

JÉSSICA MALGARIN

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DO RIO ITAPOCUZINHO
UTILIZANDO ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS COM *Daphnia magna* E
*Scenedesmus subspicatus***

JOINVILLE/SC

2016

JÉSSICA MALGARIN

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DO RIO ITAPOCUZINHO
UTILIZANDO ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS COM *Daphnia magna* E
*Scenedesmus subspicatus***

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Mestrado em Saúde e Meio Ambiente da Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Therezinha Maria Novais de Oliveira.

JOINVILLE/SC

2016

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

M236a Malgarin, Jéssica
Avaliação da qualidade da água do Rio Itapocuzinho utilizando ensaios ecotoxicológicos com *Daphnia magna* e *Scenedesmus subspicatus*/ Jéssica Malgarin; orientadora Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira – Joinville: UNIVILLE, 2016.

94 f.: il.; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente
– Universidade da Região de Joinville)

1. Água. – Controle de qualidade. – Rio Itapocuzinho.
Ecotoxicologia. 3. Recursos hídricos. – Impactos ambientais.
Oliveira, Therezinha Maria Novais de (orient.). II. Título.

2.
I.

CDD 628.12

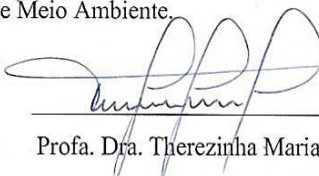
Termo de Aprovação

“Avaliação da Qualidade da Água do Rio Itapocuzinho Utilizando Ensaios Ecotoxicológicos com *Daphnia magna* e *Scenedesmus subspicatus*”

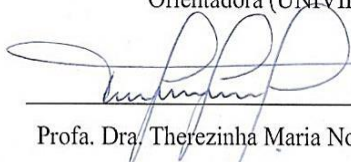
por

Jéssica Malgarin

Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Saúde e Meio Ambiente e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente.

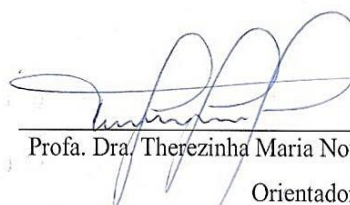


Prof. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira
Orientadora (UNIVILLE)

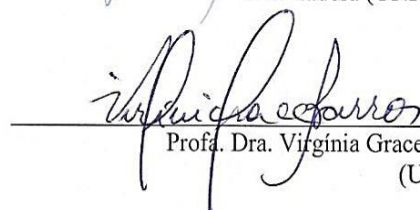


Prof. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

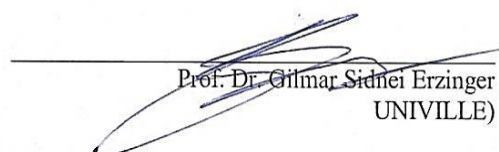
Banca Examinadora:



Prof. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira
Orientadora (UNIVILLE)



Prof. Dra. Virgínia Grace Barros
(UDESC)



Prof. Dr. Gilmar Sidnei Erzinger
UNIVILLE)

Joinville, 02 de maio de 2016

AGRADECIMENTOS

Muitas pessoas entram e saem das nossas vidas ao decorrer dos anos, mas poucas deixam lembranças para uma vida toda. Durante esta caminhada tive comigo amigos, família e pessoas a quem não posso deixar de agradecer pelo apoio, amizade e por compartilhar e enriquecer meu conhecimento pessoal e profissional.

À minha amada família, o meu agradecimento é em especial aos meus pais, por sempre me incentivar aos estudos. Aos meus irmãos e sobrinhas, agradeço a cada momento em que vocês me trouxeram motivação e coragem para buscar dias melhores e prósperos.

À minha orientadora Therezinha Maria Novais de Oliveira, muito obrigada, pelos ensinamentos, puxões de orelhas e principalmente pela confiança. Tenha certeza que serás eternamente lembrada.

Aos profissionais da Amvali, do CCJ e da Cidasc e Epagri de Jaraguá do Sul, muito obrigada pelo apoio, confiança e divulgação de dados que contribuíram fortemente para o desenvolvimento do presente trabalho.

Ao meu amado noivo Bruno, obrigada pela paciência e companheirismo, foram essenciais para a continuidade desta caminhada. Sei que em muitos momentos o estresse, a preocupação e a ansiedade possam ter nos aborrecido, mas você foi maravilhoso me dando força sempre.

À minha amiga Joana, a melhor parceira de laboratório, a melhor parceira de coletas e a mais companheira amiga que pude ter durante o mestrado, muito obrigada!

Às lindas técnicas Aline, Cláudia e Karen, obrigada pela paciência, dedicação e tempo que foram destinados a este trabalho. Vocês foram perfeitas!

Ao trio de colegas do mestrado Gabi, Aline e Kobs, parceiras das aulas, dos grupos de estudos e acima de tudo amigas que levarei para a vida.

E por fim, impossível não agradecer a eles, os nossos mestres, nossos doutores, os professores. Trouxeram e dividiram conhecimento, demonstraram sabedoria e contribuíram para a formação de alunos mais críticos e sábios.

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	8
LISTA DE TABELAS.....	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE EQUAÇÕES.....	13
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
3.1 RECURSOS HÍDRICOS	19
3.2 BACIA HIDROGRÁFICA.....	20
3.3 PARÂMETROS INDICADORES DA QUALIDADE DA ÁGUA.....	21
3.3.1 Parâmetros Físicos e Químicos	21
3.4 RIZICULTURA, AGRICULTURA E USO DE AGROTÓXICOS.....	24
3.5 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E GENOTÓXICOS.....	29
3.5.1 Organismos-testes.....	32
4 MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1 ÁREA DE ESTUDO.....	36
4.2 DEFINIÇÃO DOS PONTOS AMOSTRAIS	40
4.2.1 Ponto #1.....	41
4.2.2 Ponto #2.....	42
4.2.3 Ponto #3.....	42
4.3 AMOSTRAGEM	43
4.4 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	44
4.5 ANÁLISE DE AGROTÓXICOS	45
4.6 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E GENOTÓXICOS.....	45
4.6.1 Cultivo microcrustáceo <i>Daphnia magna</i>	45

4.6.1.1 ENSAIO AGUDO <i>Daphnia magna</i>	46
4.6.1.2 ENSAIO CRÔNICO <i>Daphnia magna</i>	48
4.6.2 ENSAIO GENOTÓXICO <i>Daphnia magna</i>	51
4.6.3 Cultivo alga <i>Scenedesmus subspicatus</i>	53
4.6.3.1 ENSAIO CRÔNICO <i>Scenedesmus subspicatus</i>	54
4.7 PROCESSAMENTO DOS DADOS	56
 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	57
5.1 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS ÁGUAS DO RIO ITAPOCUZINHO	57
5.2 ANÁLISE DE AGROTÓXICOS	62
5.3 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E GENOTÓXICOS	63
5.3.1 Ensaio agudo com <i>Daphnia magna</i>	63
5.3.2 Ensaio crônico com <i>Daphnia magna</i>	64
5.3.2.1 Comprimento dos filhotes	65
5.3.2.2 Longevidade	67
5.3.2.3 Sobrevivência	68
5.3.2.4 Fecundidade	68
5.3.3 ENSAIO GENOTÓXICO <i>Daphnia magna</i>	71
5.3.4 ENSAIO CRÔNICO <i>Scenedesmus subspicatus</i>	74
 6 CONCLUSÕES	76
7 RECOMENDAÇÕES	78
REFERÊNCIAS	79
 ANEXOS	88
ANEXO A – Resultado da análise da água do Meio de Cultivo da <i>Daphnia magna</i> (rio Quiriri).	88
ANEXO B – Resultado da análise de agrotóxicos para os pontos amostrais.	89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANA	Agência Nacional de Águas
ANEEL	Agência Nacional de Energia Elétrica
AMVALI	Associação dos Municípios do Vale do Itapocu
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CERH	Conselho Estadual de Recursos Hídricos
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CIRAM	Centro de Informações de Recursos Ambientais e de Meteorologia de Santa Catarina
CNRH	Conselho Nacional de Recursos Hídricos
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FATMA	Fundação do Meio Ambiente
FUJAMA	Fundação Jaraguense de Meio Ambiente
IBAMA	Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
MMA	Ministério do Meio Ambiente
PNRH	Plano Nacional de Recursos Hídricos
RH	Região Hidrográfica
SAMAE	Serviço Autônomo de Água e Esgoto
SDM	Secretaria de Estado do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente
SRH/MMA	Secretaria de Recursos Hídricos do Ministério do Meio Ambiente
2,4-D	Ácido diclorofenoxiacético
pH	Potencial hidrogeniônico

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Limites máximos de resíduos (LMR) de agrotóxicos em arroz.....	25
Tabela 2. Lista de Referência de Limites Máximos de Resíduos (LMR) na banana.....	26
Tabela 3. Classificação toxicológica dos agrotóxicos.....	28
Tabela 4. Periodicidade das amostragens no rio Itapocuzinho para os três pontos de coleta.....	43
Tabela 5. Equipamentos utilizados para a medição dos parâmetros físico-químicos em campo.....	44
Tabela 6. Descrição do método analítico aplicado aos três agrotóxicos em estudo.....	45
Tabela 7. Valores encontrados para os parâmetros físico-químicos da água do rio Itapocuzinho: Condutividade elétrica, pH, Oxigênio Dissolvido, Temperatura e turbidez, seguidos da média e desvio padrão para cada ponto amostral.....	57
Tabela 8. Resumo da análise dos agrotóxicos o limite de quantificação dos mesmos.....	62
Tabela 9. Resultado dos ensaios agudos com <i>Daphnia magna</i> para os três pontos amostrais. Percentual de mobilidade dos organismos ao final dos ensaios (%).....	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Secção de uma bacia hidrográfica definida pelo seu declive.....	20
Figura 2. Fotografia do microcrustáceo <i>Daphnia magna</i> em fase juvenil.....	33
Figura 3. Microalga <i>Scenedesmus subspicatus</i> usada para a alimentação da <i>Daphnia magna</i> e para o ensaio crônico.....	34
Figura 4. Mapa com a localização e abrangência da Bacia Hidrográfica do Itapocu no estado de Santa Catarina.....	36
Figura 5. Mapa com as 09 sub-bacias hidrográficas que compõem a bacia do rio Itapocu. Em destaque a sub-bacia do rio Itapocuzinho.....	37
Figura 6. Mapa das estações pluviométricas presentes na Bacia Hidrográfica do rio Itapocu, com destaque para a estação denominada Schroeder.....	38
Figura 7. Gráfico do uso e ocupação do solo no rio Itapocuzinho (margem esquerda).....	39
Figura 8. Gráfico da ocupação da faixa marginal ribeirinha em 15 metros distantes do leito do rio – rio Itapocuzinho (margem direita), município de Schroeder.....	40
Figura 9. Mapa com a localização dos pontos de coleta na sub-bacia do rio Itapocuzinho.....	41
Figura 10. Atividades agrícolas encontradas no ponto de coleta amostral #1: Cultivo de arroz e pastagem (A); Banana(B).....	41
Figura 11. Ponto de coleta amostral #2: Localizado no trecho médio do rio Itapocuzinho. Apresenta atividades como o cultivo de banana (A) e pastagens (B) ao entorno de suas margens.....	42
Figura 12 Ponto de coleta amostral #3: Localizado próximo à confluência com o rio Itapocu na Bacia Hidrográfica do Itapocu. Apresenta atividades de pastagem de animais bovinos e equinos.....	43
Figura 13. Cristalizadores de vidro utilizados para o cultivo do organismo <i>Daphnia magna</i>	46
Figura 14. Esquema metodológico para a realização do ensaio agudo.....	48
Figura 15. Arranjo esquemático do desenvolvimento inicial do ensaio crônico com <i>D.magna</i>	49
Figura 16. Registro fotográfico e medição dos indivíduos jovens do microcrustáceo <i>Daphnia magna</i> com idade de até 48 horas. CV: Comprimento Ventral; CD: Comprimento Dorsal.....	50
Figura 17. Etapas da metodologia para o desenvolvimento do ensaio genotóxico do Cometa.....	52

Figura 18. Classificação visual quanto ao dano nas células cometas (Collins et al., (1995).; Collins (2004); Campos (2015)).	53
Figura 19. Cultivo da microalga <i>Scenedesmus subspicatus</i> em meio oligo.	54
Figura 20. Inoculação da microalga <i>Scenedesmus subspicatus</i> nas amostras.	55
Figura 21. Valores médios, máximos e mínimos obtidos da condutividade elétrica: Variação espacial (A) e variação temporal da condutividade (B).	58
Figura 22. Valores médios, máximos e mínimos obtidos do pH: Variação espacial (C) e variação temporal do pH (D). — Faixa de valores aceitos pelo CONAMA nº357/2005 – classe II.	58
Figura 23. Valores médios, máximos e mínimos obtidos do oxigênio dissolvido: Variação espacial (A) e variação temporal do oxigênio dissolvido (B). — Faixa de valores aceitos pelo CONAMA nº357/2005 – classe II.	59
Figura 24. Valores médios, máximos e mínimos obtidos da temperatura: Variação espacial (A) e variação temporal da temperatura (B).	60
Figura 25. Valores médios, máximos e mínimos obtidos da turbidez: Variação espacial (C) e variação temporal da turbidez (D). — Faixa de valores aceitos pelo CONAMA nº357/2005 – classe II.	61
Figura 26. Gráfico de dispersão entre o comprimento dorsal (mm) e o comprimento ventral (mm). Resultados do coeficiente de correlação de Pearson (r), da reta de regressão linear e do correspondente coeficiente de regressão linear (r^2).	65
Figura 27. Médias e respectivos desvios-padrão para o comprimento dorsal e ventral dos filhotes de <i>Daphnia magna</i> nos pontos amostrais e controle.	66
Figura 28. Gráfico com valores médios da longevidade para <i>D. magna</i> no teste de toxicidade crônica realizado com amostras de água do rio Itapocuzinho e com o controle nas 04 coletas.	67
Figura 29. Sobrevivência média para <i>Daphnia magna</i> no teste de toxicidade crônico realizado com amostras de água do rio Itapocuzinho e controle.	68
Figura 30. Resultado da fecundidade entre os tratamentos e o controle. Ensaio crônico de 21 dias com <i>Daphnia magna</i> . Dunnett: Ponto #1 $p > 0.05$ (0,636822); Ponto #2 $p < 0.05$ (0,037985); Ponto #3 $p < 0.05$ (0,004592).	69
Figura 31. Valor médio de posturas obtidas para <i>Daphnia magna</i> nos testes de toxicidade crônica realizados com o controle e tratamentos nas quatro datas amostrais.	70
Figura 32. Gráficos com os resultados do Índice de Dano (ID) ao DNA dos organismos-testes por meio do teste genotóxico consecutivos aos ensaios agudo e ao crônico com as amostras do Ponto #1, Ponto#2 e Ponto #3 mais o Controle.	71

Figura 33. Gráficos com os resultados da Frequência de Dano (FD) ao DNA dos organismos-testes por meio do teste genotóxico consecutivos aos ensaios agudo e ao crônico com as amostras do Ponto #1, Ponto#2 e Ponto #3 mais o Controle.....	72
Figura 34. Gráficos com os resultados do Dano ao DNA(%) dos organismos-testes por meio do teste genotóxico consecutivos aos ensaios agudo e ao crônico com as amostras do Ponto #1, Ponto#2 e Ponto #3 mais o Controle.....	73
Figura 35. Figura 35. Percentual de Inibição do crescimento da alga <i>Scendesmus subspicatus</i>	74

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 01	50
Equação 02	55

RESUMO

É realidade que o impacto ambiental ocasionado pelas atividades humanas, industriais e agrícolas nos recursos hídricos tem produzido em todo o mundo consequências para a saúde e para o meio ambiente, alterando a qualidade destes recursos e acarretando prejuízos para os mesmos. No entanto, pouco se tem monitorado a qualidade das águas superficiais no Brasil e quando isto ocorre, limita-se a alguns parâmetros, sem o conhecimento do grau de toxicidade deste recurso hídrico. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade da água do rio Itapocuzinho através de ensaios de toxicidade aguda e crônica com os organismos-teste *Daphnia magna* e *Scenedesmus subspicatus*. Para tanto, ao longo do rio Itapocuzinho foram estabelecidos três pontos amostrais, da nascente até a foz. Foram realizadas cinco amostragens, no decorrer das quatro estações do ano. As amostras de água também foram avaliadas quanto aos parâmetros físico-químicos de pH, temperatura, turbidez, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido, assim como analisado quanto à presença dos agrotóxicos 2,4-D (Ácido diclorofenoxiacético), glifosato e carbofurano. Os ensaios ecotoxicológicos crônicos foram realizados com a microalga *Scenedesmus subspicatus* e com o microcrustáceo *Daphnia magna*, sendo que o microcrustáceo foi também submetido ao ensaio agudo e genotóxico atendendo a normas e protocolos nacionais e internacionais. Os resultados mostraram que, os parâmetros físico-químicos atenderam ao disposto na resolução CONAMA 357/2005 para a classe II, com exceção para o oxigênio dissolvido que apresentou valores abaixo de 5mg/L em todos os pontos de amostragem. As amostras não apresentaram toxicidade aguda para o microcrustáceo *Daphnia magna*, porém para os ensaios crônicos, as amostras dos pontos #2 e #3 foram as que produziram alterações significativas na fecundidade dos organismos. Observou-se também que o maior Índice de Dano no ensaio genotóxico foi para as amostras dos pontos #2 e #3 sendo dano classe 2. O ensaio crônico com a microalga *Scenedesmus subspicatus* apresentou valores de toxicidade para o Ponto#1 e #2, e semelhança entre os valores do Ponto #3 e o controle. Assim, este trabalho evidencia que o rio Itapocuzinho já apresenta efeitos tóxicos aos organismos testados, ainda que crônicos e de menor grau, podendo estes serem resultado de seu uso e ocupação.

Palavras-chave: Rio Itapocuzinho, Qualidade de água, Ecotoxicologia, *Daphnia magna*, *Scenedesmus subspicatus*.

ABSTRACT

It's known that the environmental impact caused by industrial, agricultural and human activities in the water resources has produced consequences to health and the environment, altering their quality and resulting in damage to them. However, monitoring has been scarce regarding the quality of surface waters in Brazil and when it occurs, is limited to some parameters, not acknowledging the toxicity degree of this water resource. Therefore, the aim of this study was to evaluate water quality of Itapocuzinho River through acute and chronic toxicity assays with the test organisms *Daphnia magna* and *Scenedesmus subspicatus*. To accomplish this, three sample sites were established along Itapocuzinho river, from the source to the river mouth. Five sampling campaigns were performed, throughout the four seasons. The water samples were also evaluated for physicochemical parameters, such as pH, temperature, electric conductivity and dissolved oxygen, as well as analyzed for the presence of agrochemicals 2,4-D (dichlorophenoxyacetic acid), glyphosate and carbofuran. The chronic ecotoxicological assays were performed with the microalgae *Scenedesmus subspicatus* and with the microcrustacean *Daphnia magna*, the last one being also submitted to acute and genotoxic assays, attending to national and international standards and protocols. The results showed that the physicochemical parameters have met the provisions of the CONAMA Resolution 357/2005 for class II, with exception to the dissolved oxygen that presented values below 5 mg/L in all sample sites. The samples did not present acute toxicity to microcrustacean *Daphnia magna*, although in chronic assays samples of points #2 and #3 showed significant differences between fecundity of organisms. It was also observed that the greatest damage index in the genotoxic assay was in samples of points #2 and #3, classified as class 2 damage. The chronic assay with microalgae *Scenedesmus subspicatus* presented toxicity in points #1 and #2, and similarities between the values of Point #3 and control. Thus, this work makes clear that Itapocuzinho river already presents toxic effects to the organisms tested, even if chronic and of lesser degree, these may be a result of its use and occupation.

Keys words: Itapocuzinho river, Water quality, Ecotoxicology, *Daphnia magna*, *Scenedesmus subspicatus*.

1 INTRODUÇÃO

O surgimento dos aglomerados urbanos, a retirada das matas ciliares e o desvio dos cursos de rios para fins econômicos aliados ao despejo de efluentes não tratados contribuem intensamente para a atual problemática ambiental do país, o qual enfrenta a crise de água em diversas regiões. Segundo Brentano e Henrique (2010), a grande ocupação urbana no entorno dos rios e o crescimento das atividades antrópicas pode ocasionar uma série de impactos às unidades de conservação, necessitando da preservação dos recursos hídricos e de maior atenção para os ecossistemas aquáticos.

O intenso uso de fertilizantes químicos e agrotóxicos na agricultura tem trazido modificações drásticas nas características dos ecossistemas aquáticos (Poleza et al., 2008) devido ao seu potencial tóxico, a persistência no ambiente e a acumulação nas cadeias alimentares. As alterações físico-químicas dos cursos d'água provocadas pelo lançamento indevido de efluentes domésticos e industriais sem tratamento podem trazer danos à saúde humana (CARLOS, 2011) e ambiental.

Localizado na sub-bacia hidrográfica do Itapocuzinho e pertencente à bacia hidrográfica do Itapocu na região noroeste do estado de Santa Catarina, o rio Itapocuzinho é um afluente da margem esquerda do rio Itapocu e abrange os municípios de Guaramirim, Jaraguá do Sul e Schroeder, possuindo uma área de drenagem de 78,21km² (BIOVITA, [s.d]) e uma população aproximada de 193.611 habitantes (CENSO 2010) habitantes. As informações referentes ao rio Itapocuzinho são ainda escassas e de difícil acesso público, o que preocupa em razão do desconhecimento da qualidade atual de suas águas, visto sua importância para a agricultura, pecuária, indústria têxtil e abastecimento público do município de Guaramirim.

A qualidade de um ambiente aquático pode ser avaliada através de amostragens de água, de sedimento e/ou da biota presentes neste ambiente utilizando para isto diversas metodologias de análises, tais como as análises químicas, físicas, ecotoxicológicas, microbiológicas das amostras, dentre outros métodos existentes. As análises físico-químicas utilizadas como meio singular de monitorização da qualidade das águas por si só não são suficientes para a determinação do efeito de uma substância ao meio ambiente e à saúde humana, bem como estabelecer a persistência no ambiente e a interação da mesma com outras substâncias no ecossistema aquático (Campos, 2015). Para isto a ecotoxicologia surge com o

objetivo gerir o risco de exposição dos organismos a substâncias nocivas presentes no meio ambiente e estabelecer medidas de segurança à saúde humana (Zagatto, 2014).

A ecotoxicologia é capaz de fornecer informações e indicações sobre possíveis alterações que estejam de alguma maneira trazendo prejuízos ao meio ambiente, servindo também como sistemas preventivos (MENDONÇA, 2005) para a humanidade, a qual também está exposta a diversas alterações ambientais (PASCHOALINO et al., 2010). Desta forma, a ecotoxicologia vem como uma ferramenta que auxilia no rastreio e diagnóstico de prováveis efeitos prejudiciais ao meio ambiente, além da identificação dos potenciais resultados adversos que atingem a saúde humana, como as doenças de saúde pública, internações hospitalares (NASCIMENTO et al., 2006) e epidemias.

Uma avaliação criteriosa da qualidade e da quantidade das águas de uma bacia é, portanto, uma necessidade fundamental para conhecer o nível de comprometimento dos recursos hídricos, quais as variáveis forçantes desse comprometimento e qual a relação qualitativa e quantitativa entre estas forçantes e os usos da terra e da água na bacia (RORIG, 2005). O monitoramento dos recursos hídricos se constitui num poderoso instrumento, que possibilita a avaliação da oferta hídrica, base para decisões do aproveitamento múltiplo e integrado da água, bem como para a minimização de impactos ao meio ambiente (MINELLA, 2005).

Diante do exposto, o presente trabalho possuiu como finalidade avaliar a qualidade do rio Itapocuzinho, por meio de ensaios ecotoxicológicos e genotóxicos com os organismos testes *Daphnia magna* e *Scenedesmus subspicatus*, como contribuição para o desenvolvimento de programas de controle de poluição das águas, através da geração de dados e divulgação pública dos mesmos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a toxicidade aguda e crônica e a genotoxicidade da água do rio Itapocuzinho, localizado no norte do Estado de Santa Catarina, como contribuição para o desenvolvimento de programas de controle de poluição das águas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a qualidade da água do rio Itapocuzinho através de análises físico-químicas dos parâmetros em campo: pH, oxigênio dissolvido, temperatura, turbidez e condutividade elétrica nos três pontos amostrais.
- Realizar ensaios de ecotoxicidade aguda com o microcrustáceo *Daphnia magna* com amostras da água do rio Itapocuzinho.
- Executar ensaios de ecotoxicidade crônica com o microcrustáceo *Daphnia magna* e com a microalga *Scenedesmus subspicatus* submetidos às amostras do rio Itapocuzinho.
- Realizar ensaios de genotoxicidade com o microcrustáceo *Daphnia magna* com amostras do rio Itapocuzinho.
- Avaliar a concentração residual dos ingredientes ativos: Glifosato, 2,4-D (Ácido diclorofenoxiacético) e Carbofurano nos três pontos amostrais.
- Correlacionar os dados ecotoxicológicos, genotóxicos, parâmetros físico-químicos de campo, bem como os valores encontrados de resíduos de agrotóxicos com o uso e a ocupação do solo na área de estudo.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 RECURSOS HÍDRICOS

A diversificação dos múltiplos usos da água aliados ao desenvolvimento econômico e social produziu inúmeras pressões sobre o ciclo hidrológico e sobre as reservas de águas superficiais e subterrâneas. Os usos da água para a agricultura intensificaram-se a partir da segunda metade do século XX, tornando-se uma das principais utilizações (TUNDISI, 2011).

O aumento e a diversificação dos diversos usos da água resultaram em uma multiplicidade de impactos, de diversas magnitudes, que exigem, evidentemente, diferentes tipos de avaliação qualitativa e quantitativa, além de um monitoramento adequado e de longo prazo (TUNDISI, 2011).

A poluição hídrica no Brasil causa enormes prejuízos econômicos devido ao aumento nos custos de tratamento das águas cada vez mais poluídas para abastecimento público e ao uso industrial, pela maior demanda dos serviços de saúde decorrente do incremento de doenças de veiculação hídrica e pela queda de produtividade no trabalho, em razão das horas paradas em função destas doenças (FERREIRA et al., 2004).

A Resolução do CONAMA N° 357, de 17 de março de 2005 dispõe sobre a classificação dos corpos de água e define a classificação das mesmas como águas doces, salobras e salinas com base nos usos preponderantes atuais e futuros. A referida resolução considera como águas doces, as águas com salinidade igual ou inferior a 0,5‰; para águas salobras são consideradas as que têm salinidade variando entre 0,5‰ e 30‰; já as águas salinas são as que têm salinidade igual ou superior a 30‰. A Lei Federal 9.433/1997 menciona também o uso da água para o consumo humano, dessedentação dos animais, abastecimento público, lançamento de esgotos e demais resíduos líquidos ou gasosos, com o fim de sua diluição, transporte ou disposição final, o aproveitamento dos potenciais hidrelétricos, o transporte aquaviário, a irrigação, esportes ou lazer e piscicultura.

Já para Tucci et al. (2007 apud KITAMURA, 2009), os usos da água podem ser dividido em três classes distintas, sendo:

a) Infra- estrutura social: para usos gerais disponíveis para a sociedade nos quais a água entra como bem de consumo final. Como exemplos de uso: dessedentação, navegação, usos domésticos, recreação, usos públicos e amenidades ambientais;

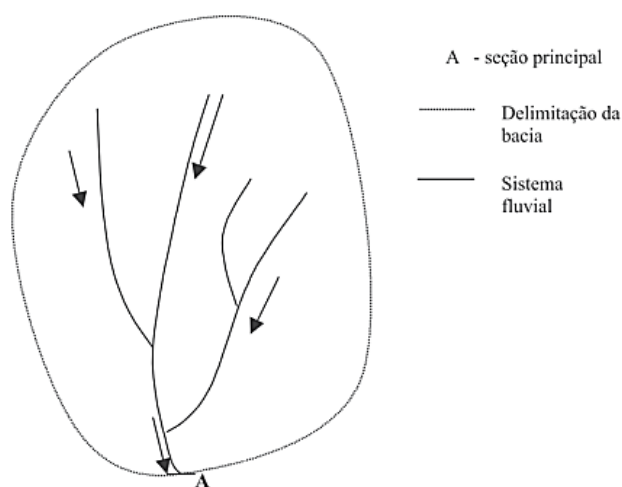
b) Atividades como agricultura, reflorestamento e aquicultura: refere-se aos usos de água como bem de consumo intermediário visando à criação de condições ambientais adequadas para o desenvolvimento de espécies animais ou vegetais de interesse para a sociedade. Sendo alguns exemplos de uso: agricultura, piscicultura, pecuária, uso de estuários, irrigação e preservação de banhados;

c) Indústria: uso relacionado às atividades de processamento industrial e energético nos quais a água entra como bem de consumo intermediário. Constituindo como exemplos de uso: mineração, hidreletricidade, processamento industrial, termoeletricidade e transporte hidráulico.

3.2 BACIA HIDROGRÁFICA

Barrella (2001) e ANA (2011) conceituam a bacia hidrográfica como um conjunto de terras drenadas por um rio e seus afluentes, sendo formada nas regiões mais altas do relevo por divisores de água, onde as águas das chuvas, superficialmente formam os rios e riachos e através da infiltração do solo formam as nascentes e o lençol freático. As características principais de uma bacia hidrográfica segundo Tucci (1997; 2006) são a área de drenagem, o comprimento do rio principal, a declividade do rio e da bacia (Figura 1), compondo-se de um conjunto de vertentes que confluem até resultar em um único leito no seu exutório.

Figura 1. Secção de uma bacia hidrográfica definida pelo seu declive.



Fonte: TUCCI, 2006.

A bacia hidrográfica pode ser então considerada um ente sistêmico, no qual são realizados os balanços de entrada proveniente da chuva e saída de água através do exutório, permitindo que sejam delineadas bacias e sub-bacias, cuja interconexão se dá pelos sistemas hídricos (PORTO & PORTO, 2008).

Para Torres et al. (2009), as bacias constituem ecossistemas adequados para avaliação dos impactos causados pela atividade antrópica, os quais acarretam riscos ao equilíbrio e a manutenção da quantidade e qualidade da água.

A Lei Federal nº 9.433/97 estabelece (art.1º, IV) que uma bacia hidrográfica é a unidade territorial para a implementação da Política Nacional de Recursos Hídricos e a atuação do Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos. Assim também o Artigo 3º, VI traz a diretriz geral de ação para a implementação da política, a integração da gestão das bacias hidrográficas com a dos sistemas estuarinos e zonas costeiras (ANEEL, 2008).

3.3 PARÂMETROS INDICADORES DA QUALIDADE DA ÁGUA

3.3.1 Parâmetros Físicos e Químicos

Os parâmetros físicos-químicos são importantes indicativos dos elementos que reagem com a água, influenciando os organismos vivos e podendo indicar a poluição do meio aquático (TOMAZELA, 2008).

Para o trabalho em estudo foram selecionados alguns dos parâmetros físico-químicos exigidos pela Resolução CONAMA nº 357/2005, sendo estes considerados relevantes para a avaliação da qualidade de água devido a sua importância, interferência no resultado dos ensaios e ampla utilização no monitoramento ambiental. Consistindo em: potencial hidrogeniônico, oxigênio dissolvido, condutividade, temperatura e turbidez (BERTOLETTI & ZAGATTO, 2014).

- **Potencial Hidrogeniônico (pH)**

Para Baumgarten e Pozza (2001), o potencial Hidrogeniônico (pH) é um parâmetro relevante nos ambientes aquáticos em razão de causar muitos fenômenos químicos e biológicos. O pH representa a concentração de íons hidrogênio H^+ , informando sobre a condição de acidez, neutralidade e alcalinidade. A faixa de variação deste parâmetro é dada

entre 0 a 14, sendo que abaixo de 7 apresenta condições ácidas, igual a 7, neutralidade e acima de 7, condições básicas.

A influência do pH sobre os ecossistemas aquáticos naturais dá-se diretamente devido a seus efeitos sobre a fisiologia das diversas espécies. Em termos de corpos d'água, valores mais altos de pH podem estar associados a proliferação de algas, valores afastados da neutralidade podem afetar a vida aquática e os microorganismos responsáveis pelo tratamento biológico dos esgotos (SPERLING, 2007).

- **Oxigênio Dissolvido (OD)**

Os níveis de oxigênio dissolvido na água constituem um parâmetro indicador de poluição de águas e da capacidade de um corpo d'água natural manter a vida aquática (BAUMGARTEN & POZZA, 2001), pois depende de uma série de fatores como a atividade das algas e dos vegetais (fotossíntese e respiração), dos animais (respiração) e das bactérias (redução e oxidação), além da turbidez da água.

Pode-se resumir que as principais consequências da redução na concentração de oxigênio dissolvido no meio aquático seriam a mortandade de organismos aeróbios, a solubilização de compostos químicos, o aumento da toxicidade, a geração de maus odores, além de inconvenientes estéticos (FINOTTI et al., 2009).

- **Condutividade elétrica**

Já a condutividade elétrica está relacionada com a capacidade que a água possui em conduzir corrente elétrica. Assim a condução elétrica associa-se às concentrações iônicas e a temperatura, indicando a quantidade de sais existentes na coluna d'água, representando uma medida indireta da concentração de poluentes. Essa propriedade varia com a concentração total de substâncias ionizadas dissolvidas na água, com a temperatura, com a mobilidade dos íons, com a valência dos íons e com as concentrações real e relativa de cada íon (PINTO, 2007).

A condutividade elétrica também fornece uma boa indicação das modificações na composição da água, especialmente na sua concentração mineral. Podem-se considerar ambientes impactados os que apresentarem níveis de condutividade superiores a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (CETESB, 2004), o que indica também a presença de características corrosivas na água.

- **Temperatura**

A temperatura da água é um parâmetro fundamental para a análise de qualidade da mesma, podendo ser influenciado por fatores como latitude, altitude, estação do ano, período do dia, taxa de fluxo e profundidade. Este indicador consiste na medição da intensidade do calor, podendo ser de origem natural ou antropogênica, como exemplo pode-se citar os despejos industriais (SPERLING, 2007).

Assim sendo, a temperatura desempenha um papel fundamental de controle no meio aquático, condicionando as influências de uma série de parâmetros físico-químicos, principalmente para os organismos aquáticos que possuem limites de tolerância térmica, com temperaturas ótimas para crescimento, e limitações de temperatura para migração, reprodução, desova e sobrevivência dos filhotes.

- **Turbidez**

A turbidez de uma amostra de água é o grau de atenuação de intensidade que um feixe de luz sofre ao atravessá-la, devido à presença de sólidos em suspensão, tais como partículas inorgânicas (areia, silte, argila) e de detritos orgânicos, algas e bactérias, plâncton em geral (CETESB, 2004).

A transparência da água é importante quando destinada tanto para o consumo humano, seja para uso potável, agrícola ou industrial, quanto para a realização da fotossíntese para os organismos aquáticos. Nos processos industriais pode ser um fator de comprometimento da qualidade do produto final, além de causar problemas em instalações de contato direto com a água (KITAMURA, 2009).

Valores altos de turbidez tendem a reduzir a fotossíntese da vegetação enraizada submersa de algas. Sendo assim, a turbidez pode influenciar nas comunidades biológicas aquáticas e afetar adversamente os usos doméstico, industrial e recreacional da água (CETESB, 2004).

Para uma melhor caracterização limnológica e ecotoxicológica de um ambiente recomenda-se abordar as tradicionais análises físico-químicas *in situ* juntamente com testes ecotoxicológicos laboratoriais, favorecendo assim uma visão mais abrangente dos fatores que envolvem a contaminação e poluição dos corpos hídricos, os quais interferem tanto no equilíbrio do ecossistema como no bem estar do ser humano (PENIDO, 2010).

3.4 RIZICULTURA, AGRICULTURA E USO DE AGROTÓXICOS

A utilização de fertilizantes químicos e agrotóxicos na agricultura tem, em muitos casos, modificado drasticamente as características dos ecossistemas aquáticos (AMVALI, 2013). De acordo com o Ministério do Meio Ambiente o comportamento dos agrotóxicos no ambiente é bastante complexo e independe do modo de aplicação quando referido seu potencial para atingir o solo e as águas (MMA, 2014).

As águas superficiais na proximidade dos campos agrícolas podem ficar contaminadas com resíduos de pesticidas através do transporte aéreo (*spray-drift*), ou por drenagem e escoamento, o que pode provocar efeitos indesejáveis nos organismos aquáticos (SANTOS, 2012).

Para Gonsalves (2001), quando os agrotóxicos são utilizados inadequadamente, em excesso ou próximos a época de colheita, estes podem acarretar, riscos à saúde dos agricultores e dos consumidores, causando intoxicações, mutações genéticas, câncer e morte. Os usos frequentes destes produtos muitas vezes incorretos favorecem os riscos de contaminação dos ecossistemas com a contaminação de solos agrícolas, de águas superficiais e subterrâneas.

De forma geral, a exposição a qualquer classe de agrotóxico aumenta o risco de predação, pois provoca distúrbios nos mecanismos de comunicação entre as comunidades aquáticas, e as estratégias de auto-defesa de cada espécie ficam fragilizadas (GRISOLIA, 2005).

O modelo agroeconômico brasileiro caracteriza-se pelo uso intensivo, extensivo e, não raro, indiscriminado de agrotóxicos que, dentre diversas implicações, potencializa a exposição das populações a tais substâncias (FERNANDES NETO, 2010). Isso pode apresentar consequentemente riscos de efeitos negativos em organismos terrestres e aquáticos, como intoxicação pelo consumo de água e de alimentos contaminados, além da intoxicação ocupacional de trabalhadores e produtores rurais (VIEIRA, 2013).

Tem-se ainda uma grande discussão sobre o impacto ambiental que a cultura de arroz provoca, visto que são utilizados vários defensivos agrícolas com destaque para inseticidas e herbicidas. Os princípios ativos dos inseticidas mais empregados para o cultivo de arroz são: Carbofurano, Fipronil, Carbaril e Fenitrothion além de outros sem grandes expressões (WILLEMAN, 2007).

Os diversos agrotóxicos utilizados no cultivo do arroz irrigado, incluindo herbicidas e inseticidas, apresentam riscos diferentes sobre os organismos presentes no ambiente (VIEIRA, 2013). De acordo com a Embrapa (2005), estão listados os agrotóxicos mundialmente utilizados para a cultura do arroz, com seus respectivos limites máximos de resíduos (LMR) permitidos pelo Codex Alimentarius (FAO, 2002) (Tabela 1).

Tabela 1. Limites máximos de resíduos (LMR) de agrotóxicos em arroz.

Nome Técnico	LMR (mg/kg)
2,4-D	0.05
Bentazone	0.1
Cabaryl	5.0
Chlorpyrifos	0.1
Chlorpyrifos-Methyl	0.1
Diquat	10
Disulfoton	0.5
Endosulfan	0.1
Fentin	0.1
Glifosate	0.1
Paraquat	10

Fonte: FAO, 2002

O estado de Santa Catarina também é um dos principais produtores de banana do Brasil, sendo que as exportações destinam-se principalmente aos países do Mercosul, porém, é nos mercados do sul do país (SC, RS, e SP) onde são feitas as maiores vendas (THOMAZI, 2008).

Segundo Darélla (2001), os principais agrotóxicos empregados por produtores rurais no cultivo da banana em Santa Catarina são: Furadan (Carbofurano), Roundup (Glifosato), Gramoxone (Paraquat), Tilt (Propiconazol) e Óleo Mineral.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2009), estão também listados alguns dos agrotóxicos utilizados para a cultura da banana, com seus respectivos limites máximos de resíduos (LMR) aceitos pelo Codex Alimentarius (FAO, 2002) (Tabela 2).

Tabela 2. Lista de Referência de Limites Máximos de Resíduos (LMR) na banana.

Nome Técnico	LMR (mg/kg)
Ametrina	0.07
Azoxistrobina	0.2
Bifentrina	0.02
Bromuconazol	0.5
Carbofurano	0.1
Carbendazim	0.5
Carbaril	0.2
Clorotalonil	3.00
Difenoconazol	0.5
Diurom	0.1
Tiabendazol	3.00

Fonte: FAO, 2002

A complexidade da avaliação do comportamento de um agrotóxico, depois de aplicado deve-se à necessidade de se considerar a influência dos agentes que atuam provocando seu deslocamento físico e sua transformação química e biológica, influenciando no seu comportamento, inclusive com a formação de subprodutos com propriedades absolutamente distintas do produto inicial e cujos danos à saúde ou ao meio ambiente também são diferenciados (MMA, 2014).

De acordo com o organismo-alvo da ação, os pesticidas podem ser classificados como acaricidas, bactericidas, fungicidas, herbicidas, inseticidas, nematicidas, raticidas, vermífugos, entre outros (VIEIRA, 2013). Por essa dimensão no espectro de ação, este grupo de agentes químicos é um dos mais bem estudados, tanto do ponto de vista toxicológico como ambiental (FILHO, 2013).

Dentre as principais justificativas apresentadas pelas instituições responsáveis pelas ações de monitoramento, encontra-se a dificuldade na coleta de amostras e na identificação de laboratórios aptos a realizar a análise de resíduos de agrotóxicos em diferentes materiais. Como consequência, os programas de monitoramento são limitados e insuficientes para subsidiar diversas ações que poderiam prevenir agravos à saúde, tais como a fiscalização do uso e a comercialização para a cultura e a praga indicadas (COSTA et al., 2014).

A Lei 6.452/84 do Estado de Santa Catarina dispõe sobre o controle de agrotóxicos, pesticidas e outros biocidas, a nível estadual (VIEIRA, 2010). A atividade de armazenamento dos agrotóxicos está condicionada a prévio cadastramento dos mesmos na FATMA, sendo este diferenciado conforme a metodologia utilizada. Em território estadual só é admitido a distribuição e comercialização dos produtos agrotóxicos que já estiverem registrados no órgão federal competente (FATMA, 1995) e com o preenchimento da receita agrônômica na retirada do produto.

Conforme a Lei 7.802/89, artigo 3º, parágrafo 6º, no Brasil, é proibido o registro de agrotóxicos:

- a) Para os quais o Brasil não disponha de métodos para desativação de seus componentes, de modo a impedir que os seus resíduos remanescentes provoquem riscos ao meio ambiente e à saúde pública;
- b) para os quais não haja antídoto ou tratamento eficaz no Brasil;
- c) que revelem características teratogênicas, carcinogênicas ou mutagênicas, de acordo com os resultados atualizados de experiências da comunidade científica;
- d) que provoquem distúrbios hormonais, danos ao aparelho reprodutor, de acordo com procedimentos e experiências atualizadas na comunidade científica;
- e) que se revelem mais perigosos para o homem do que os testes de laboratório, com animais, tenham podido demonstrar, segundo critérios técnicos e científicos atualizados;
- f) cujas características causem danos ao meio ambiente.

Devido à variabilidade de rotas de transporte e degradação, é de suma importância conhecer as características químicas e o modo de ação dos agrotóxicos utilizados na rizicultura, para que se consiga compreender e estabelecer relações entre o composto e o organismo teste (VIEIRA, 2013). Para estudos da toxicologia dos agrotóxicos nos ecossistemas, o conhecimento do grau de periculosidade do produto sobre o meio ambiente é de suma importância, sendo que este se baseia nos parâmetros de bioacumulação, persistência, transporte, toxicidade a diversos organismos (Tabela 3), potencial mutagênico, teratogênico e carcinogênico.

Tabela 3. Classificação toxicológica dos agrotóxicos

Classe I	Extremamente tóxico	Faixa vermelha
Classe II	Altamente tóxico	Faixa amarela
Classe III	Mediamente tóxico	Faixa Azul
Classe IV	Pouco ou muito pouco tóxico	Faixa Verde

Fonte: AGROFIT, 2015

Dos principais agrotóxicos utilizados nas atividades agrícolas realizadas ao entorno do rio Itapocuzinho, como o cultivo de banana e arroz, como também a pastagem de animais bovinos e equinos, todos apresentam toxicidade ao meio ambiente bem como possuem potencial genotóxico para plantas, animais e seres humanos (GRISOLIA, 2005). Para o presente estudo serão analisados quanto à presença dos agrotóxicos Glifosato, 2,4-D e Carbofurano, sendo que os mesmos apresentam grau de toxicidade e genotoxicidade ao ambiente, e possui expressiva venda comercial em casas agrícolas da região.

O Glifosato é um herbicida não seletivo, de amplo espectro e de uso pré ou pós-emergente, agindo sistematicamente após absorvidos pelas folhas das plantas. Em estudos de toxicidade, mutagenicidade, teratogenicidade e carcinogenicidade para o glifosato na formulação de sal puro, Grisolia (2005) relata que os resultados para o mesmo foram negativos, apresentando resultados positivos apenas para a mutagenicidade no qual foram realizadas diferentes formulações.

O agrotóxico 2,4-D (Ácido 2,4-diclorofenoxiacético) é um dos herbicidas mais utilizados no controle de plantas daninhas de folhas largas. Os dados disponíveis sobre a mutagenicidade deste agrotóxico são conflitantes com valores tanto positivos como negativos, porém sumarizando-se as informações a respeito dos estudos citados por Grisolia (2005) com o 2,4-D em leveduras, células de mamíferos *in vivo* e *in vitro*, ressalta-se evidente efeito para estas células.

O composto Carbofurano é utilizado como inseticida, acaricida e nematicida de amplo espectro em uma variedade de culturas agrícolas e agroflorestais possui ação sistêmica. Devido ao grande uso, este princípio ativo contamina o ar, o solo, as águas superficiais e subterrâneas. Em ensaios mutagênicos os resultados são contraditórios, pois se tem tanto

resultados negativos quanto positivos, porém pode-se observar que os produtos de degradação do carbofurano têm maior potencial genotóxico que a molécula original (Grisolia, 2005).

3.5 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E GENOTÓXICOS

O monitoramento da qualidade ambiental de ecossistemas aquáticos é o modo de detectar alterações em suas características de linha de base por meio de propriedades biogeoquímicas e biológicas de distintas fases abióticas e bióticas dos compartimentos, como a coluna d'água e o sedimento (MOZETO & ZAGATTO, 2014).

Segundo Mendonça (2005), o controle da qualidade das águas integra também a análise do meio ambiente, sendo que esta análise pode ser realizada de duas formas distintas, por análise físico-química e por análise biológica.

Nas análises biológicas, destacam-se a microbiologia e liminologia, que fornecem informações sobre alterações no ambiente aquático em longo prazo, enquanto que a ecotoxicologia revela, através de ensaios com organismos-testes, efeitos agudos e crônicos produzidos por substâncias químicas (MENDONÇA, 2005).

Ensaio de toxicidade consiste em expor organismos teste representativos no ambiente a várias concentrações de uma ou mais substâncias durante determinado período de tempo para determinação de seu potencial tóxico, sendo os efeitos detectados através de respostas fisiológicas, bioquímicas ou comportamentais nos organismos (CETESB, 1990).

Para Penido (2010), o princípio fundamental dos testes de toxicidade é baseado no reconhecimento da resposta dos organismos vivos à presença de agentes tóxicos e da concentração, ou seja, o nível a qual os indivíduos são expostos aos agentes poluidores.

O principal objetivo na aplicação de ensaios ecotoxicológicos é fornecer informações e indicações sobre possíveis alterações que estejam de alguma forma trazendo prejuízos ao meio ambiente, desta forma, servindo como sistemas preventivos de proteção e alerta à conservação da vida aquática (MENDONÇA, 2005).

Nas últimas décadas, uma grande variedade de testes de toxicidade aquática tem sido desenvolvido e utilizado para determinar os efeitos colaterais provocados por produtos

químicos, como pesticidas, na estrutura e no funcionamento dos ecossistemas de água doce (SANTOS, 2012).

Contudo, somente na década de 1980/1990 que foram validados os estudos entre testes de toxicidade laboratoriais *versus* levantamento das comunidades aquáticas *in loco*, os quais mostraram estreita correlação quando se utilizam espécies representativas do ambiente. Após este período, houve intensa implementação dos ensaios ecotoxicológicos para o estabelecimento de padrões de qualidade da água e lançamento de efluentes nos corpos hídricos (ZAGATTO, 2014).

Nos países desenvolvidos, ensaios ecotoxicológicos são exigidos por lei e apoiados por normas e padrões. No Brasil, de forma geral, as metodologias empregadas correspondem às utilizadas internacionalmente pela comunidade científica, porém em termos legais estamos ainda atrasados (HARMEL, 2004). Atualmente, entidades do meio ambiente de vários Estados de Federação, institutos de pesquisas e laboratórios têm intensificado o uso de teste ecotoxicológicos para diversas finalidades, sendo que em inúmeras universidades a disciplina de Ecotoxicologia faz parte de muitos cursos de pós-graduação (ZAGATTO, 2014).

Segundo Harmel (2004), no Brasil são comumente utilizados somente ensaios físico-químicos para a avaliação dos parâmetros exigidos para o monitoramento da qualidade da água. Estes parâmetros somente qualificam e quantificam teores de certas substâncias no meio, mas não avaliam o impacto que as mesmas podem vir a provocar na biota presente.

Os ensaios de toxicidade podem ser classificados em agudos e crônicos com o objetivo de determinar o efeito tóxico. Os testes de toxicidade aguda são utilizados para estimar a dose ou concentração de um agente tóxico que seria capaz de produzir uma resposta de letalidade (CETESB, 2004) em um organismo-teste ou população, em um período de tempo relativamente curto, já ensaios crônicos visam à reação do indivíduo em um período de tempo prolongado geralmente em contato com concentrações baixas da amostra, visando uma resposta de efeito cumulativo da amostra para o ser (HARMEL, 2004).

Devido à facilidade de execução, curta duração e baixo custo, os ensaios de toxicidade aguda foram os primeiros a serem desenvolvidos e, portanto, constituem a base de dados ecotoxicológicos. A exposição dos organismos a agentes químicos, em níveis subletais, pode não levar a morte do organismo, mas pode causar distúrbios fisiológicos e/ou comportamentais em longo prazo. Esses efeitos não são detectados em testes de toxicidade

aguda, sendo necessário o uso de testes de toxicidade crônica, o qual permite avaliar os efeitos adversos mais sutis aos organismos expostos (ARAÚJO & ARAGÃO, 2014).

Estes efeitos podem ser ponderados em diminutas concentrações, as quais permitem a sobrevivência dos organismos, mas afetam suas funções biológicas, tais como reprodução, desenvolvimento de ovos, crescimento e maturação (BERTON, 2013).

Os efeitos tóxicos de uma amostra-teste são avaliados por meio de variáveis biológicas como: letalidade, imobilidade, reprodução, crescimento e fisiologia. Podem ser expressos quantitativamente através do número de organismos mortos, número de ovos produzidos, número de jovens produzidos, redução no crescimento ou qualitativamente observando-se o comportamento do organismo-teste durante o ensaio (ARAÚJO & ARAGÃO, 2014).

Assim como muitos agentes químicos, os agentes mutagênicos causam alterações no DNA de organismos causando efeitos negativos (UMBUZEIRO & ROUBICEK, 2014) sobre a diversidade de espécies presentes nos ecossistemas.

Os compostos mutagênicos encontram-se distribuídos nos diversos ecossistemas (água, ar e solo), sendo transferidos e acumulados através das cadeias tróficas, e assim podendo causar efeitos genotóxicos nos indivíduos ou populações expostas (UMBUZEIRO & ROUBICEK, 2014).

A detecção de danos no DNA tem sido amplamente estudada através de métodos laboratoriais a fim de entender os tipos de lesões geradas e suas consequências em níveis mais elevados da organização biológica (ZENKNER et al., 2013).

O estudo e a relevância da detecção dos riscos genotóxicos associados com a poluição da água foram primeiramente percebidos no fim da década de 70, quando novos métodos foram desenvolvidos para monitorar a presença de produtos lesivos ao DNA no ambiente aquático (ZENKNER et al., 2013).

Os ensaios de avaliação da genotoxicidade são amplamente empregados em estudos de toxicologia genética de produtos (químicos, farmacêuticos, alimentícios, biológicos e físicos) (BERTON, 2013), do mesmo modo podem ser aplicados na avaliação de compostos químicos puros ou de misturas, produtos naturais, ou ainda, em amostras ambientais, como água bruta, água tratada, efluentes industriais e amostras atmosféricas (UMBUZEIRO & ROUBICEK, 2014).

Os ensaios genotóxicos, no que se refere ao ensaio Cometa (Comet Assay), podem complementar outros ensaios como, por exemplo, os ecotoxicológicos, nos quais organismos aquáticos como *Daphnia magna* são amplamente utilizados na avaliação de uma determinada amostra aquosa (ZENKNER et al., 2013). Este ensaio foi desenvolvido recentemente, e traz como uma das inovações contornar as dificuldades encontradas nos ensaios citogenéticos. O ensaio genotóxico (Cometa) tem sido especialmente prático para estudos relacionados com a detecção de danos no material genético de organismos- sentinela (UMBUZEIRO & ROUBICEK, 2014).

3.5.1 Organismos-testes

Para análises de toxicidade são utilizados organismos que tenham representatividade e alta sensibilidade a compostos estranhos ao seu meio, pois se estes indivíduos forem afetados, é provável que os outros organismos também os serão (HARMEL, 2004).

Os organismos bioindicadores podem detectar a presença de substâncias perigosas que normalmente não são detectadas, muitas vezes provenientes de reações químicas complexas no próprio ambiente (HARMEL, 2004).

Os primeiros relatos de utilização de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos datam da década de 1920, sendo que os peixes foram os primeiros organismos a serem utilizados (ARAÚJO & ARAGÃO, 2014).

Atualmente, diversos ensaios de toxicidade estão bem estabelecidos, constituindo em sua maioria padronizados nacional e internacionalmente por associações ou organizações de normalização, como a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), American Society for Testing and Materials (ASTM), American Water Work Association (AWWA), International Organization for Standardization (ISO) e Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD) (ARAÚJO & ARAGÃO, 2014).

Sendo os organismos utilizados representativos da biota, é preconizado que também que os ensaios sejam de fácil aplicação, que os organismos- testes estejam sempre disponíveis, possam ser padronizados e utilizados em outros sistemas de teste, além de ser concludentes, principalmente em casos nos quais ocorre crime ambiental (KNIE & LOPES, 2004).

Para Domingues e Bertoletti (2014), devem-se buscar espécies com estabilidade genética e que possibilitem a obtenção de lotes uniformes de organismos, como exemplo, os microcrustáceos *Daphnia* e *Ceriodaphnia*, por serem partenogenéticos, preenchem ambos os quesitos. Dentre os principais organismos utilizados como bioindicadores da qualidade da água doce, o presente estudo utilizar-se-á do microcrustáceo *Daphnia magna* e da microalga *Scenedesmus subspicatus*.

A *Daphnia magna* STRAUS, 1820 (Cladocera, Crustacea) (Figura 2), é um microcrustáceo planctônico que atua na cadeia alimentar aquática como consumidor primário, alimentando-se por filtração de material orgânico. O alimento é transferido para a boca, onde é moído pelas mandíbulas e direcionado para o trato digestivo (KNIE & LOPES, 2004).

Figura 2. Fotografia do microcrustáceo *Daphnia magna* em fase juvenil.



Fonte: A autora.

As espécies de *Daphnia* têm de 0,5 a 5,0mm de comprimento e uma carapaça bivalve transparente que encerra todo o corpo, com exceção da cabeça e antenas. A reprodução por ser partenogenética, dá origem a populações constituídas inteiramente por fêmeas, até que ocorra um estresse ambiental, surgindo machos denominados de *efípios* (DOMINGUES & BERTOLETTI, 2014).

Hernando (2003) e Harmel (2004) descrevem que em se tratando de zooplâncton, o gênero *Daphnia*, é frequentemente empregado em ensaios ecotoxicológicos devido a este ser um dos grupos mais sensíveis aos químicos tóxicos, e devido ao fato deste organismo ocupar posição central na cadeia alimentar de ambientes lênticos.

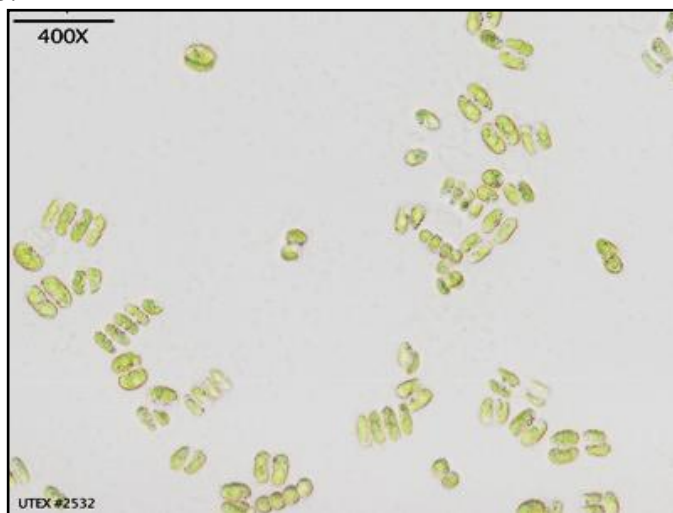
Popularmente conhecida como pulga d'água, devido aos movimentos específicos das segundas antenas que lhe dá a aspecto de se deslocar em pequenos saltos, a *Daphnia magna* é um microcrustáceo de água doce, da família Daphnidae com um tamanho médio de 5 a 6 mm de comprimento quando adulta (KNIE & LOPES, 2004).

De acordo com Knie e Lopes (2004) o emprego de *Daphnia magna* como organismo teste é devido principalmente à geração de descendentes geneticamente idênticos, o que assegura certa uniformidade de respostas nos ensaios; ao cultivo em laboratório sob condições controladas ser fácil e sem grandes dispêndios; ao facilitado manuseio da espécie, devido ao seu tamanho grande, em comparação com outros microcrustáceos; ao ciclo de vida e de reprodução suficientemente curto, o que permite também sua aplicação em testes crônicos.

Para Berton (2013), o teste de toxicidade utilizando o microcrustácio *Daphnia magna* é o bioensaio mais usado internacionalmente para a varredura da toxicidade dos produtos químicos e para o monitoramento da toxicidade de efluentes, além de tratar-se um organismo que é reconhecido internacionalmente e tem sido usado há décadas em laboratórios ecotoxicológicos no mundo todo.

A microalga *Scenedesmus subspicatus* (Figura 3) é uma alga verde planctônica, representante dos produtores primários nos ecossistemas de água doce (KNIE & LOPES, 2004). Como indicadores da poluição aquática, as algas são usadas aproximadamente há 100 anos para avaliar a qualidade hídrica, de efluentes, bem como a periculosidade de substâncias químicas (KNIE & LOPES, 2004).

Figura 3. Microalga *Scenedesmus subspicatus* usada para a alimentação da *Daphnia magna* e para o ensaio crônico.



Fonte: UTEX Culture Collection of Algae, 2016.

As algas são um conjunto heterogêneo de organismos que variam de pequenas células individuais a algas gigantes e que pertencem a diferentes linhagens evolutivas (BERTON, 2013). Quando na natureza, a *Scenedesmus subspicatus* forma agregados de 5 ou 6 células, ao passo que no cultivo em laboratório ela se mostra, frequentemente, unicelular (KNIE & LOPES, 2004).

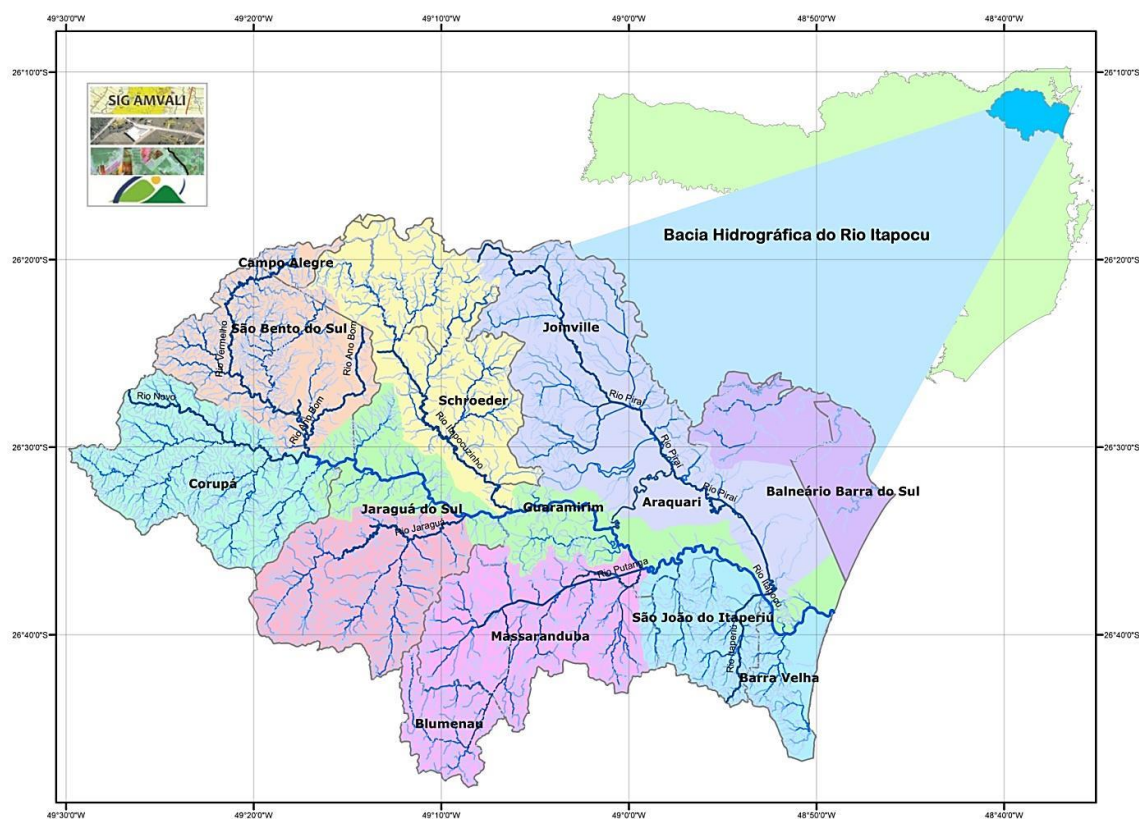
No ambiente aquático, as algas são à base do ciclo de vida, servindo de alimentos para outros organismos, além de destacar-se na manutenção do equilíbrio do ambiente aquático, pois participam do ciclo biogeoquímico, especialmente nos ciclos do carbono, oxigênio, nitrogênio, fósforo e silício (KNIE & LOPES, 2004).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDO

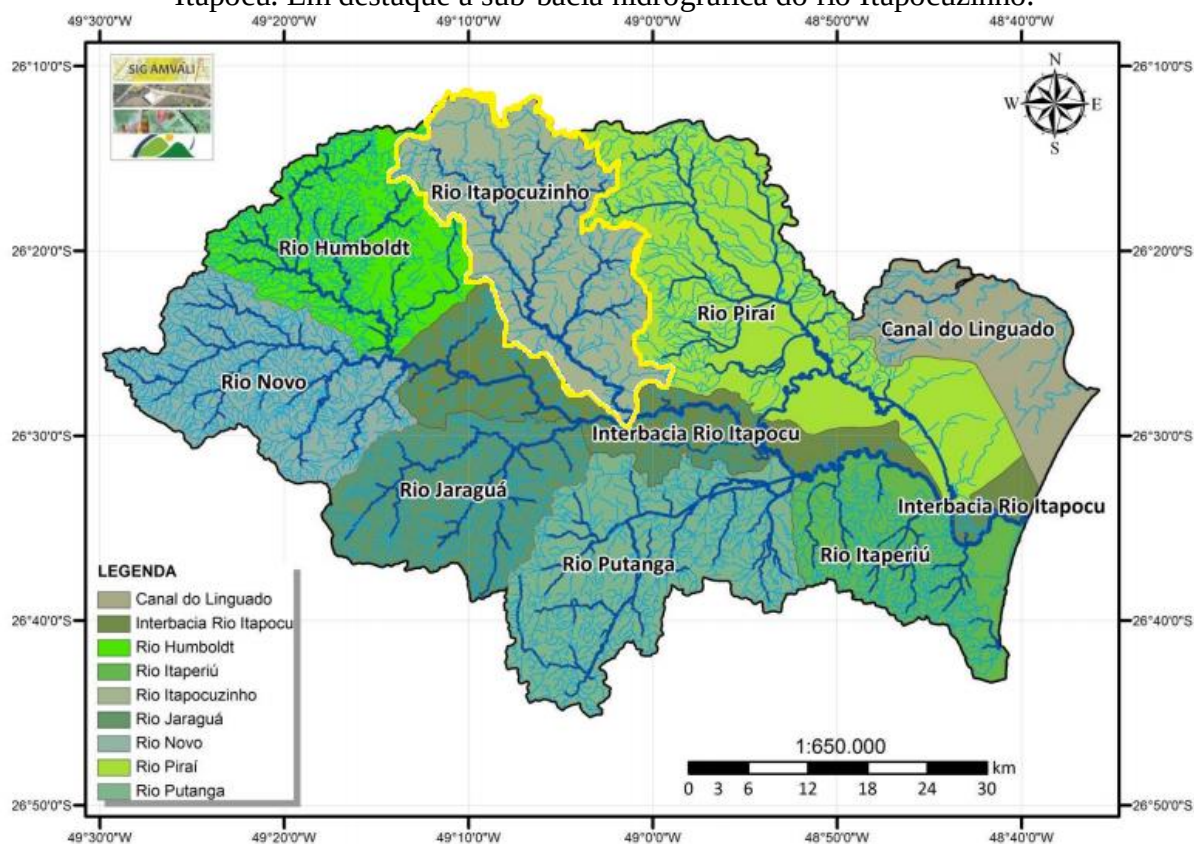
O objeto de estudo tratou-se da sub-bacia hidrográfica do rio Itapocuzinho, a qual abrange os municípios de Guaramirim, Jaraguá do Sul e Schroeder na região noroeste do estado de Santa Catarina, totalizando uma área de 397,02Km² (AMVALI, 2015) e uma população de 193.611 habitantes (CENSO 2010), sendo desconhecido o percentual da população que é abastecida pelas águas da sub-bacia. A sub-bacia do rio Itapocuzinho pertence à bacia hidrográfica do Itapocu (Figura 4), composta por nove sub-bacias (Figura 5), uma área de drenagem de 3152,02 km² (HOLLER, 2012), abrangendo 13 municípios do estado de Santa Catarina (AMVALI, 2012), dos quais aproximadamente 500.000 habitantes são abastecidos pela água da bacia do Itapocu (STEINBACH & TOMASELLI, 2013).

Figura 4. Mapa com a localização e abrangência da Bacia Hidrográfica do Itapocu no estado de Santa Catarina.



Fonte: HOLLER, 2012.

Figura 5. Mapa com as 09 sub-bacias hidrográficas que compõem a bacia hidrográfica do rio Itapocu. Em destaque a sub-bacia hidrográfica do rio Itapocuzinho.



FONTE: SIG-AMVALI, 2012. Edição: Carla C. Tomaselli.

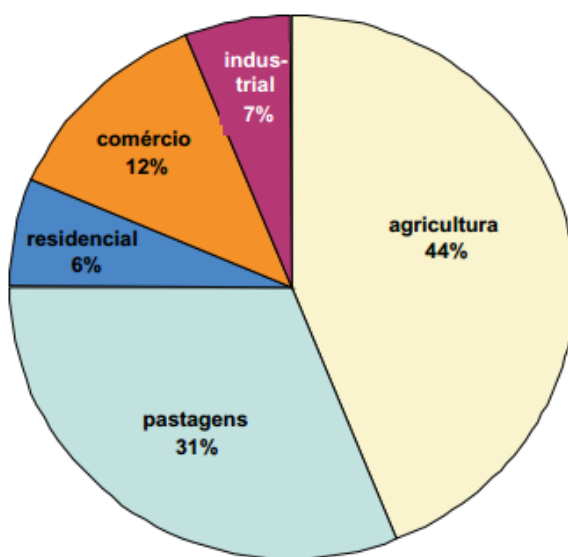
O rio Itapocuzinho é um dos principais afluentes do rio Itapocu, juntamente com o rio Pirai e o rio Putanga, drenando também as regiões altas do município de Joinville (SANTA CATARINA, 1997). Possui instalada no rio Bracinho, um dos afluentes do rio Itapocuzinho, uma usina hidrelétrica (SANTA CATARINA, 1997), denominada PCH Itapocuzinho IIA, localizada no município de Schroeder, com geração de potencial elétrico de 11,70MW (BIOVITA, [s.d]).

Na bacia hidrográfica do rio Itapocu há cinco estações pluviométricas, as quais estão localizadas nos municípios de Jaraguá do Sul, Corupá, Schroeder e em Araquari (HOLLER, 2012), sendo que a estação denominada Schroeder (Figura 6) está fixada no rio Itapocuzinho nas coordenadas Lat. -26°26'21.00 e Long. -49°03'46.00. A precipitação nesta estação pluviométrica localizada na sub-bacia do rio Itapocuzinho é elevada, com 2.159 mm/ano, coeficiente de escoamento de 0.71, vazão média de longo período de 17.400 L/s e média das vazões mínimas médias de sete dias de 4.700 L/s (HOLLER, 2012).

(Figura 7) (THIESEN, 2009). Nesta margem apenas 13% dos trechos analisados apresentam metade de sua cobertura vegetal conservada e 87% dos solos possuem diminutos valores de cobertura vegetal (Inferiores a 49%) (THIESEN, 2009).

Ainda no bairro Centenário, embora as atividades industriais sejam mais intensas e o uso residencial seja consolidado, as invasões sobre as faixas ciliares de quinze metros se devem novamente às pastagens (THIESEN, 2009).

Figura 7. Gráfico do uso e ocupação do solo no rio Itapocuzinho (margem esquerda).

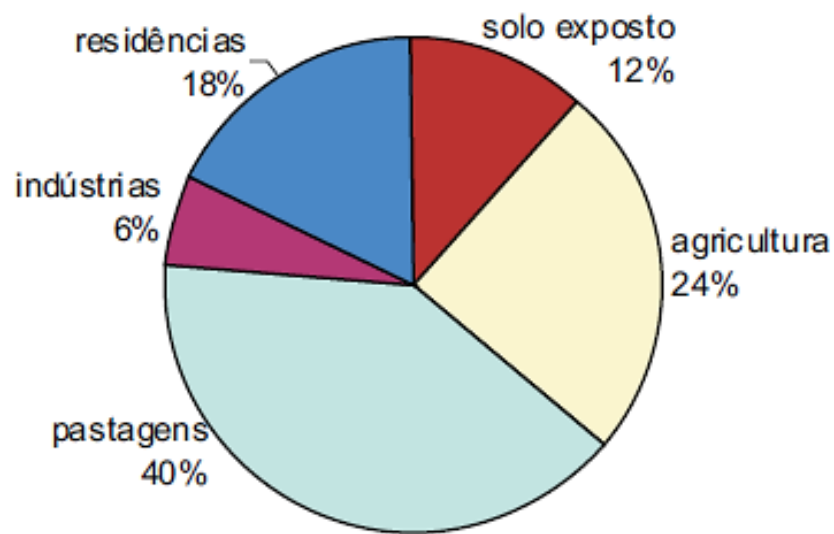


Fonte: THIESEN, 2009

Em relação à vegetação, a margem direita, localizada no município de Schroeder, possui 85% de trechos com mais da metade de cobertura vegetal, sendo que 11% têm entre 16% e 49% de vegetação e 4% restantes têm apenas 15% ou menos de cobertura vegetal, ocorrendo ainda grande percentual de solo exposto por pastagens e por preparo do solo para plantio (42%) (THIESEN, 2009).

A figura 8 demonstra a ocorrência das ocupações sobre a margem direita do rio Itapocuzinho ao longo do trecho urbanizado no município de Schroeder.

Figura 8 – Gráfico da ocupação da faixa marginal ribeirinha em 15 metros distantes do leito do rio – rio Itapocuzinho (margem direita), município de Schroeder.



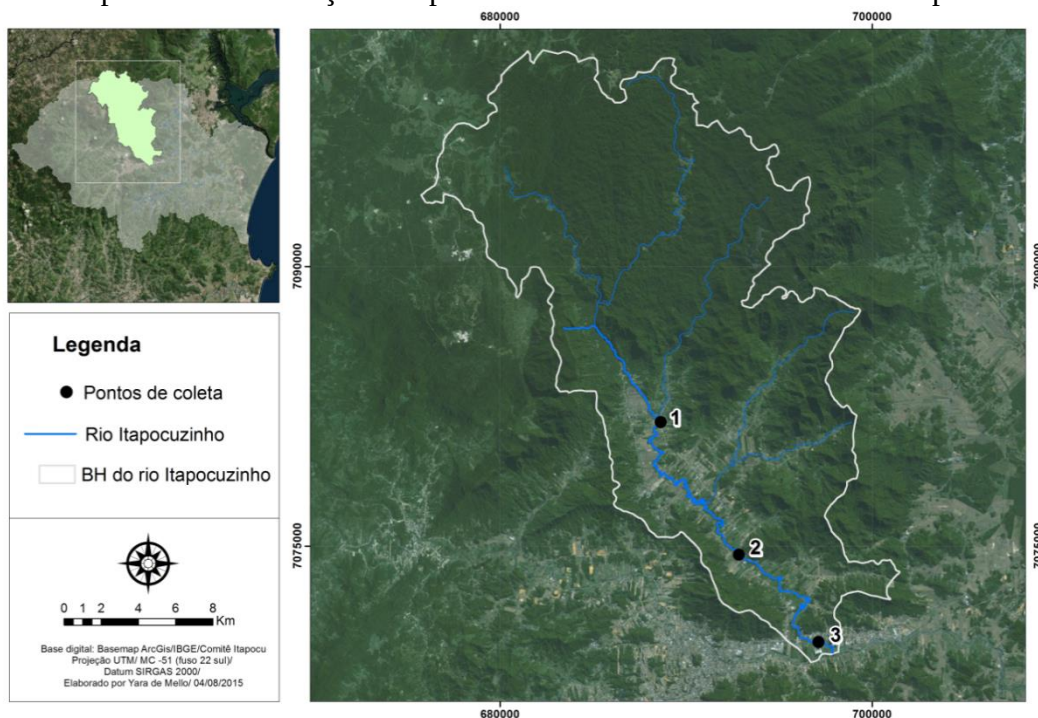
Fonte: THIESEN, 2009.

4.2 DEFINIÇÃO DOS PONTOS AMOSTRAIS

Os pontos amostrais, Ponto #1, Ponto #2 e Ponto #3, foram pré-determinados geograficamente por imagens de satélite no programa Google Earth e definidos por meio do aparelho receptor do Sistema de Posicionamento Global (GPS), modelo Etrex 20 da marca Garmin, o qual registrou as coordenadas dos pontos de coleta das amostras (Figura 9), as quais tiveram como critérios de inclusão:

- A equidistância entre os pontos de coleta
- O uso e a ocupação do solo no local
- Facilidade de acesso aos pontos amostrais

Figura 9. Mapa com a localização dos pontos de coleta na sub-bacia do rio Itapocuzinho.



Fonte: AMVALI. Edição: Yara de Mello, 2015.

4.2.1 Ponto #1

Ponto amostral localizado no bairro Santa Luzia, pertencente ao perímetro rural do município de Jaraguá do Sul, próximo à nascente do rio Itapocuzinho, o qual recebe o aporte de material do rio do Júlio e do ribeirão Manso. Possui em seu entorno áreas destinadas ao cultivo de arroz, banana, bem como pequenas áreas destinadas à pastagem (Figura 10). Suas coordenadas são Lat.: 26°22'21.63"S e Long.: 49° 6'33.13"O (Datum SIRGAS 2000).

Figura 10. Atividades agrícolas encontradas no ponto de coleta amostral #1: Cultivo de arroz e pastagem (A); Banana (B).



Fonte: A autora.

4.2.2 Ponto #2

Situado no trecho médio do curso d'água do rio Itapocuzinho e pertencente ao bairro João Pessoa, pertencente ao perímetro urbano do município de Jaraguá do Sul, o ponto amostral #2 possui as coordenadas Lat.: 26°26'11.64" S e Long.: 49° 3'57.74" O (Datum SIRGAS 2000) e faz limite entre os municípios de Jaraguá do Sul e Schroeder (Figura 11). Apresenta atividades pecuárias e agrícolas como pastagens e cultivo de banana nas proximidades de suas margens.

Figura 11. Ponto de coleta amostral #2: Localizado no trecho médio do rio Itapocuzinho. Apresenta atividades como o cultivo de banana (A) e pastagens (B) ao entorno de suas margens.



Fonte: A autora.

4.2.3 Ponto #3

Situado no bairro Centenário, no município de Jaraguá do Sul, este ponto de coleta é o mais próximo à confluência do rio Itapocuzinho com o rio Itapocu, pertencente à Bacia Hidrográfica do Itapocu (Figura 12).

Possui a margem de seu leito majoritariamente desprovida de mata ciliar, o que favorece a atividade da pastagem de animais bovinos e equinos. No seu perímetro urbano também são encontrados indústrias metalúrgicas, têxteis, entre outras.

Suas coordenadas geográficas são Lat.: 26°28'40.80"S e Long.: 49° 1'20.20"O (Datum SIRGAS 2000).

Figura 12. Ponto de coleta amostral #3: Localizado próximo à confluência com o rio Itapocu na Bacia Hidrográfica do Itapocu. Apresenta atividade de pastagem de animais bovinos e equinos.



Fonte: A autora.

4.3 AMOSTRAGEM

A amostragem em campo foi realizada em distintas datas durante as estações do ano (Tabela 4), sendo as coletas das amostras de água efetuadas para todos os pontos amostrais na estação da primavera, verão, outono, inverno e primavera, respectivamente, para a posterior análise da água através dos ensaios de ecotoxicidade aguda, crônica e genotóxica.

Tabela 4. Periodicidade das amostragens no rio Itapocuzinho para os três pontos de coleta.

Estações do Ano	Data da amostragem
Primavera	27/10/2014
Verão	03/02/2015
Outono	04/05/2015
Inverno	14/07/2015
Primavera	25/10/ 2015

Fonte: A autora.

A preparação dos frascos de coleta, o transporte, o emprego adequado de equipamentos de campo, o preenchimento da ficha de coleta em campo, a adoção de medidas de segurança

seguiram os critérios estabelecidos pela Associação Brasileira de Normas Técnicas com a norma NBR 9897, no que se refere às condições exigíveis para a elaboração de planejamento de amostragem de efluentes líquidos e corpos de água receptores (ABNT, 1987).

Os procedimentos de amostragem e preservação das amostras para posterior utilização nos ensaios de ecotoxicidade seguiram a metodologia descrita na ABNT (2007) através da norma NBR 15.469 no que diz respeito à Ecotoxicologia aquática – Preservação e preparo das amostras a serem utilizadas em ensaios ecotoxicológicos.

4.4 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Os parâmetros físico-químicos em campo e em laboratório foram mensurados pela sonda multiparamétrica HANNA HI-9828, observando-se que o parâmetro turbidez foi quantificado somente em campo pelo equipamento Turbidímetro Portátil da marca HACH modelo 2100Q (Tabela 5).

Tabela 5. Equipamentos utilizados para a medição dos parâmetros físico-químicos em campo.

Parâmetros	Equipamento Portátil
Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
Oxigênio Dissolvido - OD ($\text{mg}/\text{L O}_2$)	Sonda multiparamétrica
Potencial hidrogeniônico – pH	HANNA HI-9828
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	
Turbidez (NTU)	Turbidímetro HACH 2100Q

Fonte: A autora.

As amostras para a análise físico-química seguiram a metodologia da norma NBR 9897 (1987) no que diz respeito à amostragem em cursos de água, sendo identificadas e coletadas em recipientes de plástico em quantidade suficiente de água para que fosse imersa a sonda e realizado as leituras em campo e posteriormente em laboratório para a utilização nos ensaios.

Todos os resultados das análises foram comparados com a Resolução nº 357/2005 do CONAMA para água doce de classe II.

4.5 ANÁLISE DE AGROTÓXICOS

O procedimento de análise das amostras de água do rio Itapocuzinho quanto à presença dos agrotóxicos 2,4-D, Glifosato e Carbofurano foi realizada pela empresa LaboPrime Laboratórios Ltda considerando a resolução CONAMA N° 357:2005 para classe II de água doce.

As amostras da água do rio Itapocuzinho foram coletadas superficialmente, cerca de 20 a 30 cm da superfície, evitando-se zonas de turbilhões. A coleta foi realizada em única data, no dia 19/01/2016 pelo profissional da empresa contratada, sendo as amostras analisadas pelo procedimento metodológico da cromatografia gasosa em laboratório, seguindo o método analítico descrito na tabela 6 para cada agrotóxico.

Tabela 6. Descrição do método analítico aplicado aos três agrotóxicos em estudo.

	AGROTÓXICO	UNIDADE	MÉTODO ANALÍTICO
1	2,4-D	µg/L	USEPA Method 8270D
2	Carbofurano	µg/L	USEPA Method 8270D
3	Glifosato	µg/L	USEPA Method 300.1 – 04/99

Fonte: Laboprime Laboratórios Ltda.

4.6 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E GENOTÓXICOS

4.6.1 Cultivo microcrustáceo *Daphnia magna*

Os exemplares de *Daphnia magna* foram cultivados no laboratório de Ecotoxicologia e Meio Ambiente da Univille, de acordo com a norma NBR 12713:2009 da ABNT (2009) (Figura 13). O meio de cultivo (meio natural) foi composto de água destilada reconstituída com nutrientes, pH $7,8 \pm 0,2$, dureza total de $250 \pm 25 \text{ mg.L}^{-1}$ em CaCO_3 , com renovação do meio duas vezes por semana.

Os organismos foram mantidos em lotes de até 25 adultos por litro, em cristalizadores de 2.000 e 3.000 mL, com luminosidade difusa com fotoperíodo de 16 h de luz e 8 h de escuro, e temperatura de 18°C a 22°C.

Figura 13. Cristalizadores de vidros utilizados para o cultivo do organismo *Daphnia magna*



Fonte: A autora.

A alimentação do cultivo foi composta por uma suspensão de algas da espécie *Scenedesmus subspicatus* na quantidade aproximada de 10^6 células/mL⁻¹ por organismo adulto, diariamente, ou com intervalo de no máximo dois dias consecutivos, na ocorrência de feriados e finais de semanas. A cultura-estoque da alga, contendo o meio Oligo, foi mantida refrigerada a temperatura de 4°C a 10°C, em meio líquido, por no máximo duas semanas.

O alimento foi fornecido diariamente na proporção de 0,5 ml de alimento composto, constituído por proporções iguais de ração para peixe ornamental fermentada e solução de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*).

O inóculo das algas foi realizado em meio asséptico (autoclavado em 121°C por 15 min) de modo que se obtivesse aproximadamente 10^6 a 10^7 células/mL⁻¹ em um período de aproximadamente sete dias em temperatura entre 20°C a 30°C, sob iluminação e aeração contínuas. Após atingir o crescimento adequado, as culturas eram centrifugadas para retirar o excesso do meio de cultura da alga e ressuspensas com a água reconstituída utilizada para o cultivo de *Daphnia magna* (meio natural).

4.6.1.1 ENSAIO AGUDO *Daphnia magna*

A metodologia para a realização do teste agudo com o microcrustáceo *Daphnia magna* seguiu a norma 12.713:2009 da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade Aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea).

O ensaio constitui-se na exposição de organismos jovens (neonatos de 2 a 26 horas) às amostras da água do rio Itapocuzinho coletadas nas datas do dia 27/10/2014, 03/02/2015, 04/05/2015 e 14/07/2015, nos três diferentes pontos amostrais (#1, #2 e #3) sem diluição, ou seja, com a concentração de 100%, bem como à água de diluição (controle), durante um período de 48 horas, considerando-se todas as condições prescritas na referida norma.

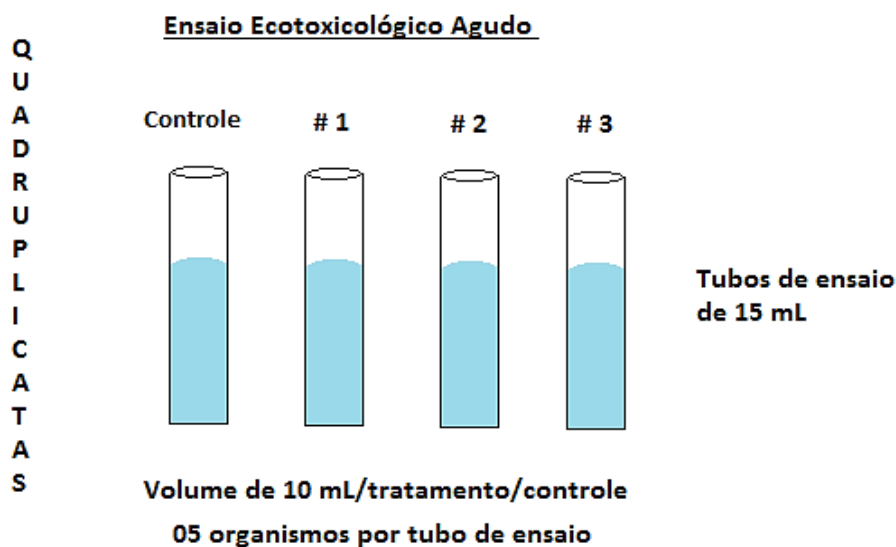
O controle foi realizado através de meio natural utilizado para o cultivo do organismo em laboratório, tratando-se de água do rio Quiriri, conforme análise (Anexo A), no município de Joinville, acrescida de elementos traços e vitaminas. Os parâmetros físico-químicos acompanhados no início e ao final do ensaio foram: pH, temperatura, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica.

Para o desenvolvimento da referida metodologia, os recipientes utilizados foram tubos de ensaio de 15 mL, devidamente higienizados com solução de HNO_3 e identificados conforme o tratamento (ponto amostral). Em cada tubo de ensaio foram adicionados 10 mL de cada amostra na concentração de 100%, o mesmo ocorrendo para o controle (meio natural).

Os tratamentos e o controle foram preparados em quadruplicatas contendo 05 organismos-testes, totalizando um número de 20 indivíduos por ponto amostral (Figura 14), e para o controle.

Ao fim do experimento, os recipientes foram incubados a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, com ausência de alimentação e fotoperíodo de 16:8h por 48 horas. Durante o período do teste os recipientes foram armazenados em incubadora e cobertos com filme PVC para evitar a evaporação e prevenir qualquer contaminação.

Figura 14. Esquema metodológico para a realização do ensaio agudo.



Fonte: A autora.

Cumprido o período de incubação, foi realizada a contagem dos organismos de acordo com sua mobilidade, e então quantificados aqueles incapazes de nadar na coluna d'água durante um período de até 15 segundos após uma leve agitação do recipiente ou aqueles flutuantes na superfície, mesmo que apresentando movimento.

4.6.1.2 ENSAIO CRÔNICO *Daphnia magna*

Para a realização dos ensaios crônico foram utilizados organismos jovens do microcrustáceo *Daphnia magna* (2- 26 horas de idade) obtidos a partir de fêmeas cultivadas no laboratório de Ecotoxicologia e Meio Ambiente da Univille.

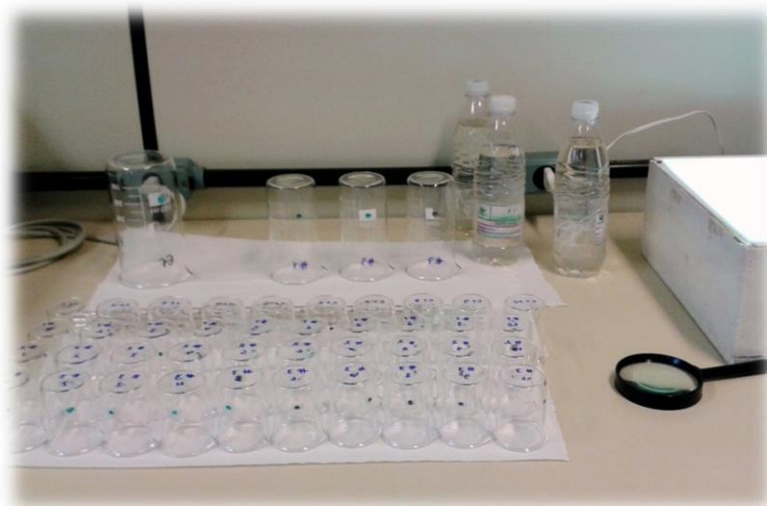
Perfazendo um número de 04 ensaios, estes referentes às coletas das datas de 27/10/2014, 03/02/2015, 04/05/2015 e 14/07/2015. Juntamente com as amostras do rio Itapocuzinho, os organismos foram submetidos à solução controle (Meio natural).

A metodologia do teste seguiu a norma estabelecida pela International Organization for Standardization – ISO 10.706 (2000), sendo os organismos expostos por um período de 21 dias sob as mesmas condições controladas diariamente no cultivo.

Os tratamentos amostrais e o controle foram desenvolvidos em número de 10 réplicas, dispondo individualmente de 10 organismos-teste em cada béquer de 50 mL (Figura 15).

Cada béquer recebeu um volume de 25 mL das amostras e do controle. Levados à incubadora, os recipientes foram cobertos com filme PVC para evitar a evaporação e contaminação do teste por bactérias ou fungos.

Figura 15. Arranjo esquemático do desenvolvimento inicial do ensaio crônico com *D. magna*.



Fonte: A autora.

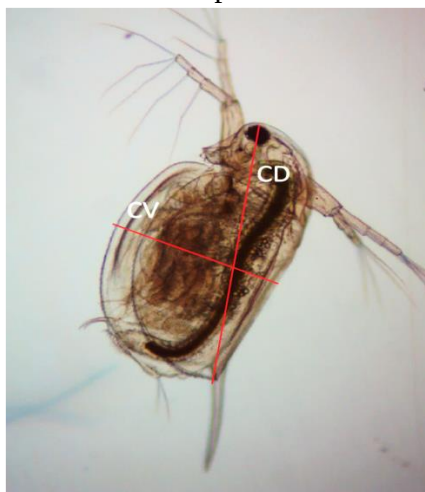
Os organismos expostos eram acompanhados ao longo dos 21 dias, sendo que na primeira semana recebiam alimentação diária com a microalga *Scenedesmus subspicatus* na concentração aproximada de 10^6 células/mL⁻¹. A partir da segunda semana os jovens de *Daphnia magna* eram alimentados em dias alternados: Segundas, quartas e sextas-feiras. Nestes mesmos dias as soluções-testes antigas e o controle eram renovados, porém conservando-se o mesmo volume inicial e tendo a devida atenção para a manutenção dos parâmetros físico-químicos dentro dos padrões toleráveis pela espécie.

Os filhotes gerados em cada tratamento (Ponto #1, #2, #3 e controle) foram transferidos para um novo recipiente para realização da medição do comprimento dos mesmos. Os espécimes de *Daphnia* adultas encontradas mortas foram registrados e a réplica a qual pertencia, descartada.

Ainda no decorrer dos ensaios crônicos, foram analisados os parâmetros sobrevivência das fêmeas adultas (BASTOS, 2013), na ocorrência de alguma morte, e a medição dos indivíduos jovens de *Daphnia magna* gerados por fêmea/réplica/amostra (Figura 16). Para a medição do parâmetro morfológico dos neonatos de *Daphnia magna*, o presente estudo baseou-se no método descrito por Pereira et al. (2004), utilizando-se para isto as medidas ventral e dorsal do corpo dos neonatos para posterior relação entre as mesmas com o perfil de

toxicidade das amostras analisadas (Campos, 2015). Foram utilizados um microscópio óptico da marca Leica modelo DM 1000 e um notebook contendo o programa ToupView 3.7 para o registro das medidas dorsal e ventral e gravação das imagens de cada indivíduo.

Figura 16. Registro fotográfico e medição dos indivíduos jovens do microcrustáceo *Daphnia magna* com idade de até 48 horas. CV: Comprimento Ventral; CD: Comprimento Dorsal.



Fonte: A autora.

Findado o ensaio crônico foram analisados também os parâmetros longevidade, no que diz respeito ao tempo de vida de cada fêmea durante os 21 dias da realização do teste, e fecundidade das mesmas através do número de filhotes decorrido das posturas, seguindo a metodologia proposta por Brentano (2006) para análise destes resultados.

Os organismos que morreram antes do final do teste também foram medidas, desde que a morte tivesse ocorrido após o 18º dia de teste. A medida de eventuais machos presentes nos testes não foram contabilizados para geração das médias de crescimento devido ao dimorfismo sexual.

A fecundidade foi avaliada pela contagem dos neonatos gerados pelas fêmeas no período de 21 dias. Como parâmetro foi utilizado a média de filhotes gerados por fêmea, considerando o número de posturas ao longo do teste. Esta média foi obtida através da equação 01:

$$\text{Média} = \frac{\text{nº total de filhotes}}{21 \text{ dias} - \text{nº de não posturas}}$$

Equação 01

Para cálculo desta média, no caso de haver morte de fêmeas adultas, não se considera esta mãe e exclui-se o número de filhotes que ela havia produzido até então. Mas esta subtração só é feita quando a fêmea morre antes do 18º dia de teste, pois, após este período, a reprodução é muito flutuante e a ausência de filhotes neste período não irá interferir nos dados alçados.

4.6.2 ENSAIO GENOTÓXICO *Daphnia magna*

O ensaio do Cometa (Single Cell Gel Assay) permite obter grande quantidade de dados em células individuais, necessita de um número extremamente pequeno de células (< 10.000), tem grande sensibilidade e pode ser realizado virtualmente com qualquer tipo de célula de eucarioto (BERTOLETTI & ZAGATTO, 2014).

Para a realização do ensaio de genotoxicidade foram utilizados os exemplares adultos de *Daphnia magna*, os quais foram anteriormente submetidos a 02 testes agudo (48 horas) e a 01 teste crônico (21 dias), sendo que para tal seguiu-se a metodologia proposta por Pellegrin et al. (2014) com algumas adaptações, reportadas nas etapas baixo, frente às melhores respostas obtidas nos pré-ensaios.

Findados os ensaios agudo e crônico acima citados, os indivíduos jovens e adultos, respectivamente, foram transferidos dos recipientes nos quais estavam durante a realização dos ensaios ecotoxicológicos para papéis filtro absorventes para a retirada do excesso de água presente. Com o auxílio de uma agulha estes eram transferidos para tubos de eppendorf de 1,5mL contendo 400µl de tampão P (para facilitar a posterior extração da amostra para o novo tubo eppendorf) e aproximadamente 100µl de microesferas de vidro de diâmetro de 0,25 – 0,50 mm para a extração da hemolinfa através de choque no equipamento amalgamador.

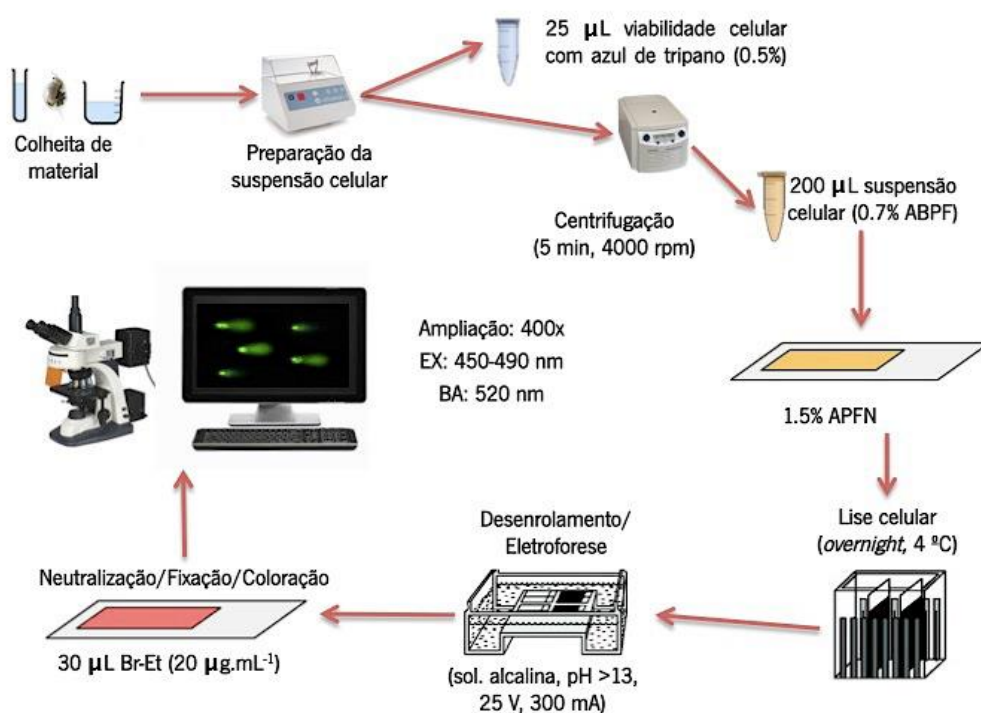
Após este processo, as células eram transferidas para a centrífuga por 5 minutos a 4000rpm para a obtenção do pellet e a retirada do sobrenadante. Decorrido a centrifugação, o material contido no pellet foi ressuspenso em dois novos eppendorf de 1,5mL, sendo que o primeiro continha 25µL do material celular para posterior visualização da viabilidade celular (corado com azul de tripan 0,5%) e o segundo contendo 25µL da suspensão celular embebida em 200µL de agarose de baixo ponto de fusão (BPF 0,7%).

A suspensão celular contendo agarose de baixo ponto de fusão é então depositada sobre as lâminas de microscopia que estavam previamente limpas com álcool 70% e embebidas em agarose de ponto de fusão normal (PFN 1,5%). Posteriormente, as amostras postas sobre as lâminas eram deixadas a sofrer lise celular por período não inferior a 16 horas a 4°C para a digestão de plasma e membranas celulares.

A seguir a metodologia consistiu em fazer passar uma corrente elétrica de 25V pelas células lisadas, pelo período de 10 minutos, sendo que anteriormente a esta etapa, as amostras adicionadas nas lâminas ficaram em repouso por 5 minutos na cuba de eletroforese. As lâminas contendo o material amostral eram em seguida neutralizadas com 02 mL de tampão de neutralização e fixadas em álcool etílico a 96%, para que então fossem deixadas a secar em temperatura ambiente e armazenadas no laboratório de Biologia molecular em recipiente fechado para posterior visualização.

Após a coloração com brometo de etídio na concentração de 20ug/mL, 30 células por tratamento foram selecionadas e analisadas no microscópio de Fluorescência da marca Nova Optical Systems localizado no laboratório de Exotoxicologia, com aumento de 400x, filtro de barreira de 520nm e filtro de excitação de 450-490 nm (Figura 17).

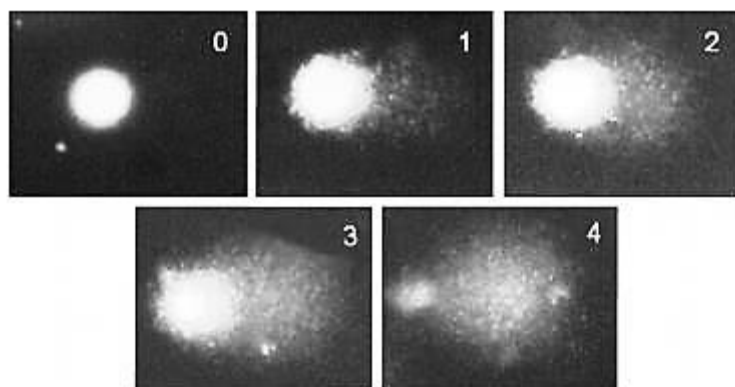
Figura 17. Etapas da metodologia para o desenvolvimento do ensaio genotóxico do Cometa.



Fonte: Campos, 2015.

Posterior ao processo de coloração e visualização do material, 30 células por tratamento e controle foram visualmente classificadas em 5 categorias de acordo com o dano que apresentaram ao DNA: 0 (ausência de dano), 1- 4 categorias representativas de crescente intensidade do comprimento da cauda, sendo 4 o dano máximo às células, conforme metodologia proposta por Collins et al., (1995).; Collins (2004); Campos (2015) (Figura 18).

Figura 18. Classificação visual quanto ao dano nas células cometas (Collins et al., (1995).; Collins (2004); Campos (2015)).



Para cada indivíduo duas avaliações foram feitas. Calculou-se o Índice de Dano (ID), definido como o dano total sofrido pelo indivíduo e a Frequência de Dano (FD), considerada como o número de células que sofreram algum tipo de dano expresso em forma de percentagem. Para o cálculo do Índice de Dano admitiu-se a seguinte fórmula: $ID = [(N^{\circ} \text{ de cometas classe } 0 \times 0) + (N^{\circ} \text{ de cometas classe } 1 \times 1) + (N^{\circ} \text{ de cometas classe } 2 \times 2) + (N^{\circ} \text{ de cometas classe } 3 \times 3) + (N^{\circ} \text{ de cometas classe } 4 \times 4)]$. Sendo assim, a classificação total por tratamentos permaneceu em uma faixa entre 0 a 120, em razão do número de cometas analisados por tratamentos a cada ensaio (Silva, 2008; Campos, 2015).

Para o cálculo da Frequência de Dano considerou-se o uso da seguinte fórmula: $FD = [(N^{\circ} \text{ de cometas classe } 1) + (N^{\circ} \text{ de cometas classe } 2) + (N^{\circ} \text{ de cometas classe } 3) + (N^{\circ} \text{ de cometas classe } 4)]$. Deste modo, a Frequência de Dano variou numa pontuação entre 0 (sem células lesionadas) a 100 (todas as células lesionadas).

4.6.3 Cultivo alga *Scenedesmus subspicatus*

Para o cultivo da microalga *Scenedesmus subspicatus* seguiu-se a metodologia segundo a NBR 12.648/1992 da ABNT, a partir de um inóculo conservado em meio Oligo. A cultura-

estoque era mantida em aeração constante no laboratório de Ecotoxicologia e Meio Ambiente da Univille, a temperatura ambiente ($20 \pm 30^{\circ}\text{C}$) e iluminação contínua, acima de 4000 lux (Figura 19).

Figura 19. Cultivo da microalga *Scenedesmus subspicatus* em meio oligo.



Fonte: A autora.

No terceiro dia, retirou-se uma alíquota e determinou-se a biomassa algal por contagem em câmara de Neubauer, em microscópio óptico. A pré-cultura apresentou densidade algal de 10^6 células mL^{-1} e foi mantida por três dias nas mesmas condições que o ensaio definitivo para que posteriormente se iniciassem o ensaio crônico com a microalga.

4.6.3.1 ENSAIO CRÔNICO *Scenedesmus subspicatus*

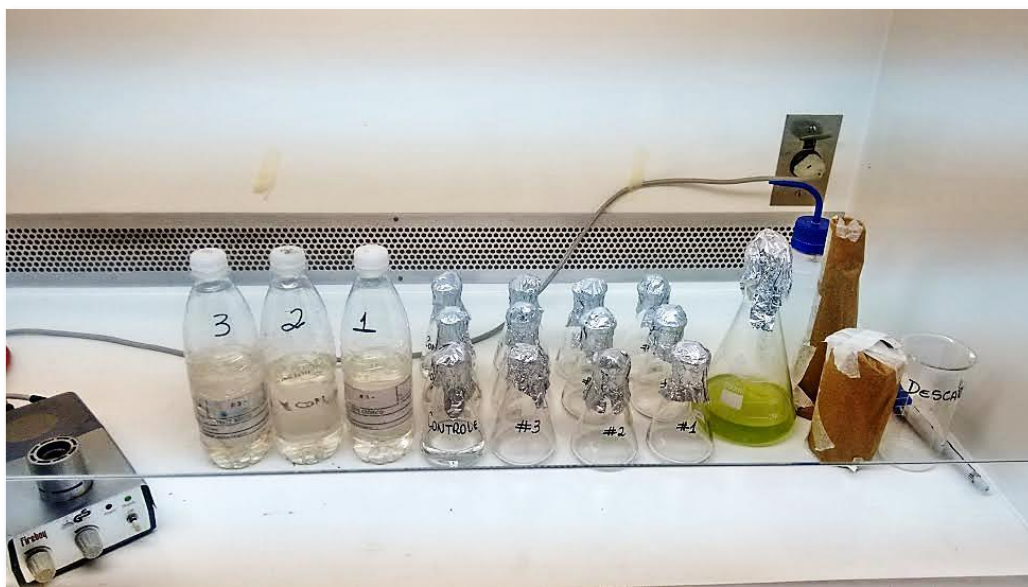
No preparo do teste, utilizou-se água reconstituída como diluente (meio Oligo), sendo que os testes foram mantidos nas mesmas condições ambientais que os lotes de cultivo, com luminosidade difusa, iluminação contínua (lâmpada fluorescente), velocidade de agitação de 135 rpm e temperatura de 25°C .

Os organismos-testes ficaram expostos em concentração pura da amostra do ponto #1, #2 e #3, além do controle (somente água reconstituída – Meio Oligo), por um período de 72h.

Os tratamentos, que continham as amostras, e o controle foram feitos em triplicata em erlenmeyer de 125 mL. Cada recipiente continha 50 mL da amostra do respectivo tratamento e para o controle respeitou-se o mesmo volume para com o meio Oligo.

A inoculação da alga (Figura 20) foi realizada em meio totalmente asséptico com o material necessário anteriormente autoclavado e o ambiente esterilizado. Posteriormente ao acréscimo biomassa de alga, no valor celular aproximado de $10^5 - 10^6$, os erlenmeyers eram cobertos com rodilhões novos para evitar contaminação externa.

Figura 20. Inoculação da microalga *Scenedesmus subspicatus* nas amostras.



Fonte: A autora.

O objetivo deste teste foi determinar o efeito tóxico através da inibição do crescimento da biomassa algácea (IC) nos tratamentos confrontando com o controle nas quatro coletas amostrais (03/02/2015, 04/05/2015, 14/07/2015 e 25/10/2015).

A contagem inicial do inóculo, bem como a concentração final de algas em cada réplica foi procedida de quantificação das células em câmara de Neubauer contando-se 05 quadrados do quadrado central (25 quadrados) e assim equivalendo a 1/5 do volume total.

Para a determinação da inibição do crescimento da biomassa algácea foi utilizado a equação abaixo, a qual comparou a taxa de crescimento médio obtida entre as triplicatas dos tratamentos e a taxa de crescimento médio obtida na solução do controle (Equação 02).

$$IC = \frac{Mc - Ma}{Mc} \times 100$$

Equação 02

Onde: IC: é a porcentagem de inibição do crescimento algáceo.

Ma: é a média do número de células das soluções-teste.

Mc: é a média do número de células da solução controle.

4.7 PROCESSAMENTO DOS DADOS

Posteriormente à realização dos ensaios agudo com o microcrustáceo *Daphnia magna*, os resultados foram expressos qualitativamente como tóxico ou não tóxico para o organismo teste e plotados em tabela para a melhor elucidação dos dados.

Para os resultados dos ensaios crônicos com os organismos *Daphnia magna* aplicou-se análise estatística ANOVA para a verificação da existência de diferenças entre as médias dos tratamentos e controle, e posteriormente, para os resultados que mostraram-se significativos, foi realizada a análise de Dunnet pelo programa Statistica 8.0[®]. Por se tratar de dados paramétricos, anteriormente às análises estatísticas foram necessárias a avaliação da normalidade dos dados através do teste de Kolmogorov-Smirnov e da homogeneidade dos mesmos através do teste de Levene's para testar a hipótese nula de que não havia diferença entre os resultados dos tratamentos com o controle.

Para os ensaios crônico com a microalga *Scenedesmus subspicatus* aplicou-se a equação da Inibição do Crescimento (IC) Algáceo, calculando-se e tabulando o percentual do mesmo em relação ao controle.

Os resultados da análise dos cometas classificados em níveis de 0 a 4 foram somados e avaliados estatisticamente quanto a sua normalidade e homocedasticidade pela análise de variância (ANOVA) através do programa Statistica 8.0[®] para a verificação da diferença entre as médias dos tratamentos e o controle negativo. Não havendo diferença estatística significativa e os dados não apresentando normalidade, os mesmos foram classificados por tratamentos e por ensaio segundo o Índice de dano (ID), Frequência de Dano (FD) e o Dano ao DNA.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS ÁGUAS DO RIO ITAPOCUZINHO

Os valores encontrados para os parâmetros físicos e químicos em campo (TABELA 7) foram confrontados com Resolução CONAMA nº 357/05 para água doce de classe II e em sua maioria encontram-se dentro dos padrões estabelecidos para a manutenção da qualidade da água.

A tabela 7 apresenta os resultados dos parâmetros físico-químicos analisados em 03 pontos amostrais na sub-bacia hidrográfica do rio Itapocuzinho nas datas 27/10/2014, 03/02/2015, 04/05/2015, 14/07/2015 e 25/10/2015.

Tabela 7. Valores encontrados para os parâmetros físico-químicos das águas do rio Itapocuzinho: Condutividade elétrica, pH, Oxigênio Dissolvido, Temperatura e turbidez, seguidos da média e desvio padrão para cada ponto amostral.

Ponto Amostral	Data	Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	pH	Oxigênio Dissolvido (mg/L)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Turbidez (NTU)
PONTO #1	27/10/2015	47	6,50	4,50	26,35	40,8
	03/02/2015	50	7,31	1,23	23,05	4,38
	04/05/2015	52	7,69	3,43	19,27	6,18
	14/07/2015	108	7,88	5,20	20,49	9,76
	25/10/2015	44	7,20	5,90	17,21	10,00
	Média e DP	60,2±26,89	7,32±0,53	4,05±1,82	21,07±3,54	14,22±15,05
PONTO #2	27/10/2015	76	6,70	3,99	24,00	15,90
	03/02/2015	72	7,04	3,45	24,26	4,00
	04/05/2015	71	7,31	4,10	20,48	9,70
	14/07/2015	77	7,83	6,09	19,47	17,2
	25/10/2015	92	7,40	5,44	17,95	12,00
	Média e DP	76,40±8,44	7,15±0,42	4,22±1,10	21,23±2,80	10,26±5,27
PONTO #3	27/10/2015	111	6,52	3,59	25,52	13,30
	03/02/2015	93	7,01	4,30	26,09	4,19
	04/05/2015	80	7,34	4,21	21,43	22,00
	14/07/2015	78	7,21	5,80	21,05	18,50
	25/10/2015	120	7,90	5,60	18,23	6,00
	Média e DP	96,4±18,64	7,20±0,50	4,70±0,96	22,46±3,30	12,80±7,71

Cabe observar que os parâmetros físico-químicos da água estão diretamente relacionados à presença de matéria orgânica e inorgânica, além de influenciar na toxicidade das substâncias para os organismos ali existentes (NOGUEIRA NETO, 2009).

Figura 21. Valores médios, máximos e mínimos obtidos da condutividade elétrica: Variação espacial (A) e variação temporal da condutividade elétrica (B).

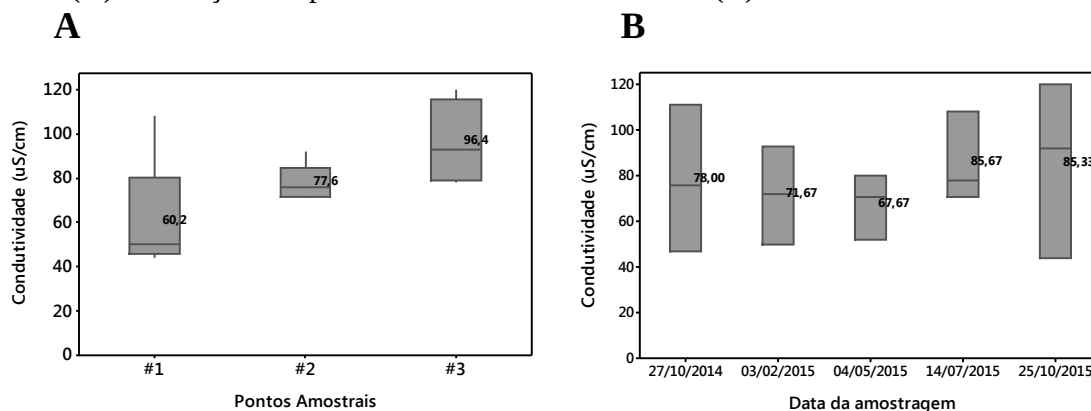
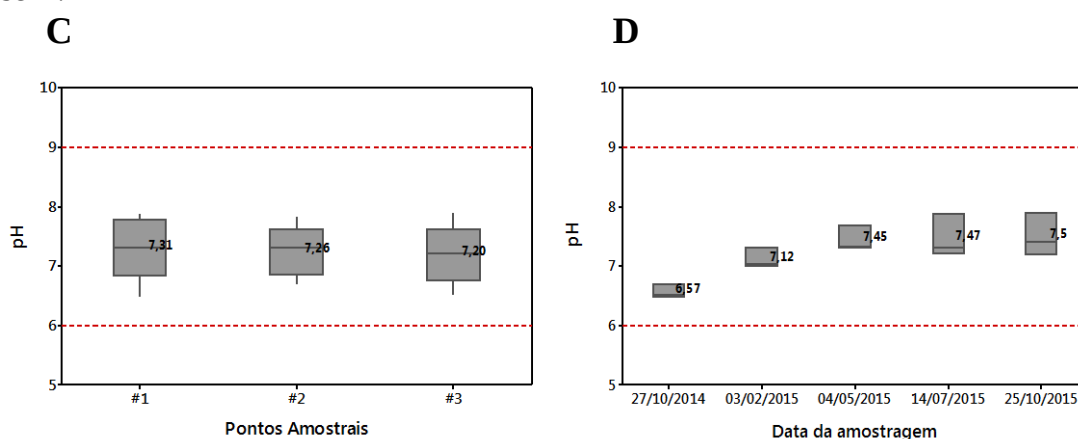


Figura 22. Valores médios, máximos e mínimos obtidos do pH: Variação espacial (C) e variação temporal do pH (D). — Faixa de valores aceitos pelo CONAMA nº357/2005 – classe II.



Em relação à condutividade elétrica notou-se uma oscilação espaço-temporal dos valores para este parâmetro nos três pontos amostrais (Figura 21). A variação espacial da condutividade esteve entre o valor médio de 60,20 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no Ponto #1 a 96,40 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no Ponto #3, o qual apresentou o maior valor médio em relação aos demais pontos. De acordo com a figura 21. A, o aumento da condutividade dá-se da montante (Ponto #1) a jusante (Ponto #3), significando que os valores mais elevados são possivelmente devidos ao despejo de efluentes domésticos e às atividades agrícolas nos campos marginais que provocaram a contaminação da água e, conseqüentemente, um aumento da quantidade de íons nela dissolvidos (VILLA, 2005; BOTELHO, 2013).

Nota-se também variação temporal da condutividade nas diferentes datas de amostragem, sendo que, este parâmetro apresentou influencia da sazonalidade, com os valores diminuindo da primavera para o verão e assim também para o outono, e aumentando na estação do inverno e primavera de 2015.

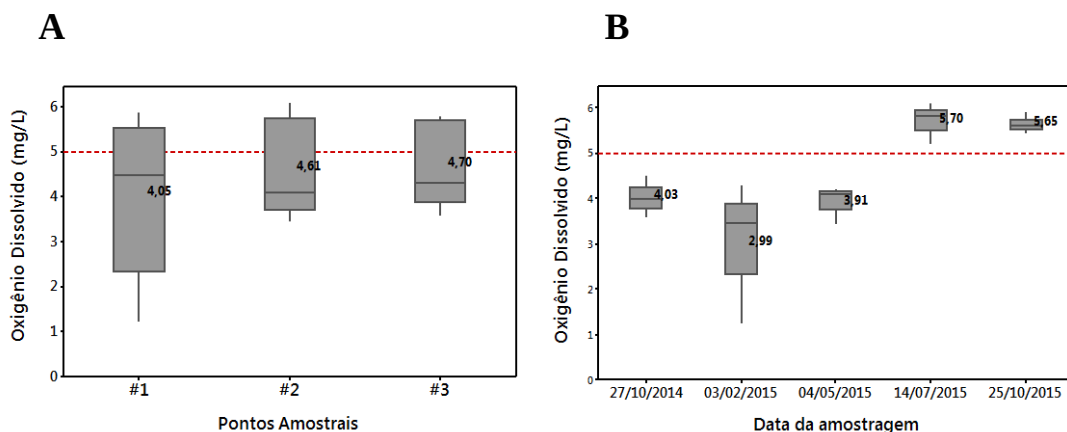
A variação espaço-temporal do pH no rio Itapocuzinho (Figura 22) demonstra semelhanças nos valores tanto dos pontos amostrais quanto das datas de amostragem. Estes valores médios mostraram-se, para todos os pontos, dentro dos padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 357/05 para classe II do rio com valores na faixa de 6,0 a 9,0.

Souza (2012) através do monitoramento dos parâmetros físico-químicos da Bacia hidrográfica do rio Itapocu realizado entre os meses de março e abril de 2012 no município de Jaraguá do Sul encontrou valores de pH que variaram de 6,79 a 8,17, sendo a variação dentro dos 10 pontos amostrais analisados. Valores similares também foram encontrados em estudo realizado pela Amvali (2013) em estudo realizado no ano de 2012 a 2013 para o rio Itapocuzinho, abrangendo o valor mínimo de 6,60 e máximo de 8,03.

Segundo MINELLA (2005) a variação do pH pode ocorrer naturalmente na presença de ácidos carbônicos e húmicos dissolvidos, porém grandes alterações provêm de despejos industriais e águas residuais.

Com relação ao Oxigênio dissolvido (OD), Segundo a Resolução CONAMA nº 357/05 os valores permitidos para a manutenção da qualidade deste rio (Classe II) não devem estar inferiores a 5mg/L. Em sua maioria os pontos amostrais apresentaram-se com oxigênio dissolvido abaixo do valor referido, sendo somente nas datas de amostragem 14/07/2015 e 25/10/2015 que este parâmetro enquadrou-se segundo a referida resolução (Figura 23).

Figura 23. Valores médios, máximos e mínimos obtidos do oxigênio dissolvido: Variação espacial (A) e variação temporal do oxigênio dissolvido (B). — Faixa de valores aceitos pelo CONAMA nº357/2005 – classe II.



A figura 23 demonstra que na variação espaço-temporal do oxigênio dissolvido, a média dos valores nos três pontos amostrais está abaixo do valor descrito pela Resolução CONAMA nº357/2005 para rios de classe II, evidenciando a presença de atividade consumidora de oxigênio nos três pontos amostrais do rio Itapocuzinho. Em relação à variação temporal do oxigênio dissolvido, o mesmo atingiu o valor mínimo de 1,23 mg/L (03/02/2015) e máximo de 6,09 mg/L (14/07/2015) (Tabela 7). Valores distintos foram encontrados para o rio Itapocuzinho no ano de 2012 a 2013 em estudo realizado pela Amvali, tendo como valor mínimo 5 mg/L e máximo de 9,74 mg/L.

A concentração de oxigênio dissolvido nos cursos d'água depende da temperatura, da pressão atmosférica, da salinidade, das atividades biológicas, e de características hidráulicas (PETRUF et al., 2011). Este parâmetro é um indicativo da conservação do ambiente que pode estar sendo afetado com presença de fontes de poluição ao seu entorno comprometendo a qualidade de sua água, bem como lançamentos pontuais de alguns efluentes. Segundo Minella (2005), as quedas significativas nas concentrações de oxigênio dissolvido são provocadas por despejos principalmente de origem orgânica.

Figura 24. Valores médios, máximos e mínimos obtidos da temperatura: Variação espacial (A) e variação temporal da temperatura (B).

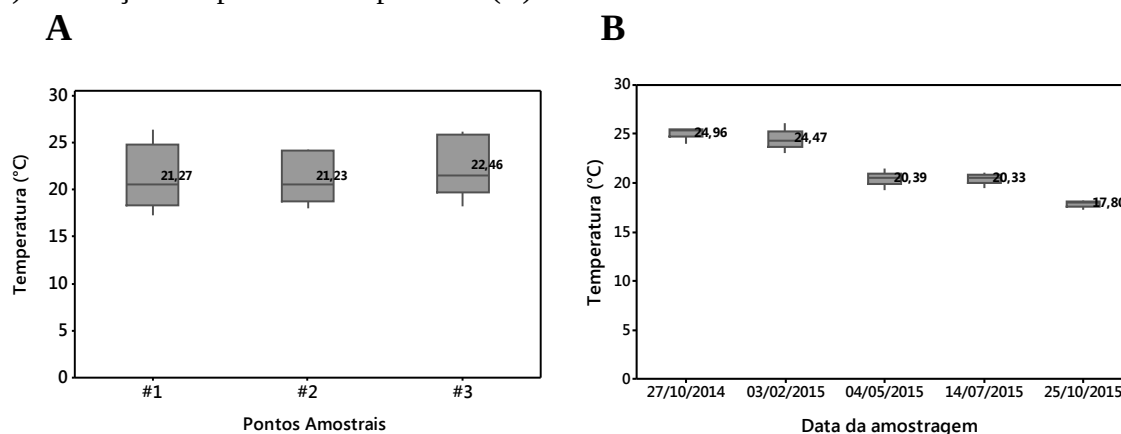
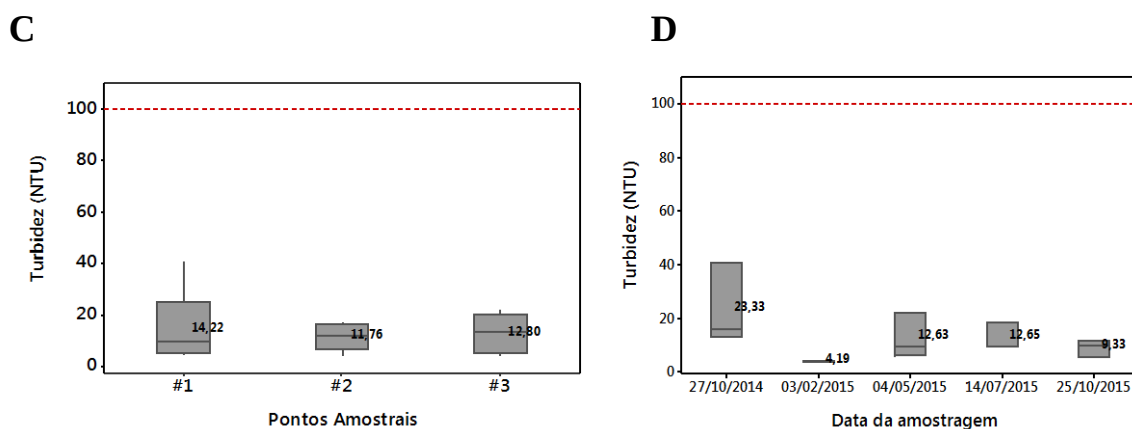


Figura 25. Valores médios, máximos e mínimos obtidos da turbidez: Variação espacial (C) e variação temporal da turbidez (D). — Faixa de valores aceitos pelo CONAMA nº357/2005 – classe II.



Na Resolução nº 357 CONAMA (2005), não constam os valores limites para o parâmetro físico-químico temperatura, porém é de conhecimento que este parâmetro é de extrema importância em avaliações de ambientes aquáticos, por refletir as variações sazonais (TOMAZELA, 2008).

A temperatura das amostras tiveram os valores distribuídos entre 17,80°C e 26,09°C (Figura 24). A distribuição dos valores para o parâmetro temperatura mostra a influência da variação sazonal e atmosférica (TOMAZELA, 2008), sendo que este comportamento de oscilação ocorre naturalmente de acordo com a variação da temperatura do ar, sendo influenciada também pela latitude, altitude, estações do ano, período do dia, vazão e profundidade (MINELLA, 2005).

Os dados da turbidez nas amostras apresentaram variações consideráveis, sendo descritos os valores médios na figura 25. Em termos espaciais e temporais, a turbidez não mostrou influência sazonal, e sim um aumento da média na data de amostragem 27/10/14 (Figura 25 D) em relação às outras datas de coletas. Este aumento pode estar relacionado às atividades agrícolas presentes em suas margens, bem como a aplicação dos defensivos agrícolas aplicados no mês de Setembro a Dezembro no cultivo de arroz e até o mês de Abril no cultivo da banana, sendo estas substâncias carregadas para o leito do rio após ventos e chuvas, impedindo a passagem de luz solar na água, devido à suspensão de micropartículas sólidas na lâmina d'água.

Valores altos podem expressar ambientes com margens instáveis e sem vegetação ripária para auxiliar na retenção de sedimentos (AMVALI, 2013). Em todos os pontos amostrais e nas diferentes datas de amostragem, a turbidez apresentou-se de acordo com a

resolução pertinente para a classe II de água doce com valores até 100 NTU, mantendo-se dentro de uma faixa aceitável para o equilíbrio da vida aquática.

5.2 ANÁLISE DE AGROTÓXICOS

O resultado da análise dos agrotóxicos 2,4-D, Carbofurano e Glifosato realizado pela empresa Laboprime está descrito no Anexo B. Na tabela 8 foram sintetizadas as informações a respeito desta análise mostrando a ausência ou mesmo a diminuta presença destes mesmos ingredientes ativos nos pontos amostrais localizados no rio Itapocuzinho para as cinco datas de amostragens.

Tabela 8. Resultado da análise dos agrotóxicos e o limite de quantificação dos mesmos.

AGROTÓXICO	PONTO DE COLETA	LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (µg/L)	RESULTADO (µg/L)
2,4 – D	#1	0,3	< 0,3
	#2		
	#3		
Carbofurano	#1	5,0	<5,0
	#2		
	#3		
Glifosato	#1	50,0	< 50,0
	#2		
	#3		

Embora a presente análise não tenha detectado os agrotóxicos em estudo, em outras condições pode-se ter efeito divergente ao encontrado, por exemplo, com a mudança da época do ano e o número de aplicações de pesticidas nos campos próximos, bem como a ocorrência e magnitude de eventos de chuva, se estas ocorreram logo após a aplicação de pesticidas, o que pode influenciar as concentrações dos pesticidas (LEITE, 2008).

O Brasil possui legislação específica sobre agrotóxicos (Lei nº 7.802/89), que regulamenta o uso em todo o território, apresentando os mesmos requintes de modernidade utilizados na legislação dos Estados Unidos, Europa e Canadá, os quais preveem a proibição de agrotóxicos que apresentem carcinogenicidade, mutagenicidade e teratogenicidade, e afetem assim o aparelho reprodutor e cause danos ao meio ambiente (GRISOLIA, 2005).

O grande problema da utilização destes produtos químicos tóxicos está relacionado aos possíveis impactos negativos que podem provocar quando atingem os ambientes aquáticos, espécies sensíveis e não- alvos (SOUZA, 2008).

Ainda que para o presente estudo a presença dos agrotóxicos 2,4-D, Carbofurano e Glifosato não tenham sido detectados pela determinada metodologia, deve-se levar em conta que raramente detectam-se estes compostos químicos em águas correntes, principalmente em águas de rio, mesmo em áreas similares à do presente estudo, com presença de atividades agrícolas sujeitas ao contato direto com agrotóxicos. Segundo Leite (2008), esta dificuldade na detecção dos agrotóxicos é devido à dinâmica dos corpos d'água de um rio, o qual transporta substâncias rio abaixo imediatamente após seu aporte no rio, além da baixa estabilidade dos compostos no ambiente. Visto que ao entorno do rio Itapocuzinho pratica-se em sua maioria o sistema pré-germinado para o cultivo de arroz, aplicando-se diretamente o agrotóxico na lâmina d'água, o mesmo é rapidamente metabolizado ou degradado por microorganismos decompositores presentes na coluna d'água e no solo.

Por tratar-se de uma análise realizada em um único período, e em momentos distintos aos os ensaios ecotoxicológicos deve-se considerar que, este resultado pode mostrar a realidade das águas do rio Itapocuzinho, porém convém alertar que a exposição humana e animal a qualquer concentração destes produtos pode causar efeito agudo, ou, até mesmo, após longo período de exposição, provocar dano crônico.

5.3 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E GENOTÓXICOS

5.3.1 Ensaio agudo com *Daphnia magna*

A tabela 9 apresenta os resultados dos ensaios ecotoxicológico agudo realizado com amostras dos três pontos amostrais do rio Itapocuzinho nas datas de 27/10/2014 (Primavera), 03/02/2015 (Verão), 04/05/2015 (Outono) e 14/07/2015 (Inverno).

Tabela 9. Resultados dos ensaios agudos com *Daphnia magna* para os três pontos amostrais. Percentual de mobilidade dos organismos ao final dos ensaios (%).

DATAS DE AMOSTRAGEM				
Tratamentos	27/10/2014	03/02/2015	04/05/2015	14/07/2015
Controle	100	100	100	100
Ponto #1	100	100	100	100
Ponto #2	100	100	100	100
Ponto #3	100	100	100	100
Resultado	Não Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico

Segundo a NBR 12713 (ABNT, 2009), a qual considera um ensaio agudo válido somente quando o mesmo apresentar no controle um número de imobilidade dos organismos submetidos ao teste menor que 10%. No presente estudo, observou-se que no controle, todos os organismos testados estavam vivos e apresentavam mobilidade, o que tornou capaz a realização dos testes com as amostras dos pontos de amostragem.

Para o presente trabalho as amostras do rio Itapocuzinho não apresentaram toxicidade aguda para o organismo *Daphnia magna* nos diferentes pontos de amostragem. O mesmo resultado foi encontrado por Brentano e Henrique (2010) na avaliação ecotoxicológica de três pontos amostrais no rio Papaquara, localizado em região urbana do município de Florianópolis, para o microcrustáceo *Daphnia magna*.

Assim como no presente estudo, Silva em 2012, não identificou toxicidade aguda para *D.magna* no estudo realizado no Brejo do Cagarrão em Portugal, o qual se encontrava majoritariamente ocupado pela atividade agrícola.

Em estudo realizado por Medeiros et al. (2010) e Campos (2015) no rio do Braço, no município de Joinville com o organismo *Daphnia similis* e *Daphnia magna*, respectivamente, não foram observados efeito tóxico agudo, com exceção do ponto RB2 para Campos (2015). Ainda segundo Campos (2015), utilizando o mesmo organismo teste para amostras do rio Cubatão (Joinville), observou-se toxicidade em um único ponto amostral (RC1), porém igualmente ao ponto RB2, o mesmo episódio de toxicidade pode ter ocorrido devido a alguma interferência no ensaio causando falso positivo, visto este resultado ter sido pontual para o mês de Janeiro e somente para dois dos cinco pontos amostrais. Os dois rios anteriormente citados apresentam diferentes atividades antrópicas, tais como, industrial, agrícola, urbanas e rurais, bem como a presença de empresas de mineração em trechos do rio do Braço.

5.3.2 Ensaio crônico com *Daphnia magna*

A validação do ensaio crônico quanto à longevidade, a sobrevivência e o número de posturas teve como base os trabalhos de Brentano (2006), Terra e Feiden (2003), os quais observaram como necessário para os organismos expostos a solução controle, o percentual de 80% dos organismos-teste com 21 dias de longevidade, 80% de sobrevivência e mínimo de 4 posturas durante os 21 dias.

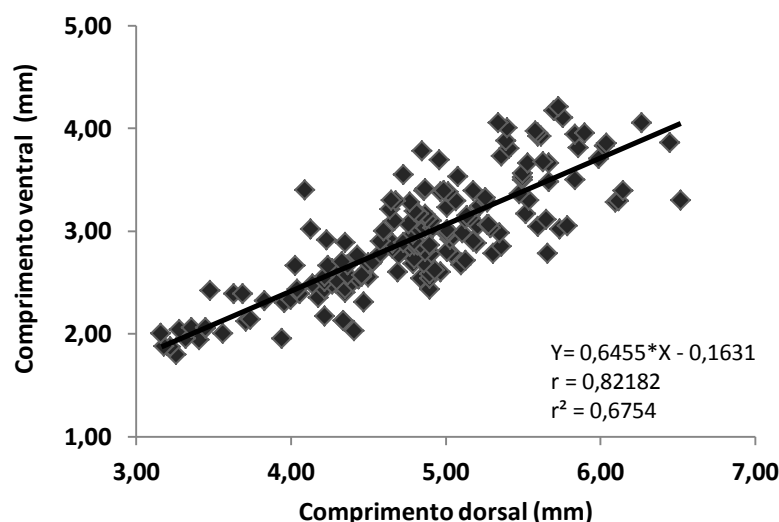
Os parâmetros biológicos aqui avaliados foram mensurados através de amostras coletadas nas datas de 27/10/2014 (Primavera), 03/02/2015 (Verão), 04/05/2015 (Outono), 14/07/2015 (Inverno).

5.3.2.1 Comprimento dos filhotes

Através da determinação do coeficiente de correlação linear de Pearson para as variáveis, os resultados das medições dos filhotes revelaram uma correlação linear forte positiva entre o comprimento dorsal e ventral dos filhotes ($r = 0,82182$, $n = 172$, $p < 0.05$). Similar resultado foi encontrado pela análise de regressão linear com um moderado coeficiente de determinação ($r^2 = 0,6754$) (Figura 26).

Assim como encontrado por Campos (2015), o coeficiente de regressão linear permite-nos afirmar que uma dada medida é boa estimadora da outra, ou seja, dado um valor hipotético de comprimento dorsal, é possível aferir o valor do comprimento ventral aproximado e vice-versa. De tal modo, pode-se dizer que apenas 33% da variância da regressão não depende das variáveis estudadas.

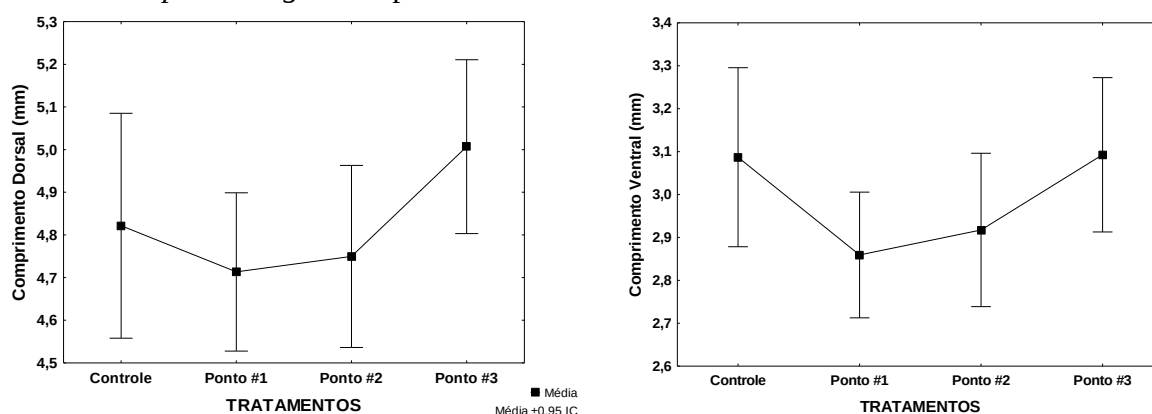
Figura 26. Gráfico de dispersão entre o comprimento dorsal (mm) e o comprimento ventral (mm) dos filhotes. Resultados do coeficiente de correlação de Pearson (r), da reta de regressão linear e do correspondente coeficiente de regressão linear (r^2).



Os resultados das medições do comprimento dorsal e ventral dos filhotes durante os 21 dias de ensaio crônico com o organismo *Daphnia magna* foram analisados quanto à

homogeneidade e normalidade dos dados e posteriormente realizada a análise de variância (ANOVA), a qual não mostrou diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos e o controle ($p > 0.05$) considerando-se um intervalo de confiança de 95% (Figura 27). Significando assim, que as amostras do rio Itapocuzinho não apresentaram efeito sobre a biometria dos organismos estudados.

Figura 27. Médias e respectivos desvios-padrão para o comprimento dorsal e ventral dos filhotes de *Daphnia magna* nos pontos amostrais e controle.



Erzinger et al. (2014) em estudo realizado com efluente de hemodiálise no ano de 2012-2013 utilizou-se da relação alométrica do comprimento ventral e dorsal da *D. magna* para determinar a toxicidade crônica em diferentes concentrações do efluente no início e ao final da exposição do organismo-teste. Semelhante metodologia foi utilizada por Pereira et al. (2004), o qual tinha como objetivo comparar a relação alométrica entre *Daphnia magna* Straus e *Ceriodaphnia dubia* para servir como subsídio na aplicação de experimentos na ecotoxicologia.

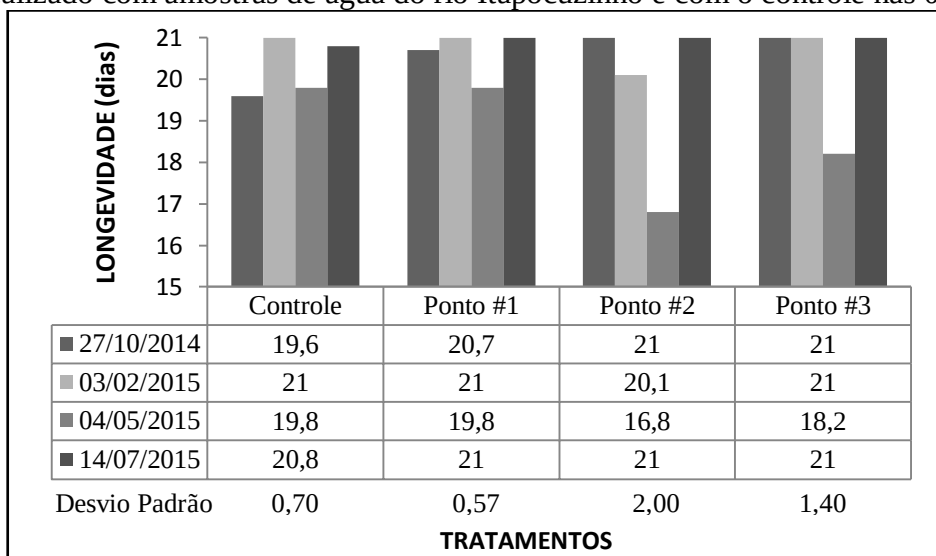
O resultado do presente trabalho representa a ausência de toxicidade para o microcrustáceo *Daphnia magna* nos três pontos amostrais ao longo do período de amostragem, não isentando momentos os quais podem ser encontrado grau de toxicidade devido ao lançamento de efluentes e matéria orgânica indevidamente no rio.

O comportamento dos dados mostrou semelhante tendência entre o controle e os tratamentos para este parâmetro, mostrando assim que a qualidade da água do rio Itapocuzinho mantém-se conservada nos Pontos amostrais #1, #2, e #3, possibilitando a manutenção de indivíduos jovens do organismo-teste e não os afetando em sua morfologia no que consta neste trabalho quando ao crescimento dorsal e ventral.

5.3.2.2 Longevidade

Os valores observados para a longevidade (dias) mostraram ausência de toxicidade crônica das amostras providas dos pontos de amostragem #1, #2 e #3 para o organismo *D. magna* (Figura 28).

Figura 28. Gráfico com valores médios da longevidade para *D. magna* no teste de toxicidade crônica realizado com amostras de água do rio Itapocuzinho e com o controle nas 04 coletas.



Nos 04 ensaios desenvolvidos com o meio de cultivo M4 (Controle), acima de 96% das Daphnias tiveram longevidade de 21 dias, observando-se, contudo, que os organismos expostos aos pontos amostrais #2 e #3 (Figura 28), apresentaram longevidade inferior à média na data de 04/05/2015, o que pode ter ocorrido devido a algum fator estressante que reduziu a longevidade dos indivíduos naquele ecossistema. Para as outras datas de amostragem e para os demais pontos amostrais, a longevidade variou entre 19,6 a 21 dias (93,33 a 100%), não mostrando influência da sazonalidade.

Engel (2014) observou que longevidade dos organismos-teste (*D. magna*) expostos a diferentes concentrações foi de 21 dias, e variou de acordo com a concentração de sorbato de potássio em que o organismo foi exposto.

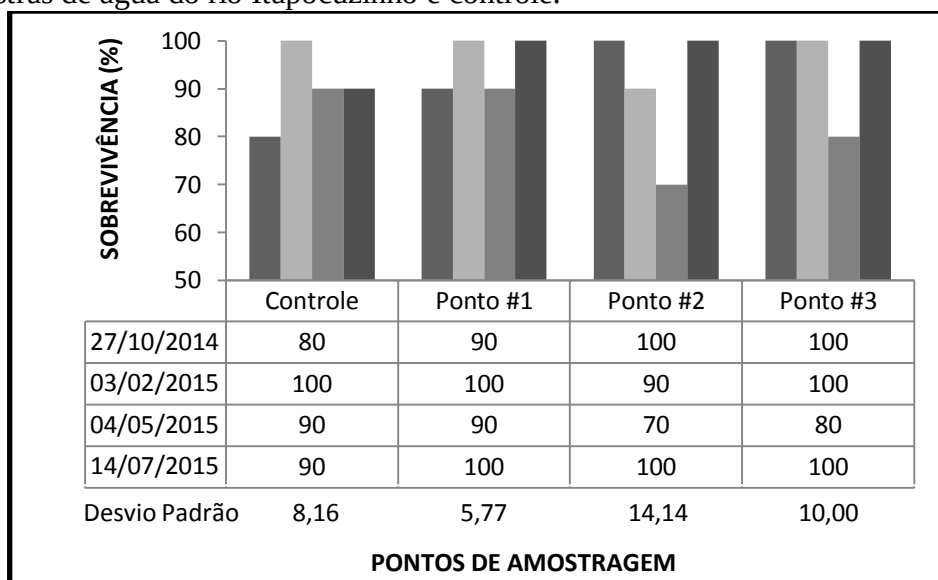
Este resultado foi também encontrado por Brentano (2006) em 09 testes realizados com o meio de cultivo M4 durante o ensaio crônico de 21 dias, no qual 100% das Daphnias tiveram longevidade de 21 dias. Quando realizado ensaio crônico com a amostra refrigerada e congelada do efluente tratado do aterro sanitário de Biguaçu, a autora também relatou o resultado de 21 dias de longevidade para o microcrustáceo.

5.3.2.3 Sobrevivência

Brentano (2006) e Terra e Feiden (2003) relatam como necessário ao final dos 21 dias, apresentar no controle, no mínimo, 80% de sobrevivência.

Analisando os resultados obtidos nos 04 ensaios crônicos realizados para os Pontos #1, #2 e #3 com o microcrustáceo *Daphnia magna* não foram verificados diferenças estatísticas significativas entre os pontos e o controle, sendo obedecido o percentual mínimo de 80% de sobrevivência dos indivíduos durante os 21 dias no controle (Figura 29).

Figura 29. Sobrevivência média para *Daphnia magna* no teste de toxicidade crônico realizado com amostras de água do rio Itapocuzinho e controle.



A sobrevivência entre os pontos amostrais e o controle teve seus valores médios distribuídos na faixa de 80 a 100% de sobrevivência dos indivíduos adultos, sendo que para o Ponto #2 na data de amostragem 04/05/2015, este percentual decresceu para 70%. Os organismos-testes expostos às amostras dos pontos #2 e #3 foram os que apresentaram a menor sobrevivência dos organismos e igualmente a longevidade (Figura 28) dos mesmos na data de 04/05/2015.

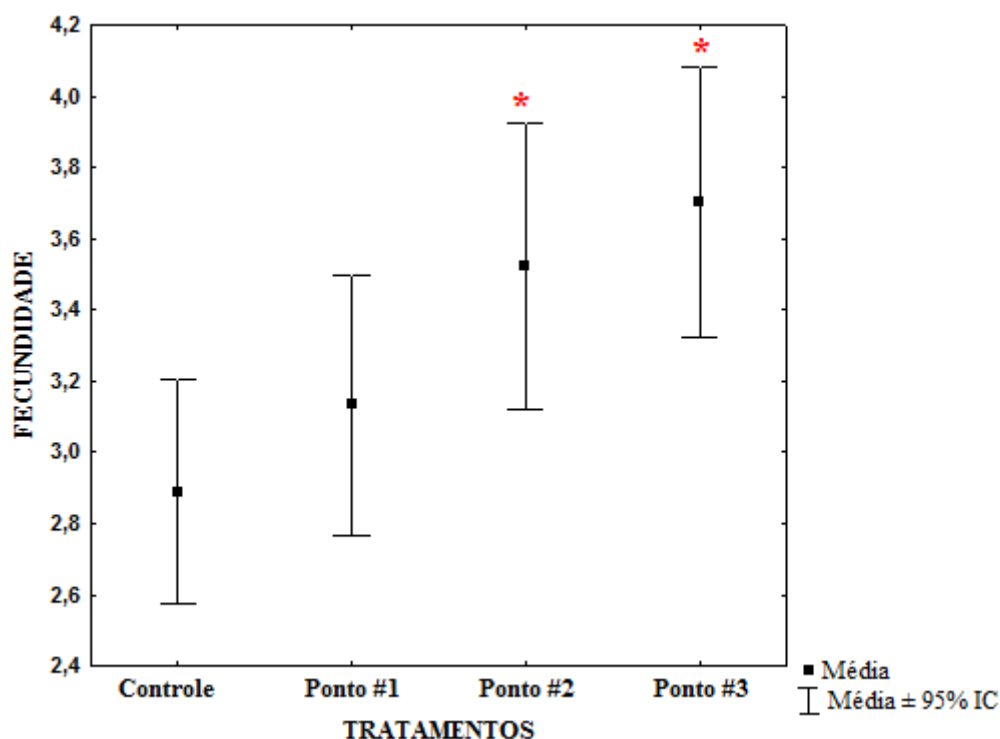
5.3.2.4 Fecundidade

A Resolução CONAMA nº 357/05, no capítulo III, Seção II e Art.14, deixa explícito o uso das avaliações ecotoxicológicas, dependendo da qualidade da água requerida, para a

proteção das comunidades aquáticas. Assim, nos recursos hídricos doces, pertencentes à classe I e II, não pode ser detectado efeito tóxico crônico.

A fecundidade de *D. magna* foi observada levando em consideração o número médio de filhotes gerados por postura em cada réplica. Os resultados obtidos para a reprodução de *D. magna* para os quatro testes realizados podem ser visualizados na figura 30, a qual relata diferenças estatísticas entre os tratamentos e o controle.

Figura 30. Resultado da fecundidade entre os tratamentos e o controle. Ensaio crônico de 21 dias com *Daphnia magna*. Dunnett: Ponto #1 $p > 0.05$ (0,636822); Ponto #2 $p < 0.05$ (0,037985); Ponto #3 $p < 0.05$ (0,004592).



A análise de variância (ANOVA) mostrou significância entre os tratamentos, com um p no valor de 0,006611, o qual também é menor que 0,05 para um teste com 95% de confiabilidade. Da mesma forma, procedeu-se com o teste paramétrico de Dunnett para verificar qual ou quais médias diferiram estatisticamente do controle.

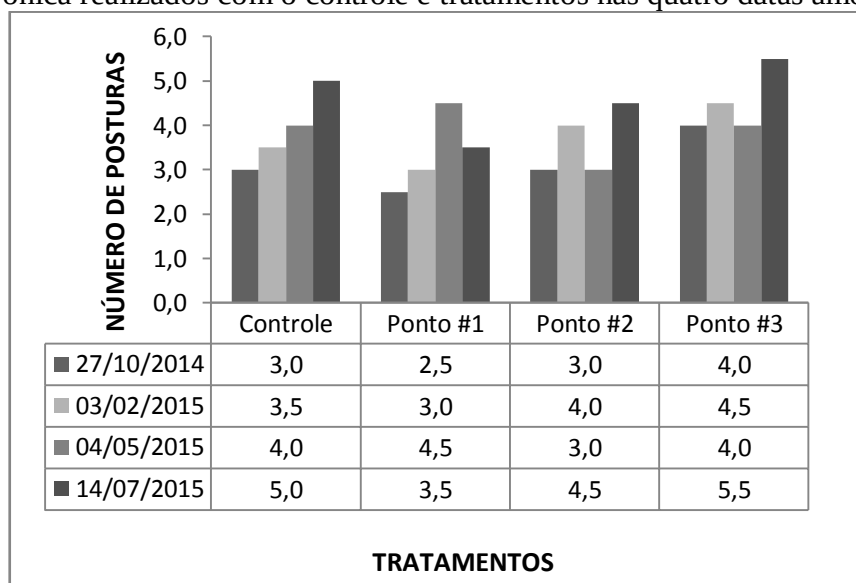
O resultado para o teste estatístico Dunnett mostrou um p no valor de 0,636822 para o Ponto #1, o qual não apresentou diferença significativa em relação ao controle. Diferente comportamento ocorreu com os valores de p para os Ponto #2 e #3, sendo 0,037985 e 0,004592, respectivamente, relatando assim toxicidade crônica para o organismo *Daphnia magna* nos pontos e datas de amostragem.

Resultado este que também é corroborado por Fuzinatto (2009), que encontrou toxicidade crônica nos quatro ensaios realizados com o organismo *D.magna* em pontos amostrais do rio Tavares, localizado na Ilha de Santa Catarina (SC) e pertencente à Bacia Hidrográfica do rio Tavares. O rio Tavares abrange área de manguezal com ausência de urbanização e vegetação conservada, porém ao decorrer do seu curso apresenta regiões fortemente urbanizadas com diversos tipos de residências e instalações comerciais.

Para o presente estudo a toxicidade apresentada nos Pontos #2 e #3 podem estar relacionada às características físicas do local, bem como com as atividades exercidas nesta área, sendo que o Ponto #2 apesar de ter a margem do rio ainda com presença de mata ciliar, apresenta influência direta dos despejos de agrotóxicos provindo do cultivo de banana e arroz. Refetente ao Ponto #3, o mesmo é desprovido de mata ciliar as margens do rio, sendo a pastagem a atividade principal exercida ao seu entorno, portanto ocorrendo expressivo aporte de substâncias e matéria orgânica para o leito do rio ocasionado assim o aumento na reprodução dos organismos devido à maior disposição de nutrientes.

Em relação ao número de posturas, Brentano (2006), Terra & Feiden (2003) apresentam como requisito necessário para a validação do ensaio crônico, que ao fim dos 21 dias de ensaio, apresentar no controle, o mínimo de 04 posturas. Resultado análogo foi relatado no presente estudo, no qual o controle obteve de 3 a 5 posturas (Figura 31).

Figura 31. Valor médio de posturas obtidas para *Daphnia magna* nos testes de toxicidade crônica realizados com o controle e tratamentos nas quatro datas amostrais.



Pode-se observar na figura 31, comportamento semelhante na média de posturas nos tratamentos no decorrer dos ensaios, ocorrendo de 2,5 a 5,5 posturas/fêmea a cada ensaio. Nota-se que o Ponto #3 obteve maior média de posturas em relação ao controle (4,0 a 5,5).

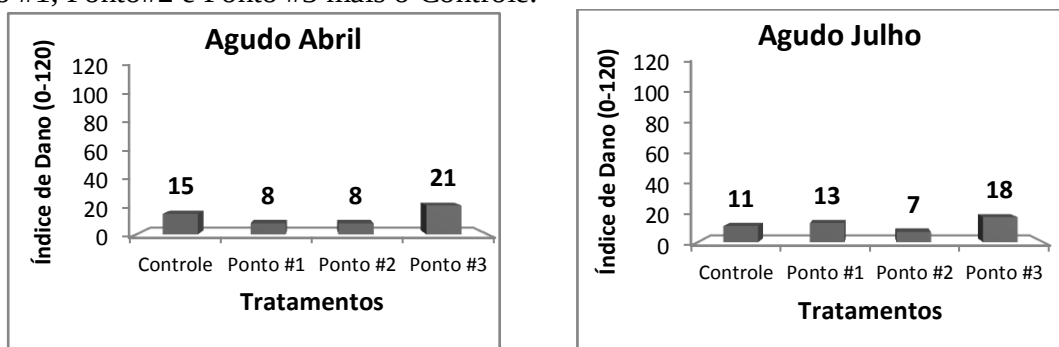
O aumento da fecundidade e do valor médio das posturas no ponto #3 pode ter ocorrido devido a uma estratégia para a manutenção do equilíbrio da população de daphnídeos, no qual a progenitora entende ser necessário um aumento na produção dos filhotes para compensar alguma perturbação ambiental, seja por matéria orgânica ou outras fontes de poluição. Este fato é também corroborado pela queda nos valores da sobrevivência e longevidade dos organismos frente às amostras dos pontos #2 e #3 (Figura 28 e 29). Semelhante situação também foi corroborada por Brentano (2006) e Galoski et al. (2015) com valores para fecundidade e posturas superiores ao encontrado para o controle.

5.3.3 ENSAIO GENOTÓXICO *Daphnia magna*

Os resultados do teste de genotoxicidade por meio do ensaio Cometa demonstraram que não houve efeito genotóxico significativo sobre o DNA dos organismos testados para as amostras do Ponto #1, Ponto #2 e Ponto #3 quando comparado com o Controle. Os resultados do Índice de Dano (ID) e a Frequência de Dano (FD), obtidos pelo teste genotóxicos após os ensaios Agudos de Abril e Julho e o Crônico de Julho, estão demonstrados na figura 32 e 33.

No presente estudo, a viabilidade celular demonstrou que as células encontravam-se viáveis para o Ensaio Cometa, com mais de 80% das células, assim como encontrado por Galoski et al. (2015) e Mucellini et al. (2010).

Figura 32. Gráficos com os resultados do Índice de Dano (ID) ao DNA dos organismos-testes por meio do teste genotóxico consecutivos aos ensaios agudo e ao crônico com as amostras do Ponto #1, Ponto#2 e Ponto #3 mais o Controle.



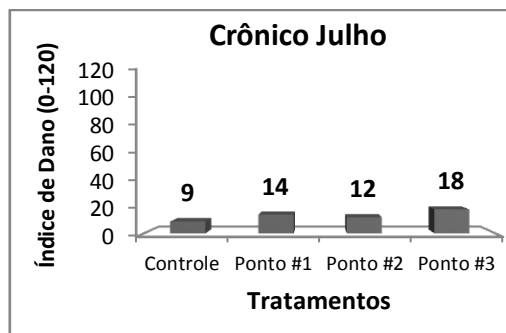
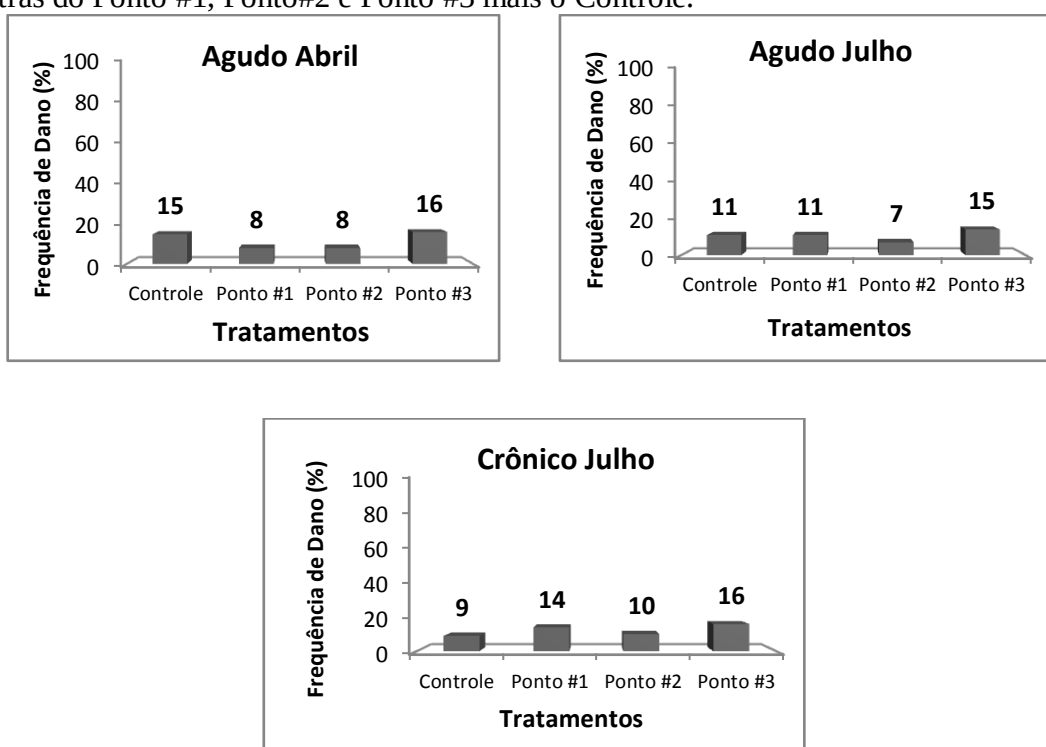


Figura 33. Gráficos com os resultados da Frequência de Dano (FD) ao DNA dos organismos-testes por meio do teste genotóxico consecutivos aos ensaios agudo e ao crônico com as amostras do Ponto #1, Ponto#2 e Ponto #3 mais o Controle.

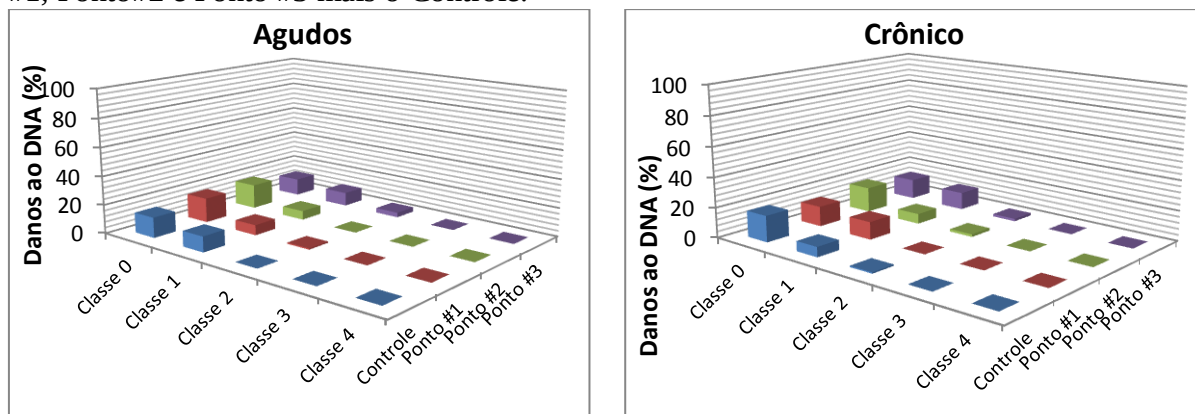


Pode-se observar na figura 32 e 33, que os valores do ID e FD para os três ensaios foram semelhantes entre si para o presente estudo, o que também foi corroborado por Silva (2008) no estudo da avaliação da genotoxicidade das águas do rio Criciúma (SC). Os valores do índice e frequência de dano aproximaram-se também dos valores encontrados para o controle, sendo o desvio padrão entre os pontos amostrais não superiores a 2,59.

Embora o controle do ensaio deva ser livre de qualquer dano, tanto para o ensaio agudo quanto para crônico verificou-se um diminuto valor de FD e ID, em relação aos demais tratamentos, algo que também foi verificado nos estudos de Zenkner (2013), Galoski et al. (2015) e Campos (2015), os quais relatam que este valor pode estar associado a alguma interferência do meio natural ao qual estavam inseridas e ao protocolo utilizado.

Em relação a Frequência de Dano (FD), apresentada na Figura 33, os percentuais nos pontos amostrais variaram pouco, sendo que das 30 células analisadas para cada amostra, o Ponto #1 apresentou apenas 14% de dano, o Ponto #2 o valor de 10% e o Ponto #3 obteve o percentual mais elevado dos tratamentos, 16%.

Figura 34. Gráficos com os resultados do Dano ao DNA(%) dos organismos-testes por meio do teste genotóxico consecutivos aos ensaios agudo e ao crônico com as amostras do Ponto #1, Ponto#2 e Ponto #3 mais o Controle.



Em todas as datas de amostragem, os valores médios de escore de dano no DNA encontrados no ponto #1, #2 e #3 foram estatisticamente iguais ao tratamento controle. Nesses tratamentos houve a predominância de cometas pertencentes à classe 0 (Figura 34), caracterizando ausência de danos ao DNA dos microcrustáceos. Para os pontos #2 e #3 os valores médios de escores pertencem à classe 2 (Figura 34).

Nota-se na figura 34 que as classes de dano 3 e 4 não foram encontradas em nenhum dos ensaios para nenhum dos tratamentos, e a classe 2 apenas encontrada no Ponto # 3 para os dois ensaios e no Ponto #2 para o ensaio crônico. Os resultados mostraram uma predominância da classe 0 em todos os tratamentos para os dois ensaios, justificando os baixos valores encontrados para o ID e FD.

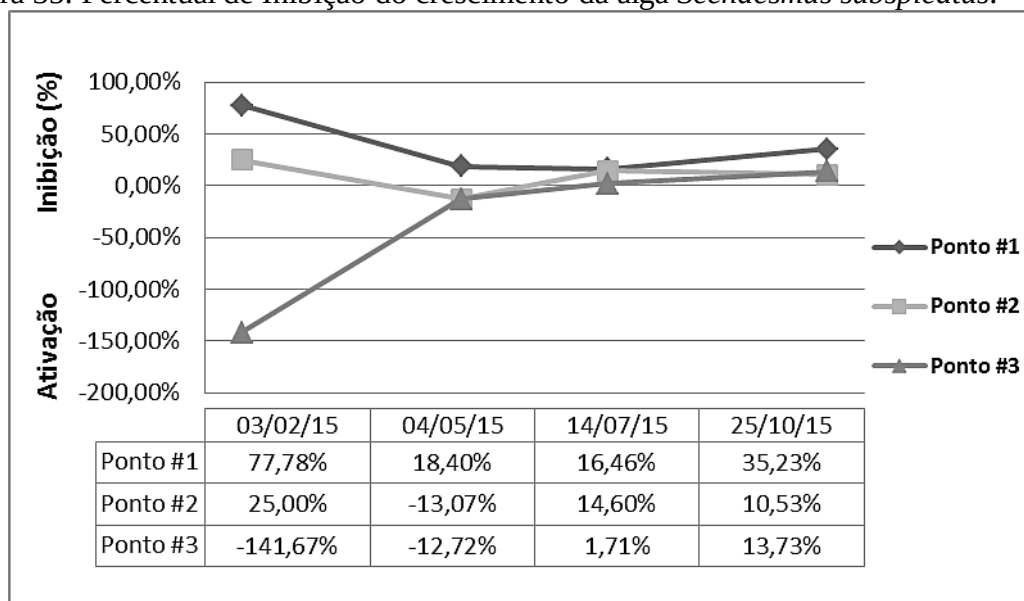
No presente estudo observaram-se diferenças significativas para os valores da fecundidade dos organismos submetidos às amostras dos pontos #2 e #3 e igualmente aumento no percentual de dano para os mesmos pontos amostrais. Segundo Galoski et al. (2015), estes resultados podem estar refletindo à uma estratégia de sobrevivência da espécie *Daphnia magna* à alterações provocadas pelo meio ao qual estão inseridos, ocorrendo a perpetuação da espécie com a finalidade da preservação da mesma.

5.3.4 ENSAIO CRÔNICO *Scenedesmus subspicatus*

Para a validação do ensaio toxicológico crônico com a microalga *Scenedesmus subspicatus*, os seguintes fatores foram observados: A densidade de células do controle deve aumentar por um fator maior que 16 em 72 horas, o pH não variar mais que 1,5 unidade durante o teste e o coeficiente de variação da biomassa algácea das replicatas do controle, no término do ensaio, deve ser menor ou igual a 20%.

O presente estudo apresentou resultados diversos para o percentual de Inibição do Crescimento (IC) da microalga *Scenedesmus subspicatus* em relação ao controle. As análises toxicológicas crônica realizadas nas datas de amostragem do dia 03/02/15, 04/05/15, 14/07/15 e 25/10/15 com amostras de água do ponto #1, #2 e #3, tiveram seus valores distribuídos entre - 141,67% a 77,78% (Figura 35).

Figura 35. Percentual de Inibição do crescimento da alga *Scenedesmus subspicatus*.



De acordo com os resultados apresentados na figura 35, observa-se que o Ponto #2 e o Ponto #3 apresentam valores negativos para o percentual de inibição do crescimento algáceo, -13,07% e -141,67%, -12,72%, respectivamente. Segundo Santos (2008), em estudo realizado na avaliação da qualidade da água e do sedimento do rio Corumbataí, o qual é susceptível a atividades agrícolas, com cultura predominante de cana-de açúcar, os valores encontrados para a inibição do crescimento algal mostraram-se em sua maioria negativos. Segundo este mesmo autor, os valores negativos no crescimento algal indicam o percentual de estímulo do crescimento causado pelas amostras de água.

Esse alto percentual de estímulo no crescimento encontrado especialmente no Ponto #3 pode ser explicado pelo fato de ser este o ponto mais a jusante dos demais, receptor de todas as formas de poluição possíveis na região seja pelo aporte de efluentes industriais, fertilizantes agrícolas ou materiais orgânicos, com percursos do rio com ausência de mata ciliar, contribuindo assim para um crescimento desordenado da massa algácea e superior ao crescimento do meio controle (meio Oligo).

Na maioria dos pontos e datas de amostragem houve efeito tóxico sobre o bioindicador empregado, com inibição de crescimento da microalga variando de 1,71% a 77,78%. Valores similares foram achados por Bresola (2007) na avaliação aguda com *Scenedesmus subspicatus* em 96 horas, sendo que o percentual de inibição da alga variou entre 45,58% a 85,29%.

O Ponto #3 na data 14/07/15 foi o que se apresentou mais similar ao meio controle e o Ponto #1 o mais discordante, porém nota-se segundo a figura 35, que o desvio padrão dos valores encontrados para o presente resultado foi maior no Ponto 3, com valores que variaram entre as coletas, mostrando assim a que a alteração na disponibilidade de nutrientes na água, tem consequente deficiência ou eficiência do processo de fotossíntese pelos organismos, o que pode ser corroborado por valores baixo de turbidez e alto dos íons dissolvidos.

Para os resultados obtidos no ensaio crônico com a microalga não se observou um padrão nas respostas em relação ao estímulo e inibição do crescimento, sendo a toxicidade influenciada por diferentes fatores e ocorrendo independente da data de amostragem e estação do ano. Grossl et al. (2014) também encontrou diferentes respostas quanto a inibição do crescimento no ponto A e no ponto B no rio Cachoeira (Joinville –SC) com relação ao controle utilizando o mesmo organismos que o presente estudo.

O aumento da entrada de nutrientes no meio aquático tende a alterar também os parâmetros físico-químicos do ambiente, sendo modificados principalmente o oxigênio dissolvido, turbidez e condutividade da água.

A ampla utilização de agrotóxicos nas diversas culturas vem acompanhada do uso de fertilizantes, os quais possuem em sua composição alto percentual de íons nitrato e fosfato. Estes íons são carregados pela água para o lençol freático e para as águas superficiais, e quando em excesso, contribuem para a eutrofização das águas, causando alterações no crescimento e no processo de fotossíntese das algas.

6 CONCLUSÕES

Os resultados das análises laboratoriais realizadas neste estudo de forma global indicaram que a qualidade das águas do rio Itapocuzinho apresenta-se na sua maioria compatível com a sua classificação segundo a Resolução CONAMA nº 357/05 para rios de classe II, com ressalva para os resultados de oxigênio dissolvido que apresentaram valores extremamente diminutos, o que mostra que há atividade consumidora de oxigênio e consequente prejuízo para a qualidade da água e do ecossistema aquático e de toxicidade crônica que também apresenta resultados que mostram algum efeito de longo prazo a ser considerado numa avaliação ambiental global.

Verificou-se por meio dos resultados obtidos no presente trabalho, a ausência de toxicidade aguda para o organismo-teste, contudo, o ensaio crônico apresentou indicativo de toxicidade para o parâmetro fecundidade nos Pontos #2 e #3. Para os mesmos pontos encontraram-se classe de dano 1 e 2 para a genotoxicidade, ainda em grau diminuto, mas já servindo como um alerta para o controle da qualidade nestes pontos, sendo que para o Ponto #1 a classe máxima de dano atingida foi classe 1. A redução da qualidade da água nos pontos anteriormente citados na sub-bacia do rio Itapocuzinho possivelmente apresenta relação direta entre os usos existentes e a ocupação do solo na bacia, tais como as diversas culturas e pecuária, indústrias têxteis e metalúrgicas, comunidades habitacionais existentes com maior intensidade a montante dos pontos #2 e #3, além da carência da mata ciliar em muitos trechos, o que acaba por influenciar no intenso aporte de materiais carreados para o leito do rio, sendo caracterizado também pelo aumento no parâmetro condutividade elétrica.

O resultado da análise laboratorial dos agrotóxicos 2,4-D, Carbofurano e Glifosato apresentou valores inferiores aos limites detectáveis pela metodologia utilizada no presente estudo, porém observa-se que, foi realizada uma única amostragem e que existe uma diversidade de questões relacionadas às dificuldades metodológicas para a realização destas análises que podem oferecer tanto resultados falso positivos, quanto falso negativos, o que se torna um problema quando se realiza uma única amostragem. No entanto destaca-se que com o uso e a ocupação do solo na área de estudo ao longo das margens deste curso d'água, os efeitos negativos gerados tendem a aumentar com o crescimento das distintas ocupações, sejam elas agrícolas, industriais, domiciliares ou outras, requerendo maiores cuidados no controle das fontes poluidoras.

Em ordem crescente de toxicidade crônica, o Ponto #1 apresentou-se com o mais elevados valores de inibição no crescimento da alga *Scenedesmus subspicatus*, seguido do Ponto #2 e com valores próximos ao controle ficou o Ponto#3. A presença intensa do cultivo de banana e de arroz nos pontos #1 e #2 podem ter contribuído com os percentuais de inibição da alga, pois através do intendo uso de fertilizantes para estas culturas provoca-se o excesso de nutrientes na água, com consequente processo de eutrofização e inibição do processo de fotossíntese realizado pelos organismos autotróficos. Para o Ponto #3 o mesmo efeito não foi observado, pois a maior parte de seus efluentes é de origem industrial e doméstica, e pequena quantidade de efluentes agrícolas, o que favoreceu o estímulo do crescimento da alga, principalmente na data de 03/02/2015 (-141,67 %).

No que tange aos resultados de toxicidade, cabe aqui ressaltar que este estudo ao apresentar efeitos crônicos mesmo que de menor grau, evidenciou a necessidade do monitoramento toxicológico crônico, o que já é uma exigência enquanto parâmetro da Resolução do CONAMA nº357/2005, no seu art.14, Inciso I.

Constituindo assim, evidente importância o monitoramento toxicológico crônico das águas do rio Itapocuzinho e dos demais rios por parte dos órgãos ambientais e de abastecimento público de águas, uma vez que esta ação reflete diretamente na integridade dos recursos hídricos, bem como tem por reflexo direto à saúde da população usuária deste recurso.

7 RECOMENDAÇÕES

Em decorrência dos resultados obtidos neste trabalho, são apresentadas algumas recomendações para trabalhos futuros objetivando resultados mais fidedignos e conclusivos:

- Realizar amostragens em maior número de pontos de coleta no local de estudo, assim como o processamento rotineiro dos ensaios biológicos e das análises físico-químicas com estas amostras.
- Realizar análises dos principais agrotóxicos e metais utilizados pelos usuários da bacia hidrográfica do rio Itapocuzinho em maior número de amostras e concomitantemente a realização dos testes ecotoxicológicos.
- Juntamente com os ensaios realizados no presente trabalho, recomenda-se realizar o monitoramento da qualidade da água através de ensaios microbiológicos e da medição da vazão da água do rio Itapocuzinho em diversos pontos amostrais.
- Realizar ensaios com amostras de sedimento deste rio, visto que muitas substâncias tendem a se acumular no sedimento.
- Acompanhar os períodos de aplicação dos agroquímicos utilizados nas atividades agrícolas ao entorno do rio Itapocuzinho.

REFERÊNCIAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 9897**. Planejamento de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores. Rio de Janeiro, 14p. 1987.

_____. **NBR 12.648**. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro: ABNT, 1992.

_____. **NBR 15469**. Ecotoxicologia aquática – preservação e preparo das amostras. Rio de Janeiro, 2007.

_____. **NBR 12713**. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade Aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 23p. 2009.

AMVALI, Associação dos Municípios do Vale do Itapocu. **Plano Básico de Desenvolvimento Ecológico-Econômico da AMVALI**. Governo do Estado de Santa Catarina, Secretaria do Estado do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente: Florianópolis, 1997.

AMVALI, Associação dos Municípios do Vale do Itapocu. **Estudo Qualitativo nos Rios de Jaraguá do Sul**. Jaraguá do Sul, 17p. 2013.

AMVALI - **Associação dos Municípios do Vale do Itapocu**. Jaraguá do Sul: 1996.
Disponível em: <<http://www.amvali.org.br>>. Acesso em 12 de julho de 2014.

AMVALI, Associação dos Municípios do Vale do Itapocu – Atlas da bacia hidrográfica do Rio Itapocu/ Org. Anja Meder Steinbach, Carla Caroline Tomaselli, Julio Cesar Refosco. – Jaraguá do Sul, 148p. 2015.

ANA - Agência Nacional de Águas (Brasil). O Comitê de Bacia Hidrográfica: o que é e o que faz? / Agência Nacional de Águas, Brasília: SAG, 2011. 64. Cadernos de capacitação em recursos hídricos. v.1.

ANEEL - **Agência Nacional de Energia Elétrica**. Disponível em:
< <http://www.aneel.gov.br/cedoc/blei19979433.pdf>>. Acesso em julho de 2014

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em
<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Rotulagem/dcf0a40040369ecc9c359d1145253526>. 5p. 2009.

ARAÚJO, R. P. A.; ARAGÃO, M. A. Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Ed.) **Ecotoxicologia Aquática - Princípios e aplicações**. São Carlos. RiMa, cap. 6. p. 117 -152. 2014.

BARUFFI, A. C. **Levantamento da Ictiofauna do Rio Itapocu no município de Jaraguá do Sul, SC**. Jaraguá do Sul, 71p. 2012

BARRELLA, W. As relações entre as matas ciliares os rios e os peixes. In: RODRIGUES, R.R.; LEITÃO FILHO; H.F. (Ed.) **Matas ciliares: conservação e recuperação**. 2.ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2001.

BASTOS, D. N. de. **Toxicidade do herbicida Glifosato em *Daphnia magna* e pós-larvas de *Rhamdia quelen***. Toledo, PR: [s.n.], 2013.

BAUMGARTEN, M. G. Z. & POZZA, S. A. **Qualidade de águas: descrição de parâmetros químicos referidos na legislação ambiental**. Rio Grande: FURG, 2001.

BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P.A. Aplicação dos ensaios ecotoxicológicos e legislação pertinente. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (Ed.) **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, cap. 15, p. 347- 381. 2014.

BERTON, S. M. H. **Estudo da toxicidade de hidrocarbonetos monoaromáticos utilizando *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* e *Desmodesmus subspicatus***. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental). Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Curitiba – Paraná, 156 p. 2013.

BIOVITA –Tecnologias Sustentáveis. PCH Itapocuzinho IIA Ribeirão Manso Energética Ltda. **Relatório de Impacto Ambiental- RIMA**. v.4.28p. s.d.

BOTELHO, R. G. **Avaliação da qualidade da água do rio Piracicaba (SP) e efeito da vinhaça para organismos aquáticos antes e após correção do pH**. Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo – Piracicaba, 110 p. 2013.

BRENTANO, D. M. **Desenvolvimento e aplicação do teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna*: avaliação de efluentes tratados de um aterro sanitário**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 130 p. 2006.

BRENTANO, D. M.; HENRIQUE, F. L. Avaliação Da Toxicidade Aguda Da Água Do Rio Papaquara, Município De Florianópolis/Sc, Utilizando O Organismo-Teste *Daphnia Magna*1. Florianópolis: **RTC**, v.02, nº 01,p.71-75, 2010.

BRESOLA, R. C. **Avaliação de toxicidade de mananciais em áreas degradadas pela mineração com a utilização do bioindicador *Scenedesmus subspicatus* e implementação de metodologia de toxicidade com peixe *Danio rerio* popular “Zebrafish”**. Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) – Criciúma, 84 p. 2007.

CAMPOS, J. **Avaliação da toxicidade das águas do rio Cubatão (Norte) – Joinville, SC, com base em ensaios ecotoxicológicos com *Daphnia magna***. Universidade do Minho – Braga, 86 p. 2015.

CARLOS, Elenice Aparecida, D. Sc,. **Determinação simultânea de trihalometanos e agrotóxicos em água empregando microextração em fase sólida e microextração em gota única por cromatografia gasosa**. Universidade Federal de Viçosa – Minas Gerais, 89p. 2011.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos**. São Paulo, 17p. 1990.

_____. **Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo 2003**. São Paulo: CETESB, 2004.

COLLINS, A. R.; AI-GUO, M.; DUTHIE, S. J. The kinetics of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidized pyrimidines) in human cells. **Mutation Research**, v. 336, p. 69-77, 1995.

COLLINS, A. R. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications and limitations. **Molecular Biotechnology**. 26: 249-261. 2004

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA n.º 357/2005**. Brasília, DF: MMA, 27p. 2005.

COSTA, Rodrigo. N.; COSTA, Vanessa. I. B.; FRIEDRICH, Karen; POÇA, Katia. S.; SANTOS, Eduardo. H. A.; Silva, Bianca. R.; SILVA, Sérgio. L. Proposta para estruturação de Rede de Monitoramento e Integração de Laboratórios de Análises de Agrotóxicos (REMILA) para detecção e quantificação em água, alimentos e amostras ambientais e clínicas - Estruturação de rede de análise de agrotóxicos 2014, Belo Horizonte, MG, **2º Simpósio brasileiro de saúde & ambiente desenvolvimento, conflitos territoriais e saúde: ciência e movimentos sociais para a justiça ambiental nas políticas públicas**. Belo Horizonte, 10 p. 2014.

DARÉLLA, M. S. **Os cultivo de arroz, fumo e banana na sub-bacia do Córrego Garuva, Sombrio, SC: a utilização dos agrotóxicos e sua implicação na saúde dos trabalhadores**. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. Florianópolis. 160p. 2008.

DOMINGUES, D. F.; BERTOLETTI, E. Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismos Aquáticos. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Ed.) **Ecotoxicologia Aquática - Princípios e aplicações**. São Carlos. RiMa: 2ª ed. cap. 7. p. 153 -184. 2014

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Cultivo do arroz irrigado no Brasil (2005). Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap14.htm> Acesso em 08 Dezembro de 2015.

ENGEL, F. **Risco ecotoxicológico e uso do sorbato de potássio em cultura de tecidos vegetais**. Joinville: Universidade da Região de Joinville, 104 p. 2014.

ERZINGER, G.S.; MACHADO, C. K.; PINTO, L. H.; CIAMPO, L. F.; LORENZI, L.; CORREIA, C. H. G.; HÄDER, D. P. Potential environmental toxicity from hemodialysis effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**: p. 42–47. 2014.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS / CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (2002). **Codex alimentarius**: pesticide residues in food: FAOSTAT database collections. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/collections?subset=FoodQuality>>. Acesso em: 15-07-2015.

FATMA - FUNDAÇÃO DO MEIO AMBIENTE. **Coletânea da Legislação Ambiental/Florestal**. Legislação Federal/Legislação Estadual. Secretaria de Estado do Desenvolvimento Urbano e do Meio Ambiente. Florianópolis, 1995.

FERNANDES NETO, M. L. **Norma Brasileira de Potabilidade de Água: Análise dos parâmetros agrotóxicos numa abordagem de avaliação de risco**. Rio de Janeiro: s.n., 173 p. 2010.

FERREIRA, E. A. **Proposta de enquadramento de um curso de água usando o monitoramento e o IQA**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - FURB. Blumenau, 99 p. 2001.

FERREIRA, J. A.; MACHADO, C. J. S.; RITTER, E. A. Poluição das Águas Doces: Integrando a Gestão dos Resíduos Sólidos na Gestão dos Recursos Hídricos. In: MACHADO, Carlos. J. S. (Org.). **Gestão de Águas Doces**. Rio de Janeiro: Interciência, cap.6. v. 1. p. 179-193. 2004.

FILHO, E. C. O. Agrotóxicos. In: FILHO, E. C. O.; SISINNO, C. L. S. Princípios de Toxicologia Ambiental. Rio de Janeiro: **Interciência**, v. 1. p. 75-93, 2013.

FINOTTI, A. R.; FINKLER, R.; SILVA, M. D'A.; CEMIN, G. A qualidade dos recursos hídricos avaliados mediante parâmetros da água. FINOTTI, A. R.; FINKLER, R.; SILVA, M. D'A.; CEMIN, G. Monitoramento de Recursos Hídricos em Áreas Urbanas. Caxias do Sul, RS: **Educs**, cap. 4. p. 81. 2009.

FUZINATTO, C. F. **Avaliação da qualidade da água de rios localizados na ilha de santa catarina utilizando parâmetros toxicológicos e o índice de qualidade de água**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – UFSC. Florianópolis, 245 p. 2009.

GALOSKI, C. E.; LEITZKE, T. C. G.; OLIVEIRA, T. M. N. **Análise toxicológica do ar no município de São Francisco do Sul/SC a partir de amostragens obtidas de um sistema lavador de gás de bancada**. Universidade da Região de Joinville- UNIVILLE. Joinville, 20 p. 2015.

GONSALVES, P. E. **Maus hábitos alimentares**. São Paulo: Agora, p. 121. 2001.

GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos – Mutações, reprodução e câncer**. Brasília: Universidade de Brasília, 392 p. 2005.

GROSSL, D.; TORRENS, B. M. O.; LEITZKE, T. G. C. **Avaliação da toxicidade crônica utilizando *Desmodesmus subspicatus* (chlorophyta), na Bacia Hidrográfica do rio Cachoeira – Joinville/SC**. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Ambiental). Universidade da Região de Joinville. Joinville, 18 p. 2014.

HARMEL, V.C. **Padronização de um teste de toxicidade crônica com a Bactéria luminescente *vibrio fischeri* para análise de qualidade de águas superficiais**. Dissertação (Mestrado). Centro de Ciências Tecnológicas, da Universidade Regional de Blumenau – FURB, Blumenau, 100 p. 2004.

HERNANDO,M.D.; EJERHOON, M.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R.; CHISTI, Y. Combined toxicity effects of MTBE and pesticides measured with *Vibrio fischeri* and *Daphnia magna* bioassays. **Water Research**, 37 Jun., p. 4091-4098, 2003.

HOLLER, K. R. **Ferramentas de gestão dos recursos hídricos na bacia hidrográfica do rio Itapocu**. Blumenau: Universidade Regional de Blumenau, 46 p. 2012.

IBGE– Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo demográfico 2000**. Disponível em: www.ibge.gov.br.

IBGE– Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo demográfico 2010**. Disponível em: www.ibge.gov.br.

International Organization for Standardization—ISO, “Water Quality—**Determination of Long Term Toxicity of Substances to *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea)**—ISO 10706,” Zurich, Switzerland, 2000.

KITAMURA, K. T. **Projeto ecorregiões aquáticas - costa sul brasileira: Caracterização da qualidade da água, uso e ocupação do solo das bacias hidrográficas dos rios cubatão e Itapocu da baixada norte do estado de santa Catarina**. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, 2009.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA/GTZ, 289p. 2004.

KOEPPEN, W. 1948. **Climatologia**. México: Fondo de Cultura.

LEITE, N. F. **Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAS) e Bifenilas Policloradas (PCBS) em sedimentos: Desenvolvimento analítico e diagnóstico ambiental**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná (UFPR), 144 p. 2008.

LUÍZ, A. M. E.; PINTO, M. L. C.; SCHEFFER, E. W. O. **Parâmetros de cor e turbidez como indicadores de impactos resultantes do uso do solo, na Bacia Hidrográfica do rio Taquaral, São Mateus do Sul-PR**. Curitiba: Departamento de Geografia – UFPR, RA´E GA 24, p. 290-310. 2012.

MENDONÇA, V. S. **Aplicabilidade de testes de toxicidade aguda com *Daphnia magna* e *Vibrio fischeri*, no monitoramento da qualidade das águas de bacias hidrográficas: o caso do rio Ipojuca em Pernambuco**. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2005.

MEYER, L. **Florística e fitossociologia da floresta que cobre a Bacia Hidrográfica do Rio Itapocu, Santa Catarina, Brasil**. Blumenau: Universidade Regional de Blumenau, 91 p. 2011.

MINELLA, Letícia. **Índice de qualidade da água ao longo de rios e ribeirões - município de Brusque**. 2005. 119 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós- Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

MMA – Ministério do Meio Ambiente. **Caderno setorial de recursos hídricos: saneamento**. Brasília: Secretaria de Recursos Hídricos, 2006.

MOZETO, A. A.; ZAGATTO, P. A. Introdução de Agentes Químicos no Ambiente. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Ed.) **Ecotoxicologia Aquática - Princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2ª ed. cap. 2. p. 15- 38. 2014.

MUCELLINI, A. B.; BRASIL, A.; OLIVEIRA, R. M.; EDRUZIANE, T. C.; Avaliação do efeito protetor de duas diferentes marcas de bloqueadores solares na viabilidade celular e no dano de dna de uma amostra *ex-vivo* de leucócitos humanos . **Bioensaio**, vol 2: 12-17; julho 2010.

NASCIMENTO, L. F. C.; PEREIRA, L. A.; BRAGA, A. L. F.; MÓDOLO, M. C. C.; CARVALHO JUNIOR, J. Andrade. Efeitos da poluição atmosférica na saúde infantil em São José dos Campos, SP. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.40, n.1, p.77-82, 2006.

NOGUEIRA NETO, A. C. **Avaliação de toxicidade aguda e crônica em águas do rio Jundiaí e em afluentes e efluentes da ETE Novo Horizonte, Jundiaí, São Paulo.** Dissertação (mestrado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 75 p. 2009.

PASCHOALINO, M. P.; MARCONE, G. P. S.; JARDIM, W. F. Os nanomateriais e a questão ambiental. **Química Nova**, São Paulo, v.33 n.2, 2010.

PELLEGRI, V.; GORBI, G.; BUSCHINI, A. Comet Assay on *Daphnia magna* in eco-genotoxicity testing. **Aquatic Toxicology**. v. 155. p. 261- 268. Itália, 2014.

PENIDO, J. S. **Estudos limnológicos e ecotoxicológicos com amostras de água e sedimento do ribeirão Limeira – Piquete/Lorena- SP.** Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, 148 p. 2010.

PEREIRA, J.L.; MARQUES, C. R.; GONÇALVES, F. Allometric relations for *Ceriodaphnia* spp. and *Daphnia* spp. **Ann. Limnol. - Int. J. Lim.** v. 40 (1), p. 11-14. 2004.

PETRUF, L. A.; SACCO, V. A.; LUCIO, L. C. Oxigênio dissolvido (OD), potencial hidrogeniônico (pH), temperatura e condutividade elétrica como parâmetros físico-químicos da água do ribeirão Morangueira, Maringá/PR. **VII EPCC - Encontro Internacional de Produção Científica**, 4 p. Outubro de 2011.

PINTO, M. C. F. (Org.). **Manual Medição in loco: Temperatura, pH, Condutividade Elétrica e Oxigênio Dissolvido.** CPRM – Serviço Geológico do Brasil. Belo Horizonte, 2007.

POLEZA, F; SOUZA, R. C; STRAMOSK, C. A; RORIG, L. R; RESGALLA JR, C. Avaliação da toxicidade aguda para o organismo teste *Vibrio fischeri* dos principais herbicidas e inseticidas aplicados na lavoura de arroz irrigado dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. **Pesticidas: revista de Ecotoxicologia e meio ambiente**, Curitiba, v. 18, p. 107-114, 2008.

PORTO, M. F. A.; PORTO, R. LA L. Gestão de bacias hidrográficas. **ESTUDOS AVANÇADOS**, 22 (63), 2008.

RORIG, L. R. **Usos múltiplos e qualidade das águas da bacia do Baixo Itajaí-Açu-SC: Elementos para um gerenciamento integrado.** Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 312 p. 2005.

SAMY, C. H.; TORRENS, B. M. de O.; MEDEIROS, S. H. W. Estudo do impacto ambiental na bacia do rio do Braço através de análises ecotoxicológicas. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v.4, n.2, p. 45 – 55, 2010.

SANTA CATARINA, PNRH - Política Estadual de Recursos Hídricos. **Lei nº 9.748, de 30/11/1994** . Dispõe sobre a Política Estadual de Recursos hídricos e dá outras providências. Florianópolis. 1994.

SANTA CATARINA, SDM - Secretaria de Estado do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. **Bacias hidrográficas de Santa Catarina: diagnóstico geral**. Florianópolis, 1997.

_____. Programa SC Rural. **Introdução à gestão de recursos hídricos e o papel dos Comitês de Bacia Hidrográfica em sua implementação**. Material de apoio para a capacitação de Comitês de Bacia Hidrográfica. Florianópolis: SDS/DIRH. 128 p. 2012.

_____. **Água: recurso para a manutenção da vida**. Florianópolis, 2013.

_____. **Enquadramento**. Disponível em: < <http://www.aguas.sc.gov.br> > Acesso em julho de 2014.

SANTOS, M. A. P. F. **Avaliação da qualidade da água e sedimento da sub-bacia do rio Corumbataí (SP) por meio de testes ecotoxicológicos**. Centro de energia nuclear na agricultura da Universidade de São Paulo – Piracicaba, 186p. 2008.

SANTOS, Liliana Raquel, A. **Avaliação de Risco Ambiental de Pesticidas para Ecossistemas Aquáticos – Representatividade das Espécies Padrão de invertebrados**. Instituto Superior de Agronomia –Lisboa, 56p. 2012.

SILVA, P. S. **Avaliação da toxicidade e genotoxicidade das águas do rio Criciúma (SC) utilizando como organismos bioindicadores *Artemia* Sp., *Daphnia Magna* e *Allium Cepa*** L. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas), Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 89 p. 2008.

SILVA, C. S. L. M. **Utilização de Ensaios Ecotoxicológicos na Avaliação de Risco Ambiental Promovido por Pesticidas: caso-estudo Brejo do Cagarrão**. Instituto Politécnico de Beja Escola Superior Agrária – BEJA, 128p. 2012.

SILVEIRA DA SILVA, G. U. C. **Formação Da Nova Carta-Enchente Para O Município De Blumenau E Análise De Séries Históricas De Dados Pluviométricos Para A Bacia Do Itapocu**. Universidade Regional de Blumenau – FURB. Blumenau, 2013.

SOUZA, 2012. **Monitoramento dos parâmetros físico-químicos da Bacia Hidrográfica do rio Itapocu no município de Jaraguá do Sul – SC**. Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí, 2012.

SPERLING, M. V. **Estudos e modelagem da qualidade da água de rios**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental: Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

STACHERA, B. A.; KOPEAKI, G. T.; MIOTTO, J. V. A.; RUYSAM, L. A.; FREITAS, M. G.; BRICCIUS, W. G. **Análise físico-química da água do rio Itapocu**. Instituto Federal de Santa Catarina – IFSC. Jaraguá do Sul, 2014.

STEINBACH, A. M.; TOMASELLI, C. C. **Bacia Hidrográfica do rio Itapocu: Você já ouviu falar do Comitê Itapocú?** 1ª ed. Jaraguá do Sul: ID Editora, 24p. 2013.

TERRA, N. R.; FEIDEN, I. R. Reproduction and survival of *Daphnia magna* Straus, 1820 (Crustacea: Cladocera) under different hardness conditions. **Acta Limnologica Brasilis**, v.15, n.2, p. 51-55. 2003.

THIESEN, R. S dos R. **Diagnóstico Socio Ambiental Parte 1**. Joinville: Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE, 196 p. 2009.

TOMAZELA, D.P. **Monitoramento Espacial e Temporal de Parâmetros Físicos, Químicos e Biológicos da Bacia Hidrográfica do Rio Capivari (Norte da Ilha de Santa Catarina)**. Universidade Federal de Santa Catarina – Centro de Ciências Biológicas. Florianópolis, 2008.

THOMAZI, R. K. **Danos ambientais causados pelo uso de agrotóxicos em bananicultura no morro da Bananeira, área de proteção ambiental morro Estevão/morro albino, Criciúma – SC**. Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, 55p. 2008.

TORRES, J. L. R.; SILVA, S. R.; PEDRO, C. A. S.; PASSOS, A. de O. GOMES, J. Q. Morfometria e qualidade da água da Microbracia do Ribeirão da Vida em Uberaba- MG. **Global Science and Technology**. v. 2, n. 1. p. 1-9, 2009.

TUCCI, C. E. M. 1997. *Hidrologia: ciência e aplicação*. 2.ed. Porto Alegre: ABRH/ Editora da UFRGS, 1997. Col. ABRH de Recursos Hídricos, v.4.

TUCCI, C. E.M.; MENDES, C.A. **Avaliação Ambiental Integrada de Bacia Hidrográfica**. Ministério do Meio Ambiente / SQA. – Brasília: MMA, 302 p. 2006

TUCCI, C. E. M. PROCESSOS HIDROLÓGICOS NATURAIS E ANTRÓPICOS In: TUCCI, C. E.M.; MENDES, C.A. **Avaliação Ambiental Integrada de Bacia Hidrográfica**. Ministério do Meio Ambiente / SQA. – Brasília: MMA, 302 p. 2006.

TUNDISI, J. G. TUNDISI, T. M. Usos Múltiplos das Águas Superficiais e Subterrâneas. In: TUNDISI, J. G. TUNDISI, T. M. **Recursos Hídricos no Século XXI**. São Paulo: Oficina de Textos, cap. 3. 60 p. 2011.

UMBUZEIRO, G. de A.; ROUBICEK, D. A. Genotoxicidade Ambiental. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Ed.) **Ecotoxicologia Aquática - Princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa. 2ª ed. cap. 14. p. 327 -346. 2014.

VIEIRA, D. C. **Análise da qualidade da água do rio Putanga (norte do estado de Santa Catarina) mediante uso de testes de toxicidade e análise do plâncton natural**. Universidade do Vale do Itajaí- UNIVLAI. Itajaí, 48 p. 2010.

_____. **Defensivos agrícolas utilizados na cultura do arroz irrigado no estado de Santa Catarina: Análise de risco ecológico e mitigação.** Dissertação (mestrado). Universidade do Vale do Itajaí (Univali), Itajaí, 67 p. 2013

VILLA, A. T. **Avaliação ambiental de qualidade da água do lago do Parque barigüi: potencial de poluição orgânica.** Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Paraná (UFPR). Curitiba, 204 p. 2005.

WILLEMANN, N. F.; BECEGATO, V. A.; FIGUEIREDO, O. A. R. Legislação ambiental na produção de arroz irrigado da região do Alto Vale do Itajaí – SC. **Revista Eletrônica do Curso de Geografia do Campus Jataí- UFG**, nº8, Jataí – GO, 2007.

ZAGATTO, P.A. Ecotoxicologia. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Ed.) **Ecotoxicologia Aquática - Princípios e aplicações.** São Carlos: RiMa. 2ª ed. cap. 1. p. 1 -13, 2014.

ZENKNER, F. F.; ABLING, F.; DALLEMOLE, D. R.; AQUINO, T.; KÖHLER, A.; RIEGER, A.; PRÁ, D. Avaliação da genotoxicidade do rio Pardinho utilizando o ensaio cometa em *Astyanax fasciatus* cuvier, 1819. **Caderno de Pesquisa Série Biologia**, v. 25, n. 3, p. 79 – 93, 2013.

ANEXOS

ANEXO A – Resultado da análise da água do Meio de Cultivo da *Daphnia magna* (rio Quiriri).

PARÂMETRO	VALOR	LIMITE CONAMA Nº 357/2005 - CLASSE I
pH	7,4	6,0 - 9,0
Amónia	< 0,70 mg.L ⁻¹	-
Cor aparente	14,00 Pt	Limite detecção: 0,2 Pt
Dureza	8,0 mg.L ⁻¹	-
Sólidos totais dissolvidos	138,0 mg.L ⁻¹	500 mg.L ⁻¹
Sulfato	< 1,5 mg.L ⁻¹	250 mg.L ⁻¹
Turbidez	1 NTU	40 NTU
Bactérias heterotróficas	2100 UFC.mL ⁻¹	-
Coliformes totais	1,9 x 10 ³ NMP.100mL	-
E. coli	290 NMP.100mL ⁻¹	200 NMP.100mL ⁻¹
Alumínio	0,059 mg.L ⁻¹	0,1 mg.L ⁻¹
Cloreto	9,93 mg.L ⁻¹	250 mg.L ⁻¹
Ferro	0,066 mg.L ⁻¹	0,3 mg.L ⁻¹
Manganês	< 0,005 mg.L ⁻¹	0,1 mg.L ⁻¹
Sódio	2,027 mg.L ⁻¹	-
Zinco	< 0,005 mg.L ⁻¹	0,18 mg.L ⁻¹

Fonte: CCJ, 2015.

ANEXO B – Resultado da análise de agrotóxicos para os pontos amostrais.

**LABOPRIME****RELATÓRIO DE ENSAIO****Cod.: 85.2016_Au_1_1****Data de Conclusão do Relatório:** 15/02/2016**Interessado:** FUNDACAO EDUCACIONAL DA REGIAO DE JOINVILLE - UNIVILLE**Endereço:** Paulo Malschitzki - n° 10 - Campus Universitário**CNPJ:** 84.714.682/0001-94**IE:** Isento**Cidade:** Joinville, Santa Catarina**CEP:** 89219-710**Fone:** (47) 3461-9000**DADOS DO LOCAL DE COLETA****Protocolo:** 85.2016_Au_1_1**Procedência:** Água Superficial**Identificação GPS:** S: N.A.ºN.A.'N.A." W: N.A.ºN.A.'N.A."**Endereço Coleta:** N.A.**Ponto Coleta:** Ponto 1**Temperatura Amostra no receb./coleta:** 24°C**Data Início Análises:** 19/01/2016**Preparo:** Refrigeração**Profundidade:****Temperatura Ambiente:** 35.00°C**Tipo de Amostra:** Água Superficial**1ª Legislação:** CONAMA - Resolução N° 357:2005 - Água Doce Classe II**Coletor:** Lucas Luan Lorenz**Data Coleta:** 19/01/2016 17:00**Data Recebimento:** 19/01/2016 18:00**Condições Climáticas:** Ensolarado

PARÂMETRO	LEGISLAÇÃO	RESULTADO	UNIDADES
2,4-D *	-	< 0,3	µg/L
Carbofurano *	-	< 5,0	µg/L
Glifosato *	-	< 50,0	µg/L

VALORES ADICIONAIS AO ENSAIO

PARÂMETRO	LQ	U95%	MÉTODO	INÍCIO	TÉRMINO
2,4-D	0,3	-	USEPA Method 8270D	19/01/2016	15/02/2016
Carbofurano	5,0	-	USEPA Method 8270D	19/01/2016	15/02/2016
Glifosato	50,0	-	USEPA Method 300.1 - 04/99	19/01/2016	15/02/2016

(*) - Ensaio subcontratado segundo a NBR ISO/IEC 17025.

Código Ordem Serviço: A 85.2016**Chave de autenticação:** Z3F-PZC6-D33Verifique a autenticidade deste documento no seguinte endereço: <http://www.laboprime.com.br>

A **Avaliação dos Resultados** deste relatório de ensaio, tem significado restrito ao comparativo com a legislação informada, servindo apenas para fins de referência. É de responsabilidade do interessado a utilização dos limites apropriados à finalidade da avaliação.

A Laboprime Laboratórios é certificada pela FATMA - Fundação do Meio Ambiente, através da Certidão de Reconhecimento de Laboratório nº LAB/22611/CVI.

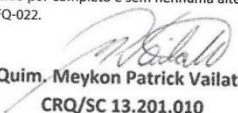
Nota 01: SMWW – Standard Methods for the Examination Of Water and Wastewater, 22º Ed.

Nota 02: LQ – Limite de Quantificação

Nota 03: O(s) resultado(s) desta(s) análise(s) tem significado restrito e se aplica somente a amostra analisada.

Nota 04: O Relatório de Ensaio somente pode ser reproduzido por completo e sem nenhuma alteração.

Nota 05: Plano de amostragem conforme PE-FQ-021 e PE-FQ-022.


Quim. Meykon Patrick Vailatti
CRQ/SC 13.201.010
Gestor Técnico

Pag.1/2

LaboPrime Laboratórios Ltda
Rua Fritz Lorenz, 674 • Bairro Quintino • 89120-000 • Timbó | SC • Brasil • Tel +55 47 3394 9990
www.laboprime.com.br



LABOPRIME

RELATÓRIO DE ENSAIO

Cod.: 85.2016_Au_1_1

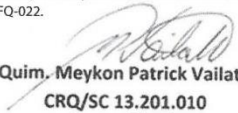
Nota 01: SMWW – Standard Methods for the Examination Of Water and Wastewater, 22ª Ed.

Nota 02: LQ – Limite de Quantificação

Nota 03: O(s) resultado(s) desta(s) análise(s) tem significado restrito e se aplica somente a amostra analisada.

Nota 04: O Relatório de Ensaio somente pode ser reproduzido por completo e sem nenhuma alteração.

Nota 05: Plano de amostragem conforme PE-FQ-021 e PE-FQ-022.


Quim. Meykon Patrick Vailatti

CRQ/SC 13.201.010

Gestor Técnico

Pag. 2/2

LaboPrime Laboratórios Ltda

Rua Fritz Lorenz, 674 • Bairro Quintino • 89120-000 • Timbó I SC • Brasil • Tel +55 47 3394 9990

www.laboprime.com.br

**LABOPRIME****RELATÓRIO DE ENSAIO****Cod.: 85.2016_Au_2_1****Data de Conclusão do Relatório:** 15/02/2016**Interessado:** FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DA REGIÃO DE JOINVILLE - UNIVILLE**Endereço:** Paulo Malschitzki - n° 10 - Campus Universitário**CNPJ:** 84.714.682/0001-94**IE:** Isento**Cidade:** Joinville, Santa Catarina**CEP:** 89219-710**Fone:** (47) 3461-9000**DADOS DO LOCAL DE COLETA****Protocolo:** 85.2016_Au_2_1**Procedência:** Água Superficial**Identificação GPS:** S: N.A.ºN.A.'N.A.' W: N.A.ºN.A.'N.A.'"**Endereço Coleta:** N.A.**Ponto Coleta:** Ponto 2**Temperatura Amostra no receb./coleta:** 24°C**Data Início Análises:** 19/01/2016**Preparo:** Refrigeração**Profundidade:****Temperatura Ambiente:** 35,00°C**Tipo de Amostra:** Água Superficial**1ª Legislação:** CONAMA - Resolução N° 357/2005 - Água Doce Classe II**Coletor:** Lucas Luan Lorenz**Data Coleta:** 19/01/2016 17:00**Data Recebimento:** 19/01/2016 18:00**Condições Climáticas:** Ensolarado

PARÂMETRO	LEGISLAÇÃO	RESULTADO	UNIDADES
2,4-D *	-	< 0,3	µg/L
Carbofurano *	-	< 5,0	µg/L
Glifosato *	-	< 50,0	µg/L

VALORES ADICIONAIS AO ENSAIO

PARÂMETRO	LQ	U95%	MÉTODO	INÍCIO	TÉRMINO
2,4-D	0,3	-	USEPA Method 8270D	19/01/2016	15/02/2016
Carbofurano	5,0	-	USEPA Method 8270D	19/01/2016	15/02/2016
Glifosato	50,0	-	USEPA Method 300.1 - 04/99	19/01/2016	15/02/2016

(*) - Ensaio subcontratado segundo a NBR ISO/IEC 17025.

Código Ordem Serviço: A 85.2016**Chave de autenticação:** Z3R-PZC6-D33Verifique a autenticidade deste documento no seguinte endereço: <http://www.laboprime.com.br>

A **Avaliação dos Resultados** deste relatório de ensaio, tem significado restrito ao comparativo com a legislação informada, servindo apenas para fins de referência. É de responsabilidade do interessado a utilização dos limites apropriados à finalidade da avaliação.

A Laboprime Laboratórios é certificada pela FATMA - Fundação do Meio Ambiente, através da Certidão de Reconhecimento de Laboratório nº LAB/22611/CVI.

Nota 01: SMWW – Standard Methods for the Examination Of Water and Wastewater, 22ª Ed.

Nota 02: LQ – Limite de Quantificação

Nota 03: O(s) resultado(s) desta(s) análise(s) tem significado restrito e se aplica somente a amostra analisada.

Nota 04: O Relatório de Ensaio somente pode ser reproduzido por completo e sem nenhuma alteração.

Nota 05: Plano de amostragem conforme PE-FQ-021 e PE-FQ-022.


Quim. Meykon Patrick Vailatti**CRQ/SC 13.201.010****Gestor Técnico**

Pag. 1/2

LaboPrime Laboratórios Ltda

Rua Fritz Lorenz, 674 • Bairro Quintino • 89120-000 • Timbó I SC • Brasil • Tel +55 47 3394 9990

www. laboprime.com.br



LABOPRIME

RELATÓRIO DE ENSAIO

Cod.: 85.2016_Au_2_1

Nota 01: SMWW – Standard Methods for the Examination Of Water and Wastewater, 22ª Ed.
Nota 02: LQ – Limite de Quantificação
Nota 03: O(s) resultado(s) desta(s) análise(s) tem significado restrito e se aplica somente a amostra analisada.
Nota 04: O Relatório de Ensaio somente pode ser reproduzido por completo e sem nenhuma alteração.
Nota 05: Plano de amostragem conforme PE-FQ-021 e PE-FQ-022.


Quim. Meykon Patrick Vailatti
CRQ/SC 13.201.010
Gestor Técnico

Pag. 2/2

LaboPrime Laboratórios Ltda
Rua Fritz Lorenz, 674 • Bairro Quintino • 89120-000 • Timbo I SC • Brasil • Tel +55 47 3394 9990
www.laboprime.com.br

**LABOPRIME****RELATÓRIO DE ENSAIO****Cod.: 85.2016_Au_3_1****Data de Conclusão do Relatório:** 15/02/2016**Interessado:** FUNDACAO EDUCACIONAL DA REGIAO DE JOINVILLE - UNIVILLE**Endereço:** Paulo Malschitzki - n° 10 - Campus Universitário**CNPJ:** 84.714.682/0001-94**IE:** Isento**Cidade:** Joinville, Santa Catarina**CEP:** 89219-710**Fone:** (47) 3461-9000**DADOS DO LOCAL DE COLETA****Protocolo:** 85.2016_Au_3_1**Procedência:** Água Superficial**Identificação GPS:** S: N.A.ºN.A.'N.A." W: N.A.ºN.A.'N.A."**Endereço Coleta:** N.A.**Ponto Coleta:** Ponto 3**Temperatura Amostra no receb./coleta:** 24°C**Data Início Análises:** 19/01/2016**Preparo:** Refrigeração**Profundidade:****Temperatura Ambiente:** 35.00°C**Tipo de Amostra:** Água Superficial**1ª Legislação:** CONAMA - Resolução N° 357/2005 - Água Doce Classe II**Coletor:** Lucas Luan Lorenz**Data Coleta:** 19/01/2016 17:00**Data Recebimento:** 19/01/2016 18:00**Condições Climáticas:** na

PARÂMETRO	LEGISLAÇÃO	RESULTADO	UNIDADES
2,4-D *	-	< 0,3	µg/L
Carbofurano *	-	< 5,0	µg/L
Glifosato *	-	< 50,0	µg/L

VALORES ADICIONAIS AO ENSAIO

PARÂMETRO	LQ	U95%	MÉTODO	INICIO	TÉRMINO
2,4-D	0,3	-	USEPA Method 8270D	19/01/2016	15/02/2016
Carbofurano	5,0	-	USEPA Method 8270D	19/01/2016	15/02/2016
Glifosato	50,0	-	USEPA Method 300.1 - 04/99	19/01/2016	15/02/2016

(*) - Ensaio subcontratado segundo a NBR ISO/IEC 17025.

Código Ordem Serviço: A 85.2016**Chave de autenticação:** Z3F-PZC6-D33Verifique a autenticidade deste documento no seguinte endereço: <http://www.laboprime.com.br>**A Avaliação dos Resultados** deste relatório de ensaio, tem significado restrito ao comparativo com a legislação informada, servindo apenas para fins de referência. É de responsabilidade do interessado a utilização dos limites apropriados à finalidade da avaliação.

A Laboprime Laboratórios é certificada pela FATMA - Fundação do Meio Ambiente, através da Certidão de Reconhecimento de Laboratório nº LAB/22611/CVI.

Nota 01: SMWW – Standard Methods for the Examination Of Water and Wastewater, 22ª Ed.

Nota 02: LQ – Limite de Quantificação

Nota 03: O(s) resultado(s) desta(s) análise(s) tem significado restrito e se aplica somente a amostra analisada.

Nota 04: O Relatório de Ensaio somente pode ser reproduzido por completo e sem nenhuma alteração.

Nota 05: Plano de amostragem conforme PE-FQ-021 e PE-FQ-022.


Quim. Meykon Patrick Vailatti**CRQ/SC 13.201.010****Gestor Técnico**

Pag. 1/2

LaboPrime Laboratórios Ltda

Rua Fritz Lorenz, 674 • Bairro Quintino • 89120-000 • Timbó (SC) • Brasil • Tel +55 47 3394 9990

www.laboprime.com.br



LABOPRIME

RELATÓRIO DE ENSAIO

Cod.: 85.2016_Au_3_1

Nota 01: SMWW – Standard Methods for the Examination Of Water and Wastewater, 22ª Ed.

Nota 02: LQ – Limite de Quantificação

Nota 03: O(s) resultado(s) desta(s) análise(s) tem significado restrito e se aplica somente a amostra analisada.

Nota 04: O Relatório de Ensaio somente pode ser reproduzido por completo e sem nenhuma alteração.

Nota 05: Plano de amostragem conforme PE-FQ-021 e PE-FQ-022.


Quim. Meykon Patrick Vailatti

CRQ/SC 13.201.010

Gestor Técnico

Pag. 2/2

LaboPrime Laboratórios Ltda
Rua Fritz Lorenz, 674 • Bairro Quintin • 89120-000 • Timbó | SC • Brasil • Tel +55 47 3394 9990
www.laboprime.com.br