

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC  
UNIDADE ACADÊMICA DE HUMANIDADES, CIÊNCIAS E EDUCAÇÃO  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – BACHARELADO**

**DÉBORA BORGES TOMAZ**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DAS ÁGUAS DO RIO SANGÃO (CRICIÚMA,  
SANTA CATARINA) UTILIZANDO *Allium cepa* L. COMO BIOINDICADOR**

**CRICIÚMA**

**2016**

**DÉBORA BORGES TOMAZ**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DAS ÁGUAS DO RIO SANGÃO (CRICIÚMA,  
SANTA CATARINA) UTILIZANDO *Allium cepa* L. COMO BIOINDICADOR**

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

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paula Rohr

**CRICIÚMA**

**2016**

**DÉBORA BORGES TOMAZ**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DAS ÁGUAS DO RIO SANGÃO (CRICIÚMA,  
SANTA CATARINA) UTILIZANDO *Allium cepa* L. COMO BIOINDICADOR**

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.

Criciúma, 20 de junho de 2016.

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Paula Rohr - Doutora – Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC -  
Orientador

Prof. Adriani Paganini Damiani - Mestre - Universidade do Extremo Sul Catarinense -  
UNESC

Prof. Jairo José Zocche - Doutor - Universidade do Extremo Sul Catarinense -  
UNESC

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais Regina e Luiz e também aos meus irmãos Felipe e Paulo, a família e amigos pelo apoio incondicional ao longo desses anos de graduação. Agradeço também a minha orientadora Prof. Dra. Paula Rohr pelo tempo dedicado a preparação deste trabalho e conhecimento transmitido. Aos integrantes do Laboratório de Biologia Celular e Molecular - LABIM e seus colaboradores por ceder espaço para realização deste estudo.

Em especial à Amanda Valnier Steckert, Ana Paula Moreira, Débora Ceron, Diogo Dominguni, e Leandro de Medeiros Sebastião. As amigas Janine Goterra Dias e Stephanie Christie Plats de Almeida que mesmo longe fisicamente estiveram comigo. Todos exerceram um papel crucial ao longo da realização deste sonho que é concluir esta graduação. E a todos que muito embora não tenha citado o nome, sabem que moram no meu coração e que eu os amo muito de uma forma especial. Também aos meus gatos, pois poucos tem a oportunidade de conhecer a plenitude de ser amado por um animal.

## RESUMO

O desenvolvimento tecnológico e o crescimento populacional acarretam uma série de impactos ao meio ambiente. Estes impactos afetam vários ecossistemas, especialmente os aquáticos, onde corpos hídricos como rios constituem o biótopo. No município de Criciúma, existem diversos mananciais com elevados níveis de poluição que são oriundos de atividades antrópicas e industriais. O principal setor cujas atividades vêm impactando consideravelmente os aquíferos naturais é o da indústria carbonífera. Assim, este trabalho teve por objetivo analisar os efeitos tóxicos, citotóxicos e genotóxicos das águas do Rio Sangão utilizando *Allium cepa* L. como organismo bioindicador. Foram utilizadas 100 sementes para cada grupo, Controle Negativo, Controle Positivo e os pontos amostrais nas concentrações de 25%, 50 e 100%. Após 5 dias de exposição das sementes foram contabilizadas as sementes germinadas e medidos os comprimentos das raízes. Foram preparadas 2 lâminas por grupo de tratamento, com 5 raízes por lâmina, onde foram analisadas 100 células por raiz, observando o número de células em mitose e presença de anomalia cromossômicas como Distúrbios metafásicos, Micronúcleo e Ponte anáfásica. O teste de germinação não demonstrou diferença significativa entre os pontos e concentrações. No teste de inibição do comprimento da raiz, com exceção da concentração de 100% do Ponto 1, todos os demais pontos e concentrações obtiveram um aumento significativo no comprimento, em relação ao controle positivo. A avaliação do Índice Mitótico (IM) não apresentou diferença significativa, quando comparados aos controles positivo e negativo; porém, quando foram comparadas as concentrações, no ponto 1 e 2 apresentaram um aumento significativo do IM, indicando um aumento celular. Na Contagem de Micronúcleo (CMN) o controle positivo, juntamente com a concentração de 100% em todos os pontos tiveram um aumento significativo quando comparadas ao controle negativo. Embora não tenha sido observado a presença de Distúrbios metafásicos, houve presença de duas Pontes anáfásicas, confirmando o potencial genotóxico da água. Assim, o Ponto 1 foi o que apresentou resultados mais preocupantes, a partir das variáveis analisadas. As análises de IM e CMN, demonstraram-se mais sensíveis aos agentes encontrados neste manancial.

**Palavras-chave:** Poluição ambiental. Ecotoxicologia. *Allium cepa* L.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|   |    |
|---|----|
| Figura 1: Mapa mostrando a localização do rio Sangão em azul com destaque em verde para os pontos de coletas. ....                                      | 21 |
| Figura 2. Rio Sangão, Ponto 1, próximo à Rodovia Sebastião Toledo dos Santos, Bairro Laranjinha. ....   | 22 |
| Figura 3. Rio Sangão, Ponto 2, localizado na Avenida Universitária, Bairro Santa Luzia.....   | 23 |
| Figura 4. Rio Sangão, Ponto amostral 3, localizado na Rodovia Gabriel Arns (SC-446), Bairro São Roque.....  | 23 |
| Figura 5. Representação esquemática do preparo das amostras até o início das análises. ....   | 25 |
| Figura 6. Taxa germinação de sementes de <i>Allium cepa</i> L. entre os grupos após exposição á águas do rio Sangão. ....                               | 27 |
| Figura 7.Comprimento das raízes em cm de <i>Allium cepa</i> L. após exposição as águas do rio Sangão.....   | 28 |
| Figura 8. Índice mitótico obtido após análise de células da zona meristemática de raízes de <i>Allium cepa</i> L. expostas as águas do rio Sangão. .... | 29 |
| Figura 9. Contagem de micronúcleos em células de zona meristemática de <i>Allium cepa</i> L após exposição a águas do rio Sangão.....                   | 30 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1. Descrição e coordenadas dos pontos amostrais do rio Sangão, município de Criciúma, SC. ....                               | 22 |
| Tabela 2. Dados referentes as análises físico-químicas da água do rio Sangão coletado em três pontos do município de Criciúma. .... | 31 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                   |   |
|-------------------|---|
| CASAN             | Companhia Catarinense de Águas e Saneamento |
| COT               | Carbono Orgânico Total                      |
| CMN               | Contagem de micronúcleo                     |
| CONAMA            | Conselho Nacional do Meio Ambiente          |
| CuSO <sub>4</sub> | Sulfato de Cobre                            |
| DBO               | Demanda Bioquímica de Oxigênio              |
| DMT               | Distúrbio Metafásico                        |
| DNA               | Ácido Desoxirribonucleico                   |
| DQO               | Demanda Química de Oxigênio                 |
| IM                | Índice mitótico                             |
| MN                | Micronúcleo                                 |
| OD                | Oxigênio Dissolvido                         |
| PA                | Ponte Anafásica                             |
| pH                | Potencial Hidrogeniônico                    |
| UNT               | Unidade Nefelométrica de Turbidez           |

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>11</b> |
| 1.1 OBJETIVOS .....  | 13        |
| 1.1.1 Objetivo geral .....                                       | 13        |
| <b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....                               | <b>14</b> |
| 2.1 POLUIÇÃO AQUÁTICA.....                                       | 14        |
| 2.2 TESTES DE TOXICIDADE.....                                    | 15        |
| 2.3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA .....                         | 17        |
| 2.3.1 pH .....   | 17        |
| 2.3.2 Oxigênio Dissolvido (OD) .....                             | 17        |
| 2.3.3 Matéria Orgânica (DBO e DQO).....                          | 17        |
| 2.3.4 Condutividade .....  | 18        |
| 2.3.5 Turbidez .....   | 18        |
| 2.3.6 Dureza total.....  | 19        |
| <b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....                               | <b>20</b> |
| 3.1 LOCALIZAÇÃO E DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO .....              | 20        |
| 3.2 METODOLOGIA.....   | 24        |
| 3.2.1 Análise estatística .....                                  | 26        |
| <b>4 RESULTADOS</b> .....  | <b>27</b> |
| 4.1 ANÁLISES TOXICOLÓGICAS .....                                 | 27        |
| 4.1.1 Teste de toxicidade subaguda com <i>Allium cepa</i> L..... | 27        |
| 4.1.2 Teste de citotoxicidade.....                               | 27        |
| 4.1.3 Teste de genotoxicidade.....                               | 29        |
| 4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....                               | 31        |
| <b>5 DISCUSSÃO</b> .....   | <b>32</b> |
| <b>6 CONCLUSÃO</b> .....   | <b>37</b> |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....   | <b>38</b> |
| <b>APÊNDICE(S)</b> .....   | <b>42</b> |
| APÊNDICE A – OFÍCIO ENVIADO A CASAN.....                         | 43        |

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento tecnológico e o crescimento populacional acarretam uma série de impactos ao meio ambiente (FLYNN et al., 2015). A água é de fundamental importância para a sobrevivência e desenvolvimento de organismos vivos, assim estes impactos afetam vários ecossistemas. Dentre eles os ecossistemas aquáticos, onde corpos hídricos como rios, mares, pântanos entre outros são o biotópo (BRUNCHEN *et al.*, 2013).

A poluição ambiental caracteriza-se por ser um problema de ordem global (YARON, CALVET & PROST, 1996). Seu impacto perante aos ecossistemas naturais encontra evidências em diversas regiões do planeta, principalmente nas próximas a áreas com altas concentrações demográficas (MAGOSSI & BONACELLA, 1994).

Atualmente, no município de Criciúma – SC existem diversos mananciais com elevados níveis de poluição, visivelmente oriundos de atividades antrópicas, sejam de origem industrial ou derivados de efluentes domésticos. No âmbito industrial, o principal setor cujas atividades vêm impactando consideravelmente os aquíferos naturais é o da indústria carbonífera (KREBS & ALEXANDRE, 2000).

O processo de extração de carvão mineral, expoente do desenvolvimento econômico do município durante décadas, contempla diversas etapas até a obtenção do produto final, que atualmente é dedicado em sua maior parte à geração de energia elétrica por termelétricas da região sul-catarinense (MARCELLO, 2005; AMARAL & KREBS, 2010). Dentre as etapas com maior impacto direto aos mananciais, destacam-se o processo de lavagem de carvão e o acondicionamento dos rejeitos do minério bruto em depósitos (MARCELLO, 2005; PAVEI, 2007).

Diferente de outras atividades poluidoras industriais, os impactos da mineração do carvão permaneceram mesmo após cessarem as atividades. Os mananciais próximos às áreas de depósitos de rejeitos continuam a receber quantidades significativas de ácido sulfúrico, que é gerado pela oxidação da pirita em contato com ar (SILVA, 2008).

A avaliação da qualidade da água dos mananciais pode ser realizada por análises físico-químicas e por indicadores biológicos, sendo que a associação das diferentes técnicas permite a obtenção de resultados mais abrangentes e confiáveis acerca dos impactos ambientais em um ecossistema (SILVA, 2008).

O presente estudo baseou-se na implementação de técnicas de análise utilizando um bioindicador em amostras de água coletadas em locais pré-definidos no leito do rio Sangão, município de Criciúma, SC. O rio Sangão é constituinte da bacia hidrográfica do rio Araranguá (KREBS & ALEXANDRE, 2000), e seus afluentes recebem grandes quantidades de poluentes derivados das fontes supracitadas.

A adição de resultados qualitativos de análises nos pontos de interesse, em complementação aos dados quantitativos tradicionalmente obtidos reveste de importância o presente trabalho na obtenção de um diagnóstico mais completo das condições biológicas do rio Sangão.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Analisar os efeitos tóxicos, citotóxicos e genotóxicos das águas do rio Sangão utilizando *Allium cepa* L. como organismo bioindicador.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- a. Avaliar a toxicidade subaguda em *Allium cepa* L., exposta a água do rio Sangão, através do teste de germinação de sementes.
- b. Avaliar os efeitos citotóxicos em *Allium cepa* L., exposta a água do rio Sangão, através do teste de inibição do crescimento da raiz.
- c. Avaliar os efeitos citotóxicos das águas do rio Sangão a *Allium cepa* L. por meio de índices mitóticos.
- d. Avaliar os efeitos genotóxicos das águas do rio Sangão por meio de danos ao DNA em células meristemáticas de *Allium cepa* L.
- e. Comparar os potenciais de toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade da água em diferentes locais amostrados.
- f. Avaliar as variáveis ambientais condutividade, DBO, DQO, dureza, pH, OD e turbidez em diferentes locais do rio.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Há uma inter-relação lógica entre o crescimento demográfico e o desenvolvimento da sociedade com os níveis de poluição encontrados nos mesmos locais (SILVA, 2008). A ocupação de locais de matas ciliares, utilização inadequada de recursos naturais, despejo de dejetos de forma irresponsável, bem como a alteração das paisagens naturais são exemplos de atitudes que impactam de forma significativa no meio ambiente. Todas essas ações são protagonizadas pelo Homem, que também é vítima da degradação ambiental (DOMINGUES & BERTOLETTI, 2006).

Na busca pela exploração máxima dos potenciais econômicos de determinadas regiões, as intervenções são tamanhas a ponto de descaracterizar os ambientes naturais, além de impossibilitar sua total recuperação. Basicamente, a sociedade não detém, ainda, uma forma de viabilizar o avanço tecnológico solicitado pelo desenvolvimento social simultaneamente com manutenção dos recursos naturais e preservação ambiental a níveis satisfatórios (KREBS & NOSSE, 1998; SILVA, 2008).

### 2.1 POLUIÇÃO AQUÁTICA

Dentre os ambientes afetados pela degradação ambiental, mananciais hídricos figuram como vítimas frequentes de índices de poluição elevados e deteriorações de grande monta. As reservas naturais de água doce são afetadas pela humanidade, visto que a água é fundamental para diversos processos antrópicos e que, em geral, as grandes cidades desenvolvem-se próximas a corpos d'água, seja para a captação de afluentes para consumo ou por ser uma via facilitada para o despejo de efluentes (ODUM & BARRETT, 2007).

Ocorre que a maioria dos efluentes gerados pelo Homem são compostos por substâncias com potencial extremamente agressor aos corpos hídricos, seja por associações sequenciadas ou por elevados níveis de toxicidade inerentes ao próprio efluente. Geralmente, efluentes industriais possuem altas concentrações de produtos químicos derivados de processos internos. Quando despejados sem o devido tratamento, impactam nas condições físico-químicas da água, acarretando na formação de ambientes inóspitos ao desenvolvimento natural da biota relacionada.

Efluentes domésticos, em suma, são caracterizados pela alta quantidade de matéria orgânica, que provoca distúrbios no equilíbrio da cadeia alimentar natural (HWANG *et al.*, 2009). Igualmente, é pacífico que a inserção de diversos tipos de efluentes em corpos d'água amplifica os níveis de poluição (ALVIM *et al.*, 2011, De OLIVEIRA, VOLTOLINI & BARBÉRIO, 2011).

Desde as últimas décadas, os mananciais do sul catarinense têm sido fortemente impactados por atividades como: construção de barragens e represas, retificação e/ou desvio do curso natural de rios, lançamento de efluentes domésticos e industriais não tratados, destruição das matas ciliares, uso inadequado do solo, deterioração de planícies de inundação entre outros. Na lista anterior podemos incluir com destaque a atividade de mineração, que apesar do atual desenvolvimento de tecnologias sustentáveis e do aumento considerável da fiscalização nos últimos anos, foi praticada de forma desenfreada e inadequada por diversas décadas desde o seu início (GONÇALVES & MENDONÇA, 2007; SANTA CATARINA, 2014). Um exemplo dos efeitos provocados por esta atividade, são os depósitos inadequados dos rejeitos, além da conduta relapsa que era contumaz nas primeiras décadas da exploração do carvão provocaram impactos incrivelmente danosos aos rios da região (SANTA CATARINA, 2014). Tamanho é o impacto ambiental que aproximadamente 2/3 dos rios e mananciais da região carbonífera ainda são caracterizados como poluídos conforme Krebs & Alexandre (2000).

## 2.2 TESTES DE TOXICIDADE

Historicamente, a análise qualitativa de corpos d'água em relação à avaliação dos níveis de poluição presentes nestes é realizada com base em análises físico-químicas de amostras da água. Embora, a interação com o ecossistema seja um processo dinâmico e complexo, fazendo com que os resultados de análises físico-químicas possam não contemplar as interações de forma mais aprofundada e detalhada acerca das consequências dos agentes poluidores nos locais de estudo (GOULART & CALISTO, 2003).

Uma alternativa aos métodos físico-químicos tradicionais com maior amplitude do espectro de análise é a aplicação de bioensaios. Também denominado de monitoramento biológico, que se trata da aplicação de técnicas com a utilização de bioindicadores de qualidade. A aplicação de técnicas com bioindicadores é

baseada em diferentes protocolos, diferenciados em suma pelas características do bioindicador. Em geral, as variáveis analisadas são: modificação na riqueza de espécies e índices de diversidade, abundância de organismos resistentes, perda de espécies sensíveis, medidas de produtividade primária e secundária, sensibilidade a concentrações de substâncias tóxicas (ensaios toxicológicos) entre outros. (BARBOUR *et al.*, 1999)

Assim, a principal vantagem das análises de toxicidade com bioindicadores é baseada na capacidade de prever o efeito conjunto de várias substâncias à biota aquática sem a necessidade de caracterizá-las isoladamente (CETESB, 1987, *apud* JARDIM, 2004). Dentre diversas alternativas para a aplicação de bioindicadores, foi selecionada para a realização deste trabalho a espécie *Allium cepa* L.

Com um custo bastante acessível e de fácil manipulação, a *Allium cepa* L. apresenta cromossomos em boas condições de estudo de danos ou distúrbios na divisão celular, itens que serão abordados no decorrer deste estudo (BELCAVELLO, *et al.*, 2012). A *Allium cepa* L. tem sido utilizado por muitos pesquisadores, especialmente como bioindicador de poluição. Uma característica bastante interessante dessa espécie é a sensibilidade adequada para a detecção de inúmeras substâncias que causam alterações cromossômicas (TEDESCO & LAUGHINGHOUSE, 2012). Em testes de citotoxicidade o tamanho das raízes é observado, pois este é um órgão mais susceptível aos contaminantes encontrados no meio. Já que a raiz é o primeiro órgão a se desenvolver na planta (JARDIM, 2004).

Os testes de genotoxicidade podem analisar inúmeros anormalidades cromossômicas como distúrbios metafásicos, micronúcleos, pontes anáfasicas, entre outros. Distúrbios metafásicos podem acontecer em decorrência de alguma alteração reversível durante o ciclo celular, estes ainda podem acarretar outras anomalias que não são reversíveis, como o a formação de células poliploides (ODEIGAH *et al.*, 1997). Células poliploides, podem ainda, formar micronúcleos, se houver a formação de membrana celular no entorno destas. Este fato deve-se a alterações na formação do fuso, ou ausência total deste (MILLER; THERMAN, 2001). Micronúcleos podem ser resultado de perda de algum cromossomo, como também da quebra de algum. Pontes anáfasicas, são originadas do ciclo de fusão-

quebra-ponte e estas ainda podem levar a formação de micronúcleos (HOFFELDER, 2004).

## 2.3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA

Os parâmetros para avaliação da qualidade da água estão dispostos na Resolução CONAMA 357/05. Esta resolução propõe uma classificação dos mananciais e estabelece quais as análises devem ser realizadas e os limites a serem respeitados para a avaliação da qualidade da água. Para complementação dos dados desta resolução também foram utilizados a portaria 518/04 do Ministério da Saúde, sobre a potabilidade da água.

### 2.3.1 pH

O potencial hidrogênio iônico, também chamado de pH, serve para indicar a acidez ou alcalinidade de determinada matéria. O pH é medido através de uma escala que varia de 1 a 14. Nessa escala, os valores situados entre 1 até 6 indicam acidez, 7 é considerado o valor neutro e de 8 a 14 indica a alcalinidade da substância. A escala é gradativa, dessa forma, quanto mais próximo de 1, mais ácido o material é e quanto mais próximo de 14, mais alcalino (BRASIL, 2006a).

### 2.3.2 Oxigênio Dissolvido (OD)

Tem por objetivo quantificar o oxigênio dissolvido disponível na água. Este parâmetro é relevante para este estudo por se tratar de um rio com uma considerável carga poluidora. Neste caso, ambientes com altas concentrações de efluentes apresentam uma diminuição na quantidade de OD, o que dificulta o desenvolvimento de organismos. A faixa ideal de valores para OD em mananciais situa-se em valores acima do patamar mínimo de 5 mg/l (BRASIL, 2004).

### 2.3.3 Matéria Orgânica (DBO e DQO)

Segundo Von Sperling (1997), o principal problema encontrado em águas poluídas é o processo metabólico dos micro-organismos no consumo do OD e na

utilização e estabilização da matéria orgânica. Em geral, não há a necessidade de quantificar a matéria orgânica dissolvida em termos de proteínas, carboidratos, gorduras e etc. Inclusive há uma considerável dificuldade em quantificá-las face a extensa variedade de formas que tais compostos se apresentam em ambientes poluídos.

Neste caso, são utilizados métodos indiretos para quantificar e caracterizar o potencial poluidor da matéria orgânica existente na água: A medição do consumo de oxigênio (DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio e DQO – Demanda Química de Oxigênio) e a medição de Carbono Orgânico Total (COT) (VON SPERLING, 1997). Os parâmetros mais utilizados para essa caracterização são a DBO e a DQO, os quais serão analisados neste trabalho.

A DBO representa a capacidade de a massa orgânica consumir o OD presente na água pela atividade metabólica de micro-organismos presente na água. A DQO contempla a parcela de OD consumido por reações químicas – oxidantes – presentes em corpos d'água (SILVA, 2008).

### **2.3.4 Condutividade**

A condutividade é a característica de um material em não se opor à passagem de corrente elétrica. Tem relação direta com as cargas resultantes das moléculas formadoras do material (RENOVATTO, 2013). Apesar de não constar na resolução supracitada, valores aceitáveis de condutividade elétrica estão limitados ao valor máximo de 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$  para a manutenção das condições desejáveis (BRASIL, 2006a).

### **2.3.5 Turbidez**

O parâmetro da turbidez deriva da presença de materiais suspensos na água que implicam na redução de sua transparência. A turbidez pode ser aumentada pela mistura de algas, plâncton, matéria orgânica e outras substâncias como metais, areia e despejos de efluentes industriais ou residenciais. Este indicativo tem por objetivo classificar os corpos d'água quanto a sua transparência e a passagem dos raios solares (BRASIL, 2006a; RENOVATTO, 2013).

Também é utilizada para estudos de tratamento de água para consumo humano. Benéfica em alguns casos, em que a água com turbidez elevada forma flocos mais pesados, que decantam mais facilmente que águas menos turvas. Igualmente, a alta turbidez pode vir a ser prejudicial, pois dificulta a desinfecção em razão da proteção que pode dar aos micro-organismos (BRASIL, 2006a). Para a água tratada, é um indicador sanitário, onde águas de até 5 UNT são consideradas próprias para consumo humano (BRASIL, 2006b).

### **2.3.6 Dureza total**

O parâmetro da dureza total da água tem por objetivo quantificar as concentrações de íons de cálcio e magnésio. Essa concentração é expressa pela quantidade de carbonato de cálcio -  $\text{CaCO}_3$  - disponível na água. Existem basicamente dois tipos de dureza: a temporária e a permanente, diferenciadas pela composição das substâncias que provocam a dureza e pela susceptibilidade às variações térmicas (BRASIL, 2006a).

Está estabelecido na portaria nº 518/2004, do Ministério da Saúde, que o valor limite de dureza total é de 500mg/l, devendo apresentar valores menores que este para que a água seja considerada potável (BRASIL, 2004).

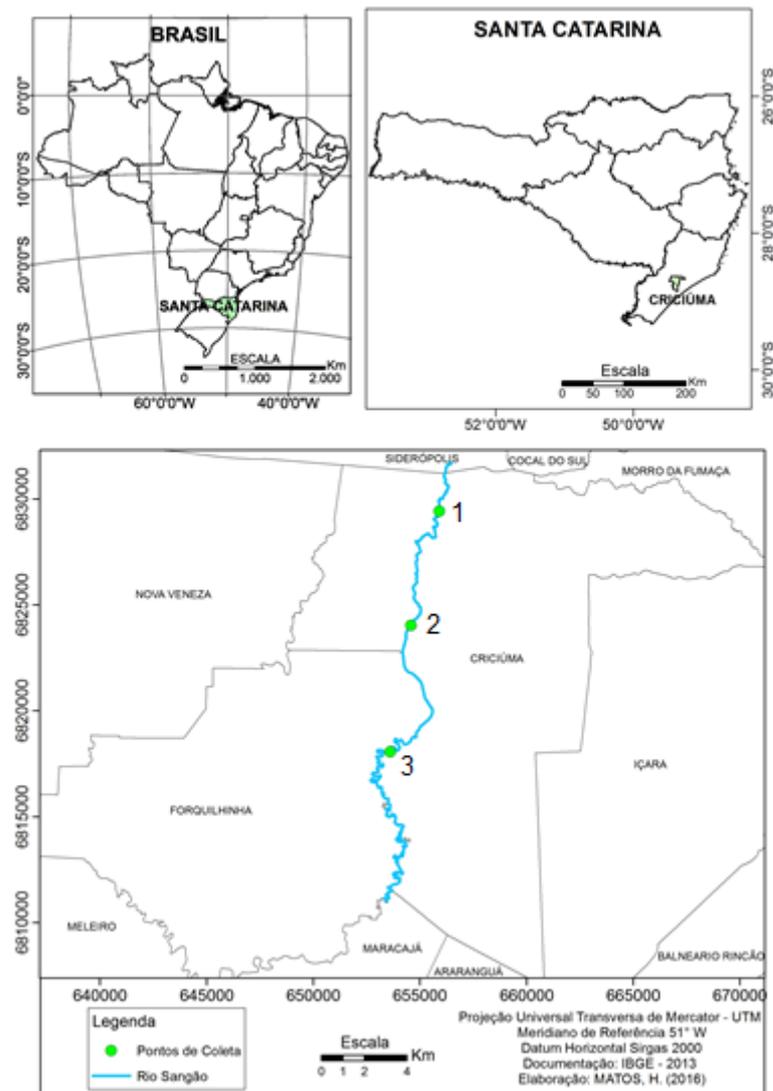
### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 LOCALIZAÇÃO E DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

O município de Criciúma está localizado a 200 km da capital de seu estado (SANTA CATARINA, 2015). O clima é subtropical úmido com verão quente (Cfa), pela classificação de Köppen. A temperatura média anual é de 19°C e a precipitação total é de 1600 mm. Devido a sua posição subtropical, o município ainda é submetido ao domínio da massa de ar quente úmida de setembro a março e da massa de ar polar fria e seca nos meses de inverno (SONEGO, BACK, VIEIRA, 2016).

Segundo Krebs e Alexandre (2000) os afloramentos do município de Criciúma são constituintes da bacia hidrográfica do rio Araranguá. Esta bacia localiza-se no extremo sudeste de Santa Catarina. Nas regiões industrializadas e de exploração mineral, que é o caso de Criciúma, ocorre a degradação dos corpos d'água. Ainda, segundo os mesmos autores, o rio Sangão (Fig 1) transporta elevadas cargas de poluentes oriundas das mais diversas atividades industriais, incluindo o beneficiamento de carvão, esgotos domésticos e outros resíduos de origem urbana.

Figura 1: Mapa mostrando a localização do rio Sangão em azul com destaque em verde para os pontos de coletas.



Fonte: Da autora

A partir destas informações, os pontos para amostragem foram definidos conforme a facilidade de acesso e principalmente a proximidade de locais com lançamento de esgoto ou efluentes oriundos de extração mineral, bem como no estudo de Jardim (2004). Os pontos amostrais estão descritos na tabela 1.

Nas proximidades do Ponto 1 podemos observar a presença de uma empresa de mineração que possivelmente despeja no rio os seus efluentes. Enquanto que, no Ponto 2, está nas proximidades de uma indústria alimentícia além de receber os efluentes domésticos do bairro Santa Luzia. Já o Ponto 3, não

apresenta fontes poluidoras diretas próximas a este ponto de coleta (CARBONIFERA METROPOLITANA, 2006; ALEXANDRE, 2007).

Tabela 1. Descrição e coordenadas dos pontos amostrais do rio Sangão, município de Criciúma, SC.

| Ponto | Coordenadas UTM |        | Descrição dos pontos de coleta   |
|-------|-----------------|--------|--|
|       | Sul             | Oeste  |  |
| 1     | 28.653          | 49.405 | Próximo à Rodovia Sebastião Toledo dos Santos (SC 445), bairro Laranjinha, Criciúma; |
| 2     | 28.702          | 49.418 | Próximo à Avenida Universitária, bairro Santa Luzia, Criciúma; e                     |
| 3     | 28.756          | 49.427 | Próximo à Rodovia Gabriel Arns (SC 446), bairro São Roque, Criciúma.                 |

Fonte: Da autora

Figura 2. Rio Sangão, Ponto 1, próximo à Rodovia Sebastião Toledo dos Santos, Bairro Laranjinha.



Fonte: Da autora

Figura 3. Rio Sangão, Ponto 2, localizado na Avenida Universitária, Bairro Santa Luzia.



Fonte: Da autora

Figura 4. Rio Sangão, Ponto amostral 3, localizado na Rodovia Gabriel Arns (SC-446), Bairro São Roque.



Fonte: Da autora

### 3.2 METODOLOGIA

O organismo teste selecionado para este trabalho é a semente de *Allium cepa* L. de origem comercial. A escolha do bioindicador deu-se devido aos dados encontrados na literatura e da disponibilidade facilitada das sementes para a realização dos testes. Segundo o estudo realizado por Silva (2008), o vegetal *Allium cepa* L. mostrou-se o organismo mais sensível aos poluentes, dentre os testados, proporcionando um resultado bastante confiável e indicando-o como uma excelente sugestão para os estudos congêneres.

A amostragem foi realizada na segunda quinzena de março de 2016, em campanha única. Onde as coletas de águas superficiais foram realizadas com o auxílio de garrafas de polietileno com volume de 100 ml para análises toxicológicas e 1L para as análises físico-químicas. Posteriormente, foram acondicionados em recipientes refrigerados até a condução ao laboratório, para evitar a degradação do material.

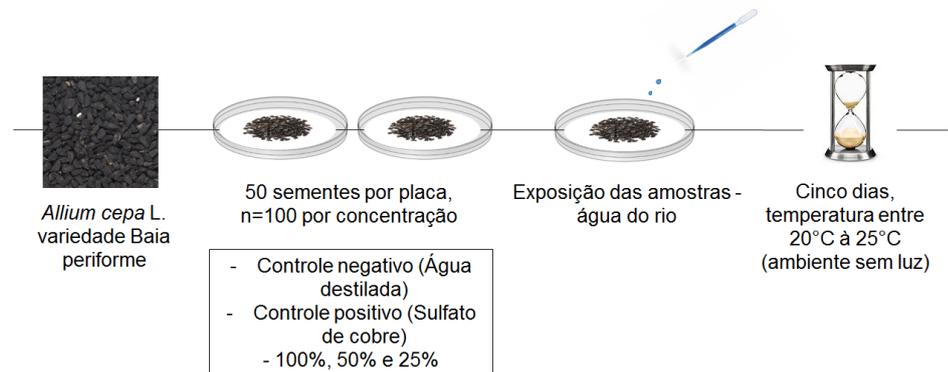
As amostras para as análises toxicológicas foram encaminhadas para o Laboratório de Biologia Celular e Molecular, da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC para serem armazenadas em um refrigerador a 4°C até a execução dos ensaios. As demais amostras – para as análises físico-químicas – foram encaminhadas a um laboratório credenciado sob solicitação da autora, isto para os Pontos 1 e 3. Para a obtenção de dados relacionados ao Ponto 2, foram requisitados dados registrados de análises físico-químicas realizadas rotineiramente pela Companhia Catarinense de Águas e Saneamento (CASAN), uma vez que esta já realiza coletas Ponto 2.

Para avaliação dos testes de toxicidade foi seguido o protocolo proposto por Carita & Marin-Morales (2008), com adaptações. Todos os ensaios foram realizados com apenas um tipo de semente de *A. cepa* (Variedade Baia Periforme), para evitar respostas diferentes.

As sementes de *Allium cepa* L. foram expostas a diferentes concentrações de diluição das amostras de água, em uma placa de Petri para cada concentração (25%, 50% e 100%), onde foi utilizado água destilada para preparação das diluições. Para o grupo controle foi utilizado água destilada como controle negativo e sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) em uma concentração de 0,5% para o controle positivo. Para exposição das sementes foram preparadas placas de Petri com papel

filtro, para cada diluição foram usadas 2 placas contendo 50 sementes cada, totalizando 100 sementes por diluição.

Figura 5. Representação esquemática do preparo das amostras para o início das análises.



Fonte: Da autora

As placas contendo as sementes foram ambientadas entre 20°C a 25°C. Após cinco dias de exposição nas amostras de água, as raízes coletadas foram medidas para a obtenção de dados para a avaliação de toxicidade. Para as demais avaliações as raízes foram fixadas em solução Carnoy (3:1), sendo identificadas de acordo com as amostras e armazenadas no freezer por 48h. Os meristemas radiculares foram utilizados para a fabricação de lâminas para serem avaliados em ensaios de anormalidades cromossômicas e nucleares. As lâminas foram preparadas pelo método de esmagamento, de acordo com o descrito por Matsumoto *et al.* (2006) e corado pela reação de Feulgen (Mello e Vidal, 1978).

Os meristemas previamente fixados em solução de Carnoy (3:1), foram lavados com água destilada, em três banhos de 5 minutos cada. O material foi então hidrolisado em HCl 4N a 60°C durante 30min. Foram retiradas da hidrólise e lavadas novamente com água destilada. O excesso de água foi removido com papel de filtro e o material foi transferido a uma área escura em recipientes com reagente de Schiff durante aproximadamente 40 min. Após a coloração, as raízes foram enxaguadas com água destilada até que o reagente em excesso tivesse sido removido completamente. As lâminas foram preparadas com uma gota de ácido acético (45%) e mais tarde cobertas com lamínulas. Para a obtenção de dados sobre a citotoxicidade, foram confeccionados para cada concentração, uma lâmina com

cinco meristemas radiculares de sementes expostas a água onde índices de divisão celular, também chamado de índice mitótico, foram obtidos. Então, para avaliação da genotoxicidade, foram utilizadas as mesmas laminas utilizadas para citotoxicidade. Onde as células que estão em interfase e/ou passando por divisão, foram examinadas para avaliar anormalidades cromossômicas como Distúrbios Metafásicos, Micronúcleos e Pontes Anafásicas.

### **3.2.1 Análise estatística**

Os ensaios de toxicidade foram avaliados utilizando o Graphpad Prism versão 6.0. Os dados foram expressos em forma de média e desvio padrão da média, pelo teste de Kruskal-Wallis, *post hoc Dunn*, para comparar os grupos com o controle negativo e positivo com  $P < 0,05$  considerado estatisticamente significativo. E para comparação dos grupos pela Análise de Variância (ANOVA) de duas vias, seguido pelo teste *post hoc de Tukey*, com  $P < 0,05$  considerado estatisticamente significativo.

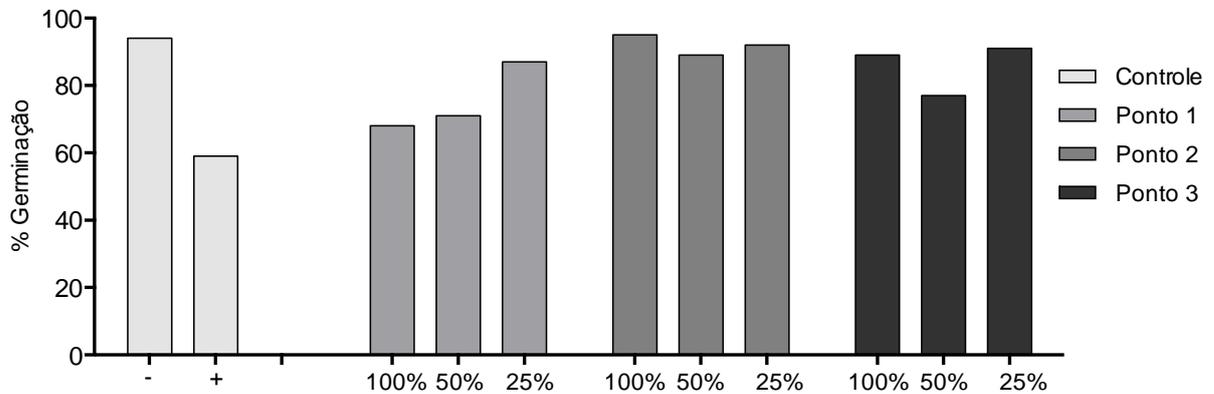
## 4 RESULTADOS

### 4.1 ANÁLISES TOXICOLÓGICAS

#### 4.1.1 Teste de toxicidade subaguda com *Allium cepa* L.

Como demonstrado na figura 5 podemos observar que não houve diferença significativa na taxa de germinação entre os diferentes tratamentos.

Figura 6. Taxa germinação de sementes de *Allium cepa* L. entre os grupos após exposição á águas do rio Sangão.



Não houve diferença significativa.

#### 4.1.2 Teste de citotoxicidade

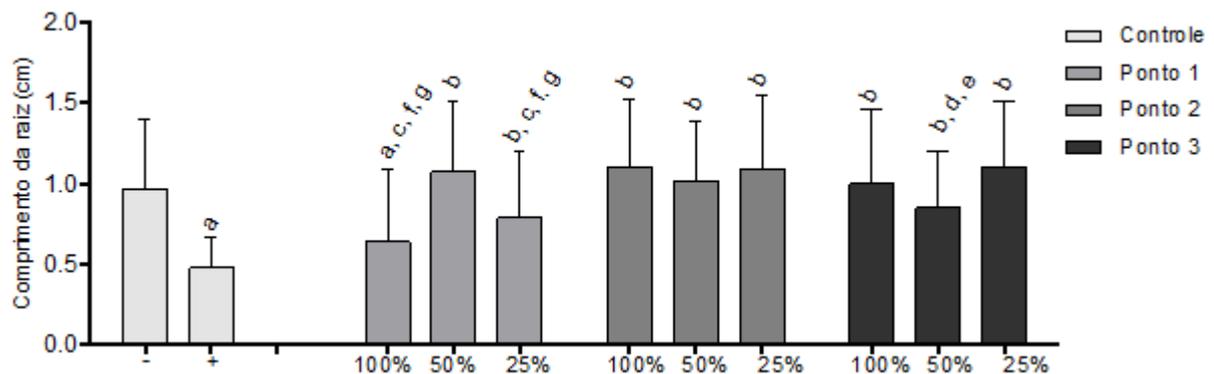
Na figura 6 estão demonstrados os resultados de Comprimento da raiz. Pode-se observar que o controle positivo apresentou uma redução significativa no crescimento da raiz quando comparado ao controle negativo, assim como o as sementes tratadas com água do Ponto 1 na concentração de 100% ( $P < 0,05$  – Teste de Kruskal-Wallis, *post hoc* Dunn). Os tratamentos com água do Ponto 1 nas concentrações de 50% e 25% e dos Pontos 2 e 3 em todas as concentrações também obtiveram aumento significativo no crescimento da raiz, quando comparados ao grupo controle positivo ( $P < 0,05$  – Teste de Kruskal-Wallis, *post hoc* Dunn).

Comparando as diferentes concentrações de um mesmo Ponto de coleta, observamos que no Ponto 1 as concentrações de 100% e 25% apresentaram

redução do comprimento da raiz, em relação a concentração de 50% ( $P < 0,05$  – ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). No Ponto 2 não houve diferença entre as concentrações. Enquanto que no Ponto 3, a concentração de 50% mostrou diferença quando comparado a concentração de 25% ( $P < 0,05$  – ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*).

Foi realizado também as comparações entre as mesmas concentrações dos 3 pontos amostrais. Nessa comparação nas concentrações de 100% e 25%, o Ponto 1 demonstrou redução significativa no comprimento de raiz em relação aos Pontos 2 e 3 ( $P < 0,05$  – ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). Na concentração de 50%, o Ponto 3 mostrou redução significativa quando comparado ao Ponto 1 ( $P < 0,05$  – ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*).

Figura 7. Comprimento das raízes em cm de *Allium cepa* L. após exposição as águas do rio Sangão

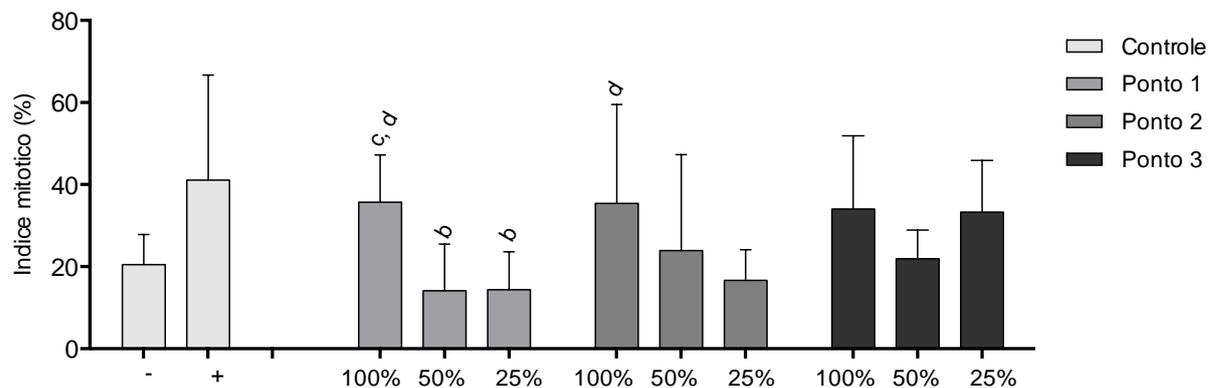


<sup>a</sup>  $P < 0,05$  Diferença significativa comparado ao Controle Negativo (Teste de Kruskal-Wallis, *post hoc Dunn*). <sup>b</sup>  $P < 0,05$  Diferença significativa comparado ao Controle Positivo (Teste de Kruskal-Wallis, *post hoc Dunn*). <sup>c</sup>  $P < 0,05$  Diferença significativa comparado ao mesmo ponto na concentração de 50% (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>d</sup>  $P < 0,05$  Diferença significativa comparado ao mesmo ponto na concentração de 25% (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>e</sup> Diferença significativa comparado à mesma concentração no ponto 1 (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>f</sup> Diferença significativa comparado à mesma concentração no ponto 2 (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>g</sup> Diferença significativa comparado à mesma concentração no ponto 3 (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*).

Na figura 7 estão apresentados os dados de Índice mitótico. No Ponto 1, as concentrações de 50% e 25% apresentaram Índices mitóticos significativamente menores quando comparados ao controle positivo ( $P < 0,05$  – Teste de Kruskal-Wallis, *post hoc Dunn*), e a concentração de 100% mostrou aumento significativo quando comparado as concentrações de 50% e 25%, do mesmo Ponto ( $P < 0,05$  – ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). No Ponto 2, a concentração de 100% demonstrou aumento significativo no Índice mitótico em relação concentração de 25%

( $P < 0,05$  – ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). Porém no Ponto 3, não foi observado essa diferença no Índice mitótico.

Figura 8. Índice mitótico obtido após análise de células da zona meristemática de raízes de *Allium cepa* L. expostas as águas do rio Sangão.



<sup>a</sup>  $P < 0,05$  Diferença significativa comparado ao Controle Negativo (Teste de Kruskal-Wallis, *post hoc Dunn*). <sup>b</sup>  $P < 0,05$  Diferença significativa comparado ao Controle Positivo (Teste de Kruskal-Wallis, *post hoc Dunn*). <sup>c</sup>  $P < 0,05$  Diferença significativa comparado ao mesmo ponto na concentração de 50% (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>d</sup>  $P < 0,05$  Diferença significativa comparado ao mesmo ponto na concentração de 25% (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>e</sup> Diferença significativa comparado à mesma concentração no ponto 1 (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>f</sup> Diferença significativa comparado à mesma concentração no ponto 2 (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>g</sup> Diferença significativa comparado à mesma concentração no ponto 3 (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*).

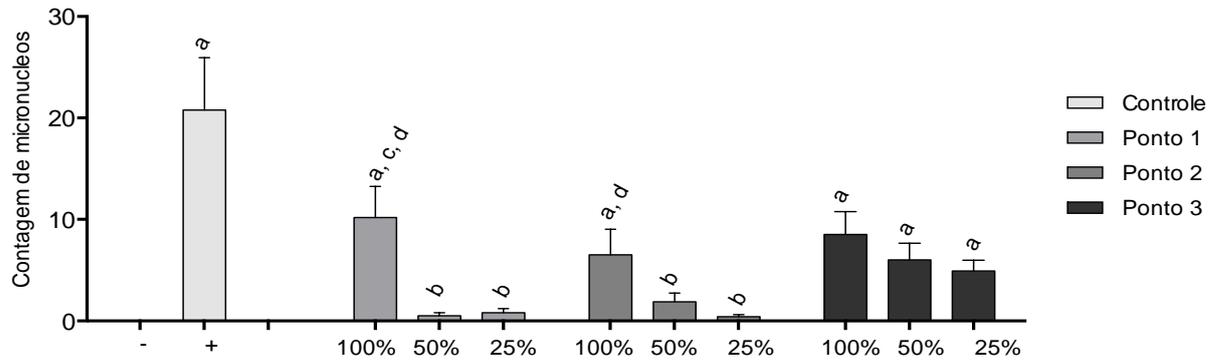
#### 4.1.3 Teste de genotoxicidade

Na figura 8, estão apresentadas as análises de genotoxicidade, contagem de micronúcleos. O controle positivo, Pontos 1 e 2 na concentração de 100% e Ponto 3 em todas as suas concentrações demonstraram aumento significativo quando comparados ao controle negativo ( $P < 0,05$  – Teste de Kruskal-Wallis, *post hoc Dunn*). Os grupos Ponto 1 e 2, nas concentrações de 50% e 25% reduziram significativamente o número de micronúcleo quando comparado ao controle positivo ( $P < 0,05$  – Teste de Kruskal-Wallis, *post hoc Dunn*). Quando comparado as diferentes concentrações de um mesmo ponto, no Ponto 1 a concentração de 100% apresentou aumento significativo quando comparado a diluição de 50% e 25%, enquanto que no Ponto 2, está diferença foi observada apenas quando comparado a concentração de 100% a amostra diluída com 25% do afluente.

Muito embora tenham sido avaliadas outras anormalidades cromossômicas como Pontes Anafásicas (PA) e Distúrbios Metafásicos (DMT) estes dados não foram tabelados devido sua baixa frequência. A PA foi encontrada uma

no grupo controle positivo e uma no Ponto 1 na diluição de 25%. Enquanto que DMT não foram encontrados nenhum nas raízes analisadas.

Figura 9. Contagem de micronúcleos em células de zona meristemática de *Allium cepa* L após exposição a águas do rio Sangão



<sup>a</sup> P<0,05 Diferença significativa comparado ao Controle Negativo (Teste de Kruskal-Wallis, *post hoc Dunn*). <sup>b</sup> P<0,05 Diferença significativa comparado ao Controle Positivo (Teste de Kruskal-Wallis, *post hoc Dunn*). <sup>c</sup> P<0,05 Diferença significativa comparado ao mesmo ponto na concentração de 50% (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>d</sup> P<0,05 Diferença significativa comparado ao mesmo ponto na concentração de 25% (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>e</sup> Diferença significativa comparado à mesma concentração no ponto 1 (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>f</sup> Diferença significativa comparado à mesma concentração no ponto 2 (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*). <sup>g</sup> Diferença significativa comparado à mesma concentração no ponto 3 (ANOVA duas vias, *post hoc Tukey*).

## 4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A tabela 2 demonstra os dados referentes aos parâmetros físico-químicos da água coletada em três pontos do Rio Sangão. A água coletada no Ponto 1 apresenta o pH de 2,86: o índice mais baixo dentre os três Pontos, sendo que o menor índice recomendado é 6,0. Este ponto apresenta também DBO de 18,6 mg/L e DQO de 56,0 mg/L, sendo estes índices os mais altos entre os pontos analisados. A DBO observada entre os pontos está acima do permitido pela legislação para rios desta categoria.

O OD obtido com a amostra do Ponto 1 apresentou uma concentração de 6,63 mg/L, atendendo ao limite de 5,0 mg/L. Bem como a Dureza Total do mesmo ponto está com 588,21 mg/L, acima do limite que é 500,0 mg/L. Ambos representam, inclusive, os mais altos índices entre os pontos.

A Turbidez nos Pontos 1 e 3 estão abaixo do limite que é de 100 UNT, apresentando 1,0 UNT, sendo o Ponto 1, o local com índice mais baixo. Porém o Ponto 2 é o que possui mais alto com 117,00 UNT, não acordando com a legislação vigente, ultrapassando 17,00 UNT o limite estabelecido. A condutividade não tem máximo estabelecido, mas apresenta a concentração de 633,0 ( $\mu\text{S}/\text{CM}$ ) no Ponto 1, sendo o ponto amostral com menor concentração por  $\mu\text{S}/\text{CM}$ , ao contrário do Ponto 3 que obtém a maior concentração.

Tabela 2. Dados referentes as análises físico-químicas da água do rio Sangão coletado em três pontos do município de Criciúma.

| <b>Parâmetro</b>                          | <b>Ponto 1</b> | <b>Ponto 2</b> | <b>Ponto 3</b> | <b>Máximo permitido*</b> |
|---|----------------|----------------|----------------|--------------------------|
| PH  | 2,86           | 3,30           | 3,04           | 6,0 à 9,0                |
| DBO (MG/L)                                | 18,6           | 16,0           | 16,8           | <5,0                     |
| DQO (MG/L)                                | 56,0           | 24,00          | 46,0           | N.E.                     |
| Oxigênio Dissolvido (MG/L)                | 6,63           | 5,14           | 6,02           | >5,0                     |
| Dureza total (MG/L)                       | 588,21         | D.I.           | 378,94         | 500,0                    |
| Turbidez (UNT)                            | 1,0            | 117,00         | 2,0            | 100,0                    |
| Condutividade ( $\mu\text{S}/\text{CM}$ ) | 633,0          | D.I.           | 644,0          | N.E.                     |

D.I.: Dados indisponíveis. N.E.: Limite não estabelecido pela legislação CONAMA 357/05. \*Máximo permitido pela legislação CONAMA 357/05 para rios de categoria 2.

## 5 DISCUSSÃO

Taxas de germinação alteradas mostram a sensibilidade do organismo ao potencial tóxico das substâncias encontradas na água. Embora a figura 5 não apresente diferença significativa entre os grupos, pode-se observar a variação entre os pontos. No Ponto 1, a germinação inversamente proporcional a concentração da água, onde maior a concentração do afluyente, menor a taxa de germinação. Alguns fatores podem estar envolvidos nesse resultado, pois este ponto foi o que obteve o pH mais baixo em relação ao demais. Esta variação não foi observada nos demais pontos. A possibilidade de alteração na toxicidade de metais é aumentada com a acidificação do meio. Conforme Espindola *et al.* (2003), os íons H<sup>+</sup> vencem a competição com íons metálicos nas paredes das células dos organismos. Neste caso, a toxicidade é causada pela redução do pH em vez da intoxicação direta (PEREIRA *et al.*, 2002).

Porém, pode-se observar que a água mais diluída obteve a maior taxa de germinação nos Pontos 1 e 3. Essa não linearidade em relação ao percentual de germinação pode ser relacionada a fatores como absorção do afluyente pela semente. No entanto há outras condições que limitam a germinação das sementes, sendo que estes influenciam na expressão da dormência: A disponibilidade de oxigênio, a temperatura, composição química, pH e o nível de atividade dos micro-organismos podem afetar na persistência da dormência (PEREIRA *et al.*, 2002). Entretanto, conforme Ferreira e Áquila (2000) o crescimento da plântula é mais sensível aos efeitos de substâncias químicas que os testes de primeira contagem, germinação e índice de velocidade da germinação.

As raízes são os primeiros órgãos que se expõem aos contaminantes, tanto no solo quanto na água (JARDIM, 2004). No teste de inibição do comprimento de raiz de *Allium cepa* L., as amostras de controle positivo e Ponto 1, na concentração de 100% foram os grupos com menor comprimento de raiz, quando comparado ao controle negativo. Assim, demonstrando que estes grupos amostrais foram os mais sensíveis as variáveis do afluyente. Por outro lado, conforme Rodrigues e Bianchini (2007) um possível efeito tóxico pode vir a ser mascarado em razão do alongamento radicular estimulado pela matéria orgânica existente no efluente bruto ou não removida após determinado tratamento, assim como macronutrientes existentes no líquido podem diminuir a sensibilidade do teste. As

amostras tratadas com o Ponto 1 nas concentrações de 50% e 25%, assim como os Pontos 2 e 3 demonstraram aumento significativo no comprimento das raízes em relação ao Controle positivo. Resultados que devem ser analisados conjuntamente com as demais análises realizadas para que seja possível estabelecer uma conclusão acerca da toxicidade avaliada neste trabalho.

O IM pode ser usado como parâmetro de citotoxicidade em estudos de biomonitoramento, uma vez que o aumento ou diminuição do IM pode determinar os níveis de toxicidade de um teste (FERNANDES *et al.*, 2007). Quando observado o IM de todos os pontos as amostras com concentração de 100% obtiveram os maiores índices em relação às demais concentrações. Vale ressaltar que IM mais altos que o controle negativo podem indicar eventos que levem a prejuízo nas células do organismo, e que podem levar a proliferação desordenada e formação de tumores. Em contrapartida, a ocorrência de IM mais baixos que o controle negativo que o crescimento e desenvolvimento dos organismos foram afetados pelos componentes do teste (HOSHINA, 2002).

Um parâmetro simples e bastante eficiente para analisar o efeito mutagênico derivado da ação de agentes químicos é o estudo da presença de micronúcleo (MARIN-MORALES, 2008). Pode-se observar que os grupos controle positivo e Ponto 1 na concentração de 100% tiveram maior frequência de micronúcleos, mostrando maior sensibilidade à alteração nas sementes quando submetidos a esse afluente.

No estudo de Jardim (2004), foi mostrado a sensibilidade de *Allium cepa* L. ao  $\text{CuSO}_4$ , visto que este induziu danos no DNA desse vegetal. Os resultados do presente estudo corroboram os de Jardim (2004), em que as sementes de *Allium cepa* L. no controle positivo tiveram maior frequência de micronúcleo. Segundo Marin-Morales (2008), fragmentos acêntricos, cromossomos retardatários durante anáfases ou mesmo de mau funcionamento do spin-die podem originar micronúcleos. Dessa forma, os agentes químicos podem originar a formação de micronúcleos resultantes de distúrbios do fuso mitótico, o que chamamos de evento aneugênico, ou até quebras cromossômicas, um evento clastogênico.

Embora tenha sido relatado apenas duas presenças de Ponte anafásica em todo o estudo, foi observado uma no controle positivo e uma na concentração de 25%, no Ponto 1. Esta baixa frequência deve-se ao fato de que Pontes anafásicas

podem levar a formação de micronúcleos através de processos ocorridos dentro do núcleo.

Em todos os pontos de análise pode-se observar que o pH da água foi ácido, sendo o ponto com o pH mais alto é o Ponto 2, com 3,30, muito abaixo dos limites de tolerância estabelecidos pela legislação vigente (CONAMA). Estudos de Krebs & Alexandre (1996), determinou que o pH encontrado no rio Criciúma varia entre 4,56 e 6,25 complementado com os valores de pH lidos por SILVA (2008). Assim é possível constatar que o rio Sangão possui, em geral, pH a níveis bastante inferiores aos do rio Criciúma.

O pH que observamos pode ser considerado baixo para rios da categoria II, águas que podem ser indicadas para o consumo humano, proteção de comunidades aquáticas, recreação, irrigação de culturas e aquicultura. Cabe salientar que o pH da água é um dos dados mais importantes a ser avaliado em ecossistemas aquáticos, pois pode interferir tanto em processos biogeoquímicos, no balanço de CO<sub>2</sub>, na natureza química de água, assim como na solubilidade de sais (Rodrigues *et al.*, 2000).

Os valores para DBO também estão acima do permitido pela Resolução CONAMA 357/05 em todos os três pontos. Embora a norma não forneça limites máximo para a DQO, quando comparado aos dados encontrados por Brunchchen (2013) para o rio Criciúma, o rio Sangão apresenta elevados índices de DQO. Também sob essas variáveis, é notória uma melhora dos valores no Ponto 2 em relação ao Ponto 1 e a observação de valores piores para o Ponto 3 em relação ao Ponto 2.

A análise dos valores obtidos de OD apresentaram índices superiores ao determinado pelo Resolução CONAMA 357/05 todos acima de 5,0 mg/L, desta forma, este parâmetro não parece estar sofrendo as consequências das atividades antrópicas com as quais o rio Sangão está sob influência. Para esta variável, a obtenção de concentrações maiores que o limite estabelecido é positivo, pois o limiar proposto em norma é o mínimo recomendado.

Os resultados de dureza, disponíveis apenas para as amostras do Ponto 1 e 3 mostraram-se bastante distintos. No Ponto 2 esta análise, juntamente com o parâmetro de condutividade não foram realizadas por não fazer parte dos testes de rotina da empresa que cedeu os dados. Enquanto o Ponto 1 possui um valor satisfatório de dureza, acima do estabelecido em norma, o Ponto 3 apresentou um

resultado abaixo do disposto na resolução, que pode indicar que este ponto seja mais susceptível à poluição por metais.

A turbidez medida em dois pontos apresentou valores abaixo do estabelecido pelo CONAMA 357/05. Porém no Ponto 2, esta apresentou índices acima do estabelecido pela legislação vigente. Este fato pode ser decorrente da alta concentração de íons Fe, pois este ao interagir com o ar eleva a turbidez (ZIMBRES, 2016). Em decorrência do método amostral, ou pela alta carga de matéria orgânica oriunda de atividade industrial ou efluente doméstico despejado sem tratamento. Pois este ponto fica próximo a um bairro de alta concentração demográfica, onde a população não acesso ao saneamento básico. Outro fator que poderia influenciar que foi descartado, é a chuva, pois antes da coleta para as análises não houve.

Os dados desse estudo corroboram com os achados da literatura, onde estes relacionam a condutividade da água com a acidez. Nos pontos amostrais a água revelou ter índices de acidez elevados, este fato reforça os achados. Os dados aqui expressos estão muito acima do recomendado tanto no Brasil, quanto em outros países como a Nova Zelândia, (NOVA ZELÂNDIA, 2000). Esta alta condutividade deve-se a oxidação dos depósitos de pirita ao longo do rio, que favoreceram a liberação dos íons na água.

Pelas análises físico-químicas, também é possível verificar que o Ponto 1 apresenta, em geral, os valores mais preocupantes, que indicam altos níveis de toxicidade. O Ponto 2 apresenta os melhores valores, embora em geral ainda sem satisfazer a legislação. A análise do Ponto 3 permite constatar que há uma piora das condições para este ponto.

Considerando os resultados obtidos neste trabalho, é possível tecer algumas considerações importantes na análise da toxicidade do rio Sangão. Sob todas as variáveis, as amostras do Ponto 1 foram as que se mostraram maiores efeitos tóxicos em relação aos demais pontos analisados. Dentre outras condições que dificultam o desenvolvimento dos organismos o pH bastante reduzido é uma das características mais impactantes para a elevada toxicidade. O rio Sangão é fortemente impactado pelas mais diversas ações antrópicas. O Ponto 1 fica à jusante de uma indústria de mineração bem como de depósitos localizados desde a nascente do rio até a localidade do Laranjinha, próximo ao limite do município de Criciúma com o município de Siderópolis-SC. O cuidado incorreto de diversos

efluentes recebidos pelo rio Sangão implicam na obtenção de resultados com elevados níveis de toxicidade.

Enquanto o Ponto 2, localizado mais ao sul do município, após a junção com o rio Criciúma e, embora esteja à montante da Estação de Tratamento de Efluentes de Criciúma, bem como antes de outro conjunto de depósito de rejeitos apresentou resultados mais otimistas em relação ao Ponto 1. Mas por estar sob a influência direta de uma indústria alimentícia, bem como de efluentes domésticos, esta melhora não o coloca de acordo com Resolução do CONAMA 357/05.

Já o Ponto 3, localizado no bairro São Roque, próximo ao limite com o município de Forquilha, é localizado a jusante de uma quantidade razoável de novos depósitos de rejeitos do carvão. A piora dos resultados para este ponto em relação ao Ponto 2 é um forte indicador do impacto provocado no rio Sangão decorrente da indústria carbonífera e o tratamento inadequado de seus rejeitos.

O cruzamento de informações obtidas de análises físico-químicas com resultados de análises por bioindicadores é uma metodologia bastante propícia para o estudo proposto por este trabalho. A convergência dos resultados implica na auto-validação destes e permite a obtenção de conclusões mais consistentes e cientificamente bem embasadas.

## **6 CONCLUSÃO**

Considerando o acima exposto, podemos concluir que o rio Sangão está sob influência de substâncias com potencial citogenotóxico. Assim como, o Ponto 1 foi o que apresentou resultados mais preocupantes considerando as variáveis analisadas. As análises de Índice Mitótico e Contagem de Micronúcleos, demonstraram-se mais sensíveis aos agentes encontrados neste manancial.

## REFERÊNCIAS

- ALEXANDRE, N. Z. Mapa Fontes de Poluição. Universidade do Extremo Sul Catarinense. Disponível em: < <http://www.unesc.net/~pdp/pdf/PDP2007AMB03-09-103.pdf> > Acesso em: 18 mar. 2016.
- ALVIM, L. B. et al. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L. **Revista Ambiente & Água**, v. 6, n. 2, p. 255, 2011.
- AMARAL, J. E.; KREBS, A. S. Drenagem Ácida Da Mineração De Carvão E Sua Interrelação Com Metais Pesados E Recarga De Aquíferos Na Bacia Carbonífera Do Estado De Santa Catarina. In: XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS E XVII ENCONTRO NACIONAL DE PERFURADORES DE POÇOS, 16., São Luís. **Anais...** São Luís, 2010. p.1-8
- ARAGÃO, M. A., ARAÚJO, R. P. A. Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações. In: **Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos**. ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. São Carlos: RiMa, 2006. p. 117-147.
- BARBOUR, M. T. et al. A framework for biological criteria for Florida streams using benthic macroinvertebrates. **Journal of the North American Benthological Society**, 1996. v. 15, p.185-211.
- BELCAVELLO, L. et al. Citotoxicidade e danos ao DNA induzidos pelo extrato de *Zornia diphylla*, uma planta medicinal. **Natureza on line**, v. 10, n. 3, p. 140-145, 2012.
- BRASIL. **Ministério de Estado da Saúde**. PORTARIA, Nº. 518, de 25 de março de 2004.
- \_\_\_\_\_. **Manual prático de análise de água**. 2006a. Fundação Nacional de Saúde. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_analise\\_agua\\_2ed.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_analise_agua_2ed.pdf)>. Acesso em: 02 mar. 2016.
- \_\_\_\_\_. **Ministério da Saúde**. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. Brasília, DF, 2006b. p.213.
- BRUCHCHEN, L. M. et al. Toxicity assessment on the waters from the Criciúma river (Criciúma, Santa Catarina, Brazil) using physico-chemical parameters and ecotoxicological approaches. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 8, n. 2, p. 23-30, 2013.
- CARBONÍFERA METROPOLITANA (Santa Catarina) (Org.). **PLANO DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS PELA MINERAÇÃO CIDADE MINEIRA**. CARBONÍFERA METROPOLITANA. 2006. Geológica Engenharia e Meio Ambiente Ltda. Disponível em: <<https://www.jfsc.jus.br/acpdocarvao/conteudo/metropolitana/prads/1-MPF-PRAD-Cidade-Mineira-Corrigido.pdf>>. Acesso em: 15 abr. 2016.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. 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, n. 5, p. 722-725, 2008.

CONAMA. Resolução CONAMA 357/2005, de 17 de Março de 2005. Dispõem sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, Ministério do Meio ambiente, 2005.

DE OLIVEIRA, L. M.; VOLTOLINI, J. C.; BARBÉRIO, A. Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste *Allium cepa*. **Revista Ambiente & Água**, v. 6, n. 1, p. 90, 2011.

DOMINGUES, D. F.; BERTOLETTI E Seleção, manutenção e cultivo de organismos aquáticos. In: P. A. Zagatto; E. Bertoletti. (Ed.). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos, SP: Rima, 2006. p. 153-184.

ESPINDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J.; DORNFELD. C. B.. Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J. (Org). **Limnologia fluvial**. São Carlos: Rima, 2003. p.129-148.

FERNANDES, T. C. C; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252-259, 2007.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia vegetal. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Campinas, v. 12, n. 1, p. 175-204, 2000.

FLYNN, M. N.; PEREIRA, W. Abordagem populacional na ecotoxicologia. **Revinter Revista de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 3, 2015.

GONÇALVES, T. M.; DE ASSIS MENDONÇA, F. Impactos, riscos e vulnerabilidade socioambientais da produção do carvão em Criciúma/SC (Brasil). **Raega - O Espaço Geográfico em Análise**, n. 14, p. 55-65, 2007.

GOULART, M. D.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista da FAPAM**, v. 2, n. 1, p. 153-164, 2003.

HOSHINA, M. M. Avaliação da possível contaminação das águas do Ribeirão Claro, município de Rio Claro, pertencente à Bacia do Rio Corumbataí, por meio de testes de mutagenicidade em *Allium cepa*. 2002. 52 f. **Monografia (Bacharel e Licenciatura em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP**, 2002.

HWANG, H. et al. Avaliação de toxicidade em sedimentos do rio Juqueri (SP) com *Vibrio fischeri* e *Hyalella azteca*. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, São Paulo, v. 2, n. 2, p.18-28, jun. 2009.

JARDIM, G. M. **Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do rio Corumbataí, SP.** 2004. 127 f. Tese (Doutorado) - Curso de Mestrado em Ecologia de Agrossistemas, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

KREBS, A. S.J, & ALEXANDRE, N. Z. Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio Araranguá – SC: Disponibilidade e Conflitos. In: 1ST JOINT WORLD CONGRESS ON GROUNDWATER, 2000, Fortaleza. Disponível em: <<http://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/24313>>. Acesso em: 10 de janeiro de 2016.

KREBS, A. S. J. & NOSSE, E. de O. **Uso recomendado do solo do Município de Criciúma-SC.** Porto Alegre: CPRM, 1998. p.111 (Série ordenamento territorial 30)

MAGOSSI, L. R.; BONACELLA, P. H. **Poluição das águas.** 11.ed São Paulo: Moderna, 1994. p.56 (Coleção desafios)

MARCELLO, R. R. **INCORPORAÇÃO DO LODO OBTIDO NO TRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINA DE CARVÃO NA COMPOSIÇÃO DE PIGMENTOS INORGÂNICOS.** 2005. 90 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Materiais, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2005. Disponível em: <[http://www.aguas.sc.gov.br/jsmallfib\\_top/Comite Rio Ararangua/Use da Terra/Incorporacao-do-lodo-obtido-no-tratamento-de-drenagem-acida-de-mina-de-carvao-na-composicao-de-pigmentos-inorganicos.-\(1\).pdf](http://www.aguas.sc.gov.br/jsmallfib_top/Comite Rio Ararangua/Use da Terra/Incorporacao-do-lodo-obtido-no-tratamento-de-drenagem-acida-de-mina-de-carvao-na-composicao-de-pigmentos-inorganicos.-(1).pdf)>. Acesso em: 20 fev. 2016.

NOVA ZELÂNDIA. Australian Water Association. Secretary Australian And New Zealand Environment And Conservation Council. **Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality.** 2000. Disponível em: <<https://www.environment.gov.au/system/files/resources/53cda9ea-7ec2-49d4-af29-d1dde09e96ef/files/nwqms-guidelines-4-vol1.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2016.

ODUM, E. P.; BARRETT, G. W. **Fundamentos de ecologia.** São Paulo: Thomson, p.612, 2007.

PAVEI, P. T. **CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS CONTAMINADOS PELAS ATIVIDADES MINERAÇÃO DE CARVÃO.** 2007. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciências Ambientais, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2007. Disponível em: <<http://www.bib.unesc.net/biblioteca/sumario/000035/0000359F.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2016.

PEREIRA, C. E. et al. DETERMINAÇÃO DE INIBIDORES DA GERMINAÇÃO NO ESPERMÓDITIS DE SEMENTES DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 1, p.306-311, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v24n1/v24n1a42.pdf>>. Acesso em: 04 abr. 2016.

RENOVATO, D. C. C.; SENA, C. P.; SILVA, M. M. F. Análise de parâmetros físico-químicos das águas da barragem pública da cidade de Pau dos Ferros (RN) – ph,

cor, turbidez, acidez, alcalinidade, condutividade, cloreto e salinidade. In: Congresso de Iniciação Científica do IFRN, 9., 2013, Currais Novos. **Anais...**. Currais Novos: Ix Consig, 2013. p. 879 - 888. Disponível em: <<http://www2.ifrn.edu.br/ocs/index.php/congic/ix/paper/viewFile/1119/61>>. Acesso em: 13 abr. 2016.

RODRIGUES, S. C.; BIANCHINI, A. Extraction and concentration of freshwater – and seawater – derived dissolved organic matter for use in aquatic toxicology studies. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Rio Grande, v. 2, n. 3, p. 275-281, 2007.

SANTA CATARINA (Estado). Municípios: Criciúma. **SECOM**. Disponível em: <<http://www.sc.gov.br/index.php/municipios-c/criciúma>> Acesso em: 10 de janeiro de 2016.

SANTA CATARINA (Estado). **PLANO DE RECURSOS HÍDRICOS DA BACIA DO RIO ARARANGUÁ: RELATÓRIO B1 – CONSOLIDAÇÃO DAS INFORMAÇÕES SOBRE RECURSOS HÍDRICOS**. 2014. PROFILL ENGENHARIA E AMBIENTE LTDA. Disponível em: <[http://www.aguas.sc.gov.br/jsmallfib\\_top/DHRI/Planos de Bacias/Plano da Bacia Hidrografica do Rio Ararangua/Relatorio B 1 - Consolidacao das informacoes sobre recursos hidricos.pdf](http://www.aguas.sc.gov.br/jsmallfib_top/DHRI/Planos de Bacias/Plano da Bacia Hidrografica do Rio Ararangua/Relatorio B 1 - Consolidacao das informacoes sobre recursos hidricos.pdf)>. Acesso em: 02 mar. 2016.

SONEGO, M.; BACK, A. J.; VIEIRA, H.J. Estações meteorológicas do município de Criciúma. **CIRAM/EPAGRI**. Disponível em: <<http://www.ciram.com.br/siscrici/index.jsp?url=pagina/jsp/projeto.jsp>> Acesso em: 10 de janeiro de 2016.

SILVA, P. S. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DAS ÁGUAS DO RIO CRICIÚMA (SC) UTILIZANDO COMO ORGANISMOS BIOINDICADORES *Artemia sp.*, *Daphnia magna* e *Allium cepa* L.** 2008. 89 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade do Extremo Catarinense, Criciúma, 2008.

TEDESCO, S. B. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. In: SRIVASTAVA, Jatin. **Environmental Contamination**. Rijeka: Intech, 2012. Cap. 8. p. 137-156. Disponível em: <<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/29315.pdf>>. Acesso em: 18 mar. 2016.

VON SPERLING, M. **Lodos ativados**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1997. p. 416.

YARON, B.; CALVET, R.; PROST, R. **Soil pollution: processes and dynamics**. Springer Science & Business Media, 1996.

ZIMBRES, E. **Química da água subterrânea**. Universidade Estadual do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://www.meioambiente.pro.br/agua/guia/quimica.htm>>. Acesso em: 10 mar. 2016.

**APÊNDICE(S)**

## APÊNDICE A – Ofício enviado a CASAN



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC

Criciúma, 25 de abril de 2016.

Ilmo Sr. Engº Jaison Speck,

Com meus cordiais cumprimentos, gostaria de seu apoio na disponibilização de dados para uma pesquisa científica. Sou professora do curso de Ciências Biológicas da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC - e orientadora do Trabalho de Conclusão de Curso – TCC - da acadêmica Débora Borges Tomaz.

Estamos realizando um trabalho de análises toxicológicas da água em alguns pontos do Rio Sangão, de Criciúma - SC. Neste trabalho, serão aplicadas técnicas com bioindicador e serão agregados os dados de análises físico-químicas convencionais realizadas em laboratório.

Ocorre que um dos pontos de coleta e análise se situa bastante próximo à Estação de Tratamento de Efluentes - ETE - de Criciúma. Dessa forma, solicito a gentileza de prestar informações das análises que essa empresa faz de forma periódica nos pontos a montante e a jusante da ETE. Tais dados serão de grande valia para a complementação do trabalho acadêmico que está sendo realizado.

Quanto à publicação dos dados, serão divulgados os valores das variáveis: pH, OD, DBO, DQO, turbidez, condutividade e dureza, apenas neste TCC e/ou artigos relacionados especificamente a este estudo. O TCC tem data prevista para apresentação no primeiro semestre de 2016. Quanto aos dados solicitados, seria conveniente que as informações fornecidas referissem a coletas com data mais próxima possível da segunda quinzena do mês de março/2016 - período que realizamos as demais coletas nos outros pontos.

Sem mais para o momento, agradeço antecipadamente pelo apoio prestado a este trabalho.

Respeitosamente,

Prof.ª. Dra. Paula Rohr

Curso de Ciências Biológicas

DE ACORDO  
EM 10/06/16  
  
Jaison Araujo Speck  
Eng.º Civil  
CREA/SC - 078511-3  
Gerência Operacional/SRS

Prof. Dr. Rafael Martins  
Coordenador Titular de Curso  
Ciências Biológicas  
15/Reitoria/UNESC  
Portaria n.º

Coord. do Curso de Ciências Biológicas

**FUCRI - FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DE CRICIÚMA (MANTENEDORA)**