



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**  
***CAMPUS CERRO LARGO***  
**CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA**

**BRUNA ESTER GRUMICKER PEREIRA**

**EMPREGO DO MICROCRUSTÁCEO *DAPHNIA MAGNA* PARA A  
DETERMINAÇÃO DE TOXICIDADE AGUDA EM ÁGUA UTILIZADA PARA O  
ABASTECIMENTO PÚBLICO COM MULTIRESÍDUOS DE AGROTÓXICOS**

**CERRO LARGO**

**2019**

**BRUNA ESTER GRUMICKER PEREIRA**

**EMPREGO DO MICROCRUSTÁCEO *DAPHNIA MAGNA* PARA A  
DETERMINAÇÃO DE TOXICIDADE AGUDA EM ÁGUA UTILIZADA PARA O  
ABASTECIMENTO PÚBLICO COM MULTIRESÍDUOS DE AGROTÓXICOS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do grau de Bacharela em Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul – *campus* Cerro Largo.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Alcione Aparecida de Almeida Alves

CERRO LARGO

2019

#### Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Pereira, Bruna Ester Grumicker

Emprego do microcrustáceo *Daphnia magna* para a determinação de toxicidade aguda em água utilizada para o abastecimento público com multiresíduos de agrotóxicos / Bruna Ester Grumicker Pereira. -- 2019.

86 f. : il.

Orientadora: Alcione Aparecida de Almeida Alves.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Cerro Largo, RS , 2019.

1. Teste de toxicidade aguda com *Daphnia magna*. 2. Teste de genotoxicidade com *Allium cepa*. 3. Água de abastecimento público. 4. Agrotóxicos. I. Alves, Alcione Aparecida de Almeida, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

**BRUNA ESTER GRUMICKER PEREIRA**

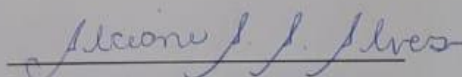
**EMPREGO DO MICROCRUSTÁCEO *DAPHNIA MAGNA* PARA A  
DETERMINAÇÃO DE TOXICIDADE AGUDA EM ÁGUA UTILIZADA PARA O  
ABASTECIMENTO PÚBLICO COM MULTIRESÍDUOS DE AGROTÓXICOS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado como requisito para obtenção do grau de  
Bacharela em Engenharia Ambiental e Sanitária da  
Universidade Federal da Fronteira Sul – *campus* Cerro  
Largo

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

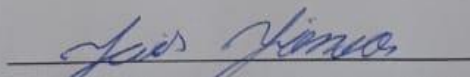
11/12/19

Banca Examinadora:



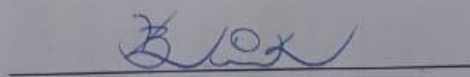
Profª Drª Alcione Aparecida de Almeida Alves – UFFS

Orientadora



Profº Dr Jair João Daniel Junior – UFFS

Banca Avaliadora



Roberto Birck – Licenciador ambiental – Prefeitura Municipal de Cerro Largo

A Deus pela sabedoria, aos meus pais e irmão  
pelo amor, cuidado e ajuda imensuráveis.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, dono de toda ciência, sabedoria e poder, pela vida, pelas bênçãos alcançadas, pelos dias bons e ruins que contribuíram para o meu crescimento como ser humano, pelo entendimento, pela sabedoria, pelo amor, por me fazer acreditar que todas as coisas cooperam para o bem e por todo o direcionamento nas diversas esferas da minha vida.

Agradeço aos meus pais por todo o apoio e suporte, por serem meus incentivadores e mantenedores, por representar seres humanos incríveis e exemplares na minha vida, por serem incansáveis com o meu bem estar e por todo o cuidado e amor dedicados a minha vida.

Agradeço ao meu irmão, pela companhia e alegria de todos os momentos.

Agradeço a minha família, por acreditar e sempre torcer por mim.

Agradeço a minha amiga e dupla de pesquisa Jaqueline Kin, por todo o apoio e ajuda, por partilhar comigo vitórias, medos e frustrações na graduação e na vida, por acreditar comigo que, no final tudo daria certo, por ser esse ser humano iluminado e excepcional com quem eu aprendo constantemente.

Agradeço as minhas companheiras e ajudantes de laboratório, por todas as horas de dedicação, por todos os momentos de descontração que fizeram valer a pena todo o cansaço, sem dúvida, a ajuda de vocês foi imprescindível para que essa pesquisa acontecesse.

Agradeço a amiga e companheira de apartamento Andréia Mombach, pela convivência, pelos momentos de alegria e pelo suporte nos momentos de dificuldade e tristeza, fazendo com que eu acreditasse que tudo daria certo.

Agradeço a professora e orientadora Alcione Alves pela ajuda, apoio e excelente orientação, por dedicar tempo para aprimorar a pesquisa, pelo incentivo e principalmente por retratar um ser humano humilde, alegre, inspirador e de luz.

Agradeço aos colegas de curso pela troca de saberes, medos e conquistas.

Agradeço a todo o corpo docente da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) *campus* Cerro Largo, por partilhar conhecimento e cooperar com a minha formação profissional.

Agradeço aos servidores técnicos e de laboratórios da UFFS, *campus* Cerro Largo, por orientar quanto aos processos laboratoriais e colaborar com a execução da pesquisa.

Agradeço a UFFS, *campus* Cerro Largo, por proporcionar educação gratuita e de qualidade aos seus acadêmicos. Agradeço ao departamento de toxicologia da Universidade

Federal de Santa Catarina (UFSC) pela doação das *Daphnia magna* e por prontamente atender e sanar nossas dúvidas. Agradeço ao MCTIC/CNPq pelo financiamento da pesquisa conforme chamada universal MCTIC/CNPq N° 28/2018 referente ao projeto intitulado reator de leito fixo com energia solar fotovoltaica empregado na remoção de agrotóxicos da água de abastecimento público na área rural.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho.

A todos vocês, minha gratidão.

“É necessário hidratar a cultura, mudando a percepção sobre a água, reduzir a hidroalienação e tornar a sociedade e os indivíduos hidroconscientes” (ANDRÉS, 2012).

## RESUMO

Atualmente, o sistema de produção agrícola brasileiro faz uso de uma quantidade exorbitante de agrotóxicos para garantir a produtividade nas diferentes áreas da agricultura. A Região das Missões do Estado do Rio Grande do Sul se caracteriza por ter uma economia essencialmente agrícola e em consequência disso, faz uso de diversos agrotóxicos o que contribui para a poluição do meio ambiente. Dentre os recursos passíveis de poluição por agrotóxicos, tem-se identificado que estes compostos podem estar presentes inclusive na água utilizada para o abastecimento público. Dessa forma, o objetivo deste estudo consistiu em avaliar a toxicidade com o microcrustáceo *Daphnia magna* e a genotoxicidade ambiental com *Allium cepa* da água subterrânea de um poço de abastecimento público poluída por multiresíduos de agrotóxicos em um município da Região das Missões no Estado do Rio Grande do Sul. Para tanto, foram realizadas análises toxicológicas com *Daphnia magna* considerando as recomendações técnicas da ABNT NBR N° 12.713/2016, seguido de análises de genotoxicidade com aplicação do teste *Allium cepa* e de análise dos parâmetros físico-químicos (pH, dureza total, temperatura e agrotóxicos) em água oriunda de poços de abastecimento público em quatro momentos distintos, ou seja, durante as estações verão, outono, inverno e primavera do ano de 2019. Como resultado, foi constatada a toxicidade aguda da água de abastecimento público nas estações inverno e primavera, enquanto que o índice mitótico identificado por meio de ensaios de genotoxicidade indicou potencial toxicidade nas amostras de água respectivas as estações verão, outono e inverno. Estes resultados corroboraram com a quantificação dos agrotóxicos Pirimicarb, Azoxistrobina, Atrazina e Fipronil nas estações verão, outono e inverno. Na primavera houve detecção de Imazapic, entretanto não houve quantificação de nenhum outro agrotóxico. No que tange aos parâmetros físico-químicos analisados, com relação ao pH, todas as amostras, incluindo o controle, apresentaram pH fora da faixa ideal para aplicação do teste de toxicidade aguda conforme recomendação da ABNT NBR N° 12.713/2016 que está entre 7,6 e 8,0 entretanto o pH de todas as amostras e do controle ficou em torno da faixa de neutralidade com pH próximo a  $7,0 \pm 0,1$ . No que concerne a dureza total, as amostras do verão, outono, inverno e primavera apresentaram valores de 408, 406, 404 e 404 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> respectivamente, o controle apresentou dureza total de 214 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>. No tocante a temperatura, as amostras foram estabilizadas para  $20 \pm 1$  °C para aplicação tanto do teste de toxicidade aguda como para o teste de genotoxicidade. Nesse sentido, foi possível observar que a variação dos parâmetros pH, dureza e temperatura não influenciou nos testes de toxicidade aguda visto que,

o controle não apresentou imobilidade significativa indicando assim a validade do teste. Da mesma forma, não houve influência destes parâmetros nos resultados do teste de genotoxicidade. Assim, infere-se que a toxicidade verificada no teste de toxicidade aguda e genotoxicidade é respectiva a poluição da amostra com multiresíduos de agrotóxicos. Com relação à detecção de agrotóxicos, a análise foi realizada para 24 diferentes compostos o que não infere que as amostras continham resquícios de outros compostos com potencial de causar toxicidade alheios aos que foram analisados.

Palavras-chave: Toxicidade. Genotoxicidade. Multiresíduos. Região das Missões.

## ABSTRACT

Currently, the Brazilian agricultural production system uses an exorbitant amount of pesticides to ensure productivity in different areas of agriculture. The Missions Region of the State of Rio Grande do Sul is characterized by having an essentially agricultural economy and as a result, makes use of various pesticides which contributes to environmental pollution. Among the resources subject to pollution by pesticides, it has been identified that these compounds may be present even in water used for public supply. Thus, the aim of this study was to evaluate the toxicity with the *Daphnia magna* microcrustacean and the environmental genotoxicity with *Allium cepa* of groundwater from a public well polluted by pesticides multiresidues in a municipality of the Missions Region in the State of Rio Grande. To this end, toxicological analyzes were performed with *Daphnia magna* considering the technical recommendations of ABNT NBR N° 12.713/2016, followed by genotoxicity analyzes with the application of the *Allium cepa* test and analysis of physicochemical parameters (pH, total hardness, temperature and pesticides) in water from public wells at four different times, ie during the summer, autumn, winter and spring seasons of 2019. As a result, the acute toxicity of public water in the seasons was found. winter and spring, while the mitotic index identified by genotoxicity indicated potential toxicity in the respective water samples during the summer, autumn and winter seasons. These results corroborated the quantification of the pesticides Pirimicarb, Azoxystrobin, Atrazine and Fipronil in the summer, autumn and winter seasons. In spring, Imazapic was detected, but no other pesticides were quantified. Regarding the physicochemical parameters analyzed, in relation to the pH, all samples, including the control, presented pH outside the ideal range for application of the acute toxicity test according to the recommendation of ABNT NBR N° 12.713/2016, which is between 7.6 and 8,0 however the pH of all samples and the control was around the neutrality range with a pH close to  $7.0 \pm 0.1$ . Regarding the total hardness, the summer, autumn, winter and spring samples presented values of 408, 406, 404 and 404 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> respectively, the control presented total hardness of 214 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>. Regarding temperature, the samples were stabilized to  $20 \pm 1$  °C for both acute toxicity and genotoxicity tests. In this sense, it was possible to observe that the variation of the pH, hardness and temperature parameters did not influence the acute toxicity tests since the control did not show significant immobility thus indicating the validity of the test. Likewise, there was no influence of these parameters on the genotoxicity test results. Thus, it is inferred that the toxicity found in the acute toxicity and

genotoxicity test is the pollution of the sample with multi-pesticide residues. Regarding the detection of pesticides, the analysis was performed for 24 different compounds, which does not imply that the samples contained remnants of other compounds with potential to cause toxicity unrelated to those analyzed.

Keywords: Toxicity. Genotoxicity Multiresiduals. Region of the Missions.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Rotas de transporte e degradação de agrotóxicos no ambiente.....	26
Figura 2 – (A) Efípio em estágio inicial. (B) Efípio em estágio avançado. ....	43
Figura 3 – Representação esquemática da anatomia interna e externa de uma <i>Daphnia magna</i> . .....	44
Figura 4 – Ilustração da aplicação do teste de genotoxicidade.....	47
Figura 5 – Visões de aproximação na lâmina.....	48
Figura 6 – Localização da Região das Missões no Estado do Rio Grande do Sul. ....	51
Figura 7 – Localização do poço de coleta de água subterrânea.....	53
Figura 8 – (A) Aparato para cultivo da alga <i>Desmodesmus Subspicatus</i> . (B) Solução algal...	56
Figura 9 – (A) Cultivo de <i>Daphnia magna</i> em béquer de vidro - vista superior. (B) Cultivo de <i>Daphnia magna</i> em béquer de vidro - vista lateral. ....	57
Figura 10 – <i>Daphnia magna</i> em diferentes faixas etárias .....	58
Figura 11 – (A) Câmara de germinação. (B) Câmara de germinação com fotoperíodo ligado. .....	58
Figura 12 – Diluições para o teste de sensibilidade.....	59
Figura 13 – (A) Aplicação do teste de sensibilidade. (B) Solução mãe de dicromato de potássio. ....	60
Figura 14 – Aplicação do teste de toxicidade aguda. ....	61
Figura 15 – Exposição dos bulbos para estimulação do crescimento radicular. ....	63
Figura 16 – (A) Bulbos enraizados no controle. (B) Bulbos enraizados da estação primavera. .....	63
Figura 17 – (A) Raízes armazenadas em eppendorfs. (B) Raízes coradas com Shiff. ....	64
Figura 18 – (A) Lâmina pronta para análise. (B) Lâmina no microscópio óptico com aumento de 40x. ....	65
Figura 19 – Divisões celulares identificados no verão. ....	73
Figura 20 – Divisões identificadas nas lâminas do outono .....	74
Figura 21 – Prófase identificada nas lâminas do inverno .....	75
Figura 22 – Prófases identificadas nas lâminas da primavera. ....	75
Figura 23 – Prófase e telófase identificadas do controle. ....	76

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 – Tipos de agrotóxico associados ao seu organismo alvo. ....	28
Tabela 2 – Classificação dos agrotóxicos quanto ao grau de toxicidade.....	28
Tabela 3 – Classificação dos agrotóxicos quanto ao potencial de periculosidade ambiental...29	
Tabela 4 – Caracterização dos agrotóxicos em discussão. ....	31
Tabela 5 – Resultados do ensaio de toxicidade aguda.....	67
Tabela 6 – Parâmetros físico-químicos das amostras verificados antes do início do teste. ....	68
Tabela 7 – Detecção de agrotóxicos nas amostras. ....	70
Tabela 8 – Resultados do ensaio de genotoxicidade. ....	73
Tabela 9 – Índice mitótico para todas as estações e controle. ....	76
Tabela 10 – Relação entre o índice mitótico médio e o índice mitótico do controle. ....	78
Quadro 1 – Classificação de agrotóxicos e sintomas agudos e crônicos.....	38
Quadro 2 – Descrição do período de coleta.....	52

## LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABRASCO	Associação Brasileira de Saúde Coletiva
ANA	Agência Nacional das Águas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AGEITEC	Agência Embrapa de Informação Tecnológica
CETESB	Companhia de Saneamento do Estado de São Paulo
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLAE-EM	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência acoplado a Espectrômetro de Massa
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DNA	Ácido desoxirribonucleico
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IM	Índice mitótico
IMm	Índice mitótico médio
IMm,c	Índice mitótico médio em relação ao controle
$K_{ow}$	Coefficiente de partição octanol-água
$K_{oc}$	Coefficiente de adsorção no solo
$K_H$	Constante de Henry
MS	Ministério da Saúde
NBR	Norma Brasileira
p.c.	Peso corpóreo
PPA	Potencial de periculosidade ambiental
SINDIVEG	Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal
SPE	Extração em fase sólida
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
VMP	Valores Máximos Permitidos

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
1.1	OBJETIVOS .....	19
1.1.1	<b>Objetivo Geral</b> .....	20
1.1.2	<b>Objetivos Específicos</b> .....	20
1.2	JUSTIFICATIVA.....	20
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	23
2.1	ÁGUA UTILIZADA PARA O ABASTECIMENTO PÚBLICO E AS POSSÍVEIS FORMAS DE CONTAMINAÇÃO .....	23
2.2	AGROTÓXICOS .....	27
2.2.1	<b>A presença de agrotóxicos nas águas utilizadas para o consumo humano</b> .....	36
2.2.2	<b>Efeitos nocivos dos agrotóxicos à saúde</b> .....	37
2.3	TESTES DE TOXICIDADE COMO FORMA DE PREVER POSSÍVEIS OS EFEITOS DANOSOS DOS AGROTÓXICOS .....	39
2.3.1	<b>Daphnia magna – organismo teste</b> .....	42
2.3.2	<b>Genotoxicidade ambiental</b> .....	45
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	50
3.1	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO .....	50
3.2	PROCEDIMENTO DE COLETA.....	52
3.2.1	<b>Limpeza de vidrarias</b> .....	53
3.3	DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA SUBTERRÂNEA UTILIZADA PARA O CONSUMO HUMANO. ....	54
3.3.1	<b>Preparo das amostras e determinação cromatográfica</b> .....	54
3.4	TESTES TOXICOLÓGICOS .....	55
3.4.1	<b>Cultivo da alga <i>Desmodesmus subspicatus</i></b> .....	55
3.4.2	<b>Cultivo do microcrustáceo <i>Daphnia magna</i></b> .....	56
3.4.3	<b>Teste de sensibilidade com <i>Daphnia magna</i></b> .....	59
3.4.4	<b>Teste agudo de toxicidade com <i>Daphnia magna</i></b> .....	60
3.4.5	<b>Validação do teste</b> .....	62
3.4.6	<b>Descarte da amostra</b> .....	62
3.5	TESTES GENOTÓXICOS .....	62
3.6	ANÁLISE DOCUMENTAL.....	65

<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>67</b>
4.1	TESTE TOXICOLÓGICO .....	67
4.2	TESTE GENOTOXICOLÓGICO.....	72
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>79</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>81</b>
	<b>APÊNDICE A – RESULTADOS DA ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DA ÁGUA DE UM POÇO SUBTERRÂNEO DE ABASTECIMENTO PÚBLICO</b> .....	<b>88</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Historicamente e mais especificamente após a Revolução verde, o padrão de produção agrícola brasileiro, se fundamenta no uso de agrotóxicos para equilibrar problemas do processo produtivo. Assim, os agrotóxicos foram inseridos na agricultura brasileira como uma forma de prevenir e eliminar as pragas que poderiam prejudicar a produtividade. Pretendia-se, ao mesmo tempo, expandir a produtividade e conseqüentemente aumentar a eficiência econômica do processo produtivo rural (VEIGA, 2007).

Primitivamente, de acordo com Veiga et al. (2006), os agrotóxicos eram estáticos, possuíam baixa solubilidade e tinham um forte poder de adesão ao solo, mas com a evolução tecnológica, os agrotóxicos passaram a ser mais solúveis em água, possuir baixa capacidade de adesão e ser mais voláteis. Estas mudanças tecnológicas no aspecto químico dos agrotóxicos criaram substâncias cada vez mais tóxicas, resistentes e eficientes no combate às pragas. Mas em consequência disto, estas mudanças tecnológicas também elevaram e prolongaram ainda mais a capacidade tóxica dos agrotóxicos, bem como de acarretar danos à saúde e ao meio ambiente.

O atual modelo de produção agrícola, que visa à produtividade e deu conta de acompanhar o grande crescimento populacional trouxe como consequência para os dias atuais um uso abusivo e desenfreado de agrotóxicos no ambiente. O dossiê da Associação Brasileira de Saúde Coletiva (ABRASCO), de acordo com Carneiro et al. (2015) estima que o Brasil é o maior consumidor mundial de agrotóxicos, dado estimado pelo volume comercializado no país e que desde 2008, o Brasil ocupa o lugar de maior consumidor de agrotóxicos do mundo. Ainda, de acordo com o dossiê ABRASCO, nos últimos 10 anos o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93 % enquanto isso, o mercado brasileiro teve um crescimento de 190 % (CARNEIRO et al., 2015).

Não bastasse o intensivo uso, outro agravante que compromete o meio ambiente e a saúde é o fato de existir aquisição clandestina de agrotóxicos o que torna o uso ainda maior do que é apresentado em dados oficiais. O Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal (SINDIVEG) avalia que 20 % do mercado nacional seja ocupado por agrotóxicos clandestinos (COSTA; RIZZOTTO; LOBATO, 2018).

Devido ao crescente uso de agrotóxicos nos últimos anos e também ao melhoramento aos quais os agrotóxicos foram submetidos para serem mais eficientes, porém nem sempre menos tóxicos, o ambiente se encontra contaminado com inúmeras substâncias que trazem

riscos à saúde. Isso porque, quando aplicados, os agrotóxicos podem contaminar o solo e os recursos hídricos, resultando em degradação ambiental que tem como consequência prejuízos à saúde e ao ecossistema (VEIGA et al., 2006). Estima-se que cerca de 20 % da quantidade de agrotóxicos aplicados como tratamento preventivo de plantas possam alcançar as águas superficiais (BARRIUSO et al., 1996). Esse número só não é maior, porque existem alguns processos que atuam na imobilização e/ou degradação das moléculas de agrotóxicos no meio ambiente e dentre as quais se destacam a evaporação, a adsorção, hidrólise e a fotólise (BORTOLUZZI et al., 2006; AGEITEC, 2019).

Ainda assim, existe uma grande preocupação entre os profissionais da área ambiental com os riscos que os agrotóxicos podem gerar no ambiente, principalmente no que diz respeito a água de abastecimento público, que pode disseminar multiresíduos de agrotóxicos a milhares de pessoas, uma vez que o sistema convencional de potabilização de água no Brasil apresenta reduzida capacidade de remoção destes compostos por parte do tratamento convencional de potabilização de água (SOARES, 2011). Cabe destacar que, o contato direto com solos, plantas ou mananciais hídricos superficiais contaminados, por vezes pode ser evitado, diferentemente da ingestão da água, que é a fonte vital de sobrevivência da população humana (ALVES, 2017).

Segundo Neto e Sarcinelli (2009), os efeitos à saúde em decorrência do consumo de água contaminada com agrotóxicos variam conforme o princípio ativo envolvido. Dentre os principais agravos à saúde podem-se destacar problemas no fígado e no sistema nervoso central, deficiências no sistema vascular e reprodutivo, complicações nos olhos, rins, baço, bem como a probabilidade de desenvolver câncer.

O conhecimento em relação aos efeitos que os agrotóxicos causam à saúde pode ocorrer por meio de estudos de toxicidade com organismos vivos. Tais estudos têm por objetivo averiguar o potencial de toxicidade de um poluente e medir os efeitos desse poluente por meio da resposta a organismos vivos (ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2009). Os ensaios de toxicidade não são elaborados para demonstrar que determinada substância é segura, mas para dimensionar os efeitos tóxicos que essa substância pode produzir (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013).

Dentre os diversos tipos de ensaios de toxicidade disponíveis, o ensaio de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Daphnia magna* é frequentemente usado para testes com agrotóxicos, pois possibilita verificar se determinada substância é tóxica ou não aos organismos vivos, e conseqüentemente pode apresentar correlações com os possíveis

impactos negativos acarretados em seres humanos. Da mesma forma, ensaios de genotoxicidade podem ser usados para verificar os efeitos da toxicidade de diferentes substâncias no ácido desoxirribonucleico (DNA) de células vegetais por meio de ensaios como o *Allium cepa*, os quais são comumente utilizados para verificação do potencial toxicológico de substâncias químicas.

Nesse sentido, é sabido que tanto as células animais como as células vegetais são eucariotas, assim, a divisão celular ocorre por meio de mitose e meiose, além disso, possuem envoltório nuclear que circunda o material genético para formar um núcleo e separar o DNA dos outros conteúdos celulares. Entretanto, apresentam significativas diferenças entre si principalmente no que diz respeito às organelas formadoras de cada tipo de célula. Ainda assim, contribuem para a identificação dos possíveis danos acarretados em seres vivos visto que, os erros na separação da célula que ocorrem principalmente na fase mitótica motivados por fatores externos tais como os agrotóxicos podem originar células com deficiências tal fato é a principal causa de ocorrência do câncer, por exemplo (PIERCE, 2016).

De acordo com Knie e Lopes (2004), a *Daphnia magna* é um microcrustáceo de água doce, com tamanho aproximado de 5 mm de comprimento na fase adulta, permite seu manejo e cultivo, frente às condições favoráveis em laboratório, são consideravelmente fáceis, isso porque apresentam ciclo de vida curto e padrão reprodutivo assexuado, dessa forma, garantem uniformidade nos resultados do ensaio. Ainda, os testes de genotoxicidade com *Allium cepa* haviam sido considerados por Grant (1982), como excelentes bioindicadores de efeitos genotóxicos de poluentes ambientais, isso porque, propiciam simplicidade de ensaios, baixo custo e elevada sensibilidade com alta correlação a outros bioensaios. Assim sendo, ambos ensaios permitem verificar com acurácia a toxicidade causada por substâncias químicas no ambiente, principalmente no que diz respeito aos recursos hídricos.

Faz-se importante conhecer também a qualidade da matriz aquosa no tocante aos parâmetros físico-químicos a serem analisados visto que, tais parâmetros são os principais causadores de interferência nos resultados tanto nos testes de toxicidade aguda como nos testes de genotoxicidade. A qualidade da matriz a ser analisada é especialmente importante no que concerne a avaliação dos valores máximos permitidos (VMP) determinados pela legislação ambiental, a qual corresponde a Portaria de Consolidação Nº 05/2017 no tocante a potabilidade da água utilizada para o abastecimento público.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Este estudo teve por objetivo geral avaliar a toxicidade com o microcrustáceo *Daphnia magna* e a genotoxicidade ambiental com *Allium cepa* da água subterrânea de um poço de abastecimento público poluída por multiresíduos de agrotóxicos em um município da Região das Missões no Estado do RS.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste trabalho compreenderam:

- Realizar análises toxicológicas com o microcrustáceo *Daphnia magna* conforme preconizado na ABNT NBR N° 12.713/2016 de água subterrânea de um poço de abastecimento público da Região das Missões no Estado do RS poluído por multiresíduos de agrotóxicos.

- Avaliar se existe influência da sazonalidade quando considerada as diferentes estações do ano (verão, outono, inverno e primavera) no que tange a toxicidade aguda da água subterrânea poluída por multiresíduos de agrotóxicos;

- Avaliar a genotoxicidade de amostras da água subterrânea de um poço de abastecimento público poluída por multiresíduos de agrotóxicos com auxílio do teste *Allium cepa* e de acordo com o procedimento metodológico descrito por Fiskesjö (1985) e indicar se a poluição por multiresíduos de agrotóxicos causa deficiências no DNA das células expostas ao teste do *Allium cepa*.

## 1.2 JUSTIFICATIVA

Considerando que a água é essencial e indispensável à vida, é notória a preocupação com a qualidade da água servida as populações por meio do abastecimento público. Um dos problemas mais pertinentes em relação à sua qualidade condiz à contaminação<sup>1</sup> e a poluição<sup>2</sup>,

---

<sup>1</sup> O termo contaminação se refere à transmissão de substâncias ou microrganismos nocivos à saúde através da água. A contaminação da água ocorre em casos onde há substâncias, de caráter contaminante, acima dos limites máximos permissíveis pelas legislações vigentes (BRAGA, 2002).

que pode ser oriunda de diversos fatores. A Região das Missões do Estado do Rio Grande do Sul caracteriza-se por ter uma economia essencialmente agrícola em consequência disso, o uso de agrotóxicos nas lavouras da região é abundante o que contribui para o processo de poluição e por vezes de contaminação do ambiente por estes compostos, resultando na deterioração da qualidade da água de abastecimento público dessa região.

De acordo com a divisão de regiões de saúde do Estado do Rio Grande do Sul (RS, 2012), a Região das Missões está quase que totalmente (24 de 26 municípios) inserida dentro da Região de Saúde 11 (Santo Ângelo) neste sentido, de acordo com Pereira (2014), esta região ocupa o 6º lugar no *ranking* de uso de agrotóxicos críticos onde, os que apresentam maior consumo são: Acefato, Glifosato, Diflubenzuron, Carbofurano, Cipermetrina e Metamidofós com uma estimativa média de uso de  $147,73 \text{ litros km}^{-2} \text{ ano}^{-1}$ .

De acordo com a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) Nº 357/2005 a deterioração da qualidade da água acomete a saúde, o bem-estar humano e o equilíbrio ecológico, tornando-se necessária a utilização de instrumentos que visem o monitoramento e controle da qualidade da água, uma vez que estes contribuem diretamente para a proteção da saúde, do equilíbrio ecológico e da qualidade de vida da população que faz uso desta (BRASIL, 2005). Neste sentido, existe uma grande preocupação entre os profissionais e pesquisadores da área ambiental com os riscos que os agrotóxicos podem gerar no ambiente, principalmente no que diz respeito aos recursos hídricos que são fonte de água de abastecimento público.

Dentre as formas de controle da poluição das águas, os testes toxicológicos e genotoxicológicos constituem-se como importantes instrumentos capazes de medir a toxicidade de compostos presentes na água inferindo seu potencial de periculosidade para a saúde da população principalmente no que diz respeito à água de abastecimento público. Para tanto, são utilizados bioindicadores capazes de medir a magnitude dos danos às esferas ecológicas e ao ser humano. Desta forma, organismos aquáticos como a *Daphnia magna* e vegetais como bulbos de cebola tem sido utilizados para atestar a toxicidade de amostras ambientais reais.

Assim, esta pesquisa se justifica devido à necessidade de avaliar a toxicidade com o microcrustáceo *Daphnia magna* e a genotoxicidade ambiental com *Allium cepa* da água

---

<sup>2</sup> Entende-se por poluição, a alteração das características da água por quaisquer ações ou interferências de origem natural ou antrópica. Tais alterações podem produzir impactos estéticos, fisiológicos ou ecológicos. Dessa forma, o conceito de poluição diz respeito ao uso que se emprega à água e também às substâncias com potencial poluidor nela contidas, sempre em concentrações abaixo dos limites máximos permitidos pelas legislações vigentes (BRAGA, 2002).

subterrânea de um poço de abastecimento público poluída por multiresíduos de agrotóxicos em um município da Região das Missões no Estado do Rio Grande do Sul. Salienta-se que, não existe quantidade segura para ingestão de agrotóxicos da mesma forma que não os VMP definidos pela Portaria da Consolidação Nº 05/2017 não são considerados seguros, no entanto, necessita-se saber qual a toxicidade apresentada pelos multiresíduos de agrotóxicos dispostos no ambiente e especificamente na Região das Missões no que diz respeito à água subterrânea utilizada para o abastecimento público.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Neste item se encontra descrita a problemática em relação à água de abastecimento público quando poluída e/ou contaminada devido ao uso intensivo de agrotóxicos. Ainda, a classificação e caracterização destes compostos e os efeitos nocivos à saúde humana. Por fim, faz menção a toxicologia ambiental e aborda métodos de análise para água de abastecimento, a fim de relatar os efeitos de toxicidade em organismos aquáticos e células vegetais por meio de testes toxicológicos específicos para cada caso.

### 2.1 ÁGUA UTILIZADA PARA O ABASTECIMENTO PÚBLICO E AS POSSÍVEIS FORMAS DE CONTAMINAÇÃO

A água é um solvente universal, suporte básico para o desenvolvimento e manutenção de todas as formas de vida na natureza. A sua capacidade de diluir as substâncias permite que diversas reações ocorram no ambiente, formando novos compostos, permitindo a evolução da vida e outros tantos fenômenos naturais. Por muito tempo a água foi considerada como um bem público inesgotável, sempre à disposição da população, pois se tratava de um recurso autossustentável. Entretanto, o crescimento populacional ocorreu de forma tão acentuada que trouxe como consequência a poluição dos corpos hídricos (PHILIPPI JR.; SILVEIRA, 2005; PHILIPPI JR.; MARTINS, 2005).

É evidente que todas as formas de vida do planeta necessitam de água para sua manutenção e nesse sentido, salienta-se que cada ser humano utiliza a água para garantir a sua sobrevivência. Além disso, grandes quantidades de água são usadas por indústrias e principalmente para irrigação, na agricultura. Entretanto, a disponibilidade de água doce disponível deve ser considerada, pois, 97 % da água de todo o planeta está disposta nos mares e oceanos, tal água é indisponível sem um tratamento avançado para fins de consumo humano ou de irrigação para a agricultura. Ainda, três quartos da água doce estão retidos em geleiras e calotas polares, inacessível desta forma para o abastecimento, ou seja, restam cerca de 0,1 % de água doce disponível, as quais podem ser encontradas em rios e lagos e constituem uma das principais fontes de água doce disponível para o consumo humano, com destaque também para o fato de parte desta estar disponível apenas nos lençóis subterrâneos (BAIRD; CANN, 2011).

Nestes, à medida que se aprofunda no solo úmido, se encontra a zona de aeração ou zona insaturada, onde os fragmentos de solo estão cobertos com uma película de água, juntamente com o que ar está presente entre os fragmentos e mais profundamente, se encontra a zona saturada onde a água preenche todos os espaços porosos que antes eram preenchidos por ar. Dessa forma, denomina-se água subterrânea toda água doce que se encontra na zona saturada e, chama-se lençol freático a parte superior à zona saturada (BAIRD; CANN, 2011).

Segundo os mesmos autores, a água subterrânea durante muito tempo foi considerada como sendo uma água livre de poluição. Isso porque, devido à filtração natural através do solo e o longo período de residência no subterrâneo, essa água continha níveis baixíssimos de matéria orgânica e microrganismos quando comparada com águas superficiais.

Assim, a água utilizada para o abastecimento público pode ser oriunda de fontes superficiais ou subterrâneas desde que possua qualidade adequada ao consumo. Devido à grande variedade de aplicações da água nas diversas atividades humanas, o conceito de “qualidade da água” deve ser observado em função do uso a que se destina. Isso porque, a água destinada para o consumo humano deve apresentar uma qualidade superior a da água destinada para irrigação, por exemplo. O crescimento das atividades industriais e agrícolas, bem como o aumento populacional tem intensificado a demanda por água da mesma forma que tem contribuído para a deterioração de sua qualidade (PÁDUA; FERREIRA, 2006).

Dessa forma, a relevância do abastecimento de água deve ser observada por meio de aspectos sanitários e econômicos, sem que os aspectos econômicos prevaleçam sobre os sanitários. Deve-se atentar ao fato de que a qualidade da água pode se modificar naturalmente ou, principalmente, através da ação humana. Assim, a poluição das águas pode gerar uma série de problemas relacionados à potabilização, da mesma forma que aumenta os riscos sanitários e torna mais oneroso o processo de tratamento (PÁDUA; FERREIRA, 2006).

De acordo com Philippi Jr. e Martins (2005), a poluição dos recursos hídricos, bem como a escassez, apresentam consequências sociais, econômicas e principalmente ambientais, de forma que comprometem o equilíbrio dos ecossistemas, dificultando a conservação da flora e da fauna, provocam doenças por causa da má qualidade ou pela falta de água em quantidade suficiente para as necessidades mínimas.

A poluição e a contaminação de águas por agrotóxicos é cada vez mais frequente e, de acordo com Pádua e Ferreira (2006), pode ser oriunda de diversos fatores, tais como aplicação intencional (para combater ervas aquáticas, por exemplo), poluição por efluentes industriais, poluição por líquidos para irrigação, contaminação acidental e percolação ou lixiviação de

terrenos pela chuva. Nesse sentido, a contaminação deve sempre que possível ser evitada, isso porque, os agrotóxicos quando dispersos na água modificam a ecologia aquática e parte destes podem se acumular na cadeia alimentar.

A atenção a respeito da poluição das águas subterrâneas é recente e restrita no Brasil, de forma que, os usuários abastecidos com água subterrânea, sejam eles particulares ou governamentais, desconhecem quase que totalmente a real importância e ignoram as graves consequências de sua contaminação (CUSTÓDIO; LLAMAS, 1996).

De modo histórico na sociedade, o solo tem sido utilizado para disposição de resíduos gerados nas atividades humanas, tendo determinada capacidade de depurar a maior parte dos resíduos nele depositados, entretanto, a população tem crescido de forma acentuada bem como a quantidade de geração de resíduos e efluentes cuja ordem de grandeza se alterou nas últimas décadas, motivo pelo qual a capacidade do solo em reter os poluentes tem sido ultrapassada. Não obstante, sabe-se que a recarga do subsolo ocorre através da infiltração dos excessos de água oriunda da chuva, onde, as atividades desempenhadas sobre o solo acima dos aquíferos podem influenciar na qualidade desta água (CETESB, 2019).

Neste sentido, as principais formas de poluição da água subterrânea são oriundas da ação antrópica por atividades de caráter urbano, industrial, agrícola e de mineração. Desse modo, como principais atividades causadoras de poluição da água subterrânea pode-se indicar: precariedade no saneamento básico bem como despejo de efluentes *in natura* no ambiente, existência de lixões ou aterros sanitários com manejo inadequado, áreas de cultivo agrícola com utilização de agrotóxicos, criação de gado, extração mineral, entre outras (RIBEIRO, 2007).

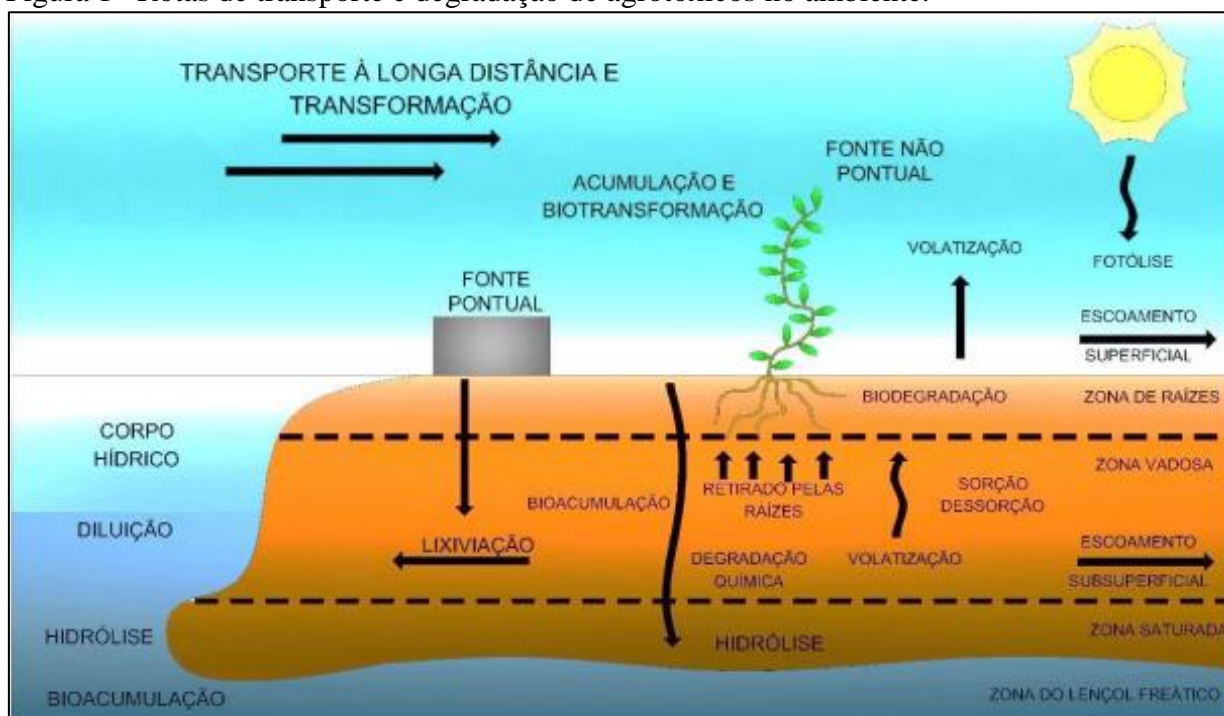
Logo, a poluição dos aquíferos por agrotóxicos ocorre quando o despejo de poluentes gerados por atividades antrópicas não são devidamente controlados de forma que, contaminantes que excedem a capacidade de atenuação do solo propiciam também a poluição da água subterrânea (FOSTER et al., 2002).

Outrossim, Bila e Dezotti (2007) fazem um adendo aos micropoluentes emergentes nos quais encontram-se agrupados os agrotóxicos. Estes podem permanecer no ambiente por um demasiado período de tempo, possuem características bioacumuladoras que facilitam sua absorção em tecidos gordurosos de seres vivos. Além do que, apresentam características de resistência à biodegradação e, por este motivo, manifestam toxicidade aguda e crônica em baixas concentrações. Ainda, alguns micropoluentes apresentam a capacidade de desregular o

sistema endócrino humano e animal, neste sentido, é imprescindível o conhecimento acerca de suas peculiaridades a fim de avaliar efeitos potenciais no organismo humano.

Destaca-se que posteriormente à aplicação de um agrotóxico, vários processos podem ocorrer e determinar seu comportamento no ambiente. Tais processos podem ser físicos, químicos e biológicos. Assim, de acordo com Spadotto et al. (2004), o destino final do agrotóxico posterior à sua aplicação é determinado por processos como: “retenção (sorção, absorção), transformação (degradação química e biológica), transporte (deriva, volatilização, lixiviação e carreamento superficial) e por interações desses processos”. Na Figura 1 pode ser visualizado um esquema ilustrativo dos processos acima citados.

Figura 1– Rotas de transporte e degradação de agrotóxicos no ambiente.



Fonte: Oliveira, 2017.

Ainda, de acordo com Spadotto et al. (2004), além dos diferentes processos compreendidos na mobilidade dos agrotóxicos no ambiente, as diferenças nas estruturas e propriedades dos agrotóxicos envolvidos, tais como solubilidade, meia-vida no solo, coeficiente de adsorção e constante de Henry, podem afetar ainda mais tais processos. Isso porque, a diversidade de agrotóxicos utilizados representa diversas classes de substâncias químicas orgânicas permitindo distintas e frequentes interações desses compostos com os diferentes componentes presentes no ambiente.

De acordo com Ribeiro (2007) a dinâmica de movimento da água subterrânea pode ser explicada através da Lei de Darcy onde, de forma simplória, evidencia que o seu movimento ocorre pela existência de diferentes cargas hidráulicas no aquífero e pela capacidade do material rochoso de conduzir a água, nesse sentido, percebe-se que a dinâmica é intimamente relacionada às características geológicas do aquífero.

## 2.2 AGROTÓXICOS

Os agrotóxicos ocupam um lugar específico entre as diversas substâncias de produção e utilização antrópica, pois eles têm a finalidade de repelir ou eliminar alguma forma de vida indesejável (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013).

De forma geral, os agrotóxicos podem ser definidos como substâncias que eliminam ou reduzem os organismos indesejáveis tidos como pragas, visto que, possuem a especificidade de intervir no metabolismo vital dos organismos aos quais eles são tóxicos (BAIRD; CANN, 2011). A legislação brasileira traz uma definição mais específica para os agrotóxicos na Lei Federal Nº 7.802/1989, e de acordo com essa lei consideram-se agrotóxicos:

os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos; substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, desseccantes, estimuladores e inibidores de crescimento.

A grande maioria dos agrotóxicos é composta por misturas de um ou mais princípios ativos. Essas misturas são combinações de aditivos, solventes, coadjuvantes, excipientes e impurezas que podem ser até mais tóxicos que o próprio princípio ativo (CEQUINEL; RODRIGO, 2018). Nesse sentido, os agrotóxicos podem ser classificados de acordo com a sua finalidade, ou seja, de acordo com o organismo-alvo de interesse. Em relação ao organismo-alvo da ação, os agrotóxicos podem ser subdivididos em diversos tipos diferentes, como pode ser visto na Tabela 1.

Compete à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) classificar os agrotóxicos quanto ao grau de toxicidade. Esta classificação aponta o potencial risco de

contaminação aguda em humanos e animais, entretanto, não considera possíveis danos ambientais (CHAIM; FRIGHETTO; VALARINI, 1999).

Tabela 1– Tipos de agrotóxico associados ao seu organismo alvo.

<b>Tipo de agrotóxico</b>	<b>Organismo alvo</b>
Acaricida	Ácaros
Algicida	Algas
Avicida	Aves
Bactericida	Bactérias
Cupicida	Cupins
Desinfetante	Microrganismos
Fungicida	Fungos
Herbicida	Plantas
Inseticida	Insetos
Larvicida	Larvas de insetos
Moluscicida	Caracóis, lesmas
Nematicida	Nematoides
Piscicida	Peixes
Raticida	Roedores

Fonte: Baird e Cann (2011).

De acordo com a Lei Federal Nº 7.802/1989 para que os agrotóxicos possam ser comercializados ou expostos à venda no Brasil devem, obrigatoriamente, conter rótulos e bulas próprias, redigidos em língua portuguesa, com informações acerca das principais características do produto, tais como: nome do produto, nome e porcentagem de cada princípio ativo, resumo acerca dos principais usos, classificação toxicológica, entre outros (BRASIL, 1989).

Dessa forma, quanto ao grau de toxicidade, os agrotóxicos podem ser classificados de pouco tóxicos a extremamente tóxicos, de forma que, cada faixa de toxicidade é relacionada a uma cor que deve ser exposta na embalagem alertando os usuários sobre o potencial tóxico da substância. A classificação está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2– Classificação dos agrotóxicos quanto ao grau de toxicidade.

<b>Classe</b>	<b>Toxicidade</b>	<b>Cor indicada na embalagem</b>
I	Extremamente tóxico	Faixa vermelha
II	Altamente tóxico	Faixa amarela
III	Moderadamente tóxico	Faixa azul
IV	Pouco tóxico	Faixa verde

Fonte: Adaptado de ANVISA, 2011.

Os agrotóxicos também podem ser classificados de acordo com seu potencial de periculosidade ambiental (PPA), que indica o potencial de transporte dos agrotóxicos entre os diferentes compartimentos ambientais: ar, solo e água. A classificação quanto ao PPA envolve diversos fatores que são considerados parâmetros de avaliação, a saber: transporte, persistência, bioconcentração e ecotoxicidade a diversos organismos (IBAMA, 2018). A classificação quanto ao PPA é competência do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e está especificada na Tabela 3.

Tabela 3 – Classificação dos agrotóxicos quanto ao potencial de periculosidade ambiental.

<b>Classe</b>	<b>Potencial de periculosidade ambiental</b>
I	Produto altamente perigoso ao meio ambiente
II	Produto muito perigoso ao meio ambiente
III	Produto perigoso ao meio ambiente
IV	Produto pouco perigoso ao meio ambiente

Fonte: IBAMA, 2018.

A ANVISA disponibiliza em seu site oficial, monografias dos agrotóxicos autorizados para uso no Brasil, bem como, monografia daqueles que tiveram seu uso proibido e o histórico das mesmas. Nesse sentido, as monografias são resultado da avaliação e reavaliação toxicológica dos ingredientes ativos dos agrotóxicos destinados ao uso agrícola, domissanitário, não agrícola, em ambientes aquáticos e preservantes de madeira. Assim, são apresentadas informações como: nomes comum e químico, classe de uso, classificação toxicológica, modalidade de emprego para os quais determinada substância está com uso autorizado e limites orientadores quanto à ingestão diária aceitável (ANVISA, 2019).

Nesse sentido, cada região possui suas peculiaridades ambientais, climáticas, culturais e socioeconômicas. Por esse motivo, no que diz respeito à agricultura, a utilização de agrotóxicos se dá em relação às culturas plantadas em cada região. Por este prisma, Pereira (2014) analisou o uso de agrotóxicos por Região de Saúde no Rio Grande do Sul e averiguou que as Regiões situadas ao norte e nordeste do Estado, que é o caso da Região das Missões, são as mais afetadas pelo uso de agrotóxicos apresentando assim um cenário de risco à contaminação ambiental. O autor justifica neste caso, que tal região, historicamente, faz uso extensivo do solo para diversas culturas, principalmente a soja.

De acordo com o painel do agronegócio no Rio Grande do Sul de 2016, a Região das Missões cultiva majoritariamente milho e hortaliças (FEIX; LEUSIN JÚNIOR; AGRANONIK, 2016). Assim, itera-se que os agrotóxicos com potencial de causar dano ao

ambiente são essencialmente aqueles utilizados diretamente nessas culturas, dessa forma, como principais agrotóxicos utilizados na Região das Missões pode-se citar: 2,4D, atrazina, azoxistrobina, bentazone, carbofurano, ciproconazol, clomazone, difenoconazol, epoxiconazol, fipronil, imazapic, imazetapir, malationa, metsulfuron, penoxsulan, piraclostrobina, pirazossulfuron, pirimicarb, profenofós, propiconazol, pirimicarb, profenofós, propiconazol, simazina, tebuconazol, tiametoxan, e trifloxistrobina. A Tabela 4 apresenta dados relevantes acerca da caracterização dos agrotóxicos acima mencionados.

De maneira geral, o extensivo e diversificado uso de agrotóxicos propicia a poluição do ambiente com multiresíduos destes, igualmente, as peculiaridades e características de cada agrotóxico interferem neste processo onde, algumas características físico-químicas juntamente com as condições ambientais e fatores físicos, químicos e biológicos possibilitam que os agrotóxicos atinjam as águas subterrâneas (ARSEGO, 2009). No que diz respeito às características do solo que contribuem para a poluição das águas subterrâneas por agrotóxicos pode se mencionar o coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), coeficiente de adsorção no solo ( $K_{oc}$ ) e a constante de Henry ( $K_H$ ).

O coeficiente de partição octanol-água pode ser definido como a relação da concentração de um agrotóxico na fase octanol saturado em água e sua respectiva concentração na fase aquosa saturada em octanol. Nesse sentido, tal coeficiente apresenta-se como um importante parâmetro para verificar o destino das moléculas orgânicas no ambiente onde estas podem ser hidrofílicas ou lipofílicas. As lipofílicas possuem propensão de bioacumulação no ambiente principalmente em ecossistemas aquáticos. Da mesma forma, a constante de Henry refere-se ao coeficiente de partição ar-líquido ou ainda vapor-líquido e pode ser obtida através da relação entre a pressão parcial e a concentração da interface ar-água. Assim, quanto maior a constante de Henry maior é o potencial de volatilização da substância (ARSEGO, 2009).

No que tange ao coeficiente de adsorção no solo, este permite identificar a capacidade do solo em reter determinado soluto, dessa forma, possibilita-se estimar a extensão do movimento de uma substância na fase líquida. Assim, entende-se o coeficiente de adsorção como uma medida que verifica a distribuição de equilíbrio entre as fases sólida e líquida de um solo de forma que, a capacidade adsorptiva e o coeficiente de adsorção são igualmente proporcionais (ALCÂNTARA; CAMARGO, 2001). Assim, através da mensuração de parâmetros como os anteriormente exemplificados é possível prever e averiguar a poluição da água subterrânea oriunda do uso de agrotóxicos.

Tabela 4 – Caracterização dos agrotóxicos em discussão.

<b>Ingrediente ativo</b>	<b>Grupo Químico</b>	<b>Classe</b>	<b>Classificação toxicológica</b>	<b>Ingestão diária aceitável</b>	<b>Modalidade de emprego</b>
2,4 D	Ácido ariloxialcanóico	Herbicida	Classe I	0,01 mg/kg p.c.	Aplicação em pré e pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de arroz, aveia, café, cana-de-açúcar, centeio, cevada, milho, pastagem, soja, sorgo e trigo. Aplicação para erradicação da cultura de eucalipto.
Atrazina	Triazina	Herbicida	Classe III	-	Aplicação em pré e pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de abacaxi, cana-de-açúcar, milho, milho, pinus, seringueira, sisal e sorgo.
Azoxistrobina	Estrobilurina	Fungicida	Classe III	0,02 mg/kg p.c.	Aplicação foliar nas culturas de abacate, abóbora, abobrinha, alface, algodão, alho, alstroeméria, ameixa, amendoim, antúrio, arroz, aveia, azaléia, banana, batata, begônia, berinjela, beterraba, café, caju, calandiva, caqui, cana-de-açúcar, chalota, cebola, cenoura, centeio, cevada, citros, couve-flor, crisântemo, ervilha, eucalipto, feijão, figo, gérbera, girassol, goiaba, kalanchoe, lisianthus, mamão, manga, maracujá, melancia, melão, milho, milho, morango, nectarina, pepino, pêssago, pimentão, rosa, soja, sorgo, tomate, trigo, triticales e uva. Aplicação em sementes de algodão. Aplicação através de tratamento industrial de propágulos vegetativos (mudas) antes do plantio na cultura de cana-de-açúcar. Aplicação no sulco de plantio na cultura de cana-de-açúcar.
Bentazone	Benzotiadiazinona	Herbicida	Classe III	0,1 mg/kg p.c.	Aplicação em pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de amendoim, arroz, feijão, milho, soja e trigo.
Carbofurano*	Metilcarbamato de benzofuranila	Inseticida, cupinícida, acaricida e nematocida	Classe I	0,00015 mg/kg p.c	Aplicação no solo nas culturas de banana, café e cana-de-açúcar.

<b>Ingrediente ativo</b>	<b>Grupo Químico</b>	<b>Classe</b>	<b>Classificação toxicológica</b>	<b>Ingestão diária aceitável</b>	<b>Modalidade de emprego</b>
Ciproconazol	Triazol	Fungicida	Classe III	0,01 mg/kg p.c.	Aplicação foliar nas culturas de algodão, alho, arroz, aveia, café, cevada, crisântemo, eucalipto, figo, girassol, goiaba, maçã, melancia, melão, milho, pêssego, soja, trigo e uva. Aplicação no solo na cultura de café. Aplicação através de tratamento industrial de propágulos vegetativos (mudas) antes do plantio na cultura de cana-de-açúcar. Aplicação no sulco de plantio na cultura de cana-de-açúcar.
Clomazone	Isoxazolidinona	Herbicida	Classe III	0,04 mg/kg p.c.	Aplicação em pré-emergência das plantas infestantes nas culturas de algodão, arroz, batata, cana-de-açúcar, eucalipto, fumo, mandioca, melão, milho, pimentão e soja.
Difenoconazol	Triazol	Fungicida	Classe I	0,6 mg/kg p.c.	Aplicação foliar nas culturas de abacate, abóbora, abobrinha, álamo, alface, algodão, alho, ameixa, amendoim, antúrio, arroz, asstroeméria, aveia, azaleia, banana, batata, begônia, berinjela, beterraba, boca de leão, café, caju, caqui, cebola, cenoura, cevada, citros, coco, couve-flor, cravo, cravínea, crisântemo, ervilha, eucalipto, feijão, figo, gerânio, gérbera, girassol, goiaba, kalanchoe, lisianthus, maçã, mamão, manga, maracujá, melancia, melão, milho, morango, nectarina, pepino, pêssego, pimentão, rosa, soja, tomate, trigo, uva e violeta. Aplicação foliar em mudas de café. Aplicação em sementes de algodão, amendoim, cevada, feijão, soja e trigo.
Epoxiconazol	Triazol	Fungicida	Classe III	0,003 mg/kg p.c.	Aplicação foliar nas culturas de algodão, amendoim, arroz, aveia, banana, cacau, café, cana-de-açúcar, cevada, feijão, girassol, mandioca, milho, soja, sorgo e trigo.
Fipronil	Pirazol	Inseticida, formicida e cupinicida	Classe II	0,0002 mg/kg p.c.	Aplicação no solo nas culturas de batata, cana-de-açúcar e milho. Aplicação foliar nas culturas do algodão, arroz, eucalipto e soja. Aplicação em sementes de algodão, amendoim, arroz, cevada, feijão, girassol, milho, pastagens, sorgo, soja e trigo. Aplicação foliar em mudas de eucalipto. Aplicação no controle de formigas e cupins, conforme aprovação em rótulo e bula. Aplicação na água de irrigação para o arroz irrigado.

<b>Ingrediente ativo</b>	<b>Grupo Químico</b>	<b>Classe</b>	<b>Classificação toxicológica</b>	<b>Ingestão diária aceitável</b>	<b>Modalidade de emprego</b>
Imazapic	Imidazolinona	Herbicida	Classe I	2,5 mg kg <sup>-1</sup> p.c.	Aplicação em pré e pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de arroz, cana-de-açúcar e soja. Aplicação em pós-emergência das plantas infestantes das culturas de amendoim, milho e pastagem.
Imazetapir	Imidazolinona	Herbicida	Classe III	0,25 mg kg <sup>-1</sup> p.c.	Aplicação em pré e pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de arroz e soja, e em pré e pós-emergência na cultura de feijão.
Malationa	Organofosforado	Inseticida e acaricida	Classe III	0,3 mg kg <sup>-1</sup> p.c.	Aplicação foliar nas culturas de alface, algodão, berinjela, brócolis, cacau, café, citros, couve, couve-flor, feijão, maçã, morango, orquídeas, pastagens, pepino, pêra, pêssego, repolho, rosa, soja e tomate. Aplicação em arroz, feijão, milho, sorgo e trigo armazenados.
Metsulfurom	Sulfoniluréia	Herbicida	Classe III	0,01 mg kg <sup>-1</sup> p.c.	Aplicação em pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de arroz, aveia, aveia preta, café, centeio, cevada, pastagens, trigo e triticale. Aplicação em pré-emergência das plantas infestantes na cultura de cana-de-açúcar.
Penoxsulam	Sulfonamida triazolopirimidina	Herbicida	Classe III	0,05 mg kg <sup>-1</sup> p.c.	Aplicação em pré e pós-emergência das plantas infestantes na cultura de arroz
Piraclostrobina	Estrobilurina	Fungicida	Classe II	0,04 mg kg <sup>-1</sup> de p.c.	Aplicação foliar nas culturas de abacaxi, abóbora, abobrinha, acácia negra, açaí, alface, algodão, alho, amendoim, anonáceas, aveia, azaléa, banana, batata, batata doce, batata-yacon, berinjela, beterraba, boca-de-leão, cacau, café, cana-de-açúcar, cana indica, canola, cará, cebola, cenoura, centeio, cevada, chuchu, citros, coco, cravo, cupuaçu, crisântemo, dendê, eucalipto, feijão, feijão-caupi, gardênia, gengibre, gerânio, gerbera, gergelim, girassol, gladiolo, grão-de-bico, guaraná, hortênsia, inhame, jiló, kiwi, lantana, lentilha, linhaça, lírio, maçã, mamão, margarida, mandioca, mandioquinha salsa manga, maracujá, melão, melancia, milho, milheto, nabo, pepino, pêssego, pimenta, pimentão, pinhão, pinus, pittosporum, pupunha, quiabo, rabanete, romã, rosa, sálvia, seringueira, soja, sorgo, tomate, trigo, triticale, uva, vinca e zinnia. Aplicação em toletes para a cultura de cana-de-açúcar no momento do plantio. Aplicação em sulco de plantio na cultura de batata. Aplicação em sementes nas culturas de algodão, amendoim, arroz, cevada, feijão, girassol, milho, pastagens, soja, sorgo e trigo.

<b>Ingrediente ativo</b>	<b>Grupo Químico</b>	<b>Classe</b>	<b>Classificação toxicológica</b>	<b>Ingestão diária aceitável</b>	<b>Modalidade de emprego</b>
Pirazosulfuron	Sulfoniluréia	Herbicida	Classe III	-	Aplicação em pré ou pós-emergência das plantas infestantes na cultura do arroz.
Pirimicarb	Dimetilcarbamato	Inseticida	Classe II	0,02 mg kg <sup>-1</sup> p.c.	Aplicação foliar nas culturas de alface, batata, berinjela, couve, couve-flor, feijão, pepino, pimenta, repolho, rosa, tomate e trigo.
Profenofós	Organofosforado	Inseticida e acaricida	Classe II	0,01 mg kg <sup>-1</sup> p.c.	Aplicação foliar nas culturas de algodão, alstroeméria, amendoim, batata, café, canola, cebola, celósia, cravo, caravínea, crisântemo, ervilha, feijão, feijão-vagem, gérbera, girassol, lisianhus, mandioca, melancia, milho, pepino, repolho, rosa, soja, tomate e trigo.
Propiconazol	Triazol	Fungicida	Classe II	0,04 mg kg <sup>-1</sup> p.c.	Aplicação foliar nas culturas de algodão, alho, amendoim, arroz, aveia, banana, café, cevada, feijão, gladiolo, milho, seringueira, soja, tomate e trigo. Aplicação foliar em mudas de café. Aplicação em pós-colheita na cultura de citros
Simazina	Triazina	Herbicida	Classe III	-	Aplicação em pré e pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de abacaxi, banana, cacau, café, cana-de-açúcar, citros, maçã, milho, pinus, seringueira, sisal, sorgo e uva.
Tebuconazol	Triazol	Fungicida	Classe IV	0,03 mg kg <sup>-1</sup> p.c.	Modalidade de emprego: aplicação foliar nas culturas de abacaxi, abóbora, abobrinha, acelga, acerola, álamo, alface, algodão, alho, almeirão, ameixa, amendoim, arroz, aveia, banana, batata, berinjela, beterraba, brócolis, cacau, café, cana-de-açúcar, caqui, cebola, cenoura, centeio, cevada, chicória, chuchu, citros, couve, couve-de-bruxelas, couve chinesa, couve-flor, cravo, crisântemo, eucalipto, feijão, figo, gladiolo, goiaba, gramados, inhame, jiló, maçã, mamão, mandioca, mandioquinha-salsa, manga, maracujá, maxixe, melancia, melão, milheto, milho, morango, mostarda, nabo, nectarina, nêspera, pepino, pera, pêssego, pimentão, rabanete, repolho, rosa, seriguela, soja, sorgo, tomate, trigo, triticale e uva. Aplicação em sementes de trigo Aplicação no sulco de plantio para a cultura de cana-de-açúcar. Aplicação em pós-colheita (imersão de frutos) nas culturas de mamão, manga e melão.

<b>Ingrediente ativo</b>	<b>Grupo Químico</b>	<b>Classe</b>	<b>Classificação toxicológica</b>	<b>Ingestão diária aceitável</b>	<b>Modalidade de emprego</b>
Tiametoxan	Neonicotinóide	Inseticida	Classe III	0,02 mg kg <sup>-1</sup> p.c.	Aplicação no solo nas culturas de abacaxi, abobrinha, alface, amendoim, arroz, batata, berinjela, café, cana-de-açúcar, citros, feijão-vagem, fumo, maçã, mamão, melancia, melão, morango, pepino, pêssego, pimentão, repolho, tomate e uva. Aplicação em sementes de alface, algodão, amendoim, arroz, aveia, batata, cebola, cevada, feijão, girassol, melão, milho, pastagem, soja, sorgo, tomate e trigo. Aplicação foliar nas culturas de alface, algodão, alho, alho-porró, agrião, amendoim, arroz, aveia, batata, berinjela, cana-de-açúcar, cebola, cebolinha, cevada, citros, coentro, crisântemo, ervilha, feijão, figo, fumo, girassol, maçã, mamão, mandioca, manga, melancia, melão, milho, morango, palma forrageira, pastagem, pepino, pimentão, repolho, rosa, soja, sorgo, tomate, trigo e uva. Aplicação no tronco de citros.
Trifloxistrobina	Estrobilurina	Fungicida	Classe II	0,03 mg kg <sup>-1</sup> p.c.	Modalidade de emprego: aplicação foliar nas culturas de abacaxi, abóbora, abobrinha, acelga, acerola, alface, algodão, alho, almeirão, ameixa, amendoim, arroz, aveia, banana, batata, berinjela, beterraba, brócolis, café, caqui, cana-de-açúcar, cebola, cenoura, cevada, chicória, chuchu, citros, couve, couve-de-bruxelas, couve chinesa, couve-flor, eucalipto, feijão, girassol, goiaba, inhame, jiló, maçã, mamão, mandioca, mandioquinha-salsa, manga, maracujá, maxixe, melancia, melão, milho, morango, mostarda, nabo, nectarina, nêspera, pepino, pera, pêssego, pimentão, rabanete, repolho, seriguela, soja, tomate, trigo e uva. Aplicação no sulco de plantio na cultura de cana-de-açúcar

Nota: (\*) Proibido no Brasil desde 19 out. 2017.

Fonte: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019.

### 2.2.1 A presença de agrotóxicos nas águas utilizadas para o consumo humano

O atual modelo de produção agrícola, com vistas exclusivamente para o aumento da produtividade que faz uso de agrotóxicos como garantia para tal, tem dado conta de suprir as demandas do crescimento populacional no que diz respeito à capacidade de produção de alimentos. Entretanto, recentemente, está se desenvolvendo uma consciência crítica de pesquisadores dessa área quanto às possíveis consequências do uso indiscriminado dos agrotóxicos, onde, levantam-se hipóteses a cerca dos sérios agravos à saúde causados devido ao uso intensivo destes compostos. Especula-se ainda que, em certos casos, a utilização de agrotóxicos pode trazer mais impactos ao ambiente e a saúde da população do que ganhos na produtividade (VEIGA, 2006).

Nesse sentido, as práticas agrícolas relacionadas ao modelo agrícola predominante, que faz uso excessivo e inadequado manejo de agrotóxicos, bem como a desconstrução das coberturas vegetais originais do solo para o plantio, a destruição das matas ciliares e das vegetações protetoras de nascentes, entre diversos outros fatores, são os principais aspectos responsáveis por grandes problemas de deterioração dos recursos hídricos atualmente (ROSA, 1998).

De acordo com Cequinel e Rodrigo (2018), com relação à contaminação dos corpos hídricos por agrotóxicos:

alteram a biota, selecionando espécies mais resistentes, acumulando compostos químicos nocivos por toda a cadeia alimentar (biomagnificação). É uma contaminação que persiste por anos, mesmo quando a fonte de contaminação por agrotóxicos tenha sido eliminada.

Não bastasse o grande volume de uso, muitos agrotóxicos são aplicados em áreas adjacentes aos corpos d'água, dessa forma, são facilmente encontrados em águas superficiais. Ainda, alcançam as águas subterrâneas devido à grande mobilidade no solo que permite sua migração (SILVA; SANTOS, 2007).

Rissato et al. (2004) avaliou a presença de agrotóxicos organoclorados em água de mananciais, água potável e solo na região de Bauru (SP) durante nove meses no período de 2002 a 2003 onde, coletou-se amostras seguidas de processos de extração, limpeza com análise realizada através de cromatografia a gás com detector de captura de elétrons. Os resultados mostraram maiores quantidades de BHC e endosulfan em água bruta de mananciais superficiais e resíduos em água potável inferiores à  $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Da mesma forma, Brito et al. (2001) efetuou avaliação preliminar de agrotóxicos aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros no nordeste brasileiro quanto ao risco de contaminação de águas superficiais e subterrâneas. Para isso, fez uso de métodos orientadores da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) bem como o método de Gross. Como resultado, os agrotóxicos 2,4-D, Sulfato de Endosulfan, Tetradifon e Triclorfon revelaram considerável risco de contaminação de águas subterrâneas.

A exposição da população à água de abastecimento contaminada com agrotóxico pode ocorrer de forma aguda ou crônica. A exposição aguda aos agrotóxicos pode ocorrer através da ingestão de água de abastecimento contaminada, em caso de derrame acidental de agrotóxicos onde, estes atingem os corpos hídricos, por exemplo. Entretanto, neste caso, a água indicaria características de contaminação inclusive por meio do sabor e do odor, o que provavelmente causaria sua rejeição por parte da população. Dessa maneira, a maior preocupação se volta para a ingestão contínua de água contaminada com baixas concentrações, o que acarreta um risco crônico (FERNANDES NETO, 2010).

O estabelecimento de VMP de resíduos de agrotóxicos na água de abastecimento é muito complicado, visto que não há um nível seguro de ingestão, pois os riscos e consequências ainda não estão elucidados e, sobretudo, além de ingerir água com determinada concentração de agrotóxico a alimentação (consumo de grãos, frutas, verduras, legumes e peixes) pode contribuir para o acúmulo de algum residual de agrotóxico no organismo (LONDRES, 2011).

Considera-se ainda conforme descrito por Carneiro et al. (2015), que apesar de alguns tipos de agrotóxicos possam, com base em seus efeitos agudos, serem classificados como medianamente ou pouco tóxicos, há de se atentar que os efeitos crônicos podem ocorrer dias ou até anos após a exposição. Tais efeitos podem se manifestar através de várias doenças como cânceres, distúrbios hormonais, reprodutivos, neurológicos ou até psíquicos.

### **2.2.2 Efeitos nocivos dos agrotóxicos à saúde**

As intoxicações causadas por meio de agrotóxicos, tanto agudas quanto crônicas, podem ocorrer através de contato ambiental, seja por água, ar ou solos contaminados, proximidade de áreas pulverizadas ou até mesmo através da cadeia alimentar (CEQUINEL; RODRIGO, 2018). As intoxicações podem ocorrer por via oral, dérmica, ocular ou inalatória isso porque os agrotóxicos nem sempre são seletivos às espécies-alvo. Dessa forma, os efeitos

deletérios à saúde podem ser observados em espécies que não são alvo de ação e também em seres humanos (COSTA, 2012).

Considerando que, alguns agrotóxicos sejam classificados como pouco tóxicos (Classe IV), com base em seus efeitos agudos, estes podem da mesma forma provocar efeitos crônicos que podem ocorrer meses ou até décadas após o período de exposição, manifestando-se sob diferentes tipos de doenças. No Quadro 1 estão apresentadas informações à respeito de alguns dos efeitos deletérios que os agrotóxicos causam à saúde em casos de intoxicação aguda ou crônica para os principais tipos de agrotóxicos conforme classificação de organismo-alvo, conforme descrito por Carneiro et al. (2015).

Quadro 1– Classificação de agrotóxicos e sintomas agudos e crônicos.

<b>Praga que controla</b>	<b>Grupo químico</b>	<b>Sintomas de intoxicação aguda</b>	<b>Sintomas de intoxicação crônica</b>
Inseticidas	Organofosforados e carbamatos	Fraqueza, cólicas abdominais, vômitos, espasmos musculares e convulsões.	Efeitos neurotóxicos retardados, alterações cromossomiais e dermatites de contato.
	Organoclorados	Náuseas, vômitos, contrações musculares involuntárias.	Lesões hepáticas, arritmias cardíacas, lesões renais e neuropatias periféricas.
	Piretroides sintéticos	Irritações das conjuntivas, espirros, excitação, convulsões.	Alergias, asma brônquica, irritações nas mucosas, hiper-sensibilidade.
Fungicidas	Ditiocarbamatos	Tonturas, vômitos, tremores musculares, dor de cabeça.	Alergias respiratórias, dermatites, doença de Parkinson, cânceres.
	Fentalamidas	-	Teratogêneses
Herbicidas	Dinitroferóis e pentaclorofenol	Dificuldade respiratória, hipertermia, convulsões.	Cânceres, cloroacne
	Fenoxiacéticos	Perda de apetite, enjoo, vômitos, fasciculação muscular.	Indução da produção de enzimas hepáticas, cânceres, teratogêneses.
	Dipiridilos	Sangramento nasal, fraqueza, desmaios, conjuntivites.	Lesões hepáticas, dermatites de contato, fibrose pulmonar.

Fonte: Modificado de OPAS/OMS, 1996

Em relação aos efeitos nocivos que os inseticidas apresentam à saúde, pode-se apontar que:

todos os inseticidas químicos usados atualmente são neurotóxicos e agem no sistema nervoso dos organismos-alvo, o sistema nervoso dos insetos é bem desenvolvido e não se difere muito do sistema nervoso de mamíferos logo, em casos de intoxicação

de organismos não alvo, entre estes os seres humanos, as maiores complicações são observadas no sistema nervoso. Entretanto, podem ser observados outros efeitos nocivos à saúde, como no caso dos organofosforados além dos danos ao sistema nervoso central, observa-se sudorese, salivação, insuficiência respiratória, complicações gastrointestinais, espasmos musculares, entre outros (COSTA, 2012).

Ainda, segundo o mesmo autor, os herbicidas são compostos químicos preparados para causar mortalidade ou danos graves em plantas. Quanto aos efeitos nocivos à saúde, os herbicidas podem ocasionar irritações na pele ou dermatite de contato, especialmente em indivíduos predispostos a reações alérgicas. Entretanto, alguns efeitos mais graves podem ser apontados, como por exemplo, os herbicidas triazínicos, uma das classes amplamente mais utilizadas, apresentam efeito clastogênico (que pode induzir mutagênese e carcinogênese) além de interferências endócrinas em casos de contaminação. Além disso, outro inseticida conhecido e amplamente pesquisado denominado glifosato, apresenta como efeitos de intoxicação problemas gastrointestinais, deficiências no sistema respiratório, comprometimentos neurológicos e cardiovasculares.

De forma geral, os fungicidas apresentam como efeitos nocivos à saúde irritações oculares potentes, induzem o aparecimento de tumores e são considerados prováveis carcinogênicos. Podem causar ainda toxicidade reprodutiva e interferência endócrina (CARNEIRO et al., 2015). Ainda, de acordo com OPAS/OMS (1996), as intoxicações oriundas de fungicidas podem causar danos ao sistema nervoso central, entretanto, a intoxicação ocorre principalmente pelas vias oral e respiratória com potencialidade de causar dermatite, faringite, bronquite e conjuntivite.

De forma geral, salienta-se que a intoxicação por agrotóxico desencadeia a ocorrência de diversos distúrbios comportamentais que podem se apresentar de inúmeras formas tais como: irritabilidade, ansiedade, distúrbios de sono e de atenção. Ainda, há ocorrência de sintomas não específicos (dor de cabeça, falta de apetite, tonturas, insônia, nervosismo) que ocorrem em diversas patologias e por vezes, podem ser os únicos sintomas manifestados pela intoxicação razão esta que dificulta a suspeita para um diagnóstico preciso. Dessa forma, o histórico de exposição aos agrotóxicos associados aos sintomas não específicos pode conduzir a um diagnóstico de intoxicação por agrotóxicos (OPAS/OMS, 1996).

### 2.3 TESTES DE TOXICIDADE COMO FORMA DE PREVER POSSÍVEIS OS EFEITOS DANOSOS DOS AGROTÓXICOS

Com um quadro de contaminação ambiental evidente e se agravando a cada dia, existe uma preocupação com o aumento dos casos de poluição no ambiente, bem como com os reflexos deste fato para sua qualidade. Para identificar o nível de poluição no ambiente, se utilizam os conceitos de toxicologia, que consistem no estudo dos efeitos deletérios causados por determinadas substâncias, tais como os agrotóxicos, em organismos vivos (BAIRD; CANN, 2011). A necessidade de quantificar os efeitos da poluição nos organismos vivos gerou a integração da ecologia com a toxicologia (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013). De acordo com Dörr et al. (2014):

a ecotoxicologia compreende a caracterização, a compreensão e o prognóstico dos efeitos deletérios de substâncias químicas de origem antropogênica (ou seja, produzidas pelo ser humano) no ambiente, assim como a avaliação de medidas necessárias para prever, conter ou tratar os danos causados. Nesse sentido, essa ciência pode ser definida como o estudo dos efeitos tóxicos de substâncias químicas em populações e comunidades de organismos vivos em ecossistemas.

De forma geral, pode-se afirmar que a ecotoxicologia tem como principal objetivo explicar e prever o efeito da exposição a contaminantes ou a ocorrência destes nos vários níveis de organização biológica (DI GIULIO; NEWMAN, 2012).

Dentre os diversos ecossistemas, o ecossistema aquático é um dos que acaba se constituindo em refúgio temporário ou constante de uma enorme variedade e quantidade de contaminantes, sejam estes lançados no ar, sobre o solo ou diretamente nos corpos d'água. Assim, com intuito de obter conhecimentos sobre os efeitos que os agentes químicos causam para a biota aquática, são utilizados testes de toxicidade com organismos de água doce ou salgada, em condições laboratoriais ou de campo. Estes testes possibilitam estabelecer os limites permissíveis para várias substâncias químicas, e também, servem para avaliar o impacto que a mistura de contaminantes gera sobre os organismos aquáticos dos corpos hídricos receptores (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013).

Os testes de toxicidade se baseiam na observação do efeito potencial direto dos contaminantes nos componentes individuais do ecossistema, de maneira controlada e reprodutível. Notoriamente utilizam uma grande variedade de espécies, como por exemplo: organismos aquáticos (microcrustáceos, invertebrados, peixes e girinos), organismos terrestres (abelhas, minhocas), dentre outros. As espécies são selecionadas com base na facilidade de cultivo bem como levando em conta sua relevância ecológica (DI GIULIO; NEWMAN, 2012).

Com a intenção de reproduzir os efeitos tóxicos de determinadas substâncias, os testes de toxicidade utilizam-se de animais para mimetizar os possíveis efeitos danosos em seres humanos. Neste sentido, são considerados corriqueiros testes de toxicidade com animais vertebrados de pequeno porte como peixes, ratos e coelhos. Ao mesmo passo em que os testes de toxicidade utilizando animais possuem credibilidade e perfazem importantes pilares da ciência quanto à segurança em saúde e estudos ambientais, é notória a problemática que envolve tais práticas de pesquisa advindas não somente da sociedade civil mas também da sociedade científica. Tal problemática tem se justificado com as discussões filosóficas sobre as considerações morais aos animais e também pela falha na extrapolação de dados obtidos através destes experimentos no que diz respeito à reprodutibilidade dos dados de animais em humanos (BACHINSKI, 2011).

Dentre os objetivos de aplicação do teste de toxicidade, um dos principais consiste em munir-se de dados científicos que possam ser aplicados para avaliação do risco de substâncias químicas ao ecossistema e à dinâmica populacional, da mesma forma que determinar limites de segurança nos mais diversos ecossistemas, pela comparação entre substâncias e prognóstico dos prováveis efeitos ambientais (DÖRR et al., 2014).

Neste sentido, os testes de toxicidade aguda consistem na avaliação dos efeitos deletérios, de imobilidade ou letalidade no organismo-teste, causados pela amostra em análise durante um período de exposição de 48 horas podendo desta forma determinar se a amostra em análise é tóxica ou não e conseqüentemente se apresenta potencial de toxicidade no ambiente (ABNT, 2016).

Chaves (2017) avaliou a toxicidade aguda do herbicida 2,4 D em uma amostra de água superficial do Rio da Prata utilizando como organismos teste o microcrustáceo *Artêmia salina* para verificação da concentração letal média ( $CL_{50}$ ) com exposição nos períodos de 24 e 48 horas onde, utilizou como substância de referência dodecil sulfato de sódio (SDS) cujo controle foi realizado com solução sintética de sal marinho sem a presença do agente tóxico. Como resultado, nas concentrações de 2,4 D testadas (1,0; 5,0; 10,0; 20,0 e 40,0 mg L<sup>-1</sup>) não foi identificada toxicidade significativa aos microcrustáceos. O resultado infere que o 2,4 D, neste caso, não apresentou efeito tóxico agudo sobre a *Artêmia salina*.

Manrique (2009) verificou a toxicidade aguda do inseticida fiponil para *Poecilia reticulata* popularmente denominado guarú, sendo este um peixe teleosteo euriliano com grande capacidade adaptativa. A amostra foi proveniente de um poço artesiano utilizado para o abastecimento público, como substância de referência utilizou-se o dicromato de potássio.

Os peixes foram expostos às concentrações de 0; 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15 mg L<sup>-1</sup> de fipronil. Como resultado, nas primeiras 12 horas de exposição observou-se nos peixes hiperexcitação e nado errático nas maiores concentrações, após 24 horas estes sinais puderam ser observados também nas concentrações inferiores, entretanto, com menor severidade. No final do teste, após 96 horas estes sinais ainda foram observados nos peixes expostos a todas as concentrações de fipronil na água. Como conclusão, o fipronil nas concentrações utilizadas pelo estudo se mostrou extremamente tóxico para o *Poecilia reticulata*.

Dessa forma, atesta-se que organismos vivos têm sido frequentemente utilizados em matrizes aquosas reais para verificação da toxicidade causada por diversos agrotóxicos. Estes organismos tem ganhado espaço na área da toxicologia, pois tem apresentado resultados confiáveis, de baixo custo e fácil reprodutibilidade. Neste sentido, a *Daphnia magna* merece destaque nos estudos acerca da toxicidade da água de abastecimento poluída com agrotóxicos visto que são organismos aquáticos cujo habitat natural é semelhante às condições encontradas na água subterrânea, além do que, o breve tempo de exposição e os pequenos volumes de amostras utilizadas são aspectos importantes na utilização deste microcrustáceo (ABNT, 2016).

### **2.3.1 *Daphnia magna* – organismo teste**

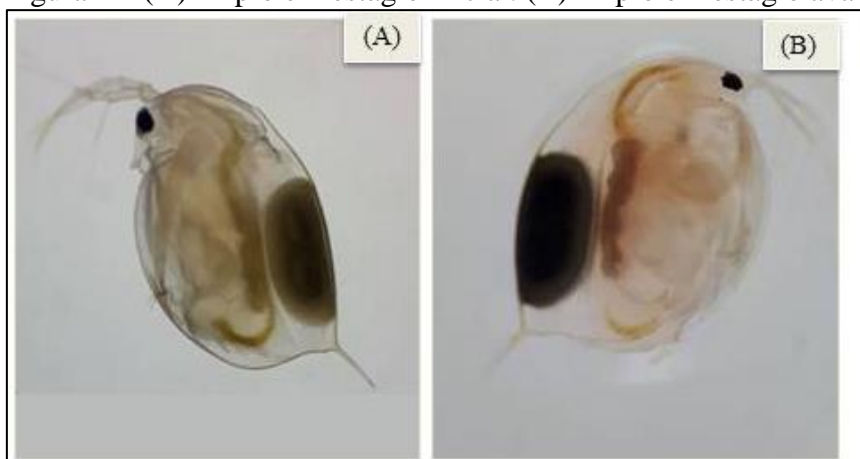
Para avaliar a toxicidade de um agente químico é imprescindível à utilização de organismos vivos como forma de verificar a reação de um ser vivo a determinada substância química a fim de prever possíveis danos ambientais (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013). Para testes de toxicidade aguda a ABNT NBR N° 12.713/2016 (ABNT, 2016) especifica um método de avaliação em amostras líquidas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em água com o uso de *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera).

De acordo com Antunes e Castro (2017), “os organismos do gênero *Daphnia magna* são microcrustáceos planctônicos de água doce, pertencem à ordem *Cladocera* e classe *Branchiopoda*, que ocorrem em ecossistemas lênticos”. Os organismos deste gênero são conhecidos popularmente como “pulga d’água” por apresentarem movimentos natatórios irregulares, similares aos saltos das pulgas e são extensamente usados em ensaios ecotoxicológicos para avaliação da qualidade da água. Nestes ensaios, o efeito analisado é a inibição da capacidade natatória dos organismos-teste expostos às amostras líquidas em um

curto tempo de exposição, de 24 horas a no máximo 48 horas (ANTUNES; CASTRO, 2017; ABNT, 2016).

A *Daphnia magna* é considerada um organismo grande, se comparado a outros microcrustáceos, medindo de 5 a 6 mm de comprimento na fase adulta. A população de *Daphnia magna* é formada basicamente de fêmeas, com reprodução assexuada por partenogênese, que em condições ambientais favoráveis originam somente fêmeas. Consideram-se condições ambientais favoráveis: matrizes com até 25 organismos por litro, luminosidade difusa com fotoperíodo de 12 a 16 horas de luz e temperatura entre 18 °C e 22 °C. Quando os organismos são expostos a condições ambientais desfavoráveis (superpopulação, falta ou excesso de alimento, diminuição do nível da água ou baixas temperaturas), as fêmeas podem originar machos de forma assexuada. Na presença de machos, algumas fêmeas passam a produzir ovos sexuais que podem ser fecundados pelos machos. Entretanto, os ovos fecundados não se desenvolvem, entrando num estado de repouso, denominando-se por isso ovos de resistência ou efípios (KNIE; LOPES, 2004; ABNT, 2016). A formação de ovos de resistência pode ser observada na Figura 2.

Figura 2 – (A) Efípio em estágio inicial. (B) Efípio em estágio avançado.

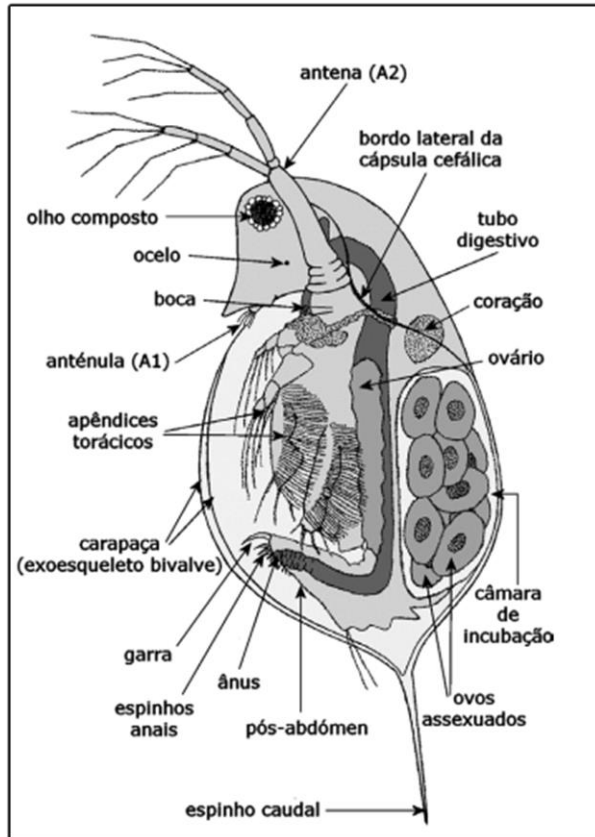


Fonte: Autora, 2019.

Os organismos do gênero *Daphnia* atuam como consumidores primários na cadeia alimentar aquática, ao quais se alimentam por filtração de material orgânico particulado em suspensão. Ainda, servem como alimento para muitas espécies de invertebrados e vertebrados como, por exemplo, larvas de inseto e peixes respectivamente (ANTUNES; CASTRO, 2017; ABNT, 2016). Morfologicamente, as *Daphnias magna* apresentam, de acordo com Antunes e Castro (2017), um carapaça cuticular bivalve (exoesqueleto) que envolve o corpo, mas não a

cabeça e utilizam o segundo par de antenas como principal órgão de locomoção, conforme exemplificação na Figura 3.

Figura 3 – Representação esquemática da anatomia interna e externa de uma *Daphnia magna*.



Fonte: Antunes e Castro (2017).

Ainda, de acordo com Ebert (2005) e Antunes e Castro (2017), quanto à respiração, a *Daphnia magna* se destaca por apresentar apêndices torácicos comumente com formato semelhante a folhas. Tais apêndices desempenham a função respiratória e ainda servem como estrutura de apoio para a filtração de partículas em suspensão, que podem ser bactérias, leveduras ou microalgas. Os apêndices desempenham um papel importante quanto à respiração, de forma que realizam batimentos regulares para a geração de uma corrente de água permanente, o que mantém um fluxo de água com alta concentração de oxigênio e partículas em suspensão. Posteriormente, as partículas em suspensão também chamadas de partículas alimentares, com tamanho variável, mas tipicamente entre 0,5 a 50  $\mu\text{m}$  de diâmetro, ficam retidas por uma espécie de malha de seda no apêndices torácicos onde é canalizada para a boca através de uma corrente de cílios e por fim são ingeridas.

A *Daphnia magna* é utilizada internacionalmente por órgãos e institutos ambientais por apresentar padronização de seus bioensaios. Ainda, é muito indicada por mostrar características significativas como abundância em meio aquático e grande sensibilidade a substâncias tóxicas. Seu manejo e cultivo, frente às condições favoráveis em laboratório, são consideravelmente fáceis, isso porque apresentam ciclo de vida curto e padrão reprodutivo assexuado. Dessa forma, garantem uniformidade no resultado do ensaio (KNIE; LOPES, 2004).

Estudo realizado por Boufleuer (2016) avaliou a concentração letal do herbicida glifosato em *Daphnia magna* por meio de teste agudo. Para realização do teste, foram utilizados neonatos de *Daphnia magna* com até 26 horas de idade, cultivadas em meio sintético (M4), mantidas em ambiente com temperatura controlada e fotoperíodo de 12 horas de luz. No teste agudo, 30 neonatos foram expostas a cinco concentrações do herbicida (0,4214; 1,2652; 2,1087; 2,9522; 3,7957 mg L<sup>-1</sup>) por um período de 48 horas. Em cada concentração utilizou-se 6 organismos, em triplicata, todos cobertos com plástico PVC evitando a evaporação. Em seguida os neonatos foram acondicionadas em incubadora com 12 horas de fotoperíodo, sem alimentação, durante 48 horas. Concomitantemente realizou-se um controle somente com o meio de cultivo e a mesma quantidade de organismos-teste. Com relação aos resultados, a concentração letal causadora de mortalidade em até 50% dos organismos (CL<sub>50</sub>), foi de 2,1087 mg L<sup>-1</sup>. Na menor concentração (0,4217 mg L<sup>-1</sup>) pode-se observar a sobrevivência de 100% dos organismos após 48 horas. De acordo com a Portaria da Consolidação N° 05/2017, os resultados obtidos corroboram com a portaria, uma vez que o limite do herbicida glifosato é de 500 µg L<sup>-1</sup> para água de consumo humano (BRASIL, 2017). Já nas concentrações mais elevadas 2,9522 mg L<sup>-1</sup> e 3,7957 mg L<sup>-1</sup> ocorreu a mortalidade dos organismos. Na amostra controle do experimento observou-se sobrevivência de todos os indivíduos de *Daphnia magna*. Como conclusão, o teste revelou que para o organismo-teste *Daphnia magna* o glifosato foi limitante para sua sobrevivência na concentração de 2,1087 mg L<sup>-1</sup>.

### 2.3.2 Genotoxicidade ambiental

Para fins de comparação de resultados dos ensaios de toxicologia, existe a possibilidade de aplicação de ensaios análogos, tais como os de genotoxicidade ambiental, com a finalidade de observar a semelhança dos resultados oriundos de exposição de seres vivos a agentes químicos analisando assim, os efeitos adversos gerados sobre os organismos.

Nesse sentido, Grant (1982) descreveu que o clássico teste para analisar os efeitos de substâncias químicas nos cromossomos vegetais, popularmente conhecido como *Allium test* foi desenvolvido por Levan entre 1938 e 1949 e é frequentemente utilizado até hoje para investigar as anomalias no ciclo mitótico dos bulbos expostos ao tratamento, de forma a verificar o índice mitótico das células meristemáticas do *Allium cepa*.

As substâncias com potencial genotóxicos são aquelas que interagem com o DNA de forma a produzir alterações em sua estrutura ou função e quando essas alterações se prendem de forma hábil de serem transmitidas são denominadas mutações. Em análises genotóxicas as mutações são originadas pelas divisões celulares mal sucedidas. Nesse sentido, as mutações são a fonte de variabilidade genética para uma população, sendo assim, indispensáveis para a manutenção das espécies. Entretanto, as mutações podem causar anomalias tanto nos indivíduos como em seus descendentes, dependendo para isso, da quantidade, do tipo e local onde ocorrem podendo também causar alteração no equilíbrio do ecossistema. Ainda, nas populações, podem contribuir para a incidência de câncer, doenças hereditárias e do coração (CETESB, 2017).

A análise genotoxicológica dos agrotóxicos é uma ferramenta essencial para os dias atuais devido à demanda de agrotóxicos utilizada. Dessa forma, a mesma visa prever o possível dano genético causado em seres humanos e ambientes expostos de um determinado local por meio de análise microscópica da célula vegetal. Assim, a detecção e a compreensão acerca das propriedades desses agentes proporcionam a avaliação dos efeitos agudos ou crônicos, hereditários ou mesmo letais, para os organismos expostos (DALLEGRAVE, 2006).

No entanto, deve-se compreender que testes de genotoxicidade são frequentemente utilizados para averiguar a toxicidade de substâncias químicas devido a algumas semelhanças entre as células animais e vegetais. Isso porque, tanto as células animais como as células vegetais são eucariotas, nestas a divisão celular ocorre por meio de mitose e meiose, processo que serve como base para grande parte da genética. Além disso, possuem envoltório nuclear que circunda o material genético para formar um núcleo e separar o DNA dos outros conteúdos celulares. Salienta-se que a principal diferença entre as células animais e vegetais está diferença estrutural de ambas e suas respectivas funções, ao passo que a célula vegetal, por exemplo, realiza respiração celular através da fotossíntese enquanto as células animais realizam respiração celular mitocondrial (PIERCE, 2016).

De acordo com o mesmo autor, a reprodução celular eucariótica requer os processos de replicação do DNA, seguidos da separação das cópias e divisão do citoplasma. Entretanto,

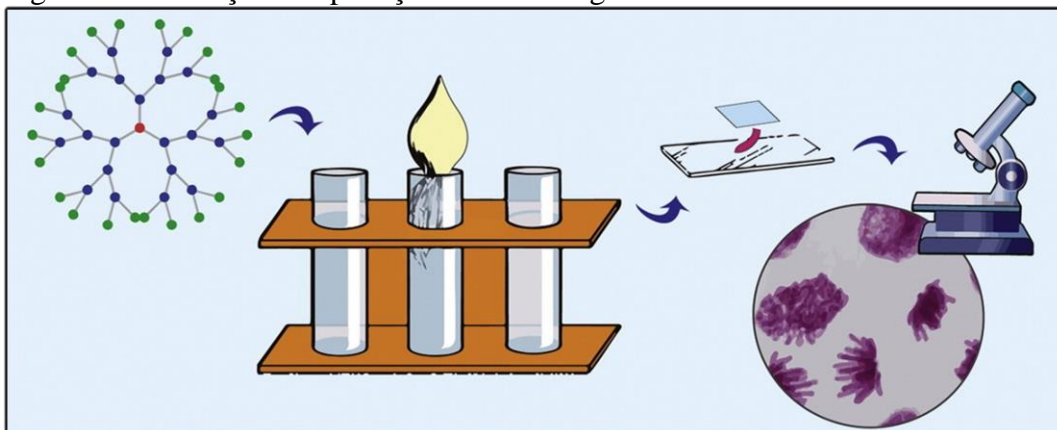
a presença de diversas moléculas de DNA requer um mecanismo mais complexo para garantir que exatamente uma cópia de cada molécula termine em cada uma das novas células. Nesse contexto, os testes de genotoxicidade visam averiguar de quem forma as substâncias químicas dispostas no ambiente interferem nesse processo de reprodução celular e qual a magnitude do dano causado, entretanto atenta-se para as limitações do uso de vegetais nestes estudos.

De acordo com Braga e Lopes (2015), plantas superiores são reconhecidas como ótimos exemplares para detectar anomalias ambientais sendo frequentemente utilizadas em estudos de monitoramento ambiental, dentre essas espécies de plantas, a cebola (*Allium cepa*) tem sido frequentemente utilizada para análises ambientais pois se mostra capaz de avaliar danos ao DNA, como anormalidades cromossômicas e distúrbios no ciclo mitótico das raízes expostas ao tratamento.

De acordo com Firbas e Amon (2014), a cebola é indicada para estudos genotóxicos principalmente porque a dinâmica de crescimento radicular é extremamente sensível aos poluentes da mesma forma que, possui uma resposta clara e rápida às substâncias químicas.

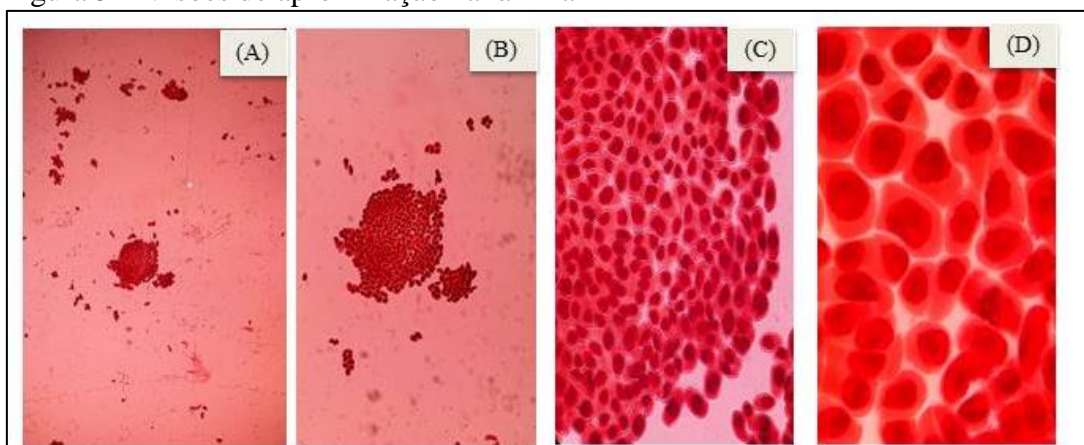
Fiskesjö (1985) sugere o teste do *Allium cepa* como uma ferramenta de monitoramento ambiental. Isso se justifica pelo fato do teste apresentar vantagens como: baixo custo, fácil manuseio, condições cromossômicas propícias para estudo de danos ou perturbações na divisão celular das células expostas. Dessa forma, o teste se apresenta com boa sensibilidade possibilitando correlações com outros testes de toxicidade. Nesse sentido, resultados positivos no teste carecem de ser considerados podendo ainda ser usados como uma indicação de que a amostra testada possa ser de risco para a saúde e também para o ambiente. Ainda, a elevada sensibilidade apresentada pelo teste *Allium* assegura que as contaminações ambientais não sejam negligenciadas.

Figura 4 – Ilustração da aplicação do teste de genotoxicidade.



Portanto, a aplicação do teste *Allium* consiste na leitura das lâminas preparadas a partir de raízes de cebola previamente tratadas com a amostra que se deseja analisar, onde, faz-se uso da técnica de varredura para contagem das células em divisão. Tal técnica consiste no ajuste do microscópio óptico no aumento de 100x em um local apropriado para iniciar a contagem de forma que devem ser contadas todas as células da respectiva visão classificando-as conforme as divisões apresentadas, posteriormente muda-se a visão da lâmina andando para o lado até que se tenha contando o número de células desejadas. Na varredura é analisada a fase mitótica, que ocorre em quatro principais etapas: prófase, metáfase, anáfase e telófase. A Figura 5 mostra a mesma visão em quatro diferentes aumentos no microscópio óptico.

Figura 5 – Visões de aproximação na lâmina



Nota: (A) Aumento de 4x. (B) Aumento de 10x. (C) Aumento de 40x. (D) Aumento de 100x.  
Fonte: Autora, 2019.

De acordo com Fiskesjö (1985) o índice mitótico pode ser calculado através da razão entre o número de células em divisão e o número de células observadas multiplicado por 100 para indicar a porcentagem.

Estudo realizado por Krüger (2009) averiguou a genotoxicidade das formulações comerciais dos agrotóxicos glifosato, mancozeb, beta-ciflutrina e fention através do teste do *Allium cepa*. O estudo foi desenvolvido entre novembro de 2007 e dezembro de 2008. Os bulbos de cebola foram adquiridos comercialmente, de forma que em todos os testes foram utilizadas cebolas da mesma procedência. Para cada concentração testada utilizaram-se seis bulbos de cebola, estes, permaneceram durante 24 horas expostos em água destilada a temperatura ambiente a fim de estimular o crescimento radicular. Posteriormente, os bulbos foram colocados nas soluções-teste por um período de 48 horas. As concentrações utilizadas para cada tratamento variaram de 1 a 20  $\mu\text{L L}^{-1}$  para o glifosato, 250 a 1500  $\text{mg L}^{-1}$  para o

Mancozeb, 0,25 a 2  $\mu\text{L L}^{-1}$  para a Beta-ciflutrina e 25 a 250  $\mu\text{L L}^{-1}$  para o Fention, para cada concentração utilizou-se um controle negativo contendo apenas água, os testes para cada agrotóxico foram realizados em separado. Como resultado, em relação ao glifosato ocorreu a inibição do crescimento da raiz, demonstrando toxicidade, e também um aumento significativo de anormalidades da anáfase-talófase, confirmando dados relacionados a genotoxicidade deste agrotóxico. Ainda, os resultados demonstraram genotoxicidade para a beta-ciflutrina, da mesma forma que há evidências de genotoxicidade para os agrotóxicos contendo fention. Para as amostras contendo mancozeb, evidenciou-se o dano oxidativo e genotóxico.

### 3 METODOLOGIA

Estão descritos neste item o cultivo do organismo teste, *Daphnia magna* e de alga, *Desmodesmus Subspicatus*, para alimentação das *Daphnia magna*, o monitoramento constante do cultivo e posterior análises físico-químicas e toxicológicas, bem como o teste do *Allium cepa* a fim de verificar as fases mitóticas divisão celular das células. Para a realização dos testes utilizou-se a infraestrutura dos laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *campus* Cerro Largo (RS), essencialmente o Laboratório de Águas e Ecotoxicologia.

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo compreende um município essencialmente agrícola do interior do Estado do Rio Grande do Sul, localizado na Região das Missões. A água em estudo é proveniente de mananciais subterrâneos e é utilizada como água de abastecimento público de uma comunidade no interior do município, cuja potabilização é de responsabilidade do mesmo e é realizada periodicamente através de cloração diretamente nos poços de captação por empresa terceirizada.

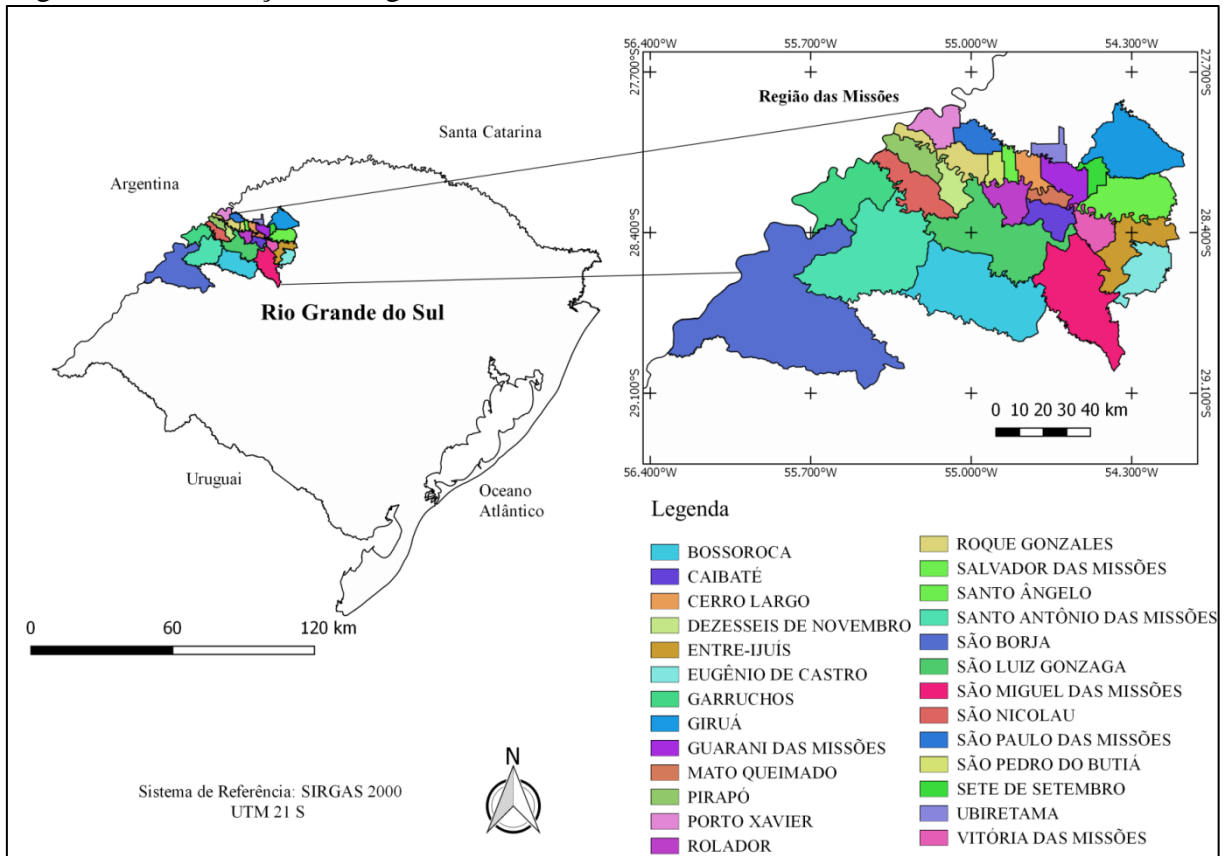
A Região das Missões localiza-se ao noroeste do Estado do Rio Grande do Sul e abrange 26 municípios Bossoroca, Caibaté, Cerro Largo, Dezesseis de Novembro, Entre-Ijuís, Eugênio de Castro, Garruchos, Giruá, Guarani das Missões, Mato Queimado, Pirapó, Porto Xavier, Rolador, Roque Gonzales, Salvador das Missões, Santo Ângelo, Santo Antônio das Missões, São Borja, São Luiz Gonzaga, São Miguel das Missões, São Nicolau, São Paulo das Missões, São Pedro do Butiá, Sete de Setembro, Ubiretama e Vitória das Missões (COREDE, 2009).

De acordo com o último censo demográfico, esta região possuía uma população de 248.016 habitantes. Destes, 71 % em áreas urbanas e 29 % em áreas rurais. O principal centro urbano desta região é Santo Ângelo (76.275 habitantes) seguido de São Luiz Gonzaga (34.556 habitantes). No mais, Giruá, Cerro Largo, Santo Antônio das Missões e Porto Xavier contavam com populações entre 10.000 e 20.000 habitantes. Os demais municípios desta região são de pequeno porte com populações abaixo de 10.000 habitantes (RS, 2015).

A área de abrangência da Região das Missões corresponde a 4,6 % do território do Estado do Rio Grande do Sul, com altitudes que variam de 0 a 360 m alocados predominantemente na unidade geomorfológica do Planalto Meridional. Os municípios desta

região inserem-se na Bacia Hidrográfica do Rio Uruguai e pertencem aos biomas Pampa e Mata Atlântica. A precipitação média anual nesta região apresenta índices que variam de 1500 a 1700 mm. Este índice está abaixo da média do Estado que é de 2000 mm em algumas localidades (COREDE, 2009). Na Figura 6 está apresentada a localização da Região das Missões, bem como a composição dos municípios a esta pertencente.

Figura 6 – Localização da Região das Missões no Estado do Rio Grande do Sul.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

O clima da região é caracterizado como subtropical, com estações bem definidas e temperaturas médias no verão acima dos 20°C, no inverno alcança temperaturas negativas. Há formação de geadas no inverno e os ventos de origem sul e sudoeste promovem sensação de frio intenso (CODETER, 2006).

O uso do solo na região é baseado no cultivo de soja, trigo, mandioca, cana-de-açúcar, criação de bovinos e suínos, porém majoritariamente milho e hortaliças. Assim, destaca-se pela utilização de insumos químicos e agrotóxicos. A área apresenta problemas ambientais relacionados à contaminação do solo e da água, erosão e desmatamento das margens dos rios, promovendo o seu assoreamento. Há ainda a destacar a ocorrência de contaminação hídrica

pelos dejetos provenientes das atividades de suinocultura assim como contaminação por esgotos domésticos. A região tem registrado também eventos de cheias periódicas nas áreas que margeiam os rios Uruguai e Ijuí e ocorrência de períodos de estiagem prolongada. (COREDE, 2019).

Com relação ao tipo de solo existente na Região das Missões, há ocorrência de dois tipos principalmente. Um de caráter argiloso, latossolo, que possui grande abrangência nesta região e apresenta maior declividade, e outro na porção sul desta região, onde o relevo é levemente ondulado e com presença de solos basálticos menos desenvolvidos, do tipo ciríaco-charrua (CODETER, 2006).

### 3.2 PROCEDIMENTO DE COLETA

Para análise dos parâmetros físico-químicos de pH, dureza total, temperatura e para análise de agrotóxicos coletou-se 1 L de água de abastecimento público e 2 L para análise toxicológica e genotoxicológica, ambos em frasco de vidro âmbar, armazenados e refrigerados a  $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento de análise. Coletou-se, dessa mesma forma, amostras de água em todas as estações: verão, outono, inverno e primavera com início em março e término em outubro de 2019, conforme descrito no Quadro 2.

Quadro 2 – Descrição do período de coleta.

<b>Estação do ano</b>	<b>Data de coleta</b>	<b>Local</b>
Verão	18/03/2019	Poço
Outono	05/05/2019	Poço
Inverno	02/07/2019	Poço
Primavera	07/10/2019	Poço

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

A coleta das amostras de água ocorreu imediatamente após a sua saída do poço de abastecimento de águas subterrânea, para isso, despejou-se álcool sobre o registro a fim de promover sua desinfecção após, limitou-se um intervalo de tempo de aproximadamente dois minutos entre a abertura do registro e a coleta da água, com a intenção de remover qualquer resquício de interferentes que poderiam estar contidos na superfície da tubulação. O poço de água subterrânea onde as amostras foram coletadas pode ser visualizado na Figura 7.

Figura 7 – Localização do poço de coleta de água subterrânea.



Fonte: Autora, 2019.

Os procedimentos de coleta e preservação de amostras de água foram padronizados e realizados conforme estabelecido na ABNT NBR 9.898/1987 que trata da “Preservação e Técnicas de Amostragem e Efluentes Líquidos e Corpos Receptores”, Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras de água, sedimentos comunidade aquáticas e efluentes líquidos elaborado pela Agência Nacional de Águas (ANA) e Companhia de Saneamento do Estado de São Paulo (CETESB), (BRANDÃO, 2011).

### **3.2.1 Limpeza de vidrarias**

Para a análise de parâmetros físico-químicos e de agrotóxicos os frascos de coleta foram mantidos com detergente Extran 5 % por um período de 24 horas, após foram abundantemente enxaguados com água da torneira e em seguida novamente enxaguados com água ultrapura a fim de que não restasse nenhum tipo de contaminação no frasco.

Para as análises toxicológicas e genotoxicológicas os frascos de coleta foram mantidos com ácido nítrico 10 % por um período de 24 horas, após foram abundantemente enxaguados com água da torneira e em seguida novamente enxaguados com água destilada.

Todas as demais vidrarias e utensílios de laboratório utilizados para o cultivo, tanto da *Daphnia magna* como da alga *Desmodesmus Subspicatus*, foram devidamente higienizadas com álcool 70 %, água da torneira e água destilada para evitar qualquer possibilidade de contaminação do cultivo. Para os utensílios utilizados nas análises genotoxicológicas manteve-se padrão de limpeza apenas com água da torneira e água destilada.

### 3.3 DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA SUBTERRÂNEA UTILIZADA PARA O CONSUMO HUMANO.

Para detecção e quantificação dos agrotóxicos fez-se uso do equipamento Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência acoplado à Espectrometria de Massas (CLAE-EM) da marca Shimadzu LC-MS 2020, com fonte de ionização por Ionização por Electrospray (ESI), analisador de massa tipo Quadrupolo e sistema de aquisição de dados LabSolutions®. O método utilizado foi validado considerando os procedimentos descritos no INMETRO (2018), no Laboratório de Química Instrumental da UFFS, *campus* Cerro Largo/RS.

As análises referentes à detecção de agrotóxicos incluso o preparo por meio da extração em fase sólida (SPE do inglês) não foram realizadas neste estudo, porém os resultados foram obtidos dos estudos realizados no mesmo período por equipe de estudos complementares, os quais perfazem o atendimento Chamada Universal MCTIC/CNPq N° 28/2018 referente ao Projeto denominado “Reator de leite fixo com energia solar fotovoltaica empregado na remoção de agrotóxicos da água de abastecimento público na área rural” sob coordenação da orientadora deste trabalho. Entretanto, a metodologia utilizada encontra-se abaixo descrita.

#### 3.3.1 Preparo das amostras e determinação cromatográfica

Com o intuito de evitar a presença de compostos alheios que interferissem na análise e pudessem colmatar o cartucho no momento da extração em fase sólida (SPE) foi imprescindível à filtração de 250 mL de água das amostras, utilizando para isso um sistema de filtração de membrana. Tal sistema compreende aparatos tais como: copo de vidro, funil

acrescido da membrana filtrante de acetato de celulose, garra para unir e sustentar a vedação dos itens anteriores, rolha de silicone para vedação de modo a proporcionar o vácuo, kitassato e uma bomba à vácuo. Após a filtração, as amostras foram acondicionadas em balões volumétricos de 250 mL e acidificadas a um pH próximo de 3, com ácido fosfórico 50 % PA. Após, as amostras foram submetidas à técnica de extração em fase sólida.

De acordo com Jardim (2010) a SPE é uma das técnicas mais utilizadas para extração e/ou concentração de amostras complexas, de forma a permitir que os analitos em concentrações muito baixas possam ser detectados por métodos de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Deste modo, a fim de isolar os agrotóxicos da água em um sorvente, a amostra foi submetida para a extração em cartuchos C18. A ativação do cartucho foi realizada a partir da adição de duas soluções: 3 mL de metanol e 3 mL de água ultrapura acidificada a pH 3 com ácido fosfórico 50 % PA. As alíquotas de 250 mL foram percoladas de modo a serem adsorvidas pelo cartucho, com velocidade constante, controlada pela bomba à vácuo no sistema manifold. Após a percolação, os cartuchos foram envelopados com papel alumínio e acondicionados no freezer por um período de no máximo 3 meses até alguns dias antes da realização da análise em CLAE-EM. Por fim, as amostras foram submetidas para análise em CLAE-EM.

Os padrões de agrotóxicos utilizados foram de alta pureza (pureza analítica), cujos critérios de escolha desses compostos ocorreram em função do seu elevado emprego nas culturas da Região Sul do país, bem como pela disponibilidade do método validado para monitoramento.

### 3.4 TESTES TOXICOLÓGICOS

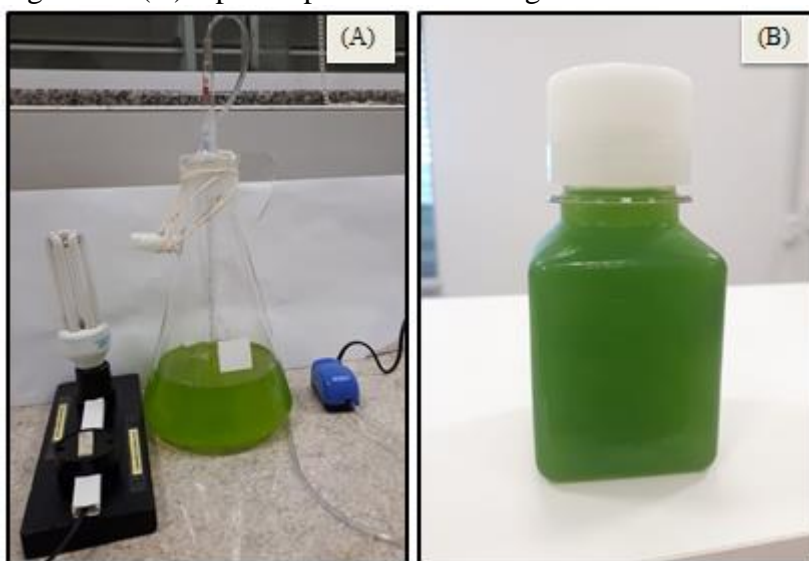
Os testes toxicológicas consistiram em expor neonatos de *Daphnia magna* entre 2 horas e 26 horas de vida em amostras de água de abastecimento público por um período de 48 horas consistindo assim em análises de toxicidade aguda. Foram observados resultados de caráter qualitativo cujo procedimento encontra-se descrito abaixo.

#### 3.4.1 Cultivo da alga *Desmodesmus subspicatus*

Para alimentação dos organismos teste (*Daphnia magna*) durante o cultivo utilizou-se a alga unicelular *Desmodesmus subspicatus*. Para o cultivo da alga, utilizou-se um inóculo proveniente do laboratório de toxicologia (Labtox) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

O cultivo da alga ocorreu nas dependências do Laboratório de Águas e Ecotoxicologia da UFFS, *campus* Cerro Largo/RS. Para o cultivo, foram seguidas as recomendações técnicas da ABNT NBR N° 12.713/2016 ou seja, o preparo do meio de cultura se deu conforme as recomendações técnicas e após foram inoculadas as algas, a solução ficou sob aeração e luminosidade constantes com temperatura controlada de  $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante aproximadamente 14 dias. Após, a suspensão algácea estava pronta para ser disposta como alimento às *Daphnias magna* e foi mantida em frasco de vidro na geladeira com temperatura entre  $3\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O aparato de cultivo da alga pode ser observado na Figura 8.

Figura 8 – (A) Aparato para cultivo da alga *Desmodesmus Subspicatus*. (B) Solução algal.

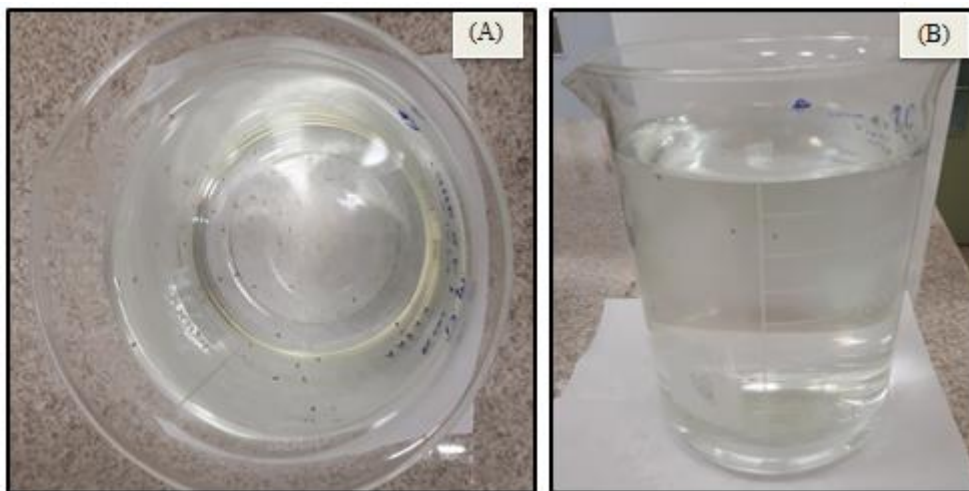


Fonte. Autora, 2019.

### 3.4.2 Cultivo do microcrustáceo *Daphnia magna*

O cultivo do microcrustáceo ocorreu nas dependências dos laboratórios da UFFS, *campus* Cerro Largo e começou com um lote de *Daphnia magna* proveniente do laboratório de toxicologia (Labtox) da UFSC. As *Daphnias magna* foram cultivadas em béqueres de vidro devidamente higienizados com álcool, água da torneira e água destilada, não ultrapassando 25 organismos por litro de meio de cultivo. O cultivo de um lote de *Daphnias magna* pode ser visto na Figura 9.

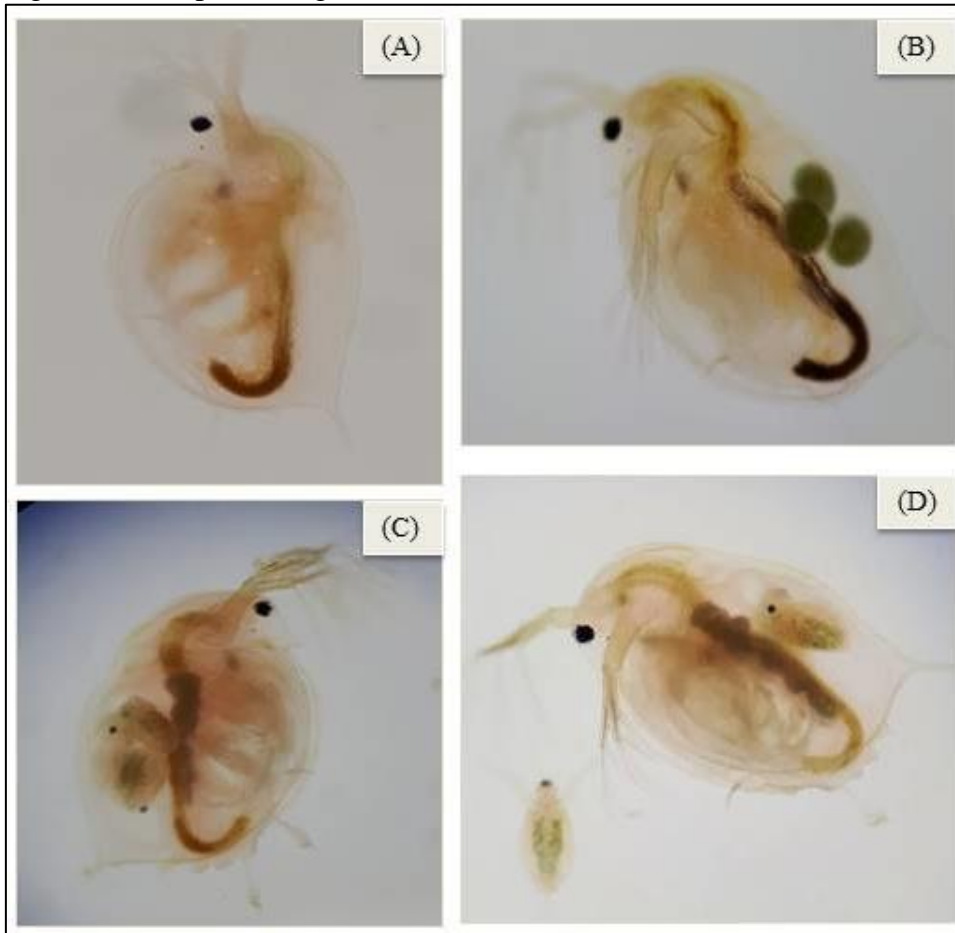
Figura 9 – (A) Cultivo de *Daphnia magna* em béquer de vidro - vista superior. (B) Cultivo de *Daphnia magna* em béquer de vidro - vista lateral.



Fonte: Autora: 2019.

O meio de cultivo sintético (M4) foi produzido em laboratório seguindo as recomendações técnicas da ABNT NBR Nº 12.713/2016. A manutenção do cultivo foi realizada três vezes por semana (segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira). A manutenção do cultivo consistia na troca total do meio de cultivo por um novo, neste momento disponibilizava-se alimento nos béqueres na proporção de 1,5 mL de suspensão algácea por litro de meio de cultivo. Exemplos de *Daphnia magna* em diferentes faixas etárias podem ser visualizados na Figura 10.

A verificação do pH e da dureza do meio M4 ocorreram de forma constantes, visto que, a faixa de pH e dureza indicadas de acordo com a ABNT NBR Nº 12.713/2016, é de 7,6 a 8,0 e 175 a 225 mg CaCO<sub>3</sub>L<sup>-1</sup> respectivamente. As *Daphnias magna* foram mantidas em uma câmara de germinação com temperatura controlada de 20 °C ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas de luz por dia, na Figura 11 pode ser visualizada a câmara de germinação utilizada para o cultivo.

Figura 10 – *Daphnia magna* em diferentes faixas etárias

Nota: (A) *Daphnia magna* neonato. (B) *Daphnia magna* adulta com ovos. (C) *Daphnia magna* adulta em fase final de gestação. (D) *Daphnia magna* em fase final de gestação desprendendo neonatos.  
Fonte: Autora, 2019.

Figura 11 – (A) Câmara de germinação. (B) Câmara de germinação com fotoperíodo ligado.



Fonte: Autora, 2019.

### 3.4.3 Teste de sensibilidade com *Daphnia magna*

Todos os procedimentos ambientalmente adequados de cultura da *Daphnia magna* são validados através do teste de sensibilidade que indica se o cultivo está saudável refletindo assim na confiabilidade dos resultados do teste de toxicidade (KNIE; LOPES, 2004). Dessa forma, o teste de sensibilidade indica quais as faixas de concentração de determinada substância geram toxicidade aos organismos.

De acordo com a ABNT NBR N° 12.713/2006 são indicadas algumas substâncias de referência para o teste de sensibilidade como o cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl) ou ainda sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), enquanto que a ISO N° 6.341/2012 recomenda o uso de dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) como substância de referência.

Para testar a sensibilidade das *Daphnia magna*, utilizou-se uma solução de dicromato de potássio, a fim de verificar a real faixa de concentração que gerava toxicidade. Para isso, prepararam-se diluições de 0,55; 0,70; 0,85; 1,00; 1,15; 1,30; 1,45; 1,60; 1,75  $\text{mg L}^{-1}$  em balões volumétricos de 50 mL, como pode ser observado na Figura 12.

Figura 12 – Diluições para o teste de sensibilidade.

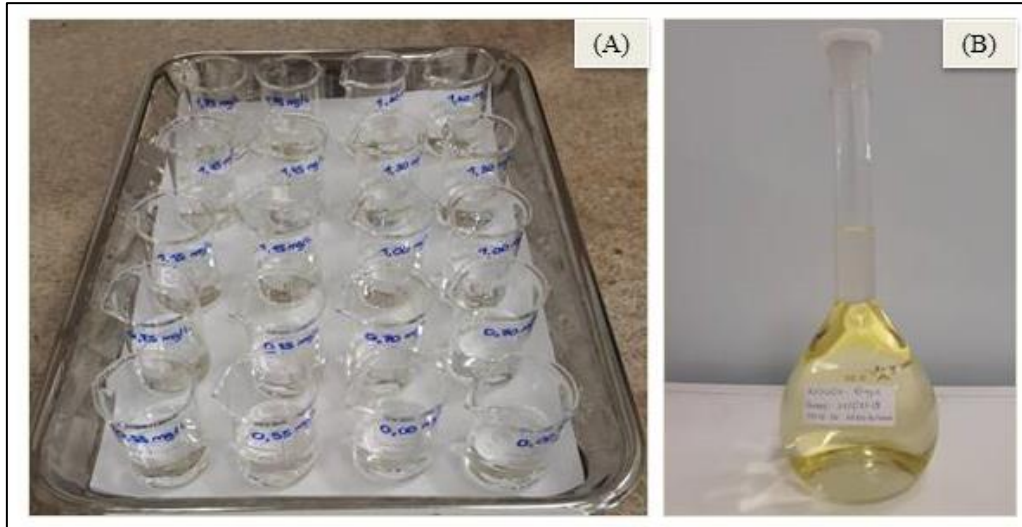


Fonte: Autora, 2019.

Sequencialmente, 10 organismos neonatos foram expostos em béqueres de 50 mL com 25 mL de solução, em duplicata, totalizando 20 organismos por concentração. O controle do teste de sensibilidade foi realizado com água de diluição nos mesmos moldes do teste com concentrações, em duplicata. O preparo da água de diluição foi realizado conforme recomendação da ABNT NBR N° 12.713/2016. As diluições foram preparadas a partir de uma

solução mãe com concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . A Figura 13 mostra a aplicação do teste bem como a solução mãe utilizada para as concentrações.

Figura 13 – (A) Aplicação do teste de sensibilidade. (B) Solução mãe de dicromato de potássio.



Fonte: Autora, 2019.

Após 24 horas de exposição em ambiente com temperatura controlada de  $20 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e luminosidade natural, foi analisado o número de organismos em letalidade ou que não apresentaram mobilidade e comparado ao resultado recomendado pela norma técnica ABNT NBR N° 12.713/2016.

Em relação ao teste de sensibilidade utilizando o dicromato de potássio, de acordo com Knie e Lopes (2004), os valores limites de sensibilidade para *Daphnia magna* devem estar em uma faixa de  $0,6$  e  $1,7 \text{ mg L}^{-1}$  de imobilidade em um teste de 24 horas onde, nesta faixa de concentração espera-se uma mortalidade igual ou inferior a 10 % em relação ao número de organismos expostos.

#### 3.4.4 Teste agudo de toxicidade com *Daphnia magna*

O teste agudo de toxicidade consistiu em expor 20 organismos de *Daphnia magna* neonatos, com idade entre 2 e 26 horas de vida, em copos plásticos com fundo branco a fim de facilitar a contagem, contendo 25 mL da amostra de água de abastecimento público, em triplicata, conforme ilustrado na Figura 14. Para realizar a transferência dos organismos, utilizou-se pipeta de Pasteur com a ponta cortada, tomando cuidado para evitar a diluição da amostra ou causar estresse aos organismos.

Figura 14 – Aplicação do teste de toxicidade aguda.



Fonte: Autora, 2019.

Os neonatos utilizados no teste eram provenientes de um mesmo lote, onde, foram cultivados em igual condição de temperatura a que foram expostos no teste. A amostra foi previamente retirada da preservação para que estivesse na faixa de temperatura adequada, nesta oportunidade, verificou-se o pH e a dureza da amostra imediatamente antes de realizar o ensaio. Para verificação do pH utilizou-se peagômetro da marca MS Tecnopon mpa210 e para determinação da dureza utilizou-se a técnica de titulação com ácido etilenodiamino tetraacético.

Os neonatos ficaram expostos em ambiente com temperatura controlada de  $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  em ambiente escuro e sem alimento em um período total de 48 horas. A primeira leitura foi realizada ao término de 24 horas e a segunda leitura ocorreu ao final do teste, com 48 horas. Em cada leitura, se observou a inibição da capacidade natatória das *Daphnias magna* expostas através de efeitos de imobilidade ou letalidade, e, dessa forma quantificou-se este valor relacionando-o com o número de organismos expostos inicialmente.

O teste de toxicidade ocorreu conforme recomendações preconizadas na ANBT NBR Nº 12.713/2016. A fim de verificar efeitos de sazonalidade nos resultados do ensaio, as

amostras das diferentes estações foram expostas simultaneamente, com o intuito de evitar variações das condições ambientais no momento da análise.

#### 3.4.5 Validação do teste

Os resultados são considerados válidos se, ao final do teste de toxicidade aguda, a porcentagem de organismos imóveis no controle, meio de cultivo sintético, for inferior ou igual a 10 % (ABNT, 2016). Destaca-se que, todos os ensaios ocorreram nas mesmas condições em que ocorreu o cultivo. Para comparação dos dados, todos os ensaios contaram com um controle negativo com o mesmo número de réplicas do teste onde se utilizou apenas meio de cultivo sintético.

#### 3.4.6 Descarte da amostra

Quando havia um número excessivo de *Daphnias magna*, ou mesmo após as análises o descarte destes organismos era feito com hipoclorito de sódio 3 % de forma a acrescentá-lo na água de cultivo antes de descartá-la. O descarte do meio de cultivo era realizado em galões por um tempo aproximado de 48 horas para garantir a mortalidade das *Daphnias magna* que restaram, após a água com os organismos mortos era destinada para desague no esgoto comum no laboratório, dessa forma, se garantiu um descarte seguro, visto que a *Daphnia magna* não é endêmica do Hemisfério Sul e um descarte incorreto poderia ocasionar contaminação da fauna aquática desta região.

### 3.5 TESTES GENOTÓXICOS

Os testes genotóxicos consistiram na análise de células de *Allium cepa* em divisão celular a fim de detectar a toxicidade por meio da visualização de anomalias cromossômicas, ou seja, através da dificuldade ou inexistência de divisão celular nas células do *Allium*. Dessa forma, foi considerado como genotóxico o baixo número de divisões celular em relação ao controle. Para realização da análise genotoxicológica utilizou-se o protocolo de Fiskesjö (1985), com reduzidas adaptações devidamente descritas neste item.

Para o teste de genotoxicidade foram utilizados 25 bulbos de *Allium cepa* adquiridos no comércio local onde a distribuição dos bulbos ocorreu da seguinte forma: 5 bulbos por estação (verão, outono, inverno e primavera) e 5 bulbos para o controle negativo, estes foram

expostos em água destilada por um período de 72 horas com a intenção de estimular o crescimento radicular do bulbo, como ilustra a Figura 15.

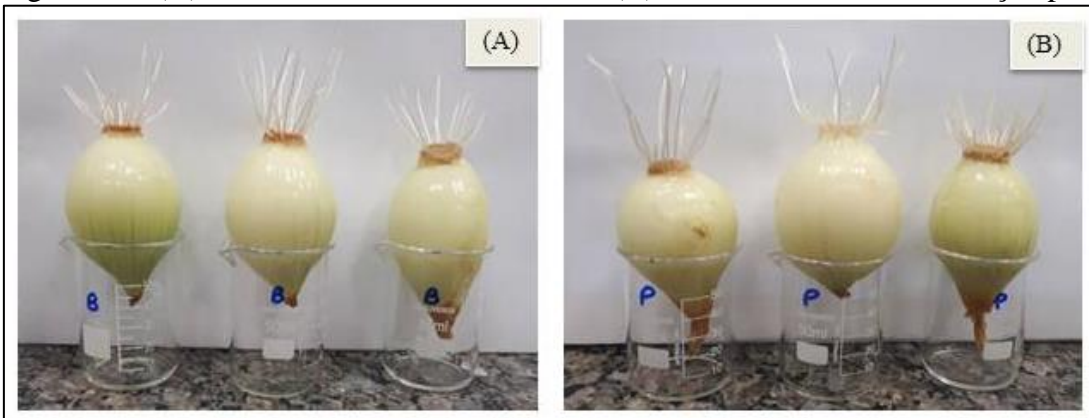
Figura 15 – Exposição dos bulbos para estimulação do crescimento radicular.



Fonte: Autora, 2019.

Após esse período, os bulbos foram expostos à amostra de água subterrânea de um poço de abastecimento público onde permaneceram nesta condição por 72 horas. O controle negativo foi novamente exposto em água destilada pelo mesmo período de tempo da amostra. Após este período, descartou-se a amostra e também os bulbos que apresentaram maior e menor crescimento radicular em cada um dos tratamentos, incluindo o controle, como pode ser verificado na Figura 16.

Figura 16 – (A) Bulbos enraizados no controle. (B) Bulbos enraizados da estação primavera.



Fonte: Autora, 2019.

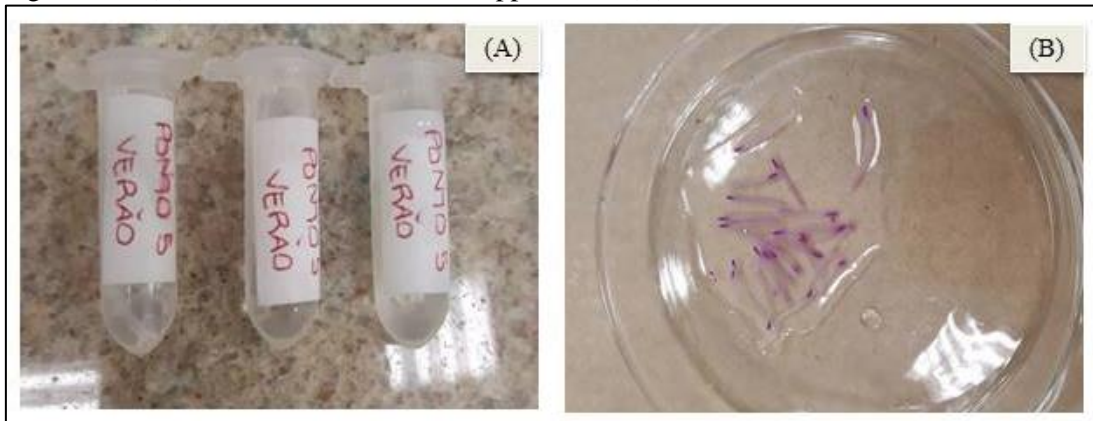
Em seguida, cortaram-se as raízes de cada um dos bulbos em tamanhos entre 1 e 2 cm, posteriormente as raízes foram armazenadas em *eppendorfs* e fixadas com Carnoy (etanol e

ácido acético na proporção 3:1) onde permaneceram por um período de 12 a 24 horas em temperatura de  $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, as raízes foram lavadas abundantemente com água destilada e sequencialmente foi realizada a preservação em álcool 70 % na geladeira até o preparo histológico, conforme apresentado na Figura 17 (A).

Para o preparo histológico, as raízes foram retiradas do álcool e lavadas com água destilada, em seguida, iniciou-se o processo de hidrólise das raízes com a adição de 1,5 mL de ácido clorídrico 1 M nos *ependorfs* que foram mantidos por 15 minutos em estufa à  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, a hidrólise foi interrompida com a lavagem das raízes novamente com água destilada por três vezes.

Sequencialmente, adicionou-se aos *ependorfs* 1,5 mL de reativo de Schiff (conforme descrito no procedimento metodológico descrito por Fiskesjö (1985), onde as raízes se mantiveram no escuro e em temperatura ambiente por 60 minutos. Após este período, retirou-se o reativo de Schiff dos *ependorfs* e lavou-se as raízes com água sulfurosa. O reativo de Schiff colore a extremidade da raiz facilitando assim o posterior preparo das lâminas, na Figura 17 (B) podem ser observadas as raízes após a pigmentação com reativo de Schiff.

Figura 17 – (A) Raízes armazenadas em ependorfs. (B) Raízes coradas com Schiff.



Fonte: Autora, 2019.

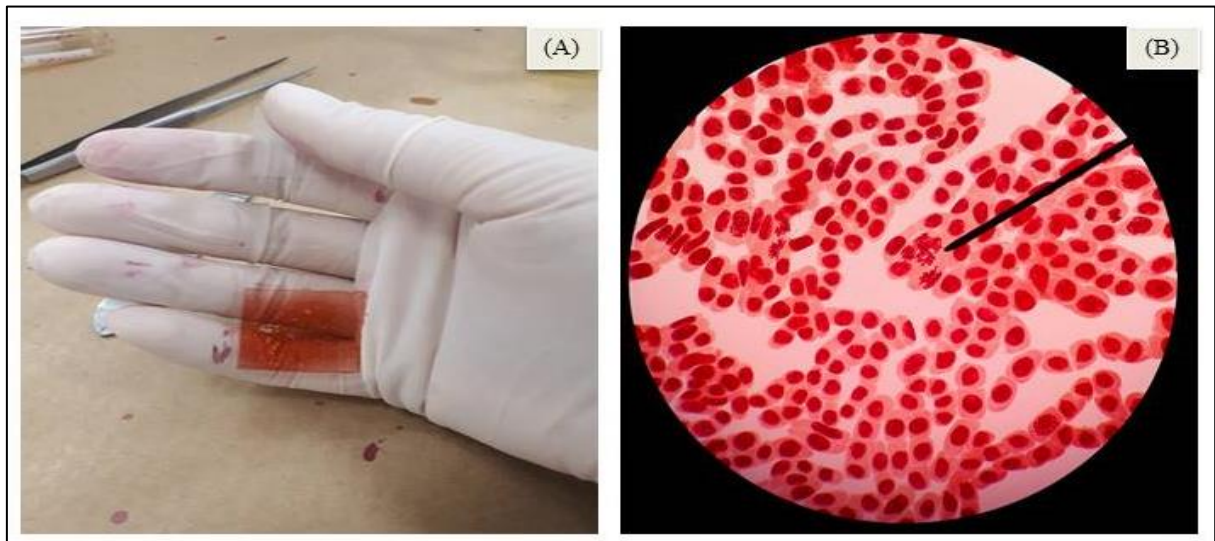
Em seguida, foram escolhidas as 5 melhores raízes de cada tratamento (chama-se tratamento cada uma das amostras de cada estação e o controle) para iniciar o preparo das lâminas. Com o auxílio de uma pinça a raiz foi posicionada sobre a lâmina e com um bisturi foi seccionada a região meristemática apical, o restante da raiz foi descartada deixando sobre a lâmina somente a parte da raiz em plena atividade celular.

Posteriormente, macerou-se a região maristemática apical de forma a distribuir as células sobre a lâmina onde foram gotejadas algumas gotas de orceína acética 2 %, em

seguida posicionou-se a lamínula sobre a lâmina seguida de uma leve compressão para unir a lâmina com a lamínula evitando bolsões de ar. Por fim, ocorreu a vedação da lâmina com verniz incolor para garantir a preservação da mesma. Foram preparadas 5 lâminas para cada tratamento incluindo o controle entretanto foram escolhidas as 3 melhores lâminas para a análise.

A análise do material genético do *Allium* consistiu na observação da lâmina em microscópio óptico com aumento de 100 vezes onde, através da técnica de varredura foram observadas 3.000 células por tratamento, sendo 1.000 células por lâmina, quantificando o número de divisões celular encontrado em cada lâmina bem como a fase da divisão. Para manter um padrão de observação, ao chegar na milésima célula a varredura continuou até contabilizar todas as células daquela visão, antes de ser retirada a lâmina do microscópio. Na Figura 18 pode-se observar em (A) a lâmina após o preparo e em (B) a visão da lâmina no microscópio óptico com aumento de 40x.

Figura 18 – (A) Lâmina pronta para análise. (B) Lâmina no microscópio óptico com aumento de 40x.



Fonte: Autora, 2019.

De forma geral, ressalta-se que, as cebolas utilizadas nas análises foram adquiridas no comércio local, oriundas de agricultura convencional, nesse sentido, não há garantias de que os bulbos não apresentassem resquícios de agrotóxicos oriundos do plantio da mesma.

### 3.6 ANÁLISE DOCUMENTAL

Realizou-se análise documental acerca dos laudos dos parâmetros físico-químicos de análises de monitoramento do poço de água subterrânea nas quatro diferentes estações do ano onde, identificou-se que, em apenas duas estações (inverno e primavera) havia resultados das análises. Os laudos foram averiguados em especial com relação ao cloro residual livre das amostras visto que ele pode ser um possível interferente considerando a ABNT NBR 12.713/2016.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste item estão expressos os resultados obtidos por meio das análises de toxicidade aguda bem como de genotoxicidade em água subterrânea de um poço de abastecimento público. Os dados estão apresentados em tabelas e contextualizados com parâmetros os físico-químicos respectivos ao pH, dureza total, temperatura e detecção de agrotóxicos.

### 4.1 TESTE TOXICOLÓGICO

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados das análises de toxicidade aguda com *Daphnia magna*, considerando a sazonalidade, onde a duração total do teste foi de 48 horas com uma leitura na metade do tempo e outra posterior ao término. O teste teve início em 31 de outubro de 2019 às 21:30 h, a primeira leitura ocorreu em 01 de novembro de 2019 às 21:30 h e a última leitura ocorreu em 02 de novembro de 2019 no mesmo horário. De forma preliminar ao teste de toxicidade aguda, realizou-se o teste de sensibilidade com os organismos teste onde se inferiu que a faixa de sensibilidade estava entre 0,6 e 1,7 mg L<sup>-1</sup> de imobilidade em um teste de 24 horas. Assim, as *Daphnias magna* foram consideradas aptas para realizar testes toxicológicos.

Tabela 5 – Resultados do ensaio de toxicidade aguda.

Ensaio de toxicidade aguda										
Estação	Tempo de teste (horas)	Réplicas						Média de mortalidade	Índice de mortalidade (%)	Determinação qualitativa
		1		2		3				
		M	IM	M	IM	M	IM			
Verão	24	20	0	20	0	20	0	0,00	0,00	Não tóxico
	48	20	0	20	0	20	0	0,00	0,00	Não tóxico
Outono	24	20	0	20	0	20	0	0,00	0,00	Não tóxico
	48	20	0	20	0	19	1	0,33	1,67	Não tóxico
Inverno	24	0	20	0	20	0	20	20,00	100,00	Tóxico
	48	0	20	0	20	0	20	20,00	100,00	Tóxico
Primavera	24	0	20	0	20	0	20	20,00	100,00	Tóxico
	48	0	20	0	20	0	20	20,00	100,00	Tóxico
Controle	24	20	0	20	0	20	0	0,00	0,00	Válido
	48	20	0	19	1	19	1	0,67	3,33	Válido

Nota: (M) Organismos que apresentaram mobilidade; (IM) Organismos que apresentaram imobilidade.

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Conforme verifica-se na Tabela 5, o ensaio de toxicidade aguda pôde ser considerado válido, isto porque, o controle apresentou imobilidade inferior a 10 % da quantidade total de organismos expostos ao teste por réplica conforme recomendações da ABNT NBR Nº 12.713/2016. Nesse sentido, em uma análise sazonal, é possível observar que 2 estações apresentaram toxicidade e 2 estações não apresentaram toxicidade.

A análise referente ao verão não apresentou imobilidade em nenhuma das réplicas durante todo o teste. A análise referente ao outono, em 24 horas de teste não apresentou imobilidade em nenhuma das réplicas, posteriormente, ao final do teste apresentou imobilidade de 1 organismo em apenas uma réplica o que indica não toxicidade visto que, o índice de imobilidade é menor que 10 %. Enquanto que, as análises referentes ao inverno e a primavera apresentaram imobilidade de todos os organismos expostos nas primeiras 24 horas de teste configurando assim a toxicidade comprovada das amostras dessas estações.

Cabe destacar alguns possíveis interferentes que poderiam apontar um falso positivo gerando dessa forma a imobilidade dos organismos teste. Nesta perspectiva, de acordo com a ABNT NBR Nº 12.713/2016 os possíveis causadores de interferência nas análises de toxicidade aguda usando como bioindicador o microcrustáceo *Daphnia magna* são: dureza total, pH, material particulado e temperatura. Por se tratar de amostras de água de abastecimento, não há evidências de material particulado na amostra, uma vez que essa possibilidade de interferente é descartada.

Para averiguar os demais parâmetros, sendo estes possíveis interferentes, verificou-se os valores referentes à dureza e ao pH de todas as amostra imediatamente antes de realizar as análises. Dessa forma, a Tabela 6 indica os valores verificados para os parâmetros físico-químicos em cada estação bem como para o controle.

Tabela 6 – Parâmetros físico-químicos das amostras verificados antes do início do teste.

<b>Parâmetros físico-químicos das amostras</b>			
<b>Estação do ano / Referência</b>	<b>pH</b>	<b>Dureza total (mg CaCo3 L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Temperatura* (°C)</b>
<b>Verão</b>	7,08	408	21,7
<b>Outono</b>	6,59	406	19,4
<b>Inverno</b>	6,94	404	19,7
<b>Primavera</b>	7,14	404	20,5
<b>Controle</b>	6,96	214	23,4
<b>ABNT NBR 12.713/2016</b>	7,6 - 8,0	175 - 225	18 - 22

Nota: Temperatura verificada no momento do preparo do teste, antes de adentrar em ambiente controlado.  
Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Conforme pode ser visualizado na Tabela 6, os valores de pH de todas amostras analisadas, inclusive do controle contendo meio de cultivo, estavam abaixo da faixa adequada recomendada pela ABNT NBR N° 12.713/2016. Entretanto, com vistas ao resultado das análises pode-se inferir que a variação na faixa de pH não gera falso positivo, pois não houve índice de imobilidade no verão da mesma forma que, o índice de imobilidade do outono é consideravelmente baixo assim como o índice do controle. Logo, se comparadas todas as estações, não ocorreu influência direta da faixa de pH, de forma que em todos os casos o pH se encontrava com valores próximos da neutralidade.

Em relação à dureza total das amostras, conforme pôde ser verificado na Tabela 6, todos os valores de dureza das amostras, exceto o controle, estão ligeiramente acima dos valores recomendados pela ABNT NBR N° 12.713/2016 para aplicação do teste de toxicidade aguda. Considerando que a faixa de dureza em todas as estações é similar e houve mortalidade expressiva somente no inverno e na primavera, infere-se que a variação da dureza (mesmo que em valores consideravelmente acima dos limites recomendados) não pode ser considerada como o responsável pela toxicidade para os organismos teste.

Ainda, em relação a possíveis interferentes que pudessem resultar em imobilidade dos organismos teste, buscou descartar a possibilidade de falso positivo que poderia ser gerado pelo cloro residual contido nas amostras. Para isso, realizou-se análise documental de laudos referentes à cloração dos poços junto à Prefeitura Municipal do município onde coletou-se as amostras que é responsável pela manutenção destes. Nesse sentido, averiguou-se que não há registros de análise de cloro residual em todos os meses do ano, dentre os quatro meses em que foram realizadas as coletas e análises (março, maio, julho e outubro) há somente análises de qualidade da água e resultados correspondentes ao cloro residual para os meses de julho e outubro, correspondentes às estações inverno e primavera, respectivamente.

Portanto, a quantificação de cloro residual livre apenas nas amostras do inverno e da primavera apresentaram valores de 0,51 mg L<sup>-1</sup> e 0,23 mg L<sup>-1</sup> respectivamente, tais valores estão dentro do esperado para água de abastecimento onde, de acordo com a Portaria de Consolidação N° 5 de 2017 do Ministério da Saúde (MS), o ideal é que esses valores fiquem na faixa de 0,20 a 2,00 mg L<sup>-1</sup> (BRASIL, 2017). Os laudos das análises disponibilizados pelo município encontram-se descritos no Apêndice A.

Descartando as possíveis hipóteses de interferência dos resultados de toxicidade, busca-se inferir que esta pode ser causada por poluição de multirresíduos, dentre estes os

compostos agrotóxicos presentes na água de abastecimento. Os resultados das análises de agrotóxicos das amostras de todas as estações estão descritas na Tabela 7.

Tabela 7 – Detecção de agrotóxicos nas amostras.

<b>Determinação de agrotóxicos</b>					
Ingrediente ativo	Verão	Outono	Inverno	Primavera	LOQm
2,4D	< LOQ	< LOQ	ND	ND	1,000
Atrazina	ND	ND	0,005	ND	0,010
Azoxistrobina	ND	0,127	*	ND	0,040
Bentazone	ND	ND	ND	ND	0,020
Carbofurano	< LOQ	ND	ND	ND	0,020
Ciproconazol	ND	ND	ND	ND	0,040
Clomazone	ND	ND	*	ND	0,040
Difenoconazol	< LOQ	ND	< LOQ	ND	0,100
Epoxiconazol	ND	ND	ND	ND	0,020
Fipronil	< LOQ	< LOQ	1,140	ND	0,040
Imazapic	< LOQ	ND	< LOQ	< LOQ	0,010
Imazetapir	< LOQ	< LOQ	ND	ND	0,010
Malationa	< LOQ	< LOQ	*	ND	0,200
Metsulfuron	ND	ND	ND	ND	0,100
Penoxsulan	< LOQ	ND	ND	ND	0,040
Piraclostrobina	< LOQ	ND	ND	ND	0,200
Pirazosulfuron	< LOQ	ND	ND	ND	0,040
Pirimicarb	0,192	ND	ND	ND	0,080
Profenofós	< LOQ	ND	ND	ND	0,200
Propiconazol	ND	ND	ND	ND	0,020
Simazina	ND	ND	ND	ND	0,040
Tebuconazol	< LOQ	ND	< LOQ	ND	0,100
Tiametoxan	< LOQ	ND	ND	ND	0,200
Trifloxistrobina	ND	ND	< LOQ	ND	0,200

Nota: (ND) Não detectado; (LOQm) Limite mínimo de quantificação do método; (< LOQ) Menor que o limite de quantificação; (\*) Não quantificado.

Fonte: MCTIC/CNPq N° 28/2018

Conforme pode ser visto na Tabela 7, foram analisados 24 diferentes agrotóxicos em todas as estações. Dessa forma, no verão houve detecção de Pirimicarb que é um inseticida cuja classificação toxicológica é Classe II, no outono houve detecção de Azoxistrobina que é um fungicida o qual possui classificação toxicológica de Classe III, no inverno houve detecção de Atrazina que é um herbicida cuja classificação toxicológica é Classe III e Fipronil que é um inseticida, formicida e cupinicida cuja classificação toxicológica é Classe II

(ANVISA, 2019). Na primavera não houve quantificação de nenhum tipo de agrotóxico dentre os analisados. Os agrotóxicos que se encontram abaixo do limite de detecção do método não foram considerados.

Neste sentido, é sabido que os agrotóxicos quantificados nas análises são aplicados nas culturas da região. De forma que, o Pirimicab possui recomendações de aplicação na horticultura e em culturas de trigo, a Azoxistrobina possui recomendações de aplicação para vegetais, grãos, frutas e tubérculos enquanto que a Atrazina e o Fipronil são aplicados principalmente nas culturas de milho da região conforme modalidade de emprego destes evidenciada anteriormente na Tabela 4.

Assim, observando a utilização destes agrotóxicos na região em estudo infere-se que estes podem chegar ao lençol freático, principalmente devido às características do solo desta região. Nesse sentido, considerando a maior abrangência do latossolo na Região das Missões infere-se a possibilidade de percolação dos agrotóxicos através do solo até o lençol freático devido a permeabilidade deste tipo de solo.

De acordo com a Ker (1998) os latossolos, além de profundos, apresentam características como coloração relativamente homogênea com variações de coloração avermelhadas e amareladas de forma que apresentam distribuição uniforme de argila ao longo do perfil com elevada estabilidade de agregados e baixo teor de silte em relação à argila. Em geral, possuem permeabilidade excessiva, infere-se que esta permeabilidade está diretamente ligada com a mineralogia deste solo. Nesse sentido, Ferreira, Fernandes e Curi (1999) admitem que quanto mais argiloso for o latossolo, maior será sua permeabilidade, com exceção dos latossolos amarelos devido a grande variabilidade de seu material de origem.

A Portaria de Consolidação Nº 5 relata em seu Anexo 7 uma tabela de padrão de potabilidade para substâncias químicas que representam risco à saúde, onde, estão inseridas substâncias inorgânicas, orgânicas, agrotóxicos e desinfetantes. Com relação aos agrotóxicos, há uma listagem de 27 substâncias seguidas de seus VMP, entretanto, dentre os 4 agrotóxicos quantificados nas amostras apenas um deles consta nesta lista (atrazina) cujo VMP é  $2 \mu\text{g L}^{-1}$ . De acordo com Alves (2017), é imprescindível que sejam adotados VMP de acordo com a sazonalidade da produção agrícola adotada no Brasil, de forma que se tenham referências de quantificação munidas de legislação vigente.

De acordo com Palmeira et al. (2018), com o propósito de assegurar a garantia da qualidade da água de abastecimento os Ministérios da Saúde e de Meio Ambiente deliberam VMP para agrotóxicos em águas destinadas ao abastecimento público, de forma que, o

manejo das condições ambientais, dentre elas o controle de poluição, assegurem a garantia do meio ambiente ecologicamente equilibrado bem como a melhoria da qualidade de vida conforme direito assegurado no artigo 225 da Constituição Federal de 1988 (BRASIL, 1988). Ainda, sobre o uso de agrotóxicos no Brasil, o autor ressalta que

existiam 511 monografias autorizadas de produtos registrados no Brasil usados como ingredientes ativos destinados ao uso agrícola, saneantes desinfestantes, não agrícola, ambientes aquáticos e preservante de madeira. Destes, 350 contribuem com 98 % das formulações de agrotóxicos mais utilizados, sendo que 80% deles são rotineiramente usados na agricultura do Brasil (Palmeira et al., 2018).

No entanto, nos últimos tempos, centenas de compostos agrotóxicos estão sendo aprovados para uso sem quaisquer alterações na Portaria da Consolidação N° 05/2017 quanto aos VMP na água de abastecimento. Assim, há uma grave preocupação quantos aos riscos ambientais destes novos compostos disponíveis para uso, os quais poderão ser prejudiciais a saúde humana e com o agravante de não se ter quaisquer regulamentos sobre a sua presença na água.

Ao comparar a análise toxicológica com a detecção de agrotóxicos, pode-se perceber que especificamente na primavera, houve resultado positivo para toxicidade aguda com 100 % de imobilidade dos organismos expostos e não houve a detecção de nenhum agrotóxico. Tal fato pode ser explicado pela ampla diversidade de agrotóxicos dispostos no ambiente, de forma que, a toxicidade pode ter sido causada por algum composto químico, inclusive um agrotóxico não analisado, bem como a combinação de compostos.

Destaca-se ainda que, podem haver outras substâncias presentes nas amostras com capacidade de causar toxicidade à *Daphnia magna*. De acordo com Leblanc e Buchwalter (2004), as substâncias com potencial de toxicidade podem ser degradadas por processos naturais (bióticos e abióticos) que ocorrem no ambiente. Entretanto, algumas substâncias como diclorodifeniltricloroetano (DDT), bifenilos policlorados (PCBs) e 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) por exemplo, resistem a processos degradativos e aos processos de degradação e por esse motivo são capazes de permanecer no ambiente por longos períodos de tempo de forma que, o uso contínuo de substâncias persistentes pode levar a sua acumulação em níveis ambientais suficientes para resultar em toxicidade.

#### 4.2 TESTE GENOTOXICOLÓGICO

O desenvolvimento dos testes genotóxicológicos ocorreu com a finalidade de um estudo comparativo em relação aos ensaios de toxicidade aguda. Na Tabela 8 estão descritos os resultados encontrado posterior ao teste de genotoxicidade onde, foram quantificados os números de divisões celulares por lâminas em cada estação.

Tabela 8 – Resultados do ensaio de genotoxicidade.

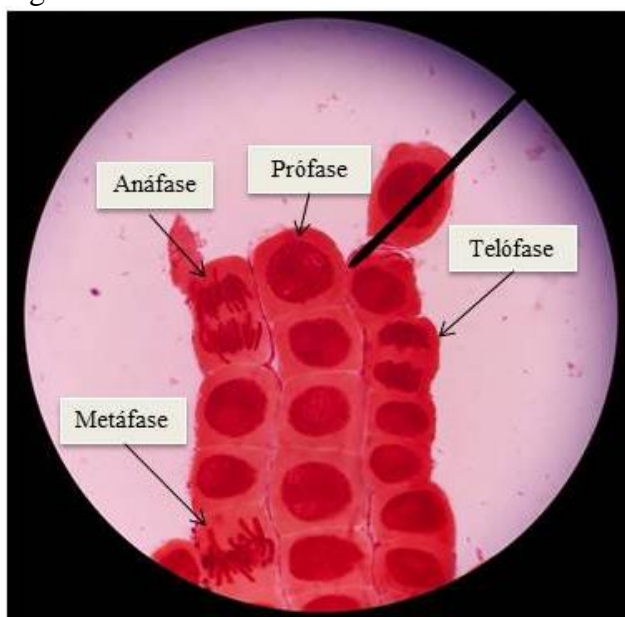
Estação	Ensaio de genotoxicidade														
	Lâminas														
	1					2					3				
	P	M	A	T	TD	P	M	A	T	TD	P	M	A	T	TD
Verão	18	3	0	0	21	13	10	0	6	29	18	4	0	4	26
Outono	17	4	2	1	24	18	3	4	6	31	21	1	4	5	31
Inverno	24	9	2	1	36	19	5	1	4	29	12	4	8	4	28
Primavera	19	4	7	3	33	25	9	5	10	49	27	5	9	12	53
Controle	34	11	7	16	68	33	17	3	11	64	43	21	12	11	87

Nota: (P) Prófase; (M) Metáfase; (A) Anáfase; (T) Telófase; (TD) Total de células em divisão.

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

A Figura 19 mostra as quatro diferentes divisões celulares identificadas em uma única visão nas lâminas respectivas ao verão, nesse sentido, esta conformidade de células foi a referência utilizada para a contagem de todas as lâminas deste estudo.

Figura 19 – Divisões celulares identificados no verão.

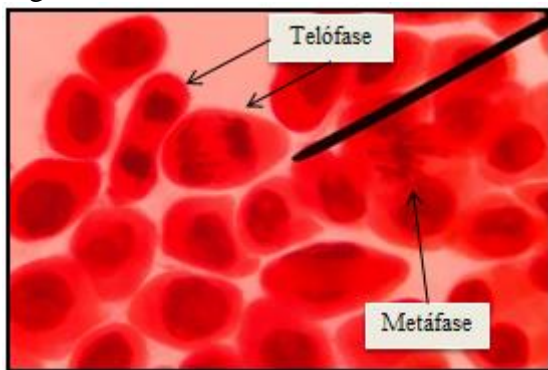


Fonte: Autora, 2019.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8, na estação verão foram identificadas 18 prófases, 3 metáfases e nenhuma divisão em anáfase ou telófase, totalizando assim 21 divisões na primeira lâmina. Na segunda lâmina foram identificadas 13 prófases, 10 metáfases, 6 telófases e nenhuma anáfase, totalizando 29 divisões. Na última lâmina analisada para o verão, foram identificadas 18 prófases, 4 metáfases, 4 telófases e nenhuma anáfase onde o número total de divisões foi de 26.

Nas lâminas analisadas correspondentes a estação outono, foram identificadas 17 prófases, 4 metáfases, 2 anáfases e 1 telófase, totalizando assim 24 divisões na primeira lâmina analisada. Na segunda lâmina foram identificadas 18 prófases, 3 metáfases, 4 anáfases e 6 telófases totalizando 31 divisões nesta lâmina. Na terceira lâmina analisada, foram identificadas 21 prófases, 1 metáfase, 4 anáfases e 5 telófases, totalizando 31 divisões. A Figura 20 mostra 2 telófase e 1 metáfase que foram identificadas em uma visão durante a varredura das lâminas do outono.

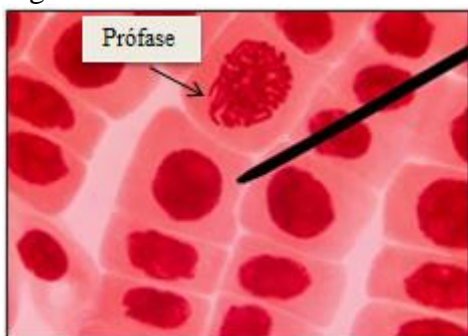
Figura 20 – Divisões identificadas nas lâminas do outono



Fonte: Autora, 2019.

Para o inverno, foram identificadas 24 prófases, 9 metáfases, 2 anáfases e 1 telófase, totalizando 36 divisões na primeira lâmina analisada. Na segunda lâmina, foram identificadas 19 prófases, 5 metáfases, 1 anáfase e 4 telófases, totalizando 29 divisões. Na última lâmina analisada para esta estação foram identificadas 12 prófases, 4 metáfases, 8 anáfases e 4 telófases, totalizando 28 divisões. Na Figura 21 é possível visualizar 1 prófase identificada durante a varredura das lâminas do inverno.

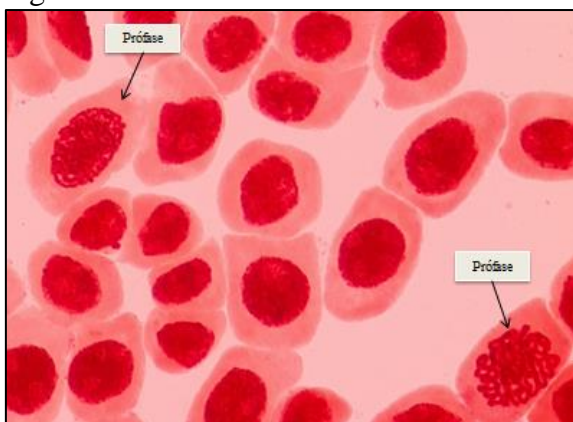
Figura 21 – Prófase identificada nas lâminas do inverno



Fonte: Autora, 2019.

Nas lâminas correspondentes a estação primavera, foram identificadas 19 prófases, 4 metáfases, 7 anáfases e 3 telófases, totalizando 33 divisões na primeira lâmina analisada. Para a segunda lâmina, foram identificadas 25 prófases, 9 metáfases, 5 anáfases e 10 telófases, totalizando 49 divisões. Na terceira lâmina analisada, foram identificadas 27 prófases, 5 metáfases, 9 anáfases e 12 telófases, totalizando 53 divisões analisadas. Na Figura 22 é possível visualizar 2 prófases identificadas durante a varredura das lâminas da primavera.

Figura 22 – Prófases identificadas nas lâminas da primavera.



Fonte: Autora, 2019.

Por fim, nas lâminas correspondentes ao controle foram identificadas 34 prófases, 11 metáfases, 7 anáfases e 16 telófases na primeira lâmina, totalizando 68 divisões. Na segunda lâmina foram identificadas, 33 prófases, 17 metáfases, 3 anáfases e 11 telófases totalizando assim 64 divisões. Na última lâmina analisada para o controle foram identificadas 43 prófases, 21 metáfases, 12 anáfases e 11 telófases totalizando 87 divisões nesta lâmina. Na Figura 23 é possível visualizar 1 prófase e 1 telófase identificada durante a varredura das lâminas do controle.

Figura 23 – Prófase e telófase identificadas do controle.



Fonte: Autora, 2019.

Ainda sobre os resultados dos ensaios de genotoxicidade, na Tabela 9 estão apresentados os valores de índice mitótico médio (IMm) para cada tratamento. De forma que, para o verão, a primeira lâmina analisada teve um total de 21 células em divisão de 1.020 analisadas resultando assim em um índice mitótico (IM) de 2,1 %.

Tabela 9 – Índice mitótico para todas as estações e controle.

Análise do ensaio de genotoxicidade										
Estação	Lâminas									IMm (%)
	1			2			3			
	TD	TA	IM (%)	TD	TA	IM (%)	TD	TA	IM (%)	
Verão	21	1.020	2,1	29	1.017	2,9	26	1.000	2,6	2,5
Outono	24	1.018	2,4	31	1.025	3,0	31	1.032	3,0	2,8
Inverno	36	1.023	3,5	29	1.000	2,9	28	1.010	2,8	3,1
Primavera	33	1.002	3,3	49	1.014	4,8	53	1.006	5,3	4,5
Controle	68	1.001	6,8	64	1.009	6,3	87	1.009	8,6	7,3

Nota: (TD) Total de células em divisão; (TA) Total de células analisadas; (IM) Índice mitótico; (IMm) Índice mitótico médio.

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

A segunda lâmina analisada apresentou 29 divisões de 1.017 células analisadas resultando assim, em um IM de 2,9 %. A última lâmina analisada nesta estação apresentou 26 divisões de 1.000 células analisadas resultando em um IM de 2,6 %. Dessa forma, o IMm contabilizado para o verão foi de 2,5 %.

Para as análises referentes ao outono, a primeira lâmina analisada mostrou 24 divisões em um total de 1.018 células analisadas, de forma que o IM foi de 2,4 %. A segunda lâmina

evidenciou 31 divisões em 1.025 células analisadas de forma que o IM foi de 3,0 %. Por fim, a terceira lâmina analisada apresentou 31 divisões em 1.032 células analisadas onde o IM apresentado foi de 3,0 %. Assim, o IMm resultante para o outono foi de 2,8 %.

Com relação ao inverno, a primeira lâmina analisada apontou 36 divisões em 1.023 células analisadas onde, o IM foi de 3,5 %. A segunda lâmina apresentou 29 divisões de 1.000 células analisadas resultando em um IM de 2,9 %. A última lâmina analisada evidenciou 28 divisões em 1.010 células analisadas onde o IM foi de 2,8 %. Dessa forma, o IMm para o inverno foi de 3,1 %.

Para a primavera, a primeira lâmina analisada mostrou 33 divisões de 1.002 células analisadas onde o IM foi de 3,3 %. A segunda lâmina apontou 49 divisões de 1.014 células analisadas resultando em um IM de 4,8 %. A terceira lâmina analisada apresentou 53 divisões em 1.006 células analisadas onde o IM foi de 5,3 %. Assim, o IMm foi de 4,5 %.

Por fim, o controle apresentou para a primeira lâmina analisada 68 divisões em 1.001 células analisadas resultando assim em um IM de 6,8 %. A segunda lâmina do controle evidenciou 64 divisões de 1.009 células onde o IM foi de 6,3 % e a última lâmina analisada no controle apresentou 87 divisões de 1.009 células analisadas onde o IM foi de 8,6 %. Dessa forma, o IMm do controle foi de 7,3 %.

Leme e Marin-Morales (2009) afirmam que o IM tem sido utilizado como parâmetro para análises genotóxicas de várias substâncias, de forma que, IM significativamente menor que apresentado no controle podem indicar alterações oriundas da ação de substâncias químicas no crescimento e no desenvolvimento dos organismos expostos, bem como, IM maiores que os apresentados no controle indicam aumento no número de divisões celular podendo assim prejudicar as células com a promoção de divisão celular desordenada e evidenciando a formação de tumores. Dessa forma, tanto a redução como o aumento do IM são indicativos de atenção quanto ao monitoramento da poluição ambiental.

Nos ensaios de genotoxicidade, o baixo número de células em divisão celular foi parâmetro adotado para avaliar a toxicidade. De acordo com Antonsiewicz (1990), o declínio do índice mitótico para valores inferiores a 22 % do valor do controle causa efeitos letais nos organismos teste, enquanto a diminuição de até 50 % do valor do controle de forma geral, apresenta efeitos sub-letais. Ainda, valores acima de 50 % do valor do controle não apresentam danos significativos.

Portanto, ao observar a Tabela 10 que indica a relação entre o índice mitótico médio e o índice mitótico do controle (IMm,c) percebe-se que o IMm,c do verão, outono, inverno e primavera foram de 34,5 %, 38,5 %, 42,2 % e 61,6 %, respectivamente.

Tabela 10 – Relação entre o índice mitótico médio e o índice mitótico do controle.

Estação	IMm (%)	IMm,c (%)
Verão	2,5	34,5
Outono	2,8	38,5
Inverno	3,1	42,2
Primavera	4,5	61,6

Nota: (IMm) Índice mitótico médio; (IMm,c) Índice mitótico médio em relação ao controle

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Em concordância com Antonsiewicz (1990), pode-se inferir que no verão, outono e inverno os efeitos apontados pelo ensaio de genotoxicidade são considerados sub-letais de forma que promoveram as divisões celular em 4 estágios na célula (prófase, metáfase, anáfase e telófase), porém em quantidade consideravelmente menor que no controle.

Na primavera o índice mitótico médio em relação ao controle foi de 61,6 %, nesse sentido, de acordo com Antonsiewicz (1990), tal resultado não infere em danos significativos ao DNA das células expostas ao tratamento.

Ao comparar os resultados do ensaio genotóxico com o ensaio toxicológico observa-se que, especificamente na primavera os resultados de toxicidade não coincidem. Tal fato pode ser explicado por diversos fatores, dentre os quais se destacam: i) a análise genotoxicológica da água subterrânea de um poço de abastecimento público na estação primavera foi realizada em período posterior as demais estações, dessa forma, utilizaram-se cebolas de procedência diferente; ii) não houve quantificação de agrotóxicos entre os detectados na primavera, o que não aponta necessariamente a inexistência destes; iii) podem haver compostos presentes na amostra coletada na primavera que promovem maior sensibilidade a *Daphnia magna* do que ao *Allium*.

## 5 CONCLUSÃO

De acordo com os objetivos propostos e os resultados obtidos neste trabalho, obtiveram-se as seguintes conclusões:

Os testes toxicológicos com *Daphnia magna* evidenciaram toxicidade aguda da água subterrânea de um poço de abastecimento público devido à imobilidade de 100 % dos organismos após 24 horas de exposição em duas estações, inverno e primavera, De forma que, os resultados puderam ser considerados válidos.

Com relação à influência da sazonalidade no que tange a toxicidade aguda, verificou-se que esta intervém nos resultados de toxicidade visto que, para as mesmas condições de teste, nas diferentes estações, obtiveram-se resultados positivos e negativos de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Daphnia magna*, isso porque nas amostras destas estações haviam compostos tóxicos aos organismos teste supostamente agrotóxicos.

Os testes genotóxicos evidenciaram a toxicidade da água subterrânea de um poço de abastecimento público em estações diferentes dos testes toxicológicos, em partes, tal fato deve-se as diferenças de sensibilidade dos organismos teste onde, o teste genotóxico analisa danos no DNA de forma microscópica enquanto o teste toxicológico analisa efeitos de imobilidade;

Com relação à comparação de ambos os testes, pode-se inferir que de maneira específica, na primavera os resultados de toxicidade aguda e genotoxicidade não coincidiram, tal fato pode ser explicado, principalmente por esta estação ter sido analisada posteriormente as demais no que diz respeito à análise genotóxica, com cebolas de procedência diferentes.

Quanto às análises de agrotóxicos, a detecção de agrotóxicos mostra que de fato existe poluição com tais substâncias no ambiente.

Conforme pôde se observar com o decorrer deste estudo, existe uma demanda de revisão das legislações brasileiras no que diz respeito à qualidade da água de abastecimento bem como a VMP reguladores para substâncias químicas de forma a contemplar a grande variedade de agrotóxicos que são utilizados, principalmente em regiões convencionadas agrícolas como a Região das Missões/RS.

Sobretudo, as análises de toxicidade aguda evidenciaram que podem existir substâncias químicas alheias as que foram testadas com potencial de causar inibição da

capacidade natatória dos organismos testes em menos de 24 horas de exposição, alertando para a importância da discussão sobre a toxicidade da água de abastecimento público e principalmente, sobre a degradação da qualidade da água subterrânea utilizada para o abastecimento.

Nesse sentido, a avaliação da qualidade da água subterrânea é um assunto que merece relevância de forma que, é necessário que se realizem investigações sistemáticas em médio e longo prazo para que se possa traçar um panorama da Região das Missões/RS com maciço levantamento de dados acerca da detecção de agrotóxicos na água potável e sua possível toxicidade.

Portanto, posterior à constatação de multiresíduos de agrotóxicos em poços subterrâneos cuja água é utilizada para o abastecimento público de uma determinada população, é imprescindível que seja feito o monitoramento desta água. Nesse sentido, os resultados desta pesquisa vem contribuir para esse monitoramento de forma a trazer subsídios para evitar problemas relacionados à saúde da população que se abastece desta água.

Sugere-se em trabalhos futuros que a toxicidade da água de abastecimento público da Região das Missões do Estado do Rio Grande do Sul seja analisada através de teste crônico, para que se possa analisar os efeitos tóxicos após uma exposição prolongada a doses cumulativas de multiresíduos de agrotóxicos de forma a inferir os danos ao longo do tempo.

Ainda, destaca-se que os resíduos gerados durante o desenvolvimento deste estudo foram descartados de acordo com as recomendações dos servidores técnicos responsáveis pelos laboratórios da UFFS, baseados no plano de gerenciamento de resíduos da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo.

## REFERÊNCIAS

- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9.898: Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores**. Rio de Janeiro, 1987.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda: Método de ensaio com *Daphnia spp*** (Crustacea, Cladocera). 4. ed. Rio de Janeiro, 2016.
- AGEITEC - AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. **Perdas de agrotóxicos**. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore/CONTAG01\\_39\\_210200792814.html#](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_39_210200792814.html#)>. Acesso em: 02 nov. 2019
- ALCÂNTARA, M. A. K.; CAMARGO, O. A. Isoterma de adsorção de Freundlich para o crômio (III) em latossolos. **Scientia Agricola**. Campinas, v. 58, n. 3, p. 567 – 572, jul./set. 2001.
- ALVES, A. A. A. **Emprego da tecnologia de adsorção em leito fixo de carvão ativado granular para a remoção de agrotóxicos carbamatos da água de abastecimento público**. 2017. 190 p. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, Florianópolis, 2017.
- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Cartilha sobre agrotóxicos: série trilhas do campo**. Brasília, 2011.
- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Regularização de produtos: agrotóxicos**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>>. Acesso em: 09 mar. 2019.
- ANDRÉS, M. Frases do Meio Ambiente. Disponível em: <<https://www.oeco.com.br/frases-do-meio-ambiente/25748-frases-do-meio-ambiente-mauricio-andres>> Acesso em: 10 out. 2019.
- ANTONSIEWICZ D. Analysis of the cell cycle in the root maristem of *Allium cepa* under the influence og Ledakrin. **Folia Histochemica et Cytobiologica**. Poland, v. 28, p. 79-95, 1990.
- ANTUNES, S. C.; CASTRO, B. B. Pulgas-de-água (*Daphnia spp.*). **Revista de Ciência Elementar**. Porto, v. 5, n. 4, p. 10 – 12, dez. 2017.
- ARSEGO, I. B. **Sorção dos herbicidas diuron e hexazinone em solos de texturas contrastantes**. 2009. 66 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- BACHINSKI, R. F. **Métodos alternativos ao uso de animais na toxicologia de agrotóxicos: uma revisão sistemática e uma proposta de método para avaliação de anticolinesterásicos**. 2011. 68 p. Dissertação. (Mestrado em Saúde Pública e Meio Ambiente) – Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Osvaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**. Tradução de Marco Tadeu Grassi et al. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.

BARRIUSO, E.; CALVET, R.; SCHIAVON, M.; SOULAS, G. Les pesticides et les polluants organiques des sols: transformations et dissipation. **Étude et Gestion des Sols**. Ardon, v. 3, n. 4, p. 279-296, 1996.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 3, p. 651-666, fev. 2007.

BORTOLUZZI, E. C. et al. Contaminação de águas superficiais por agrotóxicos em função do uso do solo numa microbacia hidrográfica de Agudo, RS. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**. Campina Grande, v. 10, n. 4, p. 881 - 887, 2006.

BOUFLEUER, É. M. S. et al. Avaliação da mortalidade e reprodução de *Daphnia magna* submetida ao herbicida glifosato. **Acta Iguazu**. Cascavel, v. 5, p. 25 – 33, 2016.

BRAGA, J. R. M.; LOPES, D. M. Citotoxicidade e genotoxicidade da água do rio Subaé (Humildes, Bahia, Brasil) usando *Allium cepa* L. como bioindicador. **Revista Ambiente e Água**. Taubaté, v. 10, n. 1, jan./mar. 2015.

BRAGA, B. et al. **Introdução a Engenharia Ambiental**. São Paulo: Prentice Hall, 2002.

BRANDÃO, C. J. et. al. (Org.). **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. São Paulo: Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB); Brasília: Agência Nacional da Águas (ANA), 2011.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução Nº 357**, de 17 de Março de 2005. Brasília, DF, 2005.

BRASIL. **Constituição da República Federativa do Brasil** de 05 de outubro de 1988. Brasília, DF, 1988.

BRASIL. **Lei Nº 7.802** de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, jul. 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria de Consolidação Nº 05**, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Diário Oficial da União, Brasília, DF 2017.

BRITO, N. M. et al. Risco de contaminação de águas por pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros: análise preliminar. Curitiba. **Pesticidas: Riscos Ecotoxicológicos e Meio Ambiente**, v. 11, p. 93 – 104. jan./dez., 2001.

CARNEIRO, F. F. et al. (Org.). **Dossiê ABRASCO**: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. p. 624. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015.

CEQUINEL, J. C.; RODRIGO, L. C. P. (Org.). **Intoxicações agudas por agrotóxicos**: atendimento inicial do paciente intoxicado. Paraná, 2018.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Poluição das águas subterrâneas**. 2019. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/aguas-subterraneas/informacoes-basicas/poluicao-das-aguas-subterraneas/>>. Acesso em: 20 nov. 2019.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Toxicidade e genotoxicidade de água intersticial proveniente de sedimento na Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos do Alto Tietê (UGRHI 6)**: Relatório Final. São Paulo: jul. 2017.

CHAIM, A.; FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. **Manejo de agrotóxico e qualidade ambiental**: manual técnico. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999.

CHAVES, M. J. S. **Validação de método analítico para determinação de 2, 4 D em água natural superficial e avaliação da toxicidade deste herbicida e seu principal metabólito**. 2017. 47 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2017.

CODETER - COLEGIADO DE DESENVOLVIMENTO TERRITORIAL DAS MISSÕES. **Plano territorial de desenvolvimento sustentável**: PTDRS – Território das missões. Santo Ângelo, 2006.

COREDE - CONSELHO REGIONAL DE DESENVOLVIMENTO DAS MISSÕES. **Planejamento Estratégico Regional**. Santo Ângelo, 2009.

COSTA, A. M.; RIZZOTTO, M. L. F.; LOBATO, L. V. C. A questão dos agrotóxicos rompe os limites da ética da preservação da saúde e da vida. **Saúde Debate**. Rio de Janeiro, v. 42, n. 117, p. 346 – 353, abr./jun. 2018.

COSTA, L. G. Efeitos tóxicos dos praguicidas In: KLAASSEN, C. D.; WATKINS III, J. B. **Fundamentos em toxicologia**: de Casarett e Doull. 2. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012. cap. 22, p. 312 – 323.

CUSTÓDIO, E.; LLAMAS, M. R. Hidrologia Subterrânea. 2 ed. Barcelona: Omega, 1996.

DALLEGRAVE, E. Toxicologia Clínica: Aspectos Teórico-Práticos. Porto Alegre: UFRGS, 2006. p. 44 – 61.

DI GIULIO, R. T.; NEWMAN, M. C. Ecotoxicologia. In: KLAASSEN, C. D.; WATKINS III, J. B. **Fundamentos em toxicologia**: de Casarett e Doull. 2. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012. cap. 29, p. 391 – 399.

DÖRR, F. et al. Toxicologia ambiental. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. (Ed.). **Fundamentos de toxicologia ambiental**. 4. ed. São Paulo: Atheneu editora, 2014. cap. 2, p. 135 – 223.

EBERT, D. Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in Daphnia. Bethesda: National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology. 2005

FEIX, R. D.; LEUSIN JÚNIOR, S.; AGRANONIK, C. **Painel do Agronegócio no Rio Grande do Sul - 2016**. Porto Alegre: FEE, 2016.

FERNANDES NETO, M. L. **Norma Brasileira de Potabilidade de Água: Análise dos parâmetros agrotóxicos numa abordagem de avaliação de risco**. 2010. 169 p. Tese (Doutorado em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2010.

FERREIRA, M. M.; FERNANDES B.; CURI, N. Influência da mineralogia da fração argila nas propriedades físicas de latossolos da região sudeste do Brasil. **R. Bras. Lavras**, v. 23, p. 515 – 524, 1999.

FIRBAS, P.; AMON, T. Chromosome damage studies in the onion plant *Allium cepa* L. **Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics**. Florença, v. 67, n. 1, p. 25-35, mar., 2014.

FISKESJÖ, G. The *Allium* teste as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Lund, n. 102, p. 99-112, 1985.

FOSTER, S. et al. **Proteção da qualidade da água subterrânea: um guia para empresas de abastecimento de água, órgãos municipais e agências ambientais (tradução)**. The World Bank: Washington, 2002.

FREIRE, P. F. Avaliação toxicológica de dendrímeros de poli (amidoamina) de terceira geração (G3) usando o teste *Allium cepa*. **Ciência do Meio Ambiente Total**. p. 899 – 903, set., 2016.

GRANT, W. F. Chromosome Aberration Assays in *Allium*. **Mutation Research**, Orlando, v. 99, n.3, p. 273 -291, Nov. 1982.

HELLER, L. Abastecimento de água, sociedade e ambiente. In: HELLER, L.; PÁDUA, V. L. (Org.). **Abastecimento de água para consumo humano**. Belo Horizonte: UFMG, 2006. cap. 1, p 29 – 63. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=XFnnhzqetCoC&oi=fnd&pg=PA29&dq=%C3%A1gua+de+abastecimento&ots=Hx4xv971gp&sig=nrygObIWyuWbAOMUnc8vn8uCegU#v=onepage&q&f=false>>. Acesso em 07 fev. 2019.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Avaliação do potencial de periculosidade ambiental de agrotóxicos e afins**. 2018. Disponível em: < <https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/182-quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/1156-ppa>>. Acesso em: 09 mar. 2019.

INMETRO – INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **Orientação sobre Validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008- Revisão Julho, 2018.

ISO – International Organization for Standardization. ISO 6.341: **Water quality -- Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test.** 2012.

JARDIM, I. C. S. F. Extração em fase sólida: fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas. **Scientia Chromatographica.** São Paulo, p. 13-25, v. 2, n.1, 2010.

KER, J. C. Latossolos do Brasil: Uma revisão. **Geonomos.** Viçosa, v. 5, p. 17 - 40, 1998.

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

KRÜGER, R. A. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa*.** 2009. 43 p. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental) – Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2009.

LEBLANC, G. A.; BUCHWALTER, D. B. Basics of Environmental Toxicology. In: **Textbook of Modern Toxicology.** 3. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004, cap. 25.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research.** v. 682, p. 71-81, 2009.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida.** 1. ed. Rio de Janeiro: AS-PTA, 2011.

MANRIQUE, W. G. **Toxicidade aguda e risco ecotoxicológico do fipronil para o guaru (*Poecilia reticulata*) e dissipação no ambiente aquático.** 2009. 56 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

NETO, M. L. F.; SARCINELLI, P. N. Agrotóxicos em água para consumo humano: uma abordagem de avaliação de risco e contribuição ao processo de atualização da legislação brasileira. **Eng. Sanit. Ambient.** v. 14, n. 1, p. 69 – 78, jan./mar. 2009.

OLIVEIRA, D. **Toxicidade multigeracional do fipronil para *Folsomia cándida* em solo natural tropical.** 2017. 65 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia) – Faculdade de Tecnologia, Universidade Estadual de Campinas, Limeira, 2017.

OPAS/OMS – ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Representação do Brasil. **Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos.** Brasília, 1996.

PÁDUA, V. L.; FERREIRA, A. C. S. Qualidade da água para consumo humano. In: HELLER, L.; PÁDUA, V. L. (Org.). **Abastecimento de água para consumo humano.** Belo Horizonte: UFMG, 2006. cap. 4, p 153 – 199. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=XFnnhzqetCoC&oi=fnd&pg=PA29&dq=%C3%A1gua+de+abastecimento&ots=Hx4xv971gp&sig=nrygObIWyuWbAOMUnc8vn8uCegU#v=onepage&q&f=false>>. Acesso em: 07 fev. 2019.

PALMEIRA, I. S. et al. Avaliação de agrotóxicos em água para consumo humano: estratégias analíticas para o monitoramento e aspectos regulatórios. **Revista Processos Químicos**. v. 12, n. 23, p. 103-105, jan./jun. 2018.

PEREIRA, J. P. **Espacialização do uso de agrotóxico por Região de Saúde no RS**. 2014. 121 p. Monografia (Curso de Geografia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, 2014.

PHILIPPI JR., A.; MARTINS, G. Águas de abastecimento. In: PHILIPPI JR., A. (Ed.). **Saneamento, Saúde e Ambiente: fundamentos para um desenvolvimento sustentável**. Barueri: Manole, 2005. cap. 5, p. 117 – 127.

PHILIPPI JR., A.; SILVEIRA, V. F. Controle da qualidade das águas. In: PHILIPPI JR., A. (Ed.). **Saneamento, Saúde e Ambiente: fundamentos para um desenvolvimento sustentável**. Barueri: Manole, 2005. cap. 11, p. 415 – 437.

PIERCE, B. A. **Genética: um enfoque conceitual**. 5. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

RIBEIRO, M. L. et al. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. **Química Nova**. . São Paulo: v. 30, n. 3, Mai/Jun, 2007.

RIO GRANDE DO SUL. **Perfil Socioeconômico COREDE** - Região das Missões. Porto Alegre, nov. 2015. Disponível em: <<https://planejamento.rs.gov.br/upload/arquivos/201603/28140705-perfis-regionais-2015-missoes.pdf>> Acesso em: 09 nov. 2019.

RIO GRANDE DO SUL. **RESOLUÇÃO Nº 555** de 12 de setembro de 2012. Altera a configuração e a quantidade de Regiões de Saúde no Rio Grande do Sul, e institui as Comissões Intergestores Regionais – CIR. Porto Alegre: Assembleia Legislativa do Estado do Rio Grande do Sul. 2012.

RISSATO, S. R. et al. Determinação de pesticidas organoclorados em água de manancial, água potável e solo na região de Bauru (SP). **Química Nova**. Bauru, v. 27, n. 5, p. 739-743, 2004.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução à Química Ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

ROSA, A. V. **Agricultura e Meio Ambiente**. Ed. Atual, São Paulo, 95 p. 1998

SILVA, J. M. S.; SANTOS, J. R. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Oecol. Bras.** Rio de Janeiro, v. 11, n. 4, p. 565 – 573, 2007.

SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. **Princípios de toxicologia ambiental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2013.

SOARES, A. F. S. **Uso de agrotóxicos, contaminação de mananciais e análise da legislação pertinente: um estudo na região de Manhuaçu-MG**. 2011. 294 p. Tese. (Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SPADOTTO, C. A. et al. **Monitoramento do Risco Ambiental de Agrotóxicos: princípios e recomendações**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004

VEIGA, M. M. Agrotóxicos: eficiência econômica e injustiça socioambiental. **Ciência & Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, p. 145 – 152, 2007.

VEIGA, M. M. et al. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. **Cad. Saúde Pública**. Rio de Janeiro, p. 2391 – 2399, nov. 2006.

**APÊNDICE A – RESULTADOS DA ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DA ÁGUA DE UM POÇO SUBTERRÂNEO DE ABASTECIMENTO PÚBLICO**

<b>Dados da amostra</b>					
	<b>Tipo de amostra</b>	<b>Apresentação</b>	<b>Acondicionamento</b>	<b>Data da coleta</b>	<b>Chuva nas últimas 24 horas</b>
<b>Julho</b>	Água tratada	600 mL	Gelo Reciclado	11/07/2019	Não
<b>Outubro</b>	Água tratada	600 mL	Gelo Reciclado	16/10/2019	Não
<b>Resultado das análises</b>					
	<b>Físico-química: Fluoreto (A)</b>	<b>Microbiológica: Coliformes totais (B)</b>	<b>Microbiológica: <i>Escherichia coli</i> (B)</b>	<b>Organoléptica: Turbides (C)</b>	<b>Análise de campo: Cloro Residual Livre</b>
<b>Julho</b>	0,2	Presença	Ausência	0,3 uT	0,51 mg L <sup>-1</sup>
<b>Outubro</b>	0,2	Presença	Presença	0,6 uT	0,23 mg L <sup>-1</sup>

Nota: (A) Referência: Portaria da Consolidação Nº 05/2017, VMP: 1,5 mg L<sup>-1</sup>. (B) Referência: Portaria da Consolidação Nº 05/2017, VMP: Ausência em 100 mL. (C) Referência: Portaria da Consolidação Nº 05/2017, VMP: 0,6 uT.

Fonte: Secretaria de Saúde de um município da Região das Missões/RS, 2019.