

Avaliação da qualidade da água do Rio dos Sinos (Brasil) por meio do teste de micronúcleos em *Cyprinus carpio* e de análises físico-químicas e microbiológicas
Evaluation of water quality of the Sinos River (Brazil) by micronucleus test in *Cyprinus carpio* and physicochemical and microbiological analysis

Santos de Souza Mateus^{1*}, Zimmermann Prado Rodrigues Gabriela¹, Dalzochio Thais¹, Goldoni Angélica², Ressel Simões Leonardo Airton¹, Gehlen Günther¹, Basso da Silva Luciano²

¹Universidade Feevale. Campus 2. Instituto de Ciências da Saúde. Laboratório de Histologia Comparada. Endereço: Rodovia RS-239, km 2755, CEP 93352-000, Novo Hamburgo, RS, Brasil. ²Universidade Feevale. Campus 2. Instituto de Ciências da Saúde. Laboratório de Citogenética Animal. Endereço: Rodovia RS-239, km 2755, CEP 93352-000, Novo Hamburgo, RS, Brasil.

*mateussouza@feevale.br

Recibido: 9 de noviembre de 2015

Aceptado: 9 de septiembre de 2016

Resumo. O Rio dos Sinos está localizado na região sul do Brasil, possui aproximadamente 190 km de extensão e fornece água para atividades agrícolas, industriais e para o consumo de mais de um milhão de habitantes. Este rio é considerado um dos mais poluídos do Brasil e, portanto, estudos para avaliar a qualidade da água ao longo de sua extensão são necessários. O teste de micronúcleos em eritrócitos de peixes tem sido utilizado com sucesso para detectar a presença de poluentes mutagênicos nos ambientes aquáticos. O objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade da água do Rio dos Sinos por meio do teste de micronúcleos em *Cyprinus carpio* bem como de análises físico-químicas e microbiológicas. Foram coletadas amostras de água nos trechos superior (Caraá), médio (Parobé) e inferior (Novo Hamburgo) do Rio dos Sinos em dezembro de 2013. As amostras foram transportadas para o laboratório para análise de 14 parâmetros de qualidade da água bem como para a exposição de espécimes de *C. carpio* por 72h em aquários. Não foram verificadas diferenças significativas na frequência de micronúcleos e anormalidades nucleares nos grupos expostos a água do rio em comparação ao grupo controle. Apenas um parâmetro de qualidade da água foi observado em desacordo com a legislação no trecho superior do rio, enquanto que nos trechos médio e inferior foram seis e cinco parâmetros, respectivamente. Os resultados demonstram que o Rio dos Sinos apresenta redução da qualidade da água ao longo de sua extensão e indicam ausência de potencial genotóxico no período amostrado.

Palavras-chave: Rio dos Sinos; Biomarcadores; Qualidade da água; *Cyprinus carpio*

Abstract. The Sinos River is located in South of Brazil, it has about 190 km of extension and provides water for agricultural and industrial activities, and for consumption of more than one million inhabitants. This river is considered one of the most polluted rivers in Brazil; therefore, studies aiming to evaluate the water quality along its course are necessary. The micronucleus test in fish erythrocytes has been successful used to detect mutagenic pollutants in the aquatic environment. The objective of this study was to evaluate the water quality of the Sinos River by the micronucleus test in *Cyprinus carpio*, as well as physicochemical and microbiological analyses. Water samples were collected in the upper (Caraá municipality), middle (Parobé municipality) and lower (Novo Hamburgo municipality) sections of the Sinos River, in December 2013. The samples were transported to the laboratory for analysis of 14 water quality parameters and for exposure of *C. carpio* for 72 hours in aquaria. Significant differences in micronucleus and nuclear abnormalities frequencies were not found between the control and the exposed groups. Only one parameter of water quality exceeded the limit of the legislation in the upper section of the river, while in the middle and lower sections, six and five parameters, respectively. These results show that the Sinos River presents a reduction in water quality along its extension and indicates the absence of genotoxic potential in the sampled period.

Keywords: Sinos river; Biomarkers; Water quality; *Cyprinus carpio*

Introdução

O Rio dos Sinos, localizado na região nordeste do Rio Grande do Sul, é considerado um dos principais rios do estado, concentrando na área de sua bacia hidrográfica significativa percentagem da população, além de um gran-

de parque industrial e turístico (Comitesinos 2000). Ao longo de sua extensão, de aproximadamente 190 km, fornece água para atividades agrícolas, industriais e para consumo humano, sendo também utilizado como meio

de diluição de efluentes de esgoto doméstico, efluentes industriais e dejetos de origem rural (Bieger *et al.* 2010).

Os impactos provocados pelas atividades antrópicas contribuem para a redução da qualidade da água do Rio dos Sinos. Monitoramentos de parâmetros físico-químicos da água realizados ao longo do rio indicam que essa redução ocorre principalmente no seu trecho inferior, próximo a grandes centros urbanos, nos quais há maior densidade populacional e industrial (Blume *et al.* 2010). De acordo com o órgão estadual de meio ambiente (SEMA 2014), diversos pontos ao longo do rio foram avaliados nas classes III e IV de qualidade de água conforme classificação estabelecida pela resolução brasileira CONAMA 357/2005 (Brasil 2005), na qual a classe I representa a melhor qualidade e a classe IV a pior.

Além do monitoramento de parâmetros físico-químicos, diversos estudos propondo a utilização de bioindicadores como ferramentas complementares na avaliação da qualidade das águas do rio têm sido realizados (Schulz e Martins-Júnior 2001; Rechenmacher *et al.* 2010; Scalon *et al.* 2010; Nunes *et al.* 2011; Scalon *et al.* 2013; Weber *et al.* 2013; Bergamaschi *et al.* 2015; Bianchi *et al.* 2015). Tais estudos são importantes para que a análise dos impactos provocados pelas atividades antrópicas seja mais ampla, visto que proporcionam a possibilidade de revelar o potencial tóxico da água aos organismos vivos. Peixes são bastante utilizados como bioindicadores de ambientes aquáticos, tanto em estudos *in situ*, devido a sua grande disponibilidade e importante papel na cadeia trófica (Oost *et al.* 2003), como em laboratório, devido à facilidade de manutenção e exposição (Al-Sabti e Metcalfe 1995).

O teste de micronúcleos e anormalidades nucleares em eritrócitos de peixes é uma ferramenta muito utilizada para análise da genotoxicidade da água devido a sua simplicidade e rapidez de análise (Bolognesi e Hayashi 2011). Os micronúcleos são fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros não inseridos no núcleo celular durante o processo de divisão (Al-Sabti e Metcalfe 1995). As anormalidades nucleares são deformações na morfologia do núcleo, as quais também são consideradas indicadoras de efeitos genotóxicos (Çavas e Ergene-Gözükara 2005).

A espécie *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) da família Cyprinidae, conhecida popular-

mente como carpa comum, é muito utilizada em pisciculturas no Brasil. É originária da Europa Oriental e da Ásia Ocidental e foi uma das primeiras espécies a serem cultivadas em aquicultura. Atualmente seu cultivo ocorre em todos os continentes devido a sua rusticidade e facilidade de criação (Querol *et al.* 2005). A espécie já foi utilizada com sucesso em estudos de avaliação de genotoxicidade (Buschini *et al.* 2004; Gustavino *et al.* 2005; Canistro *et al.* 2012; García-Medina *et al.* 2013). Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade da água do Rio dos Sinos por meio do teste de micronúcleos em *C. carpio* bem como de análises físico-químicas e microbiológicas.

Material e métodos

Área de estudo

A Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos está localizada a nordeste do estado do Rio Grande do Sul, entre as coordenadas geográficas de 29° 20' a 30° 10' de latitude Sul e 50° 15' a 51° 20' de longitude Oeste. Possui área de aproximadamente 3.800 km², abrangendo, parcial ou totalmente, 32 municípios e uma população estimada em 1.249.000 habitantes (SEMA 2010). O principal curso de água da bacia e que dá nome a mesma é dividido em três trechos: superior, com 25 km de extensão, caracterizado por alta declividade do fundo e rápido fluxo das águas; médio, que se estende por 125 km e cuja altitude varia de 60 m a 5 m em declividade média; inferior, com aproximadamente 50 km de extensão, no qual a declividade é suave e o fluxo das águas é lento (Comitesinos 2000).

O trecho superior apresenta baixa densidade populacional e atividades econômicas predominantemente rurais. No trecho médio e principalmente no trecho inferior há grandes concentrações populacionais e industriais, sendo que afluentes do Rio dos Sinos drenam grandes centros urbanos como Novo Hamburgo e São Leopoldo. O trecho inferior da bacia é o que está exposto a maior pressão antrópica e nele está instalada a maior base industrial do estado do Rio Grande do Sul (Figueiredo *et al.* 2010).

Coleta de águas superficiais

No mês de dezembro de 2013 foram realizadas as coletas de amostras de águas superficiais em três pontos do Rio dos Sinos, localizados nos municípios de Caraá (29° 45' 44.4"

S / 50° 19' 39.8" W), Parobé (29° 41' 10.7" S / 50° 51' 03.4" W) e Novo Hamburgo (29° 44' 12.5" S / 51° 05' 29.1" W), representando os três trechos do rio, superior, médio e inferior, respectivamente (Figura 1). As amostras foram conduzidas ao laboratório, sendo os seguintes parâmetros analisados de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA 1998): demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), fósforo total, nitrogênio amoniacal, sólidos suspensos, coliformes totais e termotolerantes, alumínio, chumbo, cobre, cromo total, ferro, níquel e zinco.

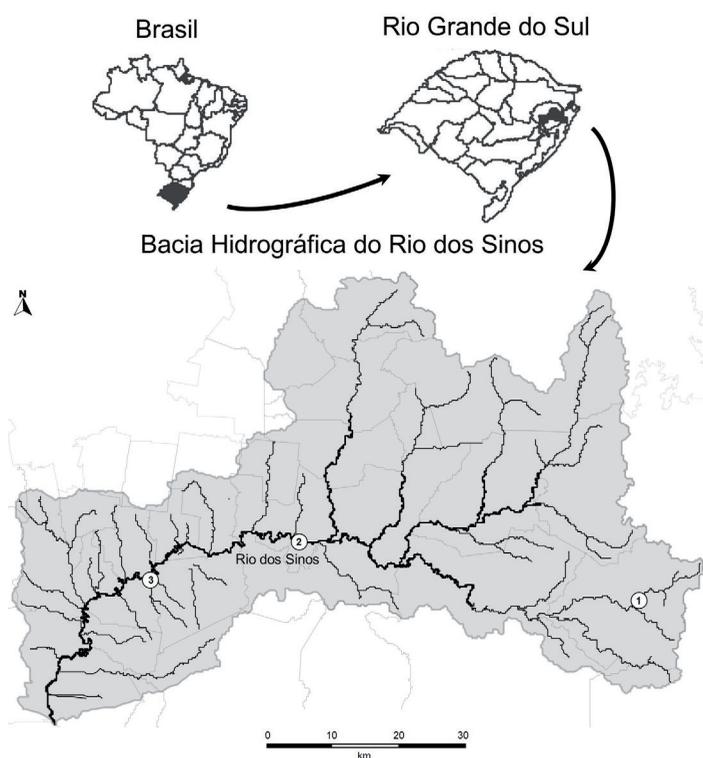


Figura 1. Localização da área de estudo. Pontos de coleta de água no Rio dos Sinos indicados por números: 1) Caraá, 2) Parobé, 3) Novo Hamburgo.

Procedimento experimental

O protocolo experimental do presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Feevale (protocolo n.02.13022). Espécimes de *C. carpio* (n=40) foram adquiridos de um piscicultor local e aclimatados por sete dias em água da torneira declorificada com aeração constante, em sala com temperatura controlada ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) e fotoperíodo natural. Após a aclimação, os

peixes foram aleatoriamente divididos em quatro grupos (n=10): Caraá, Parobé, Novo Hamburgo, os quais foram expostos à água proveniente do respectivo ponto de amostragem no rio, e um grupo controle mantido em água da torneira declorificada.

Após 72 horas de exposição, os animais foram sacrificados por secção da medula espinhal e através de um corte na região do pedúnculo caudal foi coletado sangue para a realização da técnica do esfregaço em lâmina citológica. As lâminas foram fixadas em etanol absoluto por 10 minutos e coradas em Giemsa 5% por 10 minutos, sendo então lavadas em água corrente, codificadas e analisadas em microscópio óptico em aumento de 1000x. Foram analisados 2000 eritrócitos por animal. Partículas pequenas, arredondadas ou ovais, não refrativas e com o mesmo padrão de coloração do núcleo principal foram consideradas micronúcleos (Çavas e Ergene-Gözükara 2005). Alterações na morfologia do núcleo, tais como brotamentos, invaginações e segmentações foram consideradas anormalidades nucleares (Carrasco *et al.* 1990; Pacheco e Santos 1997).

As frequências de micronúcleos e anormalidades nucleares foram comparadas entre os grupos expostos à água do rio e o grupo controle. A análise estatística foi realizada através do teste Kruskal-Wallis, considerando um nível de significância de 5% ($p < 0.05$). O programa utilizado foi o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 22.0.

Resultados

Os resultados obtidos na análise de parâmetros físico-químicos e microbiológicos das amostras de água coletadas são exibidos na *tabela 1*. Não foram detectadas concentrações de nitrogênio amoniacal, cobre e cromo total em nenhum dos pontos. Todas as amostras apresentaram valores de DBO acima do limite permitido para águas de classe I ($3 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) conforme a resolução CONAMA 357/2005. Para os demais parâmetros analisados, Caraá apresentou todos os resultados dentro do limite para a classe I, enquanto Parobé e Novo Hamburgo ficaram acima do limite para fósforo total, coliformes termotolerantes, alumínio e ferro, sendo os maiores valores registrados para Novo Hamburgo. O ponto de Parobé foi o único em que foi detectado o metal chumbo e em concentração acima do limite para águas de classe I.

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos e microbiológicos das amostras de água do Rio dos Sinos coletadas nas cidades de Caraá, Parobé e Novo Hamburgo, correspondendo aos trechos superior, médio e inferior do rio, respectivamente.

Parâmetros	Caraá	Parobé	Novo Hamburgo	Legislação*
DBO (mg O ₂ L ⁻¹)	7**	5**	<5**	3
DQO (mg O ₂ L ⁻¹)	20,2	24,9	12,9	-
Fósforo total (mg L ⁻¹)	0,1	0,14**	0,19**	0,1
Sólidos suspensos (mg L ⁻¹)	5,5	12	16,5	-
Coliformes termotolerantes (NMP/100 mL)	100	1700**	11000**	200
Coliformes totais (NMP/100 mL)	6800	8100	37000	-
Alumínio (mg L ⁻¹)	n.d.	0,758**	1,165**	0,100
Chumbo (mg L ⁻¹)	n.d.	0,021**	n.d.	0,010
Ferro (mg L ⁻¹)	0,118	0,637**	1,645**	0,300
Níquel (mg L ⁻¹)	0,007	0,011	0,009	0,025
Zinco (mg L ⁻¹)	0,013	0,010	0,023	0,180

*Valores máximos permitidos pela legislação brasileira para águas de classe I (Resolução 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA).

**Valores acima do permitido para a classe I.

Para o teste de micronúcleos (*Tabela 2*), não foram verificadas diferenças significativas nas comparações das frequências de micronúcleos e de anormalidades nucleares dos grupos expostos à água do rio em relação ao grupo controle.

Tabela 2. Frequências de micronúcleos (MN) e de anormalidades nucleares (AN) em espécimes de *Cyprinus carpio* expostos à água do Rio dos Sinos.

	MN/1000	AN/1000
Controle	0,00 ± 0,00	0,30 ± 0,35
Caraá	0,10 ± 0,32	0,95 ± 1,30
Parobé	0,00 ± 0,00	0,55 ± 0,50
Novo Hamburgo	0,10 ± 0,32	0,50 ± 0,53
p (Kruskal-Wallis)	0,56	0,29

Discussão

O trecho superior do rio apresentou, em geral, parâmetros físico-químicos e microbiológicos dentro dos limites permitidos para águas de classe I conforme a resolução brasileira CONAMA 357/2005. Segundo o Comitês Sinos (2000), essa região apresenta os menores impactos ambientais da bacia hidrográfica. Os

trechos médio e especialmente inferior, por outro lado, estão expostos a maiores pressões antrópicas (Blume *et al.* 2010), de forma que a maior quantidade de parâmetros acima dos limites de concentração para a classe de melhor qualidade de água nessas regiões é reflexo dessa situação.

Diversos estudos já foram realizados na Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos visando à avaliação do potencial genotóxico de suas águas. Scalón *et al.* (2013) revisaram o resultado de alguns desses estudos, os quais aplicaram diferentes metodologias, como o teste *Salmonella*/ Microssoma, teste de micronúcleos em linhagem celular, teste *Allium cepa*, entre outros, constatando que houve tanto resultados positivos quanto negativos para efeitos genotóxicos.

Scalón *et al.* (2010) propuseram o primeiro experimento utilizando biomarcadores de genotoxicidade em peixes para avaliar a água do Rio dos Sinos, o teste de cometa em eritrócitos de *Hyphessobrycon luetkenii*. Os autores verificaram alterações sazonais na frequência de danos de DNA induzida pela água dos trechos superior e inferior. Scalón *et al.* (2013), também utilizando teste de cometa em *H. luetkenii*, verificaram efeito genotóxico na água do trecho

médio na coleta de verão e nos três trechos na coleta de inverno quando comparados ao grupo controle. Bergamaschi *et al.* (2015) aplicaram o teste de micronúcleos e anormalidades nucleares em eritrócitos de peixes da espécie *Leporinus obtusidens* expostos à água coletada nos três trechos do rio, não encontrando diferenças significativas entre esses grupos e o controle. Bianchi *et al.* (2015) aplicaram tanto o teste de micronúcleos e anormalidades nucleares quanto o ensaio cometa em eritrócitos de *Astyanax jacuhiensis* expostos à água do Rio dos Sinos. Para a primeira metodologia, não encontraram diferenças entre os trechos analisados, mas para a segunda, verificaram aumento na frequência de danos ao material genético dos grupos expostos à água dos trechos médio e inferior em comparação ao trecho superior.

O teste de micronúcleos em eritrócitos de *C. carpio* já foi utilizado com o objetivo de verificar o potencial genotóxico de determinadas substâncias (Buschini *et al.* 2004; Gustavino *et al.* 2005; Canistro *et al.* 2012; García-Medina *et al.* 2013) ou a sensibilidade da espécie às mesmas (Al-Sabti 1986; Grisolia e Cordeiro 2000). São poucos os estudos visando à avaliação de corpos de água com a espécie. Grisolia e Starling (2001) e Grisolia *et al.* (2009) realizaram o teste em espécimes capturados no lago Paranoá, Brasília.

A ausência de diferença nas frequências de micronúcleos e de anormalidades nucleares entre o grupo controle e os grupos expostos à água do rio indica a ausência de potencial genotóxico da água do Rio dos Sinos em *C. carpio* no período amostrado. As baixas frequências de micronúcleos nos animais do presente estudo e também reportadas na literatura para a espécie (Grisolia e Starling 2001; Grisolia *et al.* 2009), podem ser consideradas a taxa basal para a espécie e é similar a observada para a maioria das espécies de peixes, cujas médias variam entre 0 e 1 micronúcleos por 1.000 células (Bolognesi e Hayashi 2011). Este estudo foi o primeiro a aplicar o teste de micronúcleos em *C. carpio* para avaliação da qualidade da água do Rio dos Sinos, e, para que esta espécie seja utilizada como bioindicadora, algumas variações nas condições experimentais devem ser testadas, tais como maiores períodos de exposição, e também a análise de maior número de células, tal como sugere Udrouiu (2006) para espécies nas quais as frequências de micronúcleos são baixas.

Agradecimentos. Os autores agradecem à Universidade Feeva-

le, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pela concessão de bolsas.

Referências

Al-Sabti K. Clastogenic effects of five carcinogenic-mutagenic chemicals on the cells of the common carp, *Cyprinus carpio* L. Comp Biochem Physiol. 1986;85C(1):5-9.

Al-Sabti K., Metcalfe C.D. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. Mutat Res. 1995;343:121-135.

American Public Health Association (APHA). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. Washington, DC. American Public Health Association, 1998.

Bergamaschi B., Rodrigues M.T., Silva J.V.S., Kluge M., Luz R.B., Fleck J.D., Bianchi E., Silva L.B., Spilki F.R. Moving beyond classical markers of water quality: detection of enteric viruses and genotoxicity in water of the Sinos River. Braz J Biol. 2015;75(2):S63-S67.

Bianchi E., Goldoni A., Trintinaglia L., Lessing G., Silva C.E.M., Nascimento C.A., Ziulkoski A.L., Spilki F.R., Silva L.B. Evaluation of genotoxicity and cytotoxicity of water samples from the Sinos River Basin, southern Brazil. Braz J Biol. 2015;75(2):S68-S74.

Bieger L., Carvalho A.B.P., Strieder M.N., Maltchik L., Stenert C. Are the streams of the Sinos River basin of good water quality? Aquatic macroinvertebrates may answer the question. Braz J Biol. 2010;70(4):1207-1215.

Blume K.K., Macedo J.C., Meneguzzi A., Silva L.B., Quevedo D.M., Rodrigues M.A.S. Water quality assessment of the Sinos River, Southern Brazil. Braz J Biol. 2010;70(4):1185-1193.

Bolognesi C., Hayashi M. Micronucleus assay in aquatic animals. Mutagenesis. 2011;26(1):205-213.

Buschini A., Martino A., Gustavino B., Monfrinotti M., Poli P., Rossi C., Santoro M., Dörr A.J.M., Rizzoni M. Comet assay and micronucleus test in circulating erythrocytes of *Cyprinus carpio* specimens exposed in situ to lake waters treated with disinfectants for potabilization. Mutat Res. 2004;557:119-129.

- Canistro D., Melega S., Ranieri D., Sapone A.,-Gustavino B., Monfrinotti M., Rizzoni M., Paolini M. Modulation of cytochrome P450 and induction of DNA damage in *Cyprinus carpio* exposed in situ to surface water treated with chlorine or alternative disinfectants in different seasons. *Mutat Res.* 2012;729:81-89.
- Carrasco K.R., Tilbury K.L., Mayers M.S. Assessment of the piscine micronuclei test as an in situ biological indicator of chemical contaminants effects. *Can J Fish Aquat Sci.* 1990;47:2123-2136.
- Çavas T., Ergene G. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* following exposure to petroleum refinery and chromium processing plant effluents. *Aquatic Toxicology.* 2005;74:264-271.
- Comitesinos. Enquadramento das águas da Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos. São Leopoldo: Impresul, 2000.
- Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Brasil. Resolução nº 357. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial da União.* 2005;53:58-63.
- Figueiredo J.A.S., Drumm E., Rodrigues M.A.S., Spilki F.R. 2010. The Rio dos Sinos watershed: an economic and social space and its interface with environmental status. *Braz J Biol.* 2010;70(4):1131-1136.
- García-Medina S., Núñez-Betancourt J.A., García-Medina A.L., Galar-Martínez M., Neracruz N., Islas-Flores H., Gómez-Oliván L.M. The relationship of cytotoxic and genotoxic damage with blood aluminum levels and oxidative stress induced by this metal in common carp (*Cyprinus carpio*) erythrocytes. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2013;96:191-197.
- Grisolia K, Cordeiro CMT. Variability in micronucleus induction with different mutagens applied to several species of fish. *Genet Mol Biol.* 2000;23(1):235-239.
- Grisolia C.K., Starling F.L.R.M. Micronuclei monitoring of fishes from Lake Paranoá, under influence of sewage treatment plant discharges. *Mutat Res.* 2001;491:39-44.
- Grisolia C.K, Rivero C.L.G, Starling F.L.R.M., Silva I.C.R., Barbosa A.C., Dorea J.G. Profile of micronucleus frequencies and DNA damage in different species of fish in a eutrophic tropical lake. *Genet Mol Biol.* 2009;32(1):138-143.
- Gustavino B., Buschini A., Monfrinotti M., Rizzoni M., Tancioni L., Poli P., Rossi C. Modulating effects of humic acids on genotoxicity induced by water disinfectants in *Cyprinus carpio*. *Mutat Res.* 2005;587:103-113.
- Nunes E.A., Lemos C.T., Gavronski L., Moreira T.N., Oliveira N.C.D., Silva J. Genotoxic assessment on river water using different biological systems. *Chemosphere.* 2011;84:47-53.
- Oost R.V.D., Beyer J., Vermeulen N.P.E. Fish Bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2003;13:57-149.
- Pacheco M., Santos M A. Induction of EROD activity and genotoxic effects by polycyclic aromatic hydrocarbons and resin acids on the juvenile eel (*Anguilla anguilla* L.). *Ecotoxicol Environ Saf.* 1997;38:252-259.
- Querol M.V.M., Querol .E, Pessano E.F.C., Azevedo C.L.O. Ocorrência da carpa húngara, *Cyprinus carpio* (LINNAEUS, 1758) e disseminação parasitária, no Arroio Felizardo, bacia do médio Rio Uruguai, Uruguaiana, RS, Brasil. *Biodiv Pamp.* 2005;3:21-23
- Rechenmacher C., Siebel A.M., Goldoni A., Klauck C.R., Sartori T., Rodrigues T., Rodrigues M.A.S., Gehlen G., Ardenghi P.G., Silva L.B. A multibiomarker approach in rats to assess the impact of pollution on Sinos River, Southern Brazil. *Braz J Biol.* 2010;70(4):1223-1230.
- Schulz U.H., Martins-Junior H. *Astyanax fasciatus* as bioindicator of water pollution of Rio dos Sinos, RS, Brazil. *Braz J Biol.* 2001;61(4):615-622.
- Scalon M.C.S., Rechenmacher C., Siebel A.M., Kayser M.L., Rodrigues M.T., Maluf S.W., Rodrigues M.A.S., Silva L.B. Evaluation of Sinos River water genotoxicity using the comet assay in fish. *Braz J Biol.* 2010;70(4):1217-1222.

Scalon M.C.S., Rechenmacher C., Siebel A.M., Kayser M.L., Rodrigues M.T., Maluf S.W., Rodrigues M.A.S., Silva L.B. Genotoxic potential and physicochemical parameters of Sinos River, southern Brazil. *Sci World J.* 2013;2013:209737.

Secretaria Estadual de Meio Ambiente (SEMA). [em-linea]. Porto Alegre: Estado do Rio Grande do Sul. [Atualizado em 8 de setembro de 2010; consulta 1 de abril de 2015]. Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos. Disponível em: <http://www.sema.rs.gov.br/>.

Secretaria Estadual de Meio Ambiente (SEMA). [em-linea]. Porto Alegre: Estado do Rio Grande do Sul. [Atualizado em 16 de outubro

de 2014; consulta 1 de junho de 2015]. Relatório Executivo do Plano da Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos – REP Fase C: Plano de Bacia. Disponível em: http://www.sema.rs.gov.br/upload/Relatorio_Executivo.pdf.

Udroiu I. The micronucleus test in piscine erythrocytes. *Aquatic Toxicology.* 2006;79: 201-204.

Weber P., Behr E.R., Knorr C.D.L., Vendruscolo D.S., Flores E.M.M., Dressler V.L., Baldiserotto B. Metals in the water, sediment and tissues of two fish species from different trophic levels in a subtropical Brazilian river. *Microchem J.* 2013;106:61–66.