

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**DANIELLE RONÇANI RAMPINELLI**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EFLUENTE DO CULTIVO DE ARROZ  
IRRIGADO NO EXTREMO SUL DE SANTA CATARINA, UTILIZANDO COMO  
BIOINDICADOR *Allium cepa* L.**

**CRICIÚMA**

**2018**

**DANIELLE RONÇANI RAMPINELLI**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EFLUENTE DO CULTIVO DE ARROZ  
IRRIGADO NO EXTREMO SUL DE SANTA CATARINA, UTILIZANDO COMO  
BIOINDICADOR *Allium cepa* L.**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado para obtenção do grau de bacharel no curso de Ciências Biológicas da Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> MSc. Meline Oliveira dos Santos Morais

**CRICIÚMA**

**2018**

**DANIELLE RONÇANI RAMPINELLI**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EFLUENTE DO CULTIVO DE ARROZ  
IRRIGADO NO EXTREMO SUL DE SANTA CATARINA, UTILIZANDO COMO  
BIOINDICADOR *Allium cepa* L.**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela Banca Examinadora para obtenção do Grau de bacharel, no Curso de Ciências Biológicas da Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC, com Linha de Pesquisa em Ecotoxicologia Ambiental.

Criciúma, 20 de Novembro de 2018.

**BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup> Meline Oliveira dos Santos Morais - Mestra - UNESC - Orientadora

Prof. Geovana Dagostim Savi Bortolotto - Doutora - (UNESC)

Prof. Miriam da Conceição Martins - Doutora - (UNESC)

Dedico este trabalho à minha mãe, Zilma.

## AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de agradecer este trabalho a todos aqueles que perceberam a dificuldade que foi para continuar, dentre tantos reveses que tive durante esse percurso, e me motivaram ainda mais a continuar com esse sonho que é me tornar uma bióloga.

Inicialmente quero agradecer a minha família que esteve ao meu lado nas escolhas importantes que tive que tomar, e me ajudaram a crescer ainda mais como pessoa, amo vocês. Gostaria de agradecer a minha irmã, Amanda, que me fez esquecer os dias ruins desta fase, me deixando mais leve em dias de extremo estresse, continuando sempre ao meu lado independente de qualquer coisa, "*my sun and stars*", te amo.

À minha psicóloga, Camila, que fez todas minhas tristezas ficarem para trás, enaltecendo qualidades que eu desconsiderava e desmentindo meus medos bobos sobre a vida. Quero agradecer também a todas as batatas e pães de alho compartilhados, aos anjos da minha vida, Debora Rabelo, Ariadne Watywarawan, Tuane Bloemer, Natália Brunelli, Lara Zanoni, Natália Oliveira e Jonas Heerdt que estiveram todos os dias ao meu lado, chorando todas as pitangas que tínhamos em comum e celebrando aquelas que mereciam ser celebradas infinitamente, vocês merecem todo amor do mundo. Mas principalmente a Ariadne Watywarawan que me auxiliou no início deste projeto, me orientando quando eu estava perdida em meio a tanto azar, carregando sacos e sacos de cebolas e mais litros de amostras para dentro dos laboratórios, minha eterna gratidão a você.

Sou muito grata à Professora Nadja, por todas as dicas e opiniões no início do trabalho, mas principalmente pela minha orientadora Meline, por ter me agarrado no meio do caminho e caminhado comigo, e por ser essa pessoa maravilhosa, que me apoia e dá esperança. Ao professor Fernando Carvalho por achar um espacinho para me ajudar no meio de tantos compromissos. À Mirian Martins e Geovana Bortolotto que professoras maravilhosas que me deram ótimas sugestões e foram super compreensivas e atentas a tudo.

Obrigada a todos, o amor que eu sinto por todos vocês é enorme, o apoio de todos vocês foram muito importantes para mim.

“Mas o homem é parte da natureza, e sua guerra contra a natureza é inevitavelmente uma guerra contra si mesmo.”

Rachel Carson

## RESUMO

O avanço da agricultura e o aumento de áreas cultivadas proporcionaram a proliferação de espécies que danificam as plantações, conhecidas como pragas, fazendo-se necessário o uso de agrotóxicos para o controle. Porém, o uso excessivo dos agrotóxicos e a sua persistência no ambiente evidenciaram efeitos nocivos ao meio ambiente. A cidade de Jacinto Machado tem como base a rizicultura, um cultivo que está entre os que mais utilizam recursos hídricos, por isso faz-se necessário estudos avaliando a toxicidade das águas e efluentes provenientes do plantio, uma vez que podem carrear agrotóxicos que são comumente aplicados na cultura. O estudo teve como objetivo a avaliação da toxicidade efluente mediante exposição da água retirada da cancha do arroz irrigado e do efluente, onde foi avaliado o crescimento e a germinação das raízes do vegetal *Allium cepa* L. A coleta das amostras foi realizada nos meses de novembro; dezembro e janeiro (2017 – 2018), meses referentes ao ciclo de plantio do arroz. Nos ensaios toxicológicos foram utilizados bulbos de *A. cepa*, que ficaram expostos a concentrações de 25%, 50% e 100% das águas das canchas e dos efluentes, e um grupo controle negativo (água mineral), no período de sete dias, onde foram mensurados o tamanho das raízes e contabilizado sua germinação. O estudo não apresentou valores significativos em relação à redução da germinação das raízes após exposição das águas de cancha e efluentes. Porém o organismo sofreu uma redução em relação ao crescimento das raízes na concentração de 100% na água da cancha. Este resultado sugere que neste ponto as concentrações dos agrotóxicos utilizadas no cultivo do arroz foram possivelmente tóxicas e influenciaram no desenvolvimento das raízes do vegetal.

**Palavras-chave: Agrotóxicos. *Allium cepa*. Rizicultura.**

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Mapa de localização do Brasil com destaque no Estado de Santa Catarina, indicando o Município de Jacinto Machado.....	15
Figura 2: Localização dos pontos de amostragem 1 e 2 na margem direita do rio Pinheirinho, município de Jacinto Machado, SC .....	16
Figura 3: Na concentração de 100% (A), o gráfico mostra que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no crescimento das raízes de <i>A. cepa</i> em nos grupos Cancha 1 e Cancha 3 quando comparados ao grupo controle. Em (B) o gráfico mostra que não houve diferença significativa no número de raízes germinadas de <i>A. cepa</i> entre os grupos testados (Grupo controle, Canchas 1, 2 e 3), na concentração de 100%. ....	20
Figura 4: Na concentração de 50%, os gráficos (A) e (B) mostram, respectivamente, que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no crescimento das raízes e no número de raízes germinadas de <i>A. cepa</i> entre os grupos testados (Grupo controle, Canchas 1, 2 e 3).....	20
Figura 5: Na concentração de 25%, os gráficos (A) e (B) mostram, respectivamente, que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no crescimento das raízes e no número de raízes germinadas de <i>A. cepa</i> entre os grupos testados (Grupo controle, Canchas 1, 2 e 3).....	21
Figura 6: Na concentração de 100%, os gráficos (A) e (B) mostram, respectivamente, que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no crescimento das raízes e no número de raízes germinadas de <i>A. cepa</i> entre os grupos testados (Grupo controle, Efluentes 1, 2 e 3). .....	23
Figura 7: Na concentração de 50%, os gráficos (A) e (B) mostram, respectivamente, que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no crescimento das raízes e no número de raízes germinadas de <i>A. cepa</i> entre os grupos testados (Grupo controle, Efluentes 1, 2 e 3). .....	24
Figura 8: Na concentração de 25%, os gráficos (A) e (B) mostram, respectivamente, que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no crescimento das raízes e no número de raízes germinadas de <i>A. cepa</i> entre os grupos testados (Grupo controle, Efluentes 1, 2 e 3). .....	25



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>15</b>
3.1 ÁREA DE ESTUDO.....	15
3.2 COLETA DAS AMOSTRAS DE ÁGUA.....	16
3.3 TESTES ECOTOXICOLÓGICOS.....	17
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>19</b>
4.1 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS PONTO 1 - CANCHA .....	19
4.2 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS PONTO 2 - EFLUENTE .....	22
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>27</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>31</b>
<b>ANEXO A – CARTA DE ACEITAÇÃO DO PROPRIETÁRIO.....</b>	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A domesticação das plantas pelo ser humano trouxe diversos benefícios para a população, mas com seu aperfeiçoamento na agricultura e expansão ao longo dos anos promoveu um enorme impacto ambiental (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012). No século XVIII, com o avanço da agricultura e o aumento na demanda, encontraram-se dificuldades com o controle das pragas, doenças e plantas daninhas, fazendo-se necessário a busca de produtos químicos que diminuíssem a incidência de espécies pragas às lavouras (EHLERS, 2009).

A expansão destes produtos químicos ocorreu após a Segunda Guerra Mundial, através da descoberta de Paul Hermann Müller, constatando que o composto orgânico Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT), utilizado no combate ao tifo e à malária (eficaz contra os insetos transmissores), foi impulsionada e redirecionada para as plantações, sendo sintetizadas para fins de comércio como agrotóxicos desde então (D'AMATO; TORRES; MALM, 2002).

O DDT é classificado como um agrotóxico organoclorado composto por átomos de carbono (C), hidrogênio (H) e cloro (Cl). Os agrotóxicos organoclorados possuíam uma característica de persistência no meio ambiente, apresentando maiores riscos à saúde humana. Por isso, gradativamente foram substituídos por organofosforados e carbamatos, os quais são menos persistentes no meio ambiente, devido a rápida degradação, no entanto, as vezes é necessário um maior número de aplicações para ter eficácia (VEIGA et al., 2016).

A aplicação de agrotóxicos, primeiramente, visava o aumento da produtividade, sem que fossem avaliados os impactos ambientais causados. Desta forma, independente do modo de aplicação, os agrotóxicos usados tinham grande potencial para atingir solos e águas, principalmente devido aos ventos e água das chuvas, que promovem a deriva, lixiviação e erosão (FERREIRA, 2011).

Na década de 1970, os riscos pelo uso de modo indiscriminado e excessivo desses compostos começaram a ser evidenciados, tanto nos consumidores quanto nos agricultores, iniciando a discussão de possíveis benefícios da adoção de políticas para a redução e substituição desses insumos (ALVES, 2002).

Em 04 de janeiro de 2002, o Decreto 4.074/02 regulamentou a Lei Nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que entende como agrotóxicos, produtos e agentes

de processos físicos químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, pastagens, proteção de florestas, naturais ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídrico e industriais. Segundo a lei, a finalidade do agrotóxico é alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa dos seres vivos considerados nocivos. Também são considerados agrotóxicos os produtos empregados como desfolhantes, desseccantes, estimuladores e inibidores de crescimento (MAPA, 2002).

No Brasil, o órgão responsável por fornecer o registro de agrotóxicos é o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável pela avaliação toxicológica do produto, especialmente destinados ao uso em ambientes urbanos, industriais, domiciliares ou coletivos, ao tratamento de água e ao uso em campanhas de saúde público. O ministério do meio ambiente deve avaliar os agrotóxicos destinados ao uso em ambientes hídricos na proteção de florestas nativas e outros ecossistemas. No geral, os órgãos de saúde e meio ambiente são competentes na concessão do registro e responsável pela avaliação de toxicologia humana e ambiental, respectivamente (MAPA, 2002).

A resolução Nº 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece condições e padrões para o lançamento de efluentes, onde estão descritos valores máximos de lançamento, de compostos orgânicos e inorgânicos, em recursos hídricos (BRASIL, 2011).

O plantio de arroz inundado está entre as culturas que mais necessita de recursos hídricos, são utilizadas de 8 a 10mil m<sup>3</sup>/ha de água (vazão de 1,0 a 1,4 L/s<sup>-1</sup>.ha<sup>-1</sup>), com um período de irrigação de 80 a 100 dias, com o preparo de solos onde as várzeas são inundadas cerca de um mês antes da semeadura (POLETTTO, 2012). No preparo do solo, para a plantação das sementes de arroz, são rompidas as camadas compactadas do terreno e soterrada a cobertura vegetal presente, e posteriormente o solo deve ser nivelado e inundado, realizando a adubação e a correção de pH. O nível da água altera de acordo com o crescimento do arroz (TONETTO, 2009).

O método de cultivo de arroz irrigado em várzeas é utilizado em terras baixas, onde possui uma irrigação controlada e um grande uso de agrotóxicos, que

traz uma maior segurança para o produtor (FERREIRA; MORAIS, 2017; ZINGORE; WAIREGI; NDIAYE, 2014).

A cultura de arroz em Santa Catarina se iniciou no século XX, pelos imigrantes italianos que chegaram ao Vale do Itajaí. O manejo e cultivo foram difundidos por toda Região Sul de Santa Catarina, por conta de sua caracterização de tempos úmidos e solos argilosos (BRASIL, 2015).

O estado possui 146,9 mil hectares (safra 2017/18) de terra com plantações de arroz distribuídos pela região, com sistema pré-germinado, onde a semeadura é feita em lâminas de água, e possui um índice de produção de 1,18 milhão de toneladas na safra de 2017/18, um dos maiores no Brasil (SANTA CATARINA, 2018). A cidade de Jacinto Machado possui 6.550 hectares de terra voltados à rizicultura resultando em 3,93% da produção estadual (IBGE, 2008). A cultura do arroz irrigado é uma atividade agrícola importante social e econômica para o estado de Santa Catarina, no entanto, ambientalmente podem trazer prejuízos como a contaminação de recursos hídricos por agrotóxicos, se não houver manejo adequado das lavouras de arroz (SANTA CATARINA, 2018).

Os agrotóxicos no arroz, quando presentes no ambiente, precisam de um determinado tempo para sua degradação, quanto maior a resistência das moléculas, maior o impacto que pode ser causado nos solos, no ar e na água. A área da toxicologia estuda os efeitos nocivos das interações entre os organismos, seja animal ou vegetal, e químicos, como agrotóxicos, medicamentos, domissanitários e aditivos alimentares (OGA, ZANINI, 2003).

A contaminação pode ocorrer de forma natural, através de fenômenos como atividades vulcânicas, maré vermelha, incêndios causados de formas naturais (sem intervenção do homem), acúmulo de arsênio em águas marinhas; e de forma antropogênicas, onde se ressalta que o homem é o causador dessa contaminação, que pode ocorrer tanto de forma industrial ou doméstica, como exemplo através de esgotos, lixos, queimas de combustíveis; como também pela agropecuária através das queimadas, dos fertilizantes e praguicidas, contaminando de forma indireta ou direta (OGA; ZANINI, 2003).

Os efeitos nocivos causados pela interação dos agrotóxicos com os organismos são estudados pela área da toxicologia ambiental, ou ecotoxicologia, através de testes toxicológicos, os quais são regulamentados no Brasil pelo Ministério da Saúde, Ministério da Agricultura, e o Instituto Brasileiro de Defesa do

Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA), a qual os divide em cinco tipos de ensaios de toxicidade: aguda, subaguda, crônica, embriotoxicidade e estudos especiais, como comportamento e carcinogenicidade (OGA; ZANINI, 2003).

A realização de ensaios toxicológicos tem como objetivo determinar efeitos nocivos de diferentes substâncias sejam elas de natureza física, química ou biológica, sobre diversos organismos. O *Allium cepa* L. é um vegetal amplamente utilizado em ensaios toxicológicos, onde é possível avaliar diferentes parâmetros indicativos de dano, como alterações macroscópicas e microscópicas na raiz (LONGHIN, 2008). A utilização de *A. cepa* como organismo teste é capaz de evidenciar poluição ambiental e contaminação de ecossistemas aquáticos por substâncias químicas (FISKESJÖ, 1995 apud ARRAES e LONGHIN, 2012).

As plantas apresentam uma grande sensibilidade aos metais pesados em altas concentrações, por isso a avaliação de toxicidade com o organismo vegetal *Allium cepa* é muito utilizado pela sua capacidade de evidenciar o grau de compostos tóxicos, além de ser de baixo custo, com fácil acesso e disponibilidade, e fácil execução (BENASSI, 2004; CORRÊA, 2006).

O *A. cepa* é um organismo capaz de demonstrar variações quando expostos à contaminantes em diferentes concentrações, devido à bioacumulação em diferentes tecidos, podendo provocar alterações em sua estrutura molecular e distúrbios na divisão celular. Estas mudanças são facilmente notadas e analisadas em seu crescimento radicular (FISKESJÖ, 1958).

Os contaminantes químicos causadores de poluição ambiental, responsáveis por colocar a saúde e bem-estar do ser humano em risco, bem como o comprometimento do equilíbrio ecológico aquático devem ser monitorados constantemente. Estas substâncias químicas deterioram a qualidade das águas, e podem causar efeitos letais ou alterações no comportamento, reprodução ou fisiologia dos organismos vivos. O uso de agrotóxicos nas lavouras de arroz integra o conjunto de práticas que auxiliam na produtividade da região, no entanto, se usados de maneira inadequada podem representar uma ameaça ao meio ambiente (BRASIL, 2005).

Por isso, avaliar o efeito da toxicidade de águas provenientes do cultivo de arroz pode auxiliar no conhecimento da situação atual destes locais especialmente quanto a contaminação dos recursos hídricos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito ecotoxicológico da água utilizada no cultivo de arroz de uma região do extremo sul de Santa Catarina utilizando *Allium cepa* como bioindicador.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a toxicidade subaguda, em diferentes concentrações da água da cancha do arroz irrigado e do efluente, sobre o crescimento da raiz do vegetal *Allium cepa*.
- Identificar a toxicidade subaguda, em diferentes concentrações da água da cancha do arroz irrigado e do efluente, sobre a germinação das raízes do vegetal *Allium cepa*.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

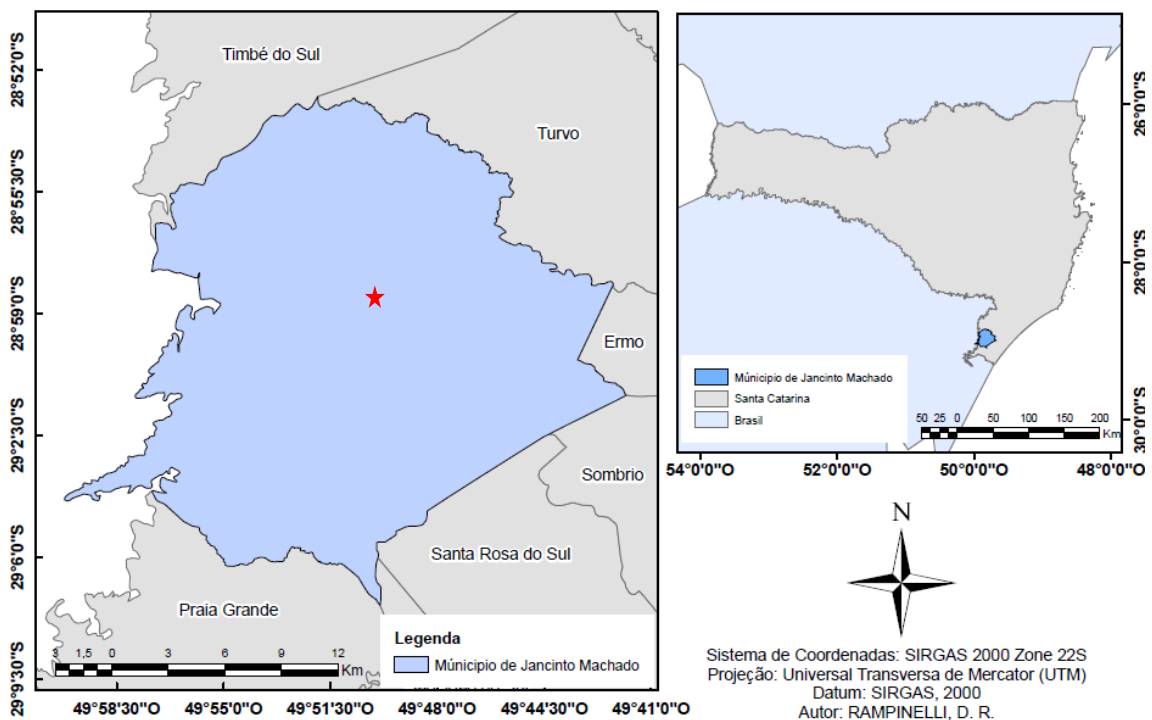
#### 3.1 ÁREA DE ESTUDO

O presente estudo foi realizado no município de Jacinto Machado ( $28^{\circ}58'11.3''\text{S}$ , e  $49^{\circ}43'56.9''\text{O}$ ) no extremo sul do Estado de Santa Catarina (Figura 1). O município faz limites com Turvo, Santa Rosa do Sul, Ermo, Cambará do Sul, Timbé do Sul, Sombrio e Praia Grande (SANTA CATARINA, 2007).

A região está inserida no bioma Mata Atlântica, e apresenta clima subtropical úmido, com chuvas bem distribuídas e verão quente (ALVARES et al., 2013). A precipitação acumulada para a região é maior no mês de abril e menor no mês de setembro, com temperatura variando entre  $18^{\circ}\text{C}$  a  $27^{\circ}\text{C}$  (INMET, 2016).

Figura 1: Mapa de localização do Brasil com destaque no Estado de Santa Catarina, indicando o Município de Jacinto Machado

Mapa do Município de Jacinto Machado, SC



Fonte: Do autor (2018)

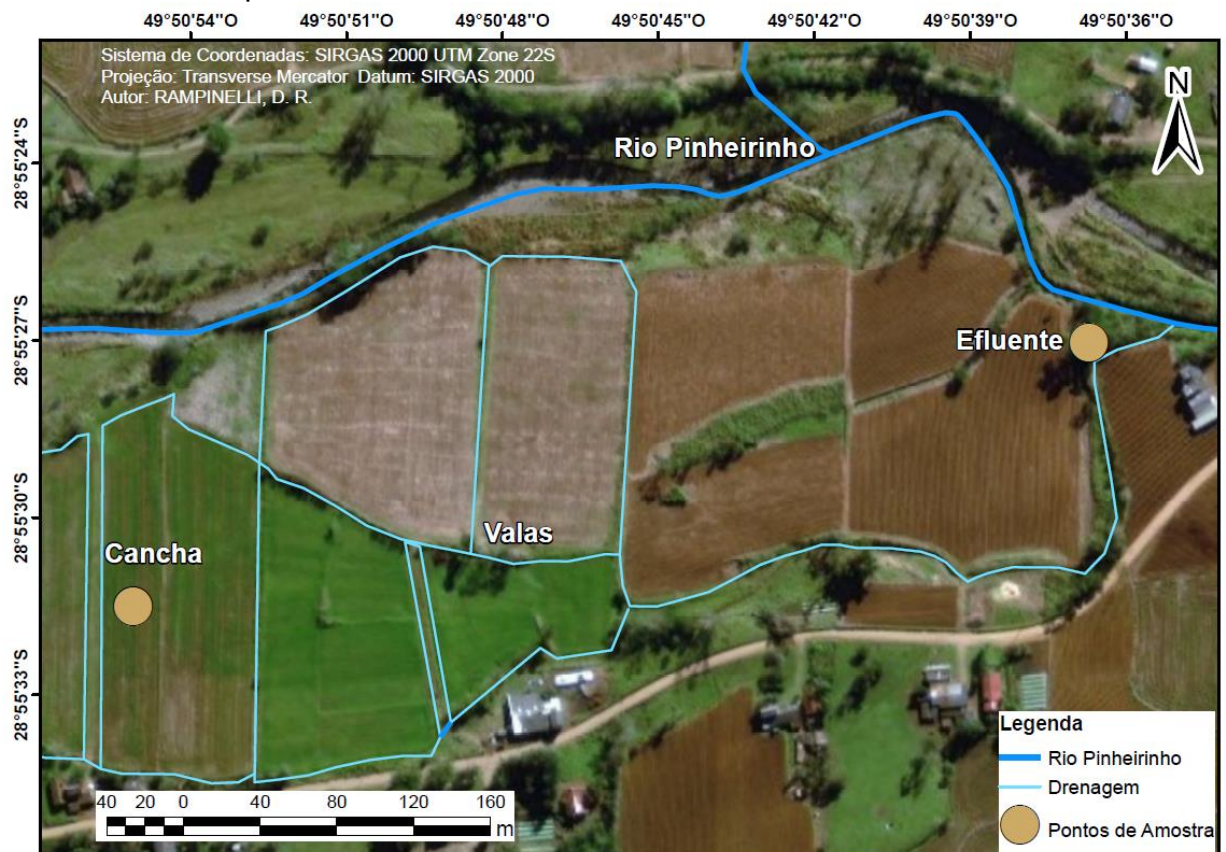
O estudo foi desenvolvido na safra 2017/18 em uma propriedade rural que tem como fonte de renda o cultivo de arroz irrigado. A propriedade está inserida em uma matriz paisagística predominantemente rural do município, composta por áreas

de rizicultura, áreas de construção antrópica, com rodovias, áreas de campo antrópico e também próxima a corpo d'água (Figura 2).

### 3.2 COLETA DAS AMOSTRAS DE ÁGUA

A coleta das amostras foi iniciada no mês novembro de 2017, período o qual representa o início do processo de inundação das várzeas e quando são aplicados os agrotóxicos (POLLETO, 2012). Para obtenção das amostras foram definidos dois sítios de coleta, sendo estes: Ponto 1 (Cancha) – localizado dentro de uma cancha de produção de arroz e; Ponto 2 (Efluente) – localizado na saída da água das valas, que percorrem entre as canchas de produção de arroz, para o rio Pinheirinho (Figura 2).

Figura 2: Localização dos pontos de amostragem 1 e 2 na margem direita do rio Pinheirinho, município de Jacinto Machado, SC



Os agrotóxicos utilizados na plantação de arroz irrigado foram referentes aos grupos químicos: dos ésteres de ácidos graxos; imidazolinona,



benzotiadiazinona, sulfonilida-triazolpirimidina, metilcabamato de benzofuranila, glicina substituída, ácido ariloxialcanóico e, triazol e estrobilurina.

Foram realizadas três campanhas de amostragem, sendo a primeira um dia após a utilização dos agrotóxicos, a segunda 15 dias após a primeira coleta e a terceira 30 dias após a segunda coleta, abrangendo os meses de novembro e dezembro de 2017 e janeiro de 2018, respectivamente.

As amostras foram coletadas em garrafas de politereftalato de etileno de dois litros, o suficiente para abranger todas as diluições de cada ponto. As amostras foram transportadas em caixas térmicas e os materiais resfriados no mesmo dia de coleta e congeladas abaixo de  $-10^{\circ}\text{C}$  até o dia de uso, conforme a norma ABNT - NBR 15469/2015.

### 3.3 TESTES ECOTOXICOLÓGICOS

Para os testes ecotoxicológicos o modelo biológico utilizado foi *Allium cepa*, o qual foi adquirido comercialmente, e armazenado a temperatura ambiente. Para os testes foram preparados três tratamentos em concentrações de 100%, 50% e 25%. Foram utilizadas quatro cebolas ( $n=4$ ) para cada concentração, o número de repetições está relacionado a grau de confiança da amostra. Para o grupo controle negativo ( $n=4$ ), foi utilizada água da diluição (água mineral). As amostras foram nomeadas de acordo com o mês de coleta, sendo o efluente 1 - referente ao mês de novembro, efluente 2 - amostras de dezembro e efluente 3 - amostras de janeiro, o mesmo padrão ocorre para as amostras da cancha.

Com base no modelo de Fiskesjö (1958), como protocolo pré-teste as raízes antigas foram removidas do prato com o auxílio de um bisturi. Posteriormente os bulbos foram alocados em recipientes com capacidade de 50ml e expostos à diferentes concentrações, abrigadas de raios solares e mantidas por um período de sete dias em temperatura ambiente. Para manutenção, as amostras foram preenchidas com as concentrações todos os dias devido a evaporação. Ao término do sétimo dia foram contabilizadas as raízes germinadas (considerando raízes novas), e o tamanho em comprimento da maior raiz de cada cebola foi mensurado.

A análise estatística dos dados de inibição do comprimento da raiz e número de raízes foi realizada através do software *Statistical Package for the Social*

*Sciences* (SPSS), versão 21.0. Foi feita análise de variância - ANOVA de uma via, seguida pelo teste de *Tukey*, com nível de significância  $p < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS PONTO 1 - CANCHA

Os resultados obtidos para o ensaio de toxicidade utilizando o *Allium cepa* como bioindicador, mostram que na concentração de 100%, as raízes das canchas 1 e 3 apresentaram diminuição no seu crescimento, de maneira significativa, quando comparadas ao grupo controle (figura 3A). Já o número de raízes germinadas para as amostras das três canchas, na mesma concentração, não apresentou diferença significativa quando comparado ao controle (figura 3B).

Os resultados encontram-se em parte semelhantes a um estudo realizado em por Bianchini (2010), onde foram avaliados ensaios de toxicidade com *A. cepa* em plantio de arroz localizado no município de Turvo (SC), este estudo mostrou que não houve diminuição no crescimento das raízes para as amostras coletadas das canchas no período estudado, divergindo do que foi encontrado em no presente trabalho. Já em relação ao número de raízes germinadas, este mesmo estudo mostrou que não ocorreu germinação das raízes da cebola quando expostas às águas das canchas, corroborando os achados deste estudo.

De acordo com os resultados, podemos sugerir que os agrotóxicos utilizados no plantio do arroz, diminuíram o crescimento das raízes de *A. cepa* na cancha 1 (coleta do mês novembro), pelo fato desta amostra ser concentrada (100%) e ter sido coletada apenas um dia após a utilização dos agrotóxicos. Na cancha 3, acredita-se que possa ter ocorrido efeito residual destes agrotóxicos no solo e isso pode ter influenciado negativamente no crescimento das raízes. Este fato é bem conhecido na literatura, devido ao transporte de agrotóxicos que ocorre em lavouras de arroz e sua permanência no solo (MARTINI *et al.*, 2012; PHONG *et al.*, 2009; WATANABE *et al.*, 2007).

Por outro lado, as chuvas podem ter ocasionado diluição das concentrações dos agrotóxicos ou perdas por lixiviação (BARRIGASI *et al.*, 2004), e por isso pode não ter representado a concentração real dos mesmos na cancha 2, uma vez que as raízes de *A. cepa* expostas a esta cancha não sofreram alterações em seu comprimento. As quantidades de agrotóxicos e de seus metabólitos presentes nas amostras coletadas das canchas 1, 2, 3 não ofereceram riscos à germinação de novas raízes.

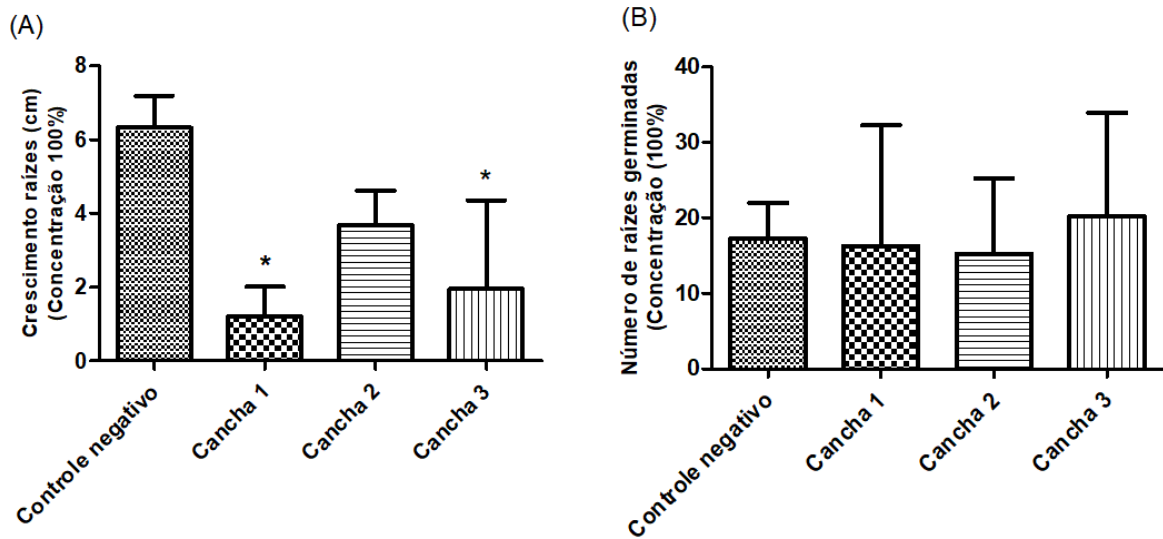


Figura 3: Na concentração de 100% (A), o gráfico mostra que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no crescimento das raízes de *A. cepa* em nos grupos Cancha 1 e Cancha 3 quando comparados ao grupo controle. Em (B) o gráfico mostra que não houve diferença significativa no número de raízes germinadas de *A. cepa* entre os grupos testados (Grupo controle, Canchas 1, 2 e 3), na concentração de 100%.

Os resultados obtidos para o crescimento das raízes de *A. cepa* mostram que na concentração de 50%, as raízes das canchas não apresentaram diferença significativa no seu crescimento quando comparadas ao grupo controle (figura 4A). O número de raízes germinadas para as amostras das canchas, na concentração de 50%, também não apresentou diferença significativa quando comparado ao controle (figura 4B).

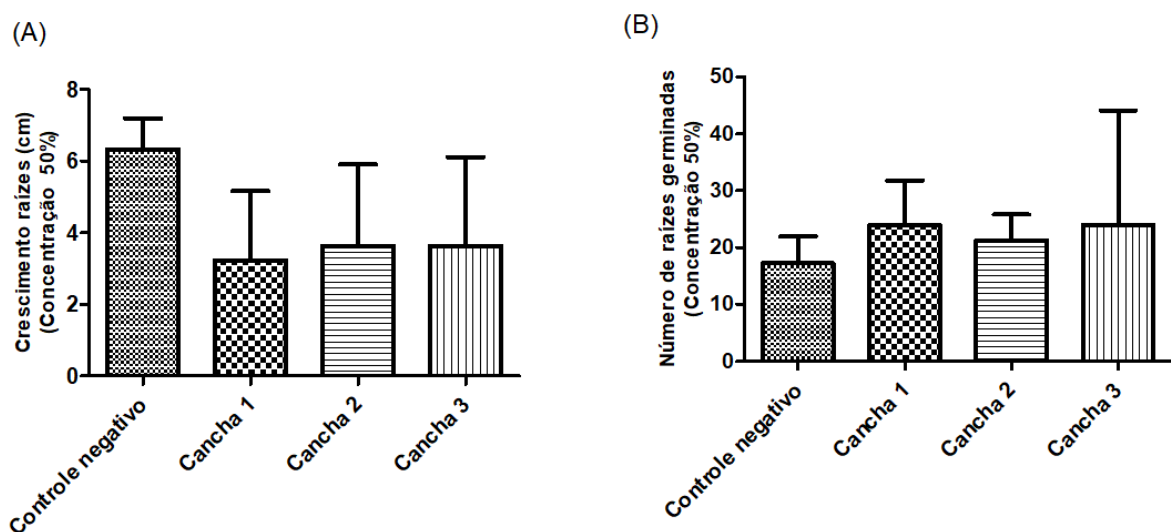


Figura 4: Na concentração de 50%, os gráficos (A) e (B) mostram, respectivamente, que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no crescimento das raízes e no número de raízes germinadas de *A. cepa* entre os grupos testados (Grupo controle, Canchas 1, 2 e 3).

Em relação ao crescimento das raízes e ao número de raízes germinadas de *A. cepa* na concentração de 25%, os resultados obtidos para as amostras das canchas 1, 2 e 3 foram semelhantes aos obtidos na concentração de 50%, onde não foram observadas alterações no crescimento nem no número de raízes germinadas (figuras 5A e 5B).

No sistema de plantio de arroz irrigado, ocorre a inundação da plantação, onde valas se formam entre as canchas de arroz, que em períodos de chuva pode ocorrer um transbordamento, havendo a mistura entre elas. As águas coletadas das canchas possuem concentrações de agrotóxicos que podem sofrer variações em decorrência da volatilização e das chuvas (BARRIGOSI et al., 2004).

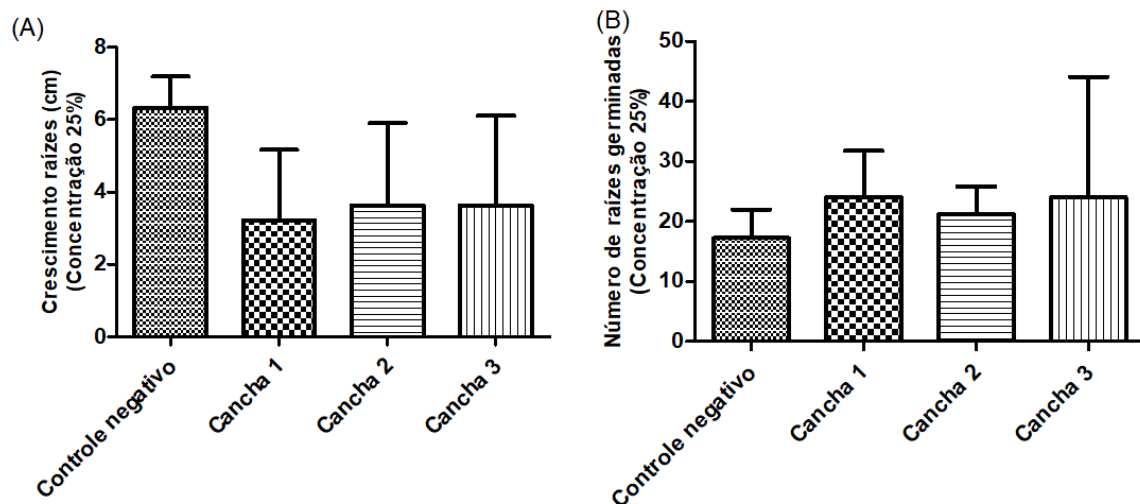


Figura 5: Na concentração de 25%, os gráficos (A) e (B) mostram, respectivamente, que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no crescimento das raízes e no número de raízes germinadas de *A. cepa* entre os grupos testados (Grupo controle, Canchas 1, 2 e 3).

Em relação as canchas 1, 2 e 3, nas concentrações de 50% e 25%, pode-se sugerir que os agrotóxicos e seus metabólitos encontravam-se em concentração baixas devido à diluição e desta forma insuficientes para gerar danos que impedissem o crescimento e a germinação de raízes do *A. cepa*.

## 4.2 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS PONTO 2 - EFLUENTE

O bioindicador *A. cepa* tem amplo emprego na avaliação de efluentes gerados em diferentes situações, como em plantios e diferentes segmentos industriais. Os resultados obtidos para o crescimento das raízes de *A. cepa*, mostram que na concentração de 100%, as raízes expostas aos efluentes 1, 2 e 3, não apresentaram diferença significativa no seu crescimento quando comparadas ao grupo controle (figura 6A).

Quando analisados alguns agrotóxicos usados na agricultura, incluindo em culturas de arroz irrigado, os resultados divergem dos achados no presente estudo, uma vez que apresentam redução significativa do crescimento das raízes (KRÜGER, 2009). Além disso, estudo de monitoramento de águas coletadas do retorno de lavouras de arroz de Capivari de Sul (RS) apontou um alto efeito mutagênico no organismo *A. cepa*. (PEREIRA, 2015).

Quando avaliada a toxicidade de *A. cepa* para as amostras dos efluentes 1, 2 e 3, na concentração de 100%, os resultados mostraram que não houve diferença significativa no número de raízes germinadas, quando comparado ao controle (figura 6B). Em contrapartida, um estudo realizado por Silva et al. (2012), onde foram avaliados os efeitos tóxicos do efluente de lavadores de gases instalados em chaminés de olarias, demonstrou que ocorreu redução no número de raízes, sugerindo influência negativa do efluente sobre células meristemáticas vegetais variando de acordo com o tempo. Em estudo realizado por Wandscheer (2016) mostrou que alguns agrotóxicos usados em lavouras de arroz irrigado tem elevada persistência na água de irrigação. Agrotóxicos como o triciclazol causou aumento da atividade genotóxica na água de irrigação da lavoura de arroz, evidenciando através do aparecimento de alterações cromossômicas.

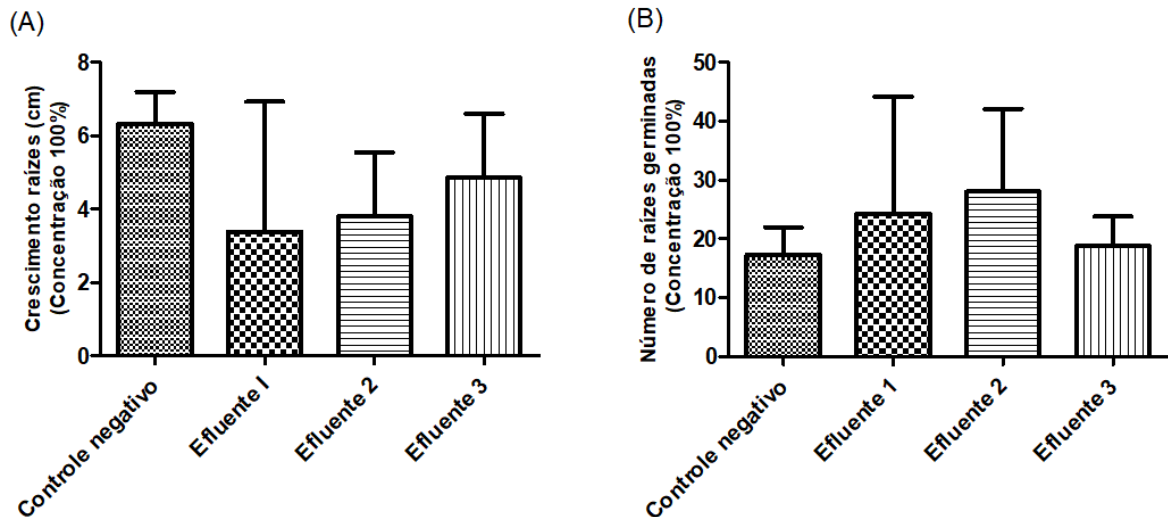


Figura 6: Na concentração de 100%, os gráficos (A) e (B) mostram, respectivamente, que não houve diferença significativa ( $p < 0.05$ ) no crescimento das raízes e no número de raízes germinadas de *A. cepa* entre os grupos testados (Grupo controle, Efluentes 1, 2 e 3).

Em relação ao crescimento das raízes de *A. cepa*, os resultados do presente estudo mostram que na concentração de 50%, as raízes expostas aos efluentes 1, 2 e 3, não apresentaram diferença significativa no seu crescimento quando comparadas ao grupo controle (figura 7A). Os autores Sá Júnior, Melo e Santos (2016), avaliaram a ocorrência de toxicidade do efluente de indústria de papelão reciclado, sobre as raízes de *A. cepa*, na concentração de 50%, nos meses de junho e outubro, onde não houve diferença significativa, sugerindo que as cebolas apresentaram sensibilidade semelhante.

De acordo com os resultados, na concentração de 50%, não houve diferença significativa no número de raízes germinadas, quando comparado ao controle (figura 7B). Já em estudo realizado por Silva et al. (2012), o efluente de lavadores de gases instalados na chaminé de olarias, se mostrou tóxico na concentração de 50% para *A. cepa*, influenciado negativamente sobre o crescimento das células do meristema radicular.

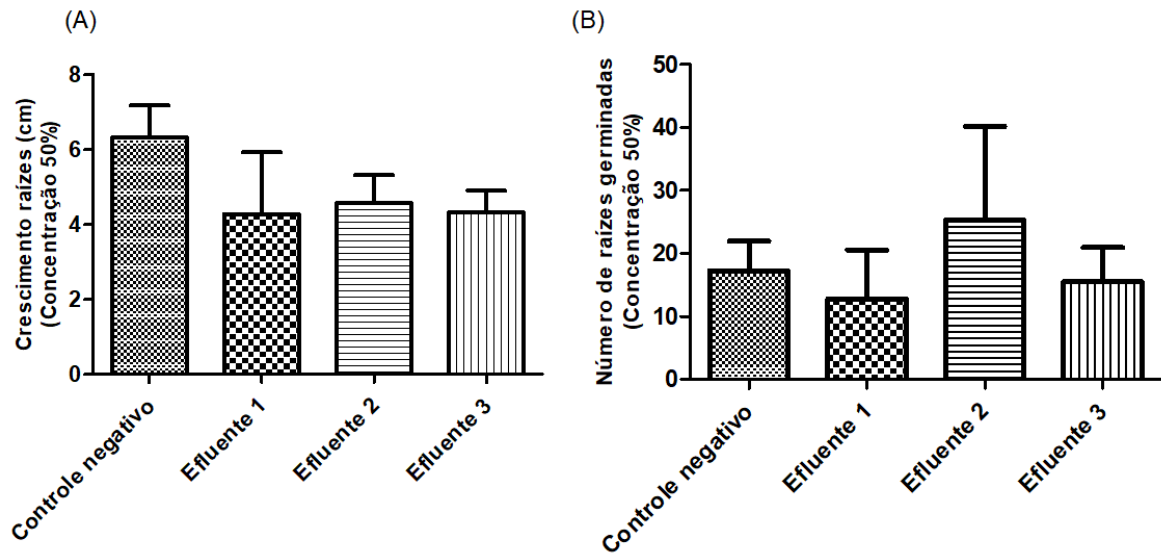


Figura 7: Na concentração de 50%, os gráficos (A) e (B) mostram, respectivamente, que não houve diferença significativa ( $p < 0.05$ ) no crescimento das raízes e no número de raízes germinadas de *A. cepa* entre os grupos testados (Grupo controle, Efluentes 1, 2 e 3).

O presente estudo mostrou que para a concentração de 25%, os efluentes 1, 2 e 3, não mostraram diferenças significativas em relação ao crescimento das raízes (figura 8A) e ao número de raízes germinadas (figura 8B). Desta forma pode-se dizer que nesta concentração os efluentes não foram capazes de gerar efeitos tóxicos sobre as raízes de *A. cepa*. Diferentemente do encontrado na literatura, Borges (2011), demonstrou que o efluente de uma olaria gerado pelo uso de lavador de gases, na concentração de 25% apresentou efeito tóxico sobre o crescimento radicular de *A. cepa*, onde foi percebida uma diminuição média de cerca de oito centímetros no crescimento da raiz. Outro estudo com efluentes de olarias e com o mesmo bioindicador, realizado por Silva et. al (2012), mostrou que o efluente na concentração de 25%, apresentou toxicidade sobre as raízes do vegetal, com redução do número de raízes novas.



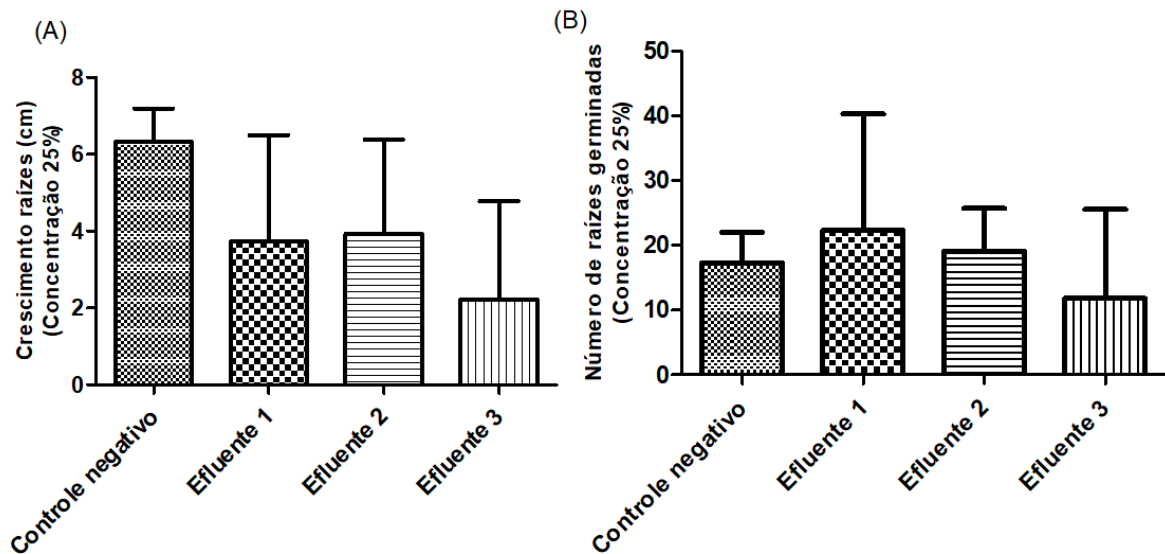


Figura 8: Na concentração de 25%, os gráficos (A) e (B) mostram, respectivamente, que não houve diferença significativa ( $p < 0.05$ ) no crescimento das raízes e no número de raízes germinadas de *A. cepa* entre os grupos testados (Grupo controle, Efluentes 1, 2 e 3).

O vegetal superior *A. cepa* é um bioindicador amplamente utilizado para ensaios de toxicidade envolvendo produtos químicos e dejetos industriais. Este organismo é capaz de responder à contaminação pelo fato de acumular substâncias químicas, alterando assim sua fisiologia e morfologia (BAGLIANO, 2012; CUCHIARA et al., 2012). Os efluentes oriundos de áreas agrícolas apresentam em sua composição substâncias químicas como fertilizantes e agrotóxicos, utilizados no plantio. Estes efluentes quando incorporados aos recursos hídricos podem gerar efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos nos organismos aquáticos (HOSHINA, 2005). Embora, se tenha conhecimento dos potenciais prejuízos causados pelos efluentes nos sistemas aquáticos, e da sensibilidade do organismo *A. cepa* como bioindicador, os resultados do presente estudo não mostraram alterações significativas no crescimento e no número de raízes germinadas de *A. cepa* para nenhuma das concentrações testadas.

## CONCLUSÃO

No presente estudo, o organismo bioindicador proposto para avaliar a toxicidade das águas das canchas e dos efluentes foi o *Allium cepa*. Este organismo sofreu redução no crescimento de suas raízes apenas nas águas das canchas na concentração de 100% e não sofreu alteração em suas raízes em nenhum dos efluentes testados. Estudos sobre a avaliação de toxicidade de águas e efluentes provenientes do plantio do arroz irrigado são escassos, o que dificulta a comparação dos resultados achados com os demais estudos relacionados.

Os agrotóxicos possuem um período gradativamente lento para sua degradação. Eles podem causar diversos malefícios, direta e indiretamente, ao ambiente devido ao seu acúmulo em organismos que habitam o local, que consomem água e alimentos. O aumento da produção de arroz irrigado, e a inovação de agrotóxicos mais voláteis e fortes são motivos de grande preocupação. Pela relevância do tema e por haver poucos estudos que avaliem a toxicidade de efluentes de plantações, novos estudos com testes mais centrados nos agrotóxicos e seus possíveis efeitos deletérios aos organismos se fazem necessários.

## REFERÊNCIAS

- ALVARES, C.A.; Stape, J.L.; Sentelhas, P. C.; Gonçalves, J.L. de M.; Sparovek, G. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift** 22, 711–728.
- ALVES, José Prado Filho. **Uso de agrotóxicos no Brasil: controle social e interesses corporativos**. São Paulo: Annablume, 2002. 188 p.
- ARRAES, A.I.O.M; LONGHIN, S.R. OTIMIZAÇÃO DE ENSAIO DE TOXICIDADE UTILIZANDO O BIOINDICADOR *Allium cepa* COMO ORGANISMO TESTE. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, **Centro Científico Conhecer** - Goiânia, v.8, N.14; p. 1958 – 2012.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR15469: Ecotoxicologia - Coleta, preservação e preparo de amostras**. 2. ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2015. vi, 16p. ISBN 9788507060048.
- BAGLIANO, Roger Vinicius. Principais organismos utilizados como bioindicadores relatados com uso de avaliadores de danos ambientais. **Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade** | vol.2 n.1 | jul - dez 2012.
- BARRIGOSI, J.A.F.; LANNA, A.C.; FERREIRA, E. Agrotóxicos no cultivo do Arroz no Brasil: Análise do consumo e medidas para reduzir o impacto ambiental negativo. **Circular Técnica nº67, Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Santo Antônio de Goiás, GO, 2004.
- BENASSI, J. C. **O uso de bioindicadores e biomarcadores na avaliação do processo de remediação de efluente de lixiviação de carvão mineral utilizando microesferas de quitosana**. 2004. 106 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- BIANCHINI, Priscila Tramontin. **Avaliação toxicológica do efluente da irrigação do arroz no município de Turvo (SC), utilizando como bioindicadores daphnia magna e allium cepa L.** 2010. 66 f. TCC (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2010 Disponível em: <<http://www.bib.unesc.net/biblioteca/sumario/00004D/00004D20.pdf>>
- BORGES, Cacilda. **Avaliação do Toxicidade do Efluente de Lavador de Gases de Olaria, Utilizando como Bioindicadores: Lactuca sativa, Allium cepa L., Artemia sp. e Eisenia foetida**. 2011. 155 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2011.
- BRAIBANTE, M.E.F.; ZAPPE, J.A. QUÍMICA NOVA NA ESCOLA A Química dos Agrotóxicos 15 Vol. 34, Nº 1, p. 10-15, FEVEREIRO 2012. **A Química dos Agrotóxicos**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p.10-15, fev. 2012.
- BRASIL (País). Aroldo Antonio De Oliveira Neto. (Org.). **A Cultura Do Arroz. Brasília: Superintendência De Marketing E Comunicação – Sumac / Gerência De Eventos E Promoção Institucional - Gepin**, 2015. 182 P. Disponível Em:

<[http://www.conab.gov.br/olalacms/uploads/arquivos/16\\_03\\_01\\_16\\_56\\_00\\_A\\_Cultura\\_Do\\_Arroz\\_-\\_Conab.Pdf](http://www.conab.gov.br/olalacms/uploads/arquivos/16_03_01_16_56_00_A_Cultura_Do_Arroz_-_Conab.Pdf)>. Acesso Em: 06 Out. 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução CONAMA Nº 430/2011, de 16 de maio de 2011. **Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357**, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Ministério do Meio Ambiente, DF, 17 mai. 2011. Nº 92, de 16/05/2011, pág. 89. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>. Acesso em: 04 nov. 2018.

CORRÊA, T. L. **Bioacumulação de metais pesados em plantas nativas a partir de suas disponibilidades em rochas e sedimentos: o efeito na cadeia trófica**. 2006. 143 f. Dissertação (Mestrado em Evolução Crustal e Recursos Naturais) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2006.

CUCHIARA, C. C.; BORGES, C. S.; BOBROWSKI, V. L. SISTEMA TESTE DE ALLIUM CEPA COMO BIOINDICADOR DA CITOGENOTOXICIDADE DE CURSOS D'ÁGUA. **Tecnologia, Ciência e Agropecuária**, João Pessoa, v. 6, n. 1, p. 33-38, mar. 2012.

D'AMATO, Claudio; TORRES, João P. M.; MALM, Olaf. DDT (DICLORO DIFENIL TRICLOROETANO): TOXICIDADE E CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL - UMA REVISÃO. **Quim. Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 6, p.995-1002, 19 mar. 2002.  
EHLERS, Eduardo. **O que é agricultura sustentável**. São Paulo: Brasiliense, p. 62, 2009.

FERREIRA, Carlos Magri; MORAIS, Orlando Peixoto de. Formação da matriz produtiva do arroz no Brasil. **Planeta Arroz**. Cachoeira do Sul, p. 18-19. 20 jun. 2017. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1071126/1/magri2001.pdf>>. Acesso em: 22 abr. 2018.

FERREIRA, Maria Leonor Paes Cavalcanti. **De defensivos agrícolas a agrotóxicos: desafios para a regulamentação dos agroquímicos no Brasil**. Florianópolis: Editora Ufsc, 2011. 169 p. ISBN 9788532805485 (broch.)

FISKESJÖ, G. (1958). The Allium-test as a standard in environmental monitoring,. **Hereditas**, 102, 99–112.

HOSHINA, M.M. **Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de efluentes de refinaria de petróleo, por meio dos sistemas testes de Allium cepa e Oreochromis niloticus**. Dissertação, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2005.

IBGE, **Produção Agrícola Municipal 2007**. Rio de Janeiro: IBGE, 2008. <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/jacinto-machado/pesquisa/31/29644?localidade1=42>>. Acesso em: 13 out. 18.

INMET - Instituto Nacional de. **BDMEP - Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa**, 2016. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>>. Acesso em: 06 out. 2017

KRÜGER, R.A. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de Agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa***. Dissertação do Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental. Centro Universitário FEEVALE. Novo Hamburgo, 2009.

LONGHIN, S. R. **Estudo da degradação dos antibióticos beta-lactâmicos amoxicilina e ampicilina e avaliação da toxicidade e biodegradabilidade dos seus produtos**. Tese de Doutorado submetida ao Programa de Doutorado em Química, do Instituto de Química da Universidade de Brasília. 2008.

MARTINI, L.F.D.; AVILA, L.A.; CASSOL, G.V.; ZANELLA, R.; MACHADO, S.L.O.; MARQUES, M.S.; DE VICARI, M. Transporte de Agrotóxicos em Lavoura de Arroz irrigado sob três manejos de irrigação. **Planta Daninha**, Viçosa – MG, v.30, nº4, p. 799 – 808, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). DECRETO 4072/2002 – DECRETO DOS AGROTÓXICOS. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 26 de nov. 2018.

OGA, Seizi; ZANINI, Antonio Carlos. **Fundamentos de toxicologia**. 2.ed São Paulo: Atheneu, 2003. 474 p. ISBN 8574540757.

PEREIRA, A.S. **Avaliação do Potencial Mutagênico da Água de Retorno das Lavouras de Arroz de Capivari do Sul (Rio Capivari, RS) através do sistema teste *Allium cepa***. Monografia – Curso Ciências Biológicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Imbé, 2015.

PHONG, T.K.; NHUNG, D.T.T.; MOTOBAYASHI, T.; THUYET, D.Q.; WATANABE, H. Fate and transport of Nursery – Box- Applied Tricyclozole and Imidacloprid in Raddy Fields. **Water Air Soil Pollut**, V.202, p. 3–12, 2009.

POLETTTO, Naracelis. **Curso Técnico em Agropecuária Integrado ao Ensino Médio**: Culturas Anuais. Sombrio: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, p.165, 2012.

SÁ JÚNIOR, E.F. DE; MELO, O.T.; SANTOS, R.L. AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE UM EFLUENTE INDUSTRIAL DE RECICLAGEM DE PAPELÃO UTILIZANDO *Danio rerio* E *Allium cepa*. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, Maranhão, v. 26, n. 1, p.1-7, jan. 2016.

SANTA CATARINA. HILTON GORRESEN. (Org.). **Jacinto Machado**: um paraíso de belezas naturais.1. Ed. Forquilha. Glouck Edições, 2007. 180 p. (Coleção caminho dos Canyons).

- SANTA CATARINA. Secretaria de Estado da Agricultura e da Pesca. **Santa Catarina encerra safra 2017/18 de grãos com recorde na produção de soja**. 2018. Disponível em: <<https://www.sc.gov.br/index.php/noticias/temas/agricultura-e-pesca/santa-catarina-encerra-safra-2017-18-de-graos-com-recorde-na-producao-de-soja>>. Acesso em: 25 nov. 2018.
- SILVA, J. DA, TOMAZI, K. O., SANT'ANA, A. C., PILETTI, R., ANGIOLETO, E., & PICH, C. T. Análise Físico-Química E Toxicológica De Efluente Gerado Por Lavadores De Gases Em Olaria Do Sul Catarinense. *Rev.Técnico Científica (IFSC)*, 3(1), 242–251, 2012.
- TONETTO, Renata Tramontin. **Linguagem matemática no cultivo do arroz**. 2009. 44 f. Monografia (Especialização em Educação Matemática) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2009 Disponível em: <<http://www.bib.unesc.net/biblioteca/sumario/00003C/00003C9D.pdf>>.
- VEIGA, Marcelo Motta et al. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil: Pesticide pollution in water systems in a small rural community in Southeast Brazil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. , n. , p.2391-2399, nov. 2016.
- WANDSCHEER, A.C. **Macroinvertebrados Bentônicos em lavoura de arroz irrigado sob efeito de fungicidas e inseticidas**. Tese de Doutorado – Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, 2016.
- WATANABE, H. et al. Effect of Water management practice on pesticide behavior in paddy water. *Agric. Water Manag.*, V.88, Nº1-3, p. 132-140, 2007.
- ZINGORE, Shamie; WAIREGI, Lydia; NDIAYE, Mamadou Kabirou. **Guia dos sistemas de cultivo do arroz**. Nairobi: Africa Soil Health Consortium, 2014. 74 p. Este guia de cultivo foi publicado em 2013 pelo ASHC, CABI. ISBN (versão impressa): 978-1-78064-552-0 Disponível em: <<https://agriknowledge.org/downloads/sn009x830>>. Acesso em: 22 abr. 2018.

**ANEXOS**

**ANEXO A – CARTA DE ACEITAÇÃO DO PROPRIETÁRIO**

## CARTA DE ACEITE

Eu, Angelo Giusti Ronçani, portador do RG 1.538.103 declaro para os devidos fins, que permito o acesso, bem como a coleta de amostras de água e efluentes de diferentes pontos da plantação de arroz estabelecida nesta propriedade rural pela acadêmica Danielle Ronçani Rampinelli, sob orientação da professora Meline Oliveira dos Santos Morais, para o desenvolvimento das atividades do projeto de pesquisa de conclusão de curso em ciências Biológicas Bacharelado da Universidade do Extremo Sul Catarinense, pelo período de execução referido para o devido projeto.

Angelo G. Ronçani  
Assinatura responsável pelo local

Jacinto Machado, SC  
02 de outubro de 2017