



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

MAYARA DO NASCIMENTO

**QUALIDADE TOXICOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE POÇOS
ARTESIANOS DO MUNICÍPIO DE REALEZA PARANÁ**

REALEZA – PR

2019

MAYARA NASCIMENTO

**QUALIDADE TOXICOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE POÇOS
ARTESIANOS DO MUNICIPIO DE REALEZA PARANÁ**

Projeto de pesquisa apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientadora: Professora Doutora Izabel Aparecida Soares.

REALEZA – PR

2019

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS

Nascimento, Mayara do
QUALIDADE TOXICOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE
POÇOS ARTESIANOS DO MUNICÍPIO DE REALEZA PARANÁ / Mayara
do Nascimento. -- 2019.
12 f.:il.

Orientadora: DOUTORA Izabel Aparecida Soares.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Ciências Biológicas Licenciatura,
Realeza, PR , 2019.

1. Biomonitoramento. 2. Mutagênese ambiental. 3.
Sistema Allium cepa. I. Soares, Izabel Aparecida,
orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III.
Título.

Mayara do Nascimento

**QUALIDADE TOXICOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE
POÇOS ARTESIANOS DO MUNICÍPIO DE REALEZA PARANÁ.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas - Licenciatura da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza - PR, como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof^a Dra. Izabel Aparecida Soares

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 20/11/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Carvalho Moura (UFFS)

Prof. Ma. Silvana Damin (UFFS)

Profa. Dra Izabel Aparecida Soares- UFFS

QUALIDADE TOXICOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE POÇOS ARTESIANOS DO MUNICÍPIO DE REALEZA PARANÁ

RESUMO

O município de Realeza, está localizado no sudoeste do Paraná, grande parte da população faz uso da água de poços artesianos. Desta forma, este trabalho teve como objetivo analisar a citogenotoxicidade das águas de poços artesianos rural e urbanos no município de Realeza - PR, por meio da utilização do sistema *Allium cepa*. Para a realização das análises foram feitas coleta de água de poços artesianos, estes escolhidos aleatoriamente, seguindo a listagem de cadastro presente na Prefeitura/Vigilância Sanitária, e amostras foram coletadas de três poços na zona urbana e três na zona rural do município. Os bulbos de *Allium cepa* foram expostos às amostras de água coletadas em triplicata, com controle positivo em água destilada, e controle negativo em solução aquosa de sulfato de cobre 0,0006% por 72 horas, em seguida, foram retiradas as raízes com a coifa, com um tamanho de aproximadamente 2 cm de comprimento. Posteriormente, os meristemas radiculares coletados, foram expostos ao fixador Carnoy por 24 horas, lavadas e reidratadas, foi confeccionado as lamínas, expondo estas a solução de Orceína aceto-clorídrica, aquecidas e postas para descansar. Após coloração, ocorreu à separação das regiões meristemáticas das raízes sobre a lâmina, coberta com uma ou duas gotas de ácido acético. Foram observadas alterações nos valores de Índice Mitótico e Alterações Cromossômicas. Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística pelo teste de Qui Quadrado com confiabilidade de 5%. Os resultados sugerem que a água dos poços artesianos tem potencial para causar danos no genoma de organismos eucariotos.

Palavras-chave: Biomonitoramento. Mutagênese ambiental. Sistema *Allium cepa*.

TOXICOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF WATER FROM ARTISIAN WELLS IN THE CITY OF REALEZA PARANÁ

ABSTRACT

The municipality of Realeza is located in southwestern Paraná, a large part of the population makes use of water from artesian wells. Thus, this work aimed to analyze the cytogenotoxicity of water from rural and urban artesian wells in the municipality of Realeza - PR, using the *Allium cepa* system. To perform the analyzes, water was collected from artesian wells, which were randomly chosen, following the list of records present in the City Hall / Sanitary Surveillance, and samples were collected from three wells in the urban area and three in the rural area of the municipality. *Allium cepa* bulbs were exposed to water samples collected in triplicate, with positive control in distilled water, and negative control in 0.0006% aqueous copper sulfate solution for 72 hours, then the roots were removed with the hood. , with a size of approximately 2 cm in length. Subsequently, the collected root meristems were exposed to the Carnoy fixative for 24 hours, washed and rehydrated, the slides were prepared and exposed to the Aceto-hydrochloric Orcein solution, heated and put to rest. After staining, the meristematic regions of the roots were separated on the lamina, covered with one or two drops of acetic acid. Changes in Mitotic Index and Chromosomal Changes were observed. The obtained data were submitted to statistical analysis by chi-square test test with reliability of 5%.The results suggest that water from artesian wells has the potential to cause damage to the genome of eukaryotic organisms.

Key-words: Biomonitoring. Environmental mutagenesis. *Allium cepa* system.

1. INTRODUÇÃO

Os recursos hídricos são fundamentais para um ecossistema funcional, além de prover alimentação, abastecimento e habitat, são fonte inerente para a sobrevivência de todos os seres vivos.

Com o passar do tempo, a água vem se tornando cada vez mais um recurso indispensável para a sobrevivência humana, isso por sua vez, não significa que as ações humanas de contaminação ou recuperação desta, tenham evoluídos na mesma significância. Sua degradação nas últimas décadas por utilização desenfreada de agrotóxicos, utensílios químicos, além de descarte dejetos oriundos do saneamento, tem desencadeado uma vertente de pesquisas para analisar assim sua qualidade e potenciais toxigênicos.

Faz-se relevante então o conhecimento sobre a toxicidade das águas, sejam elas as utilizadas por seres humanos ou não é efeitos prejudiciais aos organismos vivos e como são expressos os seus efeitos (CUNHA, 2011).

A desordem da qualidade da água para fins de abastecimento doméstico é consequente da poluição causada por diferentes fontes, tais como rejeitos domésticos, efluentes industriais e escoamento superficial urbano e agrícola. Outra fonte importante de contaminação das águas refere-se à poluição causada pelas atividades de pecuária em sistemas de confinamento, como a suinocultura, a pecuária de leite e a avicultura (BERTONCINI 2008). No Brasil, apenas 34,51% dos domicílios rurais estão ligados à rede de distribuição de água (com ou sem canalização interna), sendo que o restante (66,6% das residências) utiliza soluções alternativas e coletivas de abastecimento, como o uso de poços freáticos ou tubulares profundos e a coleta direta das nascentes de água (FUNASA, 2017).

Um sistema de análise ecotoxicológica, considerado o teste padrão para análise de toxicidade devido a sua fácil execução e rápida obtenção de resultados, é o sistema de teste com *Allium cepa*, e é indicado por diversos autores, como Arraes e Longhin (2012), que relatam que com esse teste pode-se avaliar a contaminação por substâncias químicas de um ecossistema aquático. Nesta avaliação a indicação da toxicidade é observada pelas alterações nos cromossomos, que são observadas com a confecção e análise de lâminas em microscópio óptico.

Outra análise que pode ser feita ainda com esse teste é a quantificação da redução da divisão celular em meristema de raiz de *Allium cepa*, e este teste tem mostrando-se de grande relevância devido a sua eficiência na detecção de danos genéticos quanto à avaliação de aberrações cromossômicas induzidas por poluentes ambientais, e assim auxiliar a detectar a presença de substâncias tóxicas, citotóxicas e mutagênicas no meio ambiente (MATSUMOTO et al., 2006).

A qualidade microbiológica é uma das principais características da água de consumo, principalmente por que a mesma está diretamente ligada com doenças de origem hídrica, estas são aquelas em que a água atua como veículo, transportando o agente infeccioso até a fonte de consumo (CAMPOS, 2008).

A água potável não deve conter micro-organismos patogênicos e deve estar livre de bactérias indicadoras de contaminação fecal. Os indicadores de contaminação fecal, tradicionalmente aceitos, pertencem a um grupo de bactérias denominadas coliformes. O principal representante desse grupo de bactérias chama se *Escherichia coli*. O grupo dos coliformes totais é composto por bacilos Gram-negativos não esporulados pertencentes à família Enterobacteriaceae, que fermentam lactose com formação de gás quando incubados à 37°C por 24-48 horas e seus principais representantes são as bactérias dos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Já os coliformes termotolerantes são aqueles coliformes totais que apresentam a capacidade de continuar fermentando a lactose, com formação de gás, em temperatura de 44-45 °C em 24 horas, sendo a bactéria *Escherichia coli* uma representante

desse grupo. Além disso, essa bactéria pode ser utilizada para indicar uma possível contaminação fecal da água, pois *Escherichia coli* é um micro-organismo encontrado na microbiota intestinal de animais (FERNANDEZ.; SANTOS,2007). Os padrões apropriados da qualidade da água destinada ao consumo humano proveniente de sistema e solução alternativa de abastecimento de água são estabelecidos no Brasil pela Portaria nº 2914 de 12 de Dezembro de 2011 do Ministério da Saúde, a qual define que a água potável deve estar em conformidade com padrão microbiológico, e deve ser livre dos coliformes termotolerantes (BRASIL, 2011).

O município de Realeza está localizado na região sudoeste do estado do Paraná, conta segundo o último censo com 16.338 habitantes (IBGE 2016), sua economia é dividida entre agricultura, agropecuária indústria e comércio em geral. O município é banhado pelo Rio Iguaçu, mas utiliza a água do Rio Sarandi para abastecimento, mas grande parte faz uso de água proveniente de poços artesianos, estes distribuídos tanto em zona urbana quanto zona rural.

Segundo Fagundes e Andrade (2015), poço artesiano assim denominado quando as águas fluem naturalmente do solo, num aquífero confinado, sem a necessidade de bombeamento. É um poço tubular profundo cuja pressão da água é suficiente para a sua subida à superfície, necessitando a instalação de equipamento na boca do tubo para controlar a saída da água, a sua profundidade é maior que a de um poço convencional e em geral, sua utilização normal para uso residencial, as águas são captadas através de canos.

Desta forma, o presente trabalho visa analisar a citogenotoxicidade das águas de poços artesianos rural e urbanos no município de Realeza - PR, por meio da utilização do sistema *Allium cepa*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de água de poços artesianos no município de Realeza, localizado no sudoeste do Paraná. Os poços artesianos foram denominados como P1, (Benfil), P2 (Seminário), P3 (Maximino), P4 (Flor da Serra), P5 (Sertaneja) e P6 (Vila Nova), sendo os três primeiros poços situados na zona urbana e os três últimos na zona rural do município.

O período de coleta ocorreu entre os meses de junho e julho do ano 2018, não ocorreu chuva nas 48 horas antes da coleta, as amostras se tratavam de água não tratada, com temperatura de 18° C, e o ponto de coleta foi através de torneira após a reservação.

Esses poços foram escolhidos aleatoriamente, seguindo a listagem de cadastro presente na Prefeitura/Vigilância Sanitária, e amostras foram coletadas de três poços na zona urbana e três na zona rural do município, sendo realizado a coleta acompanhado com a Vigilância Sanitária Municipal.

Os testes foram realizados no Laboratório de Microscopia da Universidade Federal da Fronteira Sul – *campus* Realeza-PR (UFFS) onde, as amostras após a sua coleta foram armazenadas em refrigeração, no mesmo local citado anteriormente. Para a análise microbiológica, foram testados pela Vigilância Sanitária Municipal, a qual disponibilizou posteriormente, os resultados obtidos para cada amostra.

Foi utilizado como indicador biológico a espécie *Allium cepa* da variedade comercial adquirida no comércio local. Os bulbos de *Allium cepa* foram expostos às amostras de água coletadas, colocando três bulbos para cada amostra, com controle positivo em água destilada, e controle negativo em solução aquosa de sulfato de cobre 0,0006% por 72 horas, em seguida, foram retiradas as raízes com a coifa, com um tamanho de aproximadamente 2 cm de comprimento (FISKEJO,1985).

Os meristemas radiculares após coletados, foram acondicionados em microtubos contendo fixador Carnoy por 24 horas. Posteriormente, as raízes foram lavadas em água e recuperado de sua hidratação normal, e em seguida confeccionar as lâminas, estas foram introduzidas na solução de Orceína aceto-clorídrica, aquecidas por três vezes consecutivas e

postas para descansar durante 30 minutos. Após coloração, ocorreu à separação das regiões meristemáticas das raízes as quais serão individualmente apoiadas sobre a lâmina, coberta com uma ou duas gotas de ácido acético. Em seguida, a análise foi realizada no microscópio óptico, para a contagem das células em divisão mitótica e avaliação de danos cromossômicos.

Segundo a Vigilância Sanitária, as análises para coliformes totais foi realizada utilizando o Método de tubos múltiplos, para cada amostragem foi realizado o Teste presuntivo utilizando 5 tubos de ensaio contendo caldo laurel sulfato triptose (Caldo LST) de concentração dupla e 10 tubos com caldo laurel sulfato triptose de concentração simples. Nos tubos contendo o caldo LST de concentração dupla foi inoculado 10 ml da amostra a ser analisada em diluição 1:1, dos outros 10 tubos com caldo LST de concentração simples em 5 foram inoculados 1 ml da amostra em diluição 1:10 e nos outros 5 foram inoculados 0,1 ml da amostra em diluição 1:100.

Os tubos foram colados na estufa bacteriana a 35 °C durante um período de 24/48 horas. Para os tubos positivos foram realizados o teste confirmativo, inoculando, com uma alça de platina, amostras desses tubos em meio contendo cultura de Verde Brillante Bile a 2%, que também foram colocados na estufa durante 24/48 horas. Através da contagem de tubos positivos nas diluições 1:1, 1:10 e 1:100 foi determinado o N.M.P (Número Mais Provável) / 100 ml de bactérias nas amostras. Os testes para coliformes termotolerantes, também foram realizados utilizando o Método de tubos múltiplos, onde amostras dos tubos positivos do Teste Presuntivo foram inoculados em tubos contendo Meio *Escherichia coli*. Os tubos foram deixados em banho maria a 44,5 °C durante 30 minutos, e após o período de tempo foi verificando a formação de gás, o que indica a existência de coliformes de origem fecal.

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram analisadas três mil células de cada amostra, controle positivo e controle negativo, sendo estabelecido número de células em interfase, fases da mitose, alterações cromossômicas, células portadoras de micronúcleos e quebra cromossômica.

A análise mutagênica constou da determinação do índice mitótico (IM), anomalias no ciclo mitótico e a presença de micronúcleos em 3000 células. O IM foi definido como o número de mitoses em 3000 células contadas, sendo analisada a presença de prófase, metáfases, anáfases e telófases.

O Índice Mitótico foi calculado da seguinte maneira: $IM = \frac{\text{número de células em divisão}}{\text{número total de células contadas}} \times 100$.

Condições Analisadas	Número de Células Analisadas	Células em Interfase					IM%
			P	M	A	T	
Controle	3.000	1245	879	437	341	80	57,9
P1	3000	1362	987	150	320	60	50,56
P2	3000	1417	915	167	312	53	48,23
P3	3000	1345	897	160	340	40	47,9
P4	3000	1597	769	139	271	10	39,63
P5	3000	1491	875	190	280	29	45,8
P6	3000	1579	993	154	126	30	43,43

Tabela 01: Valores dos Índices Mitóticos com os respectivos pontos de coleta.

Os dados observados referentes aos seis poços quanto ao seu IM respectivamente, se apresentam menores que o índice observado para o grupo controle, o que pode indicar que existe algum/alguns elemento/s presente nas águas dos poços que interfere no seu processo

mitótico, que se assemelha aos dados encontrados no trabalho desenvolvido por Oliveira, Voltolini e Barberio, (2011).

Para a análise do efeito genotóxico, foram observadas e contabilizadas as células portadoras de alterações cromossômicas, seguindo a fórmula: IAC (índice de alterações cromossômicas) = nº de células alteradas x 100/Total de células observadas.

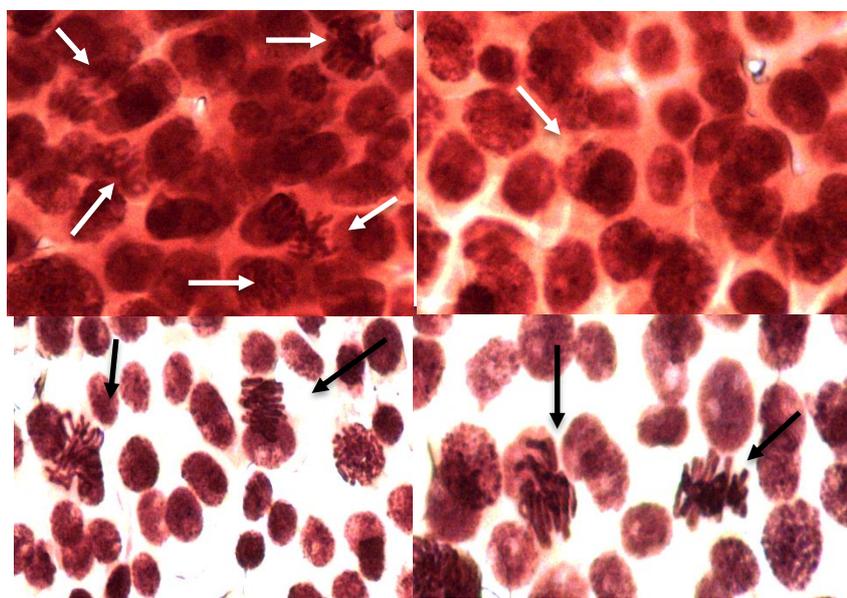
Condições analisadas	Número de células		
	alteradas	AC	IM
Controle	16	0,6	57,9
P1	110	3,66	50,56
P2	119	3,96	48,23
P3	134	4,46	47,9
P4	194	6,46	39,63
P5	140	4,66	45,8
P6	115	3,83	43,43

Tabela 02: Valores dos Índices De Alteração Cromossômica com os respectivos pontos de coleta.

Os dados observados referentes aos seis poços quanto ao seu IAC respectivamente, se apresentam maiores que o índice observado para o grupo controle, observando que o P2 obteve o maior índice entre os analisados. Ao avaliarmos a relação IAC com IM, podemos observarmos que justamente o P2 obteve o menor IM, já o P1 que teve o maior IM obteve o menor IAC.

Ao compararmos os poços situados na zona urbana com os situados em zona rural, podemos notar que o IAC é mais elevados na zona rural, isso pode ser um indicativo de interações de substâncias tóxicas, principalmente pelo uso grande de agrotóxicos nessa zona, esse dado vai de encontro com Gilman(2006), que demonstram que os agrotóxicos podem ser genotóxicos, acarretando em mutações de ponto e alterações cromossômicas, bem como serem influenciadores da fertilidade, composição genética e sobrevivência de populações.

Para análise do potencial mutagênico as anomalias do tipo frequência de micronúcleos, stickiness e outras não identificadas, indicaram a presença de contaminantes que promoveram mutagenicidade em células de *Allium cepa*. (Figura 1).



Legenda: As setas brancas e pretas estão apontadas para diferentes alterações encontradas durante a análise.

Figura 01-Alterações cromossômicas encontradas nas células das raízes submetidas água dos poços artesianos. M.O 100X.

A genotoxicidade pode ser identificada por alterações cromossômicas, resultando em anomalias nos cromossomos como: stickiness, micronúcleos, pontes cromossômicas, deformações do núcleo (FISKESJÖ, 1985). O primeiro mecanismo de ação dos agentes genotóxicos é promover lesões no DNA (OLIVEIRA et al., 2011), e ainda, segundo (MAJER et al., 2005) essas alterações podem provocar uma tentativa de reparo que nem sempre é bem-sucedida, fazendo com que as alterações se tornem irreversíveis, podendo trazer a morte celular.

A ação de agentes genotóxicos promovem lesões no DNA (oxidação e dimerização, adutos de DNA entre outras). Os danos como Micronúcleo (MN), pontes anafásicas, encontrados nesse estudo, são indicativos da presença de substâncias clastogênicas nas amostras testadas. Outros achados neste estudo foram da forma stickiness (Figura 1), que é determinada por falhas no processo de disjunção indicando a presença de substâncias aneugênicas, que interferem na formação do fuso acromático. Os eventos de c-mitoses se originam quando há inativação do fuso de modo que, os cromossomos ficam dispersos na célula. Muitas substâncias químicas como as que estão presentes em pesticidas, podem promover esses eventos.

As anormalidades nos cromossomos de células meristemáticas de *Allium cepa*, são eficientes parâmetros para a investigação de genotoxicidade. Vale ressaltar que, estudos com esse modelo biológico, mostram que nem sempre a toxicidade está correlacionada com a genotoxicidade, porque alterações relacionadas com o crescimento da raiz e I.M são parâmetros indicativos de citotoxicidade. Por outro lado, alterações como anomalias cromossômicas (stickiness, micronúcleos, pontes cromossômicas, entre outras), indicam genotoxicidade (FRISKESJÖ, 1985).

Como os poços estão localizados tanto na área urbana como rural, podemos inferir que os contaminantes mais prováveis sejam de origem agrícola e resíduos domésticos.

De maneira geral, a genotoxicidade está relacionada com eventos de poluição ambiental e, estando todos os seres vivos em interação com o meio ambiente, os mesmos sofrem influência externas, propiciando modificações no material genético desses organismos. Desta forma, podemos sugerir que os organismos que vivem nas águas do Arroio ou fazem uso dele, estão expostos a sofrerem danos genotóxicos (KLAUCK et al., 2014).

A análise microbiológica obteve os seguintes resultados:

POÇO	COLIFORMES TOTAIS	<i>ESCHERICHIA COLI</i>
P1	PRESENTE	AUSENTE
P2	PRESENTE	AUSENTE
P3	PRESENTE	AUSENTE
P4	AUSENTE	AUSENTE
P5	AUSENTE	AUSENTE
P6	PRESENTE	AUSENTE

Tabela 03: Resultados da Análise Microbiológica das amostras de água coletadas, obtidos pela Vigilância Sanitária no município de Realeza-PR, e organizado pelas autoras.

Podemos verificar através desses dados, que grande parte dos poços possui contaminação por coliformes totais, isso pode significar que estas águas estejam sendo contaminadas pelos rejeitos domésticos, efluentes industriais e escoamento superficial urbano e agrícola, por infiltração, o que pode ser um risco a saúde das pessoas que consomem essa água diariamente, já que grande parte faz consumo direto não aplicando fervura e filtragem na água (GOMES,2005). Mas por outro lado, a ausência de *Escherichia Coli* nas amostras indica que a mesmas não possuem contaminação fecal, o que é um dado muito importante para a manutenção da saúde da população do município (YASUI,2015).

4. CONSIDERAÇÃO FINAL

Diante dos resultados obtidos através das análises das águas de poços, podemos concluir que, estas apresentam potencial genotóxico e citotóxicos para as células eucariontes, diante desses potenciais pode-se levantar indícios de presença de substâncias tóxicas que interferem em todo o ciclo celular e material genético dos seres expostos a essa água.

Perante a importância em manter esses recursos naturais, e pelo seu alto consumo de suas águas no município, se faz necessários estabelecer programas de biomonitoramento, de modo a auxiliar e contribuir com ações de manejo e proteção.

5. AGRADECIMENTO

À Vigilância Sanitária de Realeza –PR pela disposição em ajudar nesse trabalho, tanto na parte da coleta das águas quanto na disponibilização dos dados da análise microbiológica.

6. REFERÊNCIAS

ARRAES A.I.O.M., LONGHIN S.R. Otimização de ensaio de toxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* como organismo teste. **Encyclopedia Biosphere**. 2012, 8(14):1958.

BRASIL. Portaria 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, DF: Governo Federal, 2011.

CAMPOS, A. GIARETTA, N. L.ROTTA, M. BECEGATO, V. MACHADO, W. C.P. ONOFRE, S. B. Caracterização Microbiológica da água do meio rural da região sudoeste do Paraná. Revista Eletrônica do Curso de Geografia do Campus Jatáí - UFG - Geoambiente On-Line. Jatáí, n.11, p.206-220, 2008.

CUNHA, B. M.; **Avaliação ecotoxicológica de distintos tipos de efluentes mediante ensaio de toxicidade aguda utilizando artemia salina e lactuca sativa**. Monografia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul, 2011.

DANELUZ, D.; TESSARO, D. Padrão físico-químico e microbiológico da água de nascentes e poços rasos de propriedades rurais da região sudoeste do Paraná. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.82 p. 1-5, 2015.

FAGUNDES, J. P. R.; ANDRADE, A. L. A. **POÇOS ARTESIANOS: Uma Reflexão Na Perspectiva Da Sustentabilidade**. Disponível em http://www.unipacto.com.br/revista2/arquivos_pdf_revista/revista2015/18.pdf. Acessado em dez.de 2017.

FERNANDEZ, A. T.; SANTOS, V. C. dos. Avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água de abastecimento escolar, no município de Silva Jardim, RJ. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v. 21, n. 154, p. 93-98, 2007.

FISKEJO, G. The Allium test as a standart in environmental monitoring. *Hereditas*, Lund, v.102, p.99-112, 1985.

FISKESJÖ, G. The Allium test – An alternative in environmental studies – the relative toxicity of metal-ions. *Mutation Research*, v.197, p.243-260, 1988.

FISKESJO, G., 1993, The Allium test – a potential standard for the assessment of environmental toxicity. In: J. W. Gorsuch (ed.), ASTM (American Society of testing Materials) special technical publication 1216. Environ. Toxicol. Risk Assessment., pp. 331-345.

GILMAN, Goodman. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: MacGrawHill, 2006.

GOMES, P. C. F. de L.; CAMPOS, J. J.; MENEZES, M. de; VEIGA, S. M. O. M. Análise IBGE - Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística. **Paraná: Realeza: infográficos: dados gerais do município**. Disponível em < <https://cidades.ibge.gov.br/painel/painel.php?lang=&codmun=412140&search=parana|realeza|info%20graficos:-dados-gerais-do-munic%20pio> >. Acesso em out. de 2019.

KLAUCK, R. C.; RODRIGUES, S. A. M.; SILVA, B. L. Toxicological evaluation of landfill leachate using plant (*Allium cepa*) and fish (*Leporinus obtusidens*) bioassays. Waste Manag Res, 2013. The online version of this article can be found at: <http://wmr.sagepub.com/content/31/11/1148>

MAJER, B. J.; GRUMMT, T.;UHL, M.; KNASMÜLLER, S. Use of plant bioassays of the detection of genotoxins in the aquatic environment. Acta Hydrochimica Hydrobiologica, weinheim, v. 33, n. 1, p. 45-55, 2005.

MATSUMOTO, S.T.; MANTOVANI, M.S.; MALAGUTTI, M.I.A.; DIAS, A.L.; FONSECA, I.C.; MARIN-MORALES, M.A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, p.148- 158, 2006.

MPF- Ministério Público Federal. **Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011**: Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em < <http://www.mpf.mp.br/atuacao-tematica/ccr4/dados-da-atuacao/projetos/qualidade-da-agua/legislacao/portarias/portaria-no-2914-de-12-de-dezembro-de-2011/view> >. Acesso em out. de 2019.

OLIVEIRA, L. M.; VOLTOLINI, J. C.; BARBÉRIO, A. Potencial mutagênico dos poluentes do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste *Allium cepa*. **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 6, n. 1, p. 90-103, 2011.doi:10.4136/ambi-agua.176

YASUI, J.C. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE ÁGUA EM RESIDÊNCIAS LOCALIZADAS NO MUNICÍPIO DE PACAEMBU/SP. Campo Mourão, 2015.

ANEXO

INSTRUÇÕES PARA FORMATAÇÃO SEGUNDO A REVISTA AMBIENTE E ÁGUA:

Formatação do texto:

O artigo deverá ser submetido em formato texto (MS Office), não restringido por password para permitir edição. A publicação final será em pdf, html, epub e xml. O artigo deve ser submetido com as seguintes características:

- **Linguagem:** Inglês de qualidade (EUA ou RU)
- **Tamanho da página:** equivalente ao tamanho do papel A4 (210 x 297 mm);
- **Margens (superior, inferior, esquerda e direita):** 2,5 cm;
- **Fonte:** Times New Roman, 12, espaço entrelinhas simples, em uma única coluna, com parágrafos alinhados à esquerda e à direita;
- **Tamanho:** os artigos serão analisados com base na qualidade e contribuição científica. Deverão ter no máximo de 10 páginas incluindo tabelas e figuras, que não devem ultrapassar o número de cinco (figuras mais tabelas). Nosso custo editorial é proporcional ao tamanho do artigo. Assim, artigos maiores são possíveis, porém, páginas adicionais a 10 serão cobradas, contadas após layout padrão da revista e após aceitação do artigo para publicação.
- Nos artigos em inglês, o título, resumo e palavras-chave deverão ser escritos também em português, sempre em ordem alfabética independente do idioma.

Primeira página:

Deverá conter apenas o título do trabalho, resumo e as palavras-chave, em letras minúsculas, separadas por “vírgula” e um ponto final após a última palavra-chave. Não deverá conter o nome dos autores, afiliação ou e-mail.

Tabelas e Figuras:

Deverão ser numeradas com algarismos arábicos consecutivos, indicados no texto e anexadas no local do artigo mais próximo e depois da chamada. Os títulos das figuras deverão aparecer na sua parte inferior, antecidos da palavra **Figura** (notar a primeira letra maiúscula e em negrito), um espaço, mais o seu número de ordem em negrito, um ponto e espaço de um caractere, fonte 11, justificado, tabulado nos limites da figura, observando que o título da figura logo abaixo dela, não é em negrito. Os títulos das tabelas deverão aparecer na parte superior e antecidos pela palavra **Tabela** (notar a primeira letra maiúscula e em negrito), um espaço, mais o seu número de ordem (**em negrito**), um ponto e espaço de um caractere, fonte 11, justificado. Nas figuras e tabelas, quando houver uma fonte de referência, a palavra “Fonte:” vem na parte inferior, seguida da referência, fonte 10, justificado. Títulos de tabelas, figuras e a fonte terminam sempre com ponto final. As figuras poderão ser coloridas, porém com boa resolução (300 dpi), contudo, os autores devem explorar todas as possibilidades para que o tamanho do arquivo não fique grande, mas preservando a qualidade das figuras.

As tabelas devem ser sempre inseridas **como texto**, jamais como figuras/imagens e não usar espaços ou “tabs” para formatar e sim tamanho das células/colunas/linhas. Todas as colunas devem ter um título.

Figuras devem ter fontes legíveis, atentar para o tamanho do texto, alta resolução e inseridas como objeto quando se tratar de gráficos. Figuras não devem ter título na parte superior, só a legenda abaixo dela. Certifique-se de que elas sejam editáveis.

É possível inserir imagens em documentos sem deixar os arquivos grandes, basta seguir as instruções abaixo:

Utilize arquivos de imagem em formato JPG, PNG ou GIF. Estes arquivos costumam ter bons padrões de qualidade e não consomem muito espaço em disco e memória;

Para inserir as figuras, não use Copiar/Colar (ou Ctrl+C/Ctrl+V), salve em seu computador as imagens que deseja inserir no documento;

Em seguida, acesse a opção de menu disponível para inserção de imagem do seu editor de texto (Ex: no MSWord e selecione a opção Inserir/Figura/do arquivo) e localize a imagem que deseja inserir no documento. Para finalizar, insira a imagem selecionada no texto.

Figuras que contêm mais de um gráfico ou imagem, designá-los com letras maiúsculas (sem parênteses e sem pontos após as letras) no canto superior esquerdo de cada painel, se possível. Para as equações, usar o editor Equation do Microsoft Word ou MathType. Devem ser numeradas com a numeração entre parênteses e chamadas previamente no texto.

Envie as tabelas separadamente em Excel.

Nota importante dos manuscritos em inglês: Todos os manuscritos escritos devem ser submetidos em inglês a partir de janeiro de 2017. Autores que não têm Inglês como primeira língua, devem ter seus manuscritos revisados por um profissional com bom conhecimento de Inglês para revisão do texto (vocabulário, gramática e sintaxe). As submissões poderão ser rejeitadas com base na inadequação do texto, sem exame de mérito científico.

Estrutura do artigo:

O artigo em INGLÊS deverá seguir a seguinte sequência:

TÍTULO em inglês, 15, negrito, centralizado, primeira letra maiúscula, demais minúsculas (salvo nomes próprios); ABSTRACT 14, negrito alinhado à esquerda (seguido de três Keywords, 11, negrito alinhado à esquerda em ordem alfabética); TÍTULO DO ARTIGO em português, 15, negrito, centralizado, primeira letra maiúscula, demais minúsculas (salvo nomes próprios); RESUMO (seguido de três Palavras-chave 11, negrito alinhado à esquerda, em ordem alfabética); 1. INTRODUCTION (incluindo revisão de literatura); 2. MATERIALS AND METHODS; 3. RESULTS AND DISCUSSION; 4. CONCLUSIONS; 5.

ACKNOWLEDGEMENTS (se for o caso, deve incluir apenas o reconhecimento de agências de financiamento, explicitando o número do processo da agência apoiadora); e 6.

REFERENCES. Os títulos de 1 a 6 deverão ser 14, negrito alinhados à esquerda.

Consulte o "Formulário de Avaliação" (http://www.ambi-agua.net/seer/files/review_form.doc) para verificar o conteúdo esperado de cada seção.

Verifique os artigos já publicados para ver quais textos devem estar em negrito.

UNIDADES

Unidades de medida: use sistema internacional com espaço após o número, e.g. 10 m ou, por exemplo, 10 km h⁻¹, e não km/h. Observe a consistência toda vez que usar a mesma unidade.

- Verifique todos os símbolos Gregos e todas as figuras cuidadosamente.
- Escreva os números de um a nove por extenso, exceto se forem usados como unidades.
- Use um espaço entre unidades: g L⁻¹, e não g.L⁻¹, ou gL⁻¹ exceto % (e.g. 10%) ou oC (15oC).
- Use o formato 24-h para tempo, com quatro dígitos para horas e minutos: 08h00; 15h30.

- **Subtítulos:** quando se fizerem necessários, serão escritos com letras iniciais maiúsculas, antecidos de dois números arábicos colocados em posição à esquerda, separados e seguidos por ponto, 12, negrito, alinhados à esquerda.
- **Resumo:** deverá conter os objetivos, a metodologia, os resultados e as conclusões, devendo ser compostos de uma sequência corrente de frases em um único parágrafo e conter, **no máximo, 250 palavras.**
- **Citações:** no texto, as citações deverão seguir as recomendações da ABNT-NBR 10520 com as seguintes especificidades:

Colocar o sobrenome do autor citado com apenas a primeira letra maiúscula, seguido do ano entre parênteses, quando o autor fizer parte do texto. Quando o autor não fizer parte do texto, colocar, entre parênteses, o sobrenome, seguido do ano separado por vírgula. Mais de um autor, separam-se os sobrenomes pela conjunção “e” Mais de dois autores, a expressão et al. é colocada após o primeiro nome, não em itálico.

Serão aceitas, preferencialmente, até 15 referências por artigo publicados recentemente na base SciELO (www.scielo.br) ou em revistas internacionais de alto impacto (níveis A/B do Qualis CAPES).

- **Exemplos de como citar:**

Jones (2015), Jones e Smith (2009) ou (Jones, 2015; Jones e Smith, 2009), dependendo da construção da sentença. Mais de dois autores: Jones et al. (2014) ou (Jones et al., 2014). Comunicações pessoais ou dados não publicados não devem ser incluídos na lista de referências; assim como Apud (citação indireta) não será aceita.

- **Referências:**

Sempre que a referência tiver doi, citá-lo no final da referência.

Seguirão as recomendações da ABNT-NBR 6023, com especificidades da revista.

- **Exemplos de como escrever as referências bibliográficas:**

- **Livros:**

FALKNER, E. **Aerial Mapping: methods and applications.** Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. 322 p.

- **Capítulos de livros:**

WEBB, H. Creation of digital terrain models using analytical photogrammetry and their use in civil engineering. In: **Terrain Modelling in Surveying and Civil Engineering.** New York: McGraw-Hill, 1991. p. 73-84.

- **Artigos em Periódicos Científicos:**

HADDAD, E.; SANTOS, C. L. dos; FRANCO Jr., R. S. Novas perspectivas sobre o Instituto da desapropriação: a proteção ambiental e sua valoração. **Fórum de direito urbano e ambiental**, Belo Horizonte, ano 6, n. 31, p. 17-25, jan./fev. 2007.

MEYER, M. P. Place of small-format aerial photography in resource surveys. **Journal of Forestry**, Washington, v. 80, n. 1, p. 15-17, 1982.

Observar que é importante identificar a cidade da edição e colocar um espaço entre as iniciais dos nomes.

- **Trabalhos apresentados em eventos (Impresso)** (devem ser evitados, se essenciais):

DAVIDSON, J. M.; RIZZO, D. M.; GARBELOTTO, M.; TJOSVOLD, S.; SLAUGHTER, G. W. *Phytophthora ramorum* and sudden oak death in California: II Transmission and survival. In: SYMPOSIUM ON OAK WOODLANDS: OAKS IN CALIFORNIA'S CHANGING LANDSCAPE, 5. 23-25 Oct. 2001, San Diego, **Proceedings...** Berkeley: USDA Forest Service, 2002. p. 741-749.

- **Trabalhos apresentados em eventos (meio eletrônico)** (devem ser evitados, se essenciais):

COOK, J. D.; FERDINAND, L. D. 2001. Geometric fidelity of Ikonos imagery. In: Annual Convention of American Society for Photogrammetry and Remote Sensing, 23-27 Apr., St. Louis. **Proceedings...** St. Louis: ASPRS, 2001. 1 CD-ROM.

- **Teses e Dissertações:** Procurar citar os artigos derivados de teses e dissertações em revistas científicas, se não foram ainda publicados e essenciais, use a forma:

AFFONSO, A. G. **Caracterização de fisionomias vegetais na Amazônia oriental através de videografia aerotransportada e imagens LANDSAT 7 ETM+**, 2003, 120f. Dissertação (Mestrado em Sensoriamento Remoto) - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, 2003.

Referências de sites na Internet (não devem ser citadas, se absolutamente essenciais):

DIAZ, H. F. Precipitation trends and water consumption in the southwestern United States. In: United States Geological Survey, 1997, Reston. **Web Conference...** Disponível em: <<http://geochange.er.usgs.gov/sw/changes/natural/diaz/>>. Acesso em: 15 julho 2014.