



JACQUELINE LOPES DOS SANTOS
PATRICIA PASTANA DE SOUSA

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA ÁGUA DO IGARAPÉ PINTADO NO
MUNICÍPIO DE JI-PARANÁ – RO UTILIZANDO ANUROS DO GÊNERO
LEPTODACTYLUS COMO ORGANISMO BIOINDICADOR.**

PATRICIA PASTANA DE SOUSA
JACQUELINE LOPES DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA ÁGUA DO IGARAPÉ PINTADO NO
MUNICÍPIO DE JI-PARANÁ – RO UTILIZANDO ANUROS DO GÊNERO
LEPTODACTYLUS COMO ORGANISMO BIOINDICADOR.**

Artigo apresentado no curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná, 2020, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof. Dra. Natália Faria Romão

Co-Orientador: Prof. Dr. Francisco Carlos da Silva

Ji-Paraná – RO

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Gerada automaticamente mediante informações fornecidas pelo(a) autor(a)

S725a Sousa, Patricia Pastana de.

Avaliação ecotoxicológica da água do Igarapé Pintado no município de Ji-Paraná - RO utilizando anuros do gênero *Leptodactylus* como organismo bioindicador /Patricia Pastana de Sousa, Jacqueline Lopes dos Santos. -- Ji-Paraná, RO, 2020. 29, p.

Orientador(a): Dra. Natália Faria Romão.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina)
- Centro Universitário São Lucas

1.Saneamento Básico. 2.Poluição Hídrica. 3.Avaliação Toxicológica. I. Santos, Jacqueline Lopes dos. II. Romão, Natália Faria. III. Título.

CDU 614.77

Bibliotecário(a) Alex Almeida CRB 11.853

JACQUELINE LOPES DOS SANTOS
PATRICIA PASTANA DE SOUSA

Avaliação ecotoxicológica da água do igarapé Pintado no município de Ji-Paraná – RO utilizando anuros do gênero *Leptodactylus* como organismo bioindicador.

Artigo apresentado à Banca Examinadora do Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná, como requisito de aprovação para obtenção do Título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador Prof. Dra. Natália Faria Romão

Ji-Paraná, 27 de novembro de 2020

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Resultado: _____

Dra. Natália Faria Romão

Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná

Dr. Francisco Carlos da Silva

Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná

Prof. Rafaelle Nazário

Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA ÁGUA DO IGARAPÉ PINTADO NO MUNICÍPIO DE JI-PARANÁ – RO UTILIZANDO ANUROS DO GÊNERO *LEPTODACTYLUS* COMO ORGANISMO BIOINDICADOR¹

Jacqueline Lopes dos Santos²

Patricia Pastana de Sousa³

Natália Faria Romão⁴

Francisco Carlos da Silva⁵

RESUMO: A água é um recurso essencial e fundamental para manutenção da vida. O crescimento demográfico acelerado aliado ao processo de urbanização e a falta de saneamento básico são os principais fatores que contribuem para poluição hídrica. Todos os dias, uma grande quantidade de lixo e contaminantes incluindo metais pesados, são despejados nos corpos hídricos sem qualquer tipo de tratamento prévio, algumas substâncias químicas contidas em esgotos possuem a capacidade de causar danos a nível celular no material genético de organismos expostos a esses xenobióticos. Frente a essa realidade, o presente estudo teve como objetivo realizar uma avaliação ecotoxicológica através do teste de Micronúcleos (Mn) em células eritrocitárias periférica, utilizando como organismo bioindicador o anfíbio do gênero *Leptodactylus*, além analisar os parâmetros físico-químico da água do igarapé pintado localizado no perímetro urbano do município de Ji-Paraná-RO. As coletas das amostras foram realizadas em três pontos distintos ao longo do igarapé. Os resultados obtidos demonstraram, que os animais dos pontos 2 e 3 apresentaram maior frequência de MN em relação ao ponto 1, indicando que há exposição dos organismos à agentes genotóxicos e mutagênico vem sofrendo alterações á nível celular. Já os resultados físico-químicos da água de acordo com a resolução do CONAMA 357/2005, que os parâmetros ferro, nitrogênio amoniacal, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica apresentaram valores elevados nos pontos monitorados 2 e 3.

Palavras-chave: Mutagenicidade. Toxicidade. Teste do micronúcleo. *Leptodactylus*. Análise físico-química.

ECOTOXICOLOGICAL EVALUATION OF THE WATER OF THE PAINTED STREAM IN THE MUNICIPALITY OF JI-PARANÁ - RO USING ANURANS OF THE GENUS *LEPTODACTYLUS* AS A BIOINDICATOR ORGANISM.

ABSTRACT: Water is an essential and fundamental resource for maintaining life. Accelerated demographic growth coupled with the urbanization process and the lack of basic sanitation are the main factors that contribute to water pollution. Every day, a large amount of waste and contaminants, including heavy metals, are dumped into water bodies without any kind of previous treatment, some chemicals contained in sewers have the ability to cause cellular damage to the genetic material of organisms exposed to these xenobiotics. Faced with this reality, the present study aimed to carry out an ecotoxicological assessment through the Micronucleus (Mn) test in peripheral erythrocyte cells, using the amphibian of the genus *Leptodactylus* as a bioindicator organism, in addition to analyzing the physical-chemical parameters of the water of the painted igarapé located in the urban perimeter of the municipality of Ji-Paraná-RO. Sample collections were carried out at three different points along the stream. The results obtained showed that the animals at points 2 and 3 had a higher frequency of MN compared to point 1, indicating that there is exposure of the organisms to genotoxic and mutagenic agents has been undergoing changes at the cellular level. The physical-chemical results of the water, according to CONAMA resolution 357/2005, that the parameters iron, ammonia nitrogen, dissolved oxygen and electrical conductivity presented high values at monitored points 2 and 3.

Keywords: Mutagenicity. Toxicity. Micronucleus test. *Leptodactylus*. Chemical physical analysis.

¹ Artigo apresentado no curso de graduação em Biomedicina do Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná 2020, como Pré-requisito para conclusão do curso, sob orientação da Professora Dra. Natália Faria Romão. Email: natalia.romao@saolucas.edu.br

² Jacqueline Lopes dos Santos, graduanda em Biomedicina do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná - UniSL, Ji-Paraná, Rondônia, Brasil, 2020. Email: jacq.lds@hotmail.com

³ Patricia Pastana de Sousa, graduanda em Biomedicina do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná - UniSL, Ji-Paraná, Rondônia, Brasil, 2020. Email: patricia-pastana@hotmail.com

⁴ Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal pela Rede BIONORTE, docente do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná – UniSL, Ji-Paraná, Rondônia, Brasil. Email: natalia.romao@saolucas.edu.br

⁵ Doutor em Biologia Celular e Molecular (ULBRA), docente do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná – UniSL, Ji-Paraná, Rondônia, Brasil. Email: fcsbiologicalscience@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O rápido crescimento demográfico aliado ao processo de urbanização se tornaram os fatores mais impactantes para a poluição hídrica (LIBANIO, 2016). De acordo com o censo do IBGE (2010), a população triplicou nesse novo milênio, sendo que cerca de 85% da população brasileira vivem em áreas urbanas, fato este que impacta diretamente na qualidade da água.

Apesar de o crescimento populacional ser evidente, os investimentos na infraestrutura sanitária ainda são extremamente baixos, e isso gera um impacto negativo, pois um dos maiores problemas dos centros urbanos é o tratamento das águas residuárias (ANA, 2012). Após a década de 90 houve um maior investimento em saneamento básico no Brasil, porém de maneira desigual, ou seja, grande parte da população ainda não tem acesso a essa estrutura adequada (IBGE, 2012).

A resolução do CONAMA nº 357/05 dispõe sobre a regulamentação no controle do lançamento de efluentes que podem ser provenientes das indústrias, esgotos domésticos e escoamento das chuvas, e sobre a qualidade da água presente nos corpos hídricos. De acordo com a atualização mais recente do CONAMA (nº 430/2011, artigo 4º, parágrafo XIII) define que os testes de toxicidade são utilizados para detectar a nocividade de um agente tóxico, e utiliza espécies presentes em determinado local como bioindicadores, tornando possível a avaliação dos danos ocasionados após contaminação (CONAMA, 2011).

Ao longo dos anos surgiu a necessidade de aprofundar estudos sobre a composição química da água e a influência destes compostos à saúde ambiental e do ser humano. Nesse contexto, os testes que são realizados com espécies bioindicadoras servem como monitoramento, a fim de saber qual a consequência desses poluentes no meio ambiente, e como podem afetar a qualidade de vida dos organismos (CRISTO et. al., 2017).

O teste de micronúcleo é muito utilizado para essa finalidade, uma vez que a sua execução é de baixo custo, prático, e analisa a frequência de defeitos que há no DNA da célula. (DEGEN et. al., 2017). Os micronúcleos apresentam-se nas células filhas por consequência de danos nas células parentais. São originados a partir de fragmentos cromossômicos que podem não integrar o núcleo dessa célula filha ao final da mitose, fato este que origina uma membrana nuclear em volta do fragmento,

a qual será possível visualizar como um micronúcleo ao lado do núcleo principal da célula (JUNQUEIRA, 2006).

Diante da relevância do tema, os objetivos do presente estudo foram avaliar a qualidade físico-química de amostras de água coletadas nos pontos monitorados e analisar a integridade genética de amostras celulares do sangue periférico de espécimes de anfíbio do gênero *Leptodactylus*, que ocorrem nos pontos monitorados através do teste do micronúcleo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Desde a criação da Política Nacional de Recursos Hídricos lei nº 9.433 de 8 de janeiro de 1997, com o objetivo de assegurar a disponibilidade da água em padrões de qualidade para que atuais e futuras gerações possam usufruir da mesma, houve uma maior preocupação em relação a sustentabilidade com os recursos hídricos disponíveis, pois a água é um insumo primordial assegurado a todos (MMA, 2017).

No Brasil, a qualidade da água é regulamentada pelo Conselho Nacional do Meio ambiente (CONAMA) desde 2005, resolução nº 357 ao qual sofreu alteração e foi complementada pela resolução nº 430/2011. A regulamentação do CONAMA sobre essas águas classifica e estabelece parâmetros físicos e químicos toleráveis visando o controle da disposição de poluentes sobre o meio ambiente em níveis que não ofereçam riscos aos organismos. Contudo há uma enorme preocupação em relação aos níveis de tolerância estabelecidos pois muitos estudos têm comprovado que mesmo com valores de contaminação abaixo do permitido, alguns parâmetros apresentaram efeitos genotóxicos significativos (LIMA e SANTOS, 2012).

No país, o crescimento demográfico nos últimos anos ocorreu de forma muito acentuada no qual as estruturas dos municípios não conseguiram acompanhar o forte crescimento populacional, o que por sua vez resulta em problemas que afetam diretamente o ecossistema, pois lagos, aquíferos, rios e igarapés vem sendo prejudicados com a contaminação por esgotos e lixo despejados nesses locais o que acaba influenciando o ecossistema de forma negativa (COSTA, 2017).

A propriedade física e biótica de uma bacia possui um papel importantíssimo no ciclo hidrológico, que influencia vários processos (SILVA e SANTOS, 2016). Ao longo dos anos foram desenvolvidos vários índices e indicadores ambientais com o objetivo de avaliar a qualidade da água baseando-se em suas características (KEMERICH et al., 2014). A utilização de indicadores físico-químicos que medem a qualidade da água é composto por variáveis que são correlacionadas com as alterações na bacia sejam elas de origem natural ou antrópica (KEMERICH et al., 2014). De acordo com o exposto, percebe-se que uma bacia hidrográfica é afetada diretamente através de contaminantes que são diariamente despejados nos recursos hídricos e que pesquisas frequentes em relação à qualidade da água disponível são

de fundamental importância para a gestão dos recursos hídricos (BARRETO et al., 2013).

Geralmente, os esgotos domésticos exibem em sua composição constituintes típicos com elevadas quantidades de nutrientes tais como: séries nitrogenadas, carbono orgânico total, sulfetos, fósforos orgânicos e inorgânicos, cloreto e alto teor de sólidos totais (CETESB, 2012). Apresentam também o número variável de contaminantes incluindo metais pesados, pesticidas, hidrocarbonetos entre várias substâncias com potenciais tóxicos que podem apresentar toxicidade (TAVARES, 2009). Além das substâncias descritas, os esgotos contêm um grande número de microrganismos como fungos, vírus e bactérias em sua composição dos quais muitos são considerados microrganismos patogênicos (ABESSA et al., 2012).

A principal causa das poluições nos rios e igarapés são os esgotos domésticos e comerciais, efluentes industriais e agrícolas que acabam comprometendo a qualidade da água tanto subterrânea quanto superficiais afetando diretamente a saúde de muitas espécies de animais e vegetais, causando muitos prejuízos que vão desde comprometimento da água por metais pesados, resíduos químicos e substâncias tóxicas como também na morte de várias espécies aquáticas e na propagação de doenças para o ser humano (POLLO et al., 2012).

Indicador biológico ou bioindicação, nada mais é que a utilização de um organismo que habita um determinado local a fim de caracterizá-lo acerca do comportamento e conhecimento das comunidades ecológicas quando expostas a mudanças e fatores estressantes tais como: devastação do meio ao qual vivem, perda de habitats, poluição e exposição a agentes químicos (YOKOYAMA et al., 2012). Comunidades biológicas, expostas a poluentes contidos na água, sofrem alterações o que os tornam capazes de indicar os efeitos decorridos das ações naturais ou antrópicas do meio ambiente, isso permite que seja realizado uma análise biológica efetiva no reconhecimento dos fatores atuantes (PIMENTA et al., 2016).

Os bioindicadores são utilizados para duas principais abordagens: em altos níveis de organização como população, comunidade e ecossistema ou a nível individual os quais analisam diversos tipos de alterações tanto bioquímicas quanto fisiológicas (ARIAS et al., 2007). Análises moleculares são utilizadas para realização de alteração a nível individual ao qual verificam a nível celular, possíveis danos que

substâncias xenobióticas provocam ao DNA de organismos expostos (BRITO e LUZ, 2015).

Através de fenômenos como sinergismo e antagonismo, compostos químicos podem atuar de diversas formas no organismo dos seres vivos. Algumas substâncias podem causar efeitos tóxicos em baixos níveis de difícil detecção analítica. Devido a esse motivo, evidências químicas, biológicas, físicas, físico-químicas e ecotoxicológicas devem ser utilizadas para obtenção de informações que contribuam para decisões em relação às ações de proteção do meio ambiente (RODRIGUES; SILVA; SILVA, 2009).

O ensaio de Micronúcleos é amplamente utilizado no biomonitoramento de animais e vegetais expostos a agentes químicos e mutagênicos a fim de verificar possíveis danos ou anomalias cromossômicas causadas em células expostas a esses agentes (DOURADO, 2014). É considerado um teste simples e possui validação internacional, baixo custo, fácil visualização dos micronúcleos e pode ser realizado em qualquer população de célula nucleada, sendo um dos mais utilizados no ramo da toxicologia genética, podendo ser empregado na monitorização ambiental e no diagnóstico de doenças (ARAÚJO et al., 2018).

Atualmente algumas espécies são utilizadas para estudos ecotoxicológicos, a fim de avaliar a toxicidade presente em determinado ambiente. Nos estudos em que são necessários organismos que vivem em meio aquático são muito utilizados peixes, anfíbios, moluscos entre outros (TRINDADE et al., 2017). Entre esses animais, os anfíbios possuem características que os tornam ótimos bioindicadores, dentre essas, o ciclo de vida aquática e terrestre, limitada capacidade de dispersão e camada de pele fina, o que os torna vulneráveis e suscetíveis a diversos contaminantes (SILVA, 2017).

Na atualidade são conhecidas 6.638 espécies diferentes de anfíbios em todo mundo, sendo pertencentes à ordem anura, um total de 5.858 espécies. Os anuros são cosmopolitas, e se distribuem de forma heterogênea, predominantemente nas regiões tropicais (OLIVEIRA, et. al., 2012). No Brasil há registro de aproximadamente 946 espécies, divididas entre anuros, cecílias e salamandras. A família Leptodactylidae é composta por diversas espécies com características morfológicas diferentes, além do tamanho e coloração distinta (COELHO, 2013).

O gênero *Leptodactylus* é representado, normalmente, por animais de pequeno e médio porte, são terrestres ou semi-aquáticos que se alimentam de insetos e possuem atividade noturna. Seu habitat está associado a áreas de floresta tropical úmida, ou em proximidade à água, exceto algumas espécies que habitam ambientes áridos, e possuem modos reprodutivos variados. Algumas espécies constroem ninhos de espuma em suas tocas para garantir a proteção das larvas em desenvolvimento, evitando predadores (DE-CARVALHO, et al., 2008).

Esses animais possuem estrutura adaptada para saltos, sendo os membros posteriores alongados, e vértebras fundidas para facilitar os saltos. Além disso, desempenham papel importante em pesquisas ambientais, pois fazem parte de um dos grupos mais sensíveis às variações que ocorrem no meio ambiente (OLIVEIRA, et al., 2012), sendo capazes de bioacumular resíduos potencialmente tóxicos presentes no ambiente, e prejudiciais aos organismos expostos (CRISTO, et. al., 2017).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área de estudo e local de amostragem

O município de Ji-Paraná (Figura 1) foi criado em 1977 e está localizado no estado de Rondônia, na fração centro-leste do estado e possui área total de 6.896,649 km² e aproximadamente 130.009 habitantes (IBGE, 2019; IBGE, 2020).

O município encontra-se em uma bacia hidrográfica, sendo a segunda mais importante do estado, e tem como rio principal o rio Ji-Paraná, popularmente conhecido como rio Machado, e que é o principal afluente do rio Madeira situado no estado de Rondônia (IBGE, 2020). Em sua extensão possui cerca de 80 mil km², fato este que a torna a maior bacia que está inserida integralmente no estado de Rondônia e sua localização está situada na porção leste do estado, banhando vários municípios e servindo para finalidades como abastecimento de água para população, irrigação agrícola, turismo e lazer (DINATO, 2013). O rio Ji-Paraná é formado pela junção de dois rios, o Comemoração, também chamado de Melgaço, e rio Apediá, também conhecido como Pimenta Bueno, sendo o ponto de confluência desses dois rios próximo à cidade de Pimenta Bueno no estado de Rondônia (IBGE, 2020).

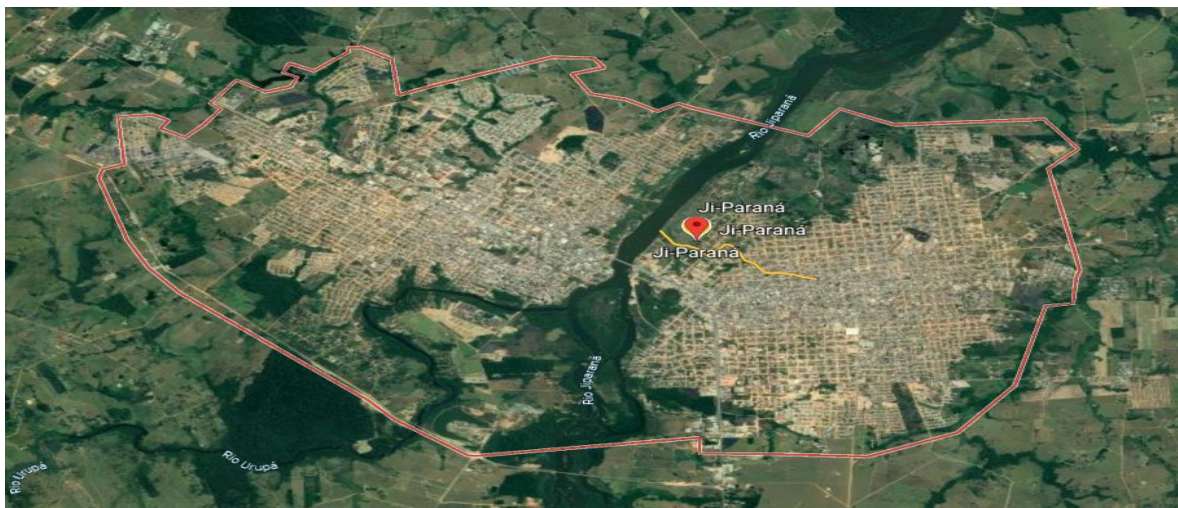


Figura 1: Imagem de satélite da localização do Município de Ji-Paraná, Estado de Rondônia. Fonte: Google Earth, 2020.

A área de estudo compreende o Igarapé Pintado que tem como afluentes os rios Machado e Urupá. A deságua ocorre no 2º distrito da cidade, mais precisamente no rio Machado. O igarapé está estabelecido na área urbana da cidade, possui comprimento de 3,46 km, sua bacia possui uma área de 3,95Km², e em sua maior parte apresenta vegetação rasteira. Essa bacia apresenta formato alongado, próximo ao retangular, e esse fato influencia diretamente na possibilidade de ocorrer menos enchentes, já que a inclinação e compactação do solo facilitam o escoamento da água. Há presença de pontos mais baixos, aos quais podem ocorrer enchentes (MACARO, 2013).

As amostras de água para análise físico-química e o material biológico (anuros do gênero *Leptodactylus*) foram coletados em 3 pontos previamente demarcados no curso do Igarapé Pintado, no período urbano do município conforme figura 2, sendo o Ponto 1 (10°52'41.5" S e 61°55'01.4" W) próximo a nascente, Ponto 2 (10°52'53.6" S e 61°55'36.5" W) região intermediária e Ponto 3 (10°52'35.2" S e 61°56'12.1" W) próximo ao ponto de confluência com o rio Machado.

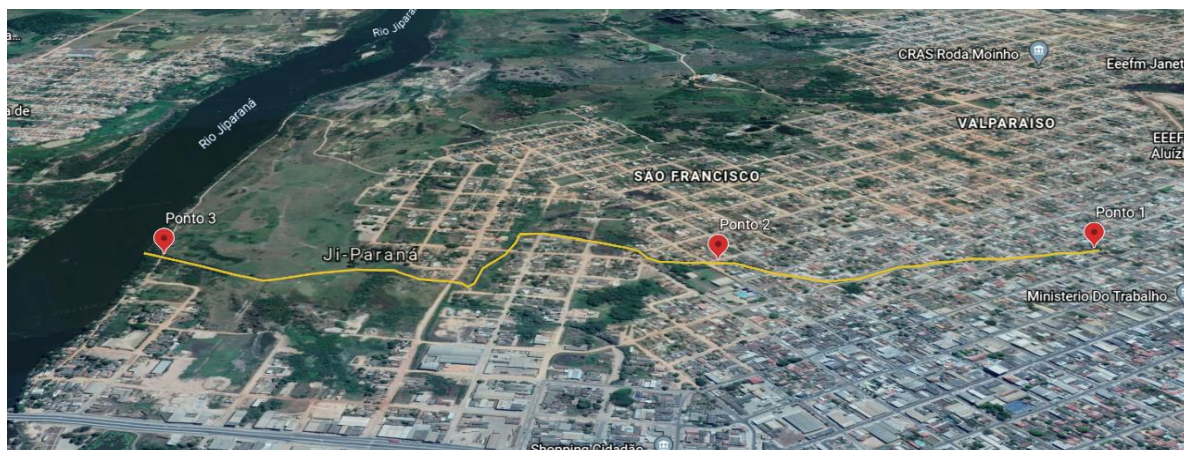


Figura 2 – Imagem de satélite da localização do Igarapé Pintado no Município de Ji-Paraná, Estado de Rondônia. Fonte: Google Earth, 2020.

3.2 Análises Físico-Químicas

Foram avaliados na água coletada os seguintes parâmetros: Dureza Total, Alcalinidade Total, Oxigênio Dissolvido, Nitrato, Nitrito, pH e Condutividade Elétrica utilizando o kit técnico físico-químico para água doce fornecido pela empresa ALFAKIT® seguindo a metodologia proposta no kit. Para realização das análises físico-químicas, foram coletadas 500 ml de água, no período matutino nos três pontos de coleta, em frasco reagente de vidro incolor previamente autoclavados e armazenados em caixa térmica refrigerada e em seguida levados imediatamente ao laboratório de solos do Centro Universitário São Lucas de Ji-Paraná para execução das análises.

Outros parâmetros de suma importância também foram avaliados, sendo eles: Alumínio, Cobre, Ferro Total, Manganês, Nitrogênio Amoniacal Total, Sulfato e Zinco. Foram coletadas em torno de 300 ml de água em recipientes esterilizados, e acondicionados em caixa térmica e enviadas ao Laboratório de Análises Ambientais Qualittá, situado em Ji-Paraná.

Os resultados das amostras foram comparados com os valores determinados através da resolução CONAMA nº 430/2011 que altera e complementa a resolução 357/2005, estabelecidas para condições de água a serem lançadas de efluentes, que fica determinado no artigo 4º o valor máximo permitido que determinado poluente possa ser introduzido ao corpo hídrico, sem afetar a qualidade da água e sua utilização ao qual é estabelecida através das classes de enquadramento (CONAMA, 2011).

3.3 Coleta de amostras

Após aprovação pela Comissão de Ética na Utilização com Animais – CEUA, Protocolo N° 05/2020 e permissão do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) registro N° 75202-1, as coletas das amostras bioindicadoras foram realizadas entre os meses de Agosto e Setembro, época de estiagem na região, em período noturno de acordo com os hábitos dos anfíbios do gênero *Leptodactylus*, nos pontos de coleta estabelecidos. Foram capturados entre 5 espécimes nos três pontos distintos monitorados ao longo do igarapé.



Figura 3 – Imagem dos anuros do gênero *Leptodactylus* coletados no Igarapé Pintado no município de Ji-Paraná, RO. Fonte: O autor (2020)

Com as mãos umedecidas, imediatamente após a captura os animais foram colocados em uma bandeja com água para serem medidos e realizado o procedimento de coleta, sendo a punção de 10 μ L sangue periférico na veia femoral do membro posterior direito. Para realização desse procedimento foi utilizado seringa de 1 ml com agulha de 13mm x 0,45mm, sendo uma seringa para cada indivíduo. O esfregaço sanguíneo de cada animal foi realizado em campo, rapidamente após a coleta em duplicata, para isto, foi utilizado lâminas e extensoras novas e limpas. Em seguida, o animal foi imediatamente devolvido para seu habitat.

Após o término das análises, os resultados foram computados no software Microsoft Office Excel, em seguida os dados foram transferidos e analisados no programa de estatística OriginPro 2017 (OriginLab®).

3.4 Avaliação Biológica

Após a secagem dos esfregaços, as lâminas foram levadas imediatamente ao laboratório da faculdade para coloração das células sanguíneas, foi utilizado o Kit

Panótico Rápido. O kit é composto por três componentes, sendo eles: triarilmetano a 0,1%, xantenos a 0,1% e tiazina a 0,1%, que são utilizados nessa ordem, respectivamente (MENEQUETTI et. al., 2011). Cada lâmina foi mergulhada 10, 20 e 30 vezes nos corantes, seguindo a ordem descrita acima. Ao final desse procedimento as lâminas foram colocadas para secar a temperatura ambiente e realizado o procedimento de análise microscópica. A microscopia consistiu na contagem de 1000 células eritrocitárias por lâmina totalizando 2.000 células por amostra, utilizando a objetiva de 100X sub imersão (CARRAFA et al., 2013).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise físico-química

Os resultados da análise físico-química da água do Igarapé Pintado demonstraram que nos pontos amostrais 2 e 3, o parâmetro Ferro total está acima do limite permitido pela Resolução do CONAMA 357/2005, havendo uma diferença entre ambos, conforme demonstrado na tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização físico-química das amostras de água coletadas no Igarapé Pintado localizado no município de Ji-Paraná-RO.

Parâmetros	Pontos de Coleta			VMP
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	
Dureza Total (mg/L)	160	199	165	500 ^b
Alcalinidade Total (mg/L)	20	91	120	-
Salinidade (ppm)	29	82	135	> 30 ^a
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	9,25	8,45	19,0	>5,0 ^a
PH	6,0	8,0	8,0	6 - 9 ^a
Nitrito (mg/L)	0,1	0,5	0,5	1,0 ^a
Nitrato (mg/L)	1,0	1,0	0,7	10,0 ^a
Condutividade Elétrica (µs/cm)	210*	300*	290*	100 ^c
Alumínio (mg/L)	0,0	0,0	0,0	≤ 0,1 ^a
Cobre (mg/L)	0,0	0,0	0,0	≤ 0,009 ^a
Ferro Total (mg/L)	0,19	1,38*	3,05*	≤ 0,3 ^a
Manganês (mg/L)	0,0	0,0	0,0	≤ 0,1 ^a
Nitrogênio Amoniacal Total (mg/L)	0,94	11,34*	12,47*	≤ 3,7; 2,0; 1,0 ^a
Sulfato (mg/L)	3,1	15,0	10,5	≤ 250 ^a
Zinco (mg/L)	0,0	0,0	0,0	≤ 0,18 ^a

Fonte: CONAMA 357/2005.

VMP: Valor Máximo Permitido.

^a valores estabelecidos pela Resolução nº 357 do CONAMA.

^b valores estabelecidos pelo Ministério da Saúde, portaria nº 2.914/2011.

^c valores estabelecidos pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo – CETESB, 2012.

* valores acima do limite estabelecido.

Apesar de o elemento Ferro ser de baixa toxicidade, quando apresenta concentração muito elevada se torna contaminante, pois afeta a qualidade da água, tanto para consumo, quanto para o ecossistema (SANTOS, et. al, 2020). Há diversas razões para a presença do ferro ser indesejável em um corpo hídrico, sendo algumas delas: a conferência de cor avermelhada ao ser exposto ao ar (devido a oxidação), atribui sabor metálico ou amargo, favorece crescimento bacteriano que depende de ferro, como por exemplo a *Spyrophylum ferrugineum*, entre outros (CARVALHO, 2005).

Outro parâmetro avaliado com valor acima do limite estabelecido foi o Nitrogênio Amoniacal, apresentando valor elevado nos pontos 2 e 3. A resolução do CONAMA 357/2005, dispõe sobre a presença de Nitrogênio Amoniacal Total em águas de classe 2, sendo o valor tolerável até 3,7 mg/L. O nitrogênio pode estar presente, em águas rasas ou subterrâneas, de forma natural, sendo a concentração muito baixa e por isso não apresenta malefícios para a água. Isso ocorre por ser um composto de fácil adsorção, seja pelo solo ou por oxidação a nitrato e nitrito. Todavia, concentrações elevadas são associadas a fontes de poluição (FONSECA, 2017). É importante ressaltar que o Nitrogênio Amoniacal Total varia de acordo com pH segundo a legislação, seguindo a seguinte relação: 3,7 mg/L para $\text{pH} \leq 7,5$; 2,0 mg/L para $\text{pH} 7,5 - 8,0$; 1,0 mg/L para $\text{pH} 8,0 - 8,5$.

A principal fonte de dureza é a dissolução de minerais nos corpos d'água, como rochas calcárias e efluentes industriais. Em corpos hídricos onde a dureza é baixa, a biota se torna mais sensível a produtos tóxicos, como chumbo, zinco, cobre e outros (PIRATOBA, et. al, 2017). O Ministério da Saúde, por meio da portaria 2.914/2011, estabelece que o valor máximo permitido para o parâmetro de dureza total é de 500 mg/L, porém é necessário que o resultado apresente confiabilidade já que podem variar de acordo com alguns fatores, como equipamentos utilizados e padrão de análise.

A alcalinidade é um parâmetro bastante relevante, pois, indica quanto de acidez uma solução poderá absorver sem que haja alteração em seu pH, ou seja, a alcalinidade indica a capacidade de tamponamento de uma solução como a água por

exemplo (COELHO, et al., 2015). Desse modo, soluções com baixa alcalinidade possuem uma menor capacidade de tamponamento e consequentemente seu pH poderá ser alterado precipitadamente quando uma substância ácida for adicionada. Por outro lado, quando uma solução possui alcalinidade elevada, sua capacidade de tamponamento torna-se maior e como resultado é menos afetada quando uma substância ácida é adicionada, sendo necessário uma grande quantidade de ácido para que haja alteração no pH que aconteceria em uma amostra com baixa alcalinidade (COELHO, et al., 2015).

Segundo PIROTOBA et. al. (2017), a alcalinidade da água não possui um significado sanitário, exceto quando acontece devido a hidróxidos ou no momento em que contribua na qualidade de sólidos totais, sendo a mesma composta por três constituintes principais como hidróxidos (OH^-), bicarbonato (HCO_3^-) e carbonatos (CO_3^{2-}). A diferenciação entre as três formas de alcalinidade na água varia de acordo com o pH sendo: $\text{pH} > 9,4$ para hidróxidos e carbonatos; pH entre 8,3 e 9,4 para carbonatos e bicarbonatos e pH entre 4,4 e 8,3 para bicarbonatos apenas.

De acordo com estudos, na maior parte dos ambientes aquáticos, a alcalinidade é causada pela presença de bicarbonato. Normalmente, valores aumentados de alcalinidade, é provocado pela decomposição de matéria orgânica e pela liberação de gás carbônico na água, ocasionado pela elevada taxa respiratória de microrganismos. Em sua maioria águas naturais apresentam alcalinidade entre 30 a 500 mg/L de CaCO_3 (Brasil, 2006).

O consumo do oxigênio presente na água é dado pela oxidação da matéria orgânica e pela respiração dos organismos presentes. Em águas naturais, o oxigênio é indispensável para a sobrevivência das espécies, pois a maioria não resiste caso haja concentrações inferiores a 4,0 mg/L (PINTO; OLIVEIRA; PEREIRA, 2010).

No período em que a matéria orgânica presente na água está se estabilizando, as bactérias usam o oxigênio no processo respiratório, sendo reduzida a concentração de oxigênio dissolvido nos corpos hídricos ou nos esgotos (RIBEIRO; SANDRI; BOÊNO, 2013). Segundo FONSECA (2017), a alta concentração de íon amônio pode influenciar na presença do oxigênio dissolvido no meio ambiente, podendo desencadear complicações ecológicas, pois caso haja altas concentrações (acima do limite estabelecido na resolução) pode se tornar tóxico para algumas espécies.

A condutividade elétrica apresentou valores alterados, nos pontos 1, 2 e 3. Segundo a CETESB (2012), valores de condutividade elétrica acima de 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$

são considerados altos, tendo impacto na qualidade da água. A resolução 357/2005 do CONAMA não estabelece valor limite para esse parâmetro.

A condutividade elétrica mede o potencial da água em conduzir corrente elétrica, e é alterada pela quantidade de íons presentes. É um parâmetro que permite a verificação real da poluição ou a possível fonte de poluição local, apesar de não identificar qual composto químico é responsável por tal alteração. Valores de condutividade elétrica aumentados podem ser associados à presença de diversos compostos dispensados de forma inadequada no corpo hídrico, como alguns tipos de detergentes e sabão (LIMA e SANTOS, 2012).

4.2 Análise Biológica

A análise biológica realizada utilizando o teste do micronúcleo como forma de avaliar a presença de mutagenicidade nas células demonstrou alguns tipos de anormalidades, sendo elas: presença de micronúcleo, célula binucleada, apoptose e espículas na membrana celular, conforme apresentado na Figura 4.

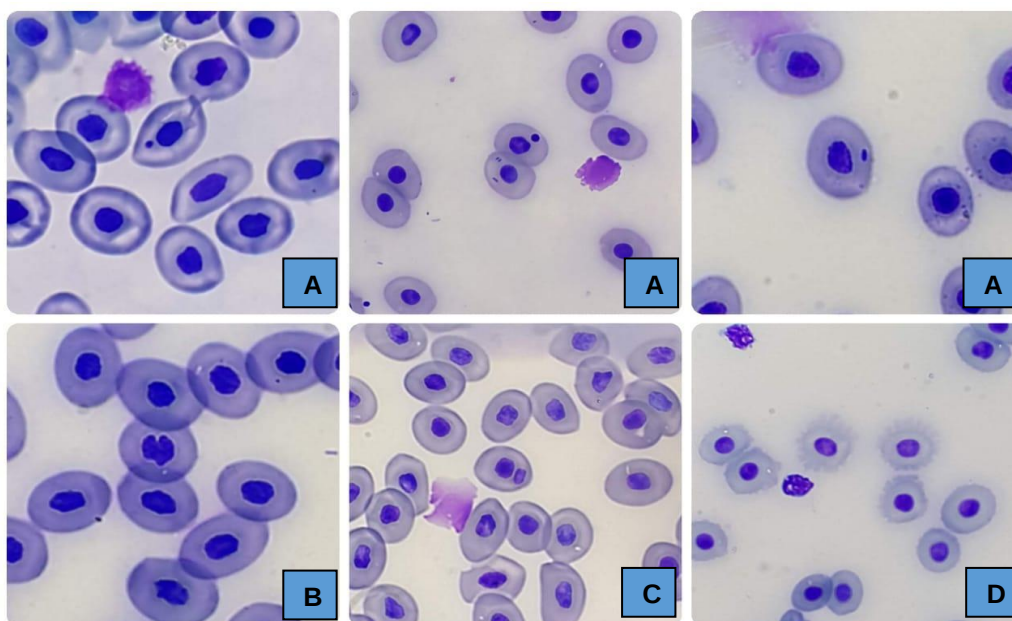


Figura 4 – Micronúcleos e anomalias observadas em eritrócitos de *Leptodactylus*. A: célula com micronúcleo; B: célula em processo de divisão; C: célula binucleada; D: presença de espículas na membrana. Fonte: O autor (2020)

Tabela 2 - Frequência de ocorrência de micronúcleos (MN) em eritrócitos policromáticos (EPC) de *Leptodactylus* (para cada 2000 eritrócitos analisados),

capturados nos pontos monitorados do igarapé Pintado em Ji-Paraná-RO. Ponto 1 (nascente do igarapé no perímetro urbano), 2 e 3 (dentro do perímetro urbano).

Pontos	Média ± SD
1	4,8 ± 2,6
2	35,8 ± 4,8*
3	71,7 ± 14,8**

N = 6 animais por ponto. Os animais foram capturados e liberados no mesmo local imediatamente após a coleta de sangue. MN: micronúcleos, EPC: eritrócitos policromáticos. * $p < 0,05$: diferença significativa em comparação com o ponto 1 (nascente do igarapé no perímetro urbano) (teste ANOVA, Tukey). Fonte: O autor, utilizando teste ANOVA Tukey

Conforme a tabela acima, os pontos monitorados com maior frequência de micronúcleos nos eritrócitos foram os pontos 2 e 3. O aumento significativo em relação ao ponto 1, pode estar relacionado à presença de efluentes acumulados nesses locais, proveniente de todo o curso do igarapé, podendo estes estarem contaminados com substâncias químicas tóxicas que levam a alteração do ecossistema local. Vale ressaltar que, a nascente do igarapé está localizada em um terreno inabitado e apesar de haver residências no entorno sua fonte é recoberta por mata secundária que protege a nascente, o fluxo de água que mina da fonte não deixa acumular água parada no local.

Os compostos químicos presentes em efluentes possuem afinidade pelo material genético dos organismos, podendo desencadear alterações no DNA (SILVA et al., 2018). Alguns compostos presentes nesses efluentes são metais, pesticidas, hidrocarbonetos, entre outros, e possuem potencial tóxico e mutagênico. Esse tipo de substância que é liberada na água pode não apresentar efeitos agudos nos organismos que são expostos a ela, porém estudos comprovam que podem causar danos teciduais e genéticos, reduzindo drasticamente o tempo de sobrevivência das espécies (GALINDO; SILVA; ROSÁRIO, 2012). A exposição contínua desses animais aos compostos químicos presente no ambiente aquático ao qual vivem, pode estar desencadeando bioacumulação nos tecidos ocasionando danos celulares, inibindo a ação das enzimas de reparo, modificando o DNA e interferindo negativamente na fisiologia do organismo exposto (KLAASSEN e WATKINS III, 2012).

O ciclo celular é designado como a sequência de acontecimentos que levam ao crescimento e divisão de uma célula. Quando ocorre dano no material genético,

induzido por substâncias mutagênicas, são necessárias algumas proteínas que desempenham papel fundamental no reparo do DNA, como é o caso da p53 (MOREIRA, 2014).

O gene p53 é ativado após a emissão de sinais de dano celular, e seu fator de transcrição interage com outros genes, inclusive o promotor do gene p21, cujo produto protéico é um inibidor de quinase dependente de ciclina que bloqueia a inativação de pRb por CDK4. Essa atividade proporciona a interrupção do ciclo celular na fase G1, antes que ocorra a duplicação do DNA, permitindo que o DNA danificado seja reparado. Outra forma de atuação da p53 é a indução da apoptose, quando não é possível realizar o reparo no DNA, podendo ocorrer quando a proteína Rb não funciona corretamente, pois a mesma atua como reguladora, restringindo a entrada da célula na fase S da interfase (FETT-CONTE e SALLES, 2002).

A quantidade normal de micronúcleos encontrados em eritrócitos varia de acordo com a espécie e possui relação com a capacidade de reparo da célula. A exposição à xenobióticos afeta essa capacidade de reparo, portanto os eritrócitos que possuem micronúcleo são o reflexo dos efeitos genotóxicos ao que o organismo está exposto (SILVEIRA, 2016).

De acordo com RIVERO (2007), alguns estudos costumam observar anomalias encontradas nas células, e não somente a presença de micronúcleos, pois essas anomalias podem estar relacionadas a processos que envolvem citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade. Alguns organismos apresentam essas anomalias após sofrerem exposição a substâncias químicas e poluentes.

A presença de anormalidades nucleares morfológicas, incluindo células binucleadas, indica possível exposição à xenobióticos, e conseqüentemente são indicadores de mutagenicidade (AMARAL, 2018). Estudos demonstraram que essas alterações na morfologia celular são induzidas por substâncias que têm o potencial de causar dano e quebras do DNA, podendo desencadear mutações e posteriormente processos carcinogênicos, uma vez que o dano ao DNA pode ocasionar perda do material genético e lesões irreparáveis (SILVA et al., 2018). Conforme demonstra a figura 5, não houve diferença significativa na incidência de células binucleadas, em comparação ao Ponto 1 (nascente do igarapé).

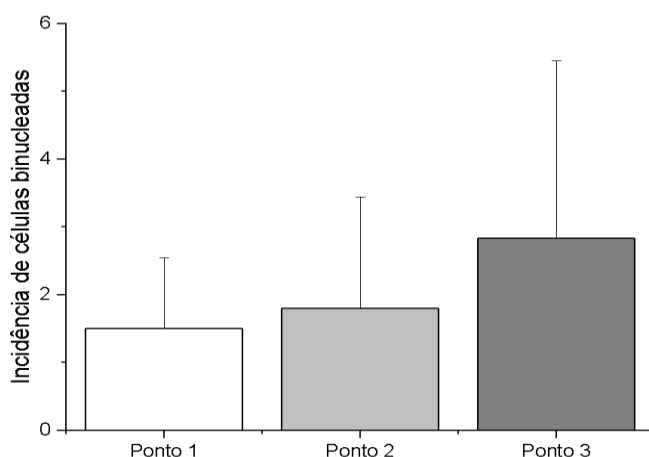


Figura 5 - Incidência de células binucleadas (média e desvio padrão) encontradas em eritrócitos de *Leptodactylus*, capturados nos pontos monitorados do igarapé Pintado. (N = 6), $p > 0,05$, não apresentando diferença significativa em comparação com o ponto 1 (nascente do igarapé no perímetro urbano) (teste ANOVA, Tukey). Fonte: O autor, utilizando teste ANOVA Tukey

Segundo SILVA e colaboradores (2016), a apoptose (morte celular) é um tipo de autodestruição das células que visa à manutenção da homeostase do organismo, ocorrendo de forma programada. É um processo rápido, com alta demanda de energia, ocorre em diferentes estágios e pode ser estimulado por processos patológicos no organismo. Conforme a figura 6, a incidência de células em apoptose não apresentou diferença significativa entre os pontos que foram analisados.

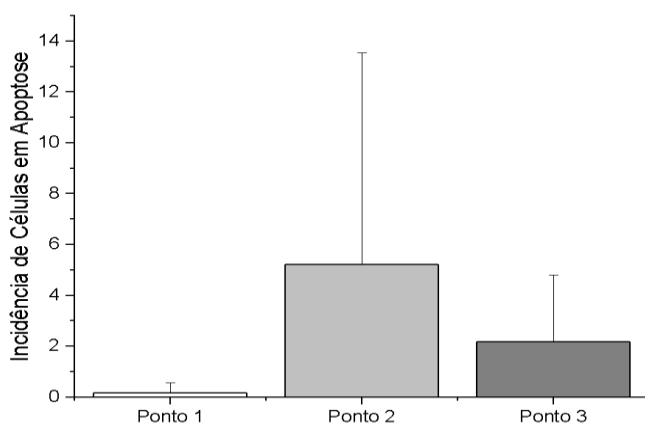


Figura 6 - Incidência de células em apoptose (média e desvio padrão) encontradas em eritrócitos de *Leptodactylus*, capturados nos pontos monitorados do igarapé Pintado. (N = 6), $p > 0,05$, não apresentando diferença significativa em comparação com o ponto 1 (nascente do igarapé no perímetro urbano) (teste ANOVA, Tukey). Fonte: O autor, utilizando teste ANOVA Tukey

Outra anomalia visualizada durante a contagem dos eritrócitos foram células espiculadas, porém em pequena quantidade. Conforme demonstrado abaixo pela

figura 7, não houve diferença significativa entre os pontos monitorados. Segundo SILVA e colaboradores (2018), os eritrócitos que apresentam espículas na membrana sofrem descaracterização, por formação de bolhas ou lise total, tornando-as semelhantes aos eritrócitos morfológicamente denominados de acantócitos.

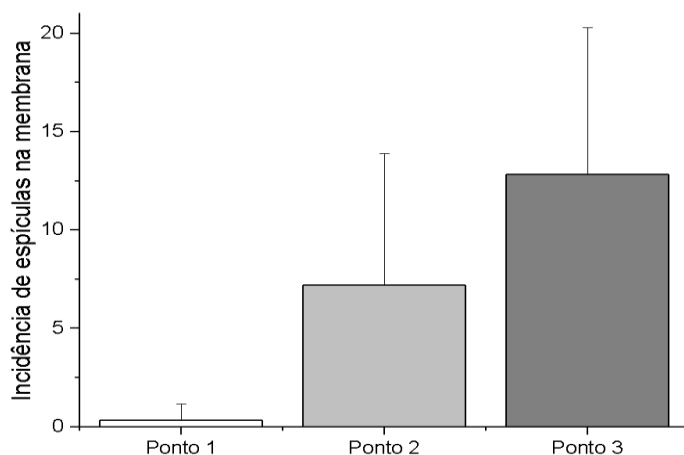


Figura 7 - Incidência de espículas na membrana (média e desvio padrão) encontradas em eritrócitos de *Leptodactylus*, capturados nos pontos monitorados do igarapé Pintado. (N = 6), $p > 0,05$, não apresentando diferença significativa em comparação com o ponto 1 (nascente do igarapé no perímetro urbano) (teste ANOVA, Tukey). Fonte: O autor, utilizando teste ANOVA Tukey

Um estudo recente foi realizado por SILVA e colaboradores (2018) no município de Ouro Preto do Oeste, Rondônia, com o mesmo gênero *Leptodactylus* como espécie bioindicadora e obteve resultados semelhantes quanto à presença de micronúcleos em eritrócitos. Outro estudo realizado por CRISTO e colaboradores (2017) no município de Ji-Paraná, utilizando o Lambari (*Astyanax sp.*) como espécie bioindicadora, obteve alterações significativas em um dos pontos monitorados, sendo este fato atribuído ao grande fluxo de veículos, moradias e áreas comerciais nas proximidades do Igarapé. Sendo assim, áreas com manipulação humana apresentam maior extensão de danos ao ecossistema, não favorecendo a qualidade de vida das espécies. Portanto, pode-se dizer que há reflexos da ação do homem no ecossistema, como também nos organismos que habitam os corpos hídricos.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos na análise físico-química, confirmaram a presença de níveis elevados de ferro, nitrogênio amoniacal, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, em um ou mais pontos monitorados. Em relação a análise biológica, os pontos 2 e 3 demonstraram aumento significativo na frequência de micronúcleos nos eritrócitos. Outras anomalias avaliadas, como células binucleadas, apoptose e espículas na membrana, não demonstraram aumento expressivo em nenhum dos pontos avaliados. A frequência de micronúcleos no presente estudo indica que, à exposição da espécie bioindicadora à xenobióticos com potencial tóxico e mutagênico, vem sofrendo alterações á nível celular. Diante do exposto, conclui-se que os impactos gerados pela contaminação ambiental no local de estudo, está contribuindo diretamente para o desequilíbrio e gerando consequências negativas no ecossistema, resultado das ações humanas no meio ambiente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESSA, Denis Moledo de Souza, et al. Efeitos ambientais da disposição oceânica de esgotos por meio de emissários submarinos: uma revisão. **O Mundo Saúde**, São Paulo, v. 36, n.4, p. 643-661, 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS - ANA. (2012). **Panorama da qualidade das águas superficiais do Brasil 2012**. Brasília: ANA, 265 p. Disponível em http://arquivos.ana.gov.br/imprensa/publicacoes/Panorama_Qualidade_Aguas_Superficiais_BR_2012.pdf acesso em 10 de set. de 2020.

ALVES, Lara Machado, et. al. Aplicação de técnicas de biomonitoramento para avaliação da qualidade da água. **XI Congresso Nacional de Meio Ambiente de Poços de Caldas**, Minas Gerais, 2014.

AMARAL, Diogo Ferreira. **Biomarcadores comportamentais e mutagênicos em girinos de rã touro (*Lithobates catesbeianus*) expostos à abamectina**. Instituto Federal Goiano (Mestrado Profissional), 2018.

ARAÚJO, Dhenise Mikaelly Meneses; COSTA, Kerolayne Lopes; BATISTA, Nelson Jorge Carvalho. Avaliação da frequência basal de micronúcleos em células basais da mucosa bucal em pacientes com câncer bucal: Revisão Integrativa. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**. V. 22, n. 3, p. 41-47, mar.-mai., 2018.

ARIAS, Ana Rosa Linde et al. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro , v. 12, n. 1, p. 61-72, Mar. 2007 .

BARRETO, Luciano Vieira, et al. Eutrofização em Rios Brasileiros. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 9, n. 16, p. 2165-2179, 2013.

BRASIL. **Ministério do Meio Ambiente**, 2017. Disponível em <<https://www.gov.br/mma/pt-br>> acesso em 08 de junho de 2020.

BRASIL. **Lei n. 9.433, de 8 de janeiro de 1997**. Disponível em: <http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/1997/lei-9433-8-janeiro-1997-374778norma-pl.html> acesso em 10 de out. de 2013.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução no 357, de 17 de março de 2005**. Brasília, 2005.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo**. Brasília, p. 48, 2006.

BRITO, Loislene Oliveira; DA LUZ, Lafayette Dantas. Avaliação e monitoramento da qualidade das águas: usando análises moleculares. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais**, v. 3, n. 2, p. 76-90, 2015.

CAMARGO, J. A.; Alonso, A.; Salamanca, A. Nitrate toxicity to aquatic animals: A review with new data for freshwater invertebrates. **Cemosphere**. v.58, p. 1255–1267, 2005.

CARRAFA, Evangelina, et al. Determinación de la frecuencia de micronúcleos en eritrocitos de *Bufo arenarum* que habitan ambientes urbanizados. **Acta Toxicológica Argentina**. V. 21, n° 2, p. 78-84, 2013.

CARVALHO, Marilda Nascimento. **Avaliação do processo de remoção de ferro em água de origem subterrânea por adsorção com materiais naturais**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química – UFPE, 2005. Disponível em https://attena.ufpe.br/bitstream/123456789/6738/1/arquivo7911_1.pdf acesso em 02 de nov. de 2020.

COELHO, Ana Carolina. **Citogenética comparative de seis espécies de anuros do gênero *Leptodactylus* (Leptodactylidae) coletadas no estado do Amazonas, Brasil**. Instituto de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2013.

COELHO, Deisy de Assis, et. al. Análise da Alcalinidade Total e Concentração de Carbono Inorgânico em Trechos Urbanos de Rios: O exemplo do rio Santa Rita, região sudoeste da Bahia. **VI Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**. Porto Alegre, p. 1-4, 2015.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). **Website**. 2012. Disponível em <http://www.cetesb.sp.gov.br> acesso em 05 de nov. de 2020

COMMENT, Atualização Current. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Rev Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 370-4, 2002.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução 357/2005**. Disponível em <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459> acesso em 23 de mar de 2020.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução 430/2011**. Disponível em <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646> acesso em 23 de mar de 2020.

COSTA, Taís Gonçalves Neto. **Crescimento Demográfico e Saneamento Básico nas Capitais Regionais do Brasil**. Tese (Mestrado em Geografia) - Instituto de Geociências. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2017.

CRISTO, Nicole Pereira, et. al. Avaliação ecotoxicológica da água do igarapé 2 de abril utilizando o lambari (*Astyanax sp*) como organismo bioindicador. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**. Vol. 4, n° 2, p. 51-60, 2017.

DA SILVA, Francisco Carlos. O Alerta dos Sapos. **Ciência Hoje On-line**. Abril 2014. Disponível em < <http://cienciahoje.org.br/o-alerta-dos-sapos/> > acesso em 10 de março de 2020.

DE-CARVALHO, Crizanto Brito, et. al. História natural de *Leptodactylus mystacinus* e *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae) no Cerrado do Brasil Central. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 3, p. 105-115, Julho/Set, 2008.

DEGEN, Andressa Nayara, et. al. Avaliação de micronúcleos em células da mucosa de fumantes e não fumantes. **Revista UNILUS Ensino e Pesquisa**. V. 14, n.36, jul/set 2017.

DINATO, Bruno Iglesias. **Aplicação do Swat para simulação de sedimentos e vazão na bacia do Rio Ji-Paraná-RO**. Universidade Federal de Rondônia (Departamento de Engenharia Ambiental), 2013.

DOS SANTOS SILVA, J. et al. Princípios bioéticos aplicados aos estudos ecotoxicológicos aquáticos. **Revista Bioética**, v. 23, n. 2, 2015.

DOURADO, Priscila Leocádia Rosa. **Biomonitoramento da Qualidade da água Superficial em áreas agroindustriais no Mato Grosso do Sul**. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia) – Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias. Universidade Federal de Dourados. Dourados, 2014.

FETT-CONTE, Agnes C., SALLES, Andréa B. A importancia do gene p53 na carcinogenese humana. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, pág 85-89, 2002.

FONSECA, André Lemos. **Determinação do índice de nitrato, nitrito e nitrogênio amoniacal na água da lagoa de Extremo/RN**. Natal, junho, 2017. Disponível em https://monografias.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/5560/1/%20Determina%3%a7%3%a3o%3%8dndiceNitrato_FONSECA_2017.pdf acesso em 10 de nov. de 2020.

GALINDO, T. SILVA, E. ROSÁRIO, I. Indução de micronúcleos e toxicidade por efluente doméstico em duas populações de *Bathygobius Soporator* (Valenciennes, 1837)(Teleostei, Gobiidae) no Litoral de Salvador (BA), Brasil. **Bras. J. Aquat. Sci. Technol**, p. 1-7, 2012.

GONÇALVES, MACKS WENDELL ET AL. Análises Mutagênicas de Anuros em Áreas de Mineração de Níquel. **Estudos**, v. 39, n. 2, p. 115-121, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Censo demográfico. Brasília, 2020. Disponível em http://mapasinterativos.ibge.gov.br/atlas_ge/brasil1por1.html acesso em 15 de novembro de 2020

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. *Síntese de indicadores sociais*. Uma análise das condições de vida da população brasileira. Rio de Janeiro: IBGE, 2012.

JUNQUEIRA, Adriana Pereira Freire. **Estudo do potencial clastogênico e genotóxico do extrato de *Piper cubeba* em células de roedores *in vivo***. Minas Gerais, 2006.

KLAASSEN, Curtis D.; WATKINS III, John B. **Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull**. 2 ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

KEMERICH, Pedro Daniel da Cunha; RITTER, Luciana Gregory, BORBA, Wiliam Fernando. Indicadores da Sustentabilidade Ambiental: Métodos e aplicações. **Revista Monografias Ambientais – REMOA**, v. 13, n. 5, p. 3723-3736, 2014.

LIMA, Adriel Martins, SANTOS, Francismário Ferreira. Análise das Propriedades Físico-Químicas e de Metais Potencialmente Tóxicos na Água do Rio Claro, Próximo a Cidade de Jataí-GO. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, vol. 14, n. 2, Jul/Dez 2012.

LIMA, Daniel Pandilha de, et al. Avaliação da Contaminação por metais pesados na água e nos peixes da bacia do rio Cassiporé, estado do Amapá, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 45, n. 4, p. 405-414, 2015.

LIBANIO, Paulo Augusto Cunha. O uso de estratégias focadas em resultados para controle da poluição hídrica no Brasil. **Eng Sanit Ambient**. V. 21, n. 4, p. 731-738, out/dez 2016.

LOEWEN, André Ricardo; PINHEIRO, Adilson. Overland flow generation mechanisms in the Concórdia River basin, in southern Brazil. **RBRH**, Porto Alegre, v. 22, e4, 2017.

MACARO, Luiz Antonio Moraes. **Geotecnologias aplicadas à caracterização da qualidade ambiental da bacia hidrográfica do igarapé pintado, Ji-Paraná-RO**. Monografia (Engenharia Ambiental), Universidade Federal de Rondônia, campus de Ji-Paraná, 2013.

MAGALHÃES, Geizibel Campos de, et. al. Metais potencialmente tóxicos em rios a montante do Pantanal Norte. **Revista Ambiente e Água**, vol. 11, n. 4. Taubaté, 2016.

MARKERT. B. Definitions And Principles For Bioindication And Biomonitoring Of Trace Metals In Environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v.21, p.77-82, 2007.

MORAES, Danielle Serra de Lima, JORDÃO, Berenice Quinzani. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Rev. Saúde Pública**. V. 36, n. 3, p. 370-374, 2002.

MOREIRA, Catarina. Ciclo celular. **Revista de Ciência Elementar**, Lisboa, v. 2, n. 4, dez de 2014. Disponível em <https://rce.casadasciencias.org/rceapp/art/2014/249/> acesso em 07 dez de 2020.

OLIVEIRA, Amanda Rodrigues Moreira de, et al. Alternative mechanisms of charging for use of water resources in wastewater assimilation. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, Porto Alegre, v. 22, e3, 2017.

OLIVEIRA, Hugo Henrique Pádua, et. al. Citogenética comparativa das famílias Leptodactylidae e Hylidae do Cerrado Goiano. **Estudos**, Goiânia, v. 39, n. 2, p. 123-131, abri/jun 2012.

POLLO, Flavio, et al. Estudio comparativo de la frecuencia de micronúcleos y anormalidades nucleares en eritrocitos de tres especies ícticas. **Acta toxicológica argentina**, v. 20, n. 2, p. 62-67, 2012.

PIMENTA, Sandro Moraes, et al. Estudo da qualidade da água por meio de bioindicadores bentônicos em córregos da área rural e urbana. **Rev. Ambient. Água**, Taubaté, v. 11, n. 1, p. 1998-2010, Jan/Mar., 2016.

PINTO, André Luiz, OLIVEIRA, Gustavo Henrique de, PEREIRA, Gabrielle Alberta. Avaliação da eficiência da utilização do oxigênio dissolvido como principal indicador da qualidade das águas superficiais da bacia do córrego Bom Jardim, Brasilândia/MS. **Revista GEOMAE**, v. 1, n.1, p. 69-82, 2010.

PIRATOBA, Alba Rocio Aguilar, et. al. Caracterização de parâmetros de qualidade da água na área portuária de Barcarena, PA, Brasil. **Rev. Ambient. Água**, vol. 12, n. 3, p. 435-456, p. 239-255, mai/jun 2017.

RIBEIRO, Erlon A, SANDRI, Delvio, BOÊNO, Josianny A. Qualidade da água de córrego em função do lançamento de efluente de abate bovino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 4, p. 425-433, 2013.

RIVERO, Carla Letícia Gediel. **Perfil da frequência de micronúcleos e de danos no DNA de diferentes espécies de peixes do lago Paranoá, Brasília-DF, Brasil**. Universidade de Brasília, fev., 2007.

RODRIGUES, Déborah Oliveira, SILVA, Sergio Luiz Rodrigues, SILVA, Maria Socorro Rocha da. Avaliação ecotoxicológica preliminar das águas das bacias hidrográficas dos rios Tarumã, São Raimundo e Educandos. **Acta Amazônia**. Manaus, v. 39, n. 4, p. 935-942, 2009.

SANTOS, Gabriela Pariz, et. al. Análises de ferro e manganês na água tratada de Porto Alegre/RS. **Rev. Gest. Sust. Ambient**, Florianópolis, v. 9, n. esp, p. 218-233, maio 2020.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO – SNIS. **Diagnóstico dos Serviços de água e esgoto**. 2018. Disponível em <http://www.snis.gov.br/diagnostico> acesso em 16 de mar de 2020.

SILVA, Bruna Ferreira; SANTOS, Kamila Almeida. Análise Físico-Funcional da Bacia Hidrográfica do córrego samambaia/GO. **Rev. Geogr. Acadêmica**, v. 10, n.1, p. 44-45, 2016.

SILVA, Daiana Evaristo da, GONÇALVES, André Luís de Melo, MIYAMOTO, Catarina Akiko. Eriptose – Morte Programada dos Eritrócitos. **Rev. Conexão Eletrônica** – Três Lagoas, MS, v. 13, n.1, 2016.

SILVA, Daniel Clemente Vieira Rêgo; POMPÊO, Marcelo; PAIVA, Teresa Cristina Brazil de. A ecotoxicologia no contexto atual no Brasil. Cap 22. Pompêo et al. (Orgs.) Ecologia de reservatórios e interfaces, São Paulo: **Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo**, 2015.

SILVA, Douglas Henrique da. **Anfíbios e répteis de altitude da reserva particular do patrimônio natural santuário do Caraça, Catas Altas, Minas Gerais, Brasil**. Dissertação de Pós-graduação em Biologia Animal. Minas Gerais, 2017. Disponível em <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/20583/1/texto%20completo.pdf> acesso em 21 de nov. de 2020.

SILVA, Fábio Dutra da, et al. Avaliação Ecotoxicológica da água do Igarapé Ouro Preto utilizando a espécie bioindicadora *Leptodactylus petersii*. **SOUTH AMERICAN Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 5, n. 2, p. 69-87, 2018.

SILVA, Josielma dos Santos, et. al. Princípios bioéticos aplicados ao estudo ecotoxicológicos aquáticos. **Revista Bioética**, p. 409-418, 2015.

SILVEIRA, Sthephanie da Silva. **Avaliação dos danos mutagênicos através da análise de micronúcleos em eritrócitos de tartarugas marinhas no litoral norte e médio leste do Rio Grande do Sul, Brasil**. 2016.

TAVARES, Sílvia Roberto de Lucena. **Fitorremediação em solo e água de áreas contaminadas por metais pesados provenientes da disposição de resíduos perigosos**. Tese de Doutorado (Pós-graduação em Engenharia Civil, COPPE). Rio de Janeiro, 2009.

TRINDADE, Suélen Andressa Rinas, et. al. **Desenvolvimento de protocolo metodológico para utilização de anfíbios como bioindicadores ecotoxicológicos da contaminação por agrotóxicos**. Universidade Federal da Fronteira Sul, 2017.

YOKOYAMA, Elisa, et al. A sazonalidade ambiental afeta a composição faunística de Ephemeroptera e Trichoptera em um riacho de Cerrado do Sudeste do Brasil. **Revista Ambiência Guarapuava**, v. 8, n. 1, p. 73-84, 2012.