para os três organismos testes. Um experimento realizado em laboratório com peixes de água doce (*Rasboras umatrana* e *Poecilia reticulata*) nos quais foram submetidos a concentrações de oito metais pesados para verificar a toxicidade nos organismos testes, teve resultados que apontaram o cobre como o elemento mais tóxico para ambas espécies, sendo para *Rasboras umatrana* a toxicidade $Cu > Cd > Zn > Pb > Ni > Al > Fe > Mn$ e para *Poecilia reticulata* $Cu > Cd > Zn > Fe > Pb > Al > Ni > Mn$ (OTHMAN et al., 2015).

Outro experimento utilizando organismos testes possibilitou relacionar alguns metais pesados com o grau de toxicidade, OTHMAN et al. (2011) submeteu larvas de quironomídeos (*Chironomus javanus*) a diversos metais pesados medindo a bioconcentração destes elementos nos organismos testes, e elencou os metais por ordem de toxicidade sendo $Cd > Cu > Fe > Pb > Al > Mn > Zn > Ni$. Desta forma é possível verificar que o cobre, e o manganês, que foram elementos com evidentes alterações antrópicas, possuem características de toxicidade. Os resultados obtidos com *Allium cepa* vêm ao encontro de diversos estudos em que apontam a toxicidade de vários metais pesados em organismos testes, tanto vegetais quanto animais. Foi possível comparar e diagnosticar o cobre como um dos metais mais tóxicos tanto para *Allium cepa* quanto para outros organismos, ressaltando a importância de inserir este metal nas mais variadas formas de controle e monitoramento ambiental, tanto em água quanto em solo.

O índice de manganês que obteve interferência antrópica, atingindo o pico de concentração de 0,172 mg/L, sendo classificado como Classe 3, conforme a CONAMA nº 357/2015, não pôde ter sua toxicidade comprovada, devido ao cobre obter maior variação no ponto 2 e ser comprovadamente mais tóxico. Mesmo assim, não deve ser negligenciado, pois concentrações elevadas deste metal podem apresentar toxicidade, conforme foi demonstrado no estudo realizado por LASIER et al. (2000), no qual utilizou *Ceriodaphnia dubia* e *Hyalella azteca* como organismos testes e chegou à conclusão de que o manganês passou a apresentar toxicidade crônica a partir de 3,9 mg/L e aguda a partir de 6,2 mg/L, ou seja, valores muito superiores aos encontrados no arroio Demétrio.

Mesmo o manganês sendo considerado um metal tóxico, o cobre dissolvido apresenta uma toxicidade maior (FISKESJO, 1985) estando vinculado ao cobre as principais alterações genotóxicas do ponto 2. Considerando que a concentração de manganês foi inferior no ponto 3, e considerando que a concentração de cobre também foi reduzida, e o fato de que este ponto não apresentou relações significativas com as análises citogenotóxicas, não se podem atribuir os efeitos tóxicos ao manganês. Corroborando com o estudo realizado por MASCHIO (2009) no qual encontrou uma concentração elevada de manganês nas coletas de água realizadas no rio Preto em São Paulo, e mesmo assim esta elevação não foi suficiente para explicar os efeitos citotóxicos observados nos ensaios realizados, pois, mesmo nos pontos e períodos onde não foram quantificados níveis de manganês acima do padrão estabelecido pela legislação, houve registros de alterações nucleolares, parâmetros indicativos da citotoxicidade da água do rio Preto.

Outros elementos constantes no trabalho como ferro e alumínio, também se encontram na lista de metais tóxicos, porém não tiveram sua relação caracterizada no estudo com *Allium cepa*, visto que no ponto 3, onde tiveram altas concentrações, não foram encontradas alterações citogenotóxicas.

A alta concentração de cobre dissolvido no ponto 2 justifica os danos genéticos expressos na significativa quantidade de micronúcleos encontrada neste estudo. Tal contaminante é conhecido por influenciar geneticamente outros bioindicadores. BENEDITES et al. (2014) evidenciaram a alteração em células de *Danio rerio*, peixe conhecido como *zebrafish*, que foram submetidos às águas oriundas do Rio Uruguai com altas concentrações de cobre. Desta forma é possível afirmar que os danos genotóxicos do cobre atingem tanto células animais quanto vegetais, apresentando riscos aos corpos hídricos quando encontrado em concentrações elevadas.

Mesmo não sendo encontradas alterações significativas no índice de germinação de *Allium cepa* nos pontos amostrados, outros estudos evidenciaram que este tipo de anomalia pode estar relacionado ao cobre. Um estudo realizado por PALACIO et al. (2015), de forma macroscópica, avaliou o crescimento das raízes de *Allium cepa* quando submetidos a diversos metais pesados e identificou que o cobre e o chumbo reduzem significativamente o crescimento radicular. Concordando com este estudo, FISKEJÓ (1985) aponta que o cobre apresenta uma toxicidade maior que o manganês, interferindo significativamente na alteração do crescimento das plântulas de *Allium cepa*.

No ponto 3, além do cobre dissolvido foram encontrados alumínio e ferro dissolvidos e manganês. Provavelmente, essa mistura complexa tenha diminuído a divisão celular e por isso, não foi possível observar os danos cromossômicos, mesmo tendo uma concentração elevada de alumínio dissolvido. Este metal, mesmo não apresentando relação com toxicidade nas células, deve ser observado com atenção, pois estudos realizados por FISKEJÓ (1993) em cebolas encontraram toxicidade causada por íons de alumínio, um fator que causa a morte de organelas vegetais, incluindo árvores florestais. DUARTE, et al. (2012) também constataram em estudos com peixes da espécie *Oreochromis niloticus* que o alumínio é um elemento com potencial genotóxico e mutagênico. Por isso, o monitoramento deste metal é importante ficando comprovado em estudos que o alumínio pode gerar alterações tanto em animais quanto em plantas. Um estudo realizado por LI et al. (2015) utilizando *Helianthus annuus* (girassol) identificaram a redução progressiva do índice mitótico em função do aumento da concentração de alumínio e do tempo de exposição. MARIN e SANTOS (2008) também apontaram através de estudos realizados com *Cajanus cajan* (feijão-gandu) que o alumínio causa toxicidade nas plantas através da redução da densidade e do crescimento das raízes, interferindo na divisão celular. Por isso é possível relacionar a redução de danos cromossômicos com a redução de divisão celular.

Os danos causados ao DNA, por exemplo, pela ação de agentes mutagênicos são dependentes da proporção de células que estão se dividindo (FENECH, 1999). O ponto 3, embora não significativo, apresenta uma tendência relacionada à diminuição dos índices de germinação e mitótico em relação aos pontos 1 e 2. Com isso, mesmo não se constatando efeito citotóxico significativo no ponto 3, o mesmo requer atenção quanto à quantidade de alumínio encontrado.

6. CONCLUSÕES

Sendo o arroio Demétrio um dos principais afluentes do rio Gravataí, e considerando que o rio Gravataí se encontra entre os dez rios mais poluídos do Brasil (PESSOA, 2017) fornecendo água para abastecimento urbano, torna-se imprescindível a observação deste afluente desde sua nascente até sua foz. Os estudos demonstraram a fragilidade deste arroio em todos os critérios amostrados, conforme o enquadramento determinado na Resolução COMANA nº 357/2005. Todos os pontos de água amostrados tiveram a mais baixa classificação (Classe 4) quando ao critério de cor, e nos demais elementos analisados o cobre dissolvido também enquadrado o ponto 2 como Classe 4, tornando este ponto muito inferior em termos de qualidade ambiental e apto apenas para navegação (atividade não constatada neste curso hídrico) e harmonia paisagística.

Os indicadores microbiológicos apresentaram interferências desde a nascente (ponto 1), onde foi constatado um elevado NMP de coliformes termotolerantes, baixando a qualidade da água significativamente após a saída da área de maior densidade urbana (ponto 3). Isso evidencia a precariedade da gestão dos efluentes domésticos, onde pelo menos uma parcela do esgoto da região escoava para o arroio Demétrio retratando a falta de tratamento adequado dos esgotos sanitário das residências próximas.

Quanto aos critérios físico-químicos, estes sofrem interferência nas áreas de menor densidade urbana, caracterizando uma ação antrópica pontual com despejo de elementos tóxicos, como no caso do manganês e do cobre dissolvido, sendo possivelmente o cobre, o elemento que mais contribuiu para as alterações citogenotóxicas do ponto 2, e por consequência apresenta os maiores riscos tóxicos, reduzindo severamente a qualidade ambiental das águas do arroio Demétrio.

Os resultados encontrados neste estudo sugerem que a baixa qualidade ambiental dos pontos amostrados do arroio Demétrio pode ser atribuída a causas naturais vinculadas ao tipo de solo da região (Argissolo), como as concentrações de ferro, alumínio dissolvido e cor, sendo estes elementos que causam toxicidade natural ao arroio Demétrio. Estes elementos, mesmo que oriundos naturalmente do arroio, podem ter sua ação tóxica potencializada quando se unem a componentes antrópicos, podendo reduzir a qualidade ambiental do referido curso e aumentar o efeito citogenotóxico sobre os organismos que fazem uso das águas do arroio.

Tendo em vista que os resultados acima do esperado no ponto 2 em relação a quantidade de cobre dissolvido e ao manganês e, considerando que este ponto teve a maior quantidade de alterações citogenotóxicas e que o despejo destes componentes no curso

hídrico estão possivelmente associados a agrotóxicos e fertilizantes, sugere-se que a atividade deste segmento reveja a adição ou concentração destes elementos em suas formulações para que a aplicação ocorra de forma segura e de acordo com critérios ambientais.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. **Argissolos Vermelho-Amarelos.** Disponível em http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio_mata_sul_pernambucana/arvore/CONT000gt7eon7k02wx7ha087apz2axe8nfr.html. Acesso em: 27 jul.2017.

AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. **Caráter alítico.** Disponível em http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/solos_tropicais/arvore/CONTAG01_25_221220_0611545.html. Acesso em: 12 mai. 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS. **RESOLUÇÃO Nº 903/2013.** Brasília-DF. 2013.
AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Atlas Brasil: Abastecimento urbano de água.** Disponível em <http://atlas.ana.gov.br/Atlas/forms/analise/Geral.aspx?est=3>. Acesso em: 12 jun. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS; COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Guia Nacional De Coleta E Preservação De Amostras: Água, Sedimento, Comunidades Aquáticas E Efluentes Líquidos.** Brasília-DF. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil: Informe 2012 – Edição Especial.** Brasília-DF. 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Cuidando das Águas soluções para melhorar a qualidade dos recursos hídricos.** Brasília-DF. 2013.

ALVES, M. M.; BARROSO, G. F.; NETO, R. R. **Spatial and temporal distribution of thermotolerant coliform in Canal de Passagem (Vitória - ES) - related to physico-chemical parameters and tide.** Brazilian Journal of Oceanography. v. 63, n. 4, p. 423-428, 2015.

ANDRADE, L. C.; TIECHER, T.; OLIVEIRA, J. S.; ANDREAZZA, R.; INDA, A. V.; CAMARGO, F. A. O. **Sediment pollution in margins of the Lake Guaíba, Southern Brazil**. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 190, n. 3, p. 2-13, 2018.

ARAMBASIC, M. B.; BJELIC, S.; SUBAKOV, G. **Acute toxicity of heavy metals (copper, lead, zinc), phenol and sodium on *Allium cepa* L., *Lepidium sativum* L. and *Daphnia magna* St.: comparative investigations and the practical applications**. *Water Research*, v. 29, n. 2, p. 497-503, 1995.

ATLAS SOCIOECONÔMICO DO RIO GRANDE DO SUL. **Tipos de solo**. Secretaria de Planejamento, Governança e Gestão. Disponível em <http://www.atlassocioeconomico.rs.gov.br/solos>. Acesso em: 22 set. 2017.

BANCO DE CÉLULAS DO RIO DE JANEIRO. **Testes de citotoxicidade**. Disponível em <http://bcrlj.org.br/servicos/testes-de-citotoxicidade/>. Acesso em: 09 nov. 2016.

BARBOSA, J. S.; CABRAL, T. M.; FERREIRA, D. N.; AGNEZ-LIMA, L. F.; MEDEIROS S.R.B. **Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals**. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. v. 73, p. 320-325, 2010.

BENITES, L. M.; DONCATO, K. B.; MINHO, T. S.; PERAZZO, G. X. **Avaliação do potencial mutagênico de cobre da água do rio Uruguai**. *Revista Ciência e Natura*, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 107-113, 2014.

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E. L. G.; MORALES, M. A. M. **Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents**. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. v. 74. p. 826–833, 2011.

BOURSCHEID ENGENHARIA E MEIO AMBIENTE S.A.; COMITÊ DE GERENCIAMENTO DA BACIA HIDROGRÁFICA DO GRAVATAÍ; SECRETARIA DE ESTADO DO MEIO AMBIENTE DO RIO GRANDE DO SUL. **Relatório de Etapa A – REA**. Porto Alegre. 2012.

BOURSCHEID ENGENHARIA E MEIO AMBIENTE S.A.; COMITÊ DE GERENCIAMENTO DA BACIA HIDROGRÁFICA DO GRAVATAÍ; SECRETARIA DE ESTADO DO MEIO AMBIENTE DO RIO GRANDE DO SUL. **Plano de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Gravataí: Relatório final.** Porto Alegre. 2012.

BRANCO, P. M. **Coisas que você deve saber sobre a água.** Brasil, CPRM. Disponível em <http://www.cprm.gov.br/publique/Redes-Institucionais/Rede-de-Bibliotecas---Rede-Ametista/Canal-Escola/Coisas-Que-Voce-Deve-Saber-Sobre-a-Agua-1084.html>. Acesso em: 12 jun. 2016.

CARITÁ, R.; MORALES, M. A. M. **Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes.** Chemosphere. v. 72, p. 722-725, 2008.

CARVALHO, J. C. B.; ORSINE, J. V. C. **Contaminação do meio ambiente por fontes diversas e os agravos à saúde da população.** Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer. Goiânia, v. 7, n. 13, p. 1107-1118, 2011.

CARRARD, V. C.; COSTA, C. H.; FERREIRA, L. A.; LAUXEN, I. S.; RADOS, P. V. **Teste dos Micronúcleos – Um Biomarcador de Dano Genotóxico em Células Descamadas da Mucosa Bucal.** Revista da Faculdade de Odontologia, Porto Alegre, v. 48, n. 1/3, p. 77-81, 2007.

CHRISTOFOLETTI, C. A. **Avaliação dos potenciais citotóxico, genotóxico e mutagênico das águas de um ambiente lântico, por meio dos sistemas-teste de *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus*.** Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, São Paulo, 129p. 2008.

CIRCUNVIS, B. C.; HECK, M. C.; VICENTINI, V. E. P. **Investigação do potencial citotóxico das águas superficiais do Ribeirão Atlântico (Madaguaçu-PR) em *Allium cepa* L.** Revista Saúde e Biologia, v. 7, n. 3, p. 7-14, 2012.

COMITÊ GRAVATAHY. **Comitê de Gerenciamento da Bacia Hidrográfica do Rio Gravataí.** Disponível em <http://www.comitegravatahy.com.br/>. Acesso em: 19 jun. 2016.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Decisão de Diretoria Nº 134/2007/P, de 08.08.2007.** Diário Oficial Poder Executivo - Seção I. São Paulo, p. 27. 2007.

COMPANHIA RIOGRANDENSE DE SANEAMENTO. **Qualidade da água do Rio Gravataí compromete abastecimento de água.** Publicação: 09 out. 2016 às 12h08min. Disponível em <http://www.corsan.com.br/qualidade>. Acesso em: 07 fev. 2018.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **RESOLUÇÃO Nº 274/2000.** Publicada DOU nº 05, de 08 jan. 2001, p. 23. 2001.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **RESOLUÇÃO Nº 357/2005.** Publicada no DOU nº 053, de 18 mar. 2005, p. 58-63. 2005.

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.

DUARTE, I. D.; DIAS, M. C.; DAVID, J. A. O.; MATSUMOTO, S. T. **A qualidade da água da Lagoa Jacuném (Espírito Santo, Brasil) em relação a aspectos genotóxicos e mutagênicos, mensurados respectivamente pelo ensaio do cometa e teste do micronúcleo em peixes da espécie *Oreochromis niloticus*.** Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 10, p. 211-219. 2012.

DUARTE, M. N.; NOGUEIRA, M. A. A.; PASCHOAL, C. J. F.; MIRANDA, A. G.; MONSORES, G. L.; COSTA, L. A.; BRAGA, E. S.; BRAGA, B. B.; RODRIGUES, W. C. **Avaliação da qualidade ambiental através do teste da cebola (*Allium cepa* L.) Exposta diretamente em leito de rios urbanos.** Revista Teccen. v. 7 n. 1/2, p. 05-10, 2014.

ESPERICUETA, M. G. F.; VOLTOLINA, D.; LÓPEZ, J. I. O. **Acute Toxicity of Copper, Zinc, Iron, and Manganese and of the Mixtures Copper–Zinc and Iron–Manganese to Whiteleg Shrimp *Litopenaeus vannamei* Post larvae.** Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, New York. v. 71, p. 68-74, 2003.

FENECH, M.; HOLLAND, N.; CHANG, W. P.; ZEIGER, E.; BONASSI, S. **The Human Micro Nucleus Project - An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans.** Mutation Research. v. 428. p. 271-283, 1999.

FEPAM. **SIG – Sistema de Informações Geográficas.** Escala 1:250.000. Rio Grande do Sul, 2005.

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

FERREIRA, C. F.; FRUEH, A. B.; DÜSMAN, E.; HECK, M. C.; VICENTINI, V. E. P. **Avaliação da citotoxicidade das águas dos Ribeirões Varginha (Califórnia-PR) e Abatinga (Mandaguari-PR), em *Allium cepa* l.** SaBios: Revista Saúde e Biologia, v. 7, n. 2, p. 46-54, 2012.

FISKESJO, G. **The *Allium* test as a standard in environmental monitoring.** Journal Hereditas. v. 102, p. 99-112, 1985.

FISKESJO, G. **The *Allium* test in wastewater monitoring.** Environmental Toxicology. v.8. p. 291-298, 1993.

FITTSCHEN, U. E. A.; FALKENBERG, G. **Trends in environmental science using microscopic X-ray fluorescences.** Spectrochimica Acta Part B. v. 66, p. 567-580, 2001.

FUNDAÇÃO DE ECONOMIA E ESTATÍSTICA. **Potencial Poluidor da Indústria no RS: Análise dos Dados 2002–2009.** Publicado em 10 jun. 2012. Disponível em <https://www.fee.rs.gov.br/indicadores/indicadores-ambientais/destaques/>. Acesso em: 21 out. 2017.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Manual prático de análise de água: 4ª edição.** Brasília, 2013.

GOMES, J. V.; TEIXEIRA, J. T. S.; LIMA, V. M.; BORBA, H. R. **Induction of cytotoxic and genotoxic effects of Guandu River waters in the *Allium cepa* system.** Revista Ambiente & Água. v. 10, 2015.

HANNA INSTRUMENTS BRASIL, **Medidor pH/ORP.** Disponível em <http://www.hannainst.com.br/produtos/phorp/medidores-portateis-de-phorp/medidor-de-phorp>. Acesso em: 16 set. 2017.

IDEXX. **Colilert.** Disponível em https://www.idexx.com/pdf/en_us/water/6406300l.pdf. Acesso em: 04 set. 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA - IBGE. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2008.** Rio de Janeiro, 2010. Disponível em <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv45351.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. **Mapa Exploratório de Solos do Rio Grande do Sul.** 2002.

KALIBERDA, F. C.; BUSCHINI, M. L. T.; PITTNER, E.; MONTEIRO, M. C. **Enteroparasitas presentes no Arroio do Engenho no município de Guarapuava, Paraná.** Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais. v. 4, n. 3, p. 383-395, 2008.

KOLLING, D. J.; KRATZ, J. M.; BARARDI, C. R. M.; SIMÕES, C. M. O. **Padronização *in vitro* da técnica do micronúcleo em células vero para detecção de genotoxicidade.** Anais da 58ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. 2006.

LASIER, P. J.; WINGER, P. V.; BOGENRIEDER, K. J. **Toxicity of Manganese to *Ceriodaphnia dubia* and *Hyaella azteca*.** Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 38, p. 298-304, 2000.

LI, M.; QIN, R.; JIANG, W.; LIU, D. **Cytogenetical effects of aluminum on root meristem cells of *Helianthus annuus l.*** Botanical Sciences. v. 93, n. 1, p. 15-22, 2015.

MACEDA, E. B.; GRISOLIA, A. B.; VAINI, J. O.; CANDIDO, L. S. **Uso de biomarcadores para monitoramento das águas do Córrego Arara no município de Rio Brilhante, MS, Brasil.** Revista Ambiente & Água. Taubaté, v. 10, n. 1, 2015.

MARIN, A; SANTOS, D. M. M. **Interação da deficiência hídrica e da toxicidade do alumínio em gandu cultivado em hidroponia.** Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, v. 43, n. 10, 2008.

MARQUEZ, A. P. I.; DAVILA, C. M. L.; KU-PECH, P., SEGOVIA, P. T. **Calidad sanitaria de los suministros de água para consumo humano en Campeche.** Salud Pública de México. v. 26. v. 6. p. 655-661, 1994.

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.** Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista (IBILCEUNESP) – São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutor em Genética. 2009.

MASO, R. A. D. **A infra-estrutura de esgoto nas cidades do RS: serviços precários e águas poluídas despejadas nos rios.** Textos para discussão FEE n^o 49. Secretaria do Planejamento e Gestão: Fundação de Economia e Estatística Siegfried Emanuel Heuser. Rio Grande do Sul. 2008.

MENEZES, J. M.; PRADO, R. B.; JÚNIOR, G. C. S.; MANSUR, K. L.; OLIVEIRA, E. S. **Qualidade da água e sua relação espacial com as fontes de contaminação antrópicas e naturais: bacia hidrográfica do rio São Domingos – RJ.** Engenharia Agrícola, Jaboticabal, v. 29, n. 4, p. 687-698, out./dez. 2009.

MERTEN, G. H.; MINELLA, J. P. **Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura.** Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável, v. 3, n. 4, Porto Alegre, 2002.

MINISTÉRIO DAS CIDADES: SECRETARIA NACIONAL DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2016**. Sistema Nacional De Informações Sobre Saneamento – SNIS. Brasília, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Glossário Saneamento e Meio Ambiente**. Disponível em <http://www.aguabrasil.iciet.fiocruz.br/index.php?pag=sane> Acessado em 04 set. 2016.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. A ONU e a água. Disponível em <https://nacoesunidas.org/acao/agua/>. Acesso em: 12 jun. 2016.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, **Água**. Disponível em <http://www.mma.gov.br/agua>. Acesso em: 05 jun. 2016.

MORAES, D. S. L.; JORDÃO, B. Q. **Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana**. Revista de Saúde Pública. v. 36, n. 3, p. 370-374, 2002.

NAIME, R.; FAGUNDES, R. S. **Controle da Qualidade da Água do Arroio Portão, RS**. Instituto de Geociências, UFRGS. Pesquisas em Geociências. Porto Alegre. v.1. n. 32. p. 27-35, 2005.

OLIVEIRA, D. V.; SILVA, T. C.; ZANIN, J. G.; NACHTIGALL, G.; MEDEIROS, A. W.; FRAZZON, A. P. G.; VANDERSAND, S. T. **Qualidade da água e identificação de bactérias Gram-negativas isoladas do Arroio Dilúvio, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil**. Evidência. Joaçaba, v. 12, n. 1, p. 51-62, 2012.

OTHMAN, M. S.; YAKUB, N.; RAMLE, N.; ABAS, A. **Comparative toxicity of eight metals on freshwater fish**. Toxicology and Industrial Health. v. 31, n. 9, p. 773-782, 2015.

OTHMAN, M. S.; YAKUB, N.; UMIRAH, N. S.; ABAS, A. **Toxicity of eight metals to Malaysian freshwater midge larvae *Chironomus javanus* (Diptera, Chironomidae)**. Toxicology and Industrial Health. v. 27, n.10, p. 879-886, 2011.

PALACIO, S. M.; QUIÑONES, F. R. E.; GALANTE, R. M.; ZENATTI, D. C.; SEOLATTO, A. A.; LORENZ, E. K.; ZACARKIM, C. E.; ROSSI, N.; RIZZUTTO, M. A.; TABACNIKS,

M. H. **Correlation between Heavy Metal Ions (Copper, Zinc, Lead) Concentrations and Root Length of *Allium cepa* L. in Polluted River Water.** Brazilian Archives of Biology and Technology. Brasil, v. 48, p. 191-196, 2005.

PEDROZO, M. F. M.; LIMA, I. V. **Ecotoxicologia do cobre e seus compostos.** Série Cadernos de Referência Ambiental. Bahia, v. 2. 2001.

PESSOA, M. L. **O Brasil e o Rio Grande do Sul diante do desafio global da gestão dos recursos hídricos.** Panorama Internacional: FEE. Rio Grande do Sul. v. 3,n. 1. 2017.

RIBEIRO, E. V.; JUNIOR, A. P. M.; HORN, A. H.; TRINDADE, W. M. **Metais pesados e qualidade da água do Rio São Francisco no segmento entre Três Marias e Pirapora - MG: índice de contaminação.** Revista Geonomos. Minas Gerais, v. 20, p. 49-63, 2012.

RIO GRANDE DO SUL. Conselho De Recursos Hídricos. **RESOLUÇÃO Nº 113/2012.** Publicado no DOE, Acesso em: 05 nov. 2012.

SAMPAIO, F. G.; BOIJINK, C. L.; RANTIN, F. T. **O Uso do Sulfato de Cobre em Ecossistemas Aquáticos: fatores que afetam sua toxicidade em peixes de água doce.** Embrapa Meio Ambiente, doc. 91. Jaguariúna. 2013.

SILVA, C. C.; NASCIMENTO, F. M.. **Citogenotoxicidade de amostras de água do Rio Tietê em células meristemáticas radiculares de *Allium cepa*.** Atlas de Saúde Ambiental - ASA, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 26-35. 2013.

SOUSA, C. C.; PADULA, L.; SILVA, L. F.; IRAZUSTA, S. P. **Validação dos Bioensaios de Toxicidade como Adjuvantes no Monitoramento de Efluentes para Descarte.** Ecotoxicology and Environmental Contamination. Brasil, v. 8, n. 2, p. 01-07, 2013.

SOUSA M. A. N.; PINHEIRO, M. J. C.; SILVA, R. K.; COSTA, E. L.; MELO, N. J. A.; FILHO, E. F. S. **Avaliação da qualidade da água dos reservatórios de Santa Cruz e Umari - RN: citotoxicidade e genotoxicidade.** Revista Saúde e Ciência *On line*. v. 3, n. 3, p. 279-288, 2014.

SPERLING, M. V. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. 3.ed., DESA-UFMG: Belo Horizonte, 452p, 2005.

VANZELA, L. S.; HERNANDEZ, F. B. T.; FRANCO, R. A. M. **Influência do uso e ocupação do solo nos recursos hídricos do Córrego Três Barras, Marinópolis**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. Campina Grande, PB. v. 14, n. 1, p. 55–64, 2010.

VARELLA, C. A. A. **Análise Multivariada Aplicada as Ciências Agrárias: Análise de Componentes Principais**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro: Pós-Graduação em Agronomia – CPGA- CS. Seropédica/RJ. 2008.

8. ANEXO I: Laudos de análise de metais pesados



RELATÓRIO DE ANÁLISE Nº. 21509/2016-1.0	
Ficha de Coleta Código nº. 296031	Processo Comercial nº. 2970/2016.3

Dados do Interessado:			
Interessado:	LUCIANO PAZINATO MARTINS		
Endereço:	Rua Morano Calabro, 51 - Ipanema - Porto Alegre/RS		
Dados da Amostra:			
Tipo de amostra:	Água superficial		
Local de coleta:	Ponto 1		
Coordenadas:	Não informado		
Data de coleta:	13/12/16	Data de recebimento:	13/12/16
Condições climáticas:	Tempo bom		
Responsável pela coleta:	Luciano Pazinato Martins		
Observações:	Não há		
Período de análise:	13/12/16 à 23/12/16	Data da publicação:	23/12/16

ANÁLISES REALIZADAS				
Parâmetros	Unidade	Resultado	LQ	Referência do Método Analítico
Alumínio Dissolvido	mg Al/L	< 0,006	0,006	EPA 200.7/2001
Cádmio	mg Cd/L	< 0,0006	0,0006	EPA 200.7/2001
Chumbo	mg Pb/L	< 0,004	0,004	EPA 200.7/2001
Cobalto	mg Co/L	< 0,001	0,001	EPA 200.7/2001
Cobre Dissolvido	mg Cu/L	< 0,006	0,006	EPA 200.7/2001
Cromo Total	mg Cr/L	< 0,003	0,003	EPA 200.7/2001
Ferro Dissolvido	mg Fe/L	0,137	0,006	EPA 200.7/2001
Manganês	mg Mn/L	0,052	0,001	EPA 200.7/2001
Mercurio	mg Hg/L	< 0,0002	0,0002	EPA 200.7/2001
Níquel	mg Ni/L	< 0,001	0,001	EPA 200.7/2001
Zinco	mg Zn/L	< 0,006	0,006	EPA 200.7/2001

Este relatório atende aos requisitos de acreditação da CGCRE, que avaliou a competência do Laboratório.

Legenda:

epm - %
 L.Q. - Limite de Quantificação
 N.A. - Não se aplica
 N.D. - Não Detectado
 V.M.P. - Valor Máximo Permitido conforme Portaria/Resolução/Norma
 Padrão de Emissão: Padrão de emissão conforme Portaria/Resolução/Norma.
 (*): Análise prejudicada em função da característica da amostra

Observações:

- Para amostras sólidas: os resultados são expressos em base seca.
- Cadastro na FEPAM Nº 00023/2014-DL válido até 15/07/2016
- Os dados brutos referentes à amostra são armazenados em arquivo físico pelo prazo de 5 anos a contar da emissão deste relatório.
- Os Relatórios de Análise referentes à amostra serão armazenados eletronicamente pelo prazo de 10 anos a contar da emissão deste relatório.
- Os resultados contidos neste Relatório de Análise aplicam-se somente a amostra ensalada.
- Período de análise: Conforme Procedimento Interno PP.COL.POP1 - Rev. 20 - Guia de Coleta e Preservação de Amostras.
- Proibida a reprodução parcial deste documento.
- Coleta: Coletas realizadas pelo Green Lab seguem os seguintes procedimentos internos disponíveis em nosso site:
 - PP.COL.POP1 - Rev. 20 - Guia de Coleta e Preservação de Amostras
 - PP.COL.POP2 - Rev. 12 - Coleta
 - PP.COL.IT2 - Rev. 10 - Coleta de Efluentes e Águas Gerais

Rua Felipe de Oliveira, 293 - Bairro Santa Cecília - CEP 90630-000 - Porto Alegre - RS - Fone/Fax: (51) 3333-9129 / 3388-5301/ 3388-7717
 www.laboratoriorgreenlab.com.br / e-mail: greenlab@analises.com.br


RELATÓRIO DE ANÁLISE Nº. 21511/2016-1.0
Ficha de Coleta Código nº. 296032
Processo Comercial nº. 2970/2016.3
Dados do Interessado:

Interessado:	LUCIANO PAZINATO MARTINS
Endereço:	Rua Morano Calabro, 51 - Ipanema - Porto Alegre/RS

Dados da Amostra:

Tipo de amostra:	Água superficial		
Local de coleta:	Ponto 2		
Coordenadas:	Não informado		
Data de coleta:	13/12/16	Data de recebimento:	13/12/16
Condições climáticas:	Tempo bom		
Responsável pela coleta:	Luciano Pazinato Martins		
Observações:	Não há		
Período de análise:	13/12/16 à 23/12/16	Data da publicação:	23/12/16

ANÁLISES REALIZADAS

Parâmetros	Unidade	Resultado	LQ	Referência do Método Analítico
Alumínio Dissolvido	mg Al/L	0,089	0,006	EPA 200.7/2001
Cádmio	mg Cd/L	< 0,0006	0,0006	EPA 200.7/2001
Chumbo	mg Pb/L	< 0,004	0,004	EPA 200.7/2001
Cobalto	mg Co/L	< 0,001	0,001	EPA 200.7/2001
Cobre Dissolvido	mg Cu/L	0,021	0,006	EPA 200.7/2001
Cromo Total	mg Cr/L	< 0,003	0,003	EPA 200.7/2001
Ferro Dissolvido	mg Fe/L	0,445	0,006	EPA 200.7/2001
Manganês	mg Mn/L	0,172	0,001	EPA 200.7/2001
Mercurio	mg Hg/L	< 0,0002	0,0002	EPA 200.7/2001
Níquel	mg Ni/L	< 0,001	0,001	EPA 200.7/2001
Zinco	mg Zn/L	< 0,006	0,006	EPA 200.7/2001

Este relatório atende aos requisitos de acreditação da CGCRE, que avaliou a competência do Laboratório.

Legenda:

epm - %
 L.Q. - Limite de Quantificação
 N.A. - Não se aplica
 N.D. - Não Detectado
 V.M.P. - Valor Máximo Permitido conforme Portaria/Resolução/Norma
 Padrão de Emissão: Padrão de emissão conforme Portaria/Resolução/Norma.
 (*): Análise prejudicada em função da característica da amostra

Observações:

- Para amostras sólidas: os resultados são expressos em base seca.
- Cadastro na FEPAM Nº 00023/2014-DL válido até 15/07/2016
- Os dados brutos referentes à amostra são armazenados em arquivo físico pelo prazo de 5 anos a contar da emissão deste relatório.
- Os Relatórios de Análise referentes à amostra serão armazenados eletronicamente pelo prazo de 10 anos a contar da emissão deste relatório.
- Os resultados contidos neste Relatório de Análise aplicam-se somente a amostra ensalada.
- Período de análise: Conforme Procedimento Interno PP.COL.POP1 - Rev. 20 - Guia de Coleta e Preservação de Amostras.
- Proibida a reprodução parcial deste documento.
- Coleta: Coletas realizadas pelo Green Lab seguem os seguintes procedimentos Internos disponíveis em nosso site:
- PP.COL.POP1 - Rev. 20 - Guia de Coleta e Preservação de Amostras
- PP.COL.POP2 - Rev. 12 - Coleta
- PP.COL.IT2 - Rev. 10 - Coleta de Efluentes e Águas Gerais

Rua Felipe de Oliveira, 293 - Bairro Santa Cecília - CEP 90630-000 - Porto Alegre - RS - Fone/Fax: (51) 3333-9129 / 3388-5301 / 3388-7717
www.laboratoriogreenlab.com.br / e-mail: greenlab@analises.com.br



RELATÓRIO DE ANÁLISE Nº. 21513/2016-1.0	
Ficha de Coleta Código nº. 296033	Processo Comercial nº. 2970/2016.3

Dados do Interessado:	
Interessado:	LUCIANO PAZINATO MARTINS
Endereço:	Rua Morano Calabro, 51 - Ipanema - Porto Alegre/RS

Dados da Amostra:			
Tipo de amostra:	Água superficial		
Local de coleta:	Ponto 3		
Coordenadas:	Não informado		
Data de coleta:	13/12/16	Data de recebimento:	13/12/16
Condições climáticas:	Tempo bom		
Responsável pela coleta:	Luciano Pazinato Martins		
Observações:	Não há		
Período de análise:	13/12/16 à 23/12/16	Data da publicação:	23/12/16

ANÁLISES REALIZADAS				
Parâmetros	Unidade	Resultado	LQ	Referência do Método Analítico
Alumínio Dissolvido	mg Al/L	0,127	0,006	EPA 200.7/2001
Cádmio	mg Cd/L	< 0,0006	0,0006	EPA 200.7/2001
Chumbo	mg Pb/L	< 0,004	0,004	EPA 200.7/2001
Cobalto	mg Co/L	< 0,001	0,001	EPA 200.7/2001
Cobre Dissolvido	mg Cu/L	0,012	0,006	EPA 200.7/2001
Cromo Total	mg Cr/L	< 0,003	0,003	EPA 200.7/2001
Ferro Dissolvido	mg Fe/L	0,495	0,006	EPA 200.7/2001
Manganês	mg Mn/L	0,146	0,001	EPA 200.7/2001
Mercurio	mg Hg/L	< 0,0002	0,0002	EPA 200.7/2001
Níquel	mg Ni/L	< 0,001	0,001	EPA 200.7/2001
Zinco	mg Zn/L	< 0,006	0,006	EPA 200.7/2001

Este relatório atende aos requisitos de acreditação da CGCRE, que avaliou a competência do Laboratório.

Legenda:

epm - %
 L.Q. - Limite de Quantificação
 N.A. - Não se aplica
 N.D. - Não Detectado
 V.M.P. - Valor Máximo Permitido conforme Portaria/Resolução/Norma
 Padrão de Emissão: Padrão de emissão conforme Portaria/Resolução/Norma.
 (*): Análise prejudicada em função da característica da amostra

Observações:

- Para amostras sólidas: os resultados são expressos em base seca.
- Cadastro na FEPAM Nº 00023/2014-DL válido até 15/07/2016
- Os dados brutos referentes à amostra são armazenados em arquivo físico pelo prazo de 5 anos a contar da emissão deste relatório.
- Os Relatórios de Análise referentes à amostra serão armazenados eletronicamente pelo prazo de 10 anos a contar da emissão deste relatório.
- Os resultados contidos neste Relatório de Análise aplicam-se somente a amostra ensaiada.
- Período de análise: Conforme Procedimento Interno PP.COL.POP1 - Rev. 20 - Guia de Coleta e Preservação de Amostras.
- Proibida a reprodução parcial deste documento.
- Coleta: Coletas realizadas pelo Green Lab seguem os seguintes procedimentos Internos disponíveis em nosso site:
- PP.COL.POP1 - Rev. 20 - Guia de Coleta e Preservação de Amostras
- PP.COL.POP2 - Rev. 12 - Coleta
- PP.COL.IT2 - Rev. 10 - Coleta de Efluentes e Águas Gerais

Rua Felipe de Oliveira, 293 - Bairro Santa Cecília - CEP 90630-000 - Porto Alegre - RS - Fone/Fax: (51) 3333-9129 / 3388-5301 / 3388-7717
www.laboratoriogreenlab.com.br / e-mail: greenlab@analises.com.br