



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
COMISSÃO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

# ATIVIDADE MUTAGÊNICA EM BACIA HIDROGRÁFICA INFLUENCIADA POR ATIVIDADES AGRÍCOLAS, URBANAS E INDUSTRIAIS



*Ciente e  
devidos,  
Ferreira José Hoff*

**ANDRÉIA TORRES DE LEMOS**

PORTO ALEGRE  
2008

**Andréia Torres de Lemos**

**ATIVIDADE MUTAGÊNICA EM BACIA HIDROGRÁFICA  
INFLUENCIADA POR ATIVIDADES AGRÍCOLAS, URBANAS E  
INDUSTRIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado, em forma de trabalho científico a ser submetido ao periódico *Water Research*, como um dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, Ênfase Ambiental.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sandra Maria Hartz, Depto de Ecologia, Instituto de Biociências, UFRGS.

Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vera Maria Ferrão Vargas, Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) e Programa de Pós-Graduação em Ecologia, UFRGS.

Porto Alegre

2008

## RESUMO

O potencial genotóxico de amostras de uma bacia hidrográfica impactada por atividades agrícolas, urbanas e industriais foi estudado, investigando a influência das variações sazonais na atividade mutagênica de suas águas. Três locais foram analisados, sendo um de referência -SI121- e dois com maior influência antrópica - SI028 e SI008. Utilizou-se o ensaio *Salmonella*/microsossoma em presença/ausência de metabolização hepática de ratos (fração S9) em amostras de água e extrato orgânico. Foram utilizadas linhagens para identificar erros no quadro de leitura (TA98 e TA97a), trocas de pares de bases (TA100, TA1535) e danos oxidativos (TA102). Respostas indicativas de mutagênese ocorreram especialmente na presença de metabolização e parecem ter sofrido a influência das condições climáticas. A resposta tóxica, bastante freqüente, pode ter interferido na detecção da mutagenicidade. O impacto adverso das atividades antrópicas no corpo hídrico foi detectado através de respostas recorrentes no local de maior concentração urbana e industrial que apresentou efeitos na maioria das linhagens testadas.

**Palavras-chave:** Ensaio *Salmonella*/microsossoma; Qualidade da água; Genotoxicidade; Mutagenicidade; Extratos orgânicos, Poluição hídrica.

### 1. Introdução

Ambientes aquáticos recebem grande quantidade de contaminantes, sendo o receptor final de uma variedade de resíduos oriundos de áreas urbanas, atividades industriais e agrícolas. Dessa forma, os corpos hídricos se tornam misturas complexas onde esses contaminantes são influenciados pelas características locais podendo ser transportados, transformados e/ou bioacumulados. Estudos recentes estimam que, por

26 dia, são utilizadas cerca de cem mil substâncias químicas, sendo que muitas delas são  
27 compostos desconhecidos que podem apresentar propriedades genotóxicas (Holt,  
28 2000; Ohe et al., 2004).

29 Na maioria das vezes essas substâncias apresentam-se no ambiente em  
30 concentrações abaixo do necessário para causar efeitos agudos. No entanto, mesmo  
31 em pequenas concentrações, quando um organismo é exposto a essas condições ele  
32 pode tornar-se incapaz de funcionar em um contexto ecológico (Scott and Sloman,  
33 2004). Substâncias químicas que induzem mutações podem afetar células somáticas e  
34 germinativas, tornando-se potenciais causadores de problemas de fertilidade e indução  
35 de câncer (Mortelmans and Zeiger, 2000). Mutações não-específicas podem se  
36 acumular no genoma e potencialmente persistir na população resultando,  
37 eventualmente, em redução do *fitness* e do tamanho populacional (Belfiore &  
38 Anderson, 2001).

39 Realizar a análise do risco sobre os efeitos de cada substância efetivamente em uso,  
40 não é possível. Além disso, os indivíduos raramente estão expostos a um único  
41 contaminante, mas a uma mistura deles, que pode apresentar propriedades tóxicas  
42 diferentes dos constituintes originais. Dessa forma, a avaliação da qualidade das águas  
43 receptoras se torna importante para assegurar a integridade dos ecossistemas.

44 Efeitos adversos na saúde humana podem ser atribuídos a substâncias tóxicas  
45 presentes na água. A presença de compostos potencialmente tóxicos nessa água deve  
46 ser atentamente considerada mesmo que ocorra em baixos níveis, devido ao longo  
47 tempo de exposição a que os seres humanos estão sujeitos (Buschini et al., 2008).  
48 Recentemente, foi reportado que a qualidade da água de abastecimento público  
49 depende, principalmente, da qualidade da água bruta de origem, reforçando a  
50 necessidade do monitoramento e análise de risco de corpos hídricos (Pereira et al.,  
51 2007).

51 O monitoramento da qualidade da água geralmente é conduzido através de medidas  
52 físico-químicas que, devido à natureza complexa das amostras, podem não ser  
53 suficientes para garantir a segurança biológica (Claxton et al., 1998; Fernandez et al.,  
54 2005). Em contrapartida, os bioensaios fornecem uma ferramenta útil na detecção dos  
55 efeitos de uma ampla variedade de substâncias químicas e de suas interações sem a  
56 necessidade de informações prévias acerca da sua identidade ou propriedades físico-  
57 químicas. A utilização de biomarcadores genotóxicos é apropriada para a análise de  
58 risco ambiental e vários estudos relacionam danos no DNA com subseqüentes  
59 alterações a nível molecular, celular e tecidual de organismos aquáticos (Ohe et al.,  
60 2004).

61 Nesse contexto, o ensaio *Salmonella*/microsoma é um método amplamente  
62 recomendado para avaliar a atividade mutagênica de amostras ambientais e tem sido  
63 utilizado pelo nosso grupo de pesquisa na avaliação da qualidade de águas superficiais  
64 (Vargas et al., 1993; Cardozo et al., 2006; Vargas et al., 2008), sedimentos (Vargas et  
65 al., 2001; Tagliari et al., 2004; Horn et al., 2004), ar (Vargas et al., 1998; Vargas, 2003;  
66 Ducatti & Vargas, 2003; Coronas et al., 2008) e solos (Silva-Júnior e Vargas, 2007).  
67 Além disso, resultados positivos no ensaio *Salmonella*/microsoma devem ser  
68 considerados como potencialmente carcinogênicos em mamíferos (Zeiger, 1998;  
69 Vargas, 2003).

70 O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial genotóxico utilizando o ensaio  
71 *Salmonella*/microsoma em uma bacia hidrográfica impactada por atividades  
72 agrícolas, urbanas e industriais investigando a influência de diferentes estações na  
73 atividade mutagênica de suas águas.

74

## 75 **2. Material e Métodos**

76

79 A bacia hidrográfica do rio dos Sinos localiza-se no estado do Rio Grande do Sul,  
80 sul do Brasil, em área de elevada densidade demográfica: ela compreende 17% da  
81 população do estado em apenas 3,5% de seu território (Haase, 2002). As águas da  
82 bacia são utilizadas para abastecimento público e industrial, irrigação, dessedentação  
83 de animais, recreação de contato primário, pesca artesanal, navegação, geração de  
84 eletricidade e para a proteção de comunidades aquáticas (Vargas et al., 2001). O rio  
85 dos Sinos inclui uma importante área urbana, agrícola e industrial do estado sendo  
86 influenciada por diferentes tipos de poluição ao longo de seu curso.

87 A precipitação acumulada mensal em Porto Alegre é utilizada representativamente  
88 para a região da bacia dos Sinos, uma vez que dados dessa região não estão  
89 disponíveis (Fepam, 2007). Conforme apresentado na figura 1, o período de maior  
90 precipitação ocorre entre junho e outubro.

### 92 **2.1.1. Locais de amostragem**

94 Os locais de amostragem foram escolhidos baseados em dados de monitoramento  
95 físico-químico gerados pela FEPAM e conforme as características de poluição  
96 antrópica no curso do rio. As amostras de água foram coletadas no período entre Maio  
97 de 2005 à Agosto de 2006 como mostrado na tabela 1. Três pontos de amostragem  
98 foram escolhidos na bacia, um de referência no rio Rolante – local SI121- e duas áreas  
99 contaminadas por resíduos antropogênicos no rio dos Sinos – locais SI028 e SI008  
100 (Figura 2). Os pontos amostrais são denominados pelas iniciais do rio (SI) seguido  
101 pela distância em quilômetros da foz.

- 103 • SI 121 (29° 34' 53" S and 50° 28' 03" W) fica localizado no trecho superior  
104 da bacia, próximo a cidade de Riozinho com 4406 habitantes. As principais  
105 fontes de poluição são atividades agrícolas e pastagens de pequeno porte.
- 106 • SI 028 (29° 47' 53" S and 51° 11' 24" W) fica localizado próximo a cidade de  
107 Sapucaia do Sul com 122231 habitantes. As principais contribuições nesse  
108 local incluem indústria química de produção de agrotóxicos, dragagem de  
109 areia e vários curtumes.
- 110 • SI 008 (29° 52' 36" S and 51° 14' 34" W) fica localizado próximo a cidade de  
111 Canoas, com 326458 habitantes a jusante das instalações de uma refinaria de  
112 petróleo. As fontes de poluição também incluem esgotos urbanos, mineração  
113 de areia e navegação.

114

## 115 **2.2. Procedimentos de Amostragem**

116

117 As amostras de água foram coletadas pela equipe de Amostragem da FEPAM de  
118 acordo com o *Standart Methods* para o exame de águas e efluentes (APHA, 1992),  
119 estocadas a 4°C por até quatro dias, sendo após divididas em alíquotas e  
120 acondicionadas em *freezer* a -20°C. Quarenta e oito horas antes do ensaio as amostras  
121 foram descongeladas e esterilizadas em filtros de membrana *Millipore* com poros de  
122 0.22µm. Para a extração dos compostos orgânicos foram coletados 20 litros de água  
123 estocados de modo similar até os procedimentos de extração.

124

## 125 **2.3. Extração de compostos orgânicos**

126

127 As amostras referentes à VII amostragem foram processadas para extração dos  
128 compostos orgânicos pelo método sequencial por adsorção em resina Amberlite

129 XAD-4, em pH natural, e após em pH ácido (pH 2.0) por adição de HCl. A proporção  
130 de 1 mL de resina por litro de amostra foi colocada em coluna cromatográfica, lavada  
131 com metanol e tratada utilizando os solventes metanol (CASRN, 67-56-1), éter etílico  
132 (CASRN 60-29- 7), água ultra pura e diclorometano (CASRN, 75-09-2) –no caso de  
133 pH natural- ou etil-acetato (CASRN 141-78-6)-no caso de pH ácido- na proporção de  
134 1:1:3:2. Após, um fluxo de 100mL/min de água foi passado pela coluna  
135 cromatográfica e o excesso retido na resina removido com uma bomba a vácuo. Os  
136 compostos orgânicos foram eluídos usando os solventes metanol e diclorometano, no  
137 caso de pH natural, e metanol e etil-acetato, no caso de pH ácido, ambos na proporção  
138 de 1:3. A eluição em pH natural foi utilizada para extrair os compostos  
139 moderadamente polares, enquanto a ácida resultou na extração dos compostos polares.  
140 A água remanescente na amostra foi evaporada colocando os eluatos em dessecador  
141 com sílica, protegidos da luz, por 3-4 dias. A seguir os eluatos foram concentrados em  
142 rotavapor e a massa orgânica extraída foi quantificada. Para a realização dos ensaios,  
143 os volumes necessários dos extratos, natural/ácido, foram transferidos para tubos de  
144 ensaios na proporção de 1:1 e secos com nitrogênio gasoso. Os extratos foram  
145 ressuspensos em volumes apropriados aos ensaios de solvente dimetilsulfóxido  
146 (DMSO- Riedel-de Haën, CASRN. 67-68-5), grau espectrofotométrico.

147

#### 148 **2.4. Ensaio *Salmonella*/microsoma**

149

150 A atividade mutagênica e citotóxica das amostras foi avaliada através do ensaio  
151 *Salmonella*/microsoma pelo método de pré-incubação (Maron & Ames, 1983;  
152 Vargas et al., 1993) para água superficial e microssuspensão (Kado et al., 1983;  
153 Vargas et al., 1995) para os extratos orgânicos. Todas as amostras foram analisadas  
154 com as linhagens TA98 e TA100 de *Salmonella typhimurium*, que permitem detectar

155 compostos mutagênicos causadores de erro no quadro de leitura e troca de pares de  
156 base no DNA, respectivamente. Para uma investigação mais detalhada, as linhagens  
157 TA1535, TA97a e TA102 foram utilizadas no diagnóstico das amostras da III  
158 amostragem (inverno). A linhagem TA1535 detecta mutações do tipo substituição de  
159 pares de base; TA97a detecta agentes causadores de erros no quadro de leitura, sendo  
160 mais sensível à ação de metais pesados (Pagano & Zeiger, 1992) e a linhagem TA102  
161 detecta uma grande variedade de compostos mutagênicos oxidativos. Três volumes de  
162 água superficial (1,0; 1,5 e 2,0 mL de amostra por placa) e seis diluições de extrato  
163 orgânico (correspondente a 15,62; 31,25; 62,50; 125,00; 250,00; 500,00 mL de  
164 amostra por placa) foram utilizados para a elaboração de curvas dose-resposta. A  
165 citotoxicidade das amostras foi determinada através da linhagem TA98, por  
166 semeadura de 100-200 células em meio nutriente.

167 Todos os ensaios foram realizados em duplicata, em presença e ausência da fração  
168 microsomal (S9) preparada a partir de fígados de ratos Sprague-Dawley pré-tratados  
169 com bifenila policlorada - Aroclor 1254 (adquirido em forma liofilizada da Moltex,  
170 USA). Controles negativos (água destilada estéril ou solvente dimetilsulfóxido –  
171 DMSO) e positivos (azida sódica -AZS, CASRN. 26628-22-8, Merck; irradiação UV;  
172 óxido de 4-nitroquinoleína - 4NQO, CASRN. 56-57-5 e 2- aminofluoreno- 2AF,  
173 CASRN. 153-78-6, aminoantraceno –AA, CASRN 613-13-8, Sigma Chemical  
174 Company) foram incluídos em cada ensaio de acordo com a linhagem utilizada.

175

## 176 **2.5. Análise dos dados**

177

178 As respostas foram consideradas positivas para mutagênese quando o número de  
179 revertentes por placa apresentou o dobro ou mais do valor encontrado no controle  
180 negativo e curva dose-resposta positiva ( $p \leq 0.05$ ). Quando apenas um destes critérios

181 foi observado a resposta foi considerada indicativa. A significância estatística das  
182 curvas dose-resposta foi avaliada pelo programa SALANAL (Salmonella Assay  
183 Analysis) versão 1.0 of Research Triangle Institute, RTP, Carolina do Norte, USA. Os  
184 resultados foram expressos em revertentes por mililitro de amostra (rev/mL). As  
185 amostras foram consideradas citotóxicas quando a sobrevivência celular, em pelo  
186 menos uma das dosagens, foi inferior a 60% quando comparadas com o controle  
187 negativo (Vargas et al., 1993).

188

### 189 **3. Resultados**

190

191 A atividade mutagênica das águas de superfície avaliadas através das linhagens  
192 TA98 e TA100 na presença/ausência da fração de metabolização hepática (S9) estão  
193 apresentadas na tabela 2. A resposta mutagênica foi negativa para a maioria dos testes  
194 realizados. Respostas indicativas foram encontradas principalmente quando as  
195 amostras foram submetidas ao sistema de metabolização indicando a presença de  
196 substâncias genotóxicas de ação indireta. Essas respostas ocorreram no inverno,  
197 primavera e no outono.

198 Os resultados da investigação da terceira amostragem através das linhagens  
199 TA97a, TA1535 e TA102 estão apresentados na tabela 3. Respostas indicativas foram  
200 observadas em todos os locais amostrados, principalmente na ausência de  
201 metabolização. A avaliação com a linhagem TA1535 resultou em indícios de  
202 mutagênese em todos os locais, entretanto, o número de rev/mL nesta linhagem  
203 aumenta do local de referência (SI121) em direção a foz (SI008). A presença de  
204 compostos mutagênicos com ação oxidativa (TA102) diretos (SI121) e indiretos  
205 (SI008) foi detectada, sendo o potencial mutagênico do local SI008 mais elevado. A  
206 ação de metais pesados nas respostas mutagênicas não foi observada (TA97a). A

207 figura 3 mostra o somatório de respostas indicativas observadas para cada local  
208 amostrado durante todo o período de estudo.

209 A ação de substâncias tóxicas diretas foi observada em todos os locais  
210 principalmente no outono (Figura 4). De forma geral, a adição de S9 aos ensaios  
211 aumentou a sobrevivência celular (Figura 5). As amostras da quarta amostragem  
212 foram tóxicas somente na presença de metabolização diminuindo a sobrevivência  
213 celular a valores inferiores a 40% em todos os locais.

214 As análises da terceira amostragem podem ser comparadas com as dos extratos  
215 orgânicos de amostras obtidas em condições climáticas similares (Tabela 4 e Figura  
216 6). Tal comparação permite investigar a contribuição de compostos orgânicos no  
217 potencial mutagênico e citotóxico da água superficial. A extração orgânica apresentou  
218 elevada atividade citotóxica, sendo que nos locais SI028 e SI008 em ausência de S9  
219 atingiu valores de sobrevivência celular próximos a 5% (Figura 6). A análise da  
220 atividade mutagênica foi realizada nas dosagens não tóxicas utilizando o modelo de  
221 Bernstein et al. (1982), permitindo detectar indícios da ação de compostos orgânicos  
222 mutagênicos apenas na presença de S9 para troca de pares de base (Tabela 4). A  
223 matéria orgânica extraída (MOE) obtida das diferentes amostras resultou em maiores  
224 concentrações na extração de pH natural para o local SI121 e de pH ácido para os  
225 locais SI028 e SI008 (Tabela 5).

226

#### 227 4. Discussão

228

229 A bacia hidrográfica do rio dos Sinos inclui uma importante área urbana, agrícola e  
230 industrial do estado sendo influenciada por diferentes tipos de poluição ao longo de  
231 seu curso. No trecho superior da bacia, próximo as nascentes, há poucas fontes de  
232 poluição representadas principalmente pela agricultura de pequeno porte. Nos trechos

233 médio e inferior, já bastante alterados pelo intenso processo de urbanização, existe  
234 uma alta concentração de vários tipos de indústrias (metalúrgica, calçadista, química,  
235 têxtil, alimentícias, celulose e papel, dragagem de areia, refinaria de petróleo e  
236 diversos curtumes). Os resultados do presente estudo refletem o impacto causado  
237 pelas atividades antrópicas nesse rio, mostrando a piora na qualidade das águas com  
238 um aumento de respostas tóxicas e indicativas de mutagênese nos trechos médio e  
239 inferior.

240 Do total de amostragens realizadas, 33% apresentaram citotoxicidade no curso  
241 superior do rio, enquanto 50% e 83% nos trechos médio e inferior, respectivamente. A  
242 ocorrência de respostas mutagênicas indicativas nas linhagens TA98 e TA100  
243 seguiram o mesmo padrão, com 17%, 33% e 50% de frequência das nascentes à foz.

244 O impacto causado por diferentes ramos industriais tem sido reportado em estudos  
245 com efluentes, águas superficiais e sedimentos coletados em áreas influenciadas por  
246 tipologias industriais similares às encontradas na área de estudo do presente trabalho.  
247 Vários estudos detectaram a indução de mutagênese em *Salmonella* em áreas com  
248 influência industrial petroquímica (Vargas et al., 1993; Vargas et al., 1995; Vargas et  
249 al., 2008), têxtil (Mathur et al., 2005) e de curtumes (Tagliari et al., 2004; Horn et al.,  
250 2004).

251 Outra fonte importante de poluição nesta bacia hidrográfica é o despejo de esgotos  
252 domésticos que são compostos por misturas de substâncias de variadas origens, as  
253 quais também podem ser genotóxicas. Apesar de a potencia genotóxica de esgotos  
254 domésticos ter sido descrita como bem menor do que muitos efluentes industriais  
255 (White, 1996), o volume dessas emissões oriundas de grandes centros urbanos são  
256 freqüentemente maiores do que o de origem industrial. White e Rasmussen (1998)  
257 relataram a relação entre a genotoxicidade de águas superficiais e a intensidade de  
258 atividades humanas. De forma similar, em nosso estudo, os locais com maior

259 contribuição industrial e urbana apresentaram as respostas genotóxicas mais  
260 freqüentes.

261 Apesar de muitos estudos investigarem os efeitos genotóxicos de efluentes  
262 industriais e urbanos, muitos deles não levam em consideração o comportamento  
263 desses resíduos após serem liberados no ambiente. Os riscos a que os organismos  
264 estão expostos no ambiente receptor devem ser considerados, pois dependem da sua  
265 toxicidade, das alterações pós-emissão e das condições de exposição (Claxton et  
266 al.,1998 ). Dessa forma, o presente estudo permitiu verificar um possível efeito  
267 combinado das diferentes fontes poluidoras.

268 Quanto as diferentes amostragens avaliadas, respostas indicativas de atividade  
269 mutagênica foram detectadas especialmente na terceira (inverno) e sexta (primavera)  
270 amostragens. A terceira amostragem ocorreu durante o período de maior precipitação  
271 do ano nesta região. A água proveniente da chuva é considerada uma rota importante  
272 de contaminação das águas superficiais uma vez que lavam os solos e a atmosfera  
273 carregando substâncias dessas matrizes para os rios (Holt, 2000). Este fenômeno,  
274 aliado às baixas temperaturas do inverno, parece ser especialmente importante na  
275 determinação da mutagenicidade das amostras provenientes do local S1121 que  
276 apresentou indícios de mutagênese apenas nessas condições. O período da quarta  
277 amostragem, usualmente o último mês do ano de maior precipitação, foi caracterizado  
278 por condições climáticas anômalas na região. A pluviosidade neste período ficou mais  
279 de 50mm abaixo da normal climatológica ocorrendo condições semelhantes nos  
280 quatro meses antecedentes (Fepam, 2007). Estes fatos causaram o decaimento do  
281 nível do lençol freático resultando em queda na vazão do rio. De acordo com White e  
282 Rasmussen (1998), um dos fatores que determinam o risco potencial dos efluentes  
283 para o ecossistema e sua biota associada é a capacidade de diluição do corpo hídrico  
284 receptor. Logo, parece que a baixa disponibilidade hídrica atuou concentrando os

285 contaminantes que devido à baixa vazão não foram dispersos. O aumento de respostas  
286 genotóxicas em períodos de baixa disponibilidade hídrica já foi observado em  
287 ambiente aquático com influência industrial (Lemos & Erdtmann, 2000).

288 A ausência de respostas tóxicas e mutagênicas durante o verão evidencia que  
289 compostos voláteis podem ter desempenhado um papel importante na  
290 toxicidade/mutagenicidade das águas dessa bacia, uma vez que nesta estação foram  
291 registradas as temperaturas mais elevadas. Esses compostos podem evaporar para a  
292 atmosfera devido ao aumento na temperatura. Vargas et al. (1995), utilizando o ensaio  
293 *Salmonella*/microsoma e uma metodologia de concentração de amostras,  
294 evidenciaram a contribuição de substâncias voláteis na mutagenicidade das águas do  
295 rio Caí influenciadas por um complexo industrial petroquímico. Cetin et al. (2003),  
296 em estudo quanto à concentração de compostos orgânicos voláteis na atmosfera de  
297 áreas industriais petroquímicas mostraram que há uma variação sazonal significativa  
298 desses compostos que são mais elevadas no verão e outono e sugeriu que isto poderia  
299 ser causado, em parte, devido ao aumento na evaporação de fontes fugitivas como  
300 resultado da elevação das temperaturas.

301 As amostras da terceira amostragem, por terem apresentado maior número de  
302 indícios de mutagênese em ausência de citotoxicidade, foram escolhidas para uma  
303 investigação detalhada através das linhagens TA1535, TA102 e TA97a. O uso de  
304 várias linhagens provê informações acerca das classes de substâncias mutagênicas  
305 presentes nas amostras.

306 Compostos mutagênicos causadores de troca de pares de bases foram detectados  
307 com as linhagens TA100 e TA1535, sendo que a primeira se mostrou mais sensível na  
308 presença da fração S9, e a última na ausência. Substâncias mutagênicas diretas,  
309 causadoras de substituições de pares de bases apresentaram um número crescente de  
310 rev/mL no sentido dos locais mais impactados.

311 A presença de compostos mutagênicos de ação oxidativa (TA102) gerou respostas  
312 indicativas no ponto de referência, SI121 sem S9, e no trecho inferior do rio, SI008,  
313 em presença de S9, podendo indicar a influência de compostos de origem diversa.

314 A contribuição de metais pesados na atividade mutagênica das águas superficiais  
315 não foi detectada através da linhagem sensível, TA97a. Isto pode ter ocorrido devido a  
316 capacidade dos sedimentos de concentrar metais. De fato, um estudo anterior  
317 realizado nesta bacia evidenciou a relação entre a contaminação dos sedimentos do rio  
318 por metais e resultados genotóxicos em amostras de água intersticial do mesmo. A  
319 comparação genotóxica entre água superficial e intersticial nesse mesmo estudo  
320 resultou em efeitos mais elevados na última (Vargas et al., 2001).

321 Índícios de mutagênese foram observados principalmente na ausência de  
322 citotoxicidade. Apenas 13% das amostras com respostas citotóxicas foram indicativas  
323 de mutagênese em alguma linhagem indicando que respostas tóxicas podem estar  
324 mascarando o potencial mutagênico das amostras. A maioria das respostas tóxicas foi  
325 observada no curso médio e inferior do rio, onde a atividade industrial e urbana é mais  
326 pronunciada. Cardozo et al. (2006) investigando a genotoxicidade e citotoxicidade de  
327 amostras de água de pequenas bacias hidrográficas urbanas com o ensaio  
328 *Salmonella/microsoma* e o teste do micronúcleo em células de V79, concluíram que  
329 a resposta citotóxica foi a principal em áreas fortemente urbanizadas.

330 Conforme recomendado por Vargas et al. (1993), as amostras de água superficial  
331 foram avaliadas sem fracionamento químico prevenindo, assim, a perda ou alteração  
332 das substâncias presentes. Entretanto, os autores ressaltaram que os contaminantes  
333 mutagênicos geralmente ocorrem em pequenas concentrações ou possuem alta  
334 toxicidade, dificultando a sua detecção. Dessa forma, a associação de um método de  
335 extração permite uma avaliação mais segura da genotoxicidade das amostras (Vargas  
336 et al., 1995; Ohe et al., 2004). Seguindo esta recomendação, para melhor caracterizar

337 essas amostras, foram utilizadas extrações com resina do tipo XAD devido a sua  
338 capacidade de adsorver uma ampla classe de compostos orgânicos mutagênicos.  
339 Assim, foi possível detectar a contribuição de compostos orgânicos mutagênicos de  
340 ação indireta no curso superior e inferior da bacia, além de substâncias altamente  
341 tóxicas na área de maior contribuição antrópica. A quantidade de matéria orgânica  
342 extraída mostrou uma predominância de compostos moderadamente polares (pH  
343 natural) no SI121 e polares (pH ácido) no SI028 e SI008. Uma maior concentração de  
344 matéria orgânica extraída em pH ácido já foi descrito em áreas urbanas onde a  
345 citotoxicidade dos extratos também foi detectada nas maiores concentrações (Cardozo  
346 et al., 2006). Essas respostas tóxicas foram observadas nas áreas intensamente  
347 urbanizadas.

348 Apesar de a análise das amostras individuais apresentarem apenas indícios de  
349 atividade mutagênica, o estudo por um período prolongado, em diferentes estações do  
350 ano, mostra a recorrência desses resultados. O somatório das respostas encontradas ao  
351 longo do tempo é uma medida importante uma vez que diversos organismos aquáticos  
352 estão expostos continuamente a essas situações. A exposição crônica a contaminantes  
353 pode levar um organismo ao estresse fisiológico, o qual pode causar efeitos adversos  
354 como redução no tempo de vida e menor fecundidade (Belfiore & Andreson, 2001).  
355 Os resultados apresentados na figura 3 mostram piora na qualidade do rio em direção  
356 a foz e o local SI 008 apresentando o maior risco de exposição prolongada. Terra et al.  
357 (2008), estudando a qualidade das águas dessa mesma bacia encontraram efeitos  
358 tóxicos agudos e crônicos dos sedimentos em *Daphnia magna*, e citotoxicidade em  
359 células V79 da água superficial no local SI008. Este local também apresentou a maior  
360 frequência de respostas mutagênicas e tóxicas diretas e indiretas no presente estudo,  
361 mostrando o impacto da crescente urbanização e industrialização.

362 Umbuzeiro et al. (2001), propuseram níveis para a atividade mutagênica de  
363 amostras de águas naturais que foram aplicados por Ohe et al. (2004), em uma ampla  
364 revisão. De acordo com esta classificação, as amostras de água superficial do rio dos  
365 Sinos são consideradas principalmente como possuidoras de mutagenicidade “alta” e  
366 “extrema”, apresentando de 2500 a 5000, ou mais de 5000 rev/L, respectivamente.  
367 Entre todos os dados analisados por Ohe et al. (2004), apenas 3-5% possuíam  
368 mutagenicidade “alta” ou “extrema” nas linhagens TA98 e TA100. Essas águas,  
369 semelhante ao rio dos Sinos, eram contaminadas por indústrias químicas,  
370 petroquímicas, refinarias de petróleo, derrames de óleo, siderúrgicas, esgotos  
371 domésticos não tratados e escoamento de pesticidas. Em um estudo anterior nessa  
372 mesma bacia hidrográfica, nosso grupo de pesquisa não detectou atividade  
373 mutagênica através do ensaio *Salmonella*/microsoma, embora substâncias  
374 genotóxicas tenham sido detectadas através do ensaio de microtriagem por indução  
375 lisogênica (Vargas et al., 2001). Entretanto, no presente estudo, além da ocorrência de  
376 respostas indicativas, as análises das linhagens TA98 e TA100 obtiveram 83% de  
377 respostas “extremas” mostrando um decréscimo na qualidade dessas águas.

378 Os resultados desse estudo mostram a necessidade de investigar a atividade  
379 mutagênica de águas superficiais por um período prolongado, cobrindo diferentes  
380 condições climáticas, para uma avaliação de risco de exposição mais precisa.

381

## 382 **5. Conclusões**

383 \* O ensaio *Salmonella*/microsoma permitiu a detecção de genotoxicidade nas  
384 amostras do curso d'água estudado sendo que a aplicação de diferentes linhagens  
385 aumentou a sua sensibilidade;

386 \* O corpo hídrico estudado apresenta piora na qualidade de suas águas que estão  
387 contaminadas por compostos classificados de mutagenicidade “alta” e “extrema”,  
388 considerando critérios comparativos com a literatura mundial;

389 \* O local influenciado por alta atividade urbana e industrial apresentou maior  
390 frequência de respostas citotóxicas e indicativas de mutagênese, sendo estas últimas  
391 em maior número nos ensaios com ativação metabólica. Este local também apresentou  
392 efeitos na maioria das linhagens testadas;

393 \* A resposta tóxica foi a mais pronunciada o que pode ter interferido na detecção  
394 de mutagenicidade;

395 \* Os dados sugerem a influência das condições climáticas na resposta mutagênica.

396

#### 397 **Agradecimentos**

398

399 As autoras agradecem a equipe de amostragem da FEPAM; à química Jocelita  
400 Aparecida Vaz Rocha pelos procedimentos de extração e a bióloga Danielle Pereira  
401 Rosa pelo auxílio no estudo. Este trabalho recebeu suporte financeiro da Fundação de  
402 Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e do Conselho  
403 Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

404

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

404

405

406 American Public Health Association. APHA (1992) Standard methods for the  
407 examination of water and wastewater, American Water Works Association and Water  
408 Environment Federation. 18<sup>th</sup> eds. M.A.H Franson, Washington, 1-20.

409

410 Belfiore, N. M. & Anderson, S.L. (2001) Effects of contaminants on genetic patterns  
411 in aquatic organisms: a review. *Mutation Research*, 489, 97-122.

412

413 Bernstein, L.; Kaldor, J.; McCann, J.; Pike, M.C. (1982) An empirical approach to the  
414 statistical analysis of mutagenesis data from the Salmonella test. *Mutation Research*  
415 97, 267–281.

416

417 Buschini, A.; Giordani, F.; Pellacani, C.; Rossi, C.; Poli, P. (2008) Cytotoxic and  
418 genotoxic potential of drinking water: A comparison between two different  
419 concentration methods. *Water Research* 42, 1999 – 2006.

420

421 Cardozo, T. R.; Rosa, D. P.; Feiden, I. R.; Rocha, J. V.; Oliveira, N. C. D'A.; Pereira,  
422 T. S.; Pastoriza, T. F.; Lemos, C. T.; Terra, N. R.; Vargas, V. M. F. (2006)  
423 Genotoxicity and toxicity assessment in urban hydrographic basins. *Mutation*  
424 *Research*, 603:83-96.

425

426 Cetin, E.; Odabasi, M.; Seyfioglu, R. (2003) Ambient volatile organic compound  
427 (VOC) concentrations around a petrochemical complex and a petroleum refinery. *The*  
428 *Science of the Total Environment* 312, 103–112.

429

- 430 Claxton, L.; Houk, V.S.; Hughes, T.J. (1998) Genotoxicity of industrial wastes and  
431 effluents. *Mutation Research* 410, 237-243.
- 432
- 433 Coronas, M.V.; Horn, R.C.; Ducatti, A.; Rocha, J.V.; Vargas, V.M. (2008) Mutagenic  
434 activity of airborne particulate matter in a petrochemical industrial área. *Mutation  
435 Research* 650 (2), 196-201.
- 436
- 437 Ducatti, A. & Vargas, V.M.F. (2003) Mutagenic activity of airborne particulate matter  
438 as an indicative measure of atmospheric pollution. *Mutation Research* 540, 67-77.
- 439
- 440 Fepam (2007) Eventos de Mortandade de Peixes - Rio dos Sinos. Relatório Técnico.  
441 Franco, C.; Lemos, C.T.; Rodrigues, M.L.K.; Machado, A.C.M., organizadores. Porto  
442 Alegre. 192 páginas.
- 443
- 444 Fernandez, M.D.; Cagigal, E.; Vega, M.M.; Urzelai, A.; Babin, M.; Pro, J.; Tarazona,  
445 J.V. (2005) Ecological risk assessment of contaminated soils through direct toxicity  
446 assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 62, 174–184.
- 447
- 448 Haase, J. (2002) Projeto Marca D'água – Relatórios preliminares 2001: A Bacia do  
449 Rio dos Sinos, Rio Grande do Sul. Relatório técnico. 28 páginas.
- 450
- 451 Holt, M.S. (2000) Sources of Chemical Contaminants and Routes into the Freshwater.  
452 *Environment. Food and Chemical Toxicology* 38, 21-27.
- 453

- 454 Horn, R.C; Rocha, J.A.V.; Vargas, V.M.F (2004) Determination of sediment  
455 mutagenicity and cytotoxicity in an area subjected to petrochemical contamination.  
456 *Mutagenesis* 19 (6), 445–451.
- 457
- 458 Kado, N. Y.; Langley, D.; Eisenstadt, E. (1983) A simple modification in the  
459 *Salmonella* liquid-incubation assay: increase sensitivity for detecting mutagens in  
460 human urine. *Mutation Research* 1 (121), 25- 32
- 461
- 462 Lemos, C. T. & Erdtmann, B. (2000) Cytogenetic evaluation of aquatic genotoxicity  
463 in human cultured lymphocytes. *Mutation Research* 467, 1-9.
- 464
- 465 Maron, D.M. & Ames, B.N. (1983). Revised methods for the *Salmonella*  
466 mutagenicity test. *Mutation Research* 113, 173-215.
- 467
- 468 Mathur, N.; Bhatnagar, P.; Nagar, P.; Bijarnia, M. K. (2005) Mutagenicity assessment  
469 of effluents from textile/dye industries of Sanganer, Jaipur (India): a case study.  
470 *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61, 105–113.
- 471
- 472 Mortelmans, K. ; Errol, Z. (2000) The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity  
473 assay. *Mutation Research* 455, 29-60.
- 474
- 475 Ohe, T.; Watanabe, T.; Wakabayashi, K. (2004) Mutagens in surface waters: a review.  
476 *Mutation Research* 567, 109-149.
- 477

- 478 Pagano, A.D. & Zeiger, E. (1992) Conditions for detecting the mutagenicity of  
479 divalent metals in *Salmonella typhimurium*. Environmental and Molecular  
480 Mutagenesis 19, 139–146.
- 481
- 482 Pereira ,T.S.; Rocha, J.V.; Duccatti, A.; Silveira, G.A.; Pastoriza, T.F.; Bringuenti,  
483 L.; Vargas, V.M.F. (2007) Evaluation of mutagenic activity in supply water at three  
484 sites in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Mutation Research, 629, 71- 80.
- 485
- 486 Scott, G.R. & Sloman, K.A. (2004) The effects of environmental pollutants on  
487 complex fish behavior: integrating behavioral and physiological indicators of toxicity.  
488 Aquatic toxicology 68, 369-392.
- 489
- 490 Silva-júnior, F.M.R. & Vargas, V.M.F (2007) Avaliação de áreas sob a influência de  
491 uma termelétrica a carvão através de ensaio de genotoxicidade. Journal of the  
492 Brazilian Society of Ecotoxicology 2 (2), 1-3.
- 493
- 494 Tagliari, K.C.; Cecchini, R.; Rocha, J.A.V.; Vargas, V.M.F. (2004) Mutagenicity of  
495 sediment and biomarkers of oxidative stress in fish from aquatic environments under  
496 the influence of tanneries. Mutation Research 561, 101–117.
- 497
- 498 Terra, N.R.; Feiden, I.R.; Fachel, J.M.G.; Lemos, C.T.; Nunes, E.A. (2008)  
499 Ecotoxicological evaluation of sediment and water samples from Sinos River, Rio  
500 Grande do Sul, Brazil, using *Daphnia magna* and V79 cells. *Acta Limnologica*  
501 *Brasiliensia* 20 (1), 63-72.
- 502

- 503 Umbuzeiro, G. A.; Roubicek, D.A.; P.S.; Sanchez, Sato, M.I.Z. (2001) The  
504 *Salmonella* mutagenicity assay in a surface water quality monitoring program based  
505 on a 20-year survey, *Mutation Research* 49, 119–126.
- 506
- 507 Vargas, V.M.F.; Motta, V.E.P.; Henriques, J.A.P. (1988). Analysis of mutagenicity of  
508 water under the influence of petrochemical industrial complexes by the ames test  
509 (*Salmonella*/microsome). *Genetics and Molecular Biology* 11 (3), 505–518.
- 510
- 511 Vargas, V.M.F.; Motta, V.E.P.; Henriques, J.A.P.(1993). Mutagenic activity detected  
512 by the Ames test in river water under the influence of petrochemical industries.  
513 *Mutation Research*, 319: 31-45.
- 514
- 515 Vargas, V. M. F.; Guidobono, R. R.; Jordão, C.; Henriques, J. A. P. (1995) Use of two  
516 short-term tests to evaluate the genotoxicity of river water treated with different  
517 concentration/extraction procedures. *Mutation Research*, 343, 31-52.
- 518
- 519 Vargas, V. M. F.; Horn, R. C.; Guidobono, R. R.; Mittelstaedt, A. B. N.; Azevedo, I.  
520 M. G. (1998) Mutagenic activity of airborne particulate matter from urban areas of  
521 Porto Alegre, Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 21 (2), 1-7.
- 522
- 523 Vargas, V.M.F.; Migliavacca, S.B.; Melo, A., C.; Horn, R.C.; Guidobono, R.R.; Sá  
524 Ferreira, I.C.; Pestana, M.H.D. (2001). Genotoxicity assessment in aquatic  
525 environments under the influence of heavy metals and organic contaminants,  
526 *Mutation Research*, 490, 141-158.
- 527

528 Vargas, V.M.F. (2003) Mutagenic activity as a parameter to assess ambient air quality  
529 for protection of the environmental and human health. *Mutation Research*, 544, 313-  
530 319.

531

532 Vargas, V.M.F.; Migliavacca, S.B.; Horn, C.R.; Terra, N.R. (2008) Comparative  
533 temporal ecotoxicological study in a river basin influenced by petrochemical  
534 industries. *The Science of the Total Environment* 392, 79 – 92.

535

536 Zeiger, E. (1998) Identification of rodent carcinogens and noncarcinogens using  
537 genetic toxicity tests: premises, promises, and performance. *Regulatory Toxicology*  
538 *and Pharmacology* 28, 85–95.

539

540 White, P.A.; Rasmussen, J. B.; Blaise, C. (1998) Comparing the presence, potency  
541 and potential hazard of organic compounds extracted from a broad range of industrial  
542 effluents. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 27, 116- 139.

543

544 White P. A. and Rasmussen, J. B. (1998) The genotoxic hazards of domestic wastes  
545 in surface waters. *Mutation Research* 410, 223–236.

546

Tabela 1- Períodos de amostragem do estudo

Amostragem	Data	Estação	Amostra de água
I	Maio/2005	Outono	Superficial
II	Junho/2005	Outono	Superficial
III	Agosto/2005	Inverno	Superficial
IV	Dezembro/2005	Primavera	Superficial
V	Fevereiro/2006	Verão	Superficial
VI	Outubro/2006	Primavera	Superficial
VII	Agosto/2006	Inverno	Extração orgânica

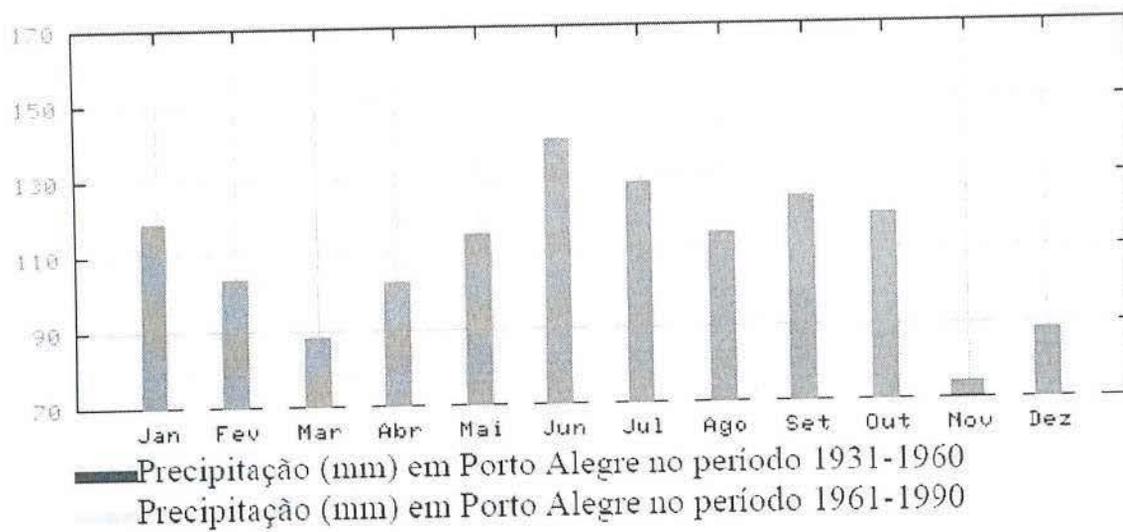


Figura 1- Normais climatológicas de precipitação para os períodos de 1931-1960 e 1961-1990 para Porto Alegre, usadas como referência para a bacia hidrográfica do Rio dos Sinos.

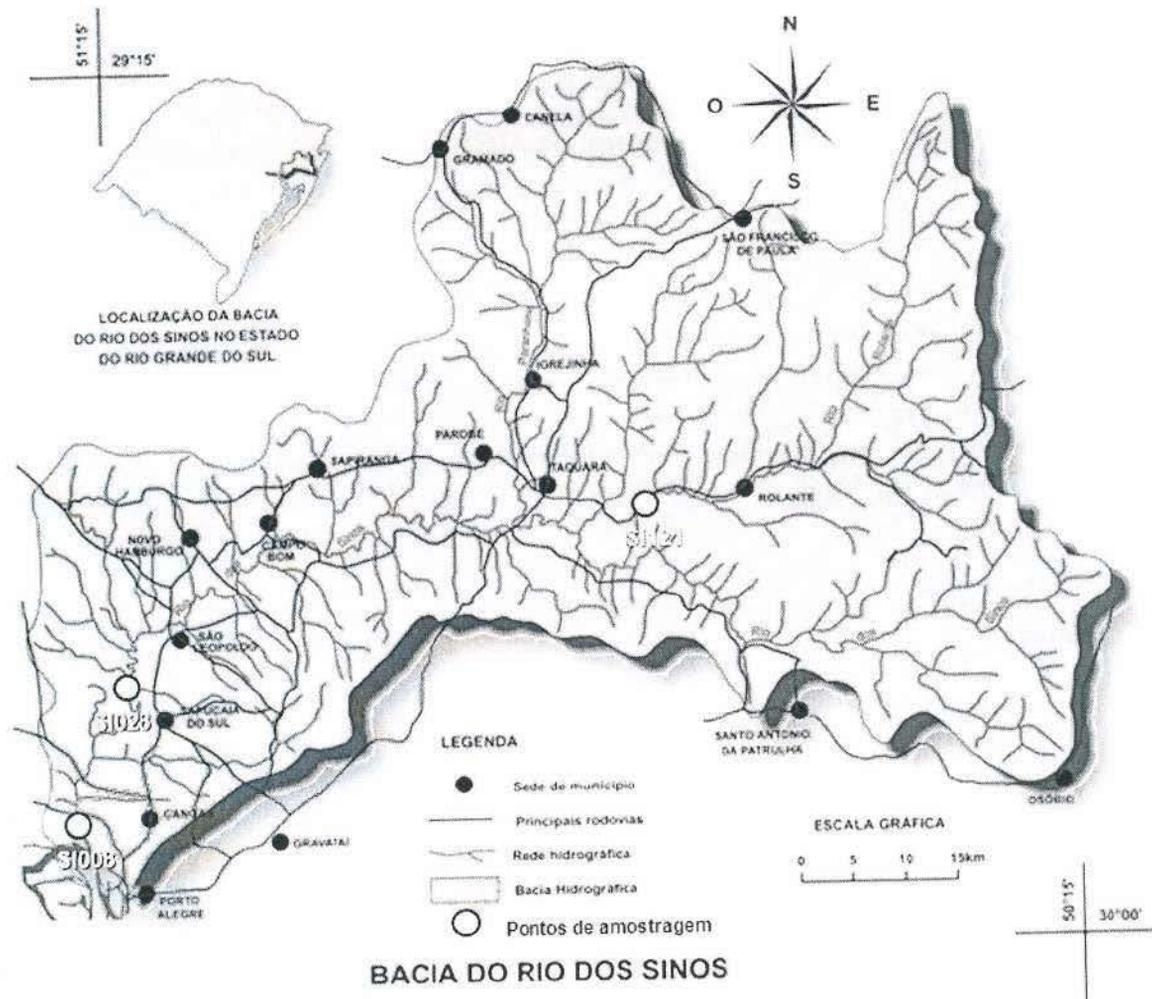


Figura 2- Localização da área de estudo. Modificado de <http://www.marcadagua.org.br/bacia21.htm>

Tabela 2 – Mutagenicidade de amostras de água superficial do rio dos Sinos pelo ensaio *Salmonella*/microsoma para danos no DNA do tipo erro no quadro de leitura (TA98) e troca de pares de base (TA100) na ausência (-S9) e presença (+S9) de ativação metabólica.

Amostragem	Local	TA98				TA100			
		-S9		+S9		- S9		+S9	
		R	rev/mL	R	rev/mL	R	rev/mL	R	rev/mL
Outono I (05/2005)	SI121	-	-	-	-	-	-	-	-
	SI028	- <sup>T</sup>	-	-	- <sup>T</sup>	-	-	-	-
	SI008	-	-	-	-	-	-	-	-
Outono II (06/2005)	SI121	- <sup>T</sup>	-	-	- <sup>T</sup>	-	-	-	-
	SI028	- <sup>T</sup>	-	-	- <sup>T</sup>	-	±	52± 16,08	-
	SI008	- <sup>T</sup>	- <sup>T</sup>	-	- <sup>T</sup>	-	- <sup>T</sup>	-	-
Inverno III (08/2005)	SI121	-	±	4,9± 1,15	-	-	-	-	-
	SI028	-	-	-	-	-	-	-	-
	SI008	- <sup>T</sup>	-	-	- <sup>T</sup>	-	±	12,7± 3,54	-
Primavera IV (12/2005)	SI121	-	- <sup>T</sup>	-	-	-	- <sup>T</sup>	-	-
	SI028	-	- <sup>T</sup>	-	-	-	- <sup>T</sup>	-	-
	SI008	-	± <sup>T</sup>	5,2± 2,13	-	-	- <sup>T</sup>	-	-
Verão V (02/2006)	SI121	-	-	-	-	-	-	-	-
	SI028	-	-	-	-	-	-	-	-
	SI008	-	-	-	-	-	-	-	-
Primavera VI (10/2006)	SI121	-	-	-	-	-	-	-	-
	SI028	-	±	5,6± 2,39	-	-	-	-	-
	SI008	- <sup>T</sup>	-	-	± <sup>T</sup>	14,3± 6,78	-	-	-

R – Resposta final: - negativa, ± indicativa; rev/mL – revertentes por mililitro de água ± desvio padrão;

<sup>T</sup> citotoxicidade detectada na linhagem TA98. Controle Negativo (água destilada estéril): 25,9 ± 6,92 (TA98 - S9), 29,7 ± 6,61 (TA98 + S9), 152,7 ± 38,04 (TA100 - S9), 152,4 ± 40,72 (TA100 + S9); Controle positivo: 4NQO (0,5µg/placa; TA98 - S9) 148,8 ± 36,00; 2AF (10µg/placa; TA98 + S9) 3000 ± 747,24; AZS (5µg/placa; TA100 - S9) 2505 ± 878,51; 2AF (10µg/placa; TA100 + S9) 1648,3 ± 595,67.

Tabela 3 – Mutagenicidade da água superficial da bacia hidrográfica do rio do Sinos com as linhagens TA1535, TA102 e TA97a em amostras da III amostragem

Local	TA1535		TA102		TA97a	
	R	Rev/mL	R	Rev/mL	R	Rev/mL
SII21	±	1.5 ± 0.64	±	27.1 ± 11.01	-	
SI028	±	1.7 ± 0.86	-		-	
SI008	± <sup>T</sup>	2.8 ± 1.22	- <sup>T</sup>		- <sup>T</sup>	
	TA1535 + S9		TA102 + S9		TA97a + S9	
	R	Rev/mL	R	Rev/mL	R	Rev/mL
SII21	-		-		-	
SI028	-		-		-	
SI008	-		±	143.1 ± 56.87	-	

+S9 presença de ativação metabólica; R - resposta final: - negativa, ± indicativa; rev/mL – revertentes por mililitro de água ± desvio padrão; <sup>T</sup> citotoxicidade detectada na linhagem TA98. Controle negativo (água destilada estéril): 7,5 ± 0,71 (TA1535 – S9), 17 ± 5,66 (TA1535 + S9), 410,5 ± 30,40 (TA102 – S9), 544,5 ± 60,10 (TA102 + S9), 74,5 ± 23,33 (TA97a – S9), 185,7 ± 67,28 (TA97a + S9); Controle positivo: AZS (5µg/placa; TA1535 – S9) 1018 ± 38,18 ; 2AA (2.5µg/placa; TA1535 + S9) 1370,3 ± 415,21; UV (2 s; TA102 – S9) 2836 ± 254,56; 2AF (10µg/placa; TA102 + S9) 5132 ± 0,00 ,4NQQ (0,5µg/placa; TA97a – S9) 343 ± 24,04; 2AF (10µg/placa; TA97a + S9) 1320,3 ± 171,76.

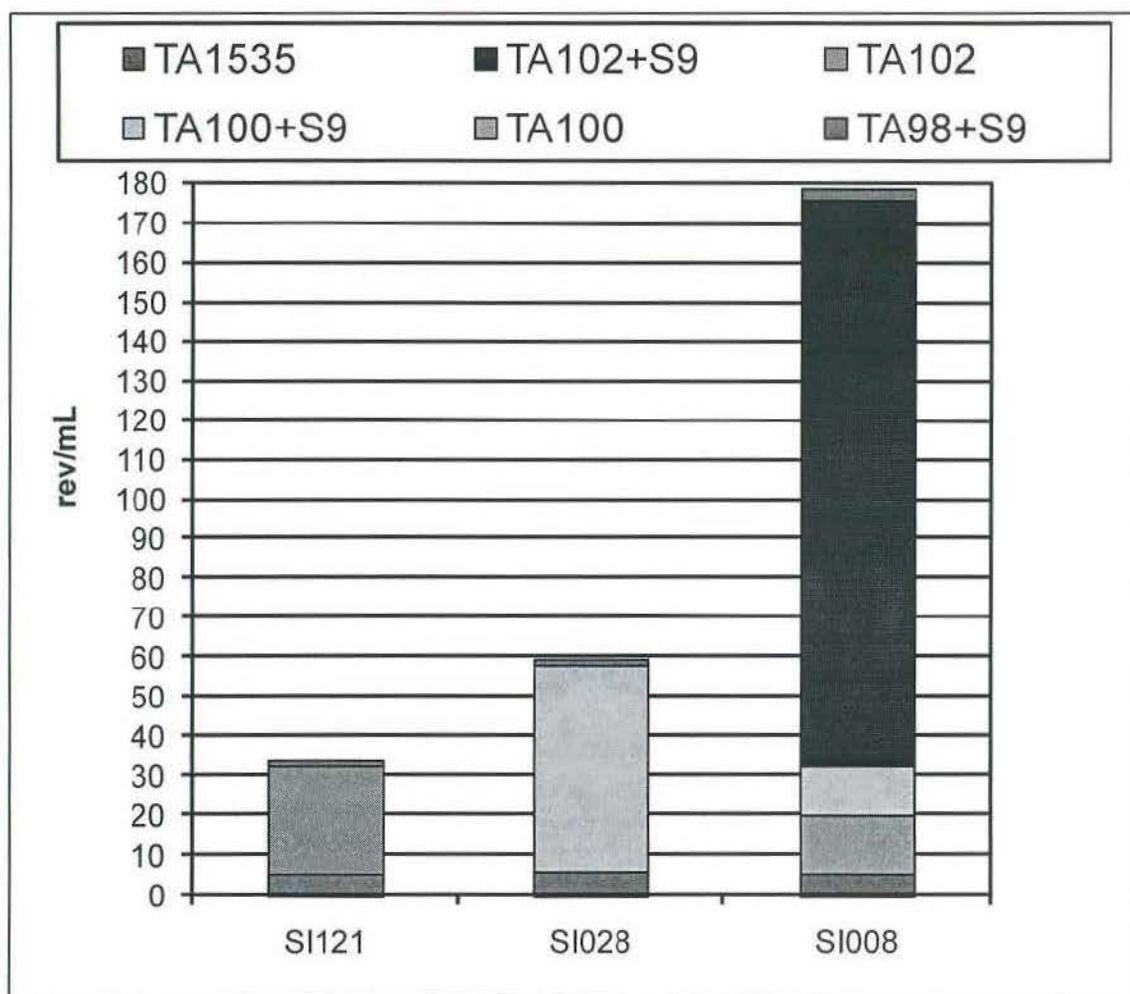


Figura 3- Número total de revertentes verificado pelo ensaio *Salmonella*/microsoma para os locais estudados considerando todas as amostragens de água superficial. Os controles negativos e positivos de cada linhagem estão apresentados nas tabelas 2 e 3.

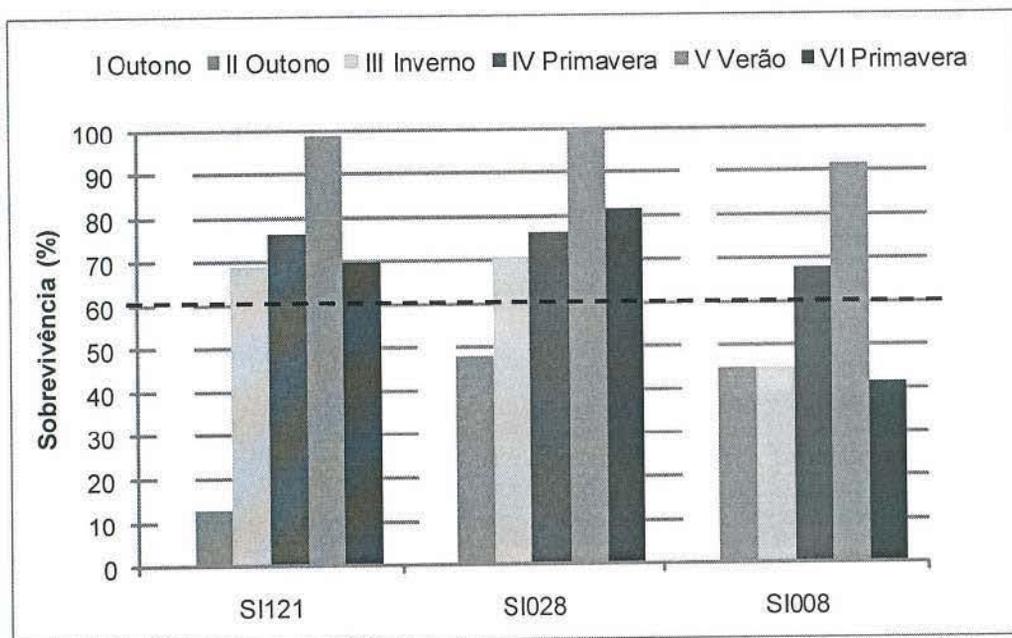


Figura 4 – Porcentagens de sobrevivência celular no ensaio *Salmonella*/microsoma em ausência de ativação metabólica para amostras de água superficial do rio dos Sinos. Valores abaixo de 60% (linha tracejada) mostram citotoxicidade.

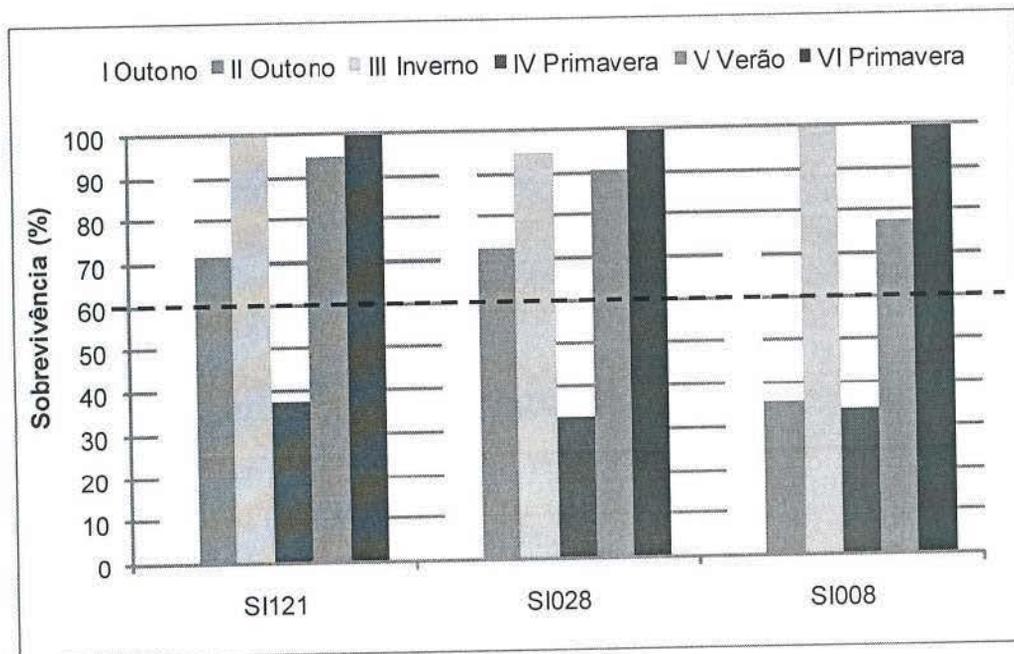


Figura 5 - Porcentagens de sobrevivência celular no ensaio *Salmonella*/microsoma em presença de ativação metabólica para amostras de água superficial do rio dos Sinos. Valores abaixo de 60% (linha tracejada) mostram citotoxicidade.

Tabela 4 – Comparação da atividade mutagênica verificada em extratos orgânicos e água superficial do rio dos Sinos nas linhagens TA98 e TA100 pelo ensaio *Salmonella*/microsoma.

	Amostragem	Site	TA 98				TA 100			
			- S9		+ S9		- S9		+ S9	
			R	rev/mL	R	rev/mL	R	rev/mL	R	rev/mL
Água Superficial	Inverno III	SI 121	-		±	4.9±1.15	-		-	
		SI 028	-		-		-		-	
		SI 008	- <sup>T</sup>		-		- <sup>T</sup>		±	12,7 ± 3,54
Extrato Orgânico	Inverno VII	SI 121	-		- <sup>T</sup>		-		± <sup>T</sup>	2,2 ± 0,67
		SI 028	- <sup>T</sup>		-		- <sup>T</sup>		-	
		SI 008	- <sup>T</sup>		-		- <sup>T</sup>		±	0.1 ± 0,06

R – resposta final: - negativa, ± indicativa; rev/mL – revertentes por mililitro de água ± desvio padrão. <sup>T</sup> citotoxicidade detectada na linhagem TA98. Controle Negativo: Água superficial (água destilada estéril) - 23,9 ± 2,83 (TA98 – S9), 30,0 ± 1,00 (TA98 + S9), 132,5 ± 4,95 (TA100 – S9), 139,5 ± 9,19 (TA100 + S9); Extrato orgânico (DMSO) – 40,5 ± 7,78 (TA98 – S9), 53 ± 19,49 (TA98 + S9), 322 ± 22,63 (TA100 – S9), 322,5 ± 24,75 (TA100 + S9). Controle positivo: Água superficial - 4NQO (0,5µg/placa; TA98 – S9) 3000,0 ± 747,24; 2AF (10µg/placa; TA98 + S9) 2957 ± 459,62 AZS (5µg/placa; TA100 – S9) 1660 ± 656,19; 2AF (10µg/placa; TA100 + S9) 1665 ± 278,60; Extrato orgânico- 4NQO (0,5µg/placa; TA98 – S9) 148,8 ± 36,00; 2AF (10µg/placa; TA98 + S9) 2976,0 ± 1055,11 AZS (5µg/placa; TA100 – S9) 727 ± 168,29; 2AF (10µg/placa; TA100 + S9) 1648,3 ± 595,67.

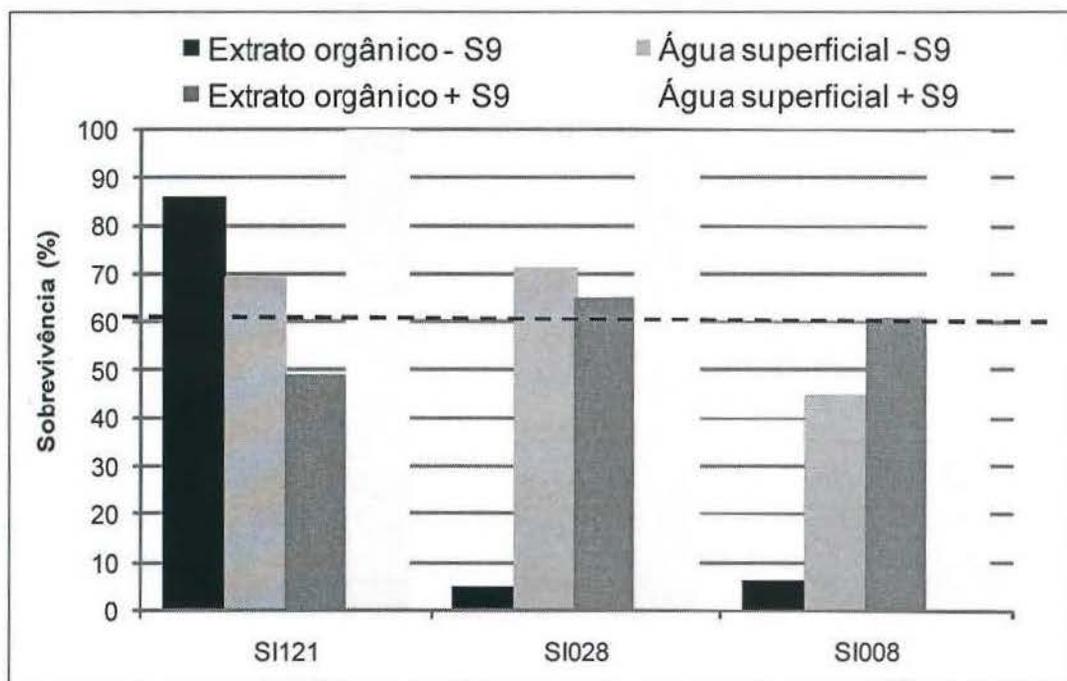


Figura 6 – Comparação de porcentagens de sobrevivência celular no ensaio *Salmonella*/microsoma entre extrato orgânico e água superficial de amostras do rio do Sinos. (-S9) ausência ou presença (+S9) de ativação metabólica. Valores abaixo de 60% (linha tracejada) mostram citotoxicidade. Menores valores apresentado.

Tabela 5- Quantidade de Matéria Orgânica extraída (MOE) na VII amostragem

Local	MOE( $\mu\text{g/mL}$ )		$\Sigma$
	pH Natural	pH Ácido	
SI121	1130	790	1920
SI028	810	4100	4910
SI008	1690	4190	5880