

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA

PRISCILA MARQUES DE MAIO LACERDA

**AVALIAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E ECOTOXICOLÓGICA DA ÁGUA
DE IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS EM UMA REGIÃO DE MANANCIAS DA GRANDE
SÃO PAULO.**

**SÃO PAULO
JULHO/2012**

PRISCILA MARQUES DE MAIO LACERDA

**AVALIAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E ECOTOXICOLÓGICA DA ÁGUA
DE IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS EM UMA REGIÃO DE MANANCIAIS DA GRANDE
SÃO PAULO.**

Dissertação apresentada como exigência parcial para obtenção do Título de Mestre em Tecnologias Ambientais no Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, no Programa de Mestrado em Tecnologia: Gestão, Desenvolvimento e Formação, sob orientação da Prof^a Dr^a Silvia Pierre Irazusta.

**SÃO PAULO
JULHO/2012**

L131a Lacerda, Priscila Marques de Maio
Avaliação física, química, microbiológica e ecotoxicológica da água de irrigação de hortaliças em uma região de mananciais da Grande São Paulo / Priscila Marques de Maio Lacerda. – São Paulo : CEETEPS, 2012.
109 f. : il.

Orientador: Profª Drª Silvia Pierre Irazusta.
Dissertação (Mestrado) – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, 2012.

1. Água de irrigação. 2. Contaminação antrópica. 3. Hortaliças. 4. Bioensaios. I. Irazusta, Silvia Pierre. II. Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza. III. Título.

PRISCILA MARQUES DE MAIO LACERDA

AVALIAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E ECOTOXICOLÓGICA DA ÁGUA DE
IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS EM UMA REGIÃO DE MANANCIAS DA GRANDE SÃO
PAULO.

PROFA. DRA. SILVIA PIERRE IRAZUSTA

PROFA. DRA. ELISABETH PELOSI TEIXEIRA

PROF. DR. GILSON ALVES QUINÁGLIA

São Paulo, 26 de Julho de 2012.

A Deus,

por ter me dado tanto nesta vida e por mais um sonho concretizado.

Ao meu esposo Flávio William,

que esteve presente em cada processo deste trabalho, inclusive sendo um importante suporte técnico nas coletas e viagens à Sorocaba.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Um trabalho como este não é fruto de uma ação individual, mas da ajuda de muitos colaboradores, que participaram de forma fundamental, para que essa obra fosse concluída. Por isso, deixo aqui os meus sinceros agradecimentos:

Ao Programa de Mestrado do Centro Estadual Paula Souza, pela oportunidade de realização deste curso.

À Prof^a Dr^a Silvia Pierre Irazusta pelo importante suporte dado na realização deste trabalho, pela competência e sobretudo, pela exigência.

Ao Prof. Dr. Dirceu Telles, por plantar o sonho e estimular o início deste estudo desde à especialização.

À minha mãe Mercês Maio, por sempre incentivar, estimular e investir em educação na minha vida.

Ao meu esposo Flávio William Lacerda, pelo carinho, força e apoio incondicional na execução deste trabalho.

A todos os professores do Programa de Mestrado do CEETEPS por compartilharem conosco suas experiências e conhecimentos.

À secretária Cleonice Silva, pela disponibilidade e vontade em sempre ajudar.

Às alunas Cláudia Sousa e Fernanda Ramires da Fatec Sorocaba, e tecnólogos Paulo Balsamo e Renata Nascimento pelo valioso auxílio na realização das análises ecotoxicológicas e microbiológicas.

Ao Laboratório de Química e Saneamento Ambiental da Fatec-SP pela oportunidade de realização das análises físicas e químicas, e à bióloga Ana Paula Silveira pela relevante ajuda na execução dessas análises.

Aos produtores agrícolas, por autorizarem as coletas das amostras de água em suas propriedades.

“Se fracassar, ao menos que fracasse ousando grandes feitos, de modo que a sua postura não seja nunca a dessas almas frias e tímidas que não conhecem nem a vitória nem a derrota”.

Theodore Roosevelt

RESUMO

LACERDA, P. M. M. **Avaliação físico-química, microbiológica e ecotoxicológica da água de irrigação de hortaliças, em uma região de mananciais da Grande São Paulo.** 109 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia) – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, São Paulo, 2012.

Diversos estudos apontam as hortaliças como veículos de disseminação de várias doenças. As águas superficiais utilizadas para a irrigação de hortaliças, principalmente nos cinturões verdes dos centros urbanos, estão, em geral, severamente contaminadas por esgotos domésticos e/ou industriais não tratados. Este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade da água de irrigação de hortaliças, do ponto de vista físico, químico, ecotoxicológico e microbiológico em uma região de mananciais da Grande São Paulo. Para este propósito, foram realizadas análises físicas, químicas e microbiológicas que foram comparadas aos valores de referência estabelecidos pela Resolução do CONAMA 357:2005 para águas de classe 1, que são destinadas à irrigação de hortaliças consumidas cruas. Para os testes ecotoxicológicos foram realizados bioensaios de toxicidade aguda e crônica com *Dugesia tigrina*, *Selenastrum capricornutum* e de geno/mutagenicidade com *Allium cepa*. Os resultados das análises físico-químicas mostraram alterações importantes, especialmente de oxigênio dissolvido, compatíveis com os achados microbiológicos que foram positivos para coliformes totais e coliformes fecais. Os dados ecotoxicológicos não apontaram toxicidade aguda em nenhuma das amostras. A resposta foi positiva para toxicidade crônica para planárias, em dois dos três pontos. Também foi constatado efeito genotóxico para *A. cepa*, em todas as amostras. Em conjunto, os dados apontaram para uma contaminação antrópica, muito provavelmente oriunda de despejos domésticos, não permitindo o enquadramento destas águas em classe 1. A análise de coliformes fecais revelou significativa prevalência de contaminação microbiológica, fora do padrão recomendado pela legislação CONAMA 357: 2005 e pela OMS, constituindo riscos à saúde dos consumidores.

Palavras-chave: água de irrigação; contaminação antrópica; hortaliças; bioensaios.

ABSTRACT

LACERDA, P. M. M. **Physical-chemical evaluation, microbiological and ecotoxicological of water irrigation of horticulture in a region of sources at Great Sao Paulo.** 109 f. Dissertation (Master degree in Technology) - Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, São Paulo, 2012.

Many studies showed the vegetable as way of dissemination of various diseases. The superficial water used for irrigation of the vegetables, especially in the green belts of urban centers are, in general, severely contaminated by domestic sewer and/or industrial not treated. This dissertation has the objective to evaluate the quality of water in irrigation of the vegetable, at the physical-chemical point of view, ecotoxicological and microbiological in a region of sources at Great Sao Paulo. For this purpose, were performed physical, chemical and microbiological analyzes were compared to reference values established by Resolution CONAMA 357:2005 for Class 1 waters, which are intended for irrigation of vegetables eaten raw. For the ecotoxicological tests were performed bioassays of acute and chronic planarians (*Dugesia tigrina*), algae (*Selenastrum capricornutum*) and geno / mutagenicity with onion (*Allium cepa*). The results of physicochemical analysis showed significant changes especially dissolved oxygen, consistent with the microbiological findings were positive for total coliforms and fecal coliforms. Ecotoxicological data did not show acute toxicity in the samples. The response was positive for chronic toxicity planarians in two of the three points. It was found genotoxic effect for *A. cepa* for all samples. Together, the data pointed to an anthropic contamination most likely originated from domestic effluents, not allowing the framing of these waters in a class 1. The analysis of fecal coliforms revealed a significant prevalence of microbiological contamination outside the standard recommended by the legislation CONAMA 357/05 and by WHO, constituting risks to consumers' health.

Key-words: water for irrigation; anthropic contamination; vegetables; bioassays.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Planária de água doce (<i>Dugesia Tigrina</i>) | 36 |
| Figura 2 - Alga <i>Selenastrum capricornutum</i> | 39 |
| Figura 3 - Aberrações Cromossômicas (AC) em células de <i>Allium cepa</i> | 41 |
| Figura 4 - Micronúcleos em células de <i>Allium cepa</i> | 43 |
| Figura 5 – Município de Itap. da Serra inserido na Sub-bacia Cotia-Guarapiranga . | 45 |
| Figura 6 - Pontos de amostragem situados em um trecho da bacia do rio Embu Mirim | 46 |
| Figura 7 - Ponto de amostragem 1 (P1) | 46 |
| Figura 8 - Ponto de amostragem 2 (P2) | 47 |
| Figura 9 - Ponto de amostragem 3 (P3) | 47 |
| Figura 10 - Comparação do índice pluviométrico anual de 2011 com a série histórica | 59 |
| Figura 11 - Ensaio de toxicidade crônica com <i>Selenastrum capricornutum</i> | 72 |
| Figura 12 - Porcentagem de micronúcleos (MN) e aberrações cromossômicas (AC) em células de <i>Allium cepa</i> | 73 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Associação entre os usos da água e os requisitos de qualidade na irrigação..... | 18 |
| Tabela 2 - Variação do O ₂ dissolvido em relação à temperatura | 22 |
| Tabela 3 - Possibilidades de uso de águas doces (classes 1 a 3) e salobras (classe 1) para irrigação | 27 |
| Tabela 4 - Valores de referência para águas de irrigação de hortaliças, | 49 |
| Tabela 5 - Resultados das análises dos parâmetros físicos e químicos | 56 |
| Tabela 6 - Determinação quantitativa de metais nos pontos de amostragem..... | 57 |
| Tabela 7 - Resultado dos testes de toxicidade aguda e crônica com as Planárias (<i>Dugesia tigrina</i>)..... | 70 |
| Tabela 8 - Análises microbiológicas qualitativas para coliformes totais e fecais | 82 |
| Tabela 9 - Número de coliformes termotolerantes nas amostras | 83 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

AC - Aberrações Cromossômicas

AFNOR - *Association Française de Normalisation*

APHA – *American Public Health Association*

APM - Área de Proteção aos Mananciais

APRM-G - Área de Proteção e Recuperação dos Mananciais da Bacia Hidrográfica do Guarapiranga

ASTM - *American Society for Testing and Materials*

AWWA - *American Water Works Association*

CE - Condutividade Elétrica

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

FAO - Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação

FATMA - Fundação do Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina

IAP - Instituto Ambiental do Paraná

IPCS - Programa Internacional de Segurança Química

IQA - Índice de qualidade da água

MN - Micronúcleo

NMP – Número mais provável

OD – Oxigênio Dissolvido

OMS – Organização Mundial da Saúde

REPLAN - Refinaria Petróleo de Paulínia

SMA – Secretaria do Meio Ambiente

UNEP - Programa Ambiental das Nações Unidas

UNT - Unidade Nefelométrica de Turbidez

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1.INTRODUÇÃO | 13 |
| 1.1 OBJETIVOS..... | 16 |
| 1.2 Objetivo Geral | 16 |
| 1.3 Objetivos Específicos..... | 16 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO..... | 17 |
| 2.1 Qualidade da Água | 17 |
| 2.2 Qualidade da Água na Irrigação..... | 18 |
| 2.2.1 Aspectos Físicos e Químicos | 19 |
| 2.2.2 Aspectos Biológicos e Sanitários..... | 26 |
| 2.2.3 Aspectos Ecotoxicológicos | 32 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 44 |
| 3.1 Caracterização da Área de Estudo..... | 44 |
| 3.2 Coletas..... | 48 |
| 3.3 Análises Físicas e Químicas | 48 |
| 3.4 Ensaios Ecotoxicológicos..... | 51 |
| 3.4.1 Bioensaios com <i>Dugesia tigrina</i> | 51 |
| 3.4.2 Toxicidade crônica com <i>Selenastrum capricornutum</i> | 52 |
| 3.4.3 Genotoxicidade e Mutagenicidade com <i>Allium cepa</i> | 53 |
| 3.5 Análises de Coliformes Totais e Termotolerantes | 54 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 55 |
| 4.1 Análises físicas e químicas | 55 |
| 4.1.1 Turbidez..... | 57 |
| 4.1.2 Cor | 58 |
| 4.1.3 Temperatura da Água e Ar | 60 |
| 4.1.4 Oxigênio Dissolvido (OD) | 61 |
| 4.1.5 pH | 62 |
| 4.1.6 Ferro Total | 63 |
| 4.1.7 Condutividade | 65 |
| 4.1.8 Determinação de Metais..... | 66 |
| 4.2 Análises Ecotoxicológicas..... | 67 |
| 4.2.1 Toxicidade Aguda e Crônica com <i>Dugesia tigrina</i> | 67 |

| | |
|--|----|
| 4.2.2 Toxicidade crônica com <i>Selenastrum capricornutum</i> | 70 |
| 4.2.3 Análise de Genotoxicidade e Mutagenicidade em <i>Allium cepa</i> | 72 |
| 4.3 Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes | 80 |
| 5. CONCLUSÕES | 88 |
| REFERÊNCIAS | 90 |

1. INTRODUÇÃO

As hortaliças são parte integrante da dieta da população mundial. A preocupação com a saúde e o conhecimento de que muitas espécies são excelentes fontes de vitaminas, sais minerais e substâncias antioxidantes e hipocalóricas, fez com que nos últimos dez anos, houvesse uma crescente demanda pelos vegetais verdes folhosos (TABAN e HALKMAN, 2011).

Apesar dos vários benefícios à saúde proporcionados por estes vegetais, diversos estudos realizados em vários países ao redor do mundo, inclusive no Brasil, apontam as hortaliças como veículos de disseminação de várias doenças, fato atribuído principalmente ao uso de águas de irrigação contaminadas (SIMÕES et al., 2001; MATTOS, 2003; FRANCO et al., 2006; MAZARI-HIRIART et al., 2008; TABAN e HALKMAN, 2011)

Marouelli e Silva (1998), afirmam que a quase totalidade das águas superficiais nos cinturões verdes dos grandes centros urbanos, estão severamente contaminadas por efluentes municipais não tratados e que, apesar do risco de transmissão de uma série de doenças ao homem, estas águas contaminadas têm sido utilizadas indiscriminadamente na irrigação. A contaminação de hortaliças não pode ser subestimada já que estes vegetais são vitais para a dieta humana por conterem componentes essenciais necessários ao corpo humano, tais como carboidratos, proteínas, vitaminas, minerais e também oligoelementos (ITANNA, 2002).

Riscos para a saúde pública decorrentes da utilização de águas residuais estão relacionados com a presença de microrganismos potencialmente patogênicos, substâncias químicas, orgânicas e inorgânicas e substâncias tóxicas, que acima de determinadas concentrações podem ser prejudiciais tanto para os seres humanos, como para os ecossistemas (CHOI et al., 2004; CHIOU, 2008; PAPADOPOULOS et al., 2009). Assim sendo, a adoção de medidas que assegurem as características físicas, químicas, microbiológicas e ecotoxicológicas da água, de modo que as condições sanitárias adequadas da água não só de consumo, mas também de irrigação sejam alcançadas, são essenciais.

Nos últimos anos observa-se escasso número de publicações a cerca do problema de contaminação química e/ou biológica relacionada à água de irrigação

no estado de São Paulo. Particularmente, na região metropolitana da Grande São Paulo (RMSP) nos últimos 20 anos, há apenas um estudo relatando a contaminação por enteroparasitas, em hortaliças comercializadas na RMSP (OLIVEIRA e GERMANO, 1992) e não foram encontrados estudos, onde ensaios ecotoxicológicos foram aplicados ao monitoramento de águas de irrigação de hortaliças até o final deste trabalho.

O monitoramento de qualidade das águas é um importante instrumento de gestão ambiental que consiste no acompanhamento sistemático dos aspectos qualitativos das águas, das biocenoses, visando a produção de informações, à comunidade científica, e, principalmente, às diversas instâncias decisórias. Logo, o monitoramento é um dos fatores determinantes no processo de gestão ambiental, propiciando uma percepção sistemática e integrada da realidade ambiental (INEA, 2011).

As análises físicas, químicas e biológicas são muito importantes para indicar o estado de integridade ambiental de um corpo hídrico, pois podem apontar contaminação antrópica proveniente de esgoto doméstico, fertilizantes, defensivos agrícolas, resíduos industriais entre outros. Todavia, Martinez-Madri (1997) menciona que, devido ao grande número de substâncias químicas existentes e seu constante incremento, torna-se praticamente impossível um estudo químico completo de todos os componentes presentes nos efluentes industriais, nas águas naturais ou nos sedimentos dos cursos d'água. Os compostos químicos podem atuar de diferentes maneiras sobre os seres vivos, quando se encontram separados ou combinados entre si, devido aos fenômenos de antagonismo ou sinergismo. Além disso, algumas substâncias podem produzir efeitos tóxicos em níveis inferiores aos limites de detecção analítica. Por estes motivos, evidências biológicas, ecotoxicológicas, químicas, físicas e físico-químicas devem ser empregadas de forma integrada, para a obtenção de informações objetivas, que subsidiem as decisões nas ações de proteção do meio ambiente (RODRIGUES et al, 2009).

A utilização de ensaios de caráter ecotoxicológico, que forneçam informações quanto ao efeito tóxico causado em ecossistemas, por substâncias químicas nele presentes, torna-se cada dia mais importante nas avaliações de impacto ambiental (RAYA-RODRIGUEZ, 2000; MAGALHÃES e FERRÃO FILHO, 2008). Deste modo, a realização de ensaios de toxicidade tem sido incluída em programas de

monitoramento, constituindo uma das análises indispensáveis no controle de fontes de poluição (CETESB, 1990; ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

O trecho em estudo não possui pontos de monitoramento por parte de órgãos ambientais, o que significa carência de dados registrados, bem como dificulta o controle da qualidade da água neste local. Além disso, por se tratar de uma região com predomínio de agricultura familiar ou de pequenos agricultores, há também desinformação a respeito dos riscos inerentes do uso e do correto manejo de defensivos agrícolas, o que pode agravar a contaminação química decorrente do fenômeno de lixiviação.

Em conjunto, os pontos abordados acima falam a favor da abordagem ecotoxicológica destas águas utilizadas para irrigação de alimentos consumidos *in natura*, além dos já bem estabelecidos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos.

1.1 OBJETIVOS

1.2 Objetivo Geral

Avaliar a qualidade da água de irrigação de hortaliças, do ponto de vista físico e químico, microbiológico e ecotoxicológico em uma região de mananciais da Grande São Paulo.

1.3 Objetivos Específicos

- Avaliar os bioensaios à luz dos parâmetros físicos e químicos possíveis.
- Aplicar testes ecotoxicológicos para avaliação de:
 - ✓ Toxicidade aguda e crônica com organismo *Dugesia tigrina* (Planária);
 - ✓ Toxicidade crônica com alga *Selenastrum capricornutum*;
 - ✓ Genotoxicidade e mutagenicidade com *Allium cepa*;
- Aplicar testes microbiológicos para avaliação da:
 - ✓ Presença de coliformes
 - ✓ Presença e quantificação de coliformes fecais

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Qualidade da Água

Sobre a qualidade da água Ayers e Westcot (1991) afirmam que ela é determinada pelas suas propriedades físicas, químicas ou biológicas. Para Meybeck e Helmer (1992), essa qualidade pode ser afetada direta e indiretamente pelo homem, quando, por meio de suas atividades, promovem a contaminação de ambientes aquáticos por substâncias inorgânicas ou orgânicas que podem produzir efeitos deletérios diretamente aos ecossistemas, à saúde humana e indiretamente às diversas atividades econômicas. Entretanto, a qualidade da água não é apenas consequência de ações antrópicas, mas também de fenômenos naturais como escoamento superficial e pela infiltração no solo, resultantes de precipitações atmosféricas (VON SPERLING, 2005).

Encontrar água totalmente pura na natureza é praticamente impossível, pois a água apresenta-se dinâmica no tempo e no espaço. A água “pura” é um conceito hipotético, uma vez que apresenta elevada capacidade de dissolução e transporte e, em seu percurso, superficial ou subterrâneo, pode incorporar um grande número de substâncias (BRASIL, 2006).

Para definir a qualidade da água pelas suas características físicas, químicas ou biológicas, é necessária associação destas propriedades com o uso a que se destina. De acordo com Von Sperling (2005) e com a Resolução nº 357: 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), os atributos desejáveis para uma determinada água é em função de seu uso esperado. A tabela 1 apresenta a associação entre os principais requisitos de qualidade e os usos da água na irrigação.

Tabela 1 - Associação entre os usos da água e os requisitos de qualidade na irrigação

| | | |
|------------------|---|--|
| <i>Irrigação</i> | <i>Hortaliças, produtos ingeridos crus ou com casca</i> | <ul style="list-style-type: none"> - Isenta de substâncias químicas prejudiciais a saúde - Isenta de organismos prejudiciais a saúde - Salinidade não excessiva |
| | Demais plantações | <ul style="list-style-type: none"> - Isenta de substâncias químicas prejudiciais ao solo e às plantações - Salinidade não excessiva |

Fonte: Adaptado de Von Sperling, 2005.

2.2 Qualidade da Água na Irrigação

Conforme a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), o setor agrícola é o que utiliza a maior parte da água doce do planeta. Quase 70 % do total de água doce extraído e mais de 80% nos países em desenvolvimento, são utilizados para a agricultura.

Além da quantidade de água imprescindível para o êxito na irrigação, a qualidade da água é um aspecto fundamental na utilização de sistemas irrigados. O resultado da má qualidade da água para irrigação pode produzir efeitos indesejáveis no desenvolvimento de uma cultura comercial ou servir como vetor para veiculação de doenças e contaminação de consumidores.

Como já mencionado anteriormente, a qualidade da água depende do uso a que se destina e usos específicos podem ter diferentes requisitos de qualidade. Assim, por exemplo, águas de um manancial podem ser consideradas de boa qualidade para um determinado sistema de irrigação ou cultura e podem ser inadequadas para outras situações (TELLES, 2003). A situação perfeita é ter à disposição águas de diversas classes e assim, poder escolher a mais pertinente (AYERS e WESTCOT, 1991).

É evidente que esta é uma situação utópica, pois na maioria das vezes, o que se encontra é água de um único tipo e qualidade, estando a sua utilização submetida à apropriação ao uso que se lhe quer dar (AYERS e WESTCOT, 1991).

Telles (2003) reitera que há diversos manuais com diretrizes técnicas para uso das águas conforme sua aplicação específica, entretanto o autor complementa que não existe nenhum guia para atender às circunstâncias e particularidades da agricultura de nosso país. Avaliar a qualidade da água para a agricultura irrigada requer explorar alguns aspectos importantes como:

- a) Efeitos nos solos e sobre o desenvolvimento da cultura;
- b) Efeitos sobre equipamentos;
- c) Efeitos sobre a saúde do irrigante e do consumidor de produtos agrícolas.

Em termos mais específicos, os problemas de qualidade da água na irrigação de hortaliças incluem os aspectos químicos, físicos, biológicos e sanitários (SILVA, 2003).

Para Testezlaf et al., (2001), a qualidade de água na produção de hortaliças merece um estudo mais criterioso. De uma maneira geral, as hortaliças são irrigadas por sistemas de irrigação por aspersão, o que provoca um contato direto da água de irrigação sobre a parte comestível da cultura. Esta característica pode colocar em risco a qualidade das plantas sobre diversos aspectos, principalmente o fitossanitário.

2.2.1 Aspectos Físicos e Químicos

2.2.1.1 Turbidez

A turbidez de uma amostra de água é o grau de atenuação de intensidade que um feixe de luz sofre ao atravessá-la (esta redução dá-se por absorção e espalhamento, uma vez que as partículas que provocam turbidez nas águas são maiores que o comprimento de onda da luz branca), devido à presença de sólidos em suspensão, tais como partículas inorgânicas (areia, silte, argila) e detritos orgânicos, tais como algas e bactérias e plâncton em geral (CETESB, 2009).

Esse parâmetro é de extrema importância para a vida aquática, pois Braga et al., (2005), explica que, com o aumento da turbidez, e conseqüentemente a redução

da transparência da água, ocorre redução nas taxas fotossintéticas, prejudicando a procura de alimento para algumas espécies, causando um desequilíbrio ecológico.

A turbidez é um parâmetro muito utilizado na avaliação de águas destinadas ao consumo humano, não influenciando diretamente a qualidade de água para a irrigação. Porém, Carvalho (1994) afirma que este parâmetro pode ser utilizado para medir a concentração de sedimentos em suspensão, que é de grande importância para a qualidade de água de irrigação.

A erosão das margens dos rios em estações chuvosas, que é intensificada pelo mau uso do solo, é um exemplo de fenômeno que resulta em aumento da turbidez das águas. Os esgotos domésticos e diversos efluentes industriais também provocam elevações na turbidez das águas. Um exemplo típico deste fato ocorre em consequência das atividades de mineração, onde os aumentos excessivos de turbidez têm provocado formação de grandes bancos de lodo em rios e alterações no ecossistema aquático (CETESB, 2009). Para a águas de classe 1, o permitido é de 40 unidades nefelométricas de turbidez (UNT), para as classes 2 e 3, não devem exceder 100 UNT (BRASIL, 2005).

2.2.1.2 Cor

A cor de uma amostra de água está associada ao grau de redução de intensidade que a luz sofre ao atravessá-la (e esta redução dá-se por absorção de parte da radiação eletromagnética), devido à presença de sólidos dissolvidos, principalmente material em estado coloidal orgânico e inorgânico. Dentre os coloides orgânicos, podem ser mencionados os ácidos húmico e fúlvico, substâncias naturais resultantes da decomposição parcial de compostos orgânicos presentes em folhas, dentre outros substratos. Também os esgotos domésticos se caracterizam por apresentarem predominantemente por matéria orgânica em estado coloidal, além de diversos efluentes industriais, que contêm taninos (efluentes de curtumes, por exemplo), anilinas (efluentes de indústrias têxteis, indústrias de pigmentos etc.), lignina e celulose (efluentes de indústrias de celulose e papel, da madeira etc.) (CETESB, 2009).

Há também compostos inorgânicos capazes de causar cor na água. Os principais são os óxidos de ferro e manganês, que são abundantes em diversos

tipos de solo. Alguns outros metais presentes em efluentes industriais conferem-lhes cor, mas, em geral, íons dissolvidos pouco ou quase nada interferem na passagem da luz (CETESB, 2009).

2.2.1.3 Temperatura da Água e do Ar

A temperatura desempenha um papel fundamental no controle no meio aquático, condicionando as influências de uma série de parâmetros físicos, tais como viscosidade, tensão superficial, compressibilidade, calor específico, constante de ionização, calor latente de vaporização, condutividade térmica e a pressão de vapor. A temperatura superficial é influenciada por fatores tais como latitude, altitude, estação do ano, período do dia, taxa de fluxo e profundidade. A elevação da temperatura em um corpo d'água geralmente é provocada por despejos industriais e usinas termoelétricas (CETESB, 2009).

As variações de temperatura que se verifica no ar e na água, constituem importantes fatores nas reações energéticas e ecológicas aplicadas aos recursos hídricos, exercendo influencia direta sobre os vários tipos de organismos e sobre o teor de gases dissolvidos na água (BRANCO, 1986).

2.2.1.4 Oxigênio Dissolvido

O oxigênio dissolvido (OD) é uma variável química importante para as condições ambientais, embora não seja um parâmetro utilizado na caracterização da qualidade de água para irrigação, a medição de concentração de oxigênio dissolvido detecta os efeitos de resíduos oxidáveis sobre águas receptoras e a eficiência do tratamento dos esgotos durante a oxidação bioquímica (CETESB, 2009).

A determinação do oxigênio dissolvido é de fundamental importância para avaliar as condições naturais da água e detectar impactos ambientais como eutrofização e poluição orgânica. O oxigênio dissolvido, juntamente com o pH, tem sido apontado como a principal variável na avaliação dos corpos de água (CONTE e LEOPOLDO, 2001).

A ação antrópica, por meio de lançamentos de efluentes domésticos ou industriais, pode alterar o curso natural da dinâmica do oxigênio na água, pois as bactérias decompositoras consomem oxigênio disponível no processo de estabilização da matéria orgânica, reduzindo significativamente sua concentração na água (VON SPERLING, 2005). No entanto, os corpos d'água têm a capacidade de recuperar as condições naturais de oxigênio dissolvido por meio da autodepuração, que é o restabelecimento do equilíbrio no meio aquático, por mecanismos essencialmente naturais, após alterações induzidas pelos despejos afluentes (EIGER, 2003; VON SPERLING, 2005; BRAGA et al., 2005; SARDINHA et al., 2008).

A temperatura também influencia na solubilidade do oxigênio. Branco (1986) e Zuccari (1992) afirmam que a elevação da temperatura diminui a solubilidade do oxigênio na água e, portanto, águas com elevadas temperaturas apresentam baixos valores de oxigênio dissolvido [Tabela 2].

O oxigênio dissolvido, embora na prática, não seja um parâmetro utilizado na caracterização da qualidade de água para a irrigação, pode ser um indicativo da poluição, da concentração de sólidos dissolvidos e de matéria orgânica na água (LARCHER, 2000; MORAES, 2001; VON SPERLING, 2005).

Tabela 2 - Variação do O₂ dissolvido em relação à temperatura

| <i>A relação entre temperatura e solubilidade do oxigênio</i> | |
|---|-----------------------------------|
| Temperatura (°C) | Solubilidade de oxigênio (mg / L) |
| 0 | 14,6 |
| 5 | 12,8 |
| 10 | 11,3 |
| 15 | 10,2 |
| 20 | 9,2 |
| 25 | 8,6 |
| 100 ebulição | 0 |

Fonte: Ecy, 2011.

O CONAMA através da Resolução de N° 357: 2005 determina que em qualquer amostra coletada, os valores de oxigênio dissolvido para as água de classe 1, 2 e 3, não podem ser inferior a 6, 5 e 4 mg/L, respectivamente. E de acordo com esta resolução, estas águas são destinadas aos seguintes usos:

➤ *Classe 1:*

- ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado;
- à proteção das comunidades aquáticas;
- à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho;
- à *irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película;*
- à proteção das comunidades aquáticas em terras indígenas.

➤ *Classe 2:*

- ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional;
- à proteção das comunidades aquáticas;
- à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho;
- à *irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e*
- à aquicultura e a atividade de pesca.

➤ *Classe 3:*

- ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado;
- à *irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;*
- à pesca amadora;
- à recreação de contato secundário;
- à dessedentação de animais.

2.2.1.5 pH

O valor do pH indica a intensidade de acidez ou alcalinidade. Nas águas superficiais (rios e lagos) o valor do pH é influenciado por diversos fatores como a geologia da região, onde o corpo d'água se insere e por possíveis fontes de poluição (despejo de efluentes domésticos, industrial ou agrícola) (FRAVET, 2006).

O pH das águas pode ser alterado pelo despejo de efluentes domésticos e industriais ou pela lixiviação de rochas e da erosão de áreas agrícolas, onde são utilizados corretivos e fertilizantes (CONTE e LEOPOLDO, 2001).

Conforme dados da CETESB (2009), a influência do valor de pH sobre os ecossistemas aquáticos naturais dá-se diretamente devido a seus efeitos sobre a fisiologia das diversas espécies. Também o efeito indireto é muito importante podendo, sob determinadas condições de pH contribuir para a precipitação de elementos químicos tóxicos como metais pesados.

O pH também influi na solubilidade dos nutrientes pois esses podem estar presentes no solo, mas agregados numa forma insolúvel e, portanto, indisponíveis para absorção pelas raízes. Um exemplo são os solos alcalinos (pH alto), onde é muito frequente a carência de ferro mesmo que exista em quantidades suficientes porque este pH não permite que o ferro se dissolva.

Os critérios de proteção à vida aquática fixam o pH entre 6 e 9. O pH é também um padrão de potabilidade, devendo as águas para abastecimento público apresentar valores entre 6,0 e 9,5, de acordo com a Portaria 2914: 2011 do Ministério da Saúde.

2.2.1.6 Condutividade Elétrica

A condutividade elétrica (CE) de uma solução é a capacidade em conduzir corrente elétrica, em função da concentração iônica, principalmente pelo conteúdo de nutrientes como cálcio, magnésio, potássio, sódio, carbonato, sulfato e cloreto (ESTEVES, 1998; RODRIGUES, 2008). As concentrações iônicas e a temperatura indicam a quantidade de sais existentes na coluna d'água, e, portanto, representa uma medida indireta da concentração de poluentes (CETESB, 2009).

Para a irrigação, o principal problema do excesso de sais na água, é que após a sua deposição no solo, se acumula à medida que a água é evaporada ou consumida pelas culturas podendo resultar em salinização do solo (AYERS e WESTCOT, 1991), podendo promover redução nos rendimentos das plantas, provocar morte em plantas sensíveis aos sais e inviabilizar áreas para a agricultura (WATER RESEARCH COUNCIL, 1989).

A variável condutividade elétrica não determina, especificamente, quais os íons que estão presentes em determinada amostra de água, mas podem contribuir para possíveis reconhecimentos de impactos ambientais que ocorram na bacia de drenagem ocasionados por lançamentos de resíduos industriais, mineração, esgotos, entre outros (RODRIGUES, 2008). Em geral, níveis superiores a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ indicam ambientes impactados (CETESB, 2009).

A legislação em vigor (Resolução Conama 357: 2005) não determina valores para a variável CE, porém, a CETESB, orienta no sentido de que quando os valores forem superiores a 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$, deve-se verificar outros fatores (esgoto doméstico, fertilidade do solo da região, utilização de insumos agrícolas, etc.) que podem influenciar os resultados.

A condutividade também fornece uma boa indicação das modificações na composição de uma água, especialmente na sua concentração mineral, mas não fornece nenhuma indicação das quantidades relativas dos vários componentes. À medida que mais sólidos dissolvidos são adicionados, a condutividade da água aumenta. Altos valores podem indicar características corrosivas da água (CETESB, 2009).

2.2.1.7 Ferro

Na avaliação química da água para a irrigação, a quantificação do nível de concentração de ferro é fundamental, pois esse metal é um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre e por meio do intemperismo das rochas que compõem a bacia de drenagem e outros fatores como o clima, o processo erosivo, a ausência de conservação do solo e a pastagem extensiva com grande potencial erosivo aceleram a chegada deste elemento nos corpos d'água (FRANCO, 2008), podendo também ser oriundos de despejos industriais (VON SPERLING, 2005; RODRIGUES, 2008).

A presença do ferro em águas superficiais é atribuída, principalmente, à decomposição de rochas ricas em ferro e nos solos resultantes dessa decomposição. Sendo um elemento abundante na superfície terrestre, é normalmente encontrado nos corpos d'água, para onde é transportado,

principalmente pelas chuvas, por meio da lixiviação do solo (ESTEVES, 1998; SILVA et al., 2009).

Vanzela (2004) afirma que além da origem natural, as altas concentrações de ferro em água superficiais, também podem ocorrer em função das ações antrópicas, decorrentes das atividades desenvolvidas nas bacias hidrográficas.

Com a precária conservação dos solos no meio rural, os processos de erosão e assoreamento em solos formados a base de sesquióxidos de ferro ou hematita (Fe_2O_3), aumenta consideravelmente a quantidade de solo em contato com a água, resultando assim, no aumento da concentração de ferro, tanto solúvel como em suspensão na água. O efeito desse processo na redução da qualidade da água de irrigação, foi observado por Vanzela et al., (2003) e Mauro (2003). Já no meio urbano, Von Sperling (2005), atribui aos despejos industriais, que contribuem com incrementos significativos de ferro na água.

O ferro é um elemento considerado micronutriente em relação às plantas e necessário para o metabolismo animal, mas em concentrações elevadas pode se tornar tóxico (ESTEVES, 1998). O ferro também é um dos principais problemas na água de irrigação, devido à sua capacidade de obstruir fisicamente as tubulações e emissores dos sistemas localizados. Isto ocorre porque o ferro reduzido (Fe^{2+}) e, portanto, solúvel ao atravessar o sistema de filtragem, pode se oxidar, tornando-se insolúvel (Fe^{3+}). Após a oxidação, o ferro fica retido nas paredes do tubo, provocando o aumento nas perdas de carga, comprometendo o projeto de irrigação (HERNANDEZ et al., 2001).

2.2.2 Aspectos Biológicos e Sanitários

Muito embora os aspectos físicos e químicos sejam de grande importância para irrigação, os aspectos biológicos são os que mais afetam a qualidade das hortaliças, em especial aquelas consumidas *in natura*. Apesar do risco de transmissão de uma série de doenças ao homem, águas contaminadas têm sido utilizadas indiscriminadamente na irrigação de hortaliças. Como consequência, tem-se constatado com relativa frequência a ocorrência de microrganismos patogênicos como *Escherichia coli* enteropatogênica, Salmonelas e parasitas intestinais, em hortaliças oferecidas à população (MAROUELLI e SILVA, 2006).

Dependendo do grau de contaminação, do tipo de cultura a ser irrigada e do sistema de irrigação adotado, água contaminada pode ser utilizada sem maiores problemas para fins de irrigação. Um avanço, neste sentido, é a regulamentação do uso e classificação das águas pelo CONAMA em sua Resolução 357: 2005, em que das nove classes estabelecidas, três dizem respeito às possibilidades de uso para fins de irrigação [Tabela 3] (MAROUELLI e SILVA, 2006). Contudo, de acordo com esta mesma resolução, existem restrições quanto ao uso de águas contaminadas para irrigação. A resolução CONAMA nº 357: 2005 determina que as hortaliças que são consumidas cruas e frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, devam ser irrigadas com águas de classe 1.

Tabela 3 - Possibilidades de uso de águas doces (classes 1 a 3) e salobras (classe 1) para irrigação

| Cultura | Coliformes termotolerantes (nº/ 100 mL *) | DBO 5 dias** (mg/L O₂) |
|---|--|--|
| Hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película | 200 | 3 |
| Hortaliças, exceto as anteriores | 1000 | 5 |
| Árbóreas, cerealíferas e forrageiras | 4000 | 10 |

*número médio provável de coliformes termotolerantes por 100 mL de água.

**DBO = demanda bioquímica de oxigênio.

Obs. a bactéria *Escherichia coli* pode ser usada como índice em substituição aos coliformes termotolerantes.

Fonte: CONAMA, 2005; Marouelli e Silva, 2006

Segundo Bernardo (1995), quanto ao aspecto sanitário, há três casos a se considerar: *a contaminação dos irrigantes durante a condução da irrigação, a contaminação da comunidade ao redor do projeto de irrigação e a comunidade dos usuários dos produtos irrigados*. Nos dois primeiros casos, a principal doença é a esquistossomose, cuja contaminação se dá por meio de contato direto do irrigante com a água de irrigação, e no terceiro, as doenças são as verminoses em geral, cuja contaminação se dá por meio do consumo dos produtos hortifrutigranjeiros contaminados pela água de irrigação.

Para avaliação das condições sanitárias de uma água e de hortaliças, utilizam-se bactérias do grupo coliforme, que atuam como indicadores de poluição fecal, pois estão sempre presentes no trato intestinal humano e de outros animais de sangue quente, sendo eliminados em grandes quantidades pelas fezes.

As bactérias do grupo coliforme são consideradas os principais indicadores de contaminação fecal e assume importância como parâmetro indicador da possibilidade de microrganismos patogênicos (CETESB, 2009). O uso de coliforme como indicador da possível presença de seres patogênicos de veiculação hídrica que possam estar associados às fezes é de fácil identificação e contagem em laboratório com poucos recursos. Ao contrário de um método analítico em que se procura identificar e quantificar cada um das espécies patogênicas presentes, o “teste de coliformes” procura apenas evidenciar quantitativamente a presença de certos microrganismos que, sendo de origem intestinal, atestam a presença de fezes na água (BRANCO et al., 2006).

O grupo coliforme é definido como bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, gram-negativas, não esporuladas e na forma de bastonetes. Elas fermentam a lactose produzindo gás CO₂ e ácido dentro de 48 horas a 35°C (HUNT e RICE, 2005; LIBÂNIO, 2005). Inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais se encontram tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas (SILVA et al., 2007).

Os coliformes fecais ou termotolerantes são definidos da mesma forma que os coliformes totais, porém, eles são capazes de fermentar a lactose com produção de gás CO₂ em 24 horas em uma temperatura de 44,5 - 45,5°C. São usados para identificar uma contaminação de origem fecal. Pelo menos três gêneros fazem parte desse grupo: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo os dois últimos de origem não fecal. *Escherichia coli* tem habitat reconhecidamente fecal, está dentro do grupo de coliformes fecais. É o mais conhecido e mais facilmente diferenciado dos microrganismos não fecais, sendo o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento (SILVA et al., 2007).

Outro problema na qualidade sanitária das hortaliças é a presença de helmintos e protozoários. As hortaliças, em especial as consumidas em saladas, podem conter larvas e ovos de helmintos e cistos de protozoários, provenientes de

águas contaminadas por dejetos fecais de animais e/ou de homem (SIMÕES et al., 2003).

Quando as hortaliças são mal lavadas, expõem o homem às infecções tanto por helmintos como protozoários. Protozoários e helmintos são parasitas de interesse em saúde pública relacionados ao uso da água já utilizada em outros procedimentos. Uma importante característica desses organismos é a produção de um estágio de cisto ou ovo que facilita sua sobrevivência (BRANCO Jr et al., 1999; ERDOĞRU e SENER, 2004).

Parasitas comuns que ocorrem em vegetais frescos incluem: *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* e *Ascaris spp.* Esses organismos normalmente têm acesso aos vegetais antes da colheita, usualmente como resultado da água de irrigação contaminada e práticas de higiene insuficientes (FRANCIS et al., 1999, MAROUELLI, 2004).

Existem vários registros de estudos conduzidos em diversas cidades do Brasil, com a finalidade de verificar a contaminação bacteriológica ou parasitária, quer seja em águas de irrigação de hortaliças folhosas ou até mesmo nestes próprios vegetais. Por exemplo, há mais de três décadas, análises bacteriológicas das águas de irrigação no município de São Paulo revelaram a presença de coliformes fecais em grande quantidade (CHRISTOVÃO et al., 1967). Estudo realizado anos depois, também no município de São Paulo, observou que, em exames microbiológicos, de 125 amostras de diferentes hortaliças de 18 localidades do estado de São Paulo, 93 (74,40%), continham a presença de *Escherichia coli*. Além disso, de 113 amostras submetidas a exames parasitológicos, 67 (59,20%) foram positivas para ovos e/ou larvas semelhantes às de ancilostomídeos e 6 (5,30%) positivas para *Strongyloides* (GELLI et al., 1979).

Embora dignos de nota pela escassez de publicações sobre o assunto em questão, estes dados, certamente, não refletem a situação atual destes locais estudados.

No Nordeste, analisando-se a água de irrigação de hortas que abastecem o município de Natal (RN), foram identificados números elevados de bactérias coliformes totais e fecais e de estreptococos fecais, que ultrapassaram os limites tolerados pela legislação brasileira vigente da época (Portaria GM-0013:1976 da Secretaria Especial do Meio Ambiente – SEMA) (CHAGAS et al., 1981).

Em Maringá (PR), observou-se que 16,6% das amostras de cinco diferentes hortaliças estavam contaminadas por enteroparasitas, sendo que o resultado da análise de amostras de água utilizadas na irrigação destas hortaliças, também não satisfaz os padrões bacteriológicos de potabilidade (GUILHERME et al., 1999).

Em estudo semelhante, nos municípios de Niterói e Rio de Janeiro (RJ), a contaminação por enteroparasitas em hortaliças consumidas cruas e comercializadas nestas cidades foi demonstrada em apenas 6,2% das amostras para a presença de estruturas parasitárias. Entretanto, encontrou-se organismos contaminantes como ácaros, ovos de ácaros, insetos, larvas de nematoides e protozoários ciliados em quase todas as amostras em uma porcentagem de 96,1% (MESQUITA et al., 1999).

Mais recentemente, testes conduzidos por Takayanagui et al., (2000), em Ribeirão Preto - SP, examinaram as condições higiênico-sanitárias das hortas produtoras de verduras com implantação de um sistema de fiscalização. Estas análises laboratoriais revelaram irregularidades em 20,1% destas hortas, destacando-se elevada concentração de coliformes fecais em 17%, presença de Salmonela em 3,1% e de vários enteroparasitas em 13,1%. Posteriormente, ainda em Ribeirão Preto, após a implementação de um sistema de fiscalização, a pesquisa revelou uma taxa de contaminação microbiológica e parasitológica de 38,3% nas hortas previamente investigadas e de 43,9% nas novas hortas (TAKAYANAGUI et al., 2007).

Em outra região do estado de São Paulo, em dez comunidades pré-escolares de regiões periféricas da cidade de Sorocaba, verificou-se a presença de formas transmissíveis de enteroparasitas em água e em hortaliças consumidas cruas. Os resultados indicaram baixos índices quando comparados aos citados anteriormente. A água apresentou índice de 0,7% de contaminação, a hortaliça não lavada, 3,9% e a hortaliça lavada, 1,3%. Isto indica que a hortaliça não lavada apresentou maior contaminação que a lavada, porém a lavagem não garantiu a ausência de enteroparasitas nas hortaliças (COELHO et al., 2001).

Na cidade de Campinas, Simões et al., (2001), examinando amostras de água de irrigação e legumes de hortas, verificou contaminação bacteriana em 22,3% das amostras vegetais e presença de parasitas em 14,5%. Já nas amostras de água de irrigação, 11,8% estavam condenadas de acordo com a legislação. Os autores destacam que a contaminação de hortaliças por parasitas foi

significativamente mais frequente na estação chuvosa, enquanto que o excesso de coliformes fecais foi mais frequente na estação seca.

Fora do Estado de São Paulo, análises parasitológicas de hortaliças como rúcula, agrião e alface crespa realizadas na cidade de Florianópolis - SC, identificaram alta frequência de parasitas intestinais, na maioria das amostras analisadas (40% a 76%) (SOARES e CANTOS, 2005). Entre os fatores envolvidos na contaminação das verduras, os autores destacaram não apenas a origem das águas de irrigação, mas também o acondicionamento, o transporte e a manipulação destas durante a coleta. Enteroparasitas também foram encontrados em hortaliças comercializadas e consumidas em Recife, Pernambuco. Os resultados de testes revelaram um percentual de contaminação parasitária em 60% no alface, 30% no agrião e 20% na acelga, destacando-se o *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis* e *Ancylostoma duodenale* dentre os helmintos e o *Cryptosporidium spp.*, *Entamoeba coli* e o complexo *Entamoeba histolytica / Entamoeba* díspar, dentre os protozoários com maior frequência (SILVA et al., 2005).

Amostras de alface de diferentes cultivos na cidade de Salvador – BA, mostraram baixos padrões higiênicos, indicados pela presença de formas parasitológicas de origem animal ou humana e alta concentração de coliformes fecais (SANTANA et al., 2006).

Realizando avaliação bacteriológica e parasitológica em hortaliças minimamente processadas que são comercializadas em Porto Alegre – RS, verificou-se a presença de coliformes com valores acima do permitido pela legislação para 16,6% das amostras. *E. coli* foi prevalente em 6 amostras de coliformes fecais. A contaminação de origem fecal foi verificada, sugerindo falhas nas etapas do processamento ou sanificação das hortaliças, além de indicar que o solo ou águas de irrigação possam constituir possíveis fontes desses microrganismos (Silva et al., 2006).

Em pelo menos um estudo fica patente a importância do monitoramento da qualidade da água de irrigação, bem como do solo de cultivo de hortaliças. A influência do método de irrigação por gotejamento nos canteiros e a injeção ou não de cloro na água de irrigação, bem como as condições sanitárias do solo e da própria alface (*Latuca sativa*) irrigada com águas receptoras de efluentes urbanos foi avaliada. Os resultados das análises microbiológicas e parasitológicas realizadas na água, no solo e na hortaliça, indicaram a presença de parasitas não humanos

(nematoides) de vida livre no solo com prevalência superior a permitida pela OMS (BISCARO et al., 2007). Assim, tendo em vista o que foi exposto, pode-se afirmar que o controle de qualidade de águas de irrigação de hortas é de essencial importância para a adequada condição sanitária das hortaliças, especialmente daquelas consumidas cruas pela população.

2.2.3 Aspectos Ecotoxicológicos

A simples caracterização física, química e biológica não é suficiente para se controlar as fontes de poluição das águas. Para tal, a legislação brasileira (Resolução CONAMA 357: 2005) já exige que ensaios ecotoxicológicos sejam realizados com o intuito de avaliar ou prever os efeitos tóxicos do lançamento de efluentes, que mesmo após o tratamento biológico, ainda podem conter substâncias nocivas à vida aquática nos corpos receptores.

Ainda que os ecossistemas aquáticos tenham a capacidade de assimilar as mudanças físicas e químicas causadas pelo lançamento de poluentes no meio, a locomoção, a reprodução, a sobrevivência e o crescimento dos organismos aquáticos podem ser afetados (GEORGETTI et al., 2008).

A avaliação preliminar de riscos ecológicos é realizada por meio de monitoramento ambiental preventivo dos ecossistemas em risco. Em função da grande diversidade de impactos ambientais sobre os ecossistemas aquáticos, o controle ambiental de riscos ecológicos deve envolver uma abordagem integrada, pelo monitoramento da qualidade física, química e biológica da água, bem como a avaliação da qualidade estrutural de habitats (GOULART e CALLISTO, 2003).

Os ensaios ecotoxicológicos fazem parte de programas de monitoramento de qualidade de águas ou de procedimentos para classificação do nível de periculosidade e avaliação de risco de substâncias químicas no ambiente. A mais recente reformulação da legislação federal sobre a qualidade das águas superficiais, a Resolução nº 357: 2005 do CONAMA inclui, pela primeira vez, padrões de toxicidade.

Os ensaios de toxicidade devem ser considerados como uma análise indispensável no controle da poluição hídrica, pois detectam os efeitos dos poluentes sobre a biota, enquanto as análises químicas apenas identificam e

quantificam as substâncias presentes nas amostras ambientais (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006). Seu objetivo é avaliar os danos causados aos organismos aquáticos, onde organismos representativos da biota aquática são submetidos à várias concentrações de uma ou mais substâncias poluidoras, durante um determinado período de tempo (LANDIS e YU, 2003).

Segundo Metcalf e Eddy (2003), estes ensaios podem ser utilizados para vários tipos de avaliações e abordagens, tais como: avaliar a sustentabilidade das condições ambientais para a vida aquática; estabelecer concentrações aceitáveis de substâncias a serem recebidas conforme parâmetros convencionais (como OD, pH, temperatura, salinidade ou turbidez); avaliar a toxicidade do efluente para um ou mais organismos testes de águas doces, de estuários ou marinhos; estabelecer sensibilidade relativa de um grupo de organismos aquáticos com relação a efluentes bem como a padrões tóxicos; avaliar o tipo de tratamento necessário para atender aos requisitos de controle de poluição da água; determinar a eficiência dos sistemas de tratamento de efluentes; estabelecer taxas permissíveis de descargas de efluentes.

Os ensaios ecotoxicológicos foram primeiramente realizados com peixes e os primeiros relatos de uso de tais ensaios datam de 1920. Durante as décadas de 1940 e 1950 aumentaram os trabalhos nesta área, surgiram diferentes métodos de ensaios e os pesquisadores perceberam que diferenças nas condições-teste acarretavam diferentes resultados, evidenciando a necessidade de padronização dos testes (SLOOF, 1988).

Atualmente, vários ensaios de toxicidade já estão bem estabelecidos, sendo alguns padronizados nacional e internacionalmente por associações ou organizações de normalização, como a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), *Association Française de Normalisation* (AFNOR), *American Society for Testing and Materials* (ASTM) e *American Water Works Association* (AWWA). Portanto, a utilização de ensaios de caráter ecotoxicológico, que venham a dar informações quanto ao efeito tóxico causado em ecossistemas por substâncias químicas nele presentes, torna-se cada dia mais importante nas avaliações de impacto ambiental (RAYA-RODRIGUEZ, 2000; MAGALHÃES e FERRÃO FILHO, 2008).

Sobre as condições ecotoxicológicas para águas doces de classe 1 (usadas na irrigação de hortaliças consumidas *in natura*), o CONAMA por meio de sua

Resolução nº 357: 2005, determina que não deve ser observado o efeito tóxico crônico aos organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido.

Merece destaque as resoluções dos estados de São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná, Minas Gerais que, de forma prática e real, aplicam as diretrizes normativas e os conceitos de avaliação ecotoxicológica, como um dos critérios determinantes da regularização de um efluente industrial para ser lançado nas coleções hídricas (RUBINGER, 2009).

No Estado de São Paulo, o monitoramento ambiental fica a cargo da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). Nesta instituição o controle ecotoxicológico de efluentes líquidos foi implantado em meados dos anos 90. A resolução SMA 03: 2000 impulsionou o aperfeiçoamento deste controle e os ensaios de toxicidade passaram a ser realizados também em casos de mortandade de peixes e em acidentes ambientais (RUBINGER, 2009).

Para a avaliação de águas superficiais, a CETESB realiza testes de toxicidade aguda e crônica utilizando como bioindicadores a bactéria *Vibrio fischeri* e o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* e ensaios de genotoxicidade com a bactéria *Salmonella typhimurium* (CETESB, 2009).

No estado de Santa Catarina, o emprego de análises ecotoxicológicas teve início em 1997, por meio da Fundação do Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina (FATMA). Mais especificamente, por meio da FATMA na portaria nº 017: 2002, que estabelece o limite máximo de toxicidade aguda para efluentes de diferentes origens, e resolve que as substâncias existentes em um efluente não poderão causar ou possuir potencial causador de efeitos tóxicos nos organismos aquáticos presentes no corpo receptor, bem como, descreve a necessidade de utilização de ensaios ecotoxicológicos padronizados para expressar a toxicidade de um efluente, além de listar uma série de limites máximos de toxicidade aguda de efluentes de diferentes categorias industriais para com dois tipos distintos de métodos de ensaio ecotoxicológicos: toxicidade aguda para *Daphnia magna* e toxicidade aguda para *Vibrio fischeri* (RUBINGER, 2009).

No Paraná, os ensaios ecotoxicológicos e monitoramento ambiental são promovidos pelo Instituto Ambiental do Paraná (IAP). Estes ensaios são utilizados

para o automonitoramento industrial, segundo a portaria IAP nº019 de 10 de fevereiro de 2006. Além disso, realizam-se os ensaios biológicos para o monitoramento da qualidade das águas superficiais, avaliação integrada da qualidade da água, bem como para o monitoramento de acidentes ambientais, e para esses propósitos, são realizados ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia magna* (RUBINGER, 2009; IAP, 2011).

A avaliação ecotoxicológica no estado do Rio Grande do Sul iniciou-se em 1982 e já em 1984 a Secretaria da Saúde e Meio Ambiente realizava ensaios biológicos para detecção de genotoxicidade, mas por meio do convênio firmado com a FEPAM em 1992, foram implantadas quatro técnicas voltadas à avaliação da qualidade de efluentes industriais.

A resolução de nº 128: 2006 do CONSEMA do Rio Grande do Sul dispõe sobre a fixação de padrões de emissão de efluentes líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul, incluindo os ensaios ecotoxicológicos como métodos de detecção de novas formas de poluição e da ação acumulativa de poluentes nos ecossistemas (RUBINGER, 2009).

A Resolução nº. 129 de 24 de novembro de 2006, também do CONSEMA, dispõe sobre a definição de critérios e padrões de emissão para toxicidade de efluentes líquidos lançados em águas superficiais do Estado do Rio Grande do Sul, uma forma mais efetiva de aplicar as avaliações de ecotoxicidade de efluentes com a qualidade de efluente, distinção de tipos de efluentes, a serem lançados nas águas superficiais no território rio grandense (RUBINGER, 2009).

Em Minas Gerais, na Deliberação Normativa Conjunta COPAM / CERH nº01 de 01 de maio de 2008, faz-se menção de destaque ao Capítulo V, artigo 29, parágrafos 1º, 2º; os quais descrevem o emprego de métodos biológicos para a avaliação de toxicidade de efluentes e que devem ser utilizados ensaios ecotoxicológicos já padronizados e indicados pelo órgão ambiental competente para assegurar o correto lançamento de efluentes nas coleções hídricas do estado. Já, no Estado do Rio de Janeiro, na avaliação de corpos hídricos de água doce, são realizados ensaios de toxicidade aguda com o peixe *Danio rerio* (RUBINGER, 2009; INEA, 2012).

2.2.3.1 Bioensaios com *Dugesia tigrina*

Planárias de água doce vêm sendo estudadas na avaliação dos efeitos biológicos de poluentes em ensaios de toxicidade de curto prazo. Esses organismos são particularmente utilizados no campo da toxicologia aquática, porque são sensíveis a uma variedade de agentes farmacológicos e toxicológicos, indicando que podem ser feitas analogias bioquímicas e fisiológicas com a suscetibilidade de animais superiores aos poluentes. E mais, o seu alto poder de regeneração faz deles um apropriado sistema para testar o efeito teratogênico em organismos adultos (CALEVRO et al., 1998).

O nome Planárias é genericamente aplicado aos vermes de corpo achatado [Figura 1] que pertencem ao filo dos *Platyhelminthes* e da classe *Turbellaria*, que são predominantemente aquáticos, havendo pouco terrestres (SLUYS,1989). As planárias de água doce são habitantes de bentos de lagos, poças, riachos e nascentes. Seu tamanho varia de 10 mm a 600 mm (SEITENFUS e LEAL-ZANCHET, 2004). São seres carnívoros, alimentando-se de corpos de animais mortos que chegam ao substrato ou invertebrados pequenos, como larvas. Nesse último caso, as planárias nadam ativamente à procura da presa, liberando muco para imobilizá-las e ingeri-las. Elas possuem simetria bilateral e são acelomadas, sendo limitadas pela difusão para obter oxigênio. A maioria delas é hermafrodita, podendo haver reprodução pelo processo de regeneração; por método clonal – fissão transversal (ou longitudinal em alguns casos) e brotamento; ou ainda sexualmente por fertilização cruzada e interna havendo produção de ovos com desenvolvimento direto frequentemente (SEITENFUS e LEAL-ZANCHET, 2004; RUPPERT et al, 2005).



Figura 1 - Planária de água doce (*Dugesia Tigrina*)

Esses animais apresentam cefalização e possuem capacidade de regeneração completa e funcional do sistema nervoso central (SNC) (REUTER et al., 1996; INOUE et al., 2004), o qual corresponde a dois cordões nervosos ventrais que acompanham longitudinalmente o corpo desses animais e se conectam em intervalos regulares por comissuras transversais, e junto aos cordões, dão a impressão de um sistema nervoso segmentado, agregando-se no interior do organismo para formar um gânglio cefálico, o qual processa informações recebidas de estruturas sensoriais.

Planárias são organismos únicos no reino animal quanto à presença de uma população especial de células totipotentes, os neoblastos (REDDIEN e SÁNCHEZ ALVARADO, 2004). A importância dos neoblastos na biologia dos turbelários é amplamente reconhecida. Eles são responsáveis pelo restabelecimento de todos os tipos celulares durante o desenvolvimento, o crescimento, a regeneração e reposição de células mortas (KNAKIEVICZ, 2007). O processo de regeneração consiste em dois grupos de células: o primeiro formado por células ectodérmicas, derivadas da epiderme, que cobre a superfície lesionada após a amputação/fissura; e o segundo corresponde a uma massa de neoblastos em forma de domo, o blastema. Essas células se proliferam e se acumulam sob a região lesionada da epiderme, diferenciando-se na parte perdida do corpo do animal. A plasticidade das planárias é observada na capacidade de aumentar e diminuir o tamanho do corpo dependendo da disponibilidade de alimento (BAGUÑA et al., 1989).

Embora esta espécie possua um grande potencial de regeneração, alguns fatores como a presença de substâncias químicas na água (como o cloro e flúor provenientes do tratamento), alimentação inadequada ou insuficiente, ação de predadores e falta de umidade e de oxigênio dissolvido podem levá-las à morte (MEGLITSCH e SCHRAM, 1991; KAWATSU et al., 1995).

As planárias têm sido usadas como organismos testes para detecção de poluição ambiental desde 1940 e são organismos com grande potencial para ensaios ecotoxicológicos em razão da sua facilidade de cultivo e capacidade regenerativa (ERICHSEN JONES, 1940; PIONTEK, 1998). Vários autores também apontam esses organismos como modelos para avaliação de contaminantes ambientais, sendo muito úteis para esses estudos por serem morfologicamente simples e por sua posição filogenética. Também são organismos de fácil manutenção e baixo custo em laboratório, podendo facilmente ser utilizadas não só

em ensaios ecotoxicológicos, como também em testes de carcinogênese e teratogênese (SEEGAL e HANSEN, 1991; TEHSEEN et al., 1992; VILLAR e SCHAEFFER, 1993; SÁNCHEZ ALVARADO e NEWMARK, 1999). Portanto, dentre os invertebrados bentônicos aquáticos, as planárias são muito importantes, pois permitem a avaliação do efeito dos poluentes por meio de análise de diferentes bioensaios, os quais detectam efeitos em distintos níveis da organização biológica tais como molecular, celular, morfológico e fisiológico ou comportamental (BEST e MORITA, 1991; CALEVRO et al., 1998; GUECHEVA et al., 2001).

Em conjunto, estas informações tornam esses organismos promissores tanto para seu emprego como organismos testes, quanto como organismos bioindicadores da qualidade de ambientes aquáticos. Assim, as planárias podem ser potencialmente úteis na ecotoxicologia, que busca integrar o monitoramento da toxicidade de poluentes com a conservação, visando garantir a manutenção integral da saúde dos ecossistemas (KNAKIEVICZ, 2007).

2.2.3.2 Ensaios de toxicidade crônica com *Selenastrum capricornutum*

Quando se deseja avaliar os efeitos sobre funções biológicas, tais como reprodução e crescimento, utilizam-se ensaios de toxicidade crônica, nos quais é determinada a maior concentração do agente tóxico que não causa efeito deletério estatisticamente significativo aos organismos (CENO) ou a menor concentração que causa efeito deletério estatisticamente significativo aos organismos (CEO). A toxicidade crônica se traduz pela resposta a um estímulo contínuo, podendo abranger parte ou todo o ciclo de vida dos organismos, como no caso da emissão de efluentes (RAND e PETROCELLI, 1985).

Dentre os organismos mais recomendados para ensaios de avaliação da toxicidade aquática estão as algas, pois são produtores primários dominantes na cadeia alimentar no ambiente aquático (PFLEEGER et al., 1991).

Estudos com fitoplâncton indicam que as algas apresentam uma rápida resposta fisiológica, e, assim, efeitos deletérios provocados por compostos tóxicos podem ser detectados num curto período de tempo (SICKO-GOAD e STOERMER, 1988). As algas podem ser utilizadas como monitores biológicos de qualidade de água e como espécies indicadoras na avaliação de impacto ambiental de poluentes

(HELLAWELL, 1986). Algas e macrófitas são mais sensíveis que invertebrados e peixes para vários tipos de detergentes surfactantes, efluentes têxteis, tintas, combustíveis sintéticos, herbicidas e uma variedade de compostos fitotóxicos (LEWIS, 1990). Diversos estudos indicam ainda que, as algas têm se mostrado sensíveis a metais, inseticidas organoclorados e compostos orgânicos industriais (GREENE et al., 1988; HICKEY et al., 1991; KLAINE e LEWIS, 1995).

Uma das espécies de algas que mais tem sido citada na literatura é a *Selenastrum capricornutum* [Figura 2] (OLIVEIRA, 2007). É importante destacar que a espécie *S. capricornutum* foi também denominada por alguns autores como *Pseudokirchneriella subcaptata* (HEIJERICK et al., 2002; FIORENTINO et al., 2003;) ou *Raphidocelis subcaptata* (MUYSSSEN, 2001; EVANDRI et al., 2003). A espécie é provavelmente cosmopolita e comum de ocorrer em ambientes mesotróficos a eutróficos (TORGAN, 2002). A alga *S. capricornutum* pode ser considerada um bom organismo-teste indicador de impactos ambientais, podendo ser inclusive mais sensível que outros organismos da biota aquática, quando expostos a um mesmo agente químico (RODRIGUES, 2002).

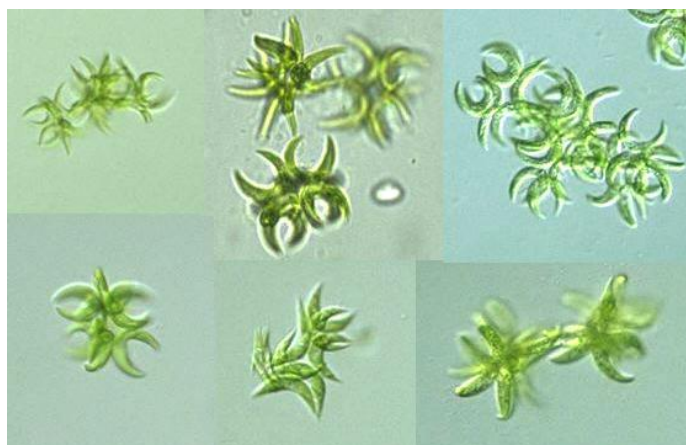


Figura 2 - Alga *Selenastrum capricornutum*
Fonte: KBFI, 2010.

Este ensaio é utilizado para a avaliação da toxicidade crônica de amostras de efluentes líquidos, águas continentais superficiais ou subterrâneas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em águas para a microalga. O ensaio permite também determinar se a amostra exerce um efeito algicida ou algistático sobre as células. O método consiste na exposição de organismos-teste a várias diluições da

amostra, por um período de 72h. O efeito tóxico é determinado pela inibição do crescimento da biomassa de algas nos recipientes-testes comparado com o controle, sob as mesmas condições de ensaio (RUBINGER, 2009).

2.2.3.3 Genotoxicidade e Mutagenicidade em *Allium cepa*

Sistemas testes vegetais como o de *Vicia faba*, e principalmente o de *Allium cepa*, têm sido utilizados para o estudo dos efeitos de extratos vegetais, visando a detecção de genotoxicidade (TEIXEIRA et al., 2003; FACHINETTO et al., 2007). Esses sistemas também têm importância no monitoramento da poluição ambiental e avaliação do potencial mutagênico de muitos compostos químicos (MA et al., 1995).

O método de avaliação de alterações cromossômicas em raízes de *Allium cepa* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias ambientais (CABRERA e RODRIGUEZ, 1999).

Fiskesjo (1993, 1994) ressaltou a importância e a utilidade de sistemas testes vegetais na avaliação de riscos de genotoxicidade e enfatizou que, apesar das diferenças entre os metabolismos de plantas e animais, há também similaridades, e que a ativação de pró-mutagênicos em plantas possui alta relevância, pois seres humanos consomem plantas tratadas com agentes químicos.

¹Células meristemáticas de raízes de plantas são indicadores apropriados para a detecção de ²efeitos clastogênicos causados por poluentes do meio ambiente, especialmente para o monitoramento de contaminantes da água e do solo (MA et al., 1995). El Shahaby et al., (2003) consideraram o sistema teste de *Allium cepa* o mais adequado para detecção de toxicidade e genotoxicidade para avaliação de níveis de poluição ambiental, os quais representam riscos diretos ou indiretos para a população humana. *Allium cepa* também foi empregado como teste para investigar o potencial genotóxico e mutagênico de águas de rios que recebem efluentes industriais contaminados com cromo e corantes, bem como o grau de contaminação de águas impactadas com derivados de petróleo (MATSUMOTO e

1 Células indiferenciadas encontradas em zonas da planta que se dividem continuamente.

2 Quebra de cromossomos durante a divisão celular.

MARIN-MORALES, 2004; LEME e MARIN-MORALES, 2008). O teste de *Allium cepa*, combinado com análises químicas, pode ser usado para se conseguir dados com bases científicas para regulamentação das descargas de substâncias potencialmente perigosas lançadas no ambiente (NIELSEN e RANK, 1994).

Nos últimos 30 anos, o teste de Aberrações Cromossômicas (AC) tem sido largamente utilizado para o monitoramento ocupacional e ambiental, atuando como um biomarcador de efeitos genotóxicos induzidos por carcinógenos (HAGMAR et al., 2004). Desta maneira, este teste tem apresentado posição de destaque entre a bateria de testes recomendada por lei para a avaliação de agentes genotóxicos (MATEUCA et al., 2006).

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

As Aberrações Cromossômicas (AC) são caracterizadas por mudanças na estrutura normal de um cromossomo ou no número total de cromossomos [Figura 3], podendo ocorrer espontaneamente ou como resultado da exposição a agentes físicos ou químicos (RUSSEL, 2002).

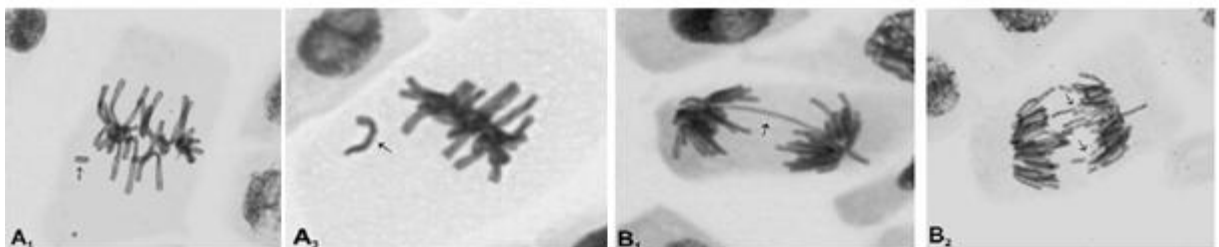


Figura 3 - Aberrações Cromossômicas (AC) em células de *Allium cepa*
Fonte: Leme e Marin-Morales, 2009.

Agentes químicos e físicos podem induzir AC por meio de diferentes mecanismos, envolvendo ações clastogênicas ou aneugênicas. A ação aneugênica leva a uma segregação anormal dos cromossomos, tendo como consequência desta

a formação de células aneuplóides ou poliploides (ALBERTINI et al., 2000). Já a ação clastogênica é caracterizada pela indução de quebras cromossômicas durante a divisão celular (FENECH, 2000), ocasionando alterações cromossômicas estruturais (ALBERTINI et al., 2000). Portanto, AC apresentam a parte visível de uma grande variedade de alterações no material genético, resultantes da atuação de diferentes mecanismos de reparo das quebras do DNA (OBE et al., 2002). Conforme Mateuca et al., (2006), as vantagens do teste de AC não se restringem, apenas, a possibilidade de identificação dos diferentes tipos de alterações dos cromossomos, mas também oferece a possibilidade de estimar, precisamente, os modos de ação dos químicos testados (GROVER e KAUR, 1999).

O acúmulo de dados obtidos com *A. cepa*, pela ampla aplicação deste teste nos últimos anos, permite o estabelecimento de uma correlação entre a mensuração de AC observadas com a potencialidade de desenvolvimento de câncer (BONASSI e AU, 2002). Segundo Obe et al., (2002), sabe-se hoje que organismos com elevadas frequências de AC apresentam também um risco significativo de desenvolvimento de câncer.

O índice mitótico e algumas anormalidades nucleares são usados para avaliar a citotoxicidade e a análise do micronúcleo (MN) é usada para verificar a mutagenicidade (LEME e MARIN-MORALES, 2009). O teste do micronúcleo tem sido muito utilizado para a avaliação de efeitos mutagênicos, tanto em animais (CRISTALDI et al., 2004; MATSUMOTO et al., 2006; HOSHINA et al., 2008; VENTURA et al., 2008; ROZGAJ et al., 2009) como em vegetais (WANG e WANG, 1999; BISCARDI et al., 2003; LEME e MARIN-MORALES, 2008; CARITÁ e MARIN-MORALES, 2008), por ser um teste altamente sensível e eficiente na detecção de efeitos da poluição ambiental.

O aparecimento de micronúcleos é a consequência da quebra cromossômica, evidenciando claramente a manifestação de distúrbios do processo mitótico (GROVER e KAUR, 1999). A análise de micronúcleos é um dos métodos diretos para mensurar danos em organismos expostos a agentes mutagênicos ou carcinogênicos potenciais. Aqui também o teste de *Allium cepa* tem sido amplamente empregado com esse propósito (GUZMÁN et al., 2003; SILVA et al., 2003; RIBEIRO, 2003; OLAHARSKI et al., 2006; LEME e MARIN-MORALES, 2009).

O micronúcleo é semelhante ao núcleo em forma, estrutura e propriedades de coloração, e pode variar grandemente em tamanho (EL-SHAHABY, 2003; LEME e

MARIN-MORALES, 2009). Os MNs são estruturas resultantes de danos não reparados ou reparados erroneamente nas células parentais (RIBEIRO et al., 2003), facilmente visualizados nas células filhas como uma estrutura similar ao núcleo principal, porém, de tamanho reduzido [Figura 4] (LEME e MARIN-MORALES, 2008). O micronúcleo é o resultado da perda de fragmento (s) cromossômico (s) ou de cromossomo(s) inteiro(s), podendo ser induzido por agentes que danificam diretamente o cromossomo, produzindo quebras ou por agentes que afetam o fuso mitótico. Os fragmentos ou cromossomos inteiros que não se orientam para os núcleos filhas de uma célula em divisão ficam perdidos no citoplasma e formam a própria membrana nuclear, originando os micronúcleos. Assim, a presença de micronúcleos em células somáticas é indicativa de quebras cromossômicas (clastogênese) e/ou de distúrbios do fuso mitótico (aneugênese) (NATARAJAN, 2002).

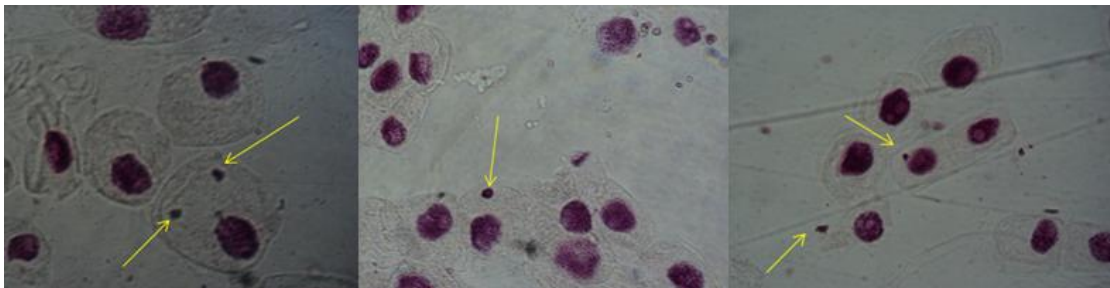


Figura 4 - Micronúcleos em células de *Allium cepa*

Devido ao grande número de células que podem ser analisadas, a técnica de micronúcleos representa uma maneira simples e precisa de se estimar dano genético induzido, constituindo-se em uma ferramenta amplamente aplicável para testar o efeito de compostos químicos sobre as células (LANDOLT e KOCAN, 1983; GROVER e KAUR, 1999; EL-SHAHABY, 2003; SILVA et al., 2003; MATSUMOTO et al., 2006; LEME e MARIN-MORALES, 2009).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Caracterização da Área de Estudo

Os pontos de amostragens deste estudo são pequenos cursos d'água que estão situados em uma sub-bacia do Alto Tietê, a Cotia - Guarapiranga [Figura 5]. Corresponde a uma área de mananciais, onde há muitas nascentes e cursos d'água, sendo o rio Embu Mirim, um dos principais afluentes do Reservatório Guarapiranga.

A bacia do rio Embu Mirim [Figura 6] atravessa os municípios de Embu das Artes e Itapeverica da Serra, abrangendo área de 40,8 km² que corresponde a denominada Área de Proteção aos Mananciais (APM) da Bacia do Guarapiranga (MELO, 2009). A represa do Guarapiranga é considerada o manancial mais ameaçado da RMSF e foi o primeiro a ter a sua lei específica aprovada (Lei Estadual 12.233: 2006 e Decreto Estadual 51.686: 2007) (ISA, 2008). A lei estadual nº 12.233: 2006 declara esta bacia como manancial de interesse regional para o abastecimento público e cria a Área de Proteção e Recuperação dos Mananciais da Bacia Hidrográfica do Guarapiranga - APRM-G.

A rede hidrográfica embora densa é composta de pequenos canais fluviais de mais ou menos 2 metros de largura. Com essas dimensões, os rios deveriam ser classificados como córregos, de acordo com GUERRA (1997). O Rio Embu Mirim percorre 30 km de suas nascentes até a represa Guarapiranga e sua bacia banha a maior parte do território de Itapeverica da Serra. Com um débito anual médio em torno de 4 m³/s, este rio contribui com cerca de 36% da afluência de água no reservatório do Guarapiranga (VENTURI, 2001). Este rio teve suas águas classificadas em classe 2 (ISA, 2006a) e atualmente apresenta-se muito degradado, pois tornou-se um corpo receptor de esgoto doméstico *in natura*. Em grande extensão desta bacia, há um considerável número de núcleos populacionais, densamente povoados, muitos às margens da Rodovia Régis Bittencourt, onde se observa um acelerado processo de urbanização desde meados da década de 1960, decorrente da pavimentação desta rodovia, que corresponde a um vetor do desenvolvimento econômico de toda a região (MELO, 2009).

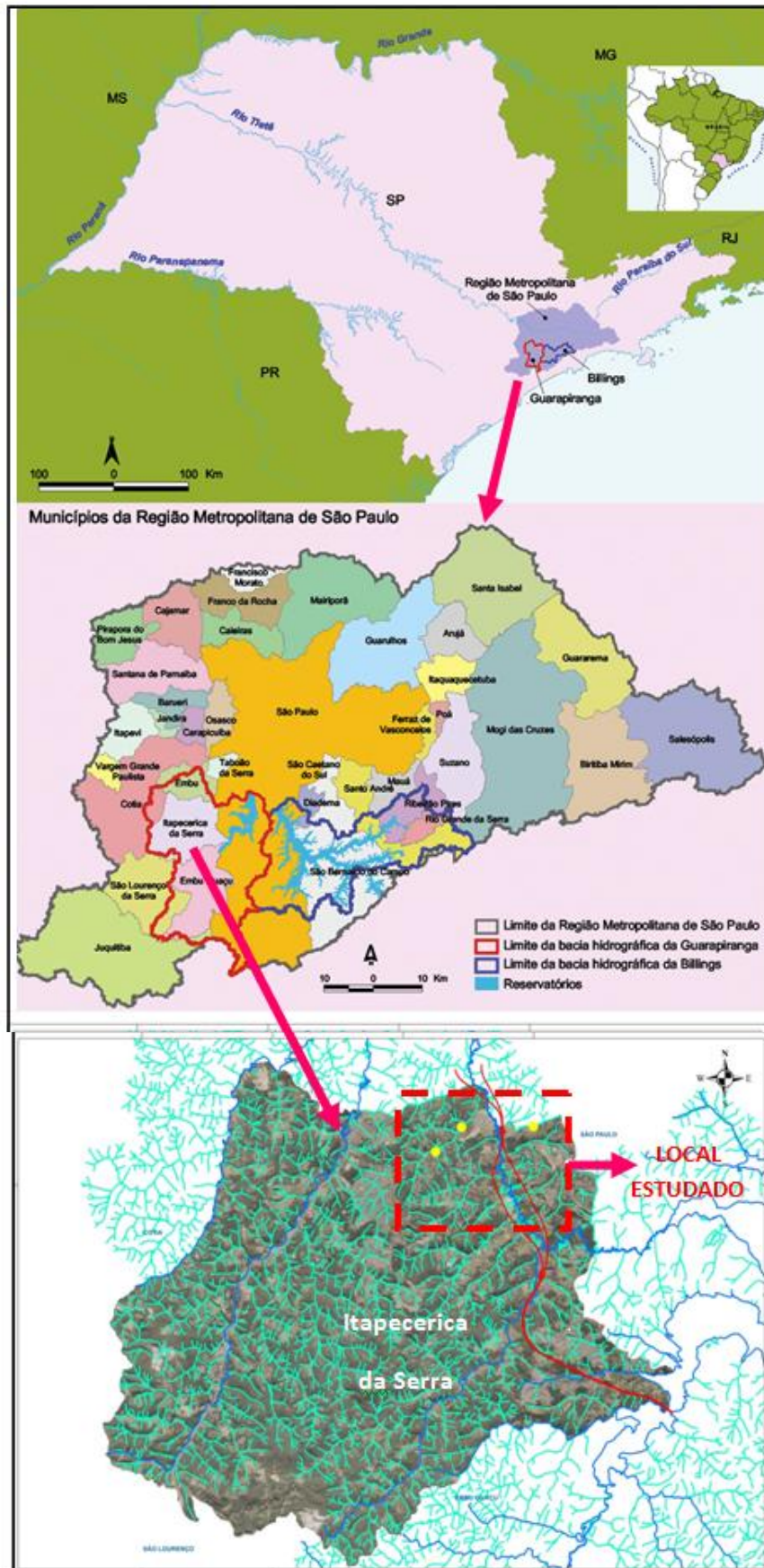


Figura 5 – Município de Itap. da Serra inserido na Sub-bacia Cotia-Guarapiranga
 Fonte: ISA, 2006b; Prefeitura de Itapeçica da Serra, 2011.

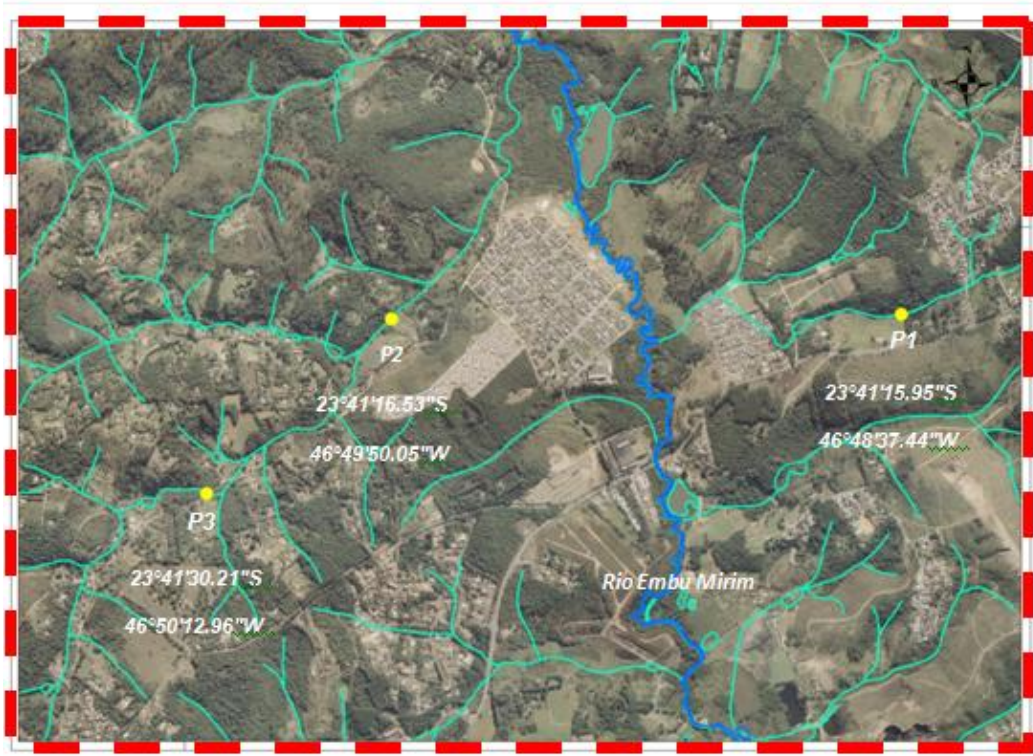


Figura 6 - Pontos de amostragem situados em um trecho da bacia do rio Embu Mirim

Fonte: Prefeitura de Itapeccerica da Serra, 2011.



Figura 7 - Ponto de amostragem 1 (P1)



Figura 8 - Ponto de amostragem 2 (P2)



Figura 9 - Ponto de amostragem 3 (P3)

3.2 Coletas

No período de abril a setembro de 2011 foram feitas coletas de amostras de água (em triplicata) em três pontos (pequenos cursos d'água) [Figuras 7, 8 e 9] inseridos dentro de propriedades agrícolas particulares, que são utilizados para irrigação de hortaliças folhosas.

As amostras foram coletadas em frascos plásticos limpos. Os frascos de coleta foram preenchidos submersos, fechados, transportados e armazenados sob-resfriamento. As amostras foram processadas dentro de um período de 24h.

No local foram medidos o pH e a temperatura, sendo as demais características físicas e químicas, analisadas no Laboratório de Química e Saneamento da Fatec – SP. Outra porção das mesmas amostras foi enviada para o Laboratório de Ecotoxicologia da Fatec Sorocaba para realização de outras análises.

Para as análises microbiológicas a coleta foi realizada de modo especial. Foram utilizados frascos de vidro limpos e esterilizados a fim de evitar riscos de contaminação nas amostras.

3.3 Análises Físicas e Químicas

A metodologia utilizada para a realização das análises físicas e químicas é a descrita no *Standart Methods For The Examination of Water and Wastewater*, adotada pela CETESB em suas normas técnicas.

As variáveis de qualidade da água foram analisadas frente aos padrões de qualidade estabelecidos na Resolução CONAMA 357: 2005 (BRASIL, 2005), para águas de Classe 1, que são destinadas à irrigação de hortaliças consumidas cruas [Tabela 4]. Como nesta resolução não há valores limites para comparação de condutividade elétrica, este parâmetro foi confrontado com valores sugeridos pela CETESB. Os parâmetros determinados foram temperatura, pH, condutividade, oxigênio dissolvido, turbidez, cor, ferro, chumbo, crômio e cobre.

Tabela 4 - Valores de referência para águas de irrigação de hortaliças, segundo Resolução n° 357: 2005 do CONAMA e Relatório da CETESB.

| Parâmetros | CONAMA 357: 05 | CETESB |
|----------------------|----------------------------|---------------|
| pH | 6,0 - 9,0 | --- |
| Condutividade | --- | Máx 100 µS/cm |
| Cor | Máx 75 mg Pt/L | --- |
| Turbidez | Máx 40 UNT | --- |
| Ferro | Máx 0,3 mg/L | --- |
| Chumbo | 0,01 mg/L | |
| Crômio | 0,05 mg/L | |
| Cobre | 0,009 mg/L | |
| Temperatura | --- | --- |
| OD | Não inferior a 6 mg / L | --- |

3.3.1 Temperatura

A temperatura da água foi medida por termômetro de mercúrio no momento da coleta.

3.3.2 pH

O método utilizado para determinação do pH foi o potenciométrico, utilizando-se de medidor de pH da marca Analyser 300 M, com leitura direta.

3.3.3 Condutividade

O instrumento utilizado na determinação da condutividade elétrica foi o condutímetro digital da marca Thermo Scientific, modelo Russel RL 060C.

3.3.4 Oxigênio Dissolvido

Para a determinação do Oxigênio Dissolvido (OD) em água foi utilizado método eletrométrico, no qual se empregam aparelhos chamados de oxímetros ou medidores de OD, em que a sonda do eletrodo possui uma membrana que adsorve seletivamente o oxigênio, tendo por base o seu raio de difusão molecular. Foi utilizado um oxímetro portátil da marca Thermo Scientific Orion, modelo Star.

3.3.5 Turbidez

A determinação da turbidez foi feita por leitura direta no turbidímetro da marca Thermo Scientific Orion, modelo Aqua Fast AQ3010, utilizando a metodologia descrita no manual do aparelho, que expressa a medida da variável em Unidade Nefelométrica de Turbidez (UNT).

3.3.6 Cor

A determinação da cor foi realizada por método de comparação realizado no espectrofotômetro da marca HACH, modelo DR2010.

3.3.7 Ferro

A Determinação de ferro foi realizada por meio do método colorimétrico automático com orto-fenantrolina, no espectrofotômetro da marca HACH, modelo DR2010.

3.3.8 Determinação de Metais

Na preparação das amostras, a cada coleta foram congeladas 100 ml de cada amostra que foram acidificadas com 100 µL de HNO₃ 1N. A amostra final consistiu da somatória das três coletas.

A determinação quantitativa dos metais foi realizada por leitura de direta em ICP/AES – Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado

3.4 Ensaios Ecotoxicológicos

3.4.1 Bioensaios com *Dugesia tigrina*

Estes ensaios foram realizados com planárias da espécie *Dugesia tigrina*, no Laboratório de Ecotoxicologia da Fatec Sorocaba em todas as campanhas de amostragem realizadas no período de abril a setembro de 2011.

Os primeiros exemplares foram cedidos pelo Laboratório de Limnologia da Faculdade de Saneamento Ambiental, da Unicamp - Campus Limeira e acondicionados em aquário com capacidade para 100 indivíduos e mantidos à temperatura constante abaixo ou igual a 30°C, cobertos com tecido preto (animais de vida aquática no fundo de rios e lagos).

A alimentação foi realizada com fígado bovino cru, uma vez a cada semana, durante 6h por vez. Logo após este período, foi retirado o fígado e utilizado pincel nº 22 para a limpeza do aquário. Em seguida, a água foi trocada para evitar a sua putrefação e um dia após a alimentação, o procedimento de limpeza do recipiente foi repetido para evitar que os restos alimentares eliminados pelos animais provocassem a contaminação da água e a morte dos indivíduos.

Para a remoção dos casulos, foi utilizado um pincel pequeno nº 8. Após um período de 18 a 23 dias decorrido a eclosão, foram separadas e contadas as planárias neonatas, colocando-as em outro aquário.

Antes da realização dos testes, foram preparadas diluições da amostra de água coletada mais a água mineral, sendo que o controle consistiu-se apenas da água mineral da marca Nova Vida. Foram preparadas 3 diluições (100%, 50% e 25% com a fração da amostra) e mais 1 controle.

Já na realização dos testes (três repetições), foram inseridas três planárias adultas em cada tubo de ensaio contendo as amostras de água coletada nas diluições já citadas, sem alimentação e aeração.

Foram feitas observações após 48h (análise aguda) e 72h (análise crônica) nas quais se limitou a observar a coloração, mobilidade, e número de óbitos desses animais.

3.4.2 Toxicidade crônica com *Selenastrum capricornutum*

Os ensaios de toxicidade crônica realizados com a alga *Selenastrum capricornutum* foram baseados na metodologia EPA 1003.0 (USEPA, 1994).

Estes ensaios consistiram na exposição de organismos-teste a várias diluições da amostra, por um período de 72h. O efeito tóxico foi determinado pela inibição do crescimento da biomassa de algas nos recipientes-testes comparado com o controle, sob as mesmas condições de ensaio.

Um dia antes da realização dos ensaios, foi necessário autoclavar um erlenmeyer com 25 mL de meio para alga 18x e outro com 100 mL de água tamponada. Também foram preparados frascos de vidros numerados de acordo com o ponto de coleta e a concentração da amostra.

Procedeu-se a contagem inicial de células/mL da cultura-estoque, que deve estar com 5 dias de cultivo.

O inóculo de algas utilizado no ensaio foi preparado em um tubo de Falcon, onde foi pipetada uma determinada quantidade da cultura-estoque de modo que a concentração do inóculo intermediário no tubo de Falcon fosse igual a $2,6 \times 10^5$ células/mL. Então, pipetou-se este volume da cultura-estoque e o suficiente de água tamponada para completar 2,5 mL.

As diluições foram preparadas com a amostra de água coletada mais uma solução de água tamponada, sendo que o controle constituiu-se de apenas de água tamponada. Foram preparadas 3 diluições (100%, 50% e 25% com a alíquota da amostra) e mais um controle.

Subsequentemente foi pipetada 100 μ L da cultura de algas a três diferentes concentrações da água coletada (100%, 50% e 25%) por 72 horas, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, intensidade luminosa de 3500 lux e agitação de 3 vezes ao dia.

A densidade final de algas foi determinada pelo método de contagem celular em câmara de Neubauer (McATEER e DAVIS, 1994).

3.4.3 Genotoxicidade e Mutagenicidade com *Allium cepa*

Estes testes foram feitos de acordo com o Protocolo proposto por Ma et al. (1995) com modificações. A seguir, uma descrição dos procedimentos realizados.

Para a realização deste estudo foram adquiridos bulbos de tamanhos médios de uma fonte comercial e colocadas para germinar em tubos de ensaio com água destilada, à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) por um período de 03 dias. Logo após esse tempo, todos os bulbos foram expostos às amostras em tubos de ensaio contendo as amostras de água coletadas em concentrações de 100%, 50% e 25%, no controle positivo (trifluralina) e negativo (água destilada) durante 24 h.

Após o período de exposição dos bulbos, eles foram retirados das amostras e colocados em água destilada para recuperação durante 24 h. Em seguida, foi realizada a coleta de todas as raízes por bulbo, as quais foram fixadas em Carnoy (álcool / ácido acético 3:1) e armazenadas sob refrigeração até a confecção das lâminas.

Para a elaboração das lâminas foram seguidas as seguintes etapas:

1. Lavagem das raízes em água destilada (três vezes);
2. Hidrólise com HCl 1N por 10 minutos a quente;
3. Nova lavagem das raízes em água destilada (três vezes);
4. Colocação das raízes por reativo de Schiff;
5. Em lâmina devidamente seca e limpa, seguido da adição de uma gota de corante Carmim 2%;
6. Colocação de lamínula sobre o material;
7. Leve esmagamento da raiz, efetivando a separação das células para visualização em microscopia;
8. Fixação por meio de aquecimento (três passagens pela chama);
9. Retirada do excesso de corante, com papel absorvente.

A visualização foi realizada em microscópio óptico, utilizando-se as objetivas de 40x e 100x. A realização da leitura das lâminas tratadas se deu conforme os parâmetros:

- Anomalias do ciclo mitótico (Anáfase - Telófase), pontes anafásicas, cromossomos perdidos na anáfase, cromossomos atrasados e outras anomalias;

- Anomalias interfásicas, identificando células com micronúcleos, células binucleadas, células com núcleos ligados e brotos;
- Micronúcleos.

3.5 Análises de Coliformes Totais e Termotolerantes

O método para análise de coliformes foi baseado na norma técnica da CETESB L5. 240 abr/91 - Detecção em Amostras de Água por meio do Teste de Presença-Ausência.

O método baseia-se na inoculação de volumes de 100 mL da amostra em frascos adequados, contendo 50 mL do meio presuntivo caldo P-A em concentração tripla. A incubação é realizada a 35°C, sendo realizadas leituras após 24-48hs. A acidificação do meio, evidenciada pela mudança de sua coloração de roxa para amarela, com ou sem produção de gás, é considerada resultado positivo para coliformes.

Para a determinação de coliformes fecais, um inóculo da cultura presuntiva positiva é transferido para o meio E.C., o qual é incubado a 44,5°C durante 24 horas, sendo a produção de gás a essa temperatura considerada como resultado positivo para esse subgrupo de bactérias.

Para a quantificação das bactérias, foi semeado 1 mL de meio E.C. de cada amostra em placas de Petri com meio de cultura Ágar McConkey. Após este procedimento as placas foram incubadas em estufa bacteriológica, por 48h, a 35°C ± 2°C. Após o período de 48 horas de incubação, as colônias foram contadas, e o resultado destas contagens expresso em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises físicas e químicas

A qualidade da água está correlacionada com os seus atributos, que por sua vez, são determinados pelas características dos locais onde a água se acumula e as condições climáticas da região. Por isso, as variações temporais, refletem principalmente nos parâmetros físicos e influenciam, também, os parâmetros químicos e afetam a presença dos organismos. Assim, os recursos hídricos superficiais, são ecossistemas abertos com forte influência do meio externo. Por isso, nem sempre o significado de cada uma dessas variáveis coincide exatamente com o esperado para dada situação (CINTRA, 2009).

Os diversos componentes presentes na água e que alteram o seu grau de pureza, podem ser retratados de uma maneira ampla e simplificada, em termos das suas características físicas e químicas. Estas características podem ser traduzidas na forma de parâmetros de qualidade da água. As principais características da água podem ser expressas como: parâmetros físicos, quando as impurezas presentes na água estão associadas, em sua maior parte, aos sólidos; e parâmetros químicos, quando há presença de substâncias orgânicas ou inorgânicas na água (VON SPERLING, 2005).

A determinação de parâmetros físicos e químicos é também fundamental na utilização para o cálculo de índices de qualidade da água (IQA), que são frequentemente adotados em estudos e normatizações sobre qualidade de água.

Nakayama e Bucks (1986) mencionaram que as variáveis físicas, químicas e biológicas que estão relacionadas com risco de obstrução dos sistemas de irrigação, segundo a qualidade da água de irrigação, são: os sólidos suspensos e dissolvidos, pH, ferro total, manganês, sulfetos de hidrogênio (H_2S), e população de bactérias. Franco (2008) declara que, para a avaliação da qualidade da água de irrigação, devem ser definidos padrões e critérios das variáveis físicas, químicas e biológicas, bem como os riscos de danos que as mesmas interferem nos sistemas de irrigação. Em relação à água de irrigação, as características físicas e químicas podem interferir não apenas diretamente na sua aplicabilidade, mas também indiretamente, já que, de acordo com Telles e Domingues (2006) a corrosão e a incrustação são prejudiciais aos equipamentos de irrigação e, por esse motivo, a análise física e

química da água pode fornecer informações a respeito do material de fabricação dos equipamentos e o sistema de irrigação utilizado.

Em nossa avaliação, os resultados dos parâmetros físicos e químicos medidos durante as três campanhas de amostragem são exibidos nas tabelas 5 e 6.

Tabela 5 - Resultados das análises dos parâmetros físicos e químicos

| Parâmetros | Valores de Referência | Pontos de Amostragem | | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------|----------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | Campanha 1 | | | Campanha 2 | | | Campanha 3 | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| Temp. ambiente °C | ---- | 17 | 17 | 17 | 17 | 18 | 18 | 16 | 15 | 17 |
| Temp. da água °C | ---- | 17 | 16 | 17 | 12 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 |
| pH | 6,0 - 9,0 | 6,4 | 6,5 | 6,6 | 6,2 | 6,3 | 6,3 | 6,6 | 6,9 | 6,8 |
| OD (mg/L) | Mín. 6 mg /L | 5,70 | 6,11 | 6,60 | 5,21 | 5,41 | 5,80 | 4,07 | 4,57 | 4,32 |
| Ferro (mg/L) | Máx. 0,3 mg/L | 0,72 | 0,08 | 0,56 | 0,87 | 0,35 | 0,09 | 2,80 | 1,52 | 2,94 |
| Condutividade (µS/cm) | Máx. 100 µS/cm | 428 | 177 | 204 | 370 | 220 | 250 | 339 | 170 | 205 |
| Turbidez (UNT) | Máx. 40 UNT | 7,68 | 11,46 | 18,54 | 10,7 | 5,04 | 5,27 | 12,16 | 8,88 | 8,50 |
| Cor mgPt/L | Máx. 75 mg Pt/L | 61 | 69 | 68 | 116 | 56 | 50 | 121 | 77 | 386 |

* Valores em negrito representam valores fora do padrão.

Tabela 6 - Determinação quantitativa de metais nos pontos de amostragem

| <i>ELEMENTOS (ppm)</i> | <i>Valores de Referência (CONAMA 357:2005)</i> | <i>PONTO 1</i> | <i>PONTO 2</i> | <i>PONTO 3</i> |
|------------------------|--|----------------|----------------|----------------|
| Cr | 0,05 mg/L | < 0,004 | < 0,004 | < 0,004 |
| Cu | 0,009 mg/L | < 0,002 | < 0,002 | < 0,002 |
| Pb | 0,01 mg/L | < 0,026 | < 0,026 | < 0,026 |

4.1.1 Turbidez

A turbidez indica a quantidade de sólidos em suspensão na água, se mineral (partículas do solo) ou orgânico (algas), medindo a quantidade de luz dispersa a partir de uma amostra (partículas suspensas causam uma maior dispersão) (ECY, 2011). Reflete a alteração da penetração da luz provocada, por exemplo, pelo plâncton, bactérias, argilas e silte em suspensão, fontes de poluição que lançam materiais finos, entre outros (RODRIGUES, 2008).

Esse parâmetro é de extrema importância para a vida aquática, pois Braga et al., (2005), explica que, com o aumento da turbidez, e conseqüentemente a redução da transparência da água, ocorre redução nas taxas fotossintéticas, prejudicando a procura de alimento para algumas espécies, causando um desequilíbrio ecológico.

A turbidez é um parâmetro muito utilizado na avaliação de águas destinadas ao consumo humano, não influenciando diretamente a qualidade de água para a irrigação. Porém, este parâmetro pode ser utilizado para medir a concentração de sedimentos em suspensão, que é de grande importância para a qualidade de água de irrigação (CARVALHO, 1994).

Altas concentrações de material particulado podem ser causadas pelo aumento da sedimentação ou assoreamento de um corpo hídrico, que por sua vez, podem arruinar áreas de habitat importantes para peixes e outros organismos aquáticos (ECY, 2011), sendo um parâmetro importante quando a água se destina

a consumo humano, ou mesmo em certos processos industriais (RODRIGUES, 2008).

Para turbidez, o valor máximo encontrado foi 18,54 UNT no ponto 3. A Resolução nº 357: 2005 do CONAMA determina que para águas de classe 1, o valor limite seja de até 40 unidades nefelométricas de turbidez (UNT). Assim, todas as análises realizadas apresentaram valores dentro dos limites permitidos pela legislação, apesar dos resultados positivos observados nas análises microbiológicas que indicam presença de carga orgânica.

4.1.2 Cor

A cor é uma característica estética e está associada à presença de substâncias dissolvidas, materiais em suspensão. A cor pode ser de dois tipos: aparente e verdadeira. Cor aparente é aquela causada por material em suspensão, já a cor verdadeira é causada por materiais dissolvidos. Segundo o CONAMA nº 357/05 a água tratada deve ter cor aparente no máximo até 75 mg Pt/L. Para Rodrigues (2008), a cor da água é resultado principalmente dos processos de decomposição que ocorrem no meio ambiente, sendo a cor de uma água a consequência de substâncias dissolvidas que nela se encontram.

A cor de uma amostra de água está associada ao grau de redução de intensidade que a luz sofre ao atravessá-la (e esta redução dá-se por absorção de parte da radiação eletromagnética), devido à presença de sólidos dissolvidos, principalmente material em estado coloidal orgânico e inorgânico, plâncton, macrófitas, despejos industriais e esgotos domésticos (RODRIGUES, 2008; CETESB, 2009).

Dentre os coloides orgânicos pode-se mencionar os ácidos húmicos e fúlvicos, substâncias naturais resultantes da decomposição parcial de compostos orgânicos presentes em folhas, dentre outros substratos. Além disso, sabe-se que os esgotos sanitários se caracterizam por apresentarem predominantemente matéria em estado coloidal. Há também compostos inorgânicos capazes de possuir as propriedades e provocar os efeitos de matéria em estado coloidal. Os principais são os óxidos de ferro e manganês, que são abundantes em diversos tipos de solo. Alguns outros metais presentes em efluentes industriais conferem-lhes cor, mas, em

geral, íons dissolvidos pouco ou quase nada interferem na passagem da luz. O problema maior de coloração na água, em geral, é o estético já que causa um efeito repulsivo aos consumidores. (CETESB, 2009).

Observou-se que apenas na 1ª campanha, as três amostras estavam dentro do limite estabelecido pela legislação (máximo 75 mg Pt/L). Isso porque na 2ª campanha as amostras do ponto 1 ultrapassaram este valor chegando a 116 mg Pt/L e na 3ª campanha todas as amostras dos 3 pontos ultrapassaram o valor de referência, com o ponto 3 exibindo o maior valor.

Conforme as características geoquímicas da região estudada e com os resultados das análises microbiológicas, pode-se inferir que as amostras que ultrapassaram os números de referência provavelmente devem ter recebido óxidos de ferro e manganês resultantes da lixiviação dos solos, além de descargas de esgotos domésticos.

Também é importante ressaltar que os maiores valores de ferro encontrados na 3ª campanha podem ser correlacionados com o aumento da cor também na 3ª campanha. Além das prováveis causas já citadas, outro fator que pode ter contribuído para este evento é a ocorrência de uma queda significativa do índice pluviométrico no período, se comparado com a série histórica conforme mostra a figura 10, isto significa dizer que o corpo hídrico não sofreu suficiente diluição para resultar em diminuição de cor e ferro total.

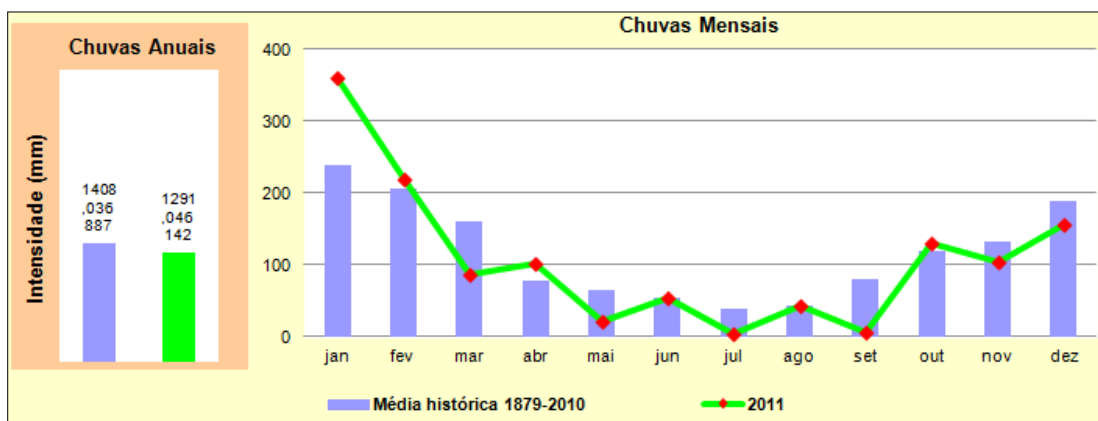


Figura 10 - Comparação do índice pluviométrico anual de 2011 com a série histórica

4.1.3 Temperatura da Água e Ar

Embora a temperatura não seja um parâmetro tão importante para as águas de irrigação, a sua análise em conjunto com outras variáveis permite uma abordagem completa das condições destas águas. Ao realizarmos investigações hidrológicas ou químicas em uma massa d'água qualquer, a análise de fatores físicos é indispensável e a temperatura certamente é um de maior importância entre essas variáveis, pois além de servir ao cálculo na determinação de algumas variáveis, como pressão atmosférica, umidade relativa do ar, entre outras, interfere constantemente no cálculo da alcalinidade, da salinidade, do pH, dos valores de saturação de oxigênio dissolvido, na toxicidade de elementos ou substâncias (PÁDUA, 2011).

Em geral, à medida que a temperatura aumenta, de 0 a 30°C, a viscosidade, a tensão superficial, a compressibilidade, o calor específico, a constante de ionização e o calor latente de vaporização diminuem, enquanto a condutividade térmica e a pressão de vapor aumentam (CETESB, 2009).

Em nosso caso, a temperatura do ar oscilou entre 16 a 18°C. Já a temperatura da água apresentou-se sempre menor em relação à temperatura ambiente, o que é considerado normal. A variação da temperatura aquática ficou entre 13 e 16,5°C.

Considerando-se que as coletas foram realizadas entre final de abril e início de setembro, nas estações do outono e inverno, pode-se afirmar que a temperatura estava adequada para o período, local e horário de amostragem, pois de acordo com a CETESB (2009), variações de temperatura fazem parte do regime climático normal e corpos de água naturais apresentam variações sazonais e diurnas, bem como estratificação vertical. Já a temperatura superficial é influenciada por fatores tais como latitude, altitude, estação do ano, período do dia, taxa de fluxo e profundidade (CETESB, 2009).

Estas temperaturas mais amenas também poderiam indicar a ausência de atividades industriais intensas próximas aos pontos de coleta, visto que, a elevação da temperatura em um corpo d'água geralmente é provocada por despejos industriais e/ou usinas termoelétricas (CETESB, 2009).

4.1.4 Oxigênio Dissolvido (OD)

O oxigênio é frequentemente um parâmetro chave na determinação da extensão e tipos de vida em um corpo de água. A deficiência de oxigênio é fatal para muitos animais aquáticos como peixes (MANAHAN, 2010), sendo desejável uma concentração de OD maior que 5 mg O₂/L para peixes tropicais como tambaqui e pacu, por exemplo (IMBIRIBA, 2000).

As águas poluídas por esgotos apresentam baixa concentração de oxigênio dissolvido, pois o mesmo é consumido no processo de decomposição da matéria orgânica. Por outro lado, as águas limpas apresentam concentrações de oxigênio dissolvido mais elevadas, geralmente superiores a 5 mg O₂/L, exceto se houver condições naturais que causem baixos valores deste parâmetro (ANA, 2009).

A determinação do oxigênio dissolvido é importante para avaliar as condições naturais da água e detectar impactos ambientais como eutrofização e poluição orgânica. O oxigênio dissolvido, juntamente com o pH, são apontados como as principais variáveis na avaliação dos corpos d' água (CONTE e LEOPOLDO, 2001).

Os valores obtidos para oxigênio dissolvido, neste trabalho, demonstraram a quase totalidade das amostras não atingiu os limites mínimos aceitáveis pela legislação. Com exceção de duas amostras (pontos 2 e 3) na 1ª campanha, todas as amostras dos demais pontos nas 3 campanhas, apresentaram resultados inferiores a 6 mg O₂/L, que é o mínimo estabelecido pela Resolução CONAMA nº 357: 2005 para águas de classe 1.

O valor mínimo encontrado foi de 4,07 mg O₂/L e o máximo 6,60 mg O₂/L, podendo-se afirmar que mesmo duas amostras estando dentro do limite aceitável, apresentaram valores próximos ao limite inferior. Os menores valores (entre 4,07 e 4,57) foram observados na 3ª campanha. Esses baixos valores provavelmente refletem a influência dos despejos de esgotos domésticos afetando a dinâmica do oxigênio na água devido à presença de bactérias decompositoras que consomem o oxigênio reduzindo sua concentração nestas águas (VON SPERLING, 2005), sendo este dado corroborado pelos resultados de nossas análises microbiológicas, apresentadas a seguir. Morais (2001) acrescenta que o oxigênio dissolvido não é um parâmetro muito influenciável na escolha do sistema de irrigação, porém é um indicativo importante de poluição dos corpos d'água.

Pode-se afirmar também, que estes baixos valores de OD não se enquadram em águas de classe 1 e sim em águas de classe 2 e 3 onde o mínimo exigido é de 5 e 4 mg O₂/L respectivamente. De modo geral, estes resultados nos revelam que estas águas estão com algum impacto, sendo muito provavelmente, a contaminação de origem orgânica, uma vez que em ambientes aquáticos naturais, na temperatura verificada (13°C - 16,5°C) o teor de OD deveria estar entre 11,3 e 9,2 mg O₂/L, conforme se observa na Tabela 2 (vide seção Referencial Teórico) (ECY, 2011). Esses resultados de OD diferem dos daqueles encontrados por Fravet e Cruz (2007), quando analisaram a água de irrigação de propriedades agrícolas na região de Botucatu e encontraram valores entre 8,28 e 9,57 mg O₂/L, indicando ausência de despejos domésticos nestas águas.

Além da contaminação por poluição orgânica, entre outros fatores que podem influenciar a concentração de OD na água estão a temperatura, a altitude e aeração. A elevação da temperatura diminui a solubilidade do oxigênio na água e a presença de cachoeiras ou ainda de fortes chuvas pela turbulência provocada por esses fenômenos, favorece a oxigenação (BRANCO, 1986 e ZUCCARI, 1992), além da fotossíntese realizada pelo fitoplâncton durante as horas de luz e respiração dos organismos presentes na água (IMBIRIBA et al., 2000). Em dias nublados, onde a incidência de luz sobre os corpos hídricos é menor, também pode contribuir para que a quantidade de oxigênio produzido seja menor (IMBIRIBA et al., 2000) e por isso, talvez, possam ser explicados os valores mais baixos de OD na última campanha, já que a coleta foi realizada nestas condições de clima.

4.1.5 pH

Nas águas superficiais (rios, lagos) o pH é influenciado por diferentes fatores como a geologia da região, onde o corpo de água se insere e por possíveis fontes de poluição (despejo de efluentes domésticos, industrial ou agrícola). O pH das águas pode ser alterado pelo despejo de efluentes domésticos e industriais ou pela lixiviação de rochas e da erosão de áreas agrícolas, onde são utilizados corretivos e fertilizantes (CONTE e LEOPOLDO, 2001).

A influência do pH sobre os ecossistemas aquáticos naturais dá-se diretamente devido a seus efeitos sobre a fisiologia das diversas espécies. Também

o efeito indireto é muito importante podendo, sob determinadas condições de pH, contribuir para a precipitação de elementos químicos tóxicos como metais pesados; outras condições podem exercer efeitos sobre as solubilidade de nutriente (CETESB, 2009).

O pH é um parâmetro químico que pode contribuir para a obstrução de tubulações e emissores em sistemas localizados. Águas com valores de pH acima de 7 podem favorecer a precipitação de carbonatos de cálcio e magnésio em águas com alta dureza (NAKAYAMA e BUCKS, 1986) e a precipitação de alguns fertilizantes fosfatados de baixa solubilidade, quando utilizados para a fertirrigação (COELHO et al., 2002).

A Tabela 5 mostra os valores de pH, onde valor mínimo encontrado foi de 6,16 e o máximo 6,94, sendo que os maiores valores, para os 3 pontos, foram encontrados na 3ª campanha. Pode-se verificar que 100 % das amostras de água analisadas apresentaram pH dentro dos valores limites definidos pela legislação. A Resolução nº 357: 2005 do CONAMA, estabelece valor mínimo de 6 e máximo de 9 para proteção à vida aquática, em águas de classe 1. Já em relação aos sistemas de irrigação, no que diz respeito ao pH, não há riscos de obstruções em tubulações e emissores.

4.1.6 Ferro Total

Na avaliação química da água para a irrigação, a quantificação do nível de concentração de ferro é fundamental, pois esse metal é um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre e por meio do intemperismo das rochas que compõem a bacia de drenagem e outros fatores como o clima, o processo erosivo, a ausência de conservação do solo e a pastagem extensiva com grande potencial erosivo aceleram a chegada deste elemento nos corpos d'água (FRANCO, 2008).

Hernandez et al., 2001 ressalta que atualmente o ferro é um dos principais problemas na água de irrigação, devido à sua capacidade de obstruir fisicamente as tubulações e emissores dos sistemas localizados. Isto ocorre porque o ferro reduzido (Fe^{2+}) é solúvel e, ao atravessar o sistema de filtragem, pode se oxidar, tornando-se insolúvel (Fe^{3+}) Após a oxidação, o ferro fica retido nas paredes do tubo, provocando o aumento nas perdas de carga, comprometendo o projeto de irrigação.

Observando-se os resultados na Tabela 5, verifica-se que aproximadamente 78% (7/9) das amostras analisadas não apresentaram valores aceitáveis de ferro, conforme a legislação, onde o valor máximo permitido para classe 1 deve ser de 0,3 mg/L. Pode-se visualizar que apenas os pontos 2 (1ª campanha) e 3 (2ª campanha) apresentaram valores de ferro abaixo do valor limite estabelecido para a classe 1.

Para a classificação do ferro na água quanto ao problema de entupimento, Nakayama e Bucks (1986) afirmam que os valores críticos estão acima de 1,5 e valores acima deste nível foram encontrados em todos os pontos na 3ª campanha, o que representa elevado risco de danos ao sistema de irrigação. No entanto, na 1ª e 2ª campanha, os valores acima dos padrões variaram de 0,35 a 0,87, o que segundo Nakayama e Bucks (1986), representam um risco moderado ao projeto de irrigação. Já para Hernandez e Petinari (1998), os primeiros pesquisadores no estudo de problemas em tubulações de irrigação no oeste paulista, causados pela elevada concentração de ferro na água, alertam que acima de 0,5 mg/L deve se despendar atenção especial por parte dos projetistas, pois pode obstruir tubulações em pouco tempo e, em grau extremo, até inutilizar o sistema de irrigação.

É importante salientar que na última campanha, todos os valores de ferro encontraram-se elevados em todos os pontos de amostragem. Além da origem natural, as altas concentrações de ferro encontradas também podem ocorrer em função das ações antrópicas decorrentes das atividades desenvolvidas na bacia hidrográfica. Com a precária conservação dos solos no meio rural, os processos de erosão e assoreamento em solos formados a base de sesquióxidos de ferro, aumenta consideravelmente a quantidade de solo em contato com a água, resultando assim, no aumento da concentração de ferro, tanto solúvel como em suspensão na água. VANZELA et al., (2003) e MAURO, (2003) evidenciaram o efeito desse processo na redução da qualidade da água de irrigação. Baseados nesse conhecimento e, no reconhecimento da área de pesquisa, atribuímos, em nosso caso, os valores encontrados aos processos erosivos causados pela má conservação dos solos agrícolas, lixiviação de insumos agrícolas ou até mesmo a despejos domésticos clandestinos (VANZELA et al., 2003; VON SPERLING, 2005; FRANCO, 2008; RODRIGUES, 2008).

Altos valores de ferro com risco elevado de entupimento de sistemas de irrigação, foram encontrados por Franco (2008), quando este avaliou a água de irrigação no córrego do Coqueiro, localizado entre os municípios de Jales e Dirce

Reis no interior do estado de São Paulo. Moura et al., (2007) também encontraram elevadas concentrações de ferro total nas águas do córrego Três Barras, numa região agrícola do município de Marinópolis-SP. Os autores alertam que tais valores de ferro ultrapassaram severamente as concentrações críticas, havendo a necessidade de rigor na escolha de sistemas de filtragem para irrigação localizada, devido ao risco elevado de obstrução de emissores e tubulação. Silva et al., (2009) também encontraram resultados semelhantes na microbacia do Córrego do Boi, localizada no município de Aparecida d'Oeste – SP. Eles atribuíram esses níveis à maior quantidade de chuva, no ano pesquisado, que contribuiu para o escoamento superficial dos solos expostos, e promoveu o aumento na concentração de ferro na água do manancial.

4.1.7 Condutividade

A condutividade elétrica (CE) de uma solução é a capacidade em conduzir corrente elétrica devido à presença de substâncias que se dissociam em ânions e cátions (PORTO et al., 1991; ESTEVES, 1998; RODRIGUES, 2008), sendo por isso, um parâmetro indicativo de sais dissolvidos na água.

Segundo ARCOVA (1996), a condutividade elétrica pode ser muito útil para detectar variações nas características qualitativas da água, uma vez que está diretamente relacionada com a concentração total de íons. Em águas continentais, os íons diretamente responsáveis pelos valores da condutividade são, entre outros, o cálcio, o magnésio, o potássio, o sódio, carbonatos, sulfatos e cloretos (ESTEVES, 1998; RODRIGUES, 2008).

Para a irrigação, o principal problema do excesso de sais na água, é que após a sua deposição no solo, se acumula à medida que a água é evaporada ou consumida pelas culturas podendo resultar em salinização do solo (AYERS e WESTCOT, 1991), podendo promover redução nos rendimentos das plantas, provocar morte em plantas sensíveis aos sais e inviabilizar áreas para a agricultura (WATER RESEARCH COUNCIL, 1989).

A determinação desse parâmetro também permite verificar a influência direta e indireta das atividades desenvolvidas nas bacias sobre os corpos hídricos, como lançamentos de efluentes domésticos e industriais e atividades agropastoris e, de

acordo com Moraes (2001), o resultado da poluição pode ser detectado pelo aumento da condutividade elétrica no curso d'água.

Por indicar a quantidade de sais existentes na coluna d'água, representa, portanto, uma medida indireta da concentração de poluentes. Em geral, níveis superiores a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ indicam ambientes impactados (CETESB, 2009).

Analisando-se a Tabela 5, pode-se observar que nenhuma amostra das três campanhas, atingiu o valor dentro dos limites sugeridos pela CETESB, cujo valor máximo é de 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Os resultados obtidos demonstraram que os pontos 1 e 3 são aqueles com maior carga de sólidos dissolvidos em suas águas, uma medida indireta de concentração de poluentes (CETESB, 2009), o que também significa um manejo inadequado da bacia, com destaque ao ponto 1, que apresentou valores 3 a 4 vezes acima do limite máximo permitido.

O uso e ocupação da terra com a remoção da cobertura vegetal, a implantação de uma agricultura sem controle da erosão, podem favorecer o aumento do escoamento superficial, carregando solos (íons, poluentes e etc) que, ao longo do tempo, promovem o assoreamento dos rios e conseqüentemente pode elevar os valores de condutividade elétrica (FRANCO, 2008).

Altos valores de condutividade apontam a contaminação das águas por resíduos industriais, atividades de mineração, esgoto doméstico, fertilidade do solo da região, insumos agrícolas, etc., e estão entre os aspectos que influenciam os resultados de CE (FRAVET, 2006; RODRIGUES, 2008).

Dos fatores acima citados, com base nas características da região, pode-se inferir que estes elevados valores de condutividade elétrica se dão em razão dos esgotos domésticos, lixiviação de agrotóxicos e fertilizantes, além da origem geoquímica proveniente do solo. Em seu estudo Vanzela (2004) também encontrou valores altos de CE, isto é, obteve o valor máximo de 960 $\mu\text{S}/\text{cm}$, atribuídos provavelmente à presença de uma estação de tratamento de esgoto próxima ao local de amostragem. Argenton et al, (2004) também relataram que os altos valores (330 $\mu\text{S}/\text{cm}$) de condutividade elétrica encontrados foram igualmente atribuídos ao lançamento de efluentes de esgoto da cidade de Itirapina, SP.

4.1.8 Determinação de Metais

A análise individual dos metais não apontou níveis de contaminação fora dos padrões da legislação Conama 357: 2005 para cromo e cobre. Embora seja observado valor acima do limite para chumbo, as concentrações encontradas estão próximas ou abaixo do limite de detecção do método (0,02 mg/L). Em complemento a este estudo, organismos-testes foram utilizados para verificar a toxicidade de metais e as amostras não apresentaram efeito tóxico, além disso, não foi possível correlacionar a presença de genotoxicidade em *Allium cepa* com o elemento chumbo³.

4.2 Análises Ecotoxicológicas

4.2.1 Toxicidade Aguda e Crônica com *Dugesia tigrina*

A utilização de planárias em estudos de impacto ambiental ainda é incipiente no Brasil, existindo poucos registros sobre o assunto. Carbayo e Froehlich (2008) realizaram um inventário por regiões, da diversidade da fauna brasileira conhecida de macroturbelários (classe das Planárias) e compararam esta diversidade com a do resto do mundo. Os resultados mostraram que praticamente a totalidade das 246 espécies nominais descritas procede das regiões Sudeste e Sul. Os autores destacaram que o número de espécies deverá aumentar significativamente quando forem feitas novas coletas, tanto em biomas e regiões ainda pouco ou nada explorados, quanto nas áreas já amostradas.

Knakievicz (2007) ofereceu importante contribuição, quando caracterizou a biologia de populações de planárias nativas do Rio Grande do Sul. A pesquisadora estudou as espécies *Girardia tigrina* e *Girardia schubarti*, quanto ao seu modo de reprodução, ciclo de vida, capacidade de regeneração e à suscetibilidade a agentes tóxicos e mutagênicos. Tais ensaios foram padronizados para a avaliação dos efeitos da exposição de *G. tigrina* a soluções de sulfato de cobre, fornecendo informações sobre um sistema padronizado de bioensaios rápidos, sensíveis e baratos para biomonitoramento ambiental dos ecossistemas de água doce.

3 Informação fornecida pelo Prof. Dr. Gilson Alves Quináglia no exame de qualificação, em junho de 2012.

Sant'Anna et al., (2007) também fizeram experimentos com planárias, com o objetivo de fornecer subsídios a estudos que utilizem planárias como modelo animal, descrevendo sua biologia reprodutiva abordando os aspectos como número e comprimento das cápsulas de ovos, tempo de eclosão e número e tamanho dos animais recém eclodidos por cápsula de ovo em laboratório. O estudo mostrou que sob condições de laboratório, com temperatura e alimentação controladas, *D. tigrina* se reproduz durante todo o ano, apresentando maior postura durante o segundo trimestre.

Barros et al., (2006) analisaram a ação do efluente da Refinaria Petróleo de Paulínia (REPLAN) em testes com planárias da espécie *Dugesia (Girardia) tigrina* em estado de regeneração, com o intuito de estabelecer condições para utilizá-las no monitoramento da eficácia do tratamento aplicado pela refinaria. Detectaram efeito altamente tóxico apenas para os indivíduos testados na amostra referente ao término do tratamento primário, porém ao final do processo de tratamento, o efluente da REPLAN não ocasionou nenhum efeito na regeneração cefálica.

Annibale (2009) e Bruzon (2010) cultivaram ou planárias testando e aperfeiçoando métodos de cultivo de planárias da espécie *Girardia tigrina* em laboratório, voltados a testes ecotoxicológicos. Os ensaios testaram a sensibilidade dessa população a diferentes concentrações de dicromato de potássio, durante o processo de regeneração desses animais. Os resultados do teste padrão (com amostras de água) mostraram que o tempo médio para a regeneração da região cefálica foi de 06 dias. Já nos testes com diferentes soluções de dicromato de potássio, os resultados indicaram uma CL50 para essa espécie de 27,49 mg/L e 34 mg/L, respectivamente. Bruzon (2010) realizou ainda, testes com cepas de *Microcystis aeruginosa* tóxicas, que foram submetidas à lise celular e indicaram que a presença destas compromete o desenvolvimento cefálico das planárias, além de promover comportamentos anômalos, como hipersensibilidade.

Becker et al., (2010) realizaram testes de toxicidade com planárias da espécie *Girardia schubarti* utilizando o cloreto de mercúrio (HgCl_2). Observaram que em um período de 24h, a concentração testada de mercúrio já havia causado efeitos nas planárias e apenas o controle que continha somente água destilada não sofreu nenhuma alteração.

Duas espécies de planárias de água doce (*Girardia schubarti* e *G. tigrina*) também foram empregadas em ensaios de genotoxicidade, onde foi avaliada a

indução de aberrações cromossômicas (AC) por exposição química ao Metil Metano Sulfonato (MMS) e à ciclofosfamida e por exposição física à radiação γ . Todos os três agentes produziram respostas positivas em ambas as espécies, sendo que houve um comportamento dose-resposta com MMS, e, em geral, *G. tigrina* foi um pouco mais sensível para a genotoxicidade dos agentes testados, do que *G. schubarti* (LAU et al., 2007).

No presente trabalho empregamos o ensaio de toxicidade aguda e crônica com a espécie *Dugesia tigrina* nas amostras coletadas nos três pontos experimentais, repetidos em três campanhas. Os dados apresentados [Tabela 7] mostram que os resultados foram negativos para mortalidade nas três campanhas para os três pontos, isto é, a resposta dos organismos foi negativa à exposição a água de irrigação das hortaliças, no ensaio de toxicidade aguda.

Não houve alteração na coloração e nem na mobilidade das planárias, no entanto, foi observada uma mudança comportamental na primeira e terceira campanha, onde a resposta à luminosidade foi abolida, isto é, os organismos não responderam negativamente à luz. Este comportamento só foi observado na segunda campanha onde todos os indivíduos expostos (exceto os controles) ficaram na parte mais funda do tubo onde foi realizado o ensaio, o que significa que a resposta à luminosidade foi mantida.

Desta forma, pode-se concluir que as amostras da primeira e terceira campanhas promoveram uma ação tóxica crônica sobre as planárias. A toxicidade aguda não foi observada em nenhuma das amostras em nenhuma das campanhas.

A ausência de mortalidade destas planárias pode indicar que contaminantes presentes nas amostras encontravam-se diluídos, ou em uma concentração não letal. A não sensibilidade das planárias a estas condições, também pode estar associada ao fato destes organismos serem bentônicos, se fixando sempre nos sedimentos dos corpos d'água. Portanto, para uma melhor avaliação da toxicidade das amostras, sugere-se a continuidade do experimento com a utilização dos sedimentos destes corpos hídricos.

Os resultados destes bioensaios corroboram com os dados dos demais ensaios ecotoxicológicos realizados neste estudo. Apesar dos resultados das análises físicas, químicas e microbiológicas indicarem a presença de altas cargas de poluição orgânica, possivelmente oriundas de esgotos domésticos, este tipo de poluição não foi capaz de promover uma significativa toxicidade aos organismos

testados neste estudo, como a alga *Selenastrum capricornutum* e *Allium cepa* (cebola), comentados a seguir.

Tabela 7 - Resultado dos testes de toxicidade aguda e crônica com as Planárias (*Dugesia tigrina*)

| Mortalidade de indivíduos após 48hs e 72hs | | | | | | |
|--|------------|------------|------------|------------|-------------|-----------------|
| Amostras | 10% | 25% | 50% | 75% | 100% | Controle |
| Ponto 1 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| Ponto 2 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| Ponto 3 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |

*n=5 indivíduos

4.2.2 Toxicidade crônica com *Selenastrum capricornutum*

A alga *S. capricornutum* pode ser considerada um bom organismo-teste indicador de impactos ambientais, podendo apresentar maior sensibilidade que outros organismos da biota aquática, quando expostos a um mesmo agente (RODRIGUES, 2002). Por meio de ensaios ecotoxicológicos em águas subterrâneas potencialmente impactadas, Arenzon (2004), verificou uma grande sensibilidade de *S. capricornutum* para as amostras analisadas, o que também foi observado por Baun et al., (1998), que monitorando água superficial e determinando a toxicidade de pesticidas, realizaram testes de inibição de crescimento de algas e testes de imobilização com *Daphnia magna*. Os resultados indicaram que a alga *S. capricornutum* provou ser mais sensível que *D. magna* para todas as amostras estudadas.

Testes realizados com *S. capricornutum*, apontaram toxicidade aguda e crônica em compostos químicos presentes em diferentes tipos de efluentes provenientes de atividades industriais tais como mineração, metalurgia, petroquímica, papel e celulose, pintura automotiva, além de componentes químicos encontrados em pesticidas, inseticidas, herbicidas, metais entre outros (FAIRCHILD et al., 1998 ; SARAQUINOS e RASMUSSEN, 1998; BAUN et al., 1998; ROJÍCKOVÁ-PADRTOVÁ e MARSÁLEK, 1999; RADIX et al., 2000; LEBLOND e DUFFY, 2001; HARTMANN, 2004; PAIVA, 2008).

Sobre a toxicidade de herbicidas, Fairchild et al., (1998) realizaram ensaios comparando a sensibilidade relativa de espécies de algas e de macrófitas. De todas as espécies de algas testadas, *S. capricornutum*, foi a espécie que exibiu maior sensibilidade relativa aos herbicidas avaliados. Conclusões semelhantes chegaram ROJÍCKOVÁ-PADRTOVÁ e MARSÁLEK (1999), quando testaram a sensibilidade de sete espécies de algas a diferentes metais e herbicidas, confirmando também que a espécie *S. capricornutum* foi a mais sensível de todas as algas testadas.

Avaliando a toxicidade de efluentes provenientes da fabricação de papel e celulose, Sarakinos e Rasmussen (1998), realizaram ensaios crônicos para algas (*Selenastrum capricornutum*), cladóceros (*Ceriodaphnia dubia*) e peixes (*Pimephales promelas*). Os resultados mostraram um potencial tóxico letal e subletal do efluente.

Em ensaios de toxicidade crônica para algas (*Selenastrum capricornutum*), bactérias (*Vibrio fischeri*) e invertebrados (*Daphnia magna* e *Brachionomus calyciflorus*) com compostos orgânicos e inorgânicos (metais, surfactantes e pesticidas), as algas apareceram como a espécie mais sensível apesar de os quatro testes apresentarem uma mesma ordem de magnitude (RADIX et al., 2000).

Por meio da realização de ensaios de toxicidade com três espécies de organismo-teste diferentes, *Selenastrum capricornutum*, *Ceriodaphnia dubia* e *Pimephales promelas*, para um efluente da indústria petroquímica, Hartmann (2004) concluiu que o efluente conferia toxicidade, apesar da grande maioria dos parâmetros físicos e químicos examinados estarem dentro dos padrões da Resolução nº 20/86 do CONAMA. Dentre as espécies testadas, *Selenastrum capricornutum* também se mostrou mais sensível à detecção de poluentes.

Neste trabalho, a *S. capricornutum* foi empregada no ensaio de toxicidade crônica para que, em conjunto com demais ensaios, permitisse a avaliação ecotoxicológica da qualidade da água de irrigação dos três locais amostrados. A Figura 11 apresenta a média dos resultados obtidos com os testes de toxicidade crônica com a alga *Selenastrum capricornutum* (*Pseudokirchneriella subcapitata*).

Analisando a Figura 11, observa-se que as concentrações de 100% (água bruta) e 50% das amostras dos 3 pontos não diferiram significativamente em relação ao controle, mostrando que nestas concentrações não houve toxicidade e portanto, não houve inibição do crescimento das algas. Já em todas as amostras a 25%, observou-se um crescimento maior que o controle, para esta maior diluição. Neste caso, houve, provavelmente, um ajuste na concentração de nutrientes, de tal modo

que nesta diluição, as concentrações ficaram adequadas para a reprodução das algas.

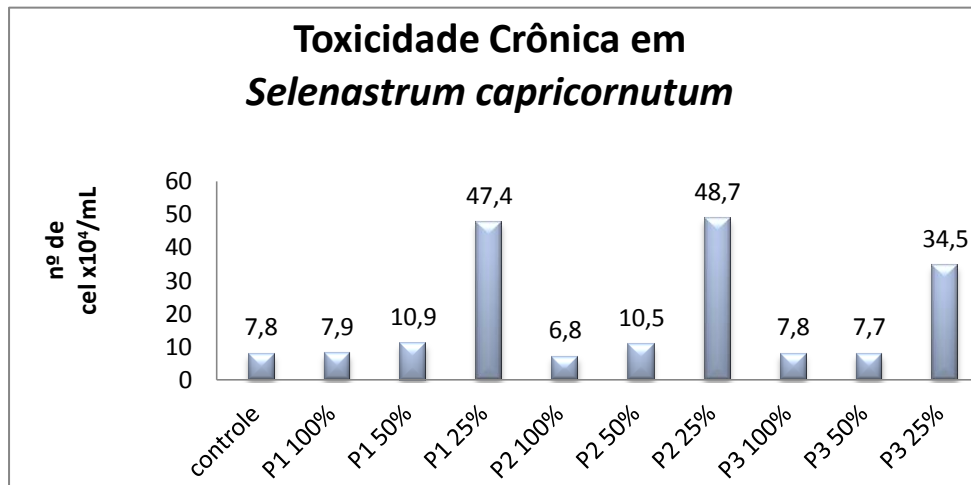


Figura 11 - Ensaio de toxicidade crônica com *Selenastrum capricornutum*

Estes resultados de super crescimento, após a diluição das amostras, podem ser atribuídos à presença de nutrientes da matéria orgânica na água, possivelmente oriunda de despejos domésticos e/ou mais provavelmente fertilizantes lixiviados das próprias áreas cultivadas, o que estimularia o crescimento das algas. Entretanto, quando tal estímulo é excessivo, pode ser prejudicial aos corpos hídricos, pois caso haja um crescimento populacional exagerado destas algas, esbarra-se no problema da eutrofização (situação não observada visivelmente no momento da coleta).

4.2.3 Análise de Genotoxicidade e Mutagenicidade em *Allium cepa*

Os testes de biomonitoramento, usando-se *A. cepa*, por se realizarem num sistema eucarioto, podem conferir um maior grau de proximidade a espécies da biota exposta a substâncias tóxicas (FISKESJÖ, 1988; RIGONATO e JORDÃO, 2002). Embora um grande número de sistemas desenvolvidos para monitorar poluentes genotóxicos possa ser utilizado, é difícil monitorar baixos níveis desses poluentes e fazer um prognóstico ambientalmente realista, em se tratando de ecossistema. Nestes casos, o uso de *A. cepa* tem sido indicado, devido à sua

grande sensibilidade (MORAES et al., 2002) e possibilidade de extrapolação de resultados com bom grau de segurança a mamíferos (GRANT,1982; RANK e NIELSEN, 1994).

El Shahaby et al., (2003), consideraram o sistema teste de *Allium cepa* o mais adequado para detecção de toxicidade e genotoxicidade para avaliação de níveis de poluição ambiental em águas superficiais, os quais representam riscos diretos ou indiretos para a população humana.

Os resultados das análises realizadas nas três campanhas estão demonstrados na Figura 12. Os valores de IAC e IMN apresentados representam a média dos valores encontrados nas três campanhas.

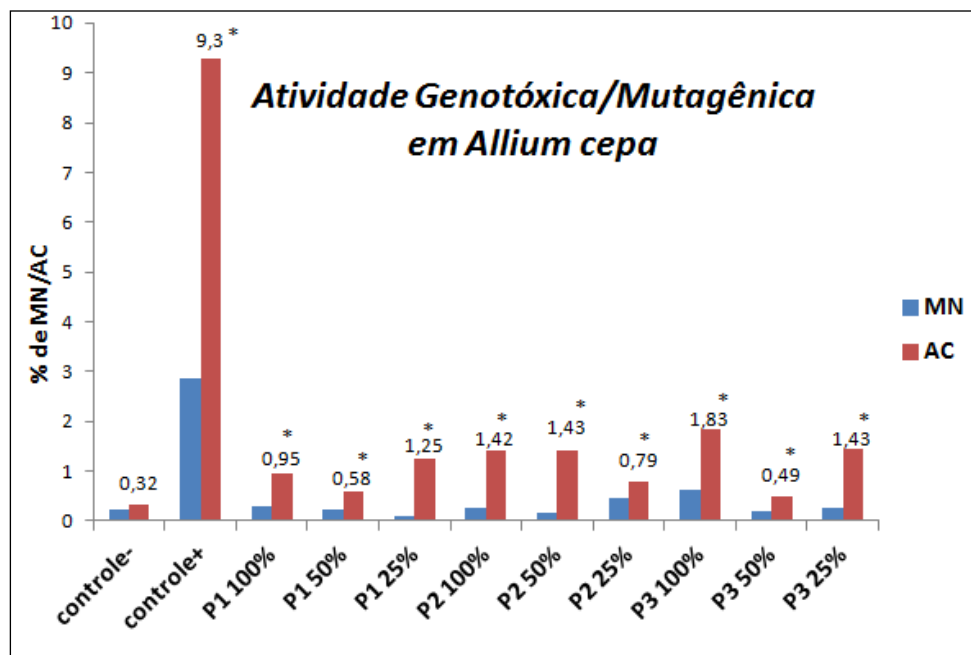


Figura 12 - Porcentagem de micronúcleos (MN) e aberrações cromossômicas (AC) em células de *Allium cepa*

* Valores de AC significativamente maiores que o controle negativo

Os bulbos de *Allium cepa* expostos às águas coletadas nos três pontos estudados exibiram altas frequências de aberrações cromossômicas (AC). A porcentagem de aberrações cromossômicas (AC) das amostras nas três campanhas foi estatisticamente diferente do controle negativo, realizado com água destilada. Em relação à atividade mutagênica, representada pela contagem de micronúcleos (MN) na porção F1, não se verificou diferenças significativas entre estes resultados e o controle negativo, demonstrando, portanto, que não houve atividade mutagênica nas

amostras analisadas. Estes resultados são indicativos de que as AC ocorridas nas células meristemáticas sofreram processo de reparo durante a divisão celular.

De modo geral, os maiores valores de atividade genotóxica foram encontrados nos pontos 2 e 3, sugerindo um maior comprometimento destes 2 pontos pela presença de compostos genotóxicos. As amostras puras (100%) dos pontos 2 e 3, apresentaram uma maior atividade genotóxica, sendo que para os pontos 1 e 3 nas diluições de 25%, verificou-se maiores valores em relação às concentrações de 50%. Isso sugere que o efeito genotóxico do composto é independente de sua dose.

Resultados positivos, detectados pela análise de alguns parâmetros em bioensaios com plantas superiores, indicam a presença de substâncias genotóxicas e/ou citotóxicas no meio ambiente, demonstrando um risco potencial direto ou indireto para os seres vivos em contato com o mesmo (FISKESJÖ, 1997).

Embora neste estudo, não tenha sido verificado atividade mutagênica significativa, a genotoxicidade observada não deixa de ser um importante indicador de poluição ambiental. Gopalan (1999) e Ma (1999) afirmaram que na realização de bioensaios com plantas sensíveis à detecção da genotoxicidade a agentes industriais, estes podem servir como um primeiro alerta para detectar a presença de perigo ambiental na água, ar e solo. Fernandes (2005) acrescenta que, se estas alterações no DNA não forem devidamente reparadas pelo sistema celular, podem levar a mutações, cujos efeitos podem ser desde a inviabilidade celular até o desenvolvimento de processos carcinogênicos.

Aberrações cromossômicas (AC) são reconhecidas como importantes consequências de ações genotóxicas de agentes químicos (NATARAJAN, 2002), aos quais muitos organismos, inclusive o homem, estão expostos. Estudos epidemiológicos têm mostrado que pessoas com elevadas frequências de AC apresentam risco significativo de desenvolvimento de câncer (OBE et al., 2002).

Não foram investigadas as causas das altas frequências de AC observadas neste estudo. Todavia, sabe-se que a atividade genotóxica é causada pela ação sinérgica de poluentes de natureza química diversas presentes no ambiente, por tratar-se a amostra ambiental de uma mistura complexa (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006). Portanto, a continuidade deste estudo a fim de investigar os tipos de compostos, bem como as suas fontes de origem, por meio de metodologias mais sensíveis seria o próximo passo neste estudo.

Segundo os trabalhos de Leme e Marin-Morales (2009) os testes com *A. cepa* tem sido usados para detectar uma grande variedade de poluentes ambientais tais como metais pesados, agrotóxicos, derivados de petróleo, corantes têxteis, misturas complexas, entre outros agentes.

Nas últimas décadas, a contaminação ambiental por metais pesados tem aumentado muito, principalmente com o desenvolvimento da indústria moderna (STEINKELLNER et al., 1998). Metais tóxicos originados de metalúrgicas, indústrias de aço, de curtumes e de fertilizantes, liberados por indústrias de plástico e alimento, assim como esgoto urbano, com poucas exceções, são despejados em águas de rios (RAMALHO et al., 1999; MATSUMOTO e MARIN-MORALES 2004; MATSUMOTO et al., 2006). Outros resíduos, como agrotóxicos e mercúrio de garimpo, também são frequentemente lançados no meio ambiente e nos rios (LACERDA et al., 1993).

Os metais pesados caracterizam uma classe de poluentes com ação mutagênica, genotóxica e citotóxica (CHRISTOFOLETTI, 2008). Diversos estudos têm apontado os metais como agentes tóxicos e genotóxicos aos seres vivos. Dentre eles, destacam-se o alumínio (Al), chumbo (Pb), cádmio (Cd), cobre (Cu), níquel (Ni), zinco (Zn), mercúrio (Hg) manganês (Mn), crômio (Cr), entre outros (FISKESJÖ, 1981; FISKESJÖ, 1988; ZHANG e XIAO, 1998; JIANG e LIU, 2000; INCEER et al., 2000; CHANDRA e GUPTA, 2002; PATRA et al., 2004; CHANDRA et al., 2004; MATSUMOTO e MARIN-MORALES, 2004; SAMARDAKIEWICZ e WOŹNY, 2005; MARCANO et al., 2006; MATSUMOTO et al., 2006; MUYSSSEN et al., 2006; FUSCONI et al., 2007; MIGID et al., 2007; SETH et al., 2008; ACHARY e PANDA, 2009; GUERRA, 2009).

A contaminação dos solos com metais pesados é comum em áreas urbanas e periurbanas, devido à presença de atividades industriais do passado e presente, e ao uso de combustíveis fósseis (VAN LUNE, 1987; SANCHEZ-CAMAZANO et al., 1994; STERRET et al., 1996; WONG, 1996; CHRONOPOULOS et al., 1997). Além disso, na agricultura urbana, águas residuais muitas vezes são as principais fontes de água para irrigação, bem como os resíduos sólidos orgânicos que são utilizados como fertilizantes para aumentar a produtividade de cultivos básicos e produtos hortícolas (URIE, 1986; FEIGIN et al., 1991; QADIR et al., 2000). Efluentes domésticos ou industriais e resíduos sólidos são frequentemente ricos em metais pesados e podem contribuir significativamente com carga destes metais na irrigação

e e em solos urbanos (NYAMANGARA e MZEZEWA, 1999; NAN et al., 2002; SINGH et al., 2004; MAPANDA et al., 2005).

Metais pesados podem entrar no corpo humano por inalação de poeira, consumo de água contaminada ou ingestão de culturas plantadas em terrenos contaminados (CAMBRA et al, 1999; DUDKA e MILLER, 1999). Estima-se que esta via contribui com até 70% da ingestão de cádmio (RYAN et al, 1982; WAGNER, 1993). Vegetais podem acumular metais pesados através do solo contaminado e também quando estão expostos à deposição da superfície nos seus brotos em ambientes de poluição atmosférica (LOCK e ZEEUW, 2001).

Tendo em vista que uma das principais preocupações na agricultura urbana, nos países em desenvolvimento, é a transferência de metais pesados nos vegetais pela cadeia alimentar dos seres humanos, vários estudos vem sendo conduzidos para avaliar a presença destes contaminantes em vegetais, no solo ou nas águas que os irrigam.

Em um estudo realizado no distrito industrial de Jajmau, Kanpur na Índia, foi avaliada a contaminação por metais nos solos agrícolas, devido à irrigação em longo prazo com efluentes industriais tratados e sua subsequente acumulação nos vegetais. A análise dos resultados revelou que a acumulação de metais tóxicos, como o crômio foi encontrado mais em vegetais folhosos, do que em frutas e legumes. É importante notar que o metal tóxico níquel não foi detectado em todas as plantas, pois a parte comestível dos vegetais (sob a terra), tais como o alho, batata e cúrcuma, acumularam um menor nível de crômio, do que nos vegetais de folhas verdes e algumas frutas. Em alguns vegetais como melão amargo, berinjela, jaqueira, milho e quiabo, a acumulação de crômio não foi detectada e, portanto, podem ser cultivadas nesta área, entretanto, recomenda-se que os vegetais folhosos não sejam cultivados em tais áreas contaminadas (SINHA et al., 2006). Resultados semelhantes foram encontrados por Neves et al., (2009) quando realizaram experimentos cultivando batata, feijão e alface em solo contaminado, utilizado por agricultores locais, nas proximidades de uma mina de urânio fechada em Portugal. A maior concentração de urânio encontrada foi no alface, seguida do feijão verde e da batata. Estes resultados indicam que a acumulação de metal difere de planta para planta e, portanto, vegetais folhosos acumulam maiores quantidades de metais pesados.

Em outro estudo realizado por Sinha et al., (2008) no mesmo distrito industrial de Jajmau, Kanpur na Índia, avaliou-se a possibilidade uso do solo contaminado por esgoto de curtume tratado e o uso de lodo de curtume na agricultura. Foram cultivados *Vigna radiata* (feijão da china) em solo contaminado, e irrigados com as águas subterrâneas. Os resultados mostraram que não houve a translocação de metais tóxicos, como o cromo na parte superior da planta e sua biomassa aumentou quando irrigada com águas residuais em comparação com a água subterrânea. Nas sementes das plantas cultivadas com até 25% de lodo do curtume, não houve a translocação do cromo. Os autores alertam que o monitoramento periódico é necessário antes do consumo destes grãos.

Weldegebriel et al., (2012) utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica, analisaram amostras de vegetais, água e solo em uma região da Etiópia, a fim de avaliar a dimensão e a tendência de acumulação de metais nestes sistemas e preocupações com o risco da saúde dos consumidores. Os resultados encontrados nas amostras de vegetais revelaram presença de cádmio e chumbo acima dos níveis permitidos. Na maioria das amostras de água coletadas, também se encontrou elevados níveis de cádmio, cobalto, cobre, manganês e níquel.

Utilizando esta mesma técnica, Gupta et al., (2011) também analisaram a concentração de metais pesados em partes comestíveis de culturas irrigadas com águas residuais no município de Titagarh, na Índia Tropical. Os resultados mostraram que as concentrações de Pb, Zn, Cd e Cr estavam acima do limite seguro estabelecido pela FAO, OMS e pelos padrões indianos, sendo o espinafre e o rabanete os mais contaminados por estes metais. Em outra região localizada no Norte da Índia (Varanasi), Ghosh et al., (2012) avaliaram o impacto a longo prazo da aplicação de esgoto tratado para irrigação de vegetais e constataram quantidades de cromo e níquel acima dos limites permitidos para sua utilização como água de irrigação. Nabo, rabanete e espinafre foram considerados como hiperacumuladores de metais pesados, enquanto que berinjela e couve flor acumularam uma menor quantidade. A avaliação de riscos à saúde pelo consumo destas hortaliças, indicou que os legumes eram seguros para o consumo humano, porém sugere-se que a acumulação significativa de metais pesados no solo e na planta precisa ser monitorada.

Na região periurbana da cidade de Peshawar, no Paquistão, Ullah et al., (2011), também analisaram amostras de água de esgoto, do solo, de águas

subterrâneas e de vegetais. O objetivo era investigar o impacto causado pelas águas residuais na irrigação, como fonte de acumulação de metais pesados no solo e sua posterior transferência para as culturas e em água subterrânea. As análises de dados revelaram um considerável impacto das práticas de irrigação nesta região, e foi apontada uma correlação positiva entre a concentração de metais pesados e do conteúdo de carbono no solo. Os resultados indicaram maior concentração de metais tóxicos no solo acumulados devido ao uso em longo prazo de águas contaminadas na irrigação, e sua subsequente transferência para a cadeia alimentar humana.

Em Xochimilco, uma região periurbana da Cidade do México, De Leon et al., (2010) fizeram experimentos em campo cujo o objetivo era avaliar a provável entrada de metais pesados da água de irrigação em culturas de *Latuca sativa* (alface) e sua possível acumulação em regimes de exposição ou não à luz solar. Constataram que em exposição ao sol pode-se haver maior acumulação de metais tóxicos às culturas devido à alta capacidade de troca catiônica.

Conforme apresentado na tabela 6, nossos valores encontrados para os metais Cr e Cu não apresentaram valores superiores aos limites previstos na Resolução Conama 357: 2005. Embora os valores para Pb estivessem acima do limite permitido, os números encontrados estavam próximos ou abaixo do limite de detecção do método (0,02 mg/L) e as amostras não apresentaram efeito tóxico aos organismos testados nos ensaios ecotoxicológicos deste estudo. Também não foi possível fazer correlação entre a atividade genotóxica observada em *Allium cepa* com o elemento Pb.

Sabe-se, ainda, que a toxicidade particularmente para amostras ambientais, via de regra, não pode ser atribuída a compostos individuais, principalmente por tratar-se de uma amostra complexa e composta pela combinação de vários componentes (LEME e MARIN-MORALES, 2009).

Além dos metais, outros componentes químicos são relatados como indutores de aberrações cromossômicas e outras alterações no DNA de *Allium cepa*. A ação genotóxica e mutagênica dos agrotóxicos foi comprovada em bioensaios com *Allium cepa*, como por exemplo, aqueles contendo glifosato, beta-ciflutrina e fention em sua composição (LEME e MARIN-MORALES, 2009; KRÜGER, 2009). Este resultado foi igualmente encontrado por Rank et al., (1993) quando analisaram a ação do herbicida Roundup e seu ingrediente ativo, o glifosato, e encontraram valores

significativos de AC em raízes de *A. cepa*. Observações feitas por Fernandes (2005) demonstraram que, por meio das alterações cromossômicas observadas em *Allium cepa*, o herbicida trifluralina pode ser considerada uma substância aneugênica. Portis et al., (2011) também comprovaram o potencial de indução de alterações cromossômicas para todas as concentrações avaliadas, causadas pelo fungicida Tebuconazole. Outros estudos também apontaram a ação genotóxica e mutagênica em *A. cepa*, de agrotóxicos como: herbicida diuron, inseticidas piretróides, herbicida atrazina, entre outros (CHAUHAN et al., 1998; CHAUHAN et al., 1999; BOLLE et al., 2004; SRIVASTAVA e MISHRA, 2009).

Hydrocarbonetos aromáticos também são considerados agentes indutores de alterações no DNA. Os ensaios com *Allium cepa* tem se mostrado eficazes para detectar a genotoxicidade do benzeno e benzopireno (FISKESJO e LASSE, 1982; RANK e NIELSEN, 1994). Avaliando a influência genotóxica de efluentes em um campo de petróleo na Nigéria, Odeigah et al.,(1997), observou que o efluente induziu as AC em células meristemáticas de *A. cepa*, mesmo com diferentes concentrações de amostras. Mazzeo (2009) também analisou efluentes derivados de petróleo como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX), e conclui que a mistura BTEX pode promover alterações danosas no material genético de *Allium cepa*.

As misturas complexas também são responsáveis por apresentar genotoxicidade e mutagenicidade na água e no solo. Misturas complexas se caracterizaram pela maior parte das amostras do ambiente, uma vez que podem sofrer a influência de contaminação por várias fontes. Assim, vários estudos foram realizados com o teste de *Allium cepa* para avaliar amostras ambientais, como água e solo de áreas contaminadas, e a maioria deles têm mostrado resultados positivos (LEME e MARIN-MORALES, 2009). Estes estudos apontaram a influência genotóxica e mutagênica de misturas complexas presentes em efluentes industriais e municipais (EL-SHAHABY et al., 2003; FÁTIMA e AHMAD, 2006), águas superficiais e subterrâneas de áreas urbanas e industrializadas (SMAKA-KINCL et al., 1996; GANA et al., 2008), águas residuais provenientes de atividades industriais têxtil, de papel e celulose, suco de limão, açúcar e atividades de mineração (GANA et al., 2008).

4.3 Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes

Muito embora os aspectos físicos e químicos sejam de grande importância para irrigação, os aspectos biológicos são os que mais afetam a qualidade das hortaliças, em especial aquelas consumidas *in natura* (MAROUELLI e SILVA, 2006).

Ao longo dos últimos anos, houve um crescente consumo de vegetais verdes folhosos, visto que as pessoas mudaram seus hábitos alimentares a fim de obterem um estilo de vida saudável. Entretanto, Taban e Halkman (2011) afirmam que vegetais frescos e verdes folhosos, foram reconhecidos como uma fonte de surtos de intoxicação alimentar em muitas partes do mundo. Segundo os autores, tanto na Europa como nos EUA, os recentes surtos de intoxicação alimentar, revelaram ligações entre alguns patógenos e vegetais verdes folhosos como, por exemplo, alface e espinafre, que carregam um potencial risco de contaminação microbiológica devido o uso de água de irrigação não tratada, de fertilizantes orgânicos inadequados, falha durante a colheita, manuseio, processamento e embalagem.

Dentre os fatores de contaminação microbiológica citados acima, Marouelli (2004) menciona a água de irrigação como o mais importante aspecto em relação ao aparecimento de doenças em uma lavoura. Mattos et al., (2009) também afirmam que a contaminação microbiológica em hortaliças é devido ao uso de água contaminada, e acrescenta que a contaminação química seria resultante da aplicação de defensivos agrícolas.

As águas superficiais utilizadas para a irrigação de hortaliças, principalmente nos cinturões verdes dos centros urbanos, estão, em geral, severamente contaminadas por esgotos domésticos não tratados. Além da contaminação por efluentes domésticos, o escoamento superficial também pode contribuir para a contaminação das fontes usadas na irrigação. O escoamento superficial da água de chuva ou irrigação em um campo infectado por bactérias patogênicas, por exemplo, pode contaminar fontes de água à jusante da área irrigada, principalmente aquelas superficiais, como tanques, represas, rios e riachos (MAROUELLI, 1998).

Hortaliças principalmente as consumidas cruas, quando irrigadas por tais águas podem servir de veículo de transmissão de uma série de doenças aos consumidores, como amebíase, giardíase, cólera, febre tifoide, verminoses, além do acúmulo de elementos nocivos em órgãos como o fígado. Algumas doenças como a

esquistossomose, podem ser transmitidas por águas com índices relativamente baixos de contaminação fecal (MATTO, 2003).

Entre uma vasta gama de patógenos causadores de doenças transmitidas por alimentos, *Escherichia coli*, *Salmonella spp* e *Listeria monocytogenes* são os patógenos mais comuns que contaminam os vegetais verdes folhosos. Crianças, idosos, mulheres grávidas e pessoas imunodeprimidas são mais suscetíveis em desenvolver doenças alimentares, como resultado da ingestão de verduras contaminadas ou saladas prontas para consumo (TABAN e HALKMAN, 2011).

Uma das garantias das condições sanitárias das hortaliças é feita por meio do controle das características físicas, químicas e microbiológicas da água de irrigação. Segundo Silva (2007), a avaliação das condições microbiológicas é realizada por meio da detecção de bactérias do grupo coliforme, que são os principais indicadores de poluição fecal, pois habitam o trato intestinal, sendo eliminados em grande número pelas fezes. Esse parâmetro de controle de qualidade da água para irrigação tem merecido grande atenção nos últimos tempos devido à difusão das técnicas de reúso de águas residuárias para irrigação (PATEMIANI e PINTO, 2001).

De acordo com Branco (1986), o grupo de bactérias coliformes é encontrado no intestino de animais de sangue quente (homem, porco, cão, vaca), onde vivem saprofiticamente, não causando, em geral, nenhum dano ao hospedeiro. Cada pessoa descarta de 100 a 400 bilhões de organismos coliformes por dia, além de outras bactérias. Tais organismos nem sempre são patogênicos, mas indicam uma possível contaminação e a potencialidade de transmissão de doenças.

Neste trabalho foram realizadas análises microbiológicas qualitativas e quantitativas. Conforme os resultados qualitativos apresentados na Tabela 8, pode-se observar que em todas as amostras das 3 campanhas, foram constatadas a presença de coliformes totais nestas águas. Já para coliformes fecais, sua presença foi identificada nas campanhas 1 e 3, não sendo verificados na 2ª campanha.

Apesar da não existência de padrões federais para níveis de coliformes totais em hortaliças e em águas de irrigação, a utilização de coliformes como indicadores de condições higiênicas pode indicar que uma alta contagem desses microrganismos no alimento ou água de irrigação, significaria uma possível contaminação durante a produção, limpeza e sanificações deficientes, ou até mesmo multiplicação desses, durante o processamento ou estocagem, conforme pesquisado por Takayanagui et al., (2000).

Tabela 8 - Análises microbiológicas qualitativas para coliformes totais e fecais

| | | Coliformes Totais | Coliformes Fecais |
|--------------|----|-------------------|-------------------|
| Campanha I | P1 | presente | presente |
| | P2 | presente | presente |
| | P3 | presente | presente |
| Campanha II | P1 | presente | ausente |
| | P2 | presente | ausente |
| | P3 | presente | ausente |
| Campanha III | P1 | presente | presente |
| | P2 | presente | presente |
| | P3 | presente | presente |

A pureza bacteriológica é o mais importante parâmetro, pois é ele que determinará a real qualidade da água. A presença das bactérias do grupo dos coliformes na água de um rio significa que esse rio recebeu esgotos ou matérias fecais (DEBERDT, 2003). Souza e Perrone (2000) e Conte et al., (2004), esclarecem que a presença de coliformes totais em matrizes ambientais, não indica necessariamente contaminação de origem fecal, já que o grupo designado como coliformes totais engloba um grande número de bactérias, não só exclusivamente de origem fecal como *Escherichia coli*, que dificilmente multiplica-se fora do trato intestinal, mas engloba também outras bactérias dos gêneros *Citrobater*, *Eritrobacter* e *Klebsiella*, que são comumente encontradas no solo e nos vegetais. Por este motivo, a contagem de coliformes totais em água ou alimentos é menos representativa para a determinação da contaminação fecal que os coliformes termotolerantes ou *E. coli* (SILVA et al., 2007).

Ao analisar águas de efluentes de lagoas de estabilização de dejetos de suínos, Baumgartner et al., (2007) encontraram coliformes totais com valores superiores a 5000 NMP/100mL. Estes valores encontrados nas águas de reúso

sugerem uma alta contaminação nas folhas de alface, devido ao manejo de irrigação adotado.

Rigolin-Sá e Pereira (2005) afirmam que na microbiologia de água e de alimentos, não apenas torna-se importante a identificação de microrganismos com significado higiênico-sanitário (grupo dos coliformes), como também sua enumeração torna-se primordial.

Em relação aos resultados das análises quantitativas para coliformes fecais [Tabela 9], observa-se que o número destes encontrados, ultrapassou os limites propostos pela legislação nacional e pela OMS.

Para coliformes fecais ou termotolerantes, o valor máximo permitido pela Resolução nº357: 2005 do CONAMA é de 200 coliformes termotolerantes/100 mL ou 20 UFC/mL. Já a recomendação da OMS é de que as águas destinadas à irrigação de culturas que são ingeridas cruas, campos esportivos e parques públicos tenham um limite de no máximo 1000 coliformes fecais/100 mL de amostra (WHO, 1989).

Tabela 9 - Número de coliformes termotolerantes nas amostras

| Locais de amostragem | <i>Coliformes termotolerantes (UFC/ mL)</i> |
|-----------------------------|---|
| P1 | > 1000 |
| P2 | > 1000 |
| P3 | > 1000 |

Hespanhol (2009) afirma que os valores propostos pela OMS, são impossíveis de serem obtidos na maioria dos países em desenvolvimento, visto que estes não teriam capacidade de suportar os custos do tratamento de esgotos e outras medidas protetoras, mesmo para irrigação de hortaliças. De acordo com o autor, muitos países em vias de desenvolvimento vêm adotando diretrizes ou regulamentações estrangeiras sem quaisquer adaptações às características e restrições locais, levando a padrões poucos realísticos, impossíveis de serem acatados por usuários e de serem efetivamente aplicados por órgãos reguladores.

De acordo com as diretrizes propostas pela legislação brasileira (mais restritiva) e pela OMS (menos restritiva), nenhuma das amostras se enquadrou nos

valores limites, apresentando números bem acima do permitido para coliformes fecais. Estes resultados certamente nos permitem afirmar a existência de contaminantes de origem fecal, provenientes de esgotos domésticos, e que indicam risco potencial da presença de microrganismos patogênicos, permitindo a possibilidade de infecção ao homem e outros animais que estão expostos (CAMARGO et al., 2009).

Os coliformes fecais, cuja tendência atual é denominá-los coliformes termotolerantes, diferenciam-se dos totais por fermentarem a lactose a 45°C. Segundo a Associação Americana de Saúde Pública (APHA), *E. coli* é empregada como o indicador específico de contaminação fecal (APHA, 1998), representante do grupo termotolerante, indica também, a eventual presença de outros microrganismos patogênicos (CONTE et al., 2004).

Paganini (1997) destaca que se for constatada a contaminação por coliformes fecais na água, pode-se supor a presença de organismos patogênicos, que causam doenças como febre tifoide, febres entéricas e ainda infecções generalizadas com acesso à corrente sanguínea e à urina. Alguns organismos patogênicos podem infectar o homem a partir das fezes de outros animais, sendo de suma importância que este fator seja considerado como uma barreira sanitária específica.

O reúso de forma inadequada, de esgotos domésticos e, em alguns países, de excreta, implica transmissão de diversas doenças infecciosas, incluindo cólera, febre tifoide, hepatite, pólio, esquistossomose, e uma grande variedade de infecções por ovos de helmintos. A maioria dessas infecções ocorre em crianças de países pobres. Além de diarreia, as estimativas da OMS, indicam que, aproximadamente, 16 milhões de pessoas contraem febre tifoide e mais do que um bilhão sofre infecções intestinais provocadas por helmintos (WHO, 2000; WHO, 2003; WHO, 2004). Mara (2007) acrescenta que a incidência de diarreia, tanto em países em vias de desenvolvimento, como em países industrializados é a doença mais fortemente associada ao uso de esgotos tratados para a irrigação.

Nossos dados assemelham-se aos resultados encontrados por Mattos (2003), que também registrou a contaminação de águas utilizadas para irrigação no cinturão verde de Botucatu-SP, e concluiu que o uso das mesmas se torna um grande risco à saúde daquela população. Santos (2007) analisando a água de irrigação de hortaliças como alface, coentro, couve e hortelã, também encontrou índices elevados de coliformes termotolerantes, com contagens entre < 2 a 2100 NMP/100

mL, e concluiu que o uso das soluções antimicrobianas é uma boa opção em substituição ao uso do cloro na sanitização de hortaliças folhosas.

Abreu et al., (2010) investigaram a contaminação da água de irrigação e da alface por coliformes a 45°C sob adubação orgânica e não identificaram a contaminação por *Salmonella sp*/25g. Entretanto, de acordo com a legislação vigente, as alfaces colhidas no experimento seriam condenadas para consumo humano em função da contaminação por coliformes.

Ao analisar possível contaminação fecal, por parasitas e sujidades em hortaliças prontas para o consumo, Silva (2006) constatou falhas nas etapas de processamento ou sanificação das hortaliças, além de indicar águas de irrigação como possíveis fontes de microrganismos. Com o objetivo de identificar enteropatógenos presentes na água de irrigação e em hortaliças orgânicas, cultivadas no município de Lagoa Seca - PB, Souto (2005) constatou que as alfaces e as águas de irrigação dessas hortaliças apresentaram uma alta carga fecal, com valores bem acima do limite recomendado pela legislação vigente. Fazendo um levantamento da qualidade da água em propriedades rurais na microbacia do Córrego Rico, Jaboticabal - SP, Pinto (2011) verificou que a água de múltiplos usos representou risco à saúde dos consumidores devido à qualidade microbiológica inadequada, e alertou sobre a necessidade de desenvolver um trabalho de orientação aos moradores da microbacia visando às medidas de prevenção e correção que garantam a qualidade da água.

Outros estudos realizados em várias partes do país também contribuíram com conjunto de informações sobre a contaminação microbiológica e por enteroparasitas nas águas de irrigação de hortaliças cultivadas nos municípios de São Paulo, Natal, Maringá, Ribeirão Preto, Campinas, Sorocaba, Salvador, Porto Alegre, e Florianópolis. (CHRISTOVÃO et al., 1967; CHAGAS et al., 1981; GUILHERME et al., 1999; TAKAYANAGUI et al., 2000; SIMÕES et al., 2001; COELHO et al., 2001; SOARES e CANTOS, 2005; SILVA et al., 2006; SANTANA, 2006; TAKAYANAGUI et al., 2007).

Não somente no Brasil, mas em todos os países em desenvolvimento, a realidade da contaminação das águas utilizadas na irrigação de hortaliças, nos cinturões verdes das grandes cidades é evidente. Tal fato atribui-se principalmente à falta de tratamento dos efluentes municipais nestas regiões, devido aos altos custos do tratamento, corroborando com nossos achados.

Em uma área periurbana da Cidade do México, Mazari-Hiriart et al., (2008) avaliaram as implicações microbiológicas da água de reúso utilizada na irrigação. A contagem de coliformes fecais ultrapassou os padrões mexicanos e da OMS, além de vários microrganismos terem sido associados com diversas patologias em humanos e animais. Juárez-Figueroa et al., (2003) também quantificaram os indicadores microbiológicos de contaminação fecal nos efluentes de duas estações de tratamento de águas residuais e em amostras coletadas em diversos canais de Xochimilco, na região metropolitana da Cidade do México. A descarga de água tratada em canais indicaram baixa contagem de coliformes fecais, enterococos e oocistos de *Cryptosporidium*. Entretanto, foram encontrados altos números de colifagos e cisto de *Giardia*, sugerindo que os métodos de tratamento de água podem falhar para remover estes agentes.

Em Gana, foi realizada a quantificação microbiológica em vegetais coletados em mercados, bem como nas águas de irrigação e em amostras de solo. Os resultados mostraram que a contaminação microbiológica não está limitada à superfície externa, mas também em partes internas dos vegetais, apresentando um alto um risco para os consumidores. Como prática de segurança, os pesquisadores recomendam não apenas a lavagem externa, mas a necessidade do cozimento do vegetal (DONKOR et al., 2010).

Também foi analisada a contaminação microbiológica em vegetais, devido à irrigação com águas residuais municipais parcialmente tratadas em uma cidade tropical da Índia. Os resultados mostraram que as águas de drenagem do rio Ganga tinham contagens significativamente mais elevadas de coliformes, pela localização e época, do que as águas de duas estações de tratamento de esgotos (RAI e TRIPATHI, 2007).

Na Nigéria, por meio de estudos realizados por Okafo et al., (2003), foram avaliados o nível de contaminação, a distribuição sazonal e da toxicidade de patógenos isolados de vegetais irrigados e a água utilizada para irrigação. Tanto os vegetais com as águas de irrigação apresentaram contagem de coliformes acima do padrão recomendado, sendo o amaranto o que teve significativamente ($P < 0,05$) uma maior contagem, do que outros vegetais durante a estação seca.

Ibenyassine et al., (2007) obtiveram 50 amostras de vegetais de várias regiões de Marrocos, a fim de examiná-los para determinar a qualidade microbiológica destes produtos. Esta análise revelou altos níveis de enterococos,

coliformes fecais e coliformes totais, demonstrando claramente que os vegetais irrigados com águas residuais não tratadas tem um elevado nível de contaminação microbiológica.

Um manejo de irrigação adequado pode evitar a contaminação das hortaliças, mesmo quando utilizadas águas de reúso em sua irrigação. Biscaro et al., (2008) em seus experimentos concluíram que o método de irrigação por gotejamento evita a contaminação por coliformes e parasitas humanos, pois os resultados encontrados atenderam às exigências da legislação. Através de seus experimentos em campo, Varallo et al., (2011) avaliaram comparativamente a qualidade sanitária da alface irrigada com água de reúso e com água de abastecimento e verificaram que, nos dois casos, não ocorreu a contaminação por coliformes termotolerantes. Os autores concluíram que a aplicação da água de reúso para fins agrícolas deve ser tratada de maneira criteriosa de modo a viabilizar e contribuir para a sua sustentabilidade e evitar riscos à saúde dos consumidores.

5. CONCLUSÕES

Diante dos objetivos propostos, da análise dos resultados físicos, químicos, microbiológicos e ecotoxicológicos, e conforme as condições em que este estudo foi realizado, pode-se concluir:

- Quanto aos parâmetros físicos e químicos analisados, estes corpos d'água não se enquadram em águas de classe 1, considerando-se a Resolução CONAMA Nº 357: 2005.

- Os ensaios ecotoxicológicos indicaram impactos de origem antropogênica nas amostras testadas, mesmo na impossibilidade de se identificar e quantificar todas as substâncias químicas presentes nestes corpos hídricos, os quais poderiam individual ou sinergisticamente, contribuir para os efeitos observados. De fato, na presença de amostras complexas, como aquelas coletadas no ambiente, a análise química individual de componentes tóxicos ou potencialmente tóxicos, perde em importância, frente aos ensaios ecotoxicológicos, os quais são capazes de apontar os impactos decorrentes da presença combinada destas substâncias.

- Dos três organismos testados nos ensaios ecotoxicológicos, *Allium cepa* demonstrou ser o mais sensível, pois foi possível identificar alterações em níveis citogenéticos, indicando ser este organismo um bom bioindicador para detectar componentes genotóxicos, mesmo em concentrações mínimas.

- Ainda, do ponto de vista ecotoxicológico, percebe-se o comprometimento da integridade ambiental desta bacia, em razão das elevadas cargas de poluição orgânica conforme se constata por meio das análises físicas, químicas e microbiológicas. No entanto, apesar da contaminação antrópica verificada, não se observou significativa toxicidade a alguns dos organismos testados (vide resultados das algas e planárias), o que pode ser talvez explicado pela ausência de despejos industriais próximos a estes pontos.

- Do ponto de vista microbiológico estas águas não estão adequadas ao uso a que se destinam, pois de acordo com todos os aspectos que foram mencionados, o consumo de hortaliças consumidas cruas irrigadas com tais águas, constituem-se

riscos à saúde dos consumidores devido ao risco de intoxicações alimentares, diarreias e verminoses, além de comprometerem a saúde dos irrigantes.

- Ficou evidente que a contaminação microbiológica representa importante problema destas águas indicando descargas de esgotos domésticos. Tal fato torna estes corpos d'água impróprios para irrigação de hortaliças, constituindo-se igualmente um fator preocupante à saúde pública.

- Diante dos achados relatados acima, esta dissertação pretende alertar os setores do poder público competente quanto à tomada de providências tanto no que diz respeito às intervenções educativas junto aos agricultores e promoção de uma agricultura sustentável, como na implementação de pontos de monitoramento neste local.

REFERÊNCIAS

- ABREU, I. M. de O. et al. A. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Rev Cien Tec de Alim**, v. 30, p. 108-118, 2010.
- ACHARY, V.M.M.; PANDA, B.B. Aluminium-induced DNA damage and adaptive response to genotoxic stress in plant cells are mediated through reactive oxygen intermediates. **Mutagenesis**, v.25, n.2, p.201-209, 2009.
- ANA - AGENCIA NACIONAL DAS ÁGUAS. **Indicadores de qualidade - Índice de qualidade das águas**. 2009. Disponível em: <<http://pnqa.ana.gov.br/IndicadoresQA/IndiceQA.aspx>> Acesso em: 22 Mar 2012.
- ANNIBALE, F. S. **Cultivo de planárias (*girardia tigrina*) e ensaios de sensibilidade com dicromato de potássio**. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Federal de São Carlos. Sorocaba, 2009.
- ALBERTINI, R.J.; ANDERSON, D.; DOUGLAS, G.R.; et al. Guideline for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans, International Programme on Chemical Safety. **Mutation Research**, v.463, p.111-172, 2000.
- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. Washington, APHA / AWWA / WPCF, 1998.
- ARCOVA, F.C.S. **Balço hídrico, características do deflúvio e calibragem de duas microbacias hidrográficas na Serra do Mar, SP**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – ESALQUE - Universidade de São Paulo, 1996.
- AREZON, A. **Ensaio ecotoxicológicos no monitoramento da qualidade de águas subterrâneas potencialmente impactadas**. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2004.
- ARGENTON, E. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; NOGUEIRA, A. M. **Avaliação dos tributários da represa do Lobo (Itirapina/Brotas, SP): Uma abordagem ecossistêmica**. In: Espíndola, E. L. G.; Wendland, E. (org.). Bacias hidrográficas: Diversas abordagens em pesquisas. São Carlos: Rima, 2004. p.156-172.
- AYERS, R.S.; WESTCOT, D.W. **A qualidade da água na agricultura**. FAO: Irrigação e Drenagem, 29. Revisado 1. Campina Grande: UFPB, 1991.
- BAGUÑÀ, J. et al. Regeneration and pattern formation in planarians. III Evidence that neoblasts are totipotent stem cells and the source of blastema cells. **Development**, 107: 77- 86, 1989.
- BAUMGARTNER, D. et al. Reúso de águas residuárias da piscicultura e da suinocultura na irrigação da cultura da alface. **Rev Eng Agric**, v.27: 152-163, 2007.
- BAUN, A.; BUSSARAWIT, N.; NYHOLM, N. Screening of pesticide toxicity in surface water from na agricultural area at Phuket Island (Thailand). **Environmental Pollution**, v. 102. pp. 185 – 190, 1998.

BARROS, G.S et al. Utilização de Planárias da Espécie *Dugesia (Girardia) tigrina* em Testes de Toxicidade de Efluente de Refinaria de Petróleo. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 1, n. 1, 67-70, 2006.

BECKER, A.J.; ROGALSKI, F.; GOULART, L. O. A utilização de planárias girardia schubarti como bioindicadores em testes de toxicidade com mercúrio. **Bioensaio**, V. 2: 1-5, 2010.

BERNARDO, S. **Manual de irrigação**. 6 Ed. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa, 1995. 657p.

BEST, J. B.; MORITA, M. Toxicology of planarians. **Hydrobiology**, 227: 375-383,1991.

BISCARDI, D. et al. Genotoxic effects of pesticide-treated vegetable extracts using the *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests. **Annali d'igiene Sperimentale**, v. 15, n. 6, p.1077-1084, 2003.

BISCARO, G. A. et al. Aspectos sanitários do cultivo da alface americana, irrigada com águas receptoras de efluentes urbanos. **Ciênc. Agrotec**, v. 32, n. 1, p. 295-301, 2008.

BOLLE, P.; S. et al. Clastogenicity of atrazine assessed with *the Allium cepa* test, **Environ. Mol. Mutagen**. Vol 43: 137–141, 2004.

BONASSI, S.; AU, W.W. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. **Mutation Research**, v.511, p.73-86, 2002.

BRAGA et al. **Introdução à Engenharia Ambiental**. 2ª Ed. São Paulo: Person Prentice Hall, 2005. 336 p.

BRANCO, S. M. **Hidrologia aplicada à engenharia sanitária**. 3. ed. São Paulo: CETESB, 1986. 640 p.

BRANCO, S. M.; AZEVEDO, S. M. F. O.; TUNDISI, J. G. **Água e saúde humana**. In: REBOUÇAS, A. C. (Org.) *Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação*. 3 ed. São Paulo: Escrituras Editora, 2006. 748p.

BRANCO Jr, A.C.; WAIB, M.; FILHO, O. C. Importância da higiene dos alimentos na epidemiologia das helmintoses – ocorrência de ovos de helmintos em hortaliças. **Rev Bras de Anal Clin**, v.31, n1, p. 3-4, 1999.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução nº 357, de 17 de Março de 2005**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Vigilância em Saúde Ambiental relacionada à qualidade da água para consumo humano**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 284 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria MS nº 2914, de 12 de Dezembro de 2011**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRUZON, A. C. **Efeito da toxicidade de microcistina em bioensaios com planárias *Dugesia tigrina Girard***. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Federal de São Carlos. Sorocaba, 2009.

CABRERA, G.L. RODRIGUEZ, D.M.G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutat. Res.**, 426: 211-214, 1999.

CALEVRO, F. et al. Toxic effects of 119 Aluminum, Chromium and Cadmium in intact and regenerating freshwater planarians. **Chemosphere**, 37: 651-659, 1998.

CAMARGO, F. P. et al. **Parâmetros químicos e microbiológicos de dois córregos do Cinturão Verde de Ilha Solteira**. In: XXI Congresso de Iniciação científica da UNESP. São José do Rio Preto, 2009.

CAMBRA, K.; MARTÍNEZ, T.; URZELAI, A.; ALONSO, E. Risk analysis of a farm area near a lead - and cadmium-contaminated industrial site. **Soil Sediment Contam**, 8:527- 540, 1999.

CARITA, R.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v.72: 722-725, 2008.

CARBAYO, F.; FROEHLICH, E.M. State of knowledge of the macroturbellarians (*Platyhelminthes*) from Brazil. **Biota Neotropica**; v. 8: n. 4, 2008.

CARVALHO, N. de O. **Hidrossedimentologia prática**. Rio de Janeiro: CPRM, 1994. 372p.

CETESB - **Considerações preliminares sobre toxicidade aos organismos aquáticos**. Informativo Técnico nº. 3, 1990. 11p.

CETESB. **Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem**. São Paulo: 2009. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/125-variaveis-de-qualidade-das-aguas-e-dos-sedimentos>>. Acesso em: 18 Set. 2011.

CETESB. **Relatório de Qualidade das Águas Superficiais do Estado de São Paulo**. São Paulo: 2011. Disponível em : <http://www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: 27 Jul. 2012.

CHAGAS, S. D. et al. Bactérias indicadoras de poluição fecal em águas de irrigação de hortas que abastecem o município de Natal — Estado do Rio Grande do Norte (Brasil). S. Paulo, **Rev. Saúde Públ.**, 15:629-42, 1981.

CHANDRA, S.; GUPTA, S.K. Genotoxicity of leachates of tannery solid waste in root meristem cells of *Allium cepa*. **J Eco Occup Health**, v.2, p.225-234, 2002.

CHAUHAN, L.K.S. ; SAXENA, P.N. ; GUPTA, S.K. Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*, **Environ. Exp. Bot.** 42: 181-189, 1999.

CHAUHAN, L.K.S. et al. Diuron-induced cytological and ultrastructural alterations in the root meristem cells of *Allium cepa*. **Pest. Biochem. Physiol.** 62:152–163, 1998.

CHIOU, R.J. Risk assessment and loading capacity of reclaimed wastewater to be reused for agricultural irrigation. **Environ Monit Assess** 142:255–262, 2008.

CHOI, C. et al. Role of irrigation and wastewater reuse: comparison of subsurface irrigation and furrow irrigation. **Water Sci Technol**, 50:61–68, 2004.

CHRISTOFOLETTI, C. A. **Avaliação dos potenciais citotóxico, genotóxico e mutagênico das águas de um ambiente lântico, por meio dos sistemas-teste de *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus***. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular). UNESP. Rio Claro-SP, 2008.

CHRISTOVAO, D. et al. Condições sanitárias das águas de irrigação de hortas do município de São Paulo. I. Determinação da intensidade de poluição fecal através do NMP de coliformes e de *E. coli*. **Rev. Saúde Públ.**, 1:3 -11, 1967.

CHRONOPOULOS, J.; HAIDOUTI,C.; CHRONOPOULOU-SERELI, A.; MASSAS, I. Variations in plant and soil lead and cadmium content in urban parks in Athens, Greece. **Sci Total Environ**, 196: 91- 8,1997.

CINTRA, M.R. **Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica da água e de verduras produzidas em regiões urbanas**. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Ambientais). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2009.

COELHO, L. M. P. S. et al. Determinação de formas transmissíveis de enteroparasitas na água e nas hortaliças consumidas em comunidades escolares de Sorocaba, São Paulo, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 34(5): 479-482, 2001.

COELHO, E. F. et al. Aspectos básicos da fertirrigação. In: BORGES, A. L.(org) **Fertirrigação em fruteiras tropicais**. Embrapa, p. 9-14, 2002.

CONTE, V.D. et al. Qualidade microbiológica de águas tratadas e não tratadas na região nordeste do Rio Grande do Sul. **Infarma**, 16(11-12): 83-84, 2004.

CONTE, M. L., LEOPOLDO, P. R. **Avaliação de recursos hídricos: Rio Pardo, um exemplo**. São Paulo: Editora UNESP, 2001. 141 p.

CRISTALDI, M.; IERADI, L.A.; UDROIU, I.; ZILLI, R. Comparative evaluation of background micronucleus frequencies in domestic mammals. **Mutat. Research**, v. 559, p. 1–9, 2004.

DE LEON, C., et al. Metal uptake in a peri-urban *Lactuca sativa* cultivated area. **J Environ Sci Health**, 45(1): 111-120, 2010.

DEBERDT, J. A. 2003. **Análise da água**. Programa pró-ciência. Disponível em: <www.educar.sc.usp.br/biologia>. Acesso em: 08 Set. 2011.

DONGVILLO, M. **Freshwater planarian (*Dugesia tigrina*)**. Science Resource Center. Thomson Gale, 2007. Disponível em: <<http://galenet.galegroup.com/servlet/SciRC?ste=1&docNum=CV2645805759>>. Acesso em: 08 Fev 2012.

DONKOR, E.S. et al. Internalization of microbes in plants: the microbial load of vegetables from Ghana and the relationship with different water sources for irrigation. **Pak J Biol Sci**. Sep 1; 13 (17): 857-61, 2010.

DUDKA, S.; MILLER, P. Accumulation of potentially toxic elements in plants and their transfer to human food chain. **J Environ Sci Health B**, 34:681–708, 1999.

ECY. **Oxygen solubility at different water temperatures**. Disponível em: <<http://ecy.wa.gov/programs/wq/plants/management/joysmanual/4oxygen.html>> Acesso em 08 Fev 2012.

EIGER, S. **Autodepuração dos cursos d'água**. In: MANCUSO, P.C.S. (Org.). Reúso de Água. 1 ed. São Paulo: Manole, 2003.

EL-SHAHABY, A. O. et al. Genotoxicity Screening of Industrial Wasterwater Using the *Allium Cepa* Chromosome Aberration Assay. **Pak. Journ. Biol. Sci.**, v. 42, n. 6, p. 181-189, Dec. 2003.

ERDOĞRUL, Ö; ŞENER, H. The contamination of various fruit and vegetable with *Enterobius vermicularis*, *Ascaris* eggs, *Entamoeba histolytica* cysts and *Giardia* cysts. **Food Control**, v.15, p. 1-4, 2004.

ERICHSEN JONES, J. R. A further study of the relations between toxicity and solution pressure, with *Polycelis nigra* as test animal. **J. Exp Biol**, 7: 408-415, 1940.

ESTEVES, F.A. **Fundamentos da Limnologia**. 2ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 1998. 602 p.

EVANDRI, M.G. COSTA, L.G., BOLLE, P. Evaluation of brominated diphenyl ether-99 toxicity whit *Raphidocelis subcapitata* an *Daphnia magna*. **Environ. Toxicol. Chem**, 22: 2167- 2172, 2003.

FACHINETTO, J.M. et al. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (*Asteraceae*) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Rev Bras Farmacogn**, 17: 49-54.

FAIRCHILD, J.F.; RUESSLER, D.S.; CARLSON, A.R. Comparative sensitivity of five species of macrophytes and six species of algae to atrazine, metribuzin, alachlor, and metolachlor. **Env Tox Chem**, 17: 1830 - 1834, 1998.

FATIMA, R.A. ; AHMAD, M. Genotoxicity of industrial wastewaters obtained from two different pollution sources in northern India: a comparison of three bioassays. **Mutat. Res.**, 609: 81- 91, 2006.

FEIGIN, A.; RAVINA, I. SHALHEVET, J. **Irrigation with Treated Sewage Effluent: Management for Environmental Protection**. New York: Springer-Verlag, 1991.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research**, v. 455, p. 81-95, 2000.

FERNANDES, T. C. C. **Investigação dos efeitos tóxicos, mutagênicos e genotóxicos do herbicida trifluralina, utilizando *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus* como sistemas-testes**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular). UNESP, Rio Claro - SP, 2005.

FIORETINO, A.; GENTILI, A.; ISIDORI, M.; Environmental effects caused by olive Mill wastewaters: toxicity comparison of low molecular weight phenol components. **J. Agric. Food Chem.**, 51: 1005-1009p., 2003.

FISKESJO, G. Allium test on copper in drinking water. **Vatten** 37: 232–240, 1981.

FISKESJO, G.; LASSEN, C. Benzo[a]pireno and nitrosoguanidine in the *Allium* test. **Mutat. Res.** 97:188, 1982.

FISKESJO, G. The *Allium* test. In: wastewater monitoring. **Environ Toxicol Water Qual.**, 8: 291-298, 1993.

FISKESJO, G. The Allium Test II: Assessment of chemical's genotoxic potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa* L. **Environ Toxicol Water Qual** 9: 234-241, 1994.

FRANCIS G. A.; THOMAS C.; O'BEIRNE, D. The microbiological safety of minimally processed vegetables. Review article. **Intern Journal of Food Scien Tech**, v. 34, p. 1-22, 1999.

FRANCO, R. A. M. **Qualidade da água para irrigação na microbacia do Córrego do Coqueiro no noroeste paulista**. Dissertação. (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia, UNESP. Ilha Solteira, 2008.

FRANCO, R.A.M. et al. **Avaliação Biológica da qualidade da água para irrigação do Córrego Três Barras, Marinópolis, Sp**. XVI Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem – Goiânia – 25 a 30/07/2006.

FRAVET, A. M. M. F. **Qualidade da água utilizada para irrigação de hortaliças na região de Botucatu – SP**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2006.

FRAVET, A. M. M. F.; CRUZ, R. L. Qualidade da água utilizada para irrigação de hortaliças na região de Botucatu-sp. **Irriga Botucatu**, v. 12: 144-155, 2007.

FUSCONI, A. et al. Effects of cadmium on root apical meristems of *Pisum sativum* L: cell viability, cell proliferation and microtubule pattern as suitable markers for assessment of stress pollution. **Mutat Research**, v.63: 9-19, 2007.

GAMO, J.; NOREÑA-JANSSEM, C. Old and new records of turbellarians from the central areas of Spain. **Hydrobiology**, 383: 299-305, 1998.

GANNA, J. M. et al. Industrial effluents and surface waters genotoxicity and mutagenicity evaluation of a river of Tucuman, Argentina. **J. Hazard. Mater.** 155: 403 - 406, 2008.

GELLI, D.S. et al. Condições higiênicas-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, SP, Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 39(1): 37-43, 1979.

GEORGETTI, M. S.; ROCHA, O.; SALVADOR, N. N. B. **Impactos tóxicos causados pelo lançamento de efluentes químicos em corpos d'água.** III Workshop de Ecotoxicologia, Rio Claro, v. 8, n. 2, 2008.

GHOSH, A.K.; BHATT, M.A.; AGRAWAL, H.P. Effect of long-term application of treated sewage water on heavy metal accumulation in vegetables grown in northern India. **Environ Monit Assess.**, 184(2):1025-36, 2012.

GOPALAN, H.N. Ecosystem health and human well being: the mission of the international programme on plant bioassays. **Mutat. Res.**, v 426: 99-102, 1999.

GOULART, M.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista da FEPAM**, 2 (1), 2003.

GUERRA, A. **Novo dicionário geológico-geomorfológico.** Rio de Janeiro: Ed. Bertrand Brasil, 1997. 648p.

GUILHERME, A. L. F. et al. Prevalência de enteroparasitas em horticultores e hortaliças da Feira do Produtor de Maringá, Paraná. **R. Soc. Bras. Med. Trop**, 32(4): 405-411, 1999.

GRANT, W.F. Chromosome aberration assays in *Allium*. **Mutat. Res.**, 99: 273– 291, 1982.

GREENE, J.C. et al. Use of *Selenastrum capricornutum* to assess the toxicity potential of surface and ground water contamination caused by chromium waste. **Envir Toxic Chem**, 7: 35 - 39, 1988.

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

GUECHEVA, T. N. et al. Stress protein response and catalase activity in freshwater planarian *Dugesia (Girardia) schubarti* exposed to copper. **Ecot Env Saf**, 56: 351 - 357, 2003.

GUERRA, R. C. **Estudo do lodo gerado em reator biológico, pelo tratamento da água de produção do petróleo, no Terminal Marítimo Almirante Barroso, município de São Sebastião-SP visando sua disposição final.** Tese (Doutorado em Microbiologia Aplicada) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro/SP, 2009.

GUPTA, N. KHAN, D. SANTRA, S. Heavy metal accumulation in vegetables grown in a long-term wastewater-irrigated agricultural land of tropical India. **Environ Monit Assess**, 1573-2959 p., Dec 2, 2011.

GUZMAN, P.; SOTELO-REGIL, R.C.; MOHAR, A.; GONSEBATT, M.E. Positive correlation between the frequency of micronucleated cells and dysplasia in papanicolaou smears. **Env Mol Mutag**, v.41, p.339–343, 2003.

HAGMAR, L. et al. Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: result from Nordic and Italian cohorts. **Cancer Research**, 64: 2258-2263, 2004.

HARTMANN, C.C. **Avaliação de um efluente industrial através de ensaios ecotoxicológicos e análises físicas e químicas**. Dissertação (Mestrado em ecologia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2004.

HEIJERICK, D.G.; DE SCHAMPHELAERE, K.A.C. Biotic ligand model development predicting Zn toxicity to the alga *Pseudokirchneriella subcapitata*: Possibilities and limitations. **Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.** 133 C: 207-218 p., 2002.

HELLAWELL, J. M. Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management, (Pollution Monitoring Series). **Elsevier Applied Science Publishers**, p. 509, 1986.

HERNANDEZ, F. B. T., PETINARI, R. A. **Qualidade da água para irrigação localizada**. In: Anais do XXVII Congresso de Brasileiro de Engenharia Agrícola. Poços de Caldas-MG, v.2, 1998.

HERNANDEZ, F. B. T.; SILVA, C. R.; SASSAKI, N.; BRAGA, R. S. **Qualidade de água em um sistema irrigado no noroeste paulista**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, Foz de Iguaçu, 2001.

HESPANHOL, I. Viabilidade de um AVAD não superior a 10^4 por pessoa por ano, para reúso agrícola de água, em países em desenvolvimento. **Revista Ambi-Água**, v. 4, n. 2, p. 124-134, 2009.

HICKEY, C.W.; BLAISE, C.; COSTAN, G. Microtesting appraisal of ATP and cell recovery toxicity end points after acute exposure of *Selenastrum capricornutum* to selected chemicals. **Envir Toxic Wat Qual**, 1: 383- 403, 1991.

HOSHINA, M.M.; ANGELIS, D.F.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of micronucleus and nuclear alterations in fish (*Oreochromis niloticus*) by a petroleum refinery effluent. **Mutation Research**, v. 656, p. 44–48, 2008.

HUNT, H.E.; RICE, E.W. (Coord).. **Microbiological examinations**. In: EATON,A.D. (Ed.) Standard methods for the examination of water & wastewater. 21th ed. Washngton; APHA, 2005. Part 9000, p. 9-1 – 9-169.

IBENYASSINE, K. et al. Bacterial pathogens recovered from vegetables irrigated by wastewater in Morocco. **J Environ Health.**, 10: 47- 51, 2007.

IMBIRIBA, E.P.; LOURENÇO-JR, J.B.; CARVALHO, M. **Parâmetros Ambientais e Qualidade da água na piscicultura**. Recomendações Técnicas nº 8/2000. Embrapa, Belém - PA, 2000.

INCEER, H.; BEYAZOGLU, O.; ERGUL, H. A. Cytogenetic effects of wastes of copper mine on root tip cells of *Allium cepa* L., **Pak. J. Biol. Sci.**, 3: 376–377, 2000.

INEA - INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE. **Qualidade de Água**. Disponível em: < <http://www.inea.rj.gov.br/fma/qualidade-agua.asp> > Acesso em: 26 Jun 2011.

INOUE, T. et al. Morphological and functional recovery of planarian photosensing system during head regeneration. **Zoological Science**, 21: 275 - 283, 2004.

ISA - INSTITUTO SOCIOAMBIENTAL. In: **Guarapiranga 2006: Análise integrada da evolução do uso do solo e qualidade da água na bacia da Guarapiranga**. Seminário Guarapiranga. São Paulo, 2006a.

ISA - INSTITUTO SOCIOAMBIENTAL. **Guarapiranga 2005: Como e por que São Paulo está perdendo este manancial: resultados do diagnóstico socioambiental participativo da bacia hidrográfica da Guarapiranga**. São Paulo: Instituto Socioambiental, 2006b.

ISA- INSTITUTO SOCIOAMBIENTAL. **Lei Específica da Guarapiranga - Contribuições para sua compreensão e implementação**. Instituto Socioambiental, 2008.

ITANNA, F. Metals in leafy vegetables grown in Addis Ababa an toxicology implementations. **Ethiopia J. Health Develop.**, 16: 295-302, 2002.

JIANG, W.; LIU, D. Effects of Pb⁺² on root growth, cell division, and nucleolus of *Zea mays* L. New York, **Bul Environ Contam Toxicol**, v.65, p.786-793, 2000.

JUÁREZ-FIGUEROA, L. A. et al. Microbiological indicators of water quality in the Xochimilco canals, Mexico City. **Salud Publica Mex**, 45: 389-395, 2003.

KAWAKATSU, M. et al. *Dendrocoelopsis Americana* from Christian School cave, The Ozark Plateau, Oklahoma, U.S.A. (*Turbellaria, Seriata, Tricladida, Paludicola*). **Bulletin of Fuji Women's College**, n. 33, p. 71-78, 1995.

KBFI - KEEMILISE JA BIOLOOGILISE FOOSIKA INSTITUUT. **Selenastrum capricornutum**. Disponível em <<http://www.kbfi.ee/?id=213&lang=eng>>. Acesso em> 02 Fev 2012.

KLAINE, S.J.; LEWIS, M.A. **Algal and plant toxicity testing**. In: HOFFMAN, D.J., RATTNER, B.A., BURTON, G.A. Jr., CAIRNS, J. Jr. Eds., Hand-book of Ecotoxicology. CRC, Boca Raton, Flórida, USA. 1995, p. 163-184.

KNAKIEVICZ, T. **Caracterização da biologia de populações de planárias do gênero *Girardia* nativas do Rio Grande do Sul**. Tese (Doutorado em Biologia

Celular e Molecular). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

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

LACERDA, L. D. et al. Mercury in sediments from the Paraíba do Sul river continental shelf, S. S. Brazil. **Marine Pol. Bulletin**, v 26, p. 220-222, 1993.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal.** Tradução de C. H. B. A. Prado e A. C. Franco. São Carlos: RiMa, 2000. 531p.

LANDIS, W. G.; M. YU. **Introduction to Environmental Toxicology: Impacts of Chemicals Upon Ecological Systems.** CRC Press, 2003. 484 p.

LANDOLT, M.L.; KOCAN, R.M. Fish cell cytogenetics: a measure of the genotoxic effects of environmental pollutants. In: NRIAGU J. R. **Aquatic Toxicology.** New York: Wiley, 1983. p. 335-352.

LEBLOND, J.B.; DUFFY, L.K. Toxicity assessment of total dissolved solids in effluent of Alaskan mines using 22-h chronic Microtox® and *Selenastrum capricornutum* assays. **Sci. Tot. Environ.**, 1-3: 49-59, 2001.

LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. Chromosome aberration and Micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water—A case study. **Mutation Research**, v.650, p.80-86, 2008.

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.

LEWIS, M. A. Algae and vascular plants tests. In: RAND, G.M. (ed.) **Fundamentals of aquatic toxicity. Effects, environmental fate and risk assessment.** Washington: Taylor & Francis, 1995. p. 135 - 169.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água.** Campinas: Editora Átomo, 2005. p 444.

LOCK, K.; ZEEUW, H. Health and environmental risks associated with urban agriculture. **Urban Agric Mag** 1:6–8, 2001.

MA, T.H. The international program on plant bioassays and the report of the follow-up study after the hands-on workshop in China. **Mutat. Res.**, v 426, p. 103-106, 1999.

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Bras.**, 12 (3): 355-381, 2008.

MANAHAN, S.E. **Environmental Chemistry.** 9th ed. CrcPress, 2010.

MAPANDA, F. et al. The effect of long-term irrigation using wastewater on heavy metal contents of soils under vegetables in Harare, Zimbabwe. **Agric Ecosyst Environ**, 107:151- 65, 2005.

MARA, D. D. How to transpose the 2006 WHO guidelines into national standards. In: Iwa specialist conference on wastewater reclamation and reuse for sustainability, 6., **Antwerp**, 9-12 Oct. 2007.

MARCANO, L. et al. Effect of cadmium on the nucleoli of meristematic cells of onion *Allium cepa* L: an ultrastructural study. **Environ Reser**, 88: 30-35, 2002.

MARCANO, L. et al. Determination of vanadium accumulation in onion root cells (*Allium cepa* L.) and its correlation with toxicity. **Biocell**, v.30, p.259-267, 2006.

MARQUELLI, W. A. **Aspectos sanitários da água para fins de irrigação**. Comunicado Técnico 5 – Embrapa, 1998.

MARQUELLI, W. A. **A irrigação como estratégia na prevenção de doenças em hortaliças**. Embrapa hortaliças, 2004.

MARQUELLI, W. A.; SILVA, H. R. **Avanços na eficiência de sistemas de irrigação em horticultura**. In: II Simpósio Nacional sobre o Uso da Água na Agricultura. Passo Fundo – RS, 2006.

MARTINEZ-MADRID, M. **Bioensayos de Ecotoxicidad con *Daphnia magna* y *Tubifex tubifex* para la Caracterización de Sedimentos Fluviales**. (Tese de Doutorado). Universidad del Pais Vasco. España, 1997.

MATEUCA, R. et al. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. **Biochimie**, v. 88, p. 1515-1531, 2006.

MATTOS, K. M. C. **Viabilidade da Irrigação com Água Contaminada por Esgoto Doméstico na Produção Hortícola**. Tese (Doutorado em Agronomia /Irrigação e Drenagem) – Fac. Ciências Agrônômicas, UNESP. Botucatu, 2003.

MATTOS, L. M.; MORETTI, C. L.; MOURA, M. A. et al. Produção segura e rastreabilidade de hortaliças. **Hortic. Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 408-413, 2009.

MATSUMOTO, S.T.; MARIN-MORALES, M. A. Mutagenic potential evaluation of the water of a river that receives tannery effluents using the *Allium cepa* test system. Tokyo, **Cytologia**, v.69, n.4, p.399-408, 2004.

MATSUMOTO, S. T. et al. 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, n. 1, p. 148-158, 2006.

MAURO; F. **Vazão e qualidade de água em manancial degradado do Cinturão Verde de Ilha Solteira – SP**. Tese (Mestrado em Engenharia Civil) – Fac. Eng. Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista. Ilha Solteira, 2003.

MAZARI-HIRIART, M. et al. Microbiological Implications of Periurban Agriculture and Water Reuse in Mexico City. **PLoS One** 3(5): e2305, 2008.

MAZZEO, D. E. C. **Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do BTEX, antes e após o processo de biorremediação por microrganismos, utilizando os sistemas teste de *Allium cepa* e cultura de células de mamífero.** Dissertação (mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. Rio Claro-SP, 2009.

McATEER, J.; DAVIS, J. **Basic cell culture technique and the maintenance of cell lines.** In: DAVIS, J. Basic cell culture – A practical approach. Oxford: IRL. 1994. (The Practical Approach Series).

MEGLITSCH, P.A.; SCHRAM, F.R. **Invertebrate Zoology.** 3. ed. New York: Oxford University Press, 1991. 612 p.

MELO, M. A. **Mapeamento de Biótopos: Instrumento para o Fomento da Qualidade Ambiental.** Dissertação (Mestrado em Geografia) – Universidade de São Paulo, 2009.

MESQUITA, V. C. L. et al. Contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nas cidades de Niterói e Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Rio de Janeiro, v.32, n.4, p.363-366, jul./ago. 1999

METCALF, L.; EDDY, H. P. **Wastewater engineering treatment in reuse.** 4.ed. Mcgraw Hill: Boston, 2003.

MEYBECK, M.; HELMER, R. **An introduction to water quality.** In: CHAPMAN, D. Water quality assessment. Cambridge, University Press, 1992. 585 p.

MIGID, A.H.M.; AZAB, Y.A.; IBRAHIM, W. M. Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 66: 57–64, 2007.

MORAES, A. J. **Manual para avaliação da qualidade da água.** São Carlos: Rima, 2001. 43p.

MOURA, R. S.; HERNANDEZ, F.B.T.; VANZELA, L.S. **Monitoramento da qualidade química da água para fins de irrigação no córrego Três Barras, Marinópolis – SP.** In: Congresso Bras. Eng. Agrícola, 36, Bonito – MS, 2007.

MUYSSSEN, B.T.A., JANSSEN, C.R. Zinc acclimation an its effect on the zinc tolerance of *Raphidocellis subcaptata* an *Chlorella vulgaris* in laboratory experiments. **Chemosphere**, 45:507-514p., 2001.

NAKAYAMA, F. S.; BUCKS, D. A. **Trickle irrigation for crop production.** St. Joseph: ASAE, 1986. 383p.

NAN, Z.; LI, J.; ZHANG, J.; CHENG, G. Cadmium and zinc interaction and their transfer in soil– crop system under actual field conditions. **Sci Total Environ** 285:187–95, 2002.

NATARAJAN, A. T. Chromosome Aberration: Past, Present And Future. **Mutation Research**, v. 504, n.6, p. 3 -16, Oct. 2002.

NEVES, O.; ABREU, M. 2009. Are uranium-contaminated soil and irrigation water a risk for human vegetables consumers? A study case with *Solanum tuberosum L.*, *Phaseolus vulgaris L.* and *Lactuca sativa L.* **Ecotoxicology**, 18:1130–1136, 2009.

NIELSEN, M.H., RANK, J. Screening of toxicity and genotoxicity in wastewater by the use of the *Allium* test. **Hereditas** 121, 249-254, 1994.

NYAMANGARA, J.; MZEZEWA, J. The effects of long-term sewage sludge application on Zn, Cu, Ni and Pb levels in clay loam soil under pasture grass in Zimbabwe. **Agric Ecos Environ**, 73:199–204, 1999.

OBE, G. et al. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. **Mutation Research**, v. 504, p. 17-36, 2002.

ODEIGAH, P.G.C.; NURUDEEN, O.; AMUND, O. Genotoxicity of oil field wastewater in Nigeria. **Hereditas**, 126: 161–167, 1997.

OKAFO, C.N.; UMOH, V. J.; GALADIMA, M. Occurrence of pathogens on vegetables harvested from soils irrigated with contaminated streams. **Sci Total Environ**, Jul 20; 311 (1-3): 49-56, 2003.

OLAHARSKI, A. et al. Tetraploidy and chromosomal instability are early events during cervical carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v.27, p.3317–3343, 2006.

OLIVEIRA, A.C. **Toxicidade de oligoelementos para consumidores primários na presença de exopolissacarídeos produzidos por organismos fitoplanctônicos (*chlorophyceae* e *cianophyceae*)**. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2007.

OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo - SP, Brasil. II - Pesquisa de protozoários intestinais. **Rev. Saúde públ.**, 26 (5): 332-5, 1992.

PÁDUA, H. B. **Temperatura (Água/Ar) em sistemas aquáticos**. Disponível em: <<http://www.abrappesq.com.br/materia2.htm>>. Acesso em: 05 Dez 2011.

PAGANINI, W. S. **Disposição de esgotos no solo (escoamento à superfície)**. São Paulo: Fundo Editorial da AESABESP, 1997. 232p.

PAIVA, M. J. D. **Previsão do perigo ambiental de pesticidas e avaliação na água superficial de áreas de batata e cenoura**. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agronômica). Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, 2008.

PAPADOPOULOS, F. et al. Assessment of reclaimed municipal wastewater application on rice cultivation. **J Environ Manage** 43:135–143, 2009.

PATEMIANI, J.E.S.; PINTO, J. M. Qualidade da água. In: MIRANDA, J.H.; PIRES, R.C.M. **Irrigação série Engenharia Agrícola.**, v1, p195 – 253, 2001.

PATRA, M. et al. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. **Env and Exper Botany**, v.52: 199-223, 2004.

PFLEEGER, T. et al. **A short-term bioassay for whole plant toxicity.** In: GORSUCH, J.W., LOWER, W.R., WANG, W., LEWIS, M.A., eds, *Plants for toxicity assessment*, V. 2. STP 1115. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, p. 355 – 364, 1991.

PINTO, F. R. **Qualidade da água em propriedades rurais da microbacia hidrográfica do Córrego Rico, Jaboticabal – SP.** Tese (Doutorado em Ciências Agrárias e Veterinárias).UNESP, Jaboticabal, 2011.

PIONTEK, M. Application of *Dugesia tigrina Girard* in toxicological studies of aquatic environments. **Polskie Archiwum Hydrobiol.** V. 45, Issue 4, P 565-572, 1998.

PORTIS, I.G. et al. **Determinação da mutagenicidade do tebuconazole em sistema teste vegetal** In: 2ª Reunião Brasileira de Citogenética - Águas de Lindóia – SP, 2011.

PORTO, M. F. A. et al. Caracterização da qualidade de água. In: BRANCO, S. M. **Hidrologia Ambiental.** São Paulo: Edusp/ ABRH, 1991. p. 27-66.

PREFEITURA MUNICIPAL DE ITAPECERICA DA SERRA. **Geoprocessamento.** Itapeçerica da Serra, 2011.

QADIR, M.; GHAFOR, A. MURTAZA, G. Cadmium concentration in vegetables grown on urban soils irrigated with untreated municipal sewage. **Environ Dev Sustain**, 2:13–21, 2000.

RADIX, P. et al. Comparison of four chronic toxicity test using Algae, Bacteria and Invertebrates assessed with sixteen chemicals. **Ecotox Env Saf.** 47, pp. 186-194, 2000.

RAI, P.K.; TRIPATHI, B.D. Microbial contamination in vegetables due to irrigation with partially treated municipal wastewater in a tropical city. **Int J Environ Saúde Res**, Oct; 17 (5): 389-95, 2007.

RAMALHO, J. F. G. P. et al. Acúmulo de metais pesados em solos cultivados com cana-de-açúcar pelo uso contínuo de adubação fosfatada e água de irrigação. **Rev Bras Ciên do Solo**, v. 2, p. 971-979, 1999.

RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of aquatic toxicology.** Washington, 1985. 665p.

RANK, J. A. et al. Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus

test, *Salmonella* mutagenicity test, and *Allium* anaphase-telophase test. **Mutat Research**, 300: 29–36, 1993.

RANK, J.; NIELSEN, M.H. Evaluation of the *Allium* anaphase–telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. **Mutat. Res.** 312: 17–24, 1994.

RAYA-RODRIGUEZ, M. T. **O uso de bioindicadores para avaliação da qualidade do ar em Porto Alegre.** In: ZURITA, M. L. L.; TOLFO, A. M. (Org.) A Qualidade do Ar em Porto Alegre. Porto Alegre: Secretaria Municipal do Meio Ambiente, 2000.

REDDIEN, P. W. & SÁNCHEZ ALVARADO, A. Fundamentals of planarian regeneration. **Annual review of cell and devel biol**, 20: 725–757, 2004.

REUTER, M.; KRESHCHENKO, N. Flatworm asexual multiplication implicates stem cells and regeneration. **Canadian Journal Zoological**, 82: 334-356, 2004.

RIGOLIN-SÁ, O.; PEREIRA, K.C. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de hortaliças e da água utilizada em hortas na cidade de Passos-MG. R. **Hispeci Lema**, Bebedouro, SP, v.8, p.22-23, 2005.

RIGONATO, J.; JORDÃO, B. Q. **Uso do teste de *Allium* na avaliação de amostras ambientais.** In: Resumos do 48º Congresso Nacional de Genética. Águas de Lindóia, 2002.

RODRIGUES, F, M. **Caracterização hídrica em função das condições de uso e manejo do solo na microbacia hidrográfica do córrego da fazenda da glória, Taquaritinga, S.P.** Dissertação. (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP. Jaboticabal, 2008.

RODRIGUES, L. H. R. **Avaliação da sensibilidade de *Raphidocelis subcapitata* (*Chlorococcales*, *Chlorophyta*) ao sulfato de cobre e sulfato de zinco através de testes de toxicidade crônica e determinação da densidade algal por espectrofotometria.** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2002.

RODRIGUES, D. O.; SILVA, S. L. R.; SILVA, M. S. R. Avaliação Ecotoxicológica Preliminar das Águas das Bacias Hidrográficas dos rios Tarumã, São Raimundo e Educandos. **Acta Amazônica**, Vol. 39(4): 935 – 942, 2009.

ROJÍCKOVÁ-PADRTOVÁ, R.; MARSÁLEK, B. Selection and sensitivity comparisons of algal species for toxicity testin. **Chemosphere**, 38: 3329 – 3338, 1999.

ROZGAJ, R.; KAŠUBA, V.; BROZOVI, G.; JAZBEC, A. Genotoxic effects of anaesthetics in operating theatre personnel evaluated by the comet assay and micronucleus test. **Int Jour Hyg Env Health**, v.212, p. 11–17, 2009.

RUBINGER, C. F. **Seleção de métodos biológicos para avaliação toxicológica de efluentes industriais.** Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2009.

RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Zoologia dos invertebrados: Uma abordagem funcional-evolutiva**. 7. ed. São Paulo: Roca, p. 258-305, 2005.

RUSSEL, P.J. **Chromosomal mutation**. In: CUMMINGS, B. (Org.), Genetics. San Francisco: Pearson Education Inc, 2002, p. 595-621.

RYAN, J.A.; PAHREN, H.R. LUCAS, J.B. Controlling cadmium in the human chain: review and rationale based on health effects. **Environ Res**, 28:251–302, 1982.

SALA, O. E.; CHAPIN, F. S.; ARMESTO, J.J. Global biodiversities scenarios for the year 2100. **Science**, 287: 1770-1774, 2000.

SAMARDAKIEWICZ, S.; WOŹNY, A. Cell division in *Lemna minor* roots treated with lead. **Aquatic Botany**, v.83, p.289–295, 2005.

SÁNCHEZ ALVARADO, A. Regeneration in the metazoans: why does happen? **Bioessays**, 22: 578-590, 2000.

SANCHEZ ALVARADO, A.; NEWMARK, P. A. Double-stranded RNA specifically disrupts gene expression during planarian regeneration. **Proced Nat Acad of Scie of the USA**, 96: 5049–5054, 1999.

SANCHEZ-CAMAZANO, M.; SÁNCHEZ-MARTÍN, M.J.; LORENZO, L. F. Lead and cadmium in soils and vegetables from urban gardens of Salamanca (Spain). **Sci Total Environ**, 146/147:163–8, 1994.

SANTANA et al. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 26(2): 264-269, 2006.

SANT'ANNA, G. S. et al. Biologia reprodutiva de *girardia tigrina* (*platyhelminthes, tricladida, paludicola*) em laboratório. **Rev. Saúde e Biol.**, v. 2, n. 2 p. 22-27, 2007.

SANTOS, Y. T. O. **Qualidade Sanitária de hortaliças cultivadas em um distrito sanitário de Salvador - Ba e eficiência de soluções antimicrobianas sobre linhagens de *Escherichia coli***. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2007.

SÃO PAULO. Lei Estadual nº 12.233, de 16 de Janeiro de 2006. Define a área de Proteção dos Mananciais da Bacia Hidrográfica do Reservatório Guarapiranga e dá outras providências. São Paulo: Diário Oficial de São Paulo, 2006.

SARAKINOS, H. C. E RASMUSSEN J. B. Use of bioassay - based whole effluents toxicity (WET) tests to predict benthic community response to a complex industrial effluent. **Jou Aquat Ecos Stress Recov**. 6: 141-157, 1998.

SARDINHA, D. S. et al. Avaliação da qualidade e autodepuração do ribeirão do Meio, Leme (SP). Rio de Janeiro, **Engenharia Sanitária e Ambiental**, ABES, v. 30, n.3, p. 329-338, 2008.

SEEGAL, R. F.; HANSEN, L. G. PCB effects on biogenic amines in the planarian, *Dugesia dorotocephala*. **Soc. Neuro. Sci. Abst.** 17, 279, 1991.

SEITENFUS, A. L. R.; LEAL-ZANCHET, A. M. Uma introdução à morfologia e taxonomia de planárias terrestres (*Platyhelminthes*, *Tricladida*, *Terricola*). **Acta Biologica Leopoldensia**, 26: 187-202, 2004.

SETH, C.S. et al. Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of *Allium cepa*: cytogenetic and comet assay approach. **Ecotox and Env Saf**, v.71, p.711-716, 2008.

SICKO-GOAD, L; STOERMER, E. F. Effects of toxicants on phytoplankton with special reference to the Laurentian Great Lakes. In: EVANS, M.S. (Ed.). Toxic contaminants and ecosystem health – A great lakes focus. **Advances in Environ Scien and Technol.**, v. 21: 1-19, 1988.

SILVA, C. G. M., et al. Ocorrência de *Cryptosporidium spp.* e outros parasitas em hortaliças consumidas *in natura*, no Recife. **Ciência & Saúde Coletiva**, 10 (Sup): 63-69, 2005.

SILVA, H. R. **Água de Irrigação: Qualidade e Tratamento**. In: Curso Internacional de Produção de Hortaliças, 9., 2003, Brasília: Embrapa, 2003. Disponível em: <www.unitins.br/.../Irrigação%20Qualidade%20da%20Água%20e%20Tratamento.pdf>. Acesso em: 31 Dez 2011.

SILVA, S. R. P. **Avaliação bacteriológica e parasitológica em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Porto Alegre – RS**. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

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

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3ªed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552 p

SILVA, J. P. et al. **Avaliação química da água do córrego do Boi para fins de irrigação**. In: Trabalho técnico – Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos, Unesp - Ilha Solteira, 2009.

SIMÕES, M. et al. Hygienic-sanitary conditions of vegetables and irrigation water from kitchen gardens in the municipality of Campinas, SP. **Braz J Microb**, 32: 331-3, 2001.

SINGH, K.P. et al. Impact assessment of treated/untreated wastewater toxicants discharge by sewage treatment plants on health, agricultural, and environmental quality in wastewater disposal area. **Chemos.**, 55:227–55, 2004.

SINHA, S.; SINGH, S.; MALLICK, S. Comparative growth response of two varieties of *Vigna radiata* L. grown on different tannery sludge applications: effects of treated wastewater and ground water used for irrigation. **Environ Geochem Health**, 30: 407–422, 2008.

SINHA, S., et al. Distribution of metals in the edible plants grown at Jajmau, Kanpur (India) receiving treated tannery wastewater: relation with physico-chemical properties of the soil. **Environ Monit Assess**, 115(1-3):1-22, 2006.

SLOOF, W. **Introduction to Aquatic Toxicology**. In: KRUIJF, H.A.M.; ZWART, D.; VISWANATHAN, P.N.; RAY, P.K. Eds. Manual on Ecotoxicology, 1988. 332p.

SLUYS, R. Phylogenetic relationships of triclads (*Platyhelminthes, Seriata, Tricladia*). **Bijdragen dierk**, 59:3-25, 1989.

SMAKA-KINCL, V. et al. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the Allium test procedure. **Mutat. Res.**, 368: 171–179, 1996.

SOARES, B.; CANTOS, G. A. Qualidade parasitológica e condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v.8, n.4: 377-384, 2005.

SOUTO, R. A. **Avaliação sanitária das águas de irrigação e alfaces (*Lactuca sativa* L.) produzidas no município de Lagoa Seca, Paraíba**. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal da Paraíba – UFPB, 2005.

SOUZA, R. M. G. L.; PERRONE, M.A. **Padrões de potabilidade da água**. 12p. Disponível em: <<http://cvs.sal.sp.gov.br/vol2.html>>. Acesso em : 12 Mar 2012.

SRIVASTAVA, K.; MISHRA, K.K. Cytogenetic effects of commercially formulated atrazine on the somatic cells of *Allium cepa* and *Vicia faba*. **Pest. Biochem. Physiol**, 93: 8–12, 2009.

STEINKELLNER, H. et al. Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays. **Env and Mol Mutag**, 31: 183-191, 1998.

STERRETT, S.B.; CHANEY, R.L.; GIFFORD, C.H. MIELKE HW. Influence of fertilizer and sewage sludge compost on yield and heavy metal accumulation by lettuce grown in urban soils. **Environ Geochem Health**, 18:135–42, 1996.

TABAN, B.M. ; HALKMAN, K.A. Do leafy green vegetables and their ready-to eat [RTE] salads carry a risk of foodborne pathogens? **Anaerobe** 17: 286-287, 2011.

TAKAYANAGUI, O.M. et al. Fiscalização de hortas produtoras de verduras do município de Ribeirão Preto, SP. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.33, n.2, p.169-174, mar./abr. 2000.

TAKAYANAGUI, O.M. et al. Avaliação da contaminação de hortas produtoras de verduras após a implantação do sistema de fiscalização em Ribeirão Preto, SP. **Rev Soc Bras Med Trop**, 40(2): 239-241, 2007.

TEHSEEN, W. M. et al. A scientific basis for proposed QA of a new screening method for tumor-like growths in the planarian, *Dugesia dorotocephala*. **Good Pract. Qual. Assur**. Law 1, p.217-229, 1992.

TEIXEIRA, R.O. et al. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L. in in vivo assays. **Gen Mol Biol**, 26: 551-555, 2003.

TELLES, D. A. **Aspectos da utilização de corpos d'água que recebem Esgoto Sanitário na irrigação de Culturas Agrícolas**. In: NUVOLARI, A.(Coord.). Esgoto Sanitário – Coleta, Transporte, Tratamento e Reúso Agrícola. 2ª ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2003.

TELLES, D. A.; DOMINGUES, A. F. **Água na agricultura e pecuária**. In: REBOUÇAS, A. C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação. 3. ed. São Paulo: Escrituras Editoras, 2006

TESTEZLAF, R. et al. Análise do Potencial de Entupimento em Gotejadores através da Avaliação da Qualidade de Água de Irrigação. **Irriga, Botucatu**, v.6, n.1, p.53-62, 2001.

TORGAN, L. C. Identificação de microalga (*Chlorophyceae Chlorococcales*) do banco de cultivo do Departamento de Ecologia/UFRGS. Relatório Técnico - Fundação Zoobotânica. Porto Alegre, 2002.

ULLAH, H.; KHAN, I.; ULLAH, I. Impact of sewage contaminated water on soil, vegetables, and underground water of peri-urban Peshawar, Pakistan. **Environ Monit Assess**, 2429-4 p., 2011.

URIE, D. H. The status of wastewater irrigation of forests. In: Cole DW, Henry CL, Nutter WL, editors. **The Forest Alternative for Treatment and Utilization of Municipal and Industrial Wastes**. Seattle: University of Washington Press; 1986. p. 26–40

USEPA. **Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms**. EPA/600/4-91/002. 3 ed. Cincinnati, U. S. Environmental Protection Agency, 1994.

VAN LUNE, P. Cadmium and lead in soils and crops from allotment gardens in The Netherlands. **Neth J Agric Sci**, 35:207–10, 1987.

VANZELA, L. S. **Qualidade de Água para a Irrigação na Microbacia do Córrego Três Barras no Município de Marinópolis**. Dissertação (Mestrado em Sistema de Produção). UNESP, Ilha Solteira, 2004.

VANZELA, L. S. et al. **Caracterização da microbacia do Cinturão Verde de Ilha Solteira - SP para fins de irrigação**. In: XXXII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 32., Goiânia, 2003.

VARALLO, A. C. T. et al. Avaliação da qualidade sanitária da alface (*Latuca sativa*, L.) irrigada com água de reúso comparada com amostras comercializadas. **Revista Ambiente & Água, Taubaté**, v. 6, n. 2, p. 295-304, 2011.

VENTURA, B.C.; ANGELIS, D.F.; MARIN-MORALES, M.A. Mutagenic and genotoxic effects of the Atrazine herbicide in *Oreochromis niloticus* (*Perciformes, Cichlidae*)

detected by the micronuclei test and the comet assay. **Pest Biochem and Phys**, v. 90, p. 42–51, 2008.

VENTURI, L. A. B. **Itapecerica da Serra - Ocupação e Uso do Território**. Tese (Doutorado em Geografia Física). Departamento de Geografia Física - Universidade de São Paulo, 2001.

VILLAR, D., SCHAEFFER, D. S. Morphogenetic actions of neurotransmitters on regenerating planarians – A review. **Biomed. Environ. Sci.**, 6:327-347, 1993.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. Ed. – Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, 2005.

WAGNER, G. J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. **Adv Agron**, 51:173–212, 1993.

WANG, S.; WANG, X. The Tradescantia-micronucleus test on the genotoxicity of UV-B radiation. **Mutation Research**, v.426, p.151–153, 1999.

WATER RESEARCH COUNCIL. **Irrigation-induced water quality problems: what can be learned from the San Joaquin Valley experience**. Washington: National Research Council, 1989. 157p.

WELDEGEBRIEL, Y. CHANDRAVANSI, B.S.; WONDIMU, T. Concentration levels of metals in vegetables grown in soils irrigated with river water in Addis Ababa, Ethiopia. **Ecotoxicol Environ Saf**, 77: 57–63, 2012.

WONG, J.W.C. Heavy metal contents in vegetables and market garden soils in Hong Kong. **Environ Technol**, 17:407–14, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health guidelines for use of wastewater in agriculture and aquaculture**. *Technical Report Series*. 778. WHO, 1989.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Hepatitis A Vaccines**. *Weekly Epidemiological Record* 2000, Geneva, v. 75, n. 5, p. 38-44, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **The world health report 2003: shaping the future**. Geneva: WHO, 2003. 223 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Guidelines for drinking water quality**. 3. ed. Geneva: WHO, 2004. 515 p.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações**. São Carlos: Editora Rima, 2006. 464 p.

ZHANG, Y., XIAO, H. Antagonistic effect of calcium, zinc and selenium against cadmium induced chromosomal aberrations and micronuclei in root cells of *Hordeum vulgare*. **Mutation Research**, v.420, p.1-6, 1998.