



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
NÚCLEO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO
REGIONAL E MEIO AMBIENTE**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DAS ÁGUAS DOS
AFLUENTES DO RIO BOA VISTA NO MUNICÍPIO DE OURO PRETO
DO OESTE – RO**

JHONATAN MORANDI DE OLIVEIRA

Porto Velho (RO)

2014



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
NÚCLEO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO
REGIONAL E MEIO AMBIENTE**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DAS ÁGUAS DOS
AFLUENTES DO RIO BOA VISTA NO MUNICÍPIO DE OURO PRETO
DO OESTE – RO**

JHONATAN MORANDI DE OLIVEIRA

Orientadora. Prof. Dra. Miyuki Yamashita

Dissertação de Mestrado apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente, Área de Concentração em Química Ambiental, para obtenção do Título de Mestre em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente.

Porto Velho (RO)

2014

FICHA CATALOGRÁFICA
Biblioteca Central Prof. Roberto Duarte Pires

O48a

Oliveira, Jhonatan Morandi de.

Avaliação do potencial mutagênico das águas dos afluentes do rio boa vista no município de Ouro Preto do Oeste – RO. / Jhonatan Morandi de Oliveira. Porto Velho, Rondônia, 2014.
58f.:Il.

Orientador: Prof. Dr. Miyuki Yamashita

Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) – Fundação Universidade Federal de Rondônia. Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente (PGDRA), Porto Velho, 2014.

1. Mutagenicidade. 2. Contaminação. 3. *Allium cepa*. 4. Águas. I. Fundação Universidade Federal de Rondônia. II. Título.

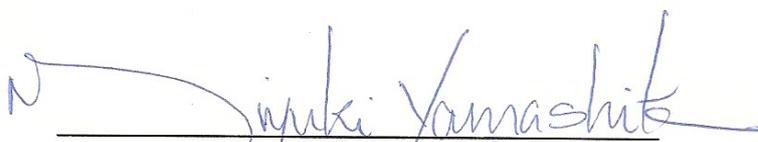
CDU: 504(811.1)

Bibliotecária responsável: Eliane Gemaque – CRB11/549

JHONATAN MORANDI DE OLIVEIRA

**“AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DOS POLUENTES LANÇADOS
NOS AFLUENTES DO RIO BOA VISTA NO MUNICÍPIO DE
OURO PRETO DO OESTE - RO”.**

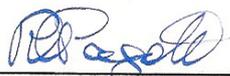
Comissão Examinadora



Dra. Miyuki Yamashita
Orientadora
Fundação Universidade Federal de Rondônia



Dr. Wanderley Rodrigues Bastos
Membro
Fundação Universidade Federal de Rondônia



Dra. Rubiani de Cássia Pagotto
Membro Externo
Fundação Universidade Federal de Rondônia

Dra. Mariangela Soares de Azevedo
Suplente
Fundação Universidade Federal de Rondônia

Porto Velho, 20 de Fevereiro de 2014.

Resultado: _____

Pelo amor, carinho, confiança, incentivo e suporte...

Com grande amor, a minha esposa Zandi,

Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

A prof. Dra. **Miyuki Yamashita** pela preciosa orientação, compreensão, paciência e perseverança e, sem dúvida é claro pelo incentivo e apoio nesses pouco mais de dois anos.

À direção e coordenação da Escola Estadual de Ensino Fundamental e Médio – Joaquim de Lima Avelino por ter cedido o espaço do laboratório para execução de parte das análises. Em especial ao Diretor **Sandro**.

Aos colegas de laboratório da UNIR pelo auxílio imprescindível. Muito obrigado **Walkimar**, pela paciência e orientações no laboratório. A **Denilça**, por ter me ensinado os métodos de análises. E principalmente a **Juliane** por ter me ajudado muito na execução das análises. São valores incalculáveis os gestos e apoios que me foram concedidos. Um agradecimento especial aos todos os outros colegas pelos momentos de trocas de informações e descontrações. Aos contribuintes deste trabalho Helisson e Delvania pela ajuda na construção do mesmo.

Ao **Dionatas Meneguetti**, pela ideia e construção do projeto de pesquisa, pela verdadeira amizade de irmão e amigo nos momentos difíceis e alegres. Pois são nos momentos difíceis que se reconhecem os verdadeiros amigos.

A minha **Zandi**, companheira inseparável em todos os momentos de minha vida... Muito obrigado por ser compreensiva nos momentos de estresse, por ser amorosa e carinhosa. E agora por esse lindo presente que me destes que nasceu recentemente (Nossa já muito amada filha – Luiza Ardizzon Morandi).

Aos meus pais, **Nwman e Maria de Fátima** que me deram apoio, incentivo e educação suficiente para alcançar meus objetivos e que me ensinaram que com fé, perseverança e humildade tudo pode ser alcançado.

Meu muito obrigado a todos que de alguma forma contribuirão para que esse trabalho fosse possível. E principalmente a **Deus**, por ser essa fortaleza e minha vida e iluminar meu caminho.

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo avaliar a presença de substâncias com potencial mutagênico nas águas de afluentes do Rio Boas Vista, recurso natural que percorre o perímetro rural e urbano do município de Ouro Preto do Oeste – RO, fato que o torna suscetível a contaminação da carga poluidora proveniente de efluentes residenciais, agrícolas e industriais gerada pelos habitantes e despejada em seu leito. Para avaliação dessa influência antrópica foi empregado o teste de micronúcleo em *Allium cepa*. Essa técnica tem sido usada para a detecção de substâncias com potencial mutagênico devido a sua praticidade, baixo custo e rapidez. Além disso, foram avaliados outros parâmetros da qualidade da água tais como pH, acidez, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), coliformes totais e coliformes fecais (*E. coli*). A avaliação de micronúcleo em *A. cepa* consistiu no crescimento radicular de bulbos de cebola expostos às águas de locais com e sem influência de rejeitos urbano e industrial. Foram verificados que alguns pontos apresentaram anomalias relacionadas a formação de micronúcleos em células de *A. cepa*. As regiões sob influência do laticínio e do perímetro urbano apresentaram um aumento significativo das anomalias quando comparados ao controle negativo, o que denota que nestes locais pode existir a presença de poluentes com potencial mutagênico. Constatando que a qualidade ambiental das águas do afluente do Rio Boa Vista encontra-se comprometida, conforme as alterações de potencial mutagênico observados nas análises estudadas. E que a longo prazo, pode acarretar sérios danos ao meio ambiente.

Palavras-chave: Mutagenicidade, contaminação, *Allium cepa*, águas.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the presence of substances with mutagenic potential in the waters of the tributaries of the River Boa Vista, natural resource that runs through rural and urban perimeter of the city of Ouro Preto do Oeste, a fact which makes it susceptible to contamination of the pollutant load from residential, agricultural and industrial effluents generated by the inhabitants and poured into his bed. To review this anthropogenic influence was employed micronucleus test in *Allium cepa*. This technique has been used for the detection of substances with mutagenic potential due to its convenience, low cost and speed. Furthermore, we evaluated other parameters of water quality such as pH, acidity, biochemical oxygen demand (BOD), chemical oxygen demand (COD), total coliforms and faecal coliforms (*E. coli*). The evaluation of micronucleus *A. cepa* consisted of root growth of onion bulbs exposed to water with and without local influence of urban and industrial wastes. We checked some points related anomalies showed the formation of micronuclei in cells of *A. cepa*. The regions under the influence of dairy and urban perimeter showed a significant increase in anomalies when compared to the negative control, which indicates that these sites can be the presence of pollutants with mutagenic potential. The authors verified that the environmental quality of the waters of River tributary Boa Vista is compromised as mutagenic potential changes observed in the studied analysis. And in the long term, can cause serious damage to the environment.

Keywords: Mutagenicity, contamination, *Allium cepa*, waters.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACUMEDIA: Laboratório fabricante de substrato para identificação de coliformes fecais.

ANA: Agência Nacional de Meio Ambiente.

ANOVA: Teste de Variância estatística.

A1: Primeiro ponto de coleta amostral.

A2: Segundo ponto de coleta amostral.

A3: Terceiro ponto de coleta amostral.

A4: Quarto ponto de coleta amostral.

A5: Quinto ponto de coleta amostral.

A6: Sexto ponto de coleta amostral.

CEPLAC: Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira.

CETESB: Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental - SP.

CP: Controle Positivo

CF: Coliformes Fecais

CT: Coliformes Totais

COPAM: Conselho Estadual de Policia Ambiental. Minas Gerais. Brasil.

CONAMA: Conselho Nacional de Meio Ambiente.

DBO: Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO: Demanda Química de Oxigênio

DNAFE: Departamento Nacional de Águas e Energia Elétrica.

DP: Desvio Padrão

EC: Meio de cultura seletivo para coliformes.

HIMÉDIA: Meio de cultura Plate Count Agar, seletivo para coliformes.

HCl: Ácido clorídrico.

H₂O Destilada: Água destilada.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

IDARON: Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastil do Estado de Rondônia.

INCRA: Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária.

IPCS: Programa Internacional de Segurança Química.

$K_2Cr_2O_7$: Dicromato de Potássio.

MN: Micronúcleo.

n: número de replicatas.

OMS: Organização Mundial de Saúde.

OD: Oxigênio Dissolvido.

O_2/L : Oxigênio Dissolvido por Litro.

pH: Potencial Hidrogênico.

SEAGRI-RO: Secretaria de Agricultura e Pecuária do Estado de Rondônia.

SEDAM: Secretaria de Estado do Desenvolvimento Ambiental - RO.

SINGREH: Sistema Nacional de Recursos Hídricos.

SYNTH: Laboratório fabricante de água de peptona.

TUKEY: Teste de variações estatísticas.

UNEP: Programa Ambiental das Nações Unidas

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais.

UNIR: Universidade Federal de Rondônia.

UFCs: Unidades Formadoras de Colônias

UV-VIS: Ultravioleta Visível

UV: Ultravioleta.

1N: Um normal.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Formação de uma célula micronucleada contendo um fragmento cromatídico acêntrico. A Indução do dano estrutural cromossômico na interfase (a) por ação química, física ou biológica mutagênica, resultando na formação de um fragmento cromatídico sem centrômero (acêntrico) pode ser visualizado quando os cromossomos são condensados na metáfase (b) da mitose. A reconstituição da membrana nuclear ao redor do fragmento cromatídico produz um micronúcleo (c) o qual pode ser quantificado na célula filha formado após a divisão (e)..... 22
- Figura 2.** Localização da Bacia do Rio Boa Vista..... 29
- Figura 3** Localização dos pontos de coleta de água nos Afluente do Rio Boa Vista - RO – Igarapé Ouro Preto (A1, A2, A5 e A6) e Industrial (A3 e A4), tendo como ponto de referencia para escolha o ponto de despejo de dejetos do laticínio local. Base adaptado de SEDAM – Imagem LANDSAT 231/67 de 2010 – Datum: SAD69 - FUSO 20S..... 31
- Figura 4.** Bulbos de cebola em processo de germinação organizados por pontos de coleta e controle..... 33
- Figura 5.** Preparação de lâminas: Retirada do meristema radicular de bulbos de *A. cepa* acondicionadas em HCl – 1mol L⁻¹) e em banho-maria por 10 min. Lavadas com água destilada e feito o esfregão em 2 lâminas por bulbo. Contagem de 1000 células de *A. cepa* por lâmina..... 33
- Figura 6.** Contagem de 1000 células de *A. cepa* por lâminas de vidro preparadas sobre esfregão, coradas em kit panótipo rápido e analisadas em microscópio, para teste de mutagenicidade. A – Células de *A. cepa* (ocular:10x, objetiva 10x), B – Micronúcleo em célula de *A. cepa* (ocular:10x, objetiva 40x)..... 34
- Figura 7.** Frequência de micronúcleos em 1000 células de *A. cepa* imersas em águas superficiais coletadas, nos pontos amostrais A1 a A6, em (a) dezembro/2012, (b) março/2013 e (c) junho/2013. **A1** representa as amostras de controle negativo de campo, **H₂O** controle negativo de

laboratório realizada em água deionizada, **CP** controle positivo em $K_2Cr_2O_7$, n=10. Significativo para $***(P<0,001)$ 38

Figura 8. Média de precipitação mensal mm, nos meses de Dezembro/2012 à Junho/2013 no município de Ouro Preto do Oeste – RO. Brasil..... 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Fontes de exposição humana a agentes mutagênicos.....	20
Tabela 2.	Resultados dos testes de mutagenicidade, para as coletas de Dez/2012, Mar/2013 e Jun/2013.....	36
Tabela 3.	Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas e o respectivo limite estabelecido pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA (2005) e o Padrões de Lançamento de efluentes nas Coleções de Águas DN COPAM (1986) para afluentes classe 2 e efluentes tratados.....	41

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 LEGISLAÇÃO HÍDRICA.....	15
2.2 INFLUÊNCIA INDUSTRIAL E URBANA.....	16
2.3 MUTAGENICIDADE.....	18
2.4 DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO (DBO ₅)	24
2.5 DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO (DQO)	26
3 OBJETIVOS	28
3.1 OBJETIVO GERAL.....	28
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 ÁREA DE ESTUDO	29
4.2 COLETA DOS DADOS.....	32
4.3 ANÁLISE MUTAGÊNICA.....	32
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
4.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	34
4.5.1 Coliformes Fecais	34
4.5.2 Análise Físico-química	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO	36
5.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS	40
5.2.1 Coliformes	41
5.2.2 DQO e DBO	42
5.2.3 Potencial hidrogeniônico (pH)	43
6 CONCLUSÃO	45
7 REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

A água representa um elemento imprescindível para a vida humana (RIBEIRO, 2006). Apesar de sua importância, as pessoas continuam poluindo os rios e suas nascentes esquecendo o quanto ela é essencial à permanência da vida no Planeta (GOMES, 2011).

O Brasil possui em seu território parte dos recursos hídricos mais importantes do planeta (GEO BRASIL, 2007). Destes recursos, a região Norte detém a bacia hidrográfica do Amazonas, sendo a mais extensa do globo terrestre (EVA; HUBER, 2005). Com o crescente aumento da população, as atividades urbanas, industriais, o desmatamento, dentre outros fatores, possuem influência direta e indireta nos efeitos deletérios do ecossistema aquático (BRIÃO, 2000).

O estado de Rondônia possui uma população de 1.728.214 habitantes, 237.590,547 Km² e 52 municípios (IBGE, 2013); tendo a produção de leite um dos setores industriais em destaque na economia da região. Os segmentos de produção, industrialização e comercialização de leite e seus derivados estão presentes em várias regiões, desempenhando um papel relevante no suprimento de alimentos e na geração de emprego e renda para a população (SPEROTTO, 2012). Essa atividade é uma das melhores formas de crescer renda na agricultura familiar, por não necessitar de grandes áreas para produção (IDARON, 2013).

De acordo com levantamentos da Secretaria de Agricultura e Pecuária do Estado de Rondônia (SEAGRI-RO), IBGE e Embrapa, Rondônia tem uma média de produção acima de 2,2 milhões de litros de leite por dia, sendo considerado o maior produtor de leite da região norte e a 9ª maior bacia leiteira do País (IBGE, 2012; ZOCCAL, 2012).

Dentre os cinco municípios com maior produção leiteira no estado de Rondônia destaca-se: Jaru, Ouro Preto do Oeste, Ji-paraná, Urupá e Cacoal, sendo o município de Ouro Preto do Oeste o 2º maior produtor de leite, com uma produção média diária de 152.845 litros (IDARON, 2013).

O potencial leiteiro em Rondônia favoreceu um crescimento industrial exponencial a região central do estado (ZOCCAL, 2012). Haja vista esse crescimento e o aumento de contaminação pela emissão de efluentes não tratados por indústrias, torna um assunto preocupante na preservação e conservação do meio ambiente (BRAILE; CAVALCANTI, 1993).

Em geral, grande problema relacionado a esse setor industrial é a falta de fiscalização efetiva no que concerne aos descartes dos subprodutos gerados durante o processamento do leite, contidos no efluente lançado nos rios e igarapés, muitas vezes, sem o tratamento prévio.

Em especial, no estado de Rondônia podemos destacar o problema da poluição decorrentes da emissão de rejeitos por parte de indústrias lácteas, pois entre os estados da região Norte, Rondônia é o maior produtor de leite, com uma das maiores taxas de laticínios por habitante na Região Norte (MENEGUETTI et al., 2013).

O efluente gerado pela indústria leiteira contém elevada carga orgânica tais como gordura e sólidos; o que contribui em um efluente com elevada Demanda Química de Oxigênio (DQO), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), óleos e graxas, nitrogênio, fósforo, dentre outros (BRIÃO, 2000). E, quando este é lançado nos rios, sem o tratamento prévio e/ou tratamento inadequado, acarreta sérios danos ao meio ambiente.

Embora haja inúmeros pré-requisitos e parâmetros para estudo no controle da qualidade, as condições e o problema da gestão da água no meio ambiente urbano despertam bastante preocupação na população em função dos problemas de abastecimento de água, bem como o saneamento básico, enchentes situacionais e depreciação da qualidade da água nos rios e fontes de abastecimento (MACHADO, 2007).

Dentro desse contexto, o presente trabalho visou avaliar o potencial de mutagenicidade de substâncias presentes, decorrente aos resíduos lançados pela indústria de laticínio e sob influencia urbana do município de Ouro Preto do Oeste - RO, em águas de afluentes do Rio Boa Vista no período de dezembro/2012 a junho/2013.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 LEGISLAÇÃO HÍDRICA

Quando se fala de controle da qualidade da água e da gestão dos recursos hídricos, logo se destaca a questão jurídica, onde a água é um bem ambiental, um patrimônio comum da humanidade, onde todos, Estado, sociedade e cidadão, considerado individualmente: devem protegê-lo.

Legislar sobre águas nada mais é que instituir normas sobre seu uso, determinando limites de qualidade e quantidade, especificando sanções àqueles que de qualquer forma provocarem danos a esse bem difuso, pois, como bem difuso, pertence a todos (LEMOS; LEMOS, 2009). Em razão disso, inúmeras foram as instituições, leis, portarias e decretos criados para defender esse bem comum.

Desde a decretação do Código de Águas em 1934, e da criação de uma agência federal, o Departamento Nacional de Águas e Energia Elétrica – DNAFE, impulsionados pelo desenvolvimento industrial e de urbanização, o Brasil busca adotar modelos adequados de gestão racional dos recursos hídricos em função ao crescimento tecnológico prevaente, às prioridades sociais e aos padrões de sustentabilidade internacionalmente aceitos nessa área (GEO BRASIL, 2007).

Infelizmente, o modelo praticado nos últimos sessenta anos mostrou-se claramente insuficiente ao modelo de desenvolvimento nacional, de acordo dados apresentados por GEO Brasil (2007). Isto porque, o investimento na conservação do recurso hídrico foram poucos; como também a ampliação de problemas antigos e, o surgimento de novos problemas ambientais, antes pouco percebidos socialmente ou negligenciados em face a abundância de recursos hídricos no país.

O Brasil possui um dos maiores recursos hídricos do mundo, onde a bacia amazônica abriga a maior rede hidrográfica do planeta, escoando cerca de 1/5 do volume de água doce do mundo (GEOBRASIL, 2007). Desses, 60 por cento se encontra em território brasileiro, o que dificulta sua fiscalização e monitoramento em virtude de sua grande extensão. Isso levou o Brasil a ampliar mais seus horizontes de fiscalização (GEOBRASIL, 2007).

A partir da constituição de 1988, onde foi inserida, dentre as competências da União, a obrigação de um sistema nacional de gerenciamento de recursos hídricos foi criado o Sistema Nacional de Recursos Hídricos – SINGREH (Lei 9.433/97); e em junho de 2000 foi criada a Agência Nacional de Águas – ANA, com objetivos básicos na emissão de outorgas de direito de uso da água; fiscalização dos usos e usuários de recursos hídricos; e cobrança pelo uso da água, podendo delegar tarefas operacionais às agências de água de bacias hidrográficas (ANA, 2011).

Nesta linha, a Resolução CONAMA 357/2005 foi criada para dispor sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelecer as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dar outras providências. Sendo necessário o tratamento prévio de seus despejos líquidos antes do lançamento, direta ou indiretamente, nos corpos de água, obedecendo às condições, padrões e exigências, disposto na Resolução Conselho Nacional de Meio Ambiente - CONAMA 357/2005.

Apesar do grande número de leis e parâmetros estabelecidos para preservação dos recursos hídricos, o que se observa na atualidade são as inúmeras negligências relatadas em trabalhos de pesquisa sobre níveis de contaminações elevados influenciados por rejeitos urbanos e indústrias. O que levam a questionar quais seriam as atitudes a serem tomadas entre os órgãos federativos para melhoria e minimização desses problemas.

2.2. INFLUÊNCIA INDUSTRIAL E URBANA

A humanidade habituou-se a tratar a água do planeta como um bem infinito, e essa abundância causam uma falsa sensação de recurso inesgotável, onde segundo especialistas, 95,1% da água do planeta é salgada, sendo imprópria para consumo humano, 4,7% estão na forma de geleiras ou regiões subterrâneas de difícil acesso, e somente os 0,147% estão aptos para o consumo em lagos, nascentes e em lençóis subterrâneos (GALLETI, 1981; RAINHO, 1999).

Grande parte da água potável disponível no mundo sofre um grande impacto ambiental pela pressão antrópica com contaminações bacteriológicas e químicas, eutrofização e assoreamento, originárias principalmente do lançamento de águas residuais domésticas e industriais em rios e lagos, envolvendo, processos de ordem física, química e biológica (SPERLING, 1993).

Conforme a resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA Nº 001 de 23/01/86 define-se como impacto ambiental: “Qualquer alteração das propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente, causada por qualquer forma de matéria ou energia resultante das atividades humanas que, diretamente, afetem: (I) a saúde, a segurança e o bem-estar da população; (II) as atividades sociais e econômicas; (III) a biota; (IV) as condições estéticas e sanitárias do meio ambiente; (V) a qualidade dos recursos ambientais” (CONAMA, 1986).

Dentro dos efeitos dos impactos ambientais produzidos, a diminuição da biodiversidade e da variabilidade genética das populações naturais relaciona-se quase integralmente com as atividades humanas associadas à urbanização, agricultura e indústria (BICKHAM, et al., 2000). Embora haja inúmeros fatores ligados na perda da diversidade genética, a contaminação química do ambiente, incluindo exposições crônicas das populações ou efeitos imediatos e agudos, como derramamento de óleo, está ligada estreitamente ao declínio ou ao desaparecimento de muitas populações (BICKHAM, et al., 2000).

A indústria alimentícia e sua contribuição material em termos de poluição de águas receptoras são significativas, sendo, portanto, necessário e obrigatório o tratamento prévio de seus despejos líquidos antes do lançamento (BRAILE; CAVALCANTI, 1993).

Infelizmente, o frequente lançamento de efluentes industriais sem o devido tratamento em rios e igarapés mostra um significativo risco aos ecossistemas, não somente por seu volume substancial, mas principalmente por sua complexidade química que se torna agravante no momento em que são lançadas diferentes toxinas, que interagem entre si formando misturas complexas com características específicas – uma vez que estas interações podem aumentar sinergicamente o potencial genotóxico (ROSA et al., 2001).

Toda essa enorme quantidade de água para as atividades domésticas e industriais não é consumida, mas retirada da natureza e, em seguida, devolvidos como água poluída ou ineficientemente tratada, implodindo no ecossistema aquático ao receber por resíduos orgânicos acima da capacidade de absorção do organismo decomposição e por resíduos inorgânicos, não biodegradáveis, que frequentemente têm efeitos tóxicos e cumulativos sobre os organismos aquáticos (MORAES; JORDÃO, 2002).

Da mesma forma que a industrialização se intensifica, o ambiente é agredido por diferentes tipos de contaminantes, sendo a poluição do ar a primeira a ser relacionada com os danos à saúde humana (AMARAL; PIUBELI, 2003). Entretanto, com o decorrer do tempo e o crescente contingente populacional, outras fontes de poluição surgem devido a falta de

saneamento básico e tratamento adequado de esgoto, contaminando águas fluviais e mananciais (MCMICHAEL, 2000), desrespeitando a resolução CONAMA nº 357/05.

É possível estimar se em águas residuais urbanas contêm consideráveis quantidades de matéria em suspensão, principalmente metais pesados, pesticidas e uma variedade de outras substâncias, ocasionando uma grande variação na qualidade das águas residuais e, conseqüentemente, tendo em certas ocasiões grandes registros de índices de demanda biológica de oxigênio (MASON, 1984). No entanto, a identificação e origens de substâncias genotóxicas em águas de despejo doméstico e águas de superfície permanecem ainda pouco conhecidas (WHITE; RASMUSSEN, 1998).

Entre as principais fontes artificiais de introdução dos metais pesados no ambiente aquático está a poluição dos corpos d'água por descarga direta de vários efluentes, tratados ou não, provenientes de atividade agrícola, doméstica e industrial (FORSTNER; WITTMANN, 1981). Indústrias metalúrgicas, curtumes, fertilizantes, plásticos, alimentos e até mesmo esgoto urbano são responsáveis por grande parte de despejos de metais tóxicos despejados na água de rios (RAMALHO et al., 1999, MATSUMOTO et al., 2006).

2.3 MUTAGENICIDADE

Inúmeras análises químicas podem auxiliar na identificação, quantificação e controle de substâncias tóxicas lançadas em rios. Contudo, a complexidade dos efluentes industriais e urbanos torna a determinação de todas as substâncias presentes como impraticáveis (ROSA et al., 2001). Além disso, a complexidade da relação entre compostos e biota demonstra que os dados obtidos por métodos embasados somente em análises químicas são, em muitos casos, inadequados para uma correta avaliação do potencial tóxico desses tipos de resíduos.

Alternativas como a inserção de bioensaios para avaliar efeitos tóxicos de substâncias presentes em águas têm sido propostos (KAPANEN; ITAVAARA, 2001; ROSA et al., 2001; WILKE et al., 2008). Diversos bioensaios podem indicar mutações gênicas, mutações cromossômicas e recombinação mitótica e serem utilizados como ferramentas para o monitoramento do risco imposto pelos dejetos industriais e/ou urbana, permitindo, desta forma, um diagnóstico mais amplo da qualidade dos corpos d'água associados a esses despejos (VARGAS et al., 2001).

Quando poluentes são lançados no ambiente, os mesmos podem causar dois tipos de efeitos nos organismos expostos: efeito agudo e crônico (SILVA et al., 2012). Facilmente se detecta o efeito agudo devido sua curta duração e sua grande capacidade de recuperação, o que não ocorre nos efeitos crônicos, pois a avaliação é mais complexa, em virtude de seu longo prazo de detecção e suas respostas no ambiente é mais lenta (SOUZA; FONTANETTI, 2006).

O efeito crônico é resultante de uma longa exposição e de baixa intensidade, que interfere na sobrevivência e reprodução dos organismos, sendo esses contaminantes transferidos através da cadeia trófica (SILVA et al., 2012). Esses poluentes também podem ser acumulados nos tecidos dos organismos com o tempo, chegando a um nível prejudicial, também chamado de bio-acumulação (RAMOS, 2001; SILVA et al., 2012).

Qualquer fenômeno (tóxico, estressores, mutagênico, citotóxicos ou teratogênicos) que possa alterar o comportamento dos indivíduos, dificultando seu desempenho na população, pode causar impactos drásticos sobre a reprodução dos mesmos, acarretando em uma interferência no equilíbrio genético das populações e uma maior vulnerabilidade dos organismos, e o decaimento da diversidade das espécies (BICKHAM et al., 2000).

Nesse sentido existe a preocupação de uma catástrofe global causada pela introdução, no ambiente, de agentes químicos manufaturados pelo homem, onde vem criando uma falsa noção de que tudo o que é “natural” não oferece perigo, enquanto tudo o que é “artificial” (sintético), é caracterizado perigoso (RIBEIRO; MARQUES, 2003).

Levando em consideração que não existe mutágeno humano por si só, e que nosso conhecimento está baseado na avaliação daqueles considerados carcinogênicos para o homem, alguns autores como Doll e Petro (1981) e Ames e Gold (2000), afirmam em seus trabalhos que a proporção de cânceres causados por mutagênese ambiental é provavelmente muito mais baixa quando comparadas ao cigarro ou a agentes químicos artificiais, por exemplo.

Entretanto, a exposição a agentes mutagênicos ambientais representam um aumento da carga mutagênica, e que esse aumento de risco necessita ser avaliado, e se possível, minimizado (RIBEIRO; MARQUES, 2003).

Sob o ponto de vista de uma visão primariamente humana apresentados por Ribeiro e Marques, (2003), as potenciais fontes, de exposição a agentes mutagênicos são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Fontes de exposição humana a agentes mutagênicos.

<i>Tipo</i>	<i>Exemplo</i>
Endógenos	Óxido nítrico Radicais livres de oxigênio Formação de nitrosaminas endógenas
Ocupacional	Produtos petroquímicos Produção de energia nuclear Produção de ferro e aço
Dieta	Mutágenos naturais presentes na dieta Mutágenos gerados durante o cozimento de alimentos Mutágenos gerados no processo de preservação de alimentos
Radiação	Exposição médica – Raios X para diagnósticos e radioterapia Exposição a lixo nuclear
Poluição	Efluentes industriais Sub-produtos da cloração da água Emissões por motores de veículos Pesticidas usados na agricultura Incineração de lixo
Biológico	Mutágenos originados de infecção crônica por vírus, bactérias ou parasitas

Fonte: (RIBEIRO et al., 2003).

As potencialidades mutagênicas são estudadas dentro da genética toxicológica, que não só estuda um efeito adverso à saúde, mas avalia efeitos genotóxicos em potencial, uma vez que são considerados pré-requisitos importantes para o desenvolvimento de efeitos adversos à saúde, como o câncer (RIBEIRO; MARQUES, 2003).

A toxicidade genética não é uma medida de carcinogenicidade, mas é frequentemente usada como um indicador para o câncer, uma vez que os testes de mutagenicidade medem evento inicial ou intermediário da tumorigênese (FEARON; VOGELSTEIN, 1990).

Já a mutação é uma alteração súbita e herdável na estrutura do material genético e como tal, é uma fonte extremamente importante de variabilidade genética nas populações de seres vivos (BURNS; BOTTINO, 1991). Entretanto, a curto prazo, e do ponto de vista de um único organismo, a alteração genética é quase sempre prejudicial, especialmente em organismos multicelulares, nos quais a alteração genética está mais inclinada a perturbar o desenvolvimento e a fisiologia de um organismo (ALBERTS et al., 2002).

Tais agentes mutagênicos invadem a célula e se dirigem ao núcleo causando alterações no material genético podendo desregular o ciclo celular, fazendo com que a célula se reproduza descontroladamente invadindo tecidos adjacentes, dando início à formação de tumores (ALMEIDA et al., 2005). Conhecer os componentes físicos, químicos e biológicos que causam alterações gênicas, é necessário para melhor preservar a saúde humana (NETO et al., 2005).

Os organismos vivos estão frequentemente expostos a substâncias mutagênicas que podem causar danos celulares, induzidos por agentes químicos, físicos ou biológicos que afetam processos vitais como a duplicação e a transcrição gênica, bem como alterações cromossômicas, levando a processos cancerosos e morte celular, sendo essas substâncias conhecidas como genotóxicas (COSTA; MENK, 2000).

Os testes de citotoxicidade e genotoxicidade realizados pelo sistema teste de *A. cepa* baseiam-se em diversos parâmetros de análise, como por exemplo, padrões nucleolares atípicos, os quais consistem em um grande número de células com pareamento heteromórfico de nucléolos, tendo o aparecimento de micronúcleos como consequência da quebra cromossômica, evidenciando claramente a manifestação de distúrbios do processo mitótico (GROVER; KAUR, 1999).

O índice mitótico e índice de replicação são usados como indicadores de proliferação adequada das células, o que pode ser medido através do sistema teste vegetal de *A. cepa*. (GADANO et al., 2002).

Já a análise de alterações cromossômicas serve como teste de mutagenicidade e é um dos poucos métodos diretos para mensurar danos em sistemas expostos a mutagênicos ou carcinogênicos potenciais (SILVA et al., 2003). Para possibilitar a avaliação dos efeitos ou danos que agentes mutagênicos podem causar, faz-se necessário que a amostra esteja em constante divisão mitótica, objetivando identificar os efeitos tóxicos e alterações ocorridas ao longo de um ciclo celular, e o teste de *A. cepa* tem sido amplamente empregado com esse propósito (SILVA et al., 2003).

Substâncias genotóxicas são capazes de induzir danos em células parentais, surgindo fragmentos cromossômicos que resultam de quebras que não são incorporados no núcleo principal das células filhas após a mitose, definindo-se como pequenos corpos contendo DNA e localizados no citoplasma (Figura 1), chamados de Micronúcleos (MN) (SCHMID, 1975). Os mesmo aparecem na telófase e são resultantes de fragmentos cromossômicos acêntricos,

originados de quebras isocromatídicas, cromatídicas, ou de disfunções do fuso mitótico, podendo aparecer mais de uma vez por células (RIBEIRO et al., 2003).

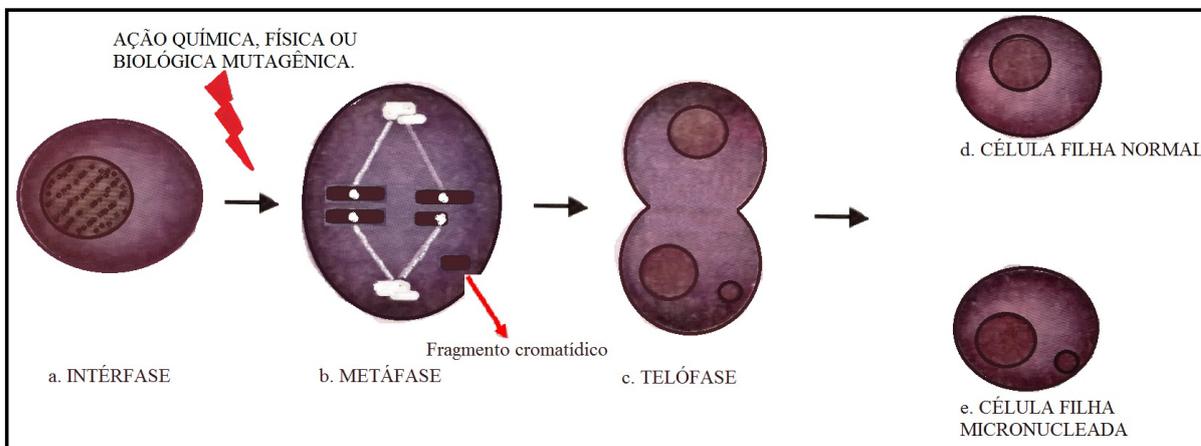


Figura 1. Formação de uma célula micronucleada contendo um fragmento cromatídico acêntrico. A indução do dano estrutural cromossômico na interfase (a) por ação química, física ou biológica mutagênica, resultando na formação de um fragmento cromatídico sem centrômero (acêntrico) pode ser visualizado quando os cromossomos são condensados na metáfase (b) da mitose. A reconstituição da membrana nuclear ao redor do fragmento cromatídico produz um micronúcleo (c) o qual pode ser quantificado na célula filha formado após a divisão (e). Adaptação de (RIBEIRO, 2003).

Os micronúcleos são estruturalmente pequenos núcleos representando o material genético que foi perdido pelo núcleo principal, como consequência de um dano genético que pode ser causado por agentes físicos, químicos ou biológicos, capazes de interferir no processo de ligação do cromossomo as fibras do fuso, ou que possam induzir a perda do material genético (cromossomos inteiros ou fragmentados) (SCHMID, 1975). O teste de micronúcleos, portanto, detecta mutagênese cromossômica em eucariotos do tipo clastogênese, aneugênese e danos no fuso mitótico (VILLELA et al., 2003).

A presença de micronúcleo pode ser tomada como indicação da existência prévia de aberração cromossômica, aparecendo pela primeira vez no final da primeira divisão mitótica, após clastogênese ou aneugênese, porém micronúcleos adicionais podem se formar nas divisões seguintes (MALUF et al., 2001).

Sistemas testes vegetais como o de *Vicia faba*, e principalmente o de *A. cepa*, têm sido utilizados para o estudo dos efeitos de extratos vegetais, visando à detecção de genotoxicidade (TEIXEIRA et al., 2003; FACHINETTO et al., 2007).

Inúmeras vantagens são atribuídas à utilização de *Allium cepa* (cebola comum) com destaque o baixo custo, alta sensibilidade, rapidez, acessibilidade dos materiais, dentre outros (LEME; MARIN-MORALES, 2009)

Entre os sistemas de ensaio adequados para a monitorização de toxicidade, o teste de *A. cepa* é bem conhecido e vulgarmente utilizado em muitos laboratórios, sendo as cebolas fáceis de armazenar e de manipular, e as células da ponta da raiz constituindo um sistema conveniente para o crescimento macroscópico (valores EC_{50}), bem como para os parâmetros microscópicos (c-mitose, viscosidade, quebras cromossômicas), uma vez que as células possuem enzimas de ativação importantes das plantas, o teste de *A. cepa* tem uma vasta área de aplicação (FISKESJO, 1988). Além disso, os resultados do teste de *A. cepa* mostraram boa concordância com os resultados de outros testes, eucarióticas, bem como procariótico (FISKESJO, 1988).

Existem vários estudos que utilizam o sistema *A. cepa* em suas análises. Radić et al., (2010), utilizou o teste *A. cepa* para avaliar os efeitos citotóxicos e genotóxico da superfície de águas residuais recolhidas perto do rio Sava na Croácia ao longo de um período de três meses. Mazzeo et al., (2011), avaliou o potencial genotóxico e mutagênico do processo de Biodegradação do BTEX antes e depois, através da análise de aberrações cromossômicas e testes de MN em *A. cepa*. Vieira et al., (2012), usaram a citogenética e citometria de fluxo para avaliar os efeitos de um complexo de resíduos sólidos proveniente de uma indústria de alumínio avaliando os efeitos nos parâmetros do ciclo celular e conteúdos de DNA em células meristemáticas de *A. cepa*. Já, Silva, (2013), avaliou a formação de danos no material genético, como quebra cromossômicas, pontes e outros que causam perda do material genético durante a divisão celular, sendo realizados testes de genotoxicidade e mutagenicidade em água para o consumo humano, utilizando *A. cepa*. Mas o precursor em empregar *A. cepa* em bioensaios foi Levan (1938). Como também Fiskesjö, (1988) que utilizou *A. cepa* e considerou esse método para o futuro, como uma importante ferramenta para avaliar o potencial genotóxico e citotóxico de produtos químicos, substâncias complexas, dejetos industriais e águas contaminadas.

Em se tratando da região Norte do Brasil, poucos trabalhos foram publicados empregando *A. cepa*, principalmente no estado de Rondônia (MENEGUETTI, et al., 2012).

Por outro lado, o bioensaio com *A. cepa* tem sido usado em diversos trabalhos no Brasil, como na análise de efluentes de curtume lançados na bacia hidrográfica do Rio Sinos

no Rio Grande do Sul, cujo nível de contaminação foi influenciado pela emissão de rejeitos industriais (SCALON, 2009).

Da mesma forma, amostras de água da região hidrográfica da bacia do lago Guaíba foram avaliadas e estudadas sobre seu potencial genotóxico, identificando uma forte influência de contaminantes orgânicos (VILLELA, 2006). Além da presença de substâncias mutagênicas nas águas do Canal São Gonçalo no Rio Grande do Sul, que demonstrou um aumento significativo de anomalias proveniente de efluentes residenciais, agrícolas e industriais gerados pela cidade, evidenciando a presença de poluentes com potencial genotóxico (SÁ, 2006).

Em 2011, uma equipe de pesquisadores avaliou a citotoxicidade e genotoxicidade dos efluentes bruto e tratado de duas indústrias têxteis localizadas no sul do estado de Minas Gerais utilizando o bioensaio em *A. cepa* constatando um efeito genotóxico nesses afluentes (ALVIM, et al, 2011). E outro, avaliou o nível ecotoxicológico, químico e microbiológico da água de irrigação de hortaliças em uma região de mananciais da grande São Paulo, constatando efeito genotóxico para todas as amostras, apontando para uma contaminação antrópica oriunda de despejos domésticos (LACERDA, 2012).

2.4 DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO (DBO₅)

Em relação aos outros mecanismos de análises de efluentes, a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO₅), é comumente utilizada para avaliar níveis de descontaminação de efluentes tratados de indústrias de laticínios como também sempre foi caracterizada como um dos principais parâmetros para se saber a qualidade de uma água (LIMA et al., 2006). A DBO é a quantidade de oxigênio dissolvido necessária para a oxidação da matéria orgânica, presente em amostras de águas, por microrganismos aeróbios a uma dada condição padrão de temperatura e período (ENUJIUGHA; NWANNA 2004; FULAZZAKY, 2013).

Em outras palavras, é um indicador que determina indiretamente a concentração de matéria orgânica biodegradável através do consumo de oxigênio exercida por microrganismos (VALENTE et al., 1997). A amostra é mantida a 20 °C em um período de cinco dias na ausência de luz, e o oxigênio dissolvido é medido antes e após o período de incubação. A diferença entre o oxigênio dissolvido inicial e o final é o DBO (CETESB, 2011).

Nos efluentes de indústrias que não possuem oxigênio suficiente e nem microrganismos, é necessário além da diluição a introdução de nutrientes, adicionando “semente”, que é uma porção de esgoto com microrganismos e DQO conhecido para corrigir o resultado final. (RAND, 1992). Em cinco dias, sobre temperatura de 20 °C, a matéria orgânica (esgoto doméstico) consome cerca de 70% a 80% do oxigênio (PORTO, 1991).

Portanto, a DBO_5 é uma variável da qualidade da água que, de certa forma, quantifica a poluição orgânica pela depleção do oxigênio, que poderá conferir condição anaeróbica ao ecossistema aquático (MACEDO, 2002). O índice de qualidade de água apresentado em um estudo no Ribeirão Lavrinha na região Alto Rio Grande em Minas Gerais apresentou um quadro relevante causado principalmente pelo NMP de coliformes, o qual se associa com a pecuária e em escala menor o oxigênio dissolvido (OD) e a DBO_5 são também fatores limitantes, indicando contaminação do mesmo (PINTO, 2009).

Silva et al., (2012) avaliaram a qualidade de água na bacia do Rio Corumbataí – SP que apresentou valores de DBO_5 e outros parâmetros acima dos preconizados em legislação vigente demonstrando a necessidade de uma maior controle na atividade de viveiros e pesque-pague naquela região.

Na resolução Conama nº430/2011, que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes em águas receptoras, estabelece que a DBO_5 a 20 °C deve ter uma remoção mínima de 60%, sendo que este limite só poderá ser reduzido no caso de existência de estudo de autodepuração do corpo hídrico que comprove atendimento às metas do enquadramento do corpo receptor que são estabelecidos na resolução Conama 357/05 (CONAMA, 2011).

A Resolução nº 357/05 do Conama, estabelece que o valor limite para a DBO_5 é de 5 $mg L^{-1}$ de O_2 , para rios de classe 2 (CONAMA, 2005). Mcneely et al. (1979) relatam que águas superficiais com DBO_5 inferiores a 4 $mg L^{-1}$ de O_2 são razoavelmente limpas, e aquelas com níveis maiores do que 10 $mg L^{-1}$ de O_2 são consideradas como poluídas em função do aporte de quantidades de material orgânico degradável. Segundo Sperling (1995) em ambientes naturais sem aporte de matéria orgânica, os valores para as concentrações da DBO_5 enquadram-se no intervalo de 1 a 10 $mg L^{-1}$ de O_2 . Já no trabalho de Pereira (2004) quando identificava e caracterizava fontes de poluição em sistemas hídricos a DBO_5 em efluentes domésticos e em indústrias de laticínios apresentou médias de 300 e 700 $mg L^{-1}$, respectivamente. Embora esses valores sejam altos, evidencia-se que são efluentes diretos das fontes poluidoras e a eficiência do tratamento deve seguir as normas da legislação vigente,

não alterando as características das águas receptoras estabelecidas na resolução Conama 357/05.

2.5 DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO (DQO)

A demanda química de oxigênio é um indicador de matéria orgânica baseado na concentração de oxigênio consumido para oxidar a matéria orgânica, biodegradável ou não, em condições ácidas por ação de um agente químico oxidante forte (CETESB, 2011). O mais comum oxidante utilizado é o dicromato, tendo a função de indicar a concentração de matéria orgânica em termos de oxigênio consumido já que nos corpos d'água as condições não são tão energéticas, além do fato de que algumas espécies inorgânicas, tais como nitritos, compostos reduzidos de enxofre e substâncias orgânicas como hidrocarbonetos aromáticos, compostos alifáticos de cadeia aberta e piridinas, não são oxidadas (VALENTE et al., 1997).

A determinação do conteúdo de matéria orgânica é uma das características mais importantes no estudo das águas residuais e naturais (CESET, 2006). De acordo a Resolução CONAMA (357/05) não existe previsão de valores limites para DQO. Já na Normativa COPAM nº 10, de 16 de dezembro de 1986, é estabelecido um valor máximo para esse parâmetro de $90 \text{ mg L}^{-1} \text{ O}_2$, para a qualidade das águas e efluentes. No entanto, quando relacionada à DBO_5 , pode trazer importantes transformações a respeito da carga poluidora presente na água, já que estima o nível total de matéria oxidável (ORIANI, 2013).

A demanda química de oxigênio (DQO) indica a quantidade de oxigênio que seria consumido através de reações químicas de oxidação de diversos compostos orgânicos presentes, sem a intervenção de microrganismos, indicando de maneira indireta a quantidade de matéria orgânica presente no líquido (CESET, 2006), portanto, a análise de DQO torna-se importante para os estudos de corpos d'água, resíduos industriais e controle de esgotos sanitários.

Vários trabalhos correlacionam a Demanda Química de Oxigênio (DQO) e a Demanda Bioquímica de Oxigênio DBO_5 com níveis de qualidade de água no Brasil, como um estudo apresentando os indicadores da qualidade da água na sub-bacia do igarapé São Francisco no município de Rio Branco - AC – mostrando oscilação do oxigênio significativa, tanto no

período seco como no período chuvoso (THEBALDI et al., 2011; SANTI et al., 2012; SILVA et al., 2012).

Segundo Thebaldi et al. (2011) a qualidade da água de um córrego sob influência de efluente tratado de abate bovino apresentou valores de DBO₅ e DQO em todos os pontos de coleta superiores aos padrões descritos na Resolução do CONAMA nº 357/05 para cursos de água da classe 2, evidenciando um nível de contaminação relevante e preocupante.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial mutagênico das amostras de águas de dois afluentes do Rio Boa Vista sob influência da indústria de laticínio e da atividade urbana do município de Ouro Preto do Oeste, Rondônia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o potencial mutagênico da água de dois afluentes do Rio Boa Vista empregando o bioensaio *Allium cepa*;
- Avaliar a qualidade da água em termos de coliformes fecais, coliformes totais, DQO e DBO.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. ÁREA DE ESTUDO

O Estado de Rondônia é dividido por três bacias principais que correspondem a Hidrografia de Rondônia: a bacia do rio Madeira que é o principal afluente pelo lado direito do rio Amazonas, a bacia dos rios Guaporé e Mamoré, e a bacia do rio Ji-Paraná ou Rio Machado, da qual faz parte a região da Grande Ouro Preto do Oeste. Dentro da grande bacia do Rio Ji-paraná situa-se a bacia do rio Boa Vista que está à margem esquerda do rio Machado e compreende os municípios de Ouro Preto do Oeste, Ji-Paraná e Teixeiraópolis – RO, com uma área de 844 km² (Figura 2), tendo sua nascente no município de Ouro Preto do Oeste, onde apresenta 76% da área de abrangência (SEDAM, 2010).

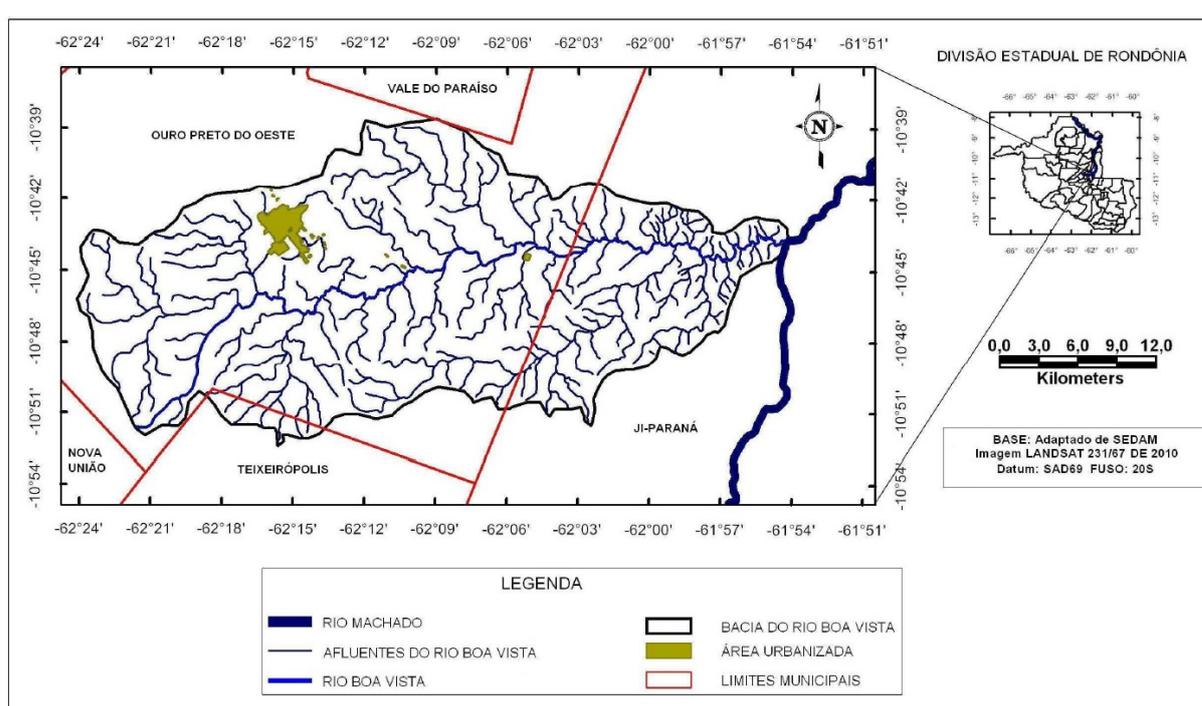


Figura 2. Localização da Bacia do Rio Boa Vista (Fonte: SOUZA et al.2011).

No trabalho descrito por Souza et al., (2011), observou-se que 78% da bacia do rio Boa Vista, apresenta cobertura com modificação moderada da paisagem, sendo que a classe mais artificializadora representa 2%, compreendidos pela diversidade de usos urbanos, que

são áreas com dificuldade ou impossibilidade de regeneração natural da vegetação e as condições menos modificadoras, que ainda possibilitam o cumprimento das funções e serviços naturais, totalizam 20%.

O clima da região é do tipo tropical úmido, apresentando temperaturas médias máximas até 32°C e médias mínimas de 13,6°C, com precipitação pluviométrica bem elevada, chegando a chover aproximadamente 2.000 mm anuais (CEPLAC, 2013). A vegetação é composta principalmente por Floresta tropical densa e aberta, com predomínio de floresta de terra firme (MARIALVA, 1999).

O município de Ouro Preto do Oeste (Figura 2) fica localizado há 330 km da capital Porto Velho, na região centro do Estado de Rondônia, apresenta área total de 1.969,8 Km²; com população de 37.928 habitantes, possui rede geral de distribuição de água e não possui nenhum serviço de saneamento básico (IBGE, 2008).

A pesquisa foi realizada em dois trechos de um total de 8 km de dois afluentes (Igarapé Ouro Preto e Igarapé Industrial) da Bacia do Rio Boa Vista que percorre a área urbana e rural do município de Ouro Preto do Oeste-RO, sentido jusante, em pontos fixos estratégicos correspondentes a área de despejos de efluentes de uma indústria de laticínios, localizados na BR – 364 à 0,5 km da área urbana do Município de Ouro Preto do Oeste, 10°42'1.22"S e 62°15'43.65"O e antes e após o perímetro urbano do município. Para análise da água foram estabelecidos seis pontos de coleta (Figura 3). Com a seguinte classificação:

- A1 (controle de campo mutagênico) - 1º ponto de coleta a 270 metros a montante do 1º local de despejo de efluentes do laticínio, Igarapé Ouro Preto, (10°41'52.96"S e 62°15'38.47"O);
- A2 - 2º ponto de coleta 200 metros a jusante o primeiro local de despejo do Laticínio, Igarapé Ouro Preto, (10°42'7.75"S e 62°15'42.43"O);
- A3 - 3º ponto de coleta a 250 metros a montante do segundo local de despejo de efluentes do laticínio, Igarapé Industrial, (10°41'43.35"S e 62°15'26.93"O);
- A4 - 4º ponto de coleta, 1000 metros a jusante do segundo local de despejo do laticínio, Igarapé Industrial, (10°42'7.38"S e 62°14'54.28"O);
- A5 - 5º ponto de coleta, início do perímetro urbano do município, Igarapé Ouro Preto, Igarapé Ouro Preto, (10°42'26.36"S e 62°15'44.13"O).
- A6 - 6º ponto de coleta, a jusante do perímetro urbano do município, Igarapé Ouro Preto, (10°43'39.65"S e 62°14'46.33"O).

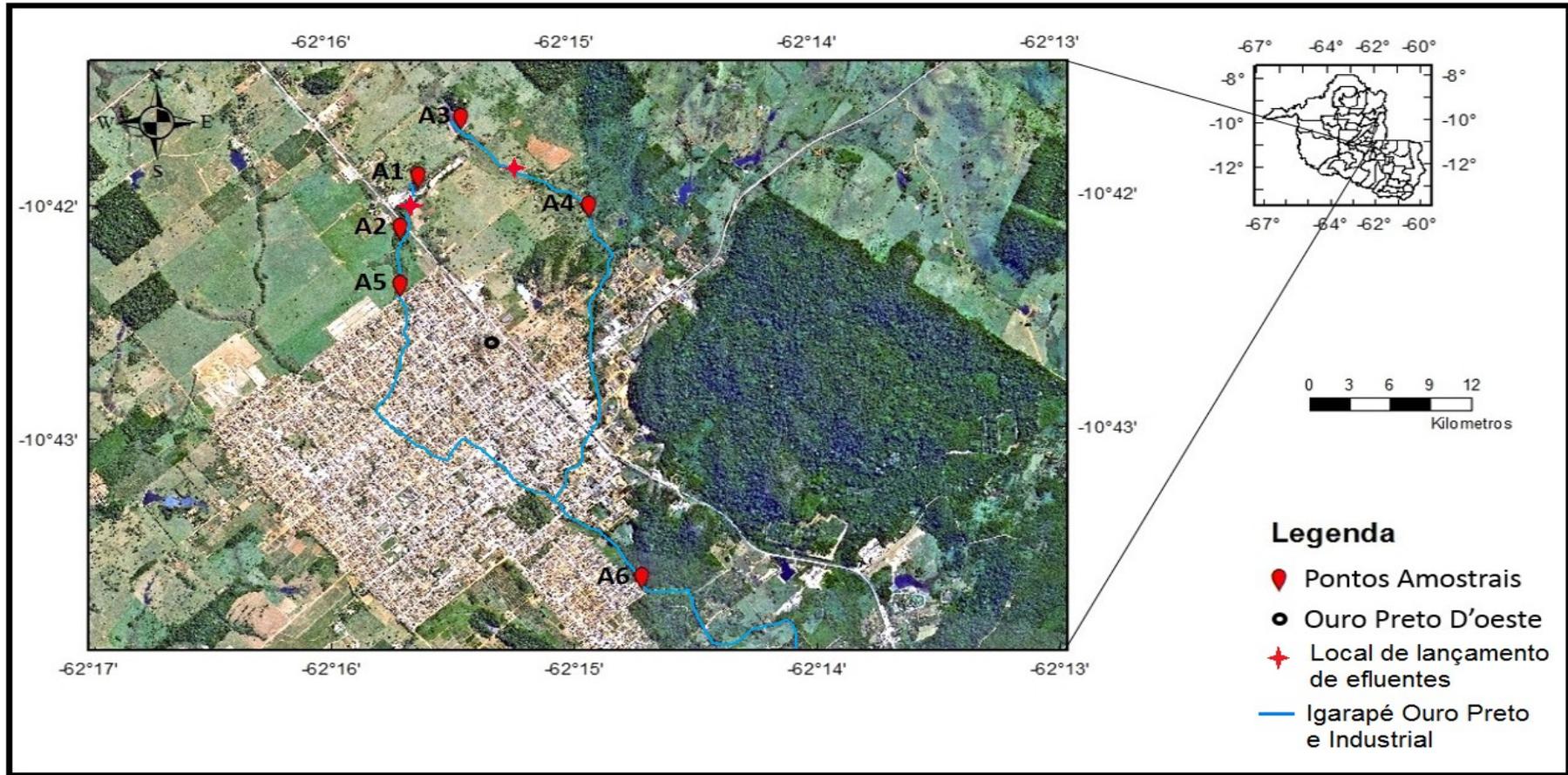


Figura 3. Localização dos pontos de coleta de água nos Afluente do Rio Boa Vista - RO – Igarapé Ouro Preto (A1, A2, A5 e A6) e Industrial (A3 e A4), tendo como ponto de referência para escolha o ponto de despejo de dejetos do laticínio local. Base adaptado de SEDAM – Imagem LANDSAT 231/67 de 2010 – Datum: SAD69 - FUSO 20S.

4.2. COLETA DOS DADOS

As amostras foram coletadas em dois períodos do ano, de estiagem e de chuva, nos meses de dezembro/2012, março de 2013 e junho/2013. As coletas foram em triplicatas, nos seis pontos amostrais (Figura 3).

Para análise de mutagenicidade as amostras foram encaminhadas para o laboratório da Escola Estadual de Ensino Fundamental e Médio – Joaquim de Lima Avelino no município de Ouro Preto do Oeste, Rondônia, onde as análises foram iniciadas no mesmo dia.

Nas análises de DBO, DQO e Coliformes totais e fecais, as amostras foram armazenadas à temperatura de 4°C e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Rondônia – UNIR, Campus – BR 364, Km 9,5 – Porto Velho – Rondônia, em um período máximo de 24 horas.

4.3 ANÁLISE MUTAGÊNICA

Os exemplares utilizados foram da subespécie *Allium cepa cepa* adquiridos no mercado popular do município de Ariquemes-RO, sendo estes exemplares de tamanho pequeno, com circunferência média de 8 a 10 cm, uniformes, de mesma origem, não germinados e saudáveis.

Para cada ponto de coleta utilizou-se 10 bulbos de *A. cepa* dispostos em recipientes de 100 ml para germinar com a parte inferior imersa em 50 ml de amostra em um período de 72 horas em uma temperatura média de 24 °C (Figura 4). Como controle negativo de campo utilizou-se água do ponto A1 localizado em uma área conservada, com fraca ação antrópica e próxima aos pontos do rio. Como controle negativo de laboratório, utilizou-se água deionizada nas mesmas condições das amostras. Para controle positivo foi utilizado o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7 - 1,40 \text{ mg L}^{-1} - \text{CP1.4}$) descrito por Molin et al., (2010).



Figura 4. Bulbos de cebola em processo de germinação organizados por pontos de coleta e controle.

Após o período de 72h do início do teste, os meristemas foram coletados com aproximadamente 0,5 a 3,0 cm de comprimento, sendo lavados em água destilada, seguida de hidrólise com HCl 1 mol L⁻¹ por 10 minutos em banho-maria a 60C°, sendo os tubos resfriados em água corrente. Após nova lavagem dos meristemas hidrolisados em água destilada foram feitos esfregaços em duas lâminas por *A. cepa*, sendo postas em seguida para secagem em temperatura ambiente. Em seguida as mesmas foram coradas segundo Meneguetti *et al.*, (2012), com o kit Panótico Rápido LB sendo composto de três substâncias: triarilmetano a 0,1%, xantenos a 0,1% e tiazinas a 0,1%, sendo as lâminas submersas 10 vezes em cada recipiente com submersões de 1 segundo de duração na sequência descrita acima. Posteriormente, as lâminas foram lavadas em água deionizada com o pH 7,0 e secas em temperatura ambiente. Em cada lâmina foram contados micronúcleos encontrados em 1000 células, observadas em microscopia óptica, com objetiva de 40x e ocular de 10x obtendo um aumento de 400x (Figura 5 e 6).

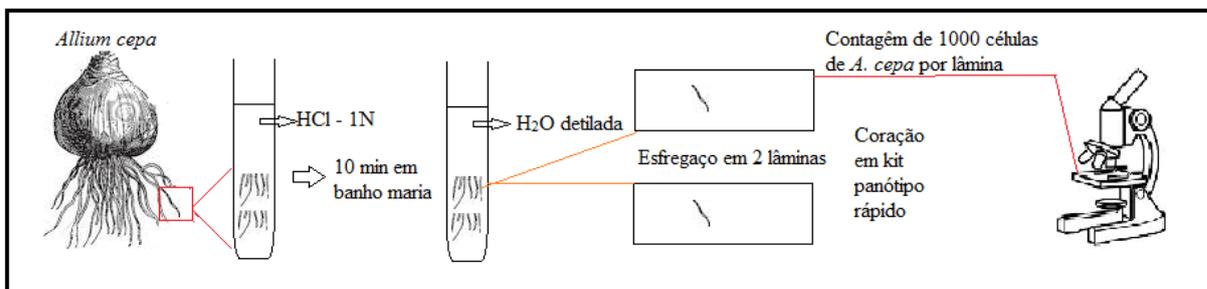


Figura 5. Preparação de lâminas: Retirada do meristema radicular de bulbos de *A. cepa* acondicionadas em HCl – 1N (Ácido clorídrico a 1N) e em banho-maria por 10 min. Lavadas

com água destilada e feito o esfregaço em 2 lâminas por bulbo. Contagem de 1000 células de *A. cepa* por lâmina.

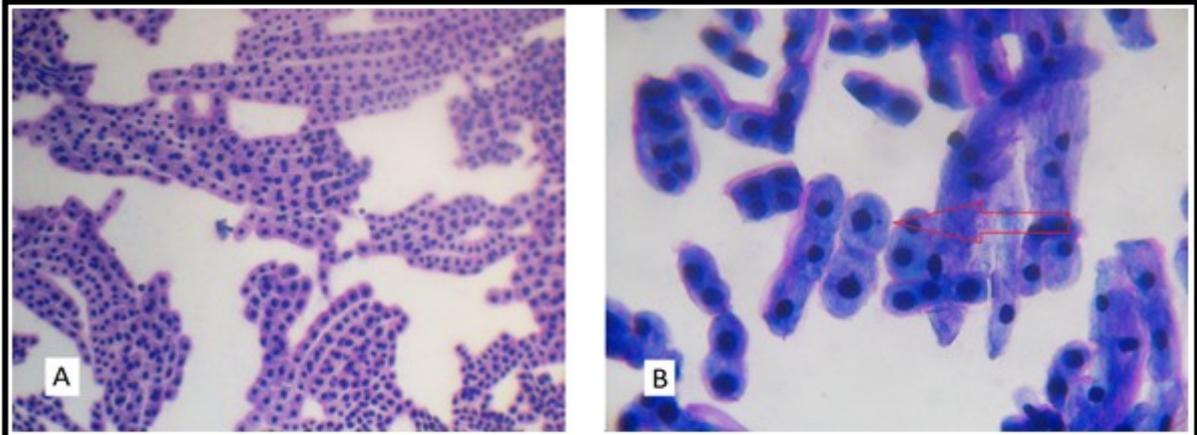


Figura 6. Contagem de 1000 células de *A. cepa* por lâminas de vidro preparadas sobre esfregaço, coradas em kit panótipo rápido e analisadas em microscópio, para teste de mutagenicidade. (A) Células de *A. cepa* (ocular:10x, objetiva 10x), (B) Micronúcleo em célula de *A. cepa* (ocular:10x, objetiva 40x).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o teste de normalidade com o software Oringe 8.0 teste Shapiro Wilk para testar a normalidade. Onde os mesmos foram identificados como paramétricos. (SACHS, 1982; SACHS, 1992).

No processamento da informação, empregou-se a estatística quantitativa paramétrica utilizando a análise de variância (ANOVA) seguido do teste TUKEY, feito pelo Software Graphad PRISM 5.0.

4.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

4.5.1. *Coliformes Fecais*

Foram coletados volumes de no mínimo 100 mL, utilizando um recipiente estéril, que, após a coleta, era fechado e acondicionado em caixas térmicas a 4°C e analisado no laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Rondônia – Campus de Porto Velho.

As amostras foram levadas ao laboratório em menos de 24 horas. A contagem de coliformes termotolerantes foi realizada através da técnica de número mais provável (NMP), preconizada por APHA, (1998).

O exame bacteriológico de coliformes foi realizado através do método da fermentação em tubos múltiplos, em três séries de cinco tubos (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}), que consiste no processo de diluição da amostra com água de peptona tamponada (SYNTH), descrito por (SILVA et al., 2006; LENGUA et al., 2010). Para o teste confirmativo de coliformes totais transferiu-se 1 mL de cada tubo correspondente à sua diluição a outras 3 séries de cinco tubos contendo verde brilhante (ACUMEDIA) com tubos de durhan invertidos, e posteriormente incubados a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 24/48 horas, onde foi observada a produção de gás, considerado resultado positivo. Para teste confirmativo de *E. coli*, os tubos positivos foram passados para caldo EC (ACUMEDIA) e incubados por 24/48 horas a $44,5^{\circ}\pm 0,2^{\circ}\text{C}$, e observou-se como resultado positivo a produção de gás.

Na contagem padrão das bactérias utilizou-se para cada amostra, três placas de petri com Plate Count Agar (HIMÉDIA) esterilizados. Em cada placa foram transferidos 1 mL dos tubos contendo as amostras com água de peptona em suas respectivas diluições (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). Em seguida foram incubadas a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas e quantificadas as UFCs em um contador de colônias.

4.5.2. Análise Físico-química

Em todas as amostras os parâmetros físico-químicos da água como pH, foi utilizado um pHmetro de bancada (PHS3). Para as outras características foram realizadas análises de DQO e DBO. Para tal, foram coletadas amostras em seis pontos distintos ao longo de dois afluentes, Ouro Preto e Industrial do Rio Boa Vista no município de Ouro Preto do Oeste, em três períodos diferentes.

As análises de DQO e DBO seguiram os padrões descritos por ALPHA, (1998). O método para a determinação da DQO em baixa concentração ($\text{mg L}^{-1}\text{ O}_2$ consumido), consiste em oxidar a matéria-orgânica em uma mistura fervente de ácido sulfúrico e sulfato de prata, com excesso conhecido do agente oxidante, o dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Após a oxidação da matéria orgânica presente, a DQO foi obtida diretamente ($\text{mg L}^{-1}\text{ O}_2$) no Espectrofotômetro UV-VIS, Shimadzu, modelo UV 2450, através de uma curva padrão. Com relação aos resultados da DQO das amostras, foram realizadas utilizando oxímetro Digimed para a leitura do oxigênio dissolvido (OD) antes e após um período de incubação de cinco dias, a uma temperatura de $20 \pm 5^{\circ}\text{C}$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO

A análise de *A. cepa* tem sido uma ferramenta importante para detectar contaminações de rios próximos a fontes de poluição. Entretanto, não é possível detectar quais as substâncias que têm influência direta sob as anomalias observadas no desenvolvimento de *A. cepa*. A grande vantagem desse tipo de ensaio é o tempo necessário para condução dos ensaios serem relativamente rápidos. Estes apresentam boa correlação com resultados de outros testes e a não exigência de equipamentos elaborados e de aprovação em Comitê de Ética e Pesquisa também torna-se uma vantagem. Como os sistemas biológicos são alvos da ação tóxica, eles podem fornecer informações importantes não disponíveis em análises químicas de amostras ambientais, além da importância do monitoramento biológico que vem sendo amplamente reconhecido (JHA, 2004)

Dentre os resultados obtidos, a tabela 2 mostra a frequência do aparecimento dos MN em *A. cepa* imersos em amostras de água coletadas dos diferentes pontos amostrais. A presença de MN pode ser relacionada ao potencial mutagênico analisando sua frequência após três dias de incubação da *A. cepa*.

Tabela 2. Resultados dos ensaios de mutagenicidade para as amostras de água coletas em três períodos diferentes, n=10.

Pontos Amostrais	Período de coleta das amostras		
	Dez/2012	Mar/2013	Jun/2013
	Frequência de micronúcleos (MN)		
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
H ₂ O Deionizada	3,1 ± 0,96	3,2 ± 1,60	2,3 ± 1,72
A1	4,5 ± 1,57	4,0 ± 1,35	1,6 ± 1,09
A2	4,4 ± 1,43	14,6 ± 1,72	9,1 ± 3,03
A3	4,1 ± 2,10	5,5 ± 2,62	2,1 ± 1,29
A4	1,5 ± 1,34	7,2 ± 1,74	8,6 ± 2,50
A5	2,6 ± 1,87	4,7 ± 1,03	5,6 ± 2,53
A6	7,7 ± 1,97	15,5 ± 2,25	9,7 ± 2,48
Controle positivo K ₂ Cr ₂ O ₇	11,6 ± 2,98	11,6 ± 2,98	11,6 ± 2,98

Onde: DP – desvio-padrão.

O comparativo entre os controles negativos de campo (A1) e laboratorial (H₂O deionizada), não apresentaram significância estatística, com ($p > 0,05$) quando comparadas na análise de variância (ANOVA) seguido do teste Tukey, mostrando que o controle negativo de campo é válido.

As análises da coleta 1 demonstraram significância estatística entre o controle A1 e o ponto A6, em relação ao número de micronúcleo ($P < 0,001$), a mesma significância também foi observada em relação ao controle negativo e positivo, conforme pode ser observado na (figura 9).

Os dados da coleta 2, mostram uma significância estatística entre o Controle Negativo A1, e os pontos A2, A4, A6 e o controle positivo em relação à frequência de Micronúcleo ($P < 0,001$) (Figura 7-a). É importante destacar nesses resultados os pontos A2 e A6, que estão com valores superiores ao controle positivo, havendo uma significância estatística de ($P < 0,001$) entre os mesmos.

Os pontos amostrais A1 (Igarapé Ouro Preto) e A3 (Igarapé Industrial) estão localizados em regiões a montante da influência das indústrias de laticínio; enquanto, os pontos A2 e A5 (Igarapé Ouro Preto) e A4 (Igarapé Industrial) estão após a indústria de laticínio; já a amostra A6 fica após a influência dos dois laticínios e da região urbana (Figura 3).

Ao comparar os pontos antes e após a indústria de laticínio, A1 e A2, verifica-se um aumento significativo na frequência de MN (Figura 7b e 7c). Como também, comparando os pontos amostrais A3 (montante) e A4 (jusante a indústria), foi possível observar uma diferença significativa na segunda e na terceira coleta, período de pré-estiagem e seca.

Os resultados da coleta 3, demonstraram a maior quantidade de pontos A2, A4, A5, A6 e controle positivo com significância estatística do número de micronúcleo ($P < 0,001$) em relação ao controle negativo A1, porém nessa análise nenhum dos pontos obtiveram resultado superiores ao controle positivo, conforme pode ser observado na Figura 7c.

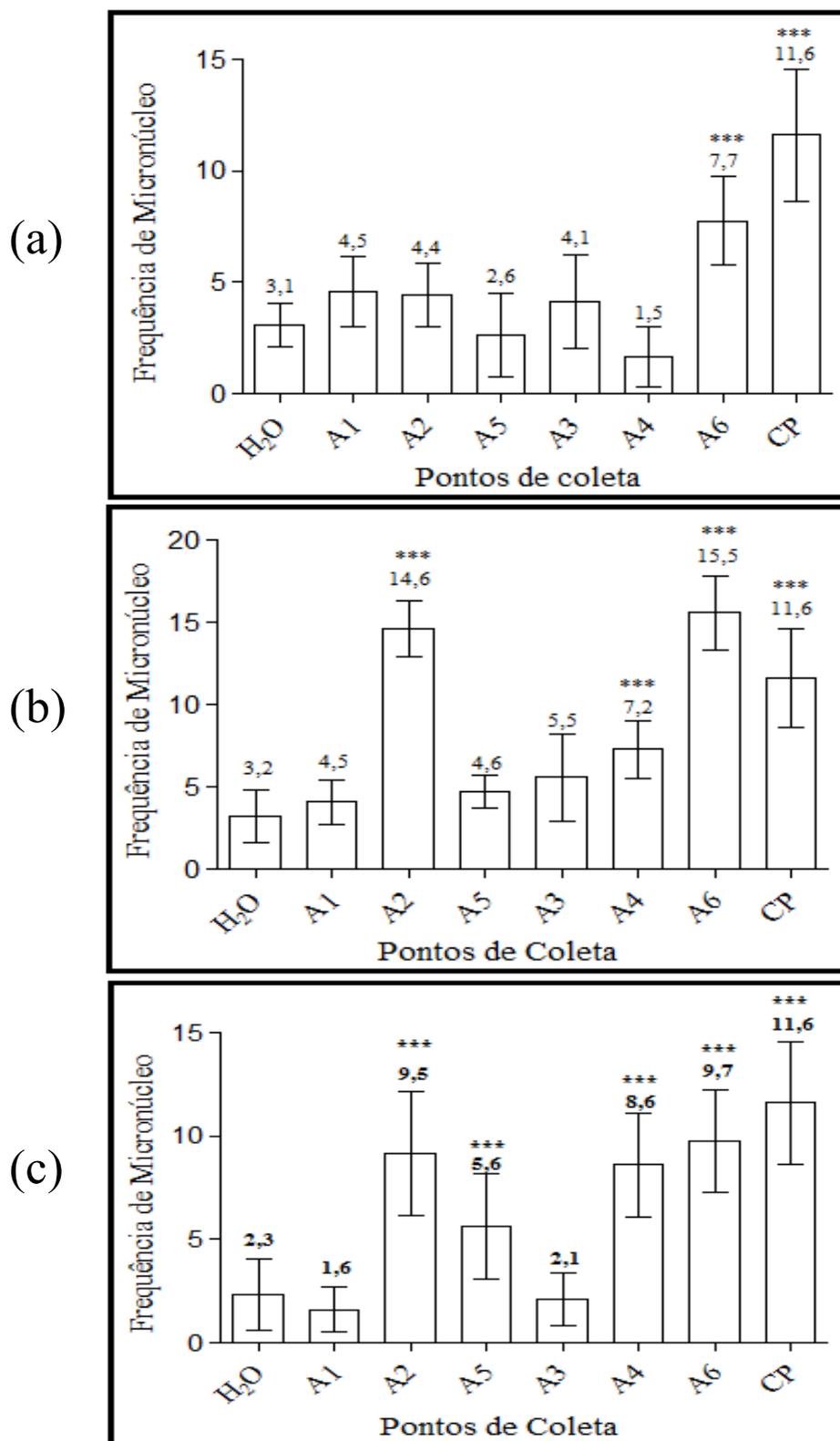


Figura 7 . Frequência de micronúcleos em 1000 células de *A. cepa* imersas em águas superficiais coletadas, nos pontos amostrais A1 a A6, em (a) dezembro/2012, (b) março/2013 e (c) junho/2013. **A1** representa as amostras de controle negativo de campo, **H₂O** controle negativo de laboratório realizada em água deionizada, **CP** controle positivo em K₂Cr₂O₇, n=10. Significativo para ***($P < 0,001$).

Os altos índices de mutagenicidade observados no ponto A2 e A4 durante a 2ª e 3ª coleta devem ser provavelmente aos despejos de resíduos da indústria de laticínios, antecedente ao ponto de coleta conforme pode ser observado na (Figura 3), e apesar de não terem sido realizados testes para identificação ou quantificação de qual produto químico estaria sendo liberado por esses despejos, existe uma variedade complexa de substâncias químicas associados a produtos de limpeza e desinfecção de utensílios, leite de derramamento / vazamentos, sólidos de leite, óleos e graxas e esgotos sanitários (BRIÃO, 2000).

Acredita-se que os fatores acima descritos juntamente com a influência periurbana, possam ter influenciado os elevados valores dos dados no ponto A5, durante a terceira coleta.

O motivo pelo qual os resultados do ponto A2 e A4 foram negativos durante a primeira coleta, provavelmente foi devido à alta precipitação pluvial, o que pode ter atuado como fator diluição. A precipitação pluvial do município de Ouro Preto do Oeste durante o período do estudo pode ser observados na (Figura 8).

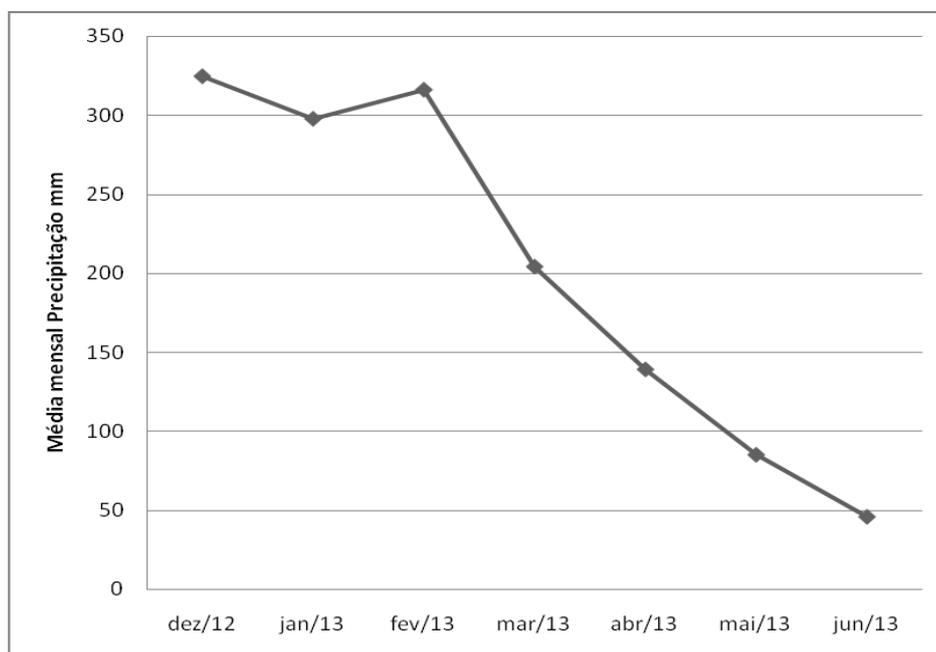


Figura 8. Média de precipitação mensal mm, nos meses de Dezembro/2012 à Junho/2013 no município de Ouro Preto do Oeste – RO. Brasil. (CEPLAC, 2013).

Fatores como a sazonalidade, índice de chuva e vazão podem influenciar a concentração de poluentes na água (OLIVEIRA et al., 2011). Alguns estudos como no Rio Paraíba do Sul, sugerem a influência da sazonalidade na indução dos efeitos genotóxicos

(MN) (LEMOS; ERDTMANN, 2000; SOUZA; FONTANETTI, 2006). A variação de sazonalidade é um fator que pode influenciar significativamente a frequência de danos genéticos e promover alterações fisiológicas nos organismos expostos (OLIVEIRA et al., 2011).

O ponto A6 apresentou altos índices de mutagenicidade em todas as coletas, demonstrando que a precipitação pluvial (figura 8) não influenciou nos resultados. Porém além da influência da indústria láctea, observado na figura 3, esse ponto de coleta tem influência da poluição urbana, pois segundo o IBGE (2008), o município de Ouro Preto do Oeste não possui sistema de saneamento de esgoto, sendo esse fator já observado por diversos trabalhos com evidências mutagênicas (SILVA, 2000; PAVLICA et al., 2001; SANTOS et al., 2005; VILLELA, 2006; SCALON, 2009).

A contaminação por efluentes urbanos, especialmente por grandes cidades já foram consideradas bastante preocupantes, devido a liberação de grande quantidade de contaminantes complexos derivados principalmente de atividades sanitárias e industriais (WHITE; RASMUSSEN, 1998). Nesse mesmo sentido o presente estudo aponta para os afluentes urbanos como principal problema na região (IBGE, 2008).

5.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS

As análises dos parâmetros de pH, DBO e DQO, assim como os de coliformes totais e fecais foram realizados com finalidade de obter maiores informações acerca da área estudada e checar se seus valores estão dentro dos valores máximos estabelecidos pela Lei vigente (CONAMA 357/05 e DN COPAM nº 010/86).

A tabela 3 mostra esses resultados das análises das amostras de água dos afluentes do Rio Boa Vista e revelaram uma acentuada piora da qualidade dos afluentes à medida que este recebeu contribuições provenientes de resíduos industriais do laticínio em comparação com os pontos prévios aos despejos (A1 e A3). Segundo a resolução CONAMA 357/05, de acordo com a Classe 2, os resultados apresentam-se fora dos limites permitidos para DBO₅ (5 mg L⁻¹) e bactérias termotolerantes (até 1000 NMP/100 mL) nos pontos A2 e A4 influenciados pela emissão de efluentes industrial (Tabela 3).

Tabela 3 - Resultado das análises físicas, químicas e microbiológicas e o respectivo limite estabelecido pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA (2005) e o Padrões de Lançamento de efluentes nas Coleções de Águas DN COPAM (1986) para afluentes classe 2 e efluentes tratados.

Período de coleta	Pontos de coleta	CT	CF	DQO (mg L ⁻¹)	DBO (mg L ⁻¹)	pH
1º coleta Dez/12	A1	2	0	42	14	8,0
	A2	1600	1600	369	272	8,0
	A3	14	2	40	34,7	7,0
	A4	34	4	61	58	7,0
	A5	33	6	52	32	6,5
	A6	350	140	48	17	6,5
2º coleta Mar/13	A1	0	0	79	2	8,0
	A2	1600	350	211	111	7,2
	A3	14	0	52	8	8,0
	A4	7	4	96	20	7,6
	A5	14	14	131	53	7,5
	A6	130	80	498	272	7,6
3º coleta Jul/14	A1	2	0	94	35	8,0
	A2	170	23	175	130	8,1
	A3	70	0	89	35	7,2
	A4	900	240	62	30	7,5
	A5	17	0	81	72	7,0
	A6	1600	17	80	39	7,3
Limites						
CONAMA		1000	1000	-	5	6,5 – 8,5
COPAM		-	-	90	-	-

Onde: 1º Coleta - Dez/2012; 2º coleta - Mar/2013; 3º Coleta - Jun/2013; CT - Coliformes Totais (NMP/100ml); CF - Coliformes Fecais (NMP/100ml); DQO - Demanda Química de Oxigênio; DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio; pH - Potencial Hidrogênico.

5.2.1 Coliformes

Os dados com maior incidência de contaminação são apresentados na tabela 3 com os pontos A2 e A6 nos três períodos de coleta. Sendo A2 com maior nível para coliformes fecais e totais acima do preconizado em legislação pertinente para classes 1 e 2 (CONAMA, 2005).

Os coliformes totais apresentam-se sempre em quantidades maiores que os fecais, por apresentar um maior grupo de diferentes microrganismos (MARTINS, 2009). Isso provavelmente por alguns pontos mostrarem forte pressão antrópica como A2 sob influência da indústria de laticínios e A6 sob a influência urbana e de laticínios. Algo que

também foi relatado por Martins, (2009), quando avaliava as águas superficiais sob uso e ocupação na sub-bacia do Rio Candeias no Estado de Rondônia.

Os maiores índices de contaminação fecal ocorreram nos pontos A2 e A6, localizados na área a jusante da indústria de laticínios (A2) e na área urbana (A6), onde há despejos de efluentes domésticos e de indústria alimentícia, que podem contribuir para a poluição do rio. Fato esse, também encontrado por Almeida et al., (2004) no município de Espírito Santo do Pinhal – São Paulo, quando analisavam a qualidade microbiológica do córrego do Ribeirão dos Porcos.

5.2.2 DQO e DBO

A Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Demanda Química de Oxigênio DQO, também apresentam dados relevantes para os pontos A2 e A6. Demonstrando uma influência significativa da emissão de efluentes industriais e domésticos sobre o igarapé.

Para o parâmetro DQO, a Resolução Conama nº430/2011 não estipula padrões máximos permitidos nos corpos receptores, no qual este poderá possuir valores elevados, desde que a capacidade de autodepuração seja demonstrada por intermédio do parâmetro DBO, em que as concentrações mínimas não podem desobedecer aos padrões estabelecidos pelas legislações vigentes. Observa-se, também, que o parâmetro DQO, no ponto de coleta A2 (médias das três coletas – 251 mg L⁻¹) e A6 (média das três coletas – 208 mg L⁻¹) são bastante elevados, se comparados com os dados obtidos por Gavronski, (2008), que obteve o valor médio anual de 46 mg L⁻¹ na caracterização físico-química convencional da água dos Rio dos Sinos.

Na Normativa Copam nº10, de 16 de dezembro de 1986, é estabelecido um valor máximo da DQO que é de 90 mg L⁻¹, para a qualidade das águas e efluentes. Tendo esta como base, pode-se afirmar que a DQO do efluente, nos pontos A2 e A6 encontra-se em não conformidade com o padrão máximo exigido, já que os valores médios encontrados nestes pontos foram, respectivamente, de 251 e 208 mg L⁻¹. Apesar de esta legislação corresponder ao Estado de Minas Gerais, a mesma é citada apenas para efeito de comparação e constatação da contaminação do afluente.

A média de DQO encontrada para o ponto A2 nas três coletas foi de 251 mg L⁻¹, demonstrando valores significativos, pois quando comparados as médias do ponto A1

(média de 71 mg L⁻¹) os mesmos são superiores. O que possivelmente pode ter sido influenciado pela emissão de rejeitos industrial. Algo também constatado por Santos, (2008), quando analisava no rio Capibaribe em Recife/PE com média de 280 mg L⁻¹ no ponto próximo ao descarte do efluente tratado de uma tinturaria.

Os parâmetros de DBO₅ retratam de forma indireta o teor de matéria orgânica dos efluentes no copo d'água, sendo, portanto, um indicador do potencial do consumo de oxigênio dissolvido (VALENTE et al., 1997). A presença de um alto teor de matéria orgânica pode induzir ao completo esgotamento do oxigênio na água, provocando o desaparecimento de peixes e outras formas de vida aquática. Para o parâmetro DBO₅ os valores encontrados demonstram-se bem acima do permitido na legislação CONAMA 357/2005 (5 mg L⁻¹), variando entre 2 a 272 mg L⁻¹. Os maiores valores são encontrados nos pontos A2 (média das três coletas 171 mg L⁻¹) e A6 (média das três coletas 109 mg L⁻¹) possivelmente influenciados pela emissão de rejeitos industrial e urbano corroborando com dados apresentados por Mitteregger-Júnior et al. (2006), com DBO₅ variando entre 20 a 110 mg L⁻¹, em sua análise da água do sedimento do Arroio Estância Velha influenciados pela emissão de rejeitos industriais e domésticos.

5.2.3 Potencial hidrogeniônico (pH)

A variável pH apresentou um comportamento semelhantes para todos os pontos amostrados na primeira e na segunda coleta com valores próximos á neutralidade. Não apresentando elevações ou decréscimos significativos aos padrões estabelecidos para mananciais de classe 1 e 2 segundo resolução CONAMA 357/2005.

Os valores de pH variaram entre 6,5 a 8,0, não sendo observado diferenças fora dos padrões estabelecidos na legislação CONAMA 357/2005 que estabelece valores entre 6,5 – 8,5. Autores como Santos, (2009), Santos et al., (1984), Sioli, (1964) e Horbe et al., (2005), demonstram em seus trabalhos que a maioria dos igarapés na região amazônica apresentam pH ácido em seu estado preservado.

O fato de todas as amostras analisadas demonstrarem estar de acordo com os padrões estabelecidos na legislação ambiental brasileira, não significa necessariamente que a qualidade da água seja boa e que não esteja sofrendo influência do despejo de efluentes. O que também é discutido por Santos em seu trabalho quando 67% de suas amostras

estavam com pH dentro dos padrões estabelecidos em legislação vigente, mas quando comparado aos outros parâmetros realizados, a qualidade das águas superficiais da cidade de Porto Velho apresentava-se seriamente comprometida pelas atividades desenvolvidas ao longo dessas microbacias (SANTOS, 2009).

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo descrevem um alto potencial poluidor, nos dois afluentes do Rio Boa Vista (Igarapé Industrial e Igarapé Ouro Preto), quando comparados a pontos amostrais que não recebem a emissão de rejeitos, indicando, desta forma, um potencial genotóxico para os pontos amostrais avaliados após a influencia industrial e urbana.

Os resultados das análises dos pontos coletados é um indicativo que o curso d'água dos afluentes do Rio Boa Vista estão sendo atingidos por danosos efeitos químicos e biológicos caracterizando explicitamente impactos negativos ao meio ambiente. Esses efeitos puderam ser comprovados observando os níveis de coliformes fecais, DBO₅ e DQO que apresentaram resultados fora dos limites preconizados na Resolução CONAMA 357/05 comparados antes e após a emissão de dejetos pela indústria de laticínios.

Constatou-se que a qualidade ambiental das águas dos afluentes do Rio Boa Vista encontram-se comprometidas, conforme as alterações de potencial mutagênico observados nas análises estudadas, ressaltando a importância da continuidade de um monitoramento dessas águas. A metodologia ecotoxicológica aplicada neste estudo é uma ferramenta adequada para um gerenciamento desta bacia hidrográfica, sendo considerada uma importante ferramenta no diagnóstico e monitoramento ambiental dos ecossistemas aquáticos como um todo.

As águas que compõem esses afluentes do Boa Vista, por serem receptores naturais de todos os efluentes urbanos da cidade Ouro Preto do Oeste, de origem doméstica, pluvial, além de receber efluentes industrial, apresentam-se com relevantes índices de mutagenicidade, corroborando através do teste *Allium cepa*, uma vez que nas três análises foi possível encontrar diferenças significativas no índice de micronúcleo em relação ao controle negativo. Sendo encontrados os maiores índices ao término do perímetro urbano (A6).

Devido à importância em se preservar os recursos naturais, em especial a este importante afluente do Rio Boa Vista, o único a abastecer a cidade de Ouro Preto do Oeste, fazem-se necessários estudos de biomonitoramento, incluindo além de análises mutagênicas, testes ecotoxicológicos, realizados também em peixes, para averiguar se essa

contaminação já está atingindo a ictiofauna e também para contribuir com redes de monitoramento e ações de manejo.

7 REFERÊNCIAS

APHA. American public health association. **Microbiological examination of water**. In: Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th edition, Washington. APHA, AWWA, WEF, 1998.

ALBERTS, B. et al. Fundamentos da Biologia Celular. **Artmed**. Edição Universitária, 2^a reimpressão. Porto Alegre, RS: 2002.

ALMEIDA, J. X.; MEDEIROS, F. P. M.; MELO, A. J. M.; SILVA, J. C.; DANTAS, J. P. Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) através do Teste de Micronúcleos em medula óssea de ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v. 5, nº. 2, 2005.

ALMEIDA, R. M. A. A.; HUSSAR, G. J.; PERES, M. R.; JUNIOR, A. L. F. Qualidade microbiológica do córrego “Ribeirão dos Porcos” no município de Espírito Santo do Pinhal – SP. **Engenharia Ambiental**. São Paulo. v.1, n. 1, p. 51-56, 2004.

ALVIM, L. B.; KUMMROW, F.; BEIJO, L. A.; LIMA, C. A. de A.; BARBOSA, S. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L.. **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 6, n. 2, p. 255-265, 2011.

AMARAL, D. M.; PIUBELI, F. A. A poluição atmosférica interferindo na qualidade de vida da sociedade. **X SIMPEP – Simpósio de engenharia de produção**. 2003. Disponível em: http://www.amda.org.br/imgs/up/Artigo_24.pdf. Data de acesso: 22 de out. de 2012.

AMES, B. N.; GOLD, L. S. Paracelsus to parascience: the environmental câncer distraction. **Mutat. Research**, 447, p. 3-13, 2000.

ANA, Agência Nacional de Águas. **Outorga de direito de uso de recursos hídricos: cadernos de capacitação de recursos hídricos**. Brasília. v. 6, 2011.

BICKHAM, J.W., SANDHUS, S., HEBERT, P.D.N., CHIKHI, L. and ATHWAL, R. Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: implications for biomonitoring and ecotoxicology. **Mutat. Res.** n.463, p.33-51, 2000.

BRAILE, P. M., CAVALCANTI, J.E.W.A. **Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais**. São Paulo: CETESP – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 764 p. 1993.

BRIÃO, V. B. **Estudo de prevenção à poluição em uma indústria de laticínios**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 76 f. 2000.

BURNS, G. W., e BOTTINO, P. J. Genética. **Guanabara Koogan**. 6ª ed. Rio de Janeiro, RJ. 1991.

CEPLAC. **Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. Dados meteorológicos do município de Ouro Preto do Oeste – RO**. Dados intranet. 2013.

CETESB. **Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais**. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 764 p. São Paulo. 2011. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>> acesso em 20 Jun. 2011.

CESET – Centro Superior de Educação Tecnológica e UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas – **Química sanitária e Laboratório de Saneamento II** – Apostila de laboratório. 2006.

CONAMA. Conselho nacional de meio ambiente. **Resolução Conama Nº. 001, de 23/1/1986**. Dispõe sobre as definições, as responsabilidades, os critérios básicos e as diretrizes gerais para uso e implementação da Avaliação de Impacto Ambiental como um dos instrumentos da Política Nacional do Meio Ambiente. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res86/res2086.html>>. Acesso em 20 Jun. 2011.

CONAMA. Conselho nacional de meio ambiente. **Resolução Conama Nº. 357, de 17/3/2005**. Dispõe sobre a classificação das águas. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res86/res2086.html>>. Acesso em 20 Jun. 2011.

CONAMA. Conselho nacional de meio ambiente. **Resolução Conama Nº. 430, de 13/5/2011**. 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. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res86/res2086.html>>. Acesso em 20 Jun. 2011.

COPAM. **Deliberação Normativa nº 10 de 1986. Padrões de lançamentos de efluentes líquidos**. Minas Gerais. 1986.

COSTA R. M. A.; MENK C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotechnology: ciência e desenvolvimento**. n.3, p.24-26. 2000.

DOLL, R.; PETRO, R. The causes of câncer: qualitative estimates of ovoidable risks of câncer in the United Stats today. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 66, n. 6, p.1191-1308, 1981.

ENUJIUGHA, V. N.; NWANNA, L. C. Aquatic oil pollution impact indicators. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, n. 2, vol. 8, p. 71–75, 2004.

EVA, H. D.; HUBER, O. Proposta para definição dos limites geográficos da Amazônia: síntese dos resultados de um seminário de consulta a peritos organizado pela Comissão Européia em colaboração com a Organização do Tratado de Cooperação Amazônica, CCP ISpra. **European Commission, OTCA**. p.7-8, 2005.

FACHINETTO J. M.; BAGATINI M. D.; DURIGON J.; SILVA A. C. F.; TEDESCO S. B. Efeito antiproliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Rev Bras Farmacogn**. n. 17, p. 49-54, 2007.

FEARON, E. R.; VOGELSTEIN, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. **Types, MeSH Terms**. v. 5, nº. 61, p. 759-767. 1990.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test - an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. Institute of Genetics, University of Lund, Lund S-223 62 (Sweden). **Mutation Research**. v. 197, p. 243-260, 1988.

FORSTNER, U. E.; WITTMANN, G. T. W. Metal Pollution in the Aquatic Environment. **Spring-Verlag**, Berlin, p.486. 1981.

FULAZZAKY, M. A. Measurement of biochemical oxygen demand of the leachates. **Environ Monit Assess**. n.185, p. 4721-4734, 2013.

GADANO A, GURNI A, LÓPEZ P, FERRARO G, CARBALLO M 2002. In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides*. L. **J Ethnopharmacol**, n. 81, p. 11-16, 2002.

GALLETI, P. A. Mecanizaço agrícola: preparo do solo. **Instituto Campineiro de Ensino Agrícola**. Campinas. p.220, 1981.

GEO BRASIL: recursos hídricos: resumo executivo. / Ministério do Meio Ambiente; Agência Nacional de Águas; Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente. Brasília: MMA; ANA, 2007.

GOMES, M. A. F. **Água: sem ela seremos o planeta Marte de amanhã**. Embrapa, 2011. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2011/agua-sem-ela-seremos-o-planeta-marte-de-amanha/>>. Acesso em: 09 de dez. 2013.

GAVRONSKI, L. **Avaliação da mutagênicidade de amostras de água do Rio dos Sinos através do Teste *Allium cepa***. Dissertação (Mestrado em Toxicologia Aplicada) - Programa de Pós - Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada Universidade Luterana do Brasil, Canoas, 54 f. 2008.

GROVER, I. S.; KAUR S. Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected micronucleus assays. **Mutat Res**. n. 426, p. 183-188, 1999.

HORBE, A. M. C. et al. Contribuição à hidroquímica de drenagens no município de Manaus – AM. **Acta Amazônica**, vol. 35, n. 2, p.119-124, 2005.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa nacional de saneamento básico**. 2008. Disponível em:

<<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=ro&tema=saneamentobasico>>. Acesso em: 06 de jul. 2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da pecuária municipal**. 2012. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home>>. Acesso em: 23 de out. 2013.

IDARON. Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia. **Levantamento de dados sobre a produção de leite em Rondônia**. Dados intranet. Porto Velho, Mar. 2013.

JHA, A. N. Genotoxicological studies in aquatic organisms: an overview. **Mutat. Res.**, Vol.1, n. 17, p. 552, 2004.

LACERDA, P. M. M. Avaliação física, química, microbiológica e ecotoxicológica da água de irrigação de hortaliças em uma região de mananciais da Grande São Paulo – São Paulo. **CEETEPS**. p.109, 2012.

LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 682, n. 1, p. 71-81, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574209000404>>. Acesso em: 11 fev. 2012

LEMOS, C. T.; ERDTMANN, B. Cytogenetic evaluation of aquatic genotoxicity in human cultured lymphocytes. **Mutation Research**, Leiden, v. 467, n. 1, p. 1-9, 2000.

LEMOS, D. S.; LEMOS, T. R. M. S. Aspectos jurídicos da sustentabilidade da água. In: **Âmbito Jurídico**, Rio Grande, XII, n. 71, dez 2009. Disponível em: <http://www.ambito-juridico.com.br/site/index.php?artigo_id=6994&n_link=revista_artigos_leitura>. Acesso em fev 2014.

LEVAN, A. The effect of colchicine on root mitoses in Allium. **Hereditas, Lund**, v. 24, n. 4 p. 471-486, 1938. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1601-5223.1938.tb03221.x/pdf>>. Acesso em: 11 fev. 2012

LIMA, L. S.; FILHO, H. J. I.; CHAVES, F. J. M. Determinação de demanda bioquímica de oxigênio para teores $\leq 5 \text{ mg L}^{-1} \text{ O}_2$. **Revista Analytica**, Lorena- SP, n. 25, novembro, 2006.

KAPANEN, A.; ITAVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 49, p. 1-16, 2001.

LENGUA, M. D.; CASTILLO, P. M.; DÍAZ, W. F.; HOZ, V. F.; RODRÍGUEZ, R. C. Higienic-Sanitary Evaluation and Antagonistic Action of Strains of Commercial Lactobacillus in Front to the Pathogen Microorganism (Escherichia coli) Present in the Cheese of Layer of the Municipality of Mompox. **Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias**. v. 20, n. 3, p. 312-318, Mai-Jun, 2010.

MACHADO, J. Apresentação do relatório GEO Brasil: recursos hídricos: resumo executivo./Ministério do Meio Ambiente; Agência Nacional de Águas; Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente. Brasília: MMA; ANA, 2007.

MALUF S.W.; PASSOS D. F.; BACELAR A.; SPEIT G.; ERDTMANN B. Assessment of DNA damage in lymphocytes of workers exposed to X-radiation using the micronúcleos test and the comet assay. **Environ Mol Mutagen**. v.4, n. 38, p. 311-315, 2001.

MARIALVA, V. G. Diagnóstico Socioeconômico: Ouro Preto do Oeste. Porto Velho: **SEBRAE**, 1999.

MARTINS, A. S. Avaliação da águas superficiais sob uso e ocupação na sub-bacia do Rio Candeias/RO – Amazônia Ocidental. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente. Universidade Federal de Rondônia / UNIR, Porto Velho, Rondônia, 2009.

MASON, C.F.- **Biología de la contaminación del agua dulce**. Col. Exedra nº 142. ed Alhambra. 1984.

MATSUMOTO, S.T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTI, M. I. A.; DIAS, A. L.; FONSECA, I. C.; MARIN MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome alterations in onion root-tips. **Genet. Mol. Biol**. v. 29, p. 148-158, 2006.

MAZZEO, D. E. C. ; FERNANDES, T. C. C. ; MARIN-MORALES, M. A. Cellular damages in the *Allium cepa* test system, caused by BTEX mixture prior and after biodegradation process. **Chemosphere**, n. 1, vol. 85, p.13-18, 2011.

MACEDO, J. A. B. Introdução a Química Ambiental. - Química e meio ambiente e sociedade., 2ª ed., Editora O Locutor: Belo Horizonte-MG, 2002.

MCMICHAEL, A.J. Urbanização e Saúde. Questões do Terceiro Mundo. **Bulletin of the World Health Organization**, v.78, n.9, 2000.

MCNEELY, R. N.; NEIMANIS, V. P.; DWYER, L. Water quality sourcebook: a guide to water quality parameters. **Ottawa, Environment Canada**. 89 p. 1979.

MENEGUETTI, N. F. S. P.; SILVA, J. K. L.; CASEMIRO, I. P.; MENEGUETTI, D. U. O. Produção leiteira: um comparativo entre a produtividade nos estados da região Norte do Brasil. XII Congresso Internacional do Leite. **IEPAGRO**. ed.1, 2013.

MENEGUETTI, D. U. O.; SILVA, F. C.; ZAN, R. A.; RAMOS, L. J. Adaptation of the micronucleus technique in *Allium cepa*, for mutagenicity analysis of the Jamari river valley, western Amazon, Brazil. **J Environment Analytic Toxicol**. v.2, n.2, 2012

MITTEREGGER-JÚNIOR, H.; DIAS, F. J.; YONEMA, L. M.; ARENZON, A.; SILVA, J.; PEGAS, J. A. H. Avaliação das atividades tóxicas e mutagênicas da água e do

sedimento do Arroio Estância Velha, região coureira-calçadista, utilizando *Allium cepa*. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.** v. 1, n. 2, p. 147-151, 2006.

MOLIN, D. D.; COSTA, A. B.; RIEGER, A.; PRA, D.; LOBO, E. A. Determinação das características de roxidade ambiental do percolado de um aterro de resíduos industriais perigosos. **Tecno-Lógica**, Santa Cruz do Sul, v. 14, p. 5-10, jan/jun. 2010.

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

NETO, J. X. A.; MEDEIROS, F. P. M.; MELO, A. J. M.; SILVA, J. C.; DANTAS, J. P. Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) através do Teste de Micronúcleos em medula óssea de ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar) IN VIVO. **Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 2, 2005.

OLIVEIRA, L. M.; VOLTOLINE, J. C.; BARBÉRIO, A. Potencial mutagênico dos poluentes da água do Rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste *Allium cepa*. **Revista Ambiente e Água**. v. 6, n. 1, 2011.

ORIANI, A.; SANTOS, A. B. K.; MAZZEO, D. E. C.; SILVA, E. R. Análise de DBO e DQO da água do Rio Tietê, município de Pirapora de Bom Jesus – SP – Unesp – Rio Claro. 2013

PAVLICA, M.; KLOBUCAR, G. I. V. M.; MOJAS, N.; ERBEN, R.; PAPES, D. Detection of DNA damage in haemocytes of zebra mussel using comet assay. **Mutat. Res.** n. 490, p. 209-214, 2001.

PEREIRA, R. S. Identificação e caracterização das fontes de poluição em sistemas hídricos. **Revista Eletrônica de Recursos Hídricos**. v. 1, n. 1. p. 20-26. 2004.

PINTO, D. B. F.; SILVA, A. M.; MELLO, C. R.; COELHO, G. Qualidade da água do Ribeirão Lavrinha na região Alto Rio Grande - MG, Brasil. **Ciênc. agrotec.** v.33, n.4, p. 1145-1152, 2009.

PORTO, R. La L. Hidrologia ambiental. Coleção ABRH de Recursos Hídricos, São Paulo: **Edusp**, v. 3, p. 411, 1991.

RADIĆ, S. ; STIPANIČEV, D. ; VUJČIĆ, V. ; RAJČIĆ, M. M. ; ŠIRAC, S. ; PEVALEK-KOZLINA, B. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. **Science of the Total Environment**, n. 5, vol. 408, p. 1228-1233, 2010.

RAINHO, J. M. Planeta água. **Revista Educação**, São Paulo, v. 26, n. 221, p. 48-64, set. 1999.

RAMALHO, J. F. G. P.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; VELLOSO, A. C. X. Acúmulo de metais pesados em solos cultivados com cana-de-açúcar pelo uso contínuo de

adubação fosfatada e água de irrigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Brasil, vol. 2, p. 971-979, 1999.

RAMOS, H. H. Perdas Ligadas à Má Aplicação de Agrotóxicos. In: ANAIS DO SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE APLICAÇÃO DE AGROTÓXICOS, Jundiaí. Resumos. Jundiaí: **EMBRAPA**, n. 2, p. 403-404, 2001.

RAND, M. C., GREEMBERG, A.G.,TARAJ, M.J.(Ed.) Standard methods for examination of water and wastewater. Washington: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Pollution Control Federation, ed.18, 1992.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K.. Mutagênese Ambiental. Editora Ulbra. Canoas: 1ª edição, 2003.

RIBEIRO, L. R.; MARQUES, E. K. A importância da mutagênese ambiental na carcinogênese humana. **Mutagênese Ambiental**. Editora Ulbra. Canoas: 1ª edição, 2003.

RIBEIRO, C. B. **A Importância dos Comitês de Bacias na Gestão dos Recursos Hídricos**. UnB-GEA. Dissertação de Mestrado. Brasília. p.107, 2006.

ROSA, E. V. C.; SIMIONATTO, E. L.; SIERRA, M. M. S.; BERTOLI, S. L.; RADETSKI, C. M. Toxicity-based criteria for the evaluation of textile wastewater treatment efficiency. **Environmental Toxicology and Chemistry, Pensacola**, v. 20, p. 839-845, 2001.

SÁ, M. U. **Avaliação da Mutagenicidade das Águas do Canal de São Gonçalo, Pelotas, RS**. Monografia de conclusão de curso. Universidade Federal de Pelotas. 2006.

SACHS, L. Applied Statistics, a Handbook of Techniques. Springer Series in Statistics, vol. 10, Springer, New York, p.706, 1982.

SACHS, L. Angewandte Statistik. Anwendung Statistischer Methoden, 7Th ed., Springer, Berlin, p. 846, 1992.

SANTI, G. M.; FURTADO, C.; MENEZES, R. S.; KEPPELER, E. C. Variabilidad espacial de parametros e indicadores de calidad del agua en subcuenca hidrografica del igarape Sao Francisco, Rio Branco, Acre, Brasil. **Ecologia Aplicada**. v. 11, n. 1, p. 23-31, 2012.

SANTOS, U. M.; BRIGEL, S. R. B.; RIBEIRO, M. N. G.; SILVA, M. N. P. Rios da Bacia Amazônica. I. Afluentes do Rio Negro. **Acta Amazônica**, vol. 14, n.1-2, p. 222-237, 1984.

SANTOS, T.C.O.; JORGE, P.M.; OLIVEIRA, G.R.; RIBEIRO, S.G.; MARTINOIROTH, M.G.; GARCIAS, G.L. Biomonitoramento das águas do baixo curso do Arroio Pelotas. In: **III Congresso Sul-Riograndense de Biociências, Anais**. Universidade Católica de Pelotas, RS, Brasil, 2005.

SANTOS, R. C. M. M. **Estudo de parâmetros relevantes da poluição da água por efluentes de lavanderia e tinturaria industriais em um rio não perene**. Dissertação de mestrado - Universidade Católica de Pernambuco. Recife, PE: UNICAP, 2008.

SANTOS, J. P. **Avaliação da qualidade da água na rede hídrica superficial de Porto Velho/RO/Brasil**. Dissertação – Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente. Porto Velho. s.n., p. 117, 2009.

SCALON, M. C. S. **Avaliação dos efeitos genotóxicos da água do Rio do Sinos sobre peixes e vegetais**. Dissertação de Mestrado apresentado ao programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental – Feevale. 2009.

SCHMID, W. The micronuclei test. **Mutat Res**, v. 31, p. 1-15, 1975.

SEDAM. Vinte e um anos de zoneamento socioeconômico e ecológico do estado de Rondônia: **Planejamento para o desenvolvimento sustentável e proteção ambiental**. Porto Velho: Sedam, 2010.

SILVA, J.; FREITAS, T. R. O.; MARINHO, J. R.; SPEIT, G.; ERDTMANN, B. Alkaline single-cell gel electrophoresis (comet) assay for environmental biomonitoring with native rodents. **Genetics Mol. Biol.** n. 23, p. 241-245, 2000.

SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. Genética toxicológica. Porto Alegre, **Alcance**, p. 422, 2003.

SILVA, M.P.; CAVALLI, D.R.; OLIVEIRA, T.C.R.M.. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e Escherichia coli em alimentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 2, Jun. 2006 .

SILVA, I. M.; TAUKE-TORNISIELO, S. M.; SANTOS, A. A. O.; MALAGUTTI, E. N. Avaliação da qualidade de água dos pesque-pague localizados na Bacia do Rio Corumbataí, SP (Brasil). **Holos Environment**, v. 12, n. 2, p. 179. 2012.

SILVA, G. H. Mutagenicity and genotoxicity of superficial and groundwater before and after water treatment = Mutagenicidade e genotoxicidade em águas superficiais e subterrâneas antes e após o tratamento da água. **Holos Environment**, n. 1, vol. 13, p. 64, 2013.

SIOLI, H.; KLINGE, H. Solos, tipos de vegetação e água na Amazônia. **Boletim Geográfico**. n. 179, p. 146-153, 1964.

SINGREH, Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos. **Lei Nº 9.433, de 08/01/ 1997**. Regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal, e altera o art. 1º da Lei nº 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei nº 7.990, de 28 de dezembro de 1989. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9433.HTM>. Acesso em 20 Jun. 2011.

SOUZA, T. S.; FONTANETTI, C. S. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. **Mutation Research**, Leiden, v. 605, n. 2, p. 87-93, 2006.

SOUZA, R. A.; BARBOSA L. S.; FILHO, E. P. S. Mapeamento da antropização na bacia hidrográfica do rio Boa Vista, Rondônia, utilizando o conceito de hemerobia. Anais XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto - SBSR, Curitiba, PR, Brasil. **INPE**. p. 1435, 2011.

SPERLING, E. V. Considerações sobre a saúde de ambientes aquáticos. **Bio**. n.2, v.3, p.536, 1993.

SPEROTTO, P. A. **A viabilidade de utilização dos contratos de integração na cadeia produtiva do leite na região noroeste do rio grande do sul**. Monografia. UNIJUÍ. RS, 2012.

TEIXEIRA RO, CAMPAROTO ML, MANTOVANI MS, VICENTINI VEP. Assessment of two medicinal plants, Psidium guajava L. and Achillea millefolium L. in in vivo assays. **Genet Mol Biol**, n. 26, p. 551-555, 2003.

THEBALDI, M. S.; SANDRI, D.; FELISBERTO, A. B.; ROCHA, M. S.; NETO, S. A. Qualidade da água de um córrego sob influência de efluente tratado de abate bovino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 15, n.3, p. 302-309. 2011.

VALENTE, J. P. S, PADILHA, P. M., SILVA, A. M. M. da. Dissolved oxygen (DO), biochemical oxygen demand (BOD) and chemical oxygen demand (COD) as pollution parameters in the Lavapés/Botucatu - SP brook. *Ecl. Quím. (São Paulo)*, v.22, p.49-66, 1997.

VARGAS, V.M.F., MIGLIAVACCA, S.B., MELO, A.C., HORN, R.C, GUIDOBONO, R.R., SÁ FERREIRA, I.C.F. and Pestona, M.H.D. Genotoxicity assessment in aquatic environments under the influence of heavy metals and organic contaminants. **Mutat. Res.** n.490, p.141 – 158, 2001.

VILLELA, L.; SUREDA, A.; CANALS, C.; SANZ, M. A. JR.; MARTINO, R.; VALCARCEL, D.; ALTES, A.; BRIONES, J.; GOMEZ, M.; BRUNET, S.; SIERRA, J. Low transplant related mortality in older patients with hematologic malignancies undergoing autologous stem cell transplantation. **Haematologica**. n. 88, v. 3, p. 300-305, 2003.

VILLELA, Izabel Viana. **Avaliação do potencial genotóxico de amostras ambientais da região hidrográfica da Bacia do Lago Guaíba**. Tese de Doutorado em Biologia Molecular da UFRGS. 2006.

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

WHITE, P.; RASMUSSEN, J.B. The genotoxic hazard of domestic wastes in surface waters. **Mutation Res.**, n.410, p.223-36, 1998.

WILKE, B. M.; RIEPERT, F.; KOCH, C.; KÜHNE, T. Ecotoxicological characterization of hazardous wastes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 70, p. 283-293, 2008.

ZOCCAL, R. **Embrapa Gado de Leite**. EMBRAPA, fev. 2012.