

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul
Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular

**AVALIAÇÃO GENOTÓXICA PELO TESTE
SALMONELLA/MICROSSOMA E DETERMINAÇÃO DE
CONTAMINANTES QUÍMICOS DE AMOSTRAS DE ÁGUA
SUPERFICIAL DA BACIA DO GUAÍBA**

Izabel Vianna Villela

Dissertação submetida ao Programa
de Pós-Graduação em Biologia Celular
e Molecular da UFRGS como parte
dos requisitos para a obtenção do
Grau de Mestre em Ciências

Orientador: Prof. Dr. João Antonio Pêgas Henriques

Porto Alegre (RS)

2001

Os testes de mutagenicidade, bem como a investigação da presença de pesticidas, foram desenvolvidos no Laboratório de Genotoxicidade- GENOTOX, do Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As análises dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e de pentaclorofenol foram realizadas no Laboratório de Cromatografia do Instituto de Química, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. A determinação de químicos inorgânicos foi realizada no Laboratório de Implantação Iônica do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Esta pesquisa foi financiada pela Companhia Petroquímica do Sul (COPE SUL) e pelo Laboratório de Genotoxicidade- GENOTOX, contando ainda com o apoio da CAPES e da FAPERGS.

À meus Pais e meus Irmãos
À minha Família e meus Amigos

Agradecimentos

No final desta etapa são muitos os amigos e colegas a quem gostaria de agradecer o auxílio, estímulo e companheirismo. Meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para realização e concretização deste trabalho.

Ao prof. Dr. João Antonio Pêgas Henriques, não apenas pela orientação, mas por sua paciência, amizade, e principalmente, por nunca ter deixado de acreditar no meu trabalho.

À Companhia Petroquímica do Sul (COPEL), por possibilitarem a realização deste trabalho, tanto com auxílios técnicos como financeiros.

À Carla Pires Rangel, Sepé Tiaraju Fernandes dos Santos, Cláudia Ribeiro e a toda a equipe técnica da Unidade de Segurança, Saúde e Meio Ambiente (SESMA) da Companhia Petroquímica do Sul (COPEL), em especial ao Mauro e ao Neves, pelo auxílio técnico e companheirismo durante as campanhas de coleta.

Ao laboratório GENOTOX – Centro de Biotecnologia – UFRGS, pelo apoio financeiro e pelo espaço físico para realização dos ensaios *Salmonella*/Microsoma e de detecção enzimática de pesticidas organofosforados e carbamatos.

A Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM), ao Departamento Municipal de Água e Esgoto de Porto Alegre (DEMAE) e a ECOPLAM por gentilmente cederem material informativo sobre a Bacia do Lago Guaíba.

Ao prof. Dr. Bernardo Erdtmann, pelo constante auxílio e comentários no decorrer este trabalho.

Ao prof. Dr. Giancarlo Pasquali, pelos comentários nas reuniões da comissão de acompanhamento.

Ao professor Sérgio João de Luca, pelas valiosas sugestões durante a fase experimental deste trabalho.

À prof. Dr. Maria do Carmo Peralba e às bolsistas Anaí, Ana Maria e Fabiana, pela amizade e pelo auxílio nas dosagens de Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos e pentaclorofenol, no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química Inorgânica, do Instituto de Química da UFRGS.

Aos profs. Dr. Fernando Zawislak, Johnny Ferraz Dias e Maria Lúcia Dias, pelo auxílio técnico, e por possibilitarem a detecção de elementos inorgânicos pelo método de PIXE, no Laboratório de Implantação Iônica do Instituto de Física da UFRGS.

À prof. Dr. Sídia Maria Callegari Jacques e à monitora Talita, do Departamento de Estatística da UFRGS, pela assessoria na realização das análises estatísticas dos dados experimentais.

Ao Prof. Dr. Mauro Velho de Castro Faria e à Ms. Cláudia de Mello Moura, do Departamento de Biologia Celular e Genética do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ, pelos ensinamentos e constante ajuda com o teste de detecção enzimática de pesticidas organofosforados e carbamatos.

À profa. Dra Célia Carlini, pelas importantes sugestões durante a revisão deste trabalho.

Ao colega de laboratório e amigo Rafael Roesler pelas revisões de inglês.

Aos secretários do PPGBCM – UFRGS, Silvia Regina Centeno e Luciano Saucedo Fernandes, e a secretária do Centro de Biotecnologia, Graziela Barboza Ramos, pelas constantes informações, auxílio e amizade dispensadas.

Aos professores e colegas do Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular, pelos conhecimentos e convívio durante este período.

Aos amigos do projeto Tuco – Tuco, pelas experiências e ensinamentos proporcionados.

Aos colegas e amigos do grupo de Radiobiologia Molecular, pelos constantes auxílios e apoio fundamentais neste período.

Às amigas Ana Amélia di Mello Cavalcanti e Sílvia Isabel Franke, pela troca de idéias e constante apoio.

Às amigas Helena Campos Rolla, Miriam Benício da Fonseca, Juliana da Silva e Ana Amélia di Mello Cavalcanti pelos valiosos comentários na redação deste trabalho.

Aos meus “auxiliares” Rafael Roehr e Carlos Preto, pela amizade e pelo exaustivo trabalho no laboratório.

Aos amigos do Laboratório GENOTOX, Míriam Benício da Fonseca, Jaqueline de Deus Silveira, Gabriel Rübensam, Márcia Fabiane da Silva Vaz e Roseli Oliveira de Cândido, um especial agradecimento pelos ensinamentos e, principalmente, pela amizade que sempre me impulsionou nessa jornada.

À todos os meus amigos, que mesmo sem saber, estiveram muito presentes para que fosse possível a realização deste trabalho.

Aos meus colegas, passageiros ou permanentes, de apartamento, em especial a Isabel, Cláudio, Lucimari e Adriana pelo carinho, intenso convívio e sobretudo, pela forte amizade.

À toda a minha família, que sempre me deu base para prosseguir.

À minha tia Eulália Maria (*em memória*), pelo precioso exemplo de vida.

Ao meu namorado Roger, pela paciência e amor permanentes.

Aos meus irmãos, Cláudio e Ana Laura, e aos meus cunhados, Adriana e Alessandro, pelo constante carinho e apoio dispensado em todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais, Maria Laura e Wellington, por me possibilitarem tudo na vida.

*“O mundo que temos em nossas mãos não
nos foi presenteado por nossos pais.
Foi emprestado por nossos filhos.”*

Provérbio Africano

*“Todos tem direito ao meio ambiente ecologicamente
equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial
à sadia qualidade de vida, impondo-se ao poder
público e à coletividade, o dever de defendê-lo e
preservá-lo para as presentes e futuras gerações.”*

Art. 225, Constituição Federal do Brasil, 1988.

Sumário

SUMÁRIO	8
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	12
RESUMO	13
ABSTRACT	14
1 - INTRODUÇÃO	15
1.1 - DETECÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO EM AMOSTRAS DE ÁGUA	17
1.2 - TESTE <i>SALMONELLA</i> /MICROSSOMA.....	19
1.1.2 – Utilização do teste <i>Salmonella</i> /Microsoma	23
1.3 – BACIA HIDROGRÁFICA DO LAGO GUAÍBA	25
1.3.1 – Sub-bacias da região hidrográfica do Guaíba.....	27
1.3.2 – Poluição das águas da Bacia do Lago Guaíba	30
1.3.3 – Avaliação da qualidade das águas da bacia do Lago Guaíba	31
2 – OBJETIVOS	35
3 - MATERIAIS E MÉTODOS	36
3.1 - COLETA E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS.....	36
3.1.1 - Pontos de amostragem.....	36
3.1.2 – Parâmetros Físico Químicos.....	38
3.1.3 - Acondicionamento das amostras.....	38
3.1.4 - Teste de esterilidade das amostras	38
3.2 - TESTE <i>SALMONELLA</i> /MICROSSOMA.....	39
3.2.1 - Linhagens utilizadas	39
3.2.2 - Meios de cultura e Soluções.....	40
3.2.3 - Confirmação dos genótipos das linhagens de <i>Salmonella typhimurium</i>	40
3.2.4 – Grupos de controle.....	42
3.2.5 - Condições de crescimento bacteriano.....	42
3.2.6 – Procedimento do ensaio <i>Salmonella</i> /Microsoma.....	43

3.2.7 - Teste de revertentes verdadeiros.....	44
3.2.8 - Fração Microsomal S9 – sistema da ativação metabólica.....	45
3.2.9 - Interpretação e avaliação dos resultados.....	45
3.3 - DOSAGEM ENZIMÁTICA DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS E CARBAMATOS.....	47
3.3.1 - Sistema enzimático de acetilcolinesterase.....	49
3.3.2 - Preparação da solução de metil-paration.....	49
3.3.3 - Método colorimétrico de titulação de metil-paration.....	49
3.4 - DOSAGEM DE HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS E DE PENTACLOROFENOL....	50
3.4.1 - Extração por Fase Sólida.....	50
3.4.2 – Análise por GC-MS.....	51
3.4.3 – Grupos Padrão.....	52
3.5 - PRÓTON INDUCED X-RAY EMISSION – PIXE.....	52
3.5.1 - Preparo da Amostra.....	53
3.5.2 – Análise por PIXE.....	53
3.6 – ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ESTATÍSTICA.....	53
4 - RESULTADOS.....	55
4.1 – DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DA BACIA DO LAGO GUAÍBA.....	55
4.2 – AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO PELO ENSAIO SALMONELLA/MICROSSOMA DAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DA BACIA DO LAGO GUAÍBA.....	57
4.3 - DETECÇÃO DE CONTAMINANTES QUÍMICOS NAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DA BACIA DO LAGO GUAÍBA.....	63
4.4 – ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE OS ENSAIOS DE GENOTOXICIDADE E DE DETECÇÃO QUÍMICA.....	68
5 - DISCUSSÃO.....	72
6 – CONCLUSÕES.....	80
7 – PERSPECTIVAS.....	81
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
9 - ANEXOS.....	92
ANEXO 1 – HISTÓRICO DOS VALORES DE MUTAÇÃO ESPONTÂNEA E INDUZIDA DO LABORATÓRIO GENOTOX.....	92
ANEXO 2 - RESULTADOS DO TESTE SALMONELLA/MICROSSOMA DAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DA BACIA DO LAGO GUAÍBA.....	94
ANEXO 3 – CROMATOGRAMAS DAS ANÁLISES POR GC/MS DAS AMOSTRAS DA BACIA DO GUAÍBA.....	112

ANEXO 4 - RESULTADOS DA DETECÇÃO DE ELEMENTOS INORGÂNICOS POR PIXE NAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DA BACIA DO LAGO GUAÍBA.	114
ANEXO 5 – CORRELAÇÕES ENTRE O ÍNDICE MUTAGÊNICO DAS LINHAGENS TA100 E TA98, LOCAL E ÉPOCA DE COLETA E PRESENÇA E AUSÊNCIA DE METABOLIZAÇÃO PELA ANÁLISE FATORIAL DA VARIÂNCIA.	122
ANEXO 6 – CORRELAÇÃO ENTRE IM (CONCENTRAÇÃO DE 2000 μ L) DAS LINHAGENS TA100 E TA98 E OS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E VALORES DOS ELEMENTOS INORGÂNICOS ENCONTRADOS PELO TESTE DE CORRELAÇÃO DE POSTOS DE SPERMAN.	123

Lista de Figuras

FIGURA 1 – ESQUEMA DO FUNCIONAMENTO DO SISTEMA REGULATÓRIO SOS.....	20
FIGURA 2 – ESQUEMA MOSTRANDO ATIVAÇÃO METABÓLICA DE COMPOSTOS POLICÍCLICOS APOLARES PELO SISTEMA DO CITOCROMO P – 450 EM UMA CÉLULA TÍPICA DE MAMÍFERO, FORMANDO INTERMEDIÁRIOS REATIVOS QUE SE LIGAM AOS CENTROS NUCLEOFÍLICOS DO DNA.	23
FIGURA 3 – BACIA HIDROGRÁFICA DO LAGO GUAÍBA E SUAS SUB- BACIAS.....	26
FIGURA 4 – MAPA COM LOCALIZAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA.	37
FIGURA 5 – ILUSTRAÇÃO MOSTRANDO O PRINCÍPIO DO FUNCIONAMENTO DA TÉCNICA DE PIXE.	52
FIGURA 6 – CORRELAÇÃO ENTRE LOCAL DE COLETA E A MÉDIA DOS ÍNDICES DE MUTAGENICIDADE NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE METABOLIZAÇÃO PARA A CONCENTRAÇÃO MAIS ALTA DA AMOSTRA, PARA A LINHAGEM TA98, NAS DIFERENTES ÉPOCAS DE COLETA.....	68
FIGURA 7 - CORRELAÇÃO ENTRE ÉPOCA (A) E LOCAL (B) DE COLETA E AS MÉDIAS DOS ÍNDICES DE MUTAGENICIDADE PARA A CONCENTRAÇÃO MAIS ALTA DA AMOSTRA, PARA A LINHAGEM TA100, NA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE ATIVAÇÃO METABÓLICA..	69

Lista de Tabelas

TABELA 1 - UTILIZAÇÃO DO TESTE SALMONELLA/MICROSSOMA NA DETECÇÃO DE CONTAMINANTES DE ÁGUA COM POTENCIAL GENOTÓXICO	18
TABELA 2 – CLASSIFICAÇÃO GENOTÓXICA DE EFLUENTES INDUSTRIAIS PELO TESTE DE SALMONELLA/MICROSSOMA	24
TABELA 3 – CLASSIFICAÇÃO DO LAGO GUAÍBA E SEUS PRINCIPAIS AFLUENTES SEGUNDO DMAE E CONAMA.	32
TABELA 4 - GENÓTIPO DAS LINHAGENS DE SALMONELLA TYPHIMURIUM	39
TABELA 5 - CONTROLES POSITIVOS PARA O TESTE SALMONELLA/MICROSSOMA.....	42
TABELA 6 - PREPARAÇÃO DE ÁGAR DE SUPERFÍCIE EM FUNÇÃO DA QUANTIDADE DE AMOSTRA.....	44
TABELA 7 - PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL COLETADAS NA BACIA DO LAGO GUAÍBA.	56
TABELA 8 - RESPOSTA DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA PELO TESTE SALMONELLA/MICROSSOMA DAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DA BACIA DO LAGO GUAÍBA REFERENTES A PRIMEIRA COLETA, FRENTE AS LINHAGENS TA100 E TA98, NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE ATIVAÇÃO METABÓLICA.	59
TABELA 9 - RESPOSTA DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA PELO TESTE SALMONELLA/MICROSSOMA DAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DA BACIA DO LAGO GUAÍBA REFERENTES A SEGUNDA COLETA, FRENTE AS LINHAGENS TA100 E TA98, NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE ATIVAÇÃO METABÓLICA.	61
TABELA 10 – RESULTADOS DA ANÁLISE DE ORGANOFOSFORADOS, CARBAMATOS, PENTACLOROFENOL, CRISENO E BENZO[A]PIRENO EM AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DA BACIA DO LAGO GUAÍBA.	63
TABELA 11 – ELEMENTOS INORGÂNICOS, CONTROLADOS PELO CONAMA CLASSE 2, ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DA BACIA DO LAGO GUAÍBA EM AMBAS AS COLETAS.	65
TABELA 12 – ELEMENTOS INORGÂNICOS, CONTROLADOS PELO CONAMA CLASSE 4, ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DA BACIA DO LAGO GUAÍBA EM AMBAS AS COLETAS.	65
TABELA 13 – ELEMENTOS INORGÂNICOS, PARTE DO CONTEÚDO MÉDIO PERMANENTE DE ÁGUAS NATURAIS, ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DA BACIA DO LAGO GUAÍBA, EM AMBAS AS COLETAS.....	67
TABELA 14 – CORRELAÇÕES SIGNIFICATIVAS NA PRIMEIRA COLETA ENTRE OS ÍNDICES MUTAGÊNICOS DA MAIOR CONCENTRAÇÃO DE AMOSTRAS FRENTE AS LINHAGENS TA98 E TA100 E OS RESULTADOS FÍSICO QUÍMICOS E DAS DETECÇÕES QUÍMICAS.....	70
TABELA 15 – CORRELAÇÕES SIGNIFICATIVAS NA SEGUNDA COLETA ENTRE OS ÍNDICES MUTAGÊNICOS DA MAIOR CONCENTRAÇÃO DE AMOSTRAS FRENTE AS LINHAGENS TA98 E TA100 E OS RESULTADOS FÍSICO QUÍMICOS E DAS DETECÇÕES QUÍMICAS.....	71
TABELA 16 – RESUMO DAS CORRELAÇÕES SIGNIFICATIVAS POSITIVAS E NEGATIVAS ENCONTRADAS EM AMBAS AS COLETAS.....	71

Resumo

A avaliação do potencial genotóxico é um importante índice da ação do homem sobre os corpos d'água, complementando os critérios legalmente exigidos na avaliação da qualidade de águas. A bacia do Lago Guaíba é a mais importante do Rio Grande do Sul em termos sócio- econômicos, concentrando em suas margens mais da metade da população e 86% da produção do estado. Esse estudo avaliou o potencial mutagênico de amostras não concentradas das águas superficiais dos rios que compõem a bacia hidrográfica do Guaíba, e do próprio Lago Guaíba, pelo ensaio *Salmonella*/Microsoma. Paralelamente foi analisada a presença de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (criseno e benzo[a]pireno), de pesticidas (pentaclorofenol, organofosforados e carbamatos), e de elementos inorgânicos, buscando uma possível correlação desses com os efeitos mutagênicos encontrados.

As amostras apresentaram fraca atividade mutagênica, sendo detectado um único resultado positivo frente a linhagem TA98, na presença de ativação metabólica em águas coletadas no lago Guaíba próximo a um local de liberação de efluente urbano. Foram ainda observados cinco indícios de mutagenicidade, indicando a provável presença de compostos de ação indireta sobre o DNA, que causam mutações do tipo substituição nos pares de bases (detectado pela TA100). Os efeitos tóxicos encontrados foram igualmente pouco intensos, podendo estarem relacionados à presença de elementos inorgânicos detectados acima dos limites permitidos pela resolução número 20 do CONAMA. Além disso, observou-se influência sazonal sobre a resposta mutagênica das amostras de água da bacia do Lago Guaíba. Os resultados nos levam a concluir que os rios que formam a Bacia do Guaíba contribuem com uma parte muito pequena da atividade genotóxica das águas do Lago Guaíba, sendo o grande problema a contaminação por esgoto urbano.

Abstract

Several important genotoxic substances are not regulated under Federal and State laws. Other tools seemed to be necessary to complement those analyses such as mutagenicity assays. Guaíba's lake basin covers the biggest urban, agricultural and industrial area of Rio Grande do Sul State. In the current study, the *Salmonella*/Microsoma test was used to analyze the superficial water of this hydrographic basin. Concentrations of the polycyclic aromatic hydrocarbons crisene and benzo [a] pirene, the pesticides pentaclorophenol, organofosforastes and carbamates were also determined, in order to investigate possible links between genotoxicity tests and chemicals concentrations.

The results obtained using the *Salmonella*/Microsoma assay were signs of mutagenicity and only one positive result in front of a municipal wastewater release in Guaíba Lake, showing TA98 strain with metabolic activation. Most of the signs were obtained with TA100 with metabolic activation, suggesting that part of the indirect- acting mutagens induced base pair substitution mutations. Week toxicity was also found and could be explained by some metal concentrations that were above the limits suggested by the federal law. The genotoxic responses also showed to be under seasonal influence. These results allow us to suggest that the major problem in the Guaíba Lake is the urban effluent and not the contamination that came from the river that constitutes this basin.

1 - Introdução

Em busca de uma melhor qualidade de vida, o homem cada vez mais desenvolve produtos e tecnologias em todas as áreas, que acarretam o lançamento ao ambiente de agentes químicos e físicos, na forma de dejetos industriais, domésticos e agrícolas. Mesmo sendo obrigatória a avaliação do impacto que estas substâncias podem causar no ecossistema, elas continuam sendo liberadas, muitas vezes sem serem tomados os cuidados necessários, principalmente por envolverem altos custos. Desta forma, estes compostos podem ocasionar efeitos nocivos ao ambiente e ao próprio homem, que os produziu e liberou.

A contaminação por substâncias agudamente tóxicas é rapidamente detectada, permitindo o controle imediato da fonte emissora. De forma contrária, agentes que promovem toxicidade crônica levam muito tempo para serem identificados, afetando a sobrevivência, a reprodução, ou ainda, o patrimônio genético dos organismos expostos (ARNAIZ, 1997).

Os diferentes agentes tóxicos são classificados dependendo do tipo de influência que exercem sobre os organismos. Os compostos *genotóxicos* são aqueles que lesam o genoma. São denominados *mutagênicos* agentes que induzem a fixação de uma mutação estável no DNA, que pode ser transmitida, e *carcinogênicos* os que influem em qualquer etapa do processo de carcinogênese (iniciação, fixação e promoção). Como diversas mutações podem influenciar diferentes etapas do processo de carcinogênese, compostos genotóxicos e mutagênicos também possuem potencial carcinogênico (ARNAIZ, 1997).

Poluentes que modificam o genoma podem tanto atuar no número, ou na estrutura dos cromossomos, bem como em um único gene (ARNAIZ, 1997; BOURDON, 1999). Uma vez lesado seu DNA, a célula responde utilizando

diferentes estratégias de ação, tais como: morte por citotoxicidade ou apoptose, modulação da expressão gênica controlando o ciclo celular, e reparação do material genético, por via livre ou sujeita a erro, sendo a segunda responsável pela fixação das mutações. Normalmente é a combinação destes fatores que compõe a resposta a danos genéticos (MOUSTACCHI, 2000).

Os primeiros estudos utilizando testes de curta duração na detecção de potencial mutagênico, realizados nos anos 70, estabeleceram uma forte correlação entre mutagênese e carcinogênese (revisado por WATERS et al., 1999). Porém com o avanço dos modelos de Biologia Molecular, se descobriu que o processo de carcinogênese é bem mais complicado do que inicialmente se pensava (WATERS et al., 1999; CAIRNS, 2000). Alguns carcinógenos são associados a efeitos genotóxicos, enquanto outros a efeitos não genotóxicos. Existem ainda os que utilizam ambas as vias combinadas, com o prevalecimento de um dos mecanismos, dependendo do tipo de célula afetada (WATERS 1999 et al., 1999). Quanto mais compostos são estudados, aumenta o número de carcinógenos não mutagênicos conhecidos, diminuindo a correlação inicialmente estabelecida entre estes dois eventos (CLAXTON et al., 1988; ASHBY e TENNANT 1991; WHITE e RASMUSSEN 1996; WATERS et al., 1999; ZEIGER 2001). Os ensaios de curta duração que avaliam genotoxicidade em procariotos ainda são bastante utilizados. O teste *Salmonella*/Microsoma, por exemplo, fornece uma correlação de 50 a 90%, dependendo do grupo químico ao qual a substância estudada pertence. Outra maneira de avaliar a carcinogênese é empregando testes que detectam mutações cromossômicas *in vivo*, tais como aberrações cromossômicas e micronúcleos, que estão fortemente ligados a indução de câncer. Porém, os únicos testes que podem realmente constatar carcinogênese são os testes realizados em roedores, que em geral têm duração de 2 anos, e envolvem um alto custo (ZEIGER, 2001).

Tentar definir as classes de compostos mutagênicos em misturas complexas presentes no ambiente é uma tarefa difícil. Isto se deve a interação entre os compostos, que ocorre no meio ambiente. Não se pode prever o tipo de alteração que um composto sofre quando interage com diversos outros. Isto dá

a cada amostra uma característica específica. Porém este fato não invalida a tentativa de se descobrir a presença de compostos relacionados com a genotoxicidade em amostras ambientais. Este tipo de informação pode assessorar uma política ambiental no sentido de prevenir ou remediar a contaminação das águas. Para estas análises podem ser utilizadas as mais variadas técnicas bioquímicas, químicas e até mesmo físicas (VARGAS et al., 1993; 1995; 2001).

1.1 - Detecção do potencial genotóxico em amostras de água

Os corpos d'água diluem e carregam facilmente os mais diversos poluentes provenientes dos solos e do ar, lavados pelas chuvas, e os que são lançados diretamente pela ação antrópica. Essa contaminação é crítica, pois das fontes de água depende a sobrevivência de numerosos organismos, incluindo o homem.

A detecção do potencial genotóxico em amostras de água pode ser realizada empregando uma gama de bioensaios em células procarióticas e/ou eucarióticas, envolvendo experimentos tanto *in vitro* como *in vivo*.

Para a avaliação de genotoxicidade em células eucarióticas é amplamente aplicado o Ensaio Cometa, que detecta danos primários no DNA: quebras simples, ou duplas, na fita de DNA e lesões alcalilábeis. Este teste pode ser realizado em qualquer célula eucariótica, não precisando ela estar necessariamente em divisão, bastando-se ter uma cultura de células em suspensão (*in vitro*), ou células diretamente extraídas de organismos expostos (*in vivo*), como peixes por exemplo (DEVAUX et al., 1998) (para revisão, ver TICE et al., 2000).

Outro teste largamente recomendado é a Análise da Frequência de Micronúcleos (Mn), que avalia tanto quebras cromossômicas como disfunções na mitose (para revisão, ver FENECH, 1993; HAYASHI et al. 2000). Este ensaio é empregado principalmente em testes *in vivo*, nos quais podem ser utilizados vegetais, como *Tradescancia sp.* (ZENG et al., 1999; YANG, 1999;

DUAM et al., 1999b), *Allium cepa* (MONARCA et al., 2000) e *Vicia faba* (KONG et al., 1998; JI et al., 1999; MIAO et al., 1999; DUAM et al., 1999a), ou animais como peixes (AYLLÓN et al., 2000; GRISOLIA e STARLING, 2001), expostos diretamente às amostras de água testadas. Ainda referente ao nível cromossômico, o teste de Detecção de Aberrações Cromossômicas (AC) é capaz de identificar alterações no número e na estrutura dos cromossomos (para revisão ver GRANT e OWENS, 2001). Este ensaio é aplicado *in vivo*, também usando-se vegetais como, por exemplo o *Allium cepa* (ODEIGAH et al., 1997) e animais, como camundongos (GUIMMLER-LUZ et al., 1992). Os testes de MN e AC, podem ser aplicados nos mais variados organismos eucariotos, podendo também serem utilizadas culturas celulares (testes *in vitro*).

Entre os testes em procariotos mais utilizados na detecção de mutações gênicas em avaliações ambientais, está o ensaio *Salmonella/Microsoma* (Teste de Ames), por ser o melhor padronizado, amplamente aceito pela comunidade científica, simples, confiável, rápido e de baixo custo (MARON e AMES, 1983; HENRIQUES et al., 1987; HOUK, 1992; CLAXTON et al., 1998; VILLASANA, 2000; MORTELMANS e ZEIGER, 2000; UMBUZEIRO, 2001). Este teste permite o conhecimento dos mecanismos de interação de mutágenos com o DNA, fornecendo informações sobre a natureza das alterações primárias na molécula, como o tipo de mutação induzida (CLAXTON et al., 1988; MORTELMANS e ZEIGER, 2000). A Tabela 1 ilustra diversos estudos em corpos d'água de todo o mundo que empregaram este ensaio.

Tabela 1 - Utilização do teste Salmonella/Microsoma na detecção de contaminantes de água com potencial genotóxico

<i>Autor/ano</i>	<i>Amostra</i>	<i>Contaminação</i>	<i>Resultado</i>
VARGAS et al., 1988; 1993; 1995	Rio Caí, Brasil	Industrial, rural e urbana	Genotóxico
ROLLA, 1995	Lago Guaíba, Brasil	Indústria de polpa e papel	Não Genotóxico
FILIPIC, 1995	Rio Sora, Slovênia	urbana e agrícola	Genotóxico

Continuação tabela 1

<i>Autor/ano</i>	<i>Amostra</i>	<i>Contaminação</i>	<i>Resultado</i>
REHANA et al., 1995; 1996	Rio Ganges, Índia	Pesticida	Genotóxico
CERNÁ et al., 1996	Rio Labe, República Checa	industrial e rural	Genotóxico
LERDA et al., 1996	Rio Tercero, Argentina	Industrial rural e urbana	Genotóxico
ROLLA e HENRIQUES, 1996; 1997	Lago Guaíba, Brasil	Indústria de polpa e papel	Não Genotóxico
VAHL et al., 1997	Rio Elbe, Alemanha	industrial rural e urbana	Genotóxico
SHEN et al., 2000	Lago Taihu, China	urbana	Genotóxico
PARK et al., 2000	Água potável de Seul, Taejon e Suwon, Korea.		Genotóxico
UMBUZEIRO et al., 2001	Vários rios, São Paulo, Brasil	industrial rural e urbana	Genotóxico
NUKAYA et al., 2001	Rio Nishitakase, Japão	industrial e têxtil	Genotóxico
VARGAS et al., 2001	Rio dos Sinos - Brasil	Industrial, rural e urbana	Genotóxico

1.2 - Teste *Salmonella*/Microsoma (Teste de Ames)

O teste *Salmonella*/Microsoma, desenvolvido pelo Dr. Bruce Ames e colaboradores na década de 70 (AMES, 1975; AMES et al., 1975), é um ensaio bacteriano de curta duração, que busca identificar substâncias que causem danos genéticos que possam evoluir a mutações (para revisão, ver MARON e AMES, 1983 e MORTELMANS e ZEIGER, 2000). Este ensaio baseia-se na indução de mutações reversas em linhagens de *Salmonella typhimurium*, auxotróficas para o aminoácido da histidina, e que conduzem a mesma à prototrofia.

Em bactérias, danos no DNA ou inibição na replicação podem desencadear uma série de alterações fenotípicas, denominadas de Funções SOS. Esta resposta depende da expressão dos alelos selvagens de *recA* e *lexA* e desencadeia a expressão de pelo menos 27 outros genes, muitos dos quais envolvidos em processos de reparação do DNA (Figura 1). Na forma desligada do sistema, a proteína LexA está reprimindo os genes alvo. Quando ocorre um dano no DNA, é emitido um sinal indutor que ativa RecA na presença de ATP. Esta forma ativada da protease RecA induz a auto-clivagem do repressor LexA, em uma ponte Ala – Gly, que resulta na desrepressão do *regulon*, possibilitando a expressão ou superexpressão dos genes alvo controlados pelas funções SOS. Conforme a lesão é reparada, o sistema volta a sua forma desligada (revisado em KONOLA et al., 2000 e KELLER et al., 2001) (Figura 1).

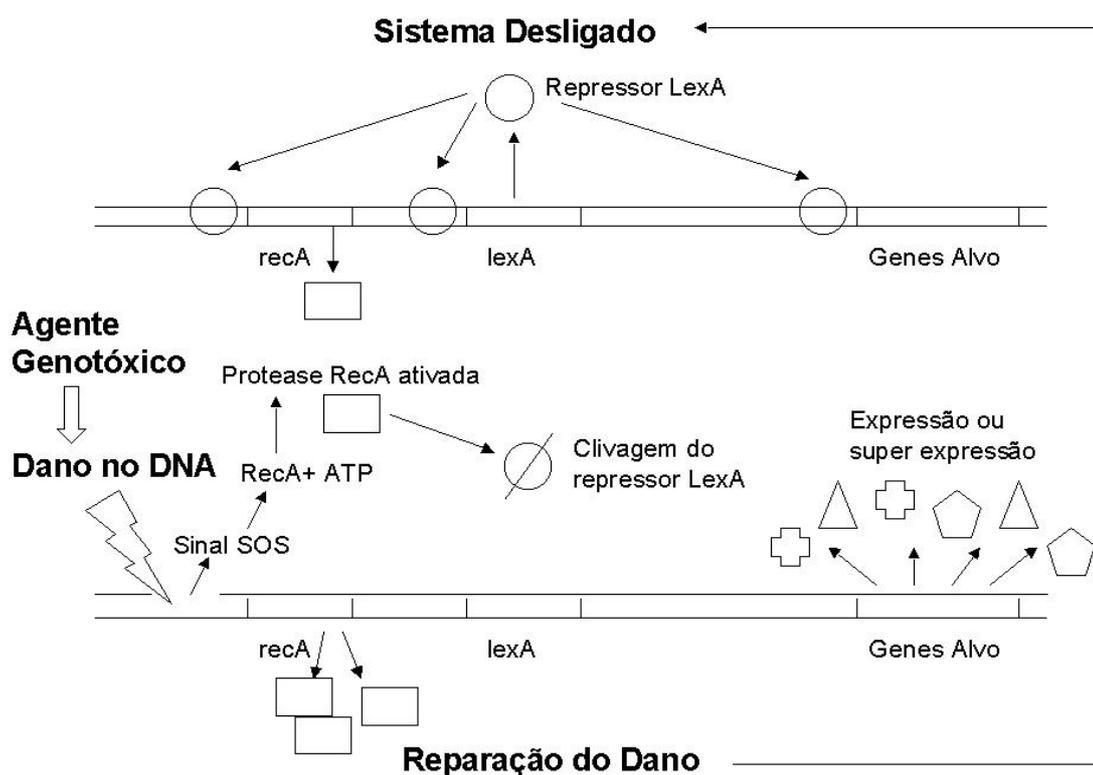


Figura1 – Esquema do funcionamento do sistema regulatório SOS (adaptado de LEITÃO e ALCANTARA GOMES, 1997).

Nas linhagens de *Salmonella typhimurium* utilizadas no teste *Salmonella*/Microsoma, a resposta SOS é otimizada pela presença do plasmídeo pKM101, carregando os genes *mucAB*, alelos de *umuCD* de bactérias, envolvidos na reparação sujeita a erro. Ao se transformar em co-protease, RecA, além de desreprimir o sistema SOS, também cliva UmuD, gerando uma forma ativada, UmuD', que se complexa com UmuC. Este complexo se liga a sub unidade ϵ da DNA polimerase I, permitindo que esta realize a síntese translesão, levando portanto a mutagênese (LEITÃO e ALCANTARA GOMES, 1997; BHAMRE et al., 2001).

Estas linhagens ainda contam com outras mutações, que também auxiliam a identificação de substâncias que lesam o DNA: mutação no gene *rfa*, que acarreta na perda parcial da barreira de polissacarídeos da parede bacteriana, aumentando a permeabilidade e facilitando a entrada de moléculas maiores na célula; deleção do gene *uvrB*, responsável pelo sistema de reparação por excisão de nucleotídeos (NER) do DNA, o que impede que esta via de reparação esteja atuante nestas linhagens, possibilitando a fixação das mutações (MARON e AMES, 1983; MORTELMANS e ZEIGER, 2000).

Cada linhagem é mutada de forma diferente no *operon* de histidina, o que permite que tenham especificidade na detecção de um determinado tipo de mutágeno:

- A linhagem TA98 detecta mutagênicos que causam defasagem no quadro de leitura do DNA (*frameshift mutation*), apresentando como ponto preferencial de lesão oito resíduos repetitivos GC $\begin{matrix} -CGCGCGCG- \\ -GCGCGCGC- \end{matrix}$ no *operon* do gene *his_{d3052}*, que codifica para enzima histidinol desidrogenase (LEVIN et al., 1982a; MARON e AMES, 1983; MORTELMANS e ZEIGER, 2000).

- A linhagem TA100 detecta mutagênicos que causam substituição de pares de base do DNA, através de uma mutação no gene *his_{G46}* que codifica a primeira enzima da biossíntese de histidina. Tem como ponto preferencial para a reversão o par GC, sendo a mutação a substituição de uma prolina $\begin{matrix} -GGG- \\ -GAG- \\ -CTC- \end{matrix}$ por uma leucina $\begin{matrix} -GGG- \\ -CCC- \end{matrix}$ (BARNES et al., 1982; MARON e AMES, 1983; MORTELMANS e ZEIGER, 2000).

- A linhagem TA97a, que apresenta uma mutação no *operon* do gene his_{01242} , detecta mutagênicos que causam erro no quadro de leitura do DNA (*frameshift mutation*). A mutação his_{01242} detectada pela linhagem TA97a, resulta da adição de mais uma citosina formando uma seqüência de seis citosinas (C-C-C-C-C-C), que altera o quadro de leitura, e conseqüentemente, leva a reversão caráter prototrófico (LEVIN et al., 1982a; MORTELMANS e ZEIGER, 2000).
- Ao contrário das outras linhagens, a TA102 contém pares de bases AT no sítio mutante da his_{G428} . Esta mutação foi introduzida no plasmídeo multicópia pAQ1, com objetivo de amplificar o número de sítios alvos. A mutação his_{G428} é uma mutação *ochre* (TAA) no gene *hisG*, a qual pode ser revertida por todas as seis possibilidades de trocas de pares de bases (transversão/transição). Esta mutação também é revertida por agentes que causam danos oxidativos. Como o gene *uvrB* não foi deletado, a bactéria é proeficiente no sistema de reparação NER, aumentando assim a sua habilidade para detectar agentes indutores de pontes entre as cadeias do DNA (*interstrand DNA cross-linking*) (LEVIN et al., 1982b; MARON e AMES, 1983; MORTELMANS e ZEIGER, 2000).

Em testes com procaríotos, um componente importante é o sistema de indução Microsomal. Este sistema enzimático é extraído de células de fígado de ratos, pré-tratados com um indutor enzimático, e tem a função de mimetizar o metabolismo de mamíferos, permitindo que também seja avaliada a ação genotóxica dos metabólitos dos agentes testados. A função primária deste sistema Microsomal é proteger a célula, degradando fisiologicamente substâncias inerentes ao metabolismo celular e detoxificando substâncias estranhas à célula. Porém, algumas substâncias (pró-mutágenos) inativas quando em contato direto com a célula, podem gerar metabólitos eletrofílicos, que reagem com os centros nucleofílicos do DNA, formando aductos (CROSBY, 1998; MORTELMANS e ZEIGER, 2000) (Figura 2).

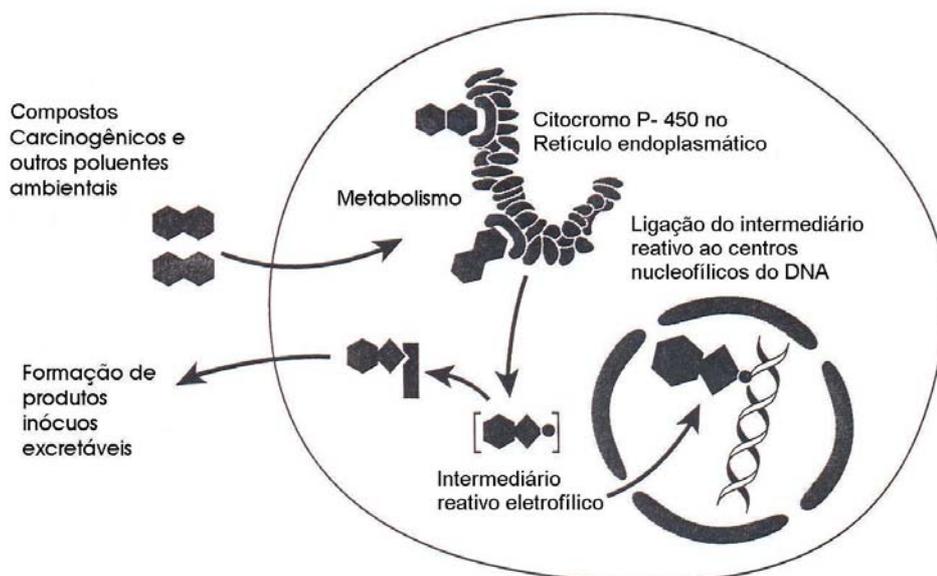


Figura 2 – Esquema mostrando ativação metabólica de compostos policíclicos apolares pelo sistema do citocromo P – 450 em uma célula típica de mamífero, formando intermediários reativos que se ligam aos centros nucleofílicos do DNA (Adaptado de FRIEDBERG et al., 1995).

1.1.2 – Utilização do teste *Salmonella*/Microsoma

A importância da utilização do teste *Salmonella*/Microsoma na detecção de potenciais mutagênicos vem sendo comprovada em amostras de água, contaminadas pelos mais diversos tipos de poluentes.

Estudando a resposta de efluentes industriais frente ao ensaio *Salmonella*/Microsoma, HOUK (1992) definiu diferentes graus de genotoxicidade, classificando diferentes tipos de efluentes de acordo com o número de revertentes/litro (rev./L) induzidos (Tabela 2). O potencial genotóxico pode variar de baixo risco mutagênico (10^2 rev./L) até risco extremo (10^{13} rev./L). Em alguns casos, as potências mutagênicas podem ser atribuídas a classes específicas de químicos, sendo quase sempre resultado da mistura de diferentes compostos (HOUK, 1992; CLAXTON et al., 1998). É possível notar na Tabela 2 que os efluentes de indústria que envolvem a produção de

compostos orgânicos são as que possuem maior potencial genotóxico. Poluentes orgânicos também estão presentes em efluentes domésticos, os quais também possuem fortes potenciais mutagênicos. Os efluentes industriais são indutores mais fortes de lesões no DNA, entretanto os urbanos são liberados em quantidades muito maiores (75% do total), e por isso, mais perigosos (WHITE e RASMUSSEM, 1998).

Tabela 2 – Classificação genotóxica de efluentes industriais pelo teste de Salmonella/Microsossoma^a.

Genotoxicidade (rev./L)	Indústrias
Muito Alta $10^7 - 10^{12}$	produção de furazolidona produção de nitrofurfural
Alta $10^5 - 10^7$	produção de polpa e papel manufatura de químicos – orgânicos nitrogenados manufatura de químicos – orgânicos
Moderada $10^3 - 10^5$	resina de tinta e epoxi manufatura de farmacos refinaria de petróleo
Baixa $10^2 - 10^3$	fundição manufaturas de papel tingido efluente de produção de polpa e papel biotratado
Abaixo da detecção	manufaturas de PVC galvanoplastia efluente tratado de furazolidona, nitrofurfural estágios de hipoclorito da produção de polpa e papel biotratado

^a Adaptado de HOUK, 1992 e CLAXTON et al., 1998.

O ensaio *Salmonella/Microsossoma* pode ainda ser usado para avaliar se os processos de tratamento são adequados para reduzir ou eliminar a genotoxicidade de efluentes, como pode ser observado por exemplo com o tratamento de resíduos de fábrica de polpa e papel (Tabela 2). Os tratamentos utilizados devem ser avaliados com cautela, pois podem também aumentar o potencial mutagênico. A utilização de *C. elegans* na degradação de óleos, ao mesmo tempo que elimina a genotoxicidade de alguns efluentes, confere este

potencial a outros que não o possuíam anteriormente (HOUK, 1992; CLAXTON et al., 1998).

Outra utilização ambiental desse ensaio, está na detecção do potencial mutagênico de pesticidas que chegam aos corpos d'água por escoamento das lavouras, podendo provocar diversos distúrbio à vida aquática (REHANA et al., 1995; CANNA-MICHAELIDOU et al., 1996).

A Agência de Proteção Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) vem utilizando a 20 anos o teste *Salmonella*/Microsoma, com o objetivo de complementar os parâmetros menos exigentes das legislações Federal e Estadual, que não contemplam muitas substâncias mutagênicas liberadas em atividades humanas. Com base nesta experiência, em 1998 este ensaio foi incluído no Programa de Monitoramento da Qualidade de Águas no estado de São Paulo, sendo obrigatória a sua aplicação nas fontes de água potável, após tratamento convencional. Com esta medida, já foi possível detectar potencial mutagênico em uma fonte de água, identificar a indústria responsável pela poluição, notificá-la, exigir a implementação de ações de prevenção à poluição, e alertar a estação de tratamento de água para que não distribuisse para a população a água com estes contaminantes (UMBUZEIRO et al., 2001).

1.3 – Bacia hidrográfica do Lago Guaíba

A bacia hidrográfica do Lago Guaíba, situada no estado do Rio Grande do Sul, sul do Brasil, é a mais importante do Estado, sendo formada por 8 sub-bacias (Guaíba, Gravataí, Sinos, Caí, Taquarí-Antas, Alto Jacuí, Vacacaí e Pardo/Baixo Jacuí), em cuja a área moram aproximadamente de 5,9 milhões de habitantes, em 251 municípios dos 497 existentes no Estado (Figura 3).

Estão localizadas na área dessa bacia 8.236 atividades industriais (Pró-Guaíba/ Fepam, 1997), entre estes os principais setores produtivos do Estado: siderurgia, refinaria de petróleo, indústrias de cimento, papel, celulose, petroquímica, extração carbonífera, lavouras de exportação, setor coureiro-calçadista e metal-mecânico (Secretaria da Coordenação e Planejamento do

RS – Pró Guaíba, 1998). Esses setores são responsáveis por 86% do PIB do Rio Grande do Sul e 6,54% do PIB do Brasil. Em suas margens ainda estão presentes zonas de agricultura intensiva e regiões urbanas incluindo a região metropolitana da capital, Porto Alegre.

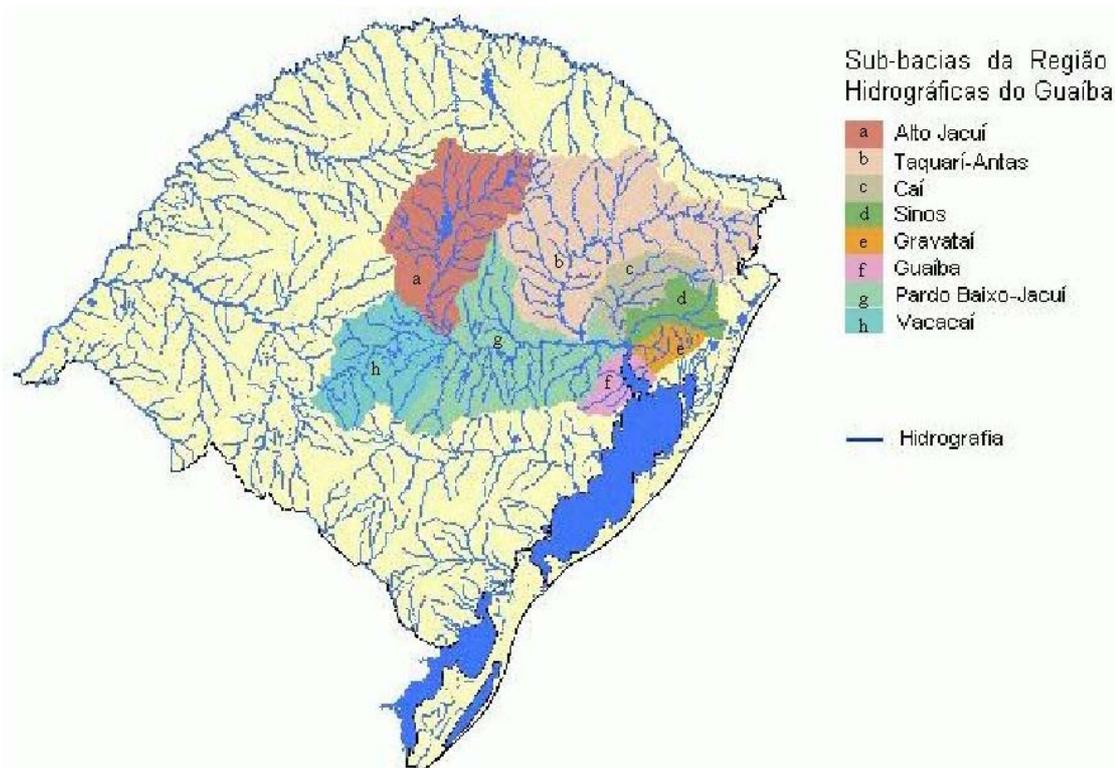


Figura 3 – Bacia Hidrográfica do Lago Guaíba e suas sub- bacias (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998).

As águas da bacia do Lago Guaíba são utilizadas como fonte de abastecimento para cerca de 1 milhão de habitantes (97% da população de Porto Alegre), e são uma importante via de navegação, pois liga o centro do estado ao porto de Rio Grande. São ainda utilizadas para recreação, pesca, irrigação, habitat de espécies, fonte de lazer, turismo e harmonia paisagística (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998).

Esta bacia possui a representação dos principais ecossistemas do Rio Grande do Sul, com exceção da costa litorânea. Das terras altas na serra à planície da

campanha, da araucária às matas baixas dos vales, da rica fauna silvestre à vegetação dos banhados, estão representados nesta área que concentra 28 unidades de conservação. Dentre estas podemos salientar a Reserva da Serra Geral, que abriga uma significativa mostra da mata atlântica, o Arquipélago do Delta do Jacuí, que abriga uma enorme diversidade de espécies, e o Parque de Itapuã, composto por um mosaico de ecossistemas que incluem campos, areias, restingas, ilhas, praias e morros, que servem de refúgio para diversas espécies, estando muitas delas em extinção (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998).

1.3.1 – Sub-bacias da região hidrográfica do Guaíba

Sub-bacia do Lago Guaíba

Os rios Gravataí, Sinos, Caí e Jacuí contribuem para a formação do Lago Guaíba, que, por sua vez, margeia os municípios de Porto Alegre, Eldorado do Sul, Guaíba, Barra do Ribeiro e Viamão, desembocando na Laguna dos Patos, limite sul da Região Metropolitana de Porto Alegre. O Lago Guaíba recebe efluentes das cidades de Porto Alegre, Guaíba, Eldorado do Sul, Barra do Ribeiro e Viamão, além de receber as contribuições de seus formadores (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998).

Sub-bacia do Rio Gravataí

A sub-bacia do Gravataí constitui-se numa bacia de pequena dimensão, sem afluentes de porte em termos de vazão, e desemboca no Delta do Jacuí. Nesta sub-bacia predominam atividades tipicamente rurais nas áreas de várzeas, destacando-se a cultura de arroz, a pecuária e o uso urbano-industrial intenso a jusante da cidade de Gravataí, sendo de grande importância a passagem pela região metropolitana de Porto Alegre. Estas águas servem para irrigação, abastecimento público, e recepção de despejos domésticos e industriais (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998; Fepam, 1996).

Sub-bacia do Rio dos Sinos

A bacia do Sinos sofre forte ação antrópica, nos cursos médio e baixo, ocasionada por uma intensa concentração urbano-industrial. A cultura predominante nesta região é a do arroz, além de cana-de-açúcar e hortaliças. É observada ainda uma pecuária pouco desenvolvida, com gado leiteiro, suínos e aves. Assim como a maioria das sub-bacias do Guaíba, os principais usos da água consistem em geração de energia elétrica, recreação, harmonia paisagística, preservação de espécies, diluição de esgoto industrial e urbano, abastecimento doméstico e industrial, irrigação, navegação e mineração (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998; Fepam, 1999a).

Sub-bacia do Rio Caí

Esta região se caracteriza por atividade agrícola em pequenas propriedades e uso urbano-industrial acentuado, destacando-se a indústria metal mecânica. Nesta bacia destaca-se ainda a presença do Pólo Petroquímico, em Triunfo. Principais cultivos no curso médio são morangos, hortaliças, viveiros de mudas de citros, flores, e no curso inferior, o arroz. Dentro dos três trechos característicos deste rio (superior, médio e inferior), os principais usos da água consistem em geração de energia elétrica, recreação, diluição de esgoto industrial e urbano, abastecimento doméstico e industrial, irrigação, navegação e mineração (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998; Fepam, 1998).

Sub-bacia dos Rios Taquarí-Antas

O rio Taquarí, juntamente com o rio das Antas, consistem nos principais cursos de água formadores desta sub-bacia, também de grande expressividade territorial, sócio-econômica (20% do PIB estadual) e populacional (16% da população do estado). Na nascente do rio das Antas predomina a atividade pecuária. Esta utilização se modifica ao longo do rio, passando a predominar a atividade agrícola, intensivamente praticada em pequenas propriedades, onde ocorrem densidades populacionais mais altas. A partir da sua confluência com o rio Turvo, este rio passa a se denominar rio Taquarí, agora com maior

expressão em termos de volume, indo desembocar no rio Jacuí, na região Triunfo. As atividades mineira e agrícola, assim como de aglomerados urbanos e industriais, exercem grande influência sobre o rio Taquarí. Ao longo dele concentram-se as atividades de vinicultura, metalúrgicas, mecânica, moveleira, madeira, vestuário e artefatos de tecido, produtos alimentares, calçados e minerais não metálicos. As principais culturas são milho e soja, sendo também cultivados arroz e hortigrangeiros (uva). Assim como o Lago Guaíba possui, ele grande influência diversos usos: abastecimento doméstico, diluição de efluentes, recreação, turismo, pesca comercial, produção de energia, irrigação, dessedentação animal, navegação, bem como preservação de espécies (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998; Fepam, 1999).

Sub-bacia do Alto Jacuí

Durante seu percurso, este rio passa por regiões em que prevalecem características geográficas e sócio-econômicas distintas, havendo forte influência de atividades agrícola, mineração de pedras preciosas e industrial. Além disto, o rio sofre represamento pelas barragens de Passo Real, Ernestina e Itaúba, na região a montante de Salto Jacuí (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998).

Sub-bacia do Rio Vacacaí

O solo desta região é ocupado preponderantemente por latifúndios, onde são desenvolvidas a agricultura e a pecuária extensivas, destacando-se o cultivo de arroz (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998).

Sub-bacia do Rio Pardo/baixo Jacuí

Após a confluência com o rio Vacacaí, o Jacuí segue até sua foz no Delta do Jacuí, junto à cidade de Triunfo. A região ao longo do curso médio sofre muitas interferências causadas pela atividade antrópica, sendo característica a mineração de carvão mineral. No seu curso inferior é característica a atividade urbano e industrial, destacando-se o Polo Petroquímico. Ao longo do seu percurso destacam-se a produção de soja, milho, trigo e arroz, sendo esta

região conhecida como celeiro do estado (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998).

1.3.2 – Poluição das águas da Bacia do Lago Guaíba

Entre os principais problemas enfrentados na bacia do Lago Guaíba estão a liberação de esgoto doméstico, quase sem tratamento, o uso indiscriminado de agrotóxicos, desmatamento às margens dos rios, erosão do solo e conseqüente assoreamento dos cursos d'água, poluição industrial e depredação com retiradas de areias (FEPAM/GTZ, 1997; Secretaria da Coordenação e Planejamento do RGS – Pró Guaíba, 1998). Estas ações são responsáveis pela liberação de diversos contaminantes, sendo alguns de especial interesse para o presente trabalho.

Os pesticidas organofosforados e carbamatos são amplamente utilizados em diferentes culturas, incluindo grãos e frutas cítricas. Efeitos genotóxicos destes pesticidas, tanto dos compostos puros como em misturas ambientais, já foram descritos em procaríotos (MORIYA et al., 1983; REHANA et al., 1995; CANNA-MICHAELIDOU, 1996; HUNBNER et al., 1997; SIERRA-TORRES et al., 1998) e em eucariotos (SINHA et al., 1989; WEI et al., 1997; BLASIAK et al., 1999; BOLOGNESI e MORASSO, 2000).

O pentaclorofenol (PCP) é usado como biocida, e para preservar madeira. Efeito genotóxico foi demonstrado pelo aumento na freqüência de micronúcleos em mexilhões (PAVLICA et al., 2000). Este pesticida é ainda classificado como possível carcinógeno humano (ATSDR, 2001). É um precursor das Dioxinas, compostos clorados que apresentam imunotoxicidade, embriotoxicidade e induzem carcinogênese (HAYES, 1994; CROSBY, 1998; ATSDR, 2001).

Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) são formados como resíduos de queimas e/ou aquecimento de matéria orgânica, estando intensamente presentes em nosso cotidiano, nos alimentos cozidos, exaustão de veículos, no asfalto, em óleos para motores, na fabricação de tintas, plásticos, pesticidas e medicamentos (HAYES, 1994; CROSBY, 1998; BOURDON, 1999; YU, 2001;

ATSDR, 2001). Há muitos anos estes compostos vem sendo relacionados à carcinogênese (JOSEPHY, 1997). A US-EPA (Environmental Protection Agency of United States) inseriu 16 HAPs na lista dos 126 poluentes prioritários, sendo 8 destes prováveis carcinógenos humanos. Dentre estes está o Benzo[a]pireno, um dos carcinógenos mais poderosos já conhecidos (YU, 2001).

Elementos inorgânicos entram em contato com o homem por inalação, consumo de água e alimentos contaminados, por situações particulares como, utilização de utensílios metálicos, persistência de metais empregados como pesticidas, descargas urbanas e industriais, etc. (ARNAIZ, 1997; YU, 2001). Muitos metais são classificados como mutagênicos e carcinogênicos em mamíferos, sendo que o primeiro relato dessa associação foi a presença de neoplasmas em operários metalúrgicos (ARNAIZ, 1997). Vários autores já relataram a genotoxicidade ocasionada por estes metais. PANDA et al. (1996) detectou ação mutagênica de sais de Ni, Hg, Cd e Zn em células meristemáticas de cebola. Também em vegetais, STEINKELLNER et al. (1998) encontraram aumento na frequência de micronúcleos ocasionada por uma mistura de As, Pb, Cd e Zn. Águas contaminadas por sais de Cu, Cd e Hg apresentaram efeitos genotóxicos em mexilhões, conforme relatado por BOLOGNESI et al. (1999).

1.3.3 – Avaliação da qualidade das águas da bacia do Lago Guaíba

As águas desta bacia foram classificadas pelo DMAE (Departamento Municipal de Águas e Esgoto) utilizando um índice denominado IQA (Índice de Qualidade de Água), que nada mais é do que uma forma simplificada de apresentação das condições da qualidade da água (Tabela 3). O cálculo é feito a partir dos seguintes parâmetros: oxigênio dissolvido (OD), coliformes fecais, pH, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), fosfato total, nitrato, turbidez e sólidos totais. O IQA pode ser enquadrado nas seguintes faixas: Muito Ruim (0 – 25); Ruim (26 – 50); regular (51 – 70); Bom (71 – 90); Excelente (91 – 100) (BENDATI et al., 2000).

Segundo a resolução 20 do Conama (Conselho Nacional do Meio Ambiente) (BRASIL, 1986), o Lago Guaíba está classificado (provisoriamente) como classe 2 (Tabela 3), compatível com águas destinadas ao abastecimento doméstico após tratamento convencional, à proteção das comunidades aquáticas e à recreação de contato primário, entre outros. Porém, esta informação deve ser vista com cautela, pois cada corpo d'água formador do Lago Guaíba apresentou uma classificação própria (BENDATI et al., 2000) (Tabela 3).

Os critérios utilizados pelos dois sistemas de classificação são os mesmos, como pode ser constatado na Tabela 3, a qual apresenta as classificações do Guaíba e dos seus principais afluentes. É possível observar diferenças na qualidade das águas das diferentes regiões, o que está relacionado com as interferências que estes cursos hídricos sofrem ao longo de seus percursos, sendo aqueles contaminados por uma maior atividade industrial e urbana, os mais prejudicados.

Tabela 3 – Classificação do Lago Guaíba e seus principais afluentes segundo DMAE e CONAMA.

<i>Corpos d'água</i>	<i>Índice de Qualidade de água (DMAE)</i>	<i>Classificação CONAMA</i>
Rio Gravataí	entre muito ruim e ruim	classe 4
Rio dos Sinos	entre regular e ruim	classe 4
Rio Caí	melhor qualidade dos formadores do Guaíba	classe 2
Rio Jacuí	melhor qualidade dos formadores do Guaíba	classe 2
Arroio Dilúvio	entre muito ruim e ruim	classe 4
Lago Guaíba (próximo ao Dilúvio)	entre regular e ruim	classe 4

Buscando uma avaliação mais completa do que a exigida pela legislação vigente, o potencial mutagênico das águas e sedimentos da bacia do Lago Guaíba vem sendo avaliado e monitorado em diversos estudos.

VARGAS et al. (1988; 1992; 1993; 1995) e LEMOS et al. (1994) avaliaram as águas superficiais do Rio Caí, utilizando o teste *Salmonella*/Microsoma, por método direto e concentrando as amostras. Nestes estudos, foi possível delimitar a área de influência, quanto à mutagenicidade, do complexo industrial do Pólo Petroquímico sobre este rio, próximo aos locais de liberação de efluentes. A linhagem TA98, na ausência de metabolização, apresentou maior sensibilidade às amostras analisadas, indicando a prevalência nessas águas de compostos de ação direta, que causam mutações do tipo defasagem no quadro de leitura. Foram ainda detectados mutágenos voláteis, que induziram mutagênese pelo método direto, mas que eram perdidos no processo de extração líquido - líquido. A obtenção de resultados positivos em águas tomadas como controle, recolhidas antes da liberação de efluentes do Polo Petroquímico, atribuída à provável presença de pesticidas, que escoam das lavouras localizadas às margens do Rio Caí. Resultados similares, na zona de influência do Polo Petroquímico, foram verificados também empregando-se os testes de Detecção de Troca de Cromátides Irmãs em linfócitos humanos (LEMOS et al., 1994), e ainda em estudo de análise da frequência de micronúcleos em linfócitos humanos (LEMOS e ERDTMANN, 2000). Recentemente, empregando o teste para a Detecção de Mutação e Recombinação Somática em *Drosophila melanogaster* (SMART), SILVA (2000) observou que a genotoxicidade detectada no rio Caí, também está associada a influência da liberação de efluentes urbanos.

Mais recentemente, VARGAS et al. (2001) mostraram que as águas superficiais e intersticiais do rio dos Sinos não apresentam resposta mutagênica positiva com o teste *Salmonella*/Microsoma. Entretanto, amostras de sedimento deste rio apresentaram resposta positiva frente a linhagem TA97 (que detecta mutágenos que causam defasagem no quadro de leitura), na ausência de ativação metabólica. Complementando este estudo, VARGAS et al. (2001) encontraram resultados genotóxicos positivos em amostras de água

e sedimento deste rio, com o teste de Microtriagem por indução Lisogênica. Por ser um teste sensível a detecção de genotoxicidade induzida por metais, esses foram inferidos como uma das prováveis fontes de contaminação, além de compostos orgânicos.

Quanto ao Lago Guaíba, as amostras de água superficial avaliadas com o ensaio *Salmonella*/Microsoma (ROLLA, 1995; ROLLA e HENRIQUES, 1996; 1997), e com o teste de aberrações cromossômicas em medula de camundongos (GUIMMLER-LUZ et al., 1992), não induziram mutações gênicas nem cromossômicas. Entretanto, amostras de sedimentos analisadas pelo ensaio *Salmonella*/Microsoma (ROLLA, 1995; ROLLA e HENRIQUES, 1996; 1997) apresentaram resposta mutagênica positiva com a linhagem TA98 na ausência de ativação metabólica, em pontos de coleta próximos a locais de liberação de esgoto urbano.

2 – Objetivos

- 1 – Avaliar o potencial mutagênico, pelo teste de Ames, de amostras de água superficial da foz dos rios formadores do Lago Guaíba, bem como do próprio Lago Guaíba.
- 2 – Detectar a presença de pesticidas organofosforados, carbamatos e pentaclorofenol, dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos criseno e Benzo(a)pireno, e de elementos inorgânicos.
- 3 – Correlacionar a presença dos poluentes detectados com a presença de ação genotóxica.

3 - Materiais e Métodos

3.1 - Coleta e Preservação de amostras

As amostragens foram realizadas em conjunto com a equipe da COPESUL (Companhia Petroquímica do Sul), utilizando as técnicas do Guia de Coleta e Preservação de Amostras de Água da CETESB (AGUDO, 1987). Foram coletadas amostra em oito locais diferentes, nos períodos de final de março e final de setembro de 2000. Para a realização de todos os testes, foram coletados 6 litros de água à cerca de 20 cm abaixo da superfície.

3.1.1 - Pontos de amostragem (Figura 4)

As coletas foram realizadas na foz dos rios formadores do Lago Guaíba, bem como no próprio Guaíba, buscando identificar a contribuição de cada um desses rios na contaminação desse lago. Os pontos de coleta foram os seguintes:

1) Lago Guaíba, após saída do arroio Dilúvio.

Latitude Sul: 3005210; Longitude Oeste: 05124764

2) Lago Guaíba, na ponta inferior do Delta do Jacuí.

Latitude Sul: 3003475; Longitude Oeste: 05124303

3) Foz do Rio Gravataí, em frente à indústria Languirú.

Latitude Sul: 2996783; Longitude Oeste: 05118616

4) Foz do Rio do Sinos, em frente à um depósito de areia.

Latitude Sul: 2987848; Longitude Oeste: 05124553

5) Foz do Rio Caí, abaixo da ponte férrea.

Latitude Sul: 2989058; Longitude Oeste: 05182119430

6) Rio Jacuí, 2 Km antes da foz do Taquarí.

Latitude Sul: 0429052; Longitude Oeste: 6685157

7) Foz do Rio Taquarí, em frente a uma olaria.

Latitude Sul: 0429100; Longitude Oeste: 6688575

8) Foz do Arroio Dilúvio, abaixo da ponte no cruzamento entre as Avenidas Borges de Medeiros e Ipiranga.

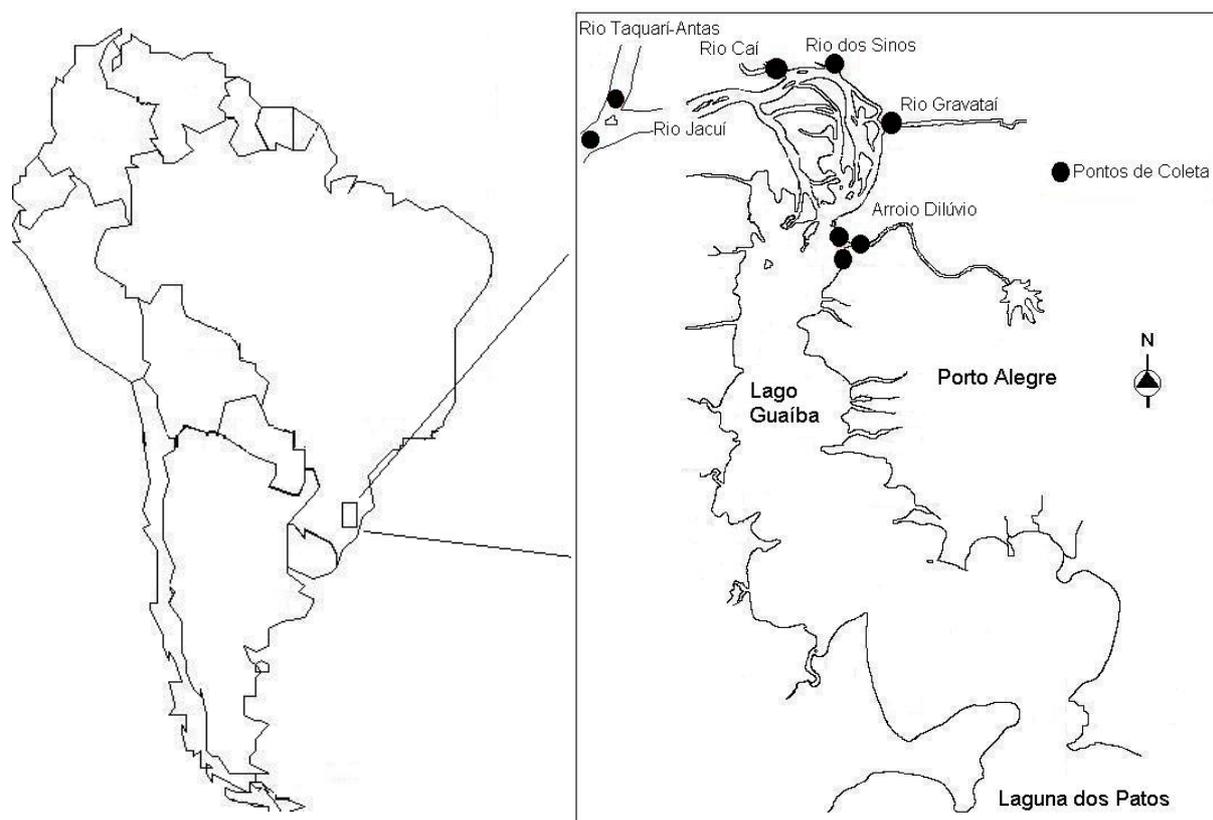


Figura 4 – Mapa com localização dos pontos de coleta.

3.1.2 – Parâmetros Físico Químicos

No momento das coletas foram medidos os seguintes parâmetro físico-químicos: pH, temperatura do ar e da água, condutividade e oxigênio dissolvido. Para tanto foram utilizados específicos para amostras ambientais.

3.1.3 - Acondicionamento das amostras.

As amostras foram tratadas e acondicionadas de maneiras diferentes, de acordo com as necessidades de cada teste. Para o teste de Ames, as amostras foram filtradas à vácuo, primeiramente em filtros de celulose, retirando o material particulado maior, e de ester celulose Millipore de 0,45µm. Posteriormente a esterilização foi realizada por filtração em membrana Millipore de éster de celulose, com porosidade 0,22 µm. A armazenagem foi realizada em tubos Falcon de 50 ml à -20°C, por tempo indeterminado, sem a adição de nenhuma substância.

Para o teste de detecção de hidrocarbonetos policíclicos e de pesticidas, as amostras foram armazenadas sob refrigeração à 4°C por no máximo 1 mês. O mesmo procedimento foi adotado para o teste de detecção de elementos inorgânicos, neste caso, as amostras foram armazenadas por tempo indeterminado.

3.1.4 - Teste de esterilidade das amostras

Todas as amostras foram submetidas à testes de esterilidade. Alíquotas das amostras foram semeadas em Placas de Petry contendo meio NA. Após 96 horas de incubação a 37°C, foi verificada a presença ou ausência de microrganismos contaminantes.

3.2 - Teste *Salmonella*/Microsoma (Teste de Ames)

Este método baseia-se no uso de linhagens da bactéria *Salmonella typhimurium* auxotróficas para o aminoácido histidina, e que reverterem à prototrofia pelo tratamento com agentes genotóxicos (AMES, 1975; AMES et al., 1979, MARON e AMES, 1983; MORTELMANS e ZEIGER, 2000).

3.2.1 - Linhagens utilizadas

As linhagens de *Salmonella typhimurium* empregadas neste trabalho (TA98 e TA100), gentilmente cedidas pelo Dr. Bruce Ames (University of Califórnia, Berkeley, CA – USA,) apresentam diferentes mutações no *operon* da histidina, conforme tabela 4. A taxa de mutação espontânea para a linhagem TA98 é de 30 a 50 revertentes por placa, e para TA100 é de 120 a 200 revertentes por placa (Maron & Ames, 1983; Mortelmans & Zeiger, 2000) (histórico do laboratório GENOTOX - Anexo 1).

Tabela 4 - Genótipo das linhagens de *Salmonella typhimurium*

Linhagens	TA98	TA100
Mutação no operon histidina	his _{D3052}	his _{G46}
Alvo no DNA	-C-G-C-G-C-G-C-G	G-C-G C-C-C
Plasmídio	pKM101	pKM101
Mutação (rfa)	+	+
Mutação (uvrB)	Δ uvrB	Δ uvrB
Tipo de mutação detectada	Erro no quadro de leitura	Substituição de pares de bases

As culturas para o uso rotineiro foram mantidas a 4°C, em placas de meio mínimo MM suplementado (placa *master*), preparadas a partir de linhagens mantidas a -80°C, e testadas quanto às características genéticas.

3.2.2 - Meios de cultura e Soluções

No teste *Salmonella*/Microsoma, o crescimento das linhagens testadoras foi realizado em meio líquido completo NB, contendo 8% (peso/volume – p/v) de meio nutriente (*nutrient broth* - Oxoide nº 2 - Oxoide LTD., Basingstoke, Hants, Inglaterra).

No teste de avaliação mutagênica, empregou-se o meio mínimo MM (30 ml/placa), constituído por uma mistura de glicose a 40% (p/v) (50 ml), meio E de Vogel Bonner (20 ml), sulfato de magnésio a 1% (p/v), ácido cítrico monohidratado a 10%, fosfato de potássio dibásico a 50%, fosfato de sódio e amônio a 17,5%, solidificado com 1,5% (p/v) de ágar, em 930ml de água destilada (Difco Laboratories, Michigan, EUA).

Para a semeadura no teste de avaliação mutagênica foi utilizado o ágar de superfície (gelose) contendo 0,6% (p/v) ágar (Oxoide, Inglaterra) e 0,5% de cloreto de sódio, suplementado com 10% (volume/volume - v/v) de solução de histidina e biotina (0,5 mM).

Para o teste de confirmação do genótipo das linhagens foi utilizado o meio completo solidificado NA (20 ml/placa) elaborado a partir do meio NB solidificado com 1,5% (p/v) de ágar.

As placas master para a estocagem das linhagens foram constituídas de meio mínimo completo acrescido de histidina (260 µM/placa), biotina (3 µM/placa) e ampicilina (750 µg/placa).

3.2.3 - Confirmação dos genótipos das linhagens de *Salmonella typhimurium*

A verificação dos genótipos das linhagens foi realizada bimensalmente, sempre que as linhagens não mantinham a taxa de reversão espontânea, ou não apresentavam os índices de mutação induzida esperados frente a controles positivos, relatados na literatura (Maron e Ames, 1983; Mortelmans e Zeiger, 2000) ou os valores históricos determinados no laboratório GENOTOX (Anexo

1). Para esta finalidade foram utilizadas culturas em fase estacionária de crescimento, com densidade de $1 - 2 \times 10^9$ células por ml^{-1} .

1) Requerimento de histidina: o caráter *his⁻* das linhagens foi confirmado pela ausência de crescimento em placas de meio seletivo, sem histidina. Alíquotas das culturas bacterianas foram estriadas em placas-controle, contendo meio mínimo acrescido de histidina 0,1 M (0,1 ml) e biotina 0,5 mM (0,1 ml), bem como em placas-teste contendo apenas biotina (requerida devido à deleção no gene *uvr*, a qual se estende pelo gene responsável por sua síntese). Após incubação, a 37°C por uma noite, deve-se observar ausência de crescimento na placa- teste.

2) Mutação *rfa*: este caráter confere sensibilidade ao cristal violeta. Uma alíquota de 100 μl das linhagens testadoras foi semeada em meio NA, utilizando 2 ml de ágar de superfície aquecido a 46°C. Em um pequeno disco de papel de filtro estéril colocado no centro da placa, foi adicionado 10 μl de uma solução de 1 mg/ml de cristal violeta. Após 12 horas de incubação a 37°C, deve-se observar uma zona de inibição do crescimento celular de cerca de 14 mm ao redor do disco de papel filtro.

3) Mutação *uvrB*: linhagens portadoras desta mutação são deficientes no mecanismo de reparação por excisão e, portanto, sensíveis à radiação ultravioleta. Estrias de culturas de linhagens testadoras foram aplicadas em placas contendo meio NA. Metade da placa foi coberta, sendo a outra metade irradiada com luz ultravioleta – UV (emitida por uma lâmpada Philips-HPW de mercúrio sob alta pressão - 15 W - germicida, apresentando a quase totalidade de emissão no comprimento de onda de 253,7 nm) a uma distância de 33 cm, por um período de 8 segundos. Após incubação de 12 – 24 horas a 37°C, deve-se constatar o crescimento celular apenas na metade não irradiada da placa.

4) Presença do plasmídio pKM101: linhagens portadoras do plasmídio pKM101 são resistentes à ampicilina. Cultura das linhagens que contêm este plasmídio foram semeadas em placas contendo meio NA acrescido de ampicilina (750

µg/placa). Após incubação a 37°C, deve-se observar o crescimento das linhagens portadoras do plasmídeo pKM101.

3.2.4 – Grupos de controle

Para cada ensaio foram utilizados: controles negativos (água destilada), positivos (mutagênicos conhecidos) e meio NB (para controle da toxicidade do solvente). Como controles positivos foram usados produtos químicos reconhecidamente mutagênicos, específicos para cada linhagem de *Salmonella*, como descrito na Tabela 5.

Tabela 5 - Controles Positivos para o Teste *Salmonella*/Microsoma

Produto Químico	Concentração Final (µg/placa)	Linhagens	Fração Microsomal(S-9)
4-nitroquinolina 1-óxido (4-NQO)	0,5	TA98	-
Azida Sódica (NaN₃)	10	TA100	-
Aflatoxina-B ₁ (AFB₁)	10	Todas linhagens	+

Fonte: Sigma Chemical St. Louis, USA.

NaN₃ foi preparada em água destilada. As outras soluções estoques foram preparadas em dimetilsulfóxido (DMSO) anidro, grau espectrofotométrico. Alíquotas dos controles positivos foram estocados a 0 - 5°C no escuro.

3.2.5 - Condições de crescimento bacteriano

O crescimento das linhagens provenientes de placas master foi realizado em meio NB, acrescido de ampicilina (solução 8 mg.ml⁻¹ em NaOH 0.02N – 50 µl desta solução para cada 5 ml de NB). As linhagens cresceram até atingirem a fase estacionária de crescimento (1-2 x 10⁹ célula.ml⁻¹), em banho-maria a 37°C, ao abrigo da luz e sob um sistema de aeração, programado para desligar automaticamente após um período de 10 horas.

A densidade celular (1-2 x 10⁹ célula.ml⁻¹) foi estimada por medida de turbidez em espectrofotômetro (Espectrofotômetro modelo B395, Micronal),

correspondendo a uma absorvância de 0,5 no comprimento de onda de 650 nm. Quando necessário, as culturas foram diluídas com meio NB até obtenção a da turbidez adequada.

3.2.6 – Procedimento do ensaio *Salmonella/Microsoma*

As amostras foram processadas pelo método direto. Esta metodologia está de acordo com o protocolo elaborado em 1983 pelo Institute for Medical Research (Departament of Microbiology, Camden, New Jersey), já descrita em VARGAS (1992) e VARGAS et al., (1993). É baseada em uma adaptação do teste *Salmonella/Microsoma*, com pré-incubação, descrito em MARON e AMES (1983), para análise de quantidades crescentes de amostras, tanto na presença como na ausência de mistura de ativação metabólica (S9 mix) (item 3.2.8). Assim, um número padrão de bactérias ($1 - 2 \times 10^9$ cels.ml⁻¹) foram expostas a 100, 200, 500, 1000, e 2000 µl de amostras de água em teste. As quantidades de ágar e NaCl, utilizadas no ágar de superfície no momento da semeadura, foram modificadas de maneira que a concentração final de NaCl e ágar por tubo ficasse idêntica (Tabela 6).

Os tubos de ensaio, estéreis e protegidos da luz, contendo as diferentes concentrações das amostras de água e dos controles, em triplicata, foram incubados em banho-maria sem agitação, com 100 µl de cultura bacteriana, por um período de 20 minutos e a temperatura de 37°C. Em testes com ativação metabólica, além de 100 µl de cultura bacteriana, foram adicionados aos tubos 500 µl de mistura de ativação metabólica (S9 mix).

Após o período de incubação, foram adicionados aos tubos-teste de 1 a 3 ml de ágar de superfície (variando com o volume de amostra, conforme mostrado na tabela 6), previamente fundido e estabilizado a 45°C, suplementado com uma solução de histidina (0,5 mM) e biotina (0,5 mM).

O conteúdo de cada tubo foi homogeneizado em agitador tipo vortex e vertido sobre a superfície de uma placa contendo meio MM.

O número de colônias revertentes por placa foi contado após 48 horas de incubação, em estufa a 37°C (Incubadora BOD – Ética, com sistema de exaustor).

Tabela 6 - Preparação de ágar de superfície em função da quantidade de amostra.

Ágar Superfície /tubo		Concentração (%) ^(a)	Volume de ágar/tubo (ml)	Volume de amostra/tubo (ml)
1,0 X	Ágar	0,60	3,0	0,1 - 0,2
	NaCl	0,50		
1,5 X	Ágar	0,72	2,5	0,5
	NaCl	0,60		
2,0 X	Ágar	0,90	2,0	1,0
	NaCl	0,75		
2,5 X	Ágar	1,35	1,5	1,5
	NaCl	1,12		
3,0 X	Ágar	1,80	1,0	2,0
	NaCl	1,50		

^(a) Após adição da amostra, o volume e a concentração de sais e ágar em cada tubo eram idênticos.

3.2.7 - Teste de revertentes verdadeiros

Os testes de revertentes verdadeiros foram realizados para determinar se as colônias eram revertentes verdadeiros ou falsos. Estes últimos poderiam ser ocasionados pela presença de histidina na amostra (por se tratar de amostra ambiental), ou por traços deste aminoácido decorrentes de morte celular em amostras tóxicas.

Neste ensaio, utilizaram-se placas de meio mínimo suplementado com traços de biotina acrescido de ampicilina. Dez colônias de uma das réplicas das amostras com resultados positivos para indução de revertentes His⁺ foram

estriadas nestas placas, e incubadas por 24 horas a 37°C. Somente os revertentes His⁺ podem crescer neste meio, indicando que as colônias originais eram verdadeiros revertentes (VARGAS et al., 1988, 1993, 1995 e 2001).

3.2.8 - Fração Microssomal S9 – sistema da ativação metabólica

A fração Microssomal (S-9 mix) utilizada no sistema de ativação metabólica foi adquirida da **Molecular Toxicology Incorporated, Annapolis, Maryland, USA** (MoltoxTM). Esta fração é preparada a partir de fígados de ratos machos Sprague Dawley tratados com Aroclor 1254 (mistura bifenil policlorinada-PCB), o qual induz um conjunto de enzimas do sistema Microssomal hepático. Os lotes de MoltoxTM S-9 são conservados em alíquotas de 2ml a -20°C.

A mistura de ativação (S9 mix) foi preparada imediatamente antes de cada experimento, segundo a técnica descrita por MARON e AMES (1983), sendo mantida em banho de gelo e ao abrigo da luz. Foi utilizada a S9 mix padrão, constituída de 4% de fração S9; 2% de MgCl₂-KCl (MgCl₂ 0,4M e KCl 1,65M); 0,5% de G-6-P 1M (Glicose-6-fosfato); 4% de NADP 0,1M; 50% de tampão fosfato de sódio 0,2M pH7,4; 39,5% de água destilada estéril.

3.2.9 - Interpretação e avaliação dos resultados

Os resultados do teste *Salmonella*/Microssoma foram apresentados como número de revertentes induzidos por ml equivalentes da amostra teste original. Este número foi obtido através da curva dose resposta com concentrações abaixo da faixa de toxicidade, eventualmente apresentada pela substância em estudo (MARON e AMES, 1983; MORTELMANS e ZEIGER, 2000).

Os dados obtidos foram analisados utilizando-se um programa denominado Salmonel, desenvolvido especificamente para análise estatística do teste *Salmonella*/Microssoma, o qual inclui análise de variância (ANOVA) e regressão linear. O programa foi elaborado pelo Dr. Myers e descrito em VARGAS (1992) e VARGAS et al., (1993, 1995, 2001).

Neste programa, os resultados das diferentes doses de uma substância são analisados numa seqüência de etapas, buscando ajuste ao modelo de regressão mais aceitável estatisticamente.

O programa Salmonel prevê que a relação dose-resposta destes ensaios, em qualquer das linhagens utilizadas ou condições de metabolização, pode ser enquadrada em pelo menos quatro um entre modelos de regressão:

- CONSTANTE $y=b$;
- LINEAR $y=bx+a$;
- LINTOX 1 (linear atenuado por toxicidade exponencial simples) $y= (bx+a)^{-T_1X}$;
- LINTOX 2 (linear atenuado por toxicidade exponencial elevada à segunda potência) $y=(ax+b)^{-T_2X^2}$.

Onde, (X) representa as doses testadas e (y) representa a média do número de revertentes por placa.

Quando os dados não se adaptam a nenhum dos modelos, o programa ainda utiliza como recurso uma variação do modelo linear, denominada truncagem tipo Bernstein (BERNSTEIN et al., 1982), que consiste em retirar da análise uma ou mais doses, usando somente os resultados compatíveis com o modelo linear.

Através desta análise pode-se obter os resultados das análises estatísticas, expressos em probabilidade (P) ou (p):

- Análise de variância entre as médias do número de revertentes nas diferentes doses testadas (teste F), onde valores de P menores ou iguais a 5% indicam diferenças significativas;
- Ajuste ao modelo mais aceitável: os valores de P indicam a probabilidade de ajuste ao modelo mais adequado. Quando estes valores são inferiores a 5%, o programa somente calcula a análise da variância;
- Cálculo da positividade da curva dose-resposta: os valores de P menores ou iguais a 5% indicam que existe inclinação positiva na origem da curva.

Quando ocorre análise de variância significativa entre as diferentes doses e inclinação positiva na origem da curva dose-resposta, pode-se levar em consideração outros parâmetros calculados pelo programa. A inclinação da reta na parte linear da curva dose-resposta fornece a estimativa do número de revertentes induzidos por quantidade de amostra testada (His^+ / μg de amostra). O programa estabelece ainda o erro padrão e o intervalo de confiança de 90% desta determinação.

Os resultados também foram expressos através do índice de mutagenicidade (IM), que é a razão entre o número de revertentes na placa-teste (revertentes induzidos + revertentes espontâneos) e o número de revertentes na placa-controle negativo (revertentes espontâneos).

Utilizando estes parâmetros considerou-se:

Resultado negativo: ocorre quando o número revertentes/placa do ensaio é similar ao número de revertentes/placa espontâneos.

Resultado positivo: quando simultaneamente obtem-se que o índice Mutagênico é \geq a 2, a curva dose-resposta é significativa (valor de p) e a diferença entre as médias dos revertentes/placa das diferentes doses (Anova) é significativa.

Indício de mutagenicidade: no caso de um dos requisitos anteriores não ser significativo

Resultado tóxico: quando índice mutagênico é inferior a 0,6 (definido pelo histórico do laboratório e em VARGAS et al. 1992, 1993 e 1995).

3.3 - Dosagem enzimática de pesticidas organofosforados e carbamatos

Para análise da presença de organofosforados e carbamatos, nas amostras de água, foi utilizado o ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), adaptado do método colorimétrico clássico descrito por ELLLMAN et al.,

(1961). Esta técnica é baseada na característica dos pesticidas organofosforados e carbamatos de inibirem a enzima acetilcolinesterase (CUNHA BASTOS, et al., 1991; LIMA et al., 1996; MOURA, 1998).

Inicialmente, foi realizado o procedimento de extração com solvente diclorometano (DCM; Merck). Aos tubos contendo alíquotas de 10 ml de amostras de água, adicionou-se 10 ml de DCM e agitou-se em agitador tipo vortex, por 2 minutos. Após a separação das fases, 5 ml do solvente (fase inferior) foram retirados com auxílio de uma seringa de vidro com agulha longa. O DCM foi evaporado em banho-maria a 50°C, em capela de exaustão sob corrente de ar. A seguir, adicionou-se aos tubos 0,5 ml da preparação enzimática de acetilcolinesterase, conforme indicado no “Kit” (item 3.3.1), e incubou-se durante 120 minutos, a 37°C. Após esse período de incubação, transferiu-se 50 µl dessa reação enzimática para outro tubo de ensaio e foram adicionados 0,5 ml de reativo de cor ditionitrobenzoato (DTNB) e 0,5 ml de solução de substrato da enzima (acetilcolina), para dar início a reação. O conteúdo do tubo foi homogeneizado e transferido imediatamente para a cubeta (com capacidade para 1 ml) do espectrofotômetro (Ultrospec III - Pharmacia). Em seguida, procedeu-se a leitura da absorbância a 412 nm, acompanhando o acréscimo a cada minuto, durante cinco minutos. O cálculo da percentagem da inibição da atividade da AchE foi determinado pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ de inibição} = 100 - \frac{(\Delta A_e \times 100)}{\Delta A_c}$$

Onde: ΔA_e : Acréscimo da absorbância por minuto do ensaio

ΔA_c : Acréscimo da absorbância por minuto do controle.

A percentagem da inibição da AchE, obtida a partir de padrões conhecidos de metil-paration, possibilita expressar os resultados da detecção de pesticidas organofosforados e carbamatos nas amostras de água em ppm de equivalentes de metil-paration.

3.3.1 - Sistema enzimático de acetilcolinesterase

O Kit enzimático foi adquirido do Departamento de Biologia Celular e Genética, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro/UERJ. O Kit é composto de: 1) um frasco com preparação enzimática liofilizada de acetilcolinesterase, obtida de cérebro de ratos Sprague Dawley, contendo tampão fosfato, detergente não iônico Triton X100 e conservante; 2) um frasco contendo reagente de cor ditionitrobenzoato (DTNB) 10 mM (4 mg/ml) em tampão fosfato; 3) um frasco com o substrato, iodeto de acetilcolina 25 mM (7,2 mg/ml) em água, dessecado, sob vácuo ou atmosfera de nitrogênio. A utilização do Kit foi feita conforme as recomendações do fabricante.

3.3.2 - Preparação da solução de metil-paration

A partir do produto comercial, o Folidol 600® (Bayer- 600.000 ppm de metil-paration), foi preparada uma solução em água cuja concentração foi de aproximadamente 50 ppm. A concentração real desta solução foi determinada através da formação de p-nitrofenol (ver item 3.3.3), após hidrólise do metil-paration. Confirmada a concentração, preparou-se soluções com concentrações finais de 5, 10, 20 e 40 ppb de metil-paration, para estabelecer a curva padrão de inibição da AchE.

3.3.3 - Método colorimétrico de titulação de metil-paration

O p-nitrofenol é um dos produtos da hidrólise do pesticida metil-paration em condições alcalinas e temperatura em torno de 100°C (SULTATOS, 1994). A concentração de p-nitrofenol foi determinada pela incubação da solução de metil-paration (aproximadamente 50ppm) e da solução padrão de p-nitrofenol (1mM), nas quais acrescentou-se 500µL de NaOH 5N, sendo o volume final ajustado a 5ml com tampão glicínia 60mM pH 10. Essas soluções foram incubadas a 100°C durante 20 min. O tubo branco, contendo, a solução de

metil-paration e o tampão, não foi submetido ao aquecimento. Após o resfriamento, a absorvância foi lida a 410nm e este valor foi relacionado diretamente com a absorvância da solução padrão de p-nitrofenol, para obter a concentração real do pesticida.

3.4 - Dosagem de Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos e de Pentaclorofenol

Foram seleccionados os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos Benzo[*a*]pireno e criseno juntamente com o pesticida pentaclorofenol para serem monitorados nas amostras. Para estas análises, as amostras foram submetidas a extração em fase sólida, seguida de análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS).

3.4.1 - Extração por Fase Sólida

O procedimento de extração em fase sólida foi realizado de acordo com o método 525.1 da EPA (EICHEMBERG, 1991), utilizando cartuchos Sep-Pak Vac (Waters), de capacidade 6ml e fase sólida C18 (GALASSI e BENFENATI, 2000).

A análise do pentaclorofenol por cromatografia gasosa apresenta melhor performance se o mesmo estiver derivatizado. Desta forma, foram adicionados 25 ml de anidrido acético tridestilado e 25 ml de K_2CO_4 em um litro de amostra, sob agitação por 15 minutos em agitador magnético.

Previamente a extração, ainda adicionou-se 5ml de metanol (Merck) à 1L de amostra sob agitação.

Para a extração em fase sólida foi utilizado um sistema confeccionado no próprio laboratório conforme descrito por PIZZOLATO (1997). O cartucho de Sep-Pak foi fixado em uma rolha de teflon encaixada em um kitazato pré-conectado a uma bomba de vácuo.

O cartucho foi ativado com dois volumes de 10 ml de DCM em um fluxo de médio de 10 ml/min, sendo que a cada volume adicionado, o cartucho foi levado até a secura. Após foram adicionados 10 ml de água Milli Q, tomando-se o cuidado de não deixar o cartucho secar, isto é, deixando-se uma fina camada de água na superfície da fase sólida do cartucho. Adicionou-se a amostra ao cartucho com um fluxo aproximado de 8,5 ml/min, tomando-se o cuidado de não deixar o cartucho secar. Após toda a amostra ter passado pelo cartucho, este foi lavado com 10 ml de água Milli Q, sendo o cartucho levado a secura sob vácuo por 10 minutos.

Os analitos foram eluídos com duas seqüências de 5 ml de DCM, utilizando-se vácuo contínuo. Para retirar toda a água remanescente passou-se o extrato por uma coluna (1,5 cm x 20 cm) de Na₂SO₄, previamente ativado por 2h a 300° C. Lavou-se a coluna com 8 ml de DCM, o qual foi unido ao extrato. Este foi concentrado ao volume de 1ml por evaporação em atmosfera de N₂ .

3.4.2 – Análise por GC-MS

A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas utiliza primeiramente a fissão das moléculas para posterior avaliação da relação massa/carga dos íons isolados, permitindo a detecção das substâncias. A análise por GC-MS foi realizada em um equipamento Varian, modelo Saturno 2000. Foi injetado 1,0 µL de amostra nas seguintes condições:

Coluna: DB-1 60 metros X 0,25mm X 0,25 µm

Modo Injeção - splitless;

Temperatura de injeção - 250°C; temperatura da linha de transferência - 300°C

Propagação da temperatura na coluna:

Temperatura inicial - 120°C; tempo inicial – 1 min; temperatura final - 300°C; tempo final – 15 min; Taxa de aquecimento - 6°C/min.

3.4.3 – Grupos Padrão

Com o objetivo de calibrar o equipamento foi preparada uma solução com 1 ppm de criseno (Fluka Chemika), benzo(a)pireno (Fluka Chemika) e pentaclorofenol (Fluka Chemika) em acetona (grau pesticida - Merck).

3.5 - Próton induced x-ray emission – PIXE

A detecção de elementos inorgânicos em amostras de água da bacia do Lago Guaíba foi realizada pela técnica nuclear de emissão de raio-X induzida por partículas (Figura 5) (MALMQUIST, 1990; KENNEDY et al., 1998 e 1999).

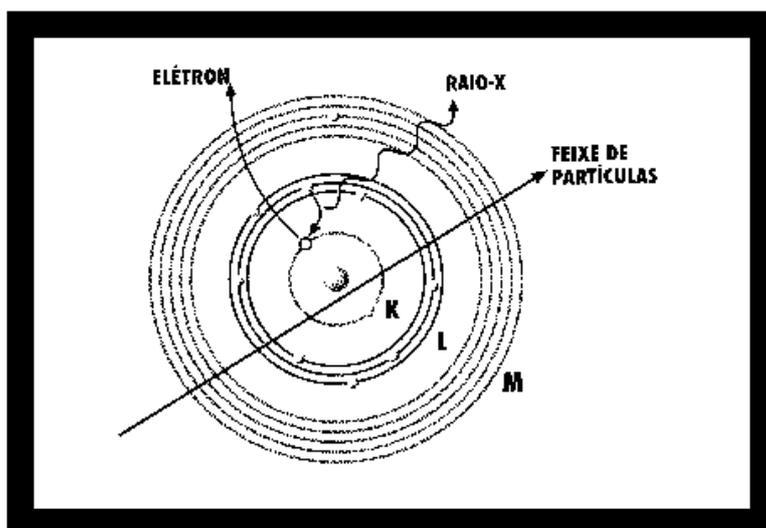


Figura 5 – Ilustração mostrando o princípio do funcionamento da técnica de PIXE. Um feixe de partículas (prótons) é aplicado sobre a amostra e provoca a remoção de elétrons de orbitais internos (elétrons de alta energia), deixando o átomo instável. Para retomar a estabilidade, ocorre a transição de elétrons de um orbital mais externo (menor energia). Este processo libera energia na forma de raio-X característico de cada átomo, que pode ser medido.

3.5.1 - Preparo da Amostra

As amostras de água foram filtradas a vácuo em filtros Millipore de éster de celulose com poros de 0,45 μ . A filtração foi realizada em sistema fechado com vácuo e os filtros secos em estufa a 50°C. Os cálculos das concentrações de metais foram realizados considerando o volume de amostra filtrado.

3.5.2 – Análise por PIXE

Para a determinação de metais utilizando-se a técnica PIXE, as membranas contendo as amostras foram irradiadas com um feixe de prótons de 2 Mev (megaeletronvolts) produzidos por um acelerador tipo Tandetron de 3 Mev. Os alvos foram irradiados com uma corrente média de 11 nA. Cada alvo foi exposto ao feixe de prótons durante um total de 1500 segundos, sendo que a posição de incidência do feixe foi trocada após os primeiros 1000 segundos para preservar a integridade da membrana. A carga total acumulada foi da ordem de 15 microcoulombs. Os raios-X foram detectados por um detector de germânio hiperpuro (modelo GLP da EG&G Ortec), com resolução de 170 eV a 5.9 keV. Os eventos foram coletados e digitalizados em um computador tipo PC. A análise quantitativa dos metais foi feita usando-se o programa GUPIX (CAMPBELL et al., 2000), desenvolvido na Universidade de Guelph (Canadá).

3.6 – Análise de correlação estatística

O método estatístico Análise Fatorial da Variância (para revisão, ver SILVA 1999) foi utilizado para avaliar as possíveis correlações entre o índice mutagênico das linhagens TA100 e TA98, a época de coleta, o local de coleta e a presença e ausência de S9. Este método permite a análise de mais de um fator, ao mesmo tempo, em uma população. Tem a vantagem da análise ser realizada em um único experimento, não sendo necessária uma análise

ANOVA para cada fator, o que economiza principalmente tempo. Ainda pode ser testada a interação entre os fatores. Correlações significantes, apresentam um valor de p inferior a 0,05.

A Correlação para Postos de Spearman (para revisão, ver SILVA 1999) foi aplicada na análise dos índices mutagênicos encontrados nas linhagens TA98 e TA100, em presença e ausência de ativação metabólica, considerando os resultados das detecções de poluentes nas duas épocas de coleta, independentemente do local. É uma técnica não paramétrica, que se destina especificamente a medir o grau de relação entre duas variáveis, quando os valores já se apresentam ou podem ser convertidos em forma de classificação ordinal. Este coeficiente varia entre -1 (correlação perfeita negativa) e $+1$ (correlação perfeita positiva), passando por 0 (ausência de correlação).

As análises foram realizadas utilizando o programa SPSS/PC[®]/versão 98.

4 - Resultados

4.1 – Determinação de parâmetros físico-químicos das amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba.

No final dos meses de março e setembro de 2000, foram coletadas amostras de água superficial do Lago Guaíba, e dos rios Gravataí, Sinos, Caí, Jacuí, Taquarí e do arroio Dilúvio. As coletas foram realizadas na mesma ordem, com o objetivo de que cada amostra fosse coletada no mesmo horário, buscando eliminar possíveis influências que possam alterar os resultados ao longo do dia (por exemplo, refluxo das águas do Lago Guaíba para os rios). No momento da coleta, foram medidos alguns parâmetros físico-químicos apresentados na Tabela 7. Os valores de pH, temperaturas do ar e da água permaneceram aproximadamente constantes entre os locais e as épocas de coleta. A condutividade apresentou um decréscimo de seus valores da primeira para a segunda coleta. De forma contrária, o oxigênio dissolvido teve um acréscimo da primeira para a segunda coleta. Ainda pode-se observar na Tabela 7 oscilações nos valores destes dois parâmetros entre os diferentes locais de coleta.

Tabela 7 - Parâmetros físico-químicos das amostras de água superficial coletadas na bacia do Lago Guaíba.

Locais de coleta	Arroio Dilúvio		L. Guaíba após dilúvio		L. Guaíba ponta do delta		Rio Gravataí		Rio dos Sinos		Rio Caí		Rio Jacuí		Rio Taquarí-Antas	
Latitude Sul	ND ^a		3005210		3003475		2996783		2987848		2989058		0429052		0429100	
Longitude Oeste	ND		05124764		05124303		05118616		05124553		0518211943		6685157		6688575	
Coleta	1 ^b	2 ^c	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Parâmetros																
Dia	29/3	27/9	28/3	26/9	28/3	26/9	28/3	26/9	28/3	26/9	28/3	26/9	29/3	27/9	29/3	27/9
Hora	13:50	14:55	8:15	9:30	8:33	10:00	9:13	10:55	10:00	11:40	11:15	12:45	9:28	10:15	9:55	10:45
pH	7.01	6.84	6.63	6.63	6.63	6.83	6.83	6.29	6.78	6.42	7.05	6.92	6.71	6.2	6.77	6.92
Temperatura do Ar (°C)	22.1	20.8	17.2	11.3	17.2	11.3	16	12.4	18	14.7	19.1	17.8	17.5	15	16.9	16.7
Temperatura da Água (°C)	21.3	20.2	23.7	17.9	23	17.8	22.2	16.9	22.4	16.8	24	15	21.4	16.6	22.8	16.2
Condutividade (µS/cm)	449	317	84	48	83.1	60.1	368	72.5	246	75.4	145.9	57.9	64.7	38.9	64.1	42.4
Oxigênio dissolvido(mg/l)	0.9	3.8	6.1	7.3	6.3	7.4	0	4.6	ND	4.7	5.4	7.6	8.3	6.1	7.9	8.6

^a Não determinado; ^b Referente a coleta de março; ^c Referente a coleta de setembro.

4.2 – Avaliação do potencial mutagênico pelo ensaio *Salmonella*/Microsoma das amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba.

A determinação do potencial genotóxico das amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba pelo ensaio *Salmonella*/Microsoma foi realizada por método direto. As amostras não foram concentradas a fim de prevenir perdas ou alterações de substâncias presentes (VARGAS et al., 1993; 1995; 2001).

Para a interpretação dos resultados do ensaio *Salmonella*/Microsoma foram utilizados os seguintes critérios:

- Resultado positivo – quando a média de revertentes de pelo menos uma dose da amostra foi no mínimo o dobro da média de revertentes observada no controle negativo ($IM \geq 2$) e a avaliação estatística demonstrou resposta significativa ($P \leq 5\%$) na análise da variância e correlação dose-resposta positiva ($P \leq 5\%$);
- Índice de mutagenicidade – teste em que a indução de atividade mutagênica não foi satisfeita em um dos critérios a seguir: 1) atingir o dobro da média de revertentes observada no controle negativo ($IM \geq 2$); 2) apresentar resposta significativa ($P \leq 5\%$) na análise de variância; 3) correlação dose-resposta positiva ($P \leq 5\%$);
- Resultado negativo – quando dois ou mais dos critérios citados acima (item de índices de mutagenicidade) não foram satisfeitos.
- Resultado tóxico – teste que apresenta o índice mutagenicidade inferior a 60% ($IM \leq 0,6$).

As Tabelas 8 e 9 mostram os resultados de mutagenicidade, pelo teste *Salmonella*/Microsoma, das amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba, frente as linhagens TA100 e TA98, em presença e ausência de

ativação metabólica. As curvas dose-resposta foram avaliadas estatisticamente no programa Statistic Salmonel (descrito em VARGAS et al., 1988; 1993). Os resultados obtidos em cada análise estão apresentados no Anexo 2. Apenas a amostra da segunda coleta do Lago Guaíba, após o Dilúvio, foi capaz de induzir resposta mutagênica positiva frente a linhagem TA98, na presença de S9. O pico de indução mutagênica se deu na concentração de 200 μ l/ placa (IM = 2,9), decaindo nas concentrações superiores. Este resultado sugere a presença de agentes mutagênicos indiretos, que causam mutações do tipo deslocamento no quadro de leitura (*frameshift mutation*) (Tabela 9 e Anexo 2).

Foram constatados 5 amostras com indícios de mutagenicidade, sendo um na primeira coleta, no Lago Guaíba após o Dilúvio na linhagem TA100 em presença de ativação metabólica (Tabela 8) e quatro em amostras da segunda coleta: no rio dos Sinos, frente a linhagem TA100, sem metabolização; no rio Caí, com a TA100 e TA98, ambas na presença de ativação metabólica; e no rio Jacuí, frente a TA100, também na presença de S9 (Tabela 9). Ressalta-se que a amostra do Lago Guaíba após o Dilúvio foi a única que apresentou indício de mutagenicidade na coleta de março e resposta positiva em coleta de setembro, embora com linhagens diferentes. Ambos os casos foram em presença de metabolização.

Os indícios de mutagenicidade, juntamente com o resultado positivo, totalizam 6 testes, que equivalem a 8,33% do total (72) dos testes, sendo a maioria deles relacionados a linhagem TA100, na presença de ativação metabólica. Este resultado indica preferencialmente a presença de compostos que agem indiretamente no DNA, induzindo mutações por substituições em pares de bases (Tabelas 8 e 9). O conjunto de respostas tóxicas encontradas (sete; Tabelas 8 e 9) equivale a cerca de 10% do total de amostras analisadas e estão distribuídas, entre as duas linhagens, em presença e ausência de metabolização. Ao contrário do observado para os indícios de mutagenicidade, as respostas tóxicas estão concentradas na primeira coleta, nas amostras do arroio Dilúvio, do Lago Guaíba em frente ao

Tabela 8 - Resposta da atividade mutagênica pelo teste Salmonella/Microsoma das amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba referentes a primeira coleta, frente as linhagens TA100 e TA98, na presença e ausência de ativação metabólica.

Local ^a	μl/p ^b	TA 98										TA100									
		Sem ativação metabólica					Com ativação metabólica					Sem ativação metabólica					Com ativação metabólica				
		his+/p ^c	DP ^d	IM ^e	M ^f	T ^g	his+/p	DP	IM	M	T	his+/p	DP	IM	M	T	his+/p	DP	IM	M	T
Dilúvio	100	15,6	4.62	1,24			21	3.61	1,19			154	6.56	1,06			116,6	8.96	0,83		
	200	11	1.00	0,87			17,33	6.51	0,98			170	16.82	1,17			137,66	10.79	0,98		
	500	14	1.73	1,11			26	11.27	1,47			171,33	12.42	1,18			84	6.08	0,60		
	1000	10,3	3.21	0,82			20	2.65	1,13			146	8.49	1,02			92,66	18.45	0,66		
	2000	9,6	5.51	0,76			24,66	5.51	1,39			175,33	30.24	1,20			69,33	14.19	0,49		
		Resultado				-	-	Resultado			-	-	Resultado			-	-	Resultado			-
Guaíba Após o Dilúvio	100	13	5.20	1,05			27,66	6.66	0,88			84,33	8.08	1,04			92,66	9.50	1,26		
	200	12	3.46	0,97			37,66	1.15	1,20			95,33	1.15	1,20			90	14.4	1,23		
	500	11,66	2.08	1,02			22	2.00	0,70			79,33	14.6	0,97			81,33	3.79	1,11		
	1000	12	2.65	0,97			23,33	8.02	0,74			78,33	4.16	0,96			103,66	18.6	1,42		
	2000	6,66	1.15	0,54			27,66	9.81	0,88			81	4.00	1,00			59,66	15.5	0,81		
		Resultado				-	+	Resultado			-	-	Resultado			-	-	Resultado			+/-
Guaíba Ponta do Delta	100	16	3.00	0,87			21	4.36	0,67			112	8.72	1,08			106,33	8.33	0,88		
	200	17,5	2.12	0,95			32	9.9	1,03			114	11.8	1,10			120,3	7.37	1,00		
	500	21	5.57	1,14			24	3.0	0,77			97	6.56	0,94			104,66	10.7	0,86		
	1000	10	6.93	0,54			25	5.0	0,80			102,66	16.6	0,99			107,66	2.08	0,89		
	2000	8	3.00	0,44			24,33	2.31	0,78			98	4.36	0,95			88,66	16.2	0,73		
		Resultado				-	+	Resultado			-	-	Resultado			-	-	Resultado			-
Gravataí	100	15	2.65	1,32			17,66	5.86	0,63			110,33	20.1	0,97			113	25.1	0,98		
	200	22	9.85	1,94			29,66	10.8	1,07			117,33	5.69	1,03			105,3	27.5	0,91		
	500	15	5.29	1,32			30	1.00	1,08			93,33	5.13	0,82			96	17.0	0,83		
	1000	14,33	1.15	1,26			27	11.8	0,97			106,33	12.5	0,93			87	2.83	0,76		
	2000	16,66	5.03	1,47			33,33	7.37	1,20			110,66	23.5	0,97			63,66	44.7	0,55		
		Resultado				-	-	Resultado			-	-	Resultado			-	-	Resultado			-

Continuação da Tabela 8.

		TA 98										TA100										
		Sem ativação metabólica					Com ativação metabólica					Sem ativação metabólica					Com ativação metabólica					
Local ^a	μ/p^b	his+/p ^c	DP ^d	IM ^e	M ^f	T ^g	his+/p	DP	IM	M	T	his+/p	DP	IM	M	T	his+/p	DP	IM	M	T	
Sinos	100	13	2.00	1,03			50,33	5.77	1,07			68,66	17.6	0,83			99,66	26.6	1,11			
	200	14	1.00	1,11			56,33	7.09	0,95			83,33	21.8	1,01			116	17.5	1,29			
	500	12	4.36	0,95			49,66	5.86	1,08			86,33	3.51	1,04			109,3	27.6	1,22			
	1000	8,6	4.04	0,68			52,66	4.16	1,02			77	25.2	0,93			97,6	21.5	1,09			
	2000	12	5.66	0,95			54,66	8.39	0,98			60,66	8.50	0,73			102	25.2	1,14			
		Resultado				-	-	Resultado				-	-	Resultado				Resultado				-
Cai	100	12	6.24	0,73			20,33	5.77	0,90			124,6	17.2	0,87			96,6	26.5	0,90			
	200	17	7.07	1,04			17,66	8.08	0,77			160	13.9	1,12			96,6	39.9	0,90			
	500	8,66	5.13	0,53			22,	6.00	0,97			130	0.00	0,91			108	15.1	1,01			
	1000	14,33	3.21	0,88			18,	0.00	0,79			144	10.4	1,00			110	18.0	1,03			
	2000	11,33	3.51	0,69			18,66	12.3	0,82			147,3	25.3	1,03			136	54.4	1,27			
		Resultado				-	-	Resultado				-	-	Resultado				Resultado				-
Jacuí	100	8,66	1.58	0,70			48,66	4.04	0,89			80	7.94	1,03			105	16.00	1,12			
	200	17	4.36	1,37			44,66	2.31	0,82			80,66	1.53	1,02			93	17.35	0,99			
	500	11,33	1.53	0,91			49,33	4.04	0,90			87,66	6.51	1,11			83,66	14.57	0,89			
	1000	10	3.00	0,81			55	3.61	1,01			69,66	8.62	0,88			89,66	10.79	0,95			
	2000	8	5.29	0,64			44,33	11.15	0,81			57,66	3.06	0,73			68,66	12.50	0,73			
		Resultado				-	-	Resultado				-	-	Resultado				Resultado				-
Taquarí	100	18,33	6.11	1,61			49,33	5.77	0,83			80	2.00	1,23			90,33	14.57	0,73			
	200	14	3.00	1,23			62	10.39	1,04			61,33	7.51	0,94			110	19.16	0,89			
	500	16	1.73	1,41			52	7.94	0,87			55	15.87	0,85			52	5.57	0,42			
	1000	12,66	2.08	1,11			60,33	5.51	1,02			68	1.73	1,05			82,33	23.46	0,66			
	2000	10	3.46	0,88			47,33	6.81	0,80			72,66	18.50	1,12			32,33	4.62	0,26			
		Resultado				-	-	Resultado				-	-	Resultado				Resultado				-

^a Local de coleta; ^b Concentração de amostra μl / placa; ^c Número de revertentes (his+) por placa; ^d Desvio padrão; ^e Índice mutagênico; ^f Potencial mutagênico: + positivo, +/- indicio de mutagenicidade, - negativo; ^g Toxicidade: + amostra tóxica, - amostra não tóxica; boxe – resultados significativos.

Continuação da tabela 9

		TA 98							TA 100													
		Sem ativação metabólica				Com ativação metabólica			Sem ativação metabólica				Com ativação metabólica									
Local ^a	μl/p ^b	his+/p ^c	DP ^d	IM ^e	M ^f	T ^g	his+/p	DP	IM	M	T	his+/p	DP	IM	M	T	his+/p	DP	IM	M	T	
Sinos	100	8,33	1.15	0,55			64	24.02	1,04			93,33	18.88	1,00			171,33	7.51	1,09			
	200	15,33	4.16	1,02			63,3	9.29	1,03			109	19.05	1,17			171	32.53	1,09			
	500	11,66	4.04	0,77			33	8.19	0,54			124,66	17.47	1,34			151	8.89	0,96			
	1000	9,33	1.53	0,62			36,6	2.31	0,60			116	13.53	1,25			146,66	20.82	0,93			
	2000	9	1.41	0,60			43,3	3.21	0,71			77,66	8.14	0,83			229	27.84	1,46			
		Resultado				-	-	Resultado					Resultado			+/-	-	Resultado				-
Cai	100	13,33	3.79	0,93			42	10.54	1,31			90	16.37	1,20			158,33	14.57	1,14			
	200	14,33	7.09	1,00			58,6	0.58	1,83			71,66	17.21	0,95			226	17.32	1,63			
	500	13,66	1.53	0,93			55,3	5.51	1,73			81,66	8.14	1,09			164	18.33	1,18			
	1000	13,66	4.04	0,93			39	7.55	1,22			68	29.05	0,91			155	31.11	1,12			
	2000	16,33	3.51	1,13			52	2.65	1,63			72,66	9.07	0,97			225	19.31	1,63			
		Resultado				-	-	Resultado				+/-	-	Resultado		-	-	Resultado				+/-
Jacuí	100	19	1.00	1,21			54	14.00	1,24			110	9.17	0,74			135,33	22.30	0,94			
	200	19,33	7.57	1,23			65	16.46	1,49			119,66	12.90	0,81			182,66	11.72	1,27			
	500	16,5	3.54	1,05			55,6	42.22	1,28			107,66	13.58	0,72			180,66	21.57	1,25			
	1000	14,33	5.13	0,91			40,3	6.51	0,92			102,66	4.04	0,69			181,66	15.57	1,26			
	2000	16	6.93	1,02			46,3	6.46	1,06			121,66	13.05	0,82			215	28.51	1,49			
		Resultado				-	-	Resultado				-	-	Resultado		-	-	Resultado				+/-
Taquarí	100	12	7.07	0,58			65,6	12.58	0,99			101,33	14.05	1,09			161	29.70	1,12			
	200	19,66	3.51	0,95			70	14.93	1,06			110,66	13.32	1,19			164	23.07	1,14			
	500	23	5.29	1,12			59	20.42	0,89			108	8.00	1,16			152,66	16.77	1,06			
	1000	15,66	2.52	0,76			39,3	15.04	0,59			99	7.21	1,06			174	11.79	1,20			
	2000	17,66	2.52	0,86			53,6	12.74	0,81			103,33	18.77	1,11			176	61.58	1,22			
		Resultado				-	-	Resultado				-	-	Resultado		-	-	Resultado				-

^a Local de coleta; ^b Concentração de amostra μl / placa; ^c Número de revertentes (his+) por placa; ^d Desvio padrão; ^e Índice mutagênico; ^f Potencial mutagênico: + positivo, +/- indicio de mutagenicidade, - negativo; ^g Toxicidade: + amostra tóxica, - amostra não tóxica boxe – resultados significativos.

arroio Dilúvio, do Lago Guaíba na ponta inferior do delta do Jacuí, do Gravataí e do Taquarí. Na segunda coleta foram detectados apenas dois resultados tóxicos (arroio Dilúvio e Lago Guaíba em frente ao arroio Dilúvio), que correspondem a amostras que apresentaram toxicidade em ambas as coletas.

4.3 - Detecção de contaminantes químicos nas amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba.

Os resultados das análises de detecção de pesticidas organofosforados e carbamatos por metodologia enzimática, e de criseno, benzo[a]pireno e pentaclorofenol por GC-MS, estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Resultados da análise de organofosforados, carbamatos, pentaclorofenol, criseno e benzo[a]pireno em amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba.

Amostras	1 ^a Coleta		2 ^a Coleta	
	HAP ^a e PCP	EMP ^b (ppb ^c)	HAP e PCP	EMP (ppb)
Foz Arroio Diluvio	ND ^d	ND	ND	<5
Guaíba – saída dilúvio	ND	ND	ND	ND
Guaíba – ponta do delta	ND	5	ND	<5
Foz Rio Gravataí	ND	10	ND	ND
Foz Rio dos Sinos	ND	ND	ND	<5
Foz Rio Caí	ND	ND	ND	<5
Rio Jacuí	ND	<5	ND	ND
Foz Rio Taquarí	ND	ND	ND	ND
Controle água desmi	ND	ND	ND	ND

^a Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (criseno e benzo[a]pireno) e pentaclorofenol; ^bEquivalentes de metil-paration; ^c Partes por bilhão (µg/l); ^d Não detectado.

Traços de pesticidas organofosforados e carbamatos foram detectados em cinco amostras, tanto na primeira (Lago Guaíba ponta inferior do delta do Jacuí) como na segunda coleta (Dilúvio, Guaíba ponta inferior do delta do Jacuí, Sinos e Cai). A amostra do rio Gravataí, coletada no mês de março, foi a única que apresentou quantidade de pesticidas (10 ppb) igual ao limite máximo em equivalentes de metil-paration permitido pela resolução número 20 do CONAMA (Tabela 10). Este resultado não se repetiu em setembro provavelmente devido ao fato da grande quantidade de chuva neste período ter diluído os compostos neste rio mais do que nos outros, pois o Gravataí é alimentado por banhados, o que também pode ser observado nos resultados de condutividade (tabela 7)

Nas amostras de água superficial analisadas, não foi constatada a presença dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos criseno e benzo[a]pireno e do pesticida pentaclorofenol (Tabela 10, Anexo 3).

A presença de elementos inorgânicos foi avaliada pelo método de PIXE pelo qual é possível detectar a presença de qualquer elemento químico presente na amostra com massa maior que a do alumínio ($Z=13$). As amostras apresentaram um comportamento muito similar no que se refere a presença de elementos inorgânicos. Em todos os pontos de coleta, em ambas as amostragens, foram detectados Si, S, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn e Zr e na maior parte das amostras também estavam presentes Ni, Rb, Sr e alguns indícios de Al e Pb. Com rara freqüência ainda foram encontrados Re, Au, Hg. A grande maioria dos elementos foi detectado em maior concentração na segunda coleta em relação a primeira (Tabelas 11, 12, 13 e Anexo 4).

Embora uma gama de elementos seja detectada pelo método de PIXE, somente uma parte é controlada pela resolução número 20 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), que classifica as águas do território nacional especificando parâmetros e limites associados aos níveis de qualidade requeridos para o uso ao qual se destinam (ver item 1.3.3). As tabelas 11 e 12 apresentam uma comparação entre os valores estabelecidos pela resolução número 20 do CONAMA e os encontrados nas amostras dos

Tabela 11 – Elementos inorgânicos, controlados pelo CONAMA classe 2, encontrados nas amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba em ambas as coletas.

Locais de Coleta		Elementos inorgânicos (mg/l)									
		Al	S	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Pb
Caí	1 ^a	34,86^e	0,0074	0,0022	0,002	0,7008	0,0061	0,0006	0,0005	0,0008	ND ^c
	2 ^b	73,703	0,0063	0,005	0,0702	2,4224	0,0234	0,0017	0,002	0,0037	0,0008
Jacuí	1	69,848	0,0037	0,0014	0,0033	0,8676	0,0082	0,0003	0,0008	0,0023	0,0008
	2	116,99	0,0065	0,0035	0,0062	1,9858	0,0197	0,0008	0,0016	0,0061	0,0017
Taquarí	1	38,296	0,0091	0,001	0,0023	0,7826	0,0067	0,0003	0,0008	0,0013	0,0007
	2	69,399	0,0063	0,0022	0,0061	2,1314	0,0199	0,0004	0,0027	0,0032	0,0007
CONAMA Classe 2 ^d		0.1	0.002	0.05 ^f	0.1	0.3	0.2	0.025	0.02	0.18	0.03

^a Relativo a primeira coleta; ^b Relativo a segunda coleta; ^c Não detectado; ^d Valores máximos permitidos pela resolução número 20 do Conselho Nacional do Meio Ambiente para classe 2; ^e Valores sublinhados - superiores ao estabelecido pelo CONAMA; ^f Referente a cromo VI.

Tabela 12 – Elementos inorgânicos, controlados pelo CONAMA classe 4, encontrados nas amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba em ambas as coletas.

Locais de Coleta		Elementos inorgânicos (mg/l)									
		Al	S	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Pb
Guaíba	1 ^a	ND ^c	0,005 ^e	0,0016	0,0024	0,947	0,0104	0,0004	0,001	0,0022	0,0004
	Dilúvio 2 ^b	101,65	0,0185	0,0038	0,0075	2,3837	0,0214	0,0011	0,0021	0,0046	0,0016
Guaíba delta	1	ND	0,0059	0,0015	0,0023	0,8499	0,0093	0,0004	0,001	0,002	0,0004
	2	95,38^e	0,01	0,0047	0,0076	2,403	0,0234	0,0013	0,0018	0,0054	0,0017
Gravataí	1	86,539	0,0534	0,0028	0,0034	0,993	0,0093	0,0004	0,0011	0,0013	0,0012
	2	108,60	0,0156	0,0039	0,0056	1,6409	0,0165	0,0004	0,0013	0,0037	0,0016
Sinos	1	21,548	0,0123	0,002	0,0009	0,3531	0,0031	0,0001	0,0003	0,001	ND
	2	81,386	0,0102	0,0052	0,0046	0,9149	0,0155	0,0009	0,001	0,0033	0,0011
Dilúvio	1	35,941	0,059	0,0004	0,0015	0,3687	0,0036	ND	0,0003	0,0011	ND
	2	46,016	0,0391	0,0011	0,0021	0,661	0,0058	ND	0,0004	0,0024	0,0005
CONAMA Classe 4 ^d		0.1	0.3	0.05 ^f	0.5	5	0.2	0.025	0.5	5	0.05

^d Valores máximos permitidos pela resolução número 20 do Conselho Nacional do Meio Ambiente para classe 4; demais superscritos como na legenda da Tabela 13.

rios da bacia do Lago Guaíba que se enquadram na classe 2 (Tabela 11) e na classe 4 (Tabela 12). O Alumínio foi detectado em níveis acima do limite em todos os locais de coleta em ambas as coletas, estando presente nas amostras do Lago Guaíba apenas na segunda coleta. Os elementos Enxofre e o Ferro também foram encontrados em valores superiores ao estabelecido pela resolução número 20 do CONAMA, nas amostras dos rios Caí, Jacuí e Taquarí, em ambas as coletas

Como muitos dos elementos detectados nas amostras da bacia do Lago Guaíba não são controlados pela resolução 20 do CONAMA, buscou-se outros parâmetros que permitissem uma melhor análise dos resultados encontrados. Em estudo relatado por PAIS e JONES Jr (1997) foram definidos valores médios nos quais elementos traço costumam estar presentes em águas naturais (não sendo considerados corpos d'água altamente poluídos). A tabela 13 apresenta uma comparação entre os valores presentes nesta lista e os encontrados nas amostras de águas superficiais da bacia do Guaíba. O Gálio e o Cobalto apresentaram-se superiores a média em todos os locais, nas duas coletas. O Alumínio, Níquel, Ferro, Cromo e Rubídio apresentaram valores acima da média em todas as amostras da segunda coleta, e na maioria da primeira. Valores altos de Tálcio foram encontrados no Taquarí em ambas as coletas, e na segunda coleta no Guaíba, Gravataí e Sinos. Manganês e Zinco também apresentaram quantidades acima da média em algumas amostras da segunda coleta. De forma isolada ainda pode-se salientar os valores altos do Ouro na primeira coleta do Lago Guaíba após Dilúvio, e de Mercúrio, na primeira coleta do Rio dos Sinos.

Os valores dos elementos detectados, para os quais não foram encontrados parâmetros de comparação, estão apresentados no Anexo 4.

Tabela 13 – Elementos inorgânicos, parte do conteúdo médio permanente de águas naturais, encontrados nas amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba, em ambas as coletas.

Locais de Coleta	Elementos inorgânicos (mg/l)										
	Al	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Rb	Sr	Pb
Dilúvio ^b 1 ^c	35,94 ^g	0,0004	0,0015	0,3687	<u>0,0036</u>	ND	0,0003	0,0011	<u>0,002</u>	0,0007	ND
2 ^d	46,016	0,0011	0,0021	<u>0,661</u>	<u>0,0058</u>	ND	0,0004	0,0024	<u>0,0022</u>	0,0005	0,0005
Guaíba 1	ND ^e	<u>0,0016</u>	0,0024	0,947	<u>0,0104</u>	<u>0,0004</u>	0,001	0,0022	<u>0,0026</u>	0,001	0,0004
Dilúvio 2	<u>101,65</u>	<u>0,0038</u>	<u>0,0075</u>	<u>2,3837</u>	<u>0,0214</u>	<u>0,0011</u>	0,0021	0,0046	<u>0,0032</u>	0,0027	0,0016
Guaíba 1	ND	<u>0,0015</u>	0,0023	<u>0,8499</u>	<u>0,0093</u>	<u>0,0004</u>	0,001	0,002	<u>0,0019</u>	0,0006	0,0004
delta 2	<u>95,38</u>	<u>0,0047</u>	<u>0,0076</u>	<u>2,403</u>	<u>0,0234</u>	<u>0,0013</u>	0,0018	<u>0,0054</u>	<u>0,0031</u>	0,002	0,0017
Gravataí 1	<u>86,539</u>	<u>0,0028</u>	0,0034	<u>0,993</u>	<u>0,0093</u>	<u>0,0004</u>	0,0011	0,0013	<u>0,003</u>	0,0017	0,0012
2	<u>108,60</u>	<u>0,0039</u>	<u>0,0056</u>	<u>1,6409</u>	<u>0,0165</u>	<u>0,0004</u>	0,0013	0,0037	<u>0,0033</u>	0,0029	0,0016
Sinos 1	<u>21,548</u>	<u>0,002</u>	0,0009	0,3531	0,0031	0,0001	0,0003	0,001	<u>0,0003</u>	ND	ND
2	<u>81,386</u>	<u>0,0052</u>	0,0046	<u>0,9149</u>	<u>0,0155</u>	<u>0,0009</u>	0,001	0,0033	<u>0,0019</u>	0,0019	0,0011
Caí 1	<u>34,86</u>	<u>0,0022</u>	0,002	<u>0,7008</u>	<u>0,0061</u>	<u>0,0006</u>	0,0005	0,0008	0,001	0,0003	ND
2	<u>73,703</u>	<u>0,005</u>	<u>0,0702</u>	<u>2,4224</u>	<u>0,0234</u>	<u>0,0017</u>	0,002	0,0037	<u>0,0027</u>	0,0012	0,0008
Jacuí 1	<u>69,848</u>	<u>0,0014</u>	0,0033	<u>0,8676</u>	<u>0,0082</u>	0,0003	0,0008	0,0023	<u>0,0018</u>	0,0009	0,0008
2	<u>116,99</u>	<u>0,0035</u>	<u>0,0062</u>	<u>1,9858</u>	<u>0,0197</u>	<u>0,0008</u>	0,0016	<u>0,0061</u>	<u>0,0071</u>	0,0029	0,0017
Taquarí 1	<u>38,296</u>	0,001	0,0023	<u>0,7826</u>	<u>0,0067</u>	0,0003	0,0008	0,0013	ND	0,0005	0,0007
2	<u>69,399</u>	<u>0,0022</u>	<u>0,0061</u>	<u>2,1314</u>	<u>0,0199</u>	<u>0,0004</u>	0,0027	0,0032	<u>0,0034</u>	0,0016	0,0007
Águas Naturais ^f	0,2	0,001	0,005	0,5	0,0005	0,0003	0,003	0,005	0,001	0,05	0,003

^a Relativo a primeira coleta; ^b Relativo a segunda coleta; ^c Não detectado; ^d Média do conteúdo permanente de elementos inorgânicos em águas naturais (PAIS e JONES Jr, 1997); ^e Valores sublinhados - superiores a média.

4.4 – Análise de correlação entre os ensaios de genotoxicidade e de detecção química.

As possíveis correlações entre época e local de coleta, e os índices de mutagenicidade da maior concentração de amostra (2000 μ l/placa) em presença e ausência de ativação metabólica, obtidos frente as linhagens TA100 e TA98, foram avaliadas através da Análise Fatorial da Variância (Anexo 5).

A figura 6 apresenta a variação do índice mutagênico na TA98 (média com e sem S9) nos diferentes locais de coleta, influenciado pela época do ano. Esta correlação apresentou significância estatística ($p < 0,05$), conforme apresentado no Anexo 5. Este resultado sugere que a presença, a ação e/ou a concentração de substâncias que causam defasagem no quadro de leitura (TA98) nos diferentes locais varia nas duas épocas do ano analisadas.

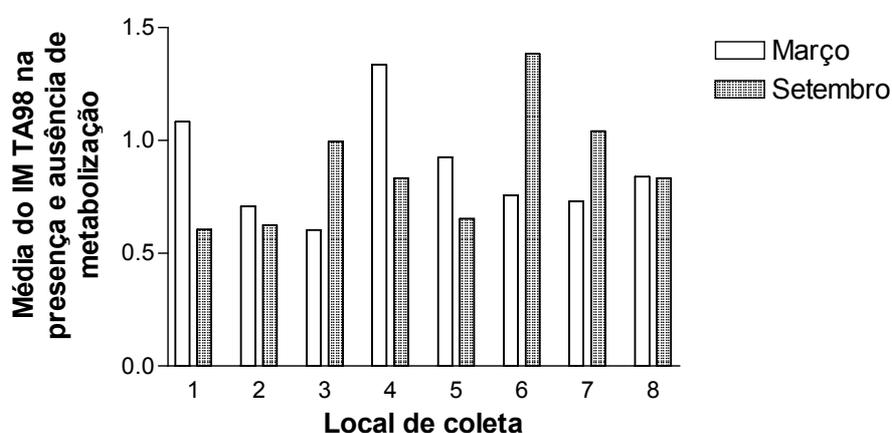
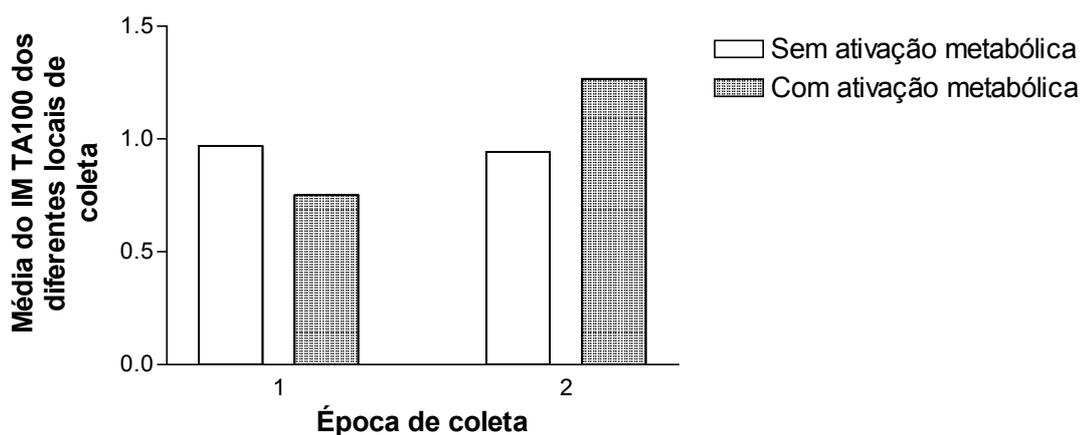


Figura 6 – Correlação entre local de coleta e a média dos índices de mutagenicidade na presença e ausência de metabolização para a concentração mais alta da amostra, para a linhagem TA98, nas diferentes épocas de coleta Locais de coleta: 1 – Arroio Dilúvio; 2 – Lago Guaíba após Dilúvio; 3 – Lago Guaíba ponta inferior do delta do Jacuí; 4 – Rio Gravataí; 5 – Rio dos Sinos; 6 – Rio Caí; 7 – Rio Jacuí; 8 – Rio Taquarí.

Na figura 7 pode se verificar a influência da ativação metabólica sobre os resultados de índice mutagênico da TA100 nas diferentes épocas (7A) e locais (7B) de coleta. Isto evidencia que a ação de mutágenos que causam substituição nos pares de bases do DNA (TA100) é influenciada pela presença e ausência de metabolização nos diferentes locais e épocas.

A



B

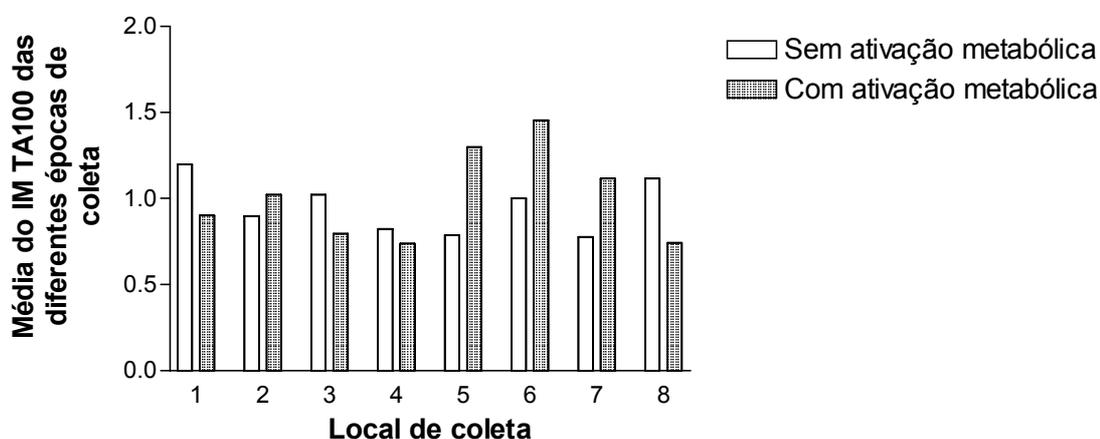


Figura 7 - Correlação entre época (A) e local (B) de coleta e as médias dos índices de mutagenicidade para a concentração mais alta da amostra, para a linhagem TA100, na presença ou ausência de ativação metabólica. Época de coleta: 1 - março de 2000, 2 - setembro de 2000; Locais de Coleta: mesmos definidos na fig.6.

Na avaliação da correlação entre os resultados do teste *Salmonella*/Microsoma e as detecções químicas foi utilizado o Coeficiente de Correlação para Postos de Spearman. As correlações significativas são apresentadas nas tabelas 14 e 15 (O Anexo 6 apresenta todas as correlações). Na primeira coleta (Tabela 14), foi possível observar uma correlação positiva entre os índices de mutagenicidade da TA98, na presença de S9, e os de condutividade. Já, os valores de oxigênio dissolvido apresentaram correlação negativa com os índices de mutagênese desta mesma linhagem (TA98 com S9). Ainda foi detectada correlação positiva entre os índices mutagênicos da TA 98 com ativação metabólica, e a presença de Cálcio, podendo o Ca estar correlacionado ao aumento da condutividade. Na segunda coleta (Tabela 15) foram encontradas sete correlações, todas negativas. Cinco delas foram entre os resultados de mutagenicidade para a linhagem TA100 na ausência da ativação metabólica, com níveis de Alumínio, Silício, Gálio, Estrôncio e Zircônio. Outra foi entre os índices mutagênicos da linhagem TA 100, com ativação metabólica, e níveis de Bromo, e a última entre a TA98, com ativação metabólica, e Enxofre. A Tabela 16 apresenta um resumo das correlações encontradas indicando apenas quais foram positivas e quais foram negativas.

Tabela 14 – Correlações significativas na primeira coleta entre os índices mutagênicos da maior concentração de amostras frente as linhagens TA98 e TA100 e os resultados físico químicos e das detecções químicas.

Linhagens	TA98		TA98S9		TA100		TA100S9	
	r_s^a	p^b	r_s	p	r_s	p	r_s	p
Oxigênio Dissolvido	-0,190	0,651	-0,881	0,004*	-0,323	0,435	-0,024	0,955
Condutividade	0,143	0,736	0,905	0,002*	0,192	0,649	0,108	0,799
Ca	0,095	0,823	0,786	0,021*	0,216	0,608	-0,108	0,799

^a r_s – Coeficiente de Correlação Spearman; ^b $p < 0,05$ significante; * correlações significantes

Tabela 15 – Correlações significativas na segunda coleta entre os índices mutagênicos da maior concentração de amostras frente as linhagens TA98 e TA100 e os resultados físico químicos e das detecções químicas.

<i>Linhagens</i>	<i>TA98</i>		<i>TA98S9</i>		<i>TA100</i>		<i>TA100S9</i>	
<i>Parâmetros</i>	r_s^a	p^b	r_s	p	r_s	p	r_s	p
Al	0,429	0,289	0,429	0,289	-0,786*	0,021	0,000	1,000
Si	0,429	0,289	0,429	0,289	-0,786*	0,021	0,000	1,000
S	-0,467	0,243	-0,778*	0,023	-0,108	0,799	0,024	0,955
Ga	0,349	0,396	0,518	0,188	-0,747*	0,033	0,289	0,487
Br	0,073	0,863	0,146	0,729	-0,488	0,220	-0,756*	0,030
Sr	0,431	0,286	0,359	0,382	-0,790*	0,020	-0,120	0,778
Zr	0,500	0,207	0,452	0,260	-0,762*	0,028	-0,286	0,493

^a r_s – Coeficiente de Correlação Spearman; ^b $p < 0,05$ significante; * correlações significantes

Tabela 16 – Resumo das correlações significativas positivas e negativas encontradas em ambas as coletas entre os índices mutagênicos da maior concentração de amostras frente as linhagens TA98 e TA100 e os resultados físico químicos e das detecções químicas.

<i>Linhagens</i>	<i>TA98</i>	<i>TA98S9</i>	<i>TA100</i>	<i>TA100S9</i>
<i>Parâmetros</i>				
Oxigênio Dissolvido		-		
Condutividade		+		
Ca		+		
Al			-	
Si			-	
S		-		
Ga			-	
Br				-
Sr			-	
Zr			-	

- correlações negativas, + correlações positivas

5 - Discussão

Os critérios legalmente exigidos na avaliação da qualidade de águas não contemplam a maioria das substâncias mutagênicas liberadas em muitas das atividades humanas. Desta forma, a realização de testes de detecção do potencial genotóxico é uma importante parte na avaliação da ação do homem sobre os corpos d'água, que servem como fonte de subsistência ao próprio homem (UMBUZEIRO et al., 2001).

A bacia do Lago Guaíba é a mais importante do estado do Rio Grande do Sul, em termos sócio-econômicos. Além de estarem em suas margens concentrados os maiores setores produtivos do estado (indústria e agricultura), suas águas banham metade dos municípios, servindo como fonte de abastecimento de água potável para mais de 1 milhão de pessoas (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RS – Pró Guaíba, 1998). Com essas características, percebe-se a importância de avaliar a qualidade dessas fontes de água, das quais depende a maior parte do estado. Assim, utilizando-se teste *Salmonella*/Microsoma, foi analisado o potencial mutagênico de amostras das águas superficiais da bacia do Lago Guaíba. Paralelamente foi avaliada também a presença de contaminantes químicos.

Na avaliação das águas dos dois pontos de coleta dentro do Lago Guaíba, foram encontrados apenas um resultado com indício de mutagenicidade na primeira coleta e um resultado positivo na segunda (Tabelas 8 e 9). Ambos foram verificados no mesmo ponto de coleta (Lago Guaíba, na saída do arroio Dilúvio), em frente a um local de liberação de esgoto da cidade de Porto Alegre. O resultado positivo, frente a linhagem TA98, confirma o encontrado por ROLLA (1995) e ROLLA e HENRIQUES (1996; 1997), que também verificaram a indução de mutações do tipo defasagem no quadro de leitura (TA98) unicamente em amostras de sedimentos do Lago Guaíba, próximas a outro local de liberação de esgoto. Entretanto, GIMLER-LUZ et al. (1992),

utilizando o teste de Aberrações Cromossômicas *in vivo* (com medula óssea de camundongos), não encontraram a indução de mutações cromossômicas em amostras de água superficial do Lago Guaíba. Estes resultados levam a sugerir que a liberação de esgoto urbano seja responsável pelos resultados mutagênicos encontrados no lago Guaíba. Recentemente, SHEN et al. (2000) observou resultados mutagênicos similares também com o ensaio *Salmonella*/Microsoma, frente as linhagens TA98 e TA100, em amostras concentradas do Lago Taihu na China.

A intensa ocupação urbana com liberação de efluentes *in natura* também é característica do rio Gravataí e do arroio Dilúvio (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RS – Pró Guaíba, 1998). Nenhuma amostra desses corpos d'água induziu ação mutagênica, todavia, ambas foram capazes de ocasionar respostas tóxicas (Tabelas 8 e 9). Vale salientar que, segundo WHITE e RASMUSSEM (1998), o grande problema dos efluentes urbanos está em seu volume, e não no potencial genotóxico dos compostos que o constituem. Em sua revisão, utilizando o cromoteste SOS, os autores constataram um potencial genotóxico diário muito maior para efluentes urbanos do que para industriais, sendo os urbanos responsáveis por mais de 75% do volume total liberado. Assim sendo, o processo de concentração das amostras provavelmente levaria a resultados positivos para as amostras coletados no Taquarí e no Dilúvio, como já descrito para o Lago Taihu (China).

Nos testes com as amostras do rio Caí, foram constatados dois indícios de mutagenicidade na segunda coleta, sendo um frente a TA98 e outro a TA100, ambos na presença de metabolização (Tabela 9). Avaliando outros estudos neste mesmo rio, nos quais foram empregados tanto o teste *Salmonella*/Microsoma (VARGAS et al., 1993; 1995; LEMOS et al., 1994) quanto os testes *in vitro* de avaliação da freqüência de Trocas de Cromátides Irmãs (LEMOS et al., 1994), e de freqüência de Micronúcleos em culturas de linfócitos humanos (LEMOS e ERDTMANN, 2000), foram encontradas respostas mutagênicas positivas relacionadas a zona de influência em frente ao Pólo Petroquímico. Entretanto, na região de foz, onde os poluentes estão

mais diluídos, observou-se apenas indícios de mutagenicidade, resultados que são compatíveis com o que foi verificado em nosso estudo (Tabela 9).

O rio dos Sinos apresentou apenas um indício de mutagenicidade na segunda coleta, frente a TA100 na ausência de S9 (Tabela 9). É interessante ressaltar que, recentemente, VARGAS et al. (2001), usando o mesmo sistema de detecção, observaram que águas superficiais desse rio também apresentaram resposta mutagênica negativa. Entretanto, estes autores, utilizando o teste de Microtriagem da Indução Lisogênica, o qual tem maior sensibilidade para detecção de genotoxicidade induzida por metais do que o teste *Salmonella/Microsoma* (VARGAS et al., 2001), observaram resposta genotóxica positiva em amostras de água superficial e sedimento do rio dos Sinos. Os resultados positivos encontrados em sedimentos foram correlacionados com a presença de metais (Fe, Mn, Cu, Cr, Pb, Zn e Ni) nessas amostras (VARGAS et al., 1993; 1995; 2001). Essas observações, em conjunto com o fato de ter sido encontrado, em nosso estudo, nas águas superficiais da região de foz do rio dos Sinos, pelo método de PIXE, concentrações de alumínio, ferro e enxofre superiores ao limite máximo estabelecido pela resolução número 20 do CONAMA (Tabelas 11, 12 e 13), sugerem uma correlação entre a presença de metais e os resultados de genotoxicidade, encontrados com o teste de Microtriagem por Indução Lisogênica por VARGAS et al. (2001), nas águas superficiais deste mesmo rio. A genotoxicidade encontrada por este teste reflete o nível de expressão das funções SOS pela indução do profago lambda, controlado pelo repressor LexA, o qual também controla a mutagênese indireta induzida por agentes que danificam o DNA, como ocorre no teste *Salmonella/Microsoma* (ver Figura 1). Por conseguinte, como o mecanismo que induz as funções SOS é o mesmo, pode-se inferir que genotoxicidade indica efeito mutagênico.

O rio Jacuí apresentou um único indício de mutagenicidade na segunda coleta, que corresponde ao período das chuvas (Tabela 9). Como a maior ocupação deste rio é rural, apresentando lavouras principalmente de arroz, milho, trigo e soja em suas margens (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RS – Pró Guaíba, 1998), este resultado pode ser explicado pela lavagem das

lavouras e conseqüente escoamento de pesticidas para o rio, ocasionado pelo grande volume de chuvas. Ainda que não tendo sido encontradas quantidades significativas de pesticidas organofosforados e carbamatos, pode-se imaginar que estejam presentes diluídos no grande volume deste rio, ou que exista a influência de outras classes de agrotóxicos, como por exemplo triazóis e piretróides (AGROFIT 98). A este respeito, amostras concentradas de água superficial concentradas do rio Gange, o qual também possui ocupação preferencialmente rural, apresentaram respostas positivas para o teste *Salmonella/Microsoma* (REHANA et al., 1995; 1996).

A intensa ocupação industrial, urbana e agrícola do rio Taquarí (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RS – Pró Guaíba, 1998) inicialmente indicaria a presença de amostras com altos potenciais tóxicos e mutagênicos. Porém, apenas um resultado de toxicidade foi encontrado na primeira coleta (Tabela 8). Este resultado provavelmente foi observado devido a grande vazão de águas deste rio (Secretaria da Coordenação e Planejamento do RS – Pró Guaíba, 1998) que diluiu os componentes nele presentes, dificultando sua detecção. Neste contexto, é interessante salientar resultados positivos encontrados, após o processo de concentração das amostras, em rios com ocupações similares às do Taquarí, como o rio Labe na República Tcheca (CERNÁ et al., 1996), o rio Elbe na Alemanha (VAHL et al., 1997) e o rio Sora na Eslovênia (FILIPIC, 1995).

Analisando os resultados do teste *Salmonella/Microsoma* (Tabelas 8 e 9), foi possível observar que, dos cinco indícios de mutagenicidade encontrados, quatro foram frente a linhagem TA100. Esta linhagem respondeu melhor na presença de ativação metabólica do que na sua ausência, indicando a prevalência, nas amostras de água superficial, de mutágenos de ação indireta que causam substituição nos pares de bases. Outros estudos, encontraram maior sensibilidade da linhagem TA98 na avaliação de diferentes corpos d'água, como o rio Caí (nesta mesma bacia) (VARGAS et al., 1993; 1995), o rio Gange na Índia (REHANA et al., 1995), o rio Terceiro na Argentina (LERDA et al., 1996) e diferentes rios do estado de São Paulo (UMBUZEIRO et al., 2001). As margens destes rios são ocupadas por aglomerados urbanos, zonas de

plântio e por diversas indústrias como petroquímicas, têxteis, de papel e de plásticos, entre outras. Os mutágenos presentes nos diferentes corpos d'água variam com a composição dos efluentes liberados nos mesmos. Assim, se justifica o fato de terem sido observados resultados diferentes para águas de rios com ocupações tão diversas. Este tipo de diferença pode ser encontrada dentro da bacia do Guaíba, onde foram verificadas diferentes sensibilidades da linhagem TA100, para os locais e épocas de coleta, com presença de S9 (conforme Análise Fatorial da Variância, Figura 7). Estes resultados mostram claramente que as águas de rios da mesma bacia respondem de maneiras diferentes por possuírem ocupações diferentes. Outro resultado importante, em termos da constituição de poluentes desses rios, foi o de não terem sido encontrados os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos tais como criseno, benzo[a]pireno nem do pesticida pentaclorofenol. Em adição, os pesticidas organofosforados e carbamatos foram detectados apenas em níveis traço, não estando diretamente relacionados com resultados do teste *Salmonella*/Microsoma (Tabela 10), o que nos leva a sugerir que os indícios de mutagenicidade detectados sejam ocasionados por outras classes de poluentes.

A média dos dados de precipitação do 8º DISME (Distrito de Meteorologia) das estações de Campo Bom, Triunfo e Porto Alegre (dentro da bacia do Guaíba), na semana que antecedeu a primeira coleta (março) foi de 31.53 mm. Na semana que antecedeu a segunda coleta (setembro), este valor foi de 134.03 mm, podendo ser constatado um aumento de mais de 100 mm no volume de chuvas de março para setembro. Este evento ocasionou o aumento no volume dos rios e a conseqüente diluição dos compostos nele presentes, podendo esta ser a causa do aumento do oxigênio dissolvido e da diminuição da condutividade na segunda coleta (Tabela 14).

Outra conseqüência do alto índice pluviométrico foi o arraste de materiais depositados nas margens dos rios para o leito dos mesmos, sendo provavelmente a responsável pela concentração de indícios de mutagenicidade na segunda coleta. Estas alterações sazonais da resposta mutagênica, podiam ser esperadas por haverem sido descritas em diversos outros estudos em

diferentes corpos d'água (VARGAS et al., 1993; 1995; 2001; LERDA et al., 1996; UMBUZEIRO et al., 2001). Confirmando estes resultados, a Análise Fatorial da Variância com a linhagem TA98 encontrou correlação significativa entre o índice de mutagênese e o local influenciado pela época de coleta (Figura 6). Para a linhagem TA100, a presença de ativador metabólico influencia de forma diferente o índice mutagênico nas diferentes épocas do ano. Estes dados nos permite confirmar que a sazonalidade influencia de forma separada os diferentes locais de coleta (Figura 7).

Ao analisarmos os resultados tóxicos, novamente pode ser notada uma diferença sazonal, contudo, ao contrário dos indícios de mutagenicidade, as amostras citotóxicas concentraram-se na primeira coleta (Tabelas 8 e 9). Pode-se inferir que o menor volume de água dos rios no período de março tenha concentrado os compostos, facilitando sua detecção. Este efeito contrário das diferentes épocas do ano sobre os resultados, nos sugere que os fatores responsáveis pela mutagênese e pela citotoxicidade não são os mesmos e estão presentes no ambiente de forma independente.

Na avaliação de elementos inorgânicos pelo método de PIXE, foram encontrados elementos tanto em níveis traço como em quantidades acima do esperado pela resolução número 20 do CONAMA, e pela média para águas naturais descrita em PAIS e JONES Jr (1997) (Tabelas 11, 12 e 13). Utilizando a correlação para postos de Spearman, foram encontradas algumas correlações significativas entre os índices de mutagenicidade e as concentrações de elementos inorgânicos, que devem ser avaliadas com cautela devido ao baixo n (número de variáveis) disponível (Tabela 15 e Anexo 6). O Cálcio apresentou correlação positiva frente a linhagem TA98, na presença de S9, porém, é pouco provável que esteja relacionado a indução de mutagênese, devido as características pouco tóxicas deste elemento (HAYES, 1994). Este elemento pode, na verdade, estar relacionado aos resultados de condutividade encontrados, devido as suas propriedades condutoras. Na segunda coleta, foram identificadas somente correlações negativas entre os índices de mutagenicidade e as concentrações dos elementos Alumínio, Silício, Enxofre, Gálio, Bromo, Estrôncio e Zircônio, sugerindo uma atuação tóxica

destes elemento sobre as linhagens de *Salmonella*. A este respeito, trabalhos também utilizando detecção por PIXE no rio Chaliyar – Índia (KENNEDY et al., 1998; 1999) encontraram quantidades superiores às detectadas em nosso trabalho de elementos pesados. Porém, estes estudos foram realizados próximos a locais de liberação de efluentes e não na foz dos rios onde os elementos estão mais diluídos. Além do mais, foi utilizado quelante, para concentrar os elementos da amostra, evitando a perda dos mesmos.

Ainda que não considerando as correlações estatísticas devido ao baixo n disponível, estes resultados são de grande importância na avaliação da qualidade das águas desta bacia. Diversos elementos foram detectados, incluindo metais pesados, distribuídos de forma aproximadamente padrão entre os pontos de coleta. Comparando estes dados com os limites máximos de detecção permitidos pela resolução número 20 do CONAMA, os elementos Alumínio, Enxofre e Ferro apresentaram concentrações muito elevadas. A grande quantidade desses elementos provavelmente está relacionada com a presença de indústrias que lidam com metal - mecânica, materiais de construção, tintas, corantes e pesticidas. Ainda a este respeito, um maior número de elementos foi detectado em concentrações superiores a média descrita para águas naturais por PAIS e JONES Jr (1997). A presença de Al, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Zn e Rb distribuídos nos diferentes locais de amostragem, pode igualmente relacionada a liberação de efluentes indústrias com composições específicas, em cada um dos rios que compõem a bacia do Lago Guaíba. Alguns elementos, podem ser provenientes do próprio solo que é rico em Al, por exemplo.

Essas informações tomadas em conjunto, possibilitam constatar que o perfil mutagênico das águas dos rios que compõem a Bacia do Lago Guaíba é menos importante, quase inexistente, sendo pequena a contribuição desses para a contaminação do mesmo. O grande problema encontrado está relacionado a liberação de esgoto urbano. Como previamente descrito por WHITE e RASMUSSEN (1998), os efluentes sanitário são mais danosos ao ambiente do que os industriais. O uso rotineiro do ensaio *Salmonella*/Microsoma na avaliação de genotoxicidade de corpos d'água se

mostra importante para a identificação de fontes poluidoras, como vem sendo aplicado pela Agência de Proteção Ambiental do estado de São Paulo - CETESB (UMBUZEIRO et al., 2001). A realização de estudos adicionais utilizando metodologias de concentração das amostras e outras técnicas de avaliação de genotoxicidade seria de grande importância para o conhecimento mais aprofundado da situação encontrada nessa bacia hidrográfica.

6 – Conclusões

Este estudo avaliou o efeito mutagênico de amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba utilizando o ensaio *Salmonella*/Microsoma, bem como a presença de contaminantes químicos por diferentes metodologias, permitindo concluir que:

- As amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba apresentam indícios de potencial mutagênico.
- A resposta positiva encontrada foi frente a linhagem TA98 na presença de ativação metabólica e está relacionada à liberação do esgoto urbanos de Porto Alegre.
- Os compostos mutagênicos presentes nas amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba causam preferencialmente mutações de substituição nos pares de bases (TA100) por ação indireta.
- As amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba possuem fraco potencial tóxico, que pode estar relacionado a presença de químicos inorgânicos.
- Os potenciais mutagênicos e tóxicos encontrados nas amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba aparentemente não estão relacionados a presença de pesticidas organofosforados, carbamatos e pentaclorofenol, dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos criseno e benzo[a]pireno.
- As amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba apresentaram comportamentos diferentes nas duas épocas de coleta, indicando que estão sujeitas a influência sazonal.
- Os rios que formam o Lago Guaíba contribuem com uma parte muito pequena para a atividade genotóxica desse lago, sendo o grande problema a contaminação por efluentes urbanos.

7 – Perspectivas

A partir do estudo do potencial mutagênico e de detecção de contaminantes químicos das amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba, poder-se-ia:

- Avaliar pelo ensaio *Salmonella*/Microsoma as amostras de água superficial da bacia do Guaíba concentradas através da extração líquido - líquido, buscando a identificação de mutágenos presentes em baixas concentrações.
- Analisar pelo ensaio *Salmonella*/Microsoma amostras de sedimento da bacia do Lago Guaíba após extração orgânica, visando identificar compostos mutagênicos.
- Determinar mutagenicidade pelo ensaio *Salmonella*/ Microsoma com as cinco linhagens indicadas para avaliação ambiental: TA98, TA100, TA1535, TA97a e TA102 (MARON e AMES, 1983; MORTELMANS e ZEIGER, 2000).
- Detectar pelo método de PIXE a presença de elementos inorgânicos nas amostras de sedimento da bacia do Lago Guaíba.
- Avaliar genotoxicidade empregando uma metodologia mais sensível a detecção de metais, teste de Microtriagem por Indução Lisogênica (VARGAS et al., 2001).
- Verificar a indução de mutações cromossômicas pelo teste de Análise da Frequência de Micronúcleos *in vivo* (medula de camundongos), pelas águas e sedimento do Lago Guaíba.

8 – Referências Bibliográficas

AGUDO, E. G. *Guia de coleta e preservação de amostras de água*. São Paulo: CETESB. 1987. 150p.

AGROFIT 98, *Uso de Agrotóxicos*. Ministério da Saúde e da Agricultura, Manaus, 1998 (CD-ROM).

AMES, B. N. Identifying environmental chemicals causing mutation and cancer. *Science*, Washington, v. 204, p. 587- 593, 1979.

AMES, B.N., McCANN, J., YAMASAKY, E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 31, p. 347 – 364, 1975.

ARNAIZ, R.R. *Las toxinas ambientales y sus efectos genéticos*. La Ciência para Todos. Segunda ed. México: Fondo de Cultura Económica, 1997, 95 p.

ASHBY, J., TENNANT, R. W. Definitive relationships among chemical structure, carcinogenicity and mutagenicity for 301 chemicals tested by the U. S. NTP. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 257, p. 229- 306, 1991.

ASTR – Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *ToxFAQs*, Última atualização em 21 de junho de 2001. Disponível em www.atsdr.cdc.gov/toxfaq.html . Visualizado em 24 de julho de 2001.

AYLLÓN, F., SUCIU, R., GEPHARD, S., JUANES, F., GARCIA-VAZQUEZ, E. Conventional armament wastes induce micronuclei in wild brown trout *Salmo trutta*. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 470, p. 169 – 176, 2000.

BALSIK, J., KOWALIK, J. A comparison the in vitro genotoxicity of tri - and hexavalent chromium. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 469, p. 135 - 145, 2000.

BARNES, W., TULEY, E., EISENSTADT, E. Base sequence analysis of his+ revertants of the hisG46 missense mutation in *Salmonella typhimurium*. *Environmental Mutagenesis*, New York, v. 4, p. 297 (Abstr. Aa- 1), 1982.

BENDATI, M.M., SCHWARZBACH, M.S.R., MAIZONAVE, C.R.M., ALMEIDA, L.B., BRINGHENTI, M.L. Avaliação da qualidade da água do lago Guaíba (Rio Grande do Sul, Brasil) como suporte para a gestão da bacia hidrográfica. In: *XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental*. Porto Alegre, de 3 a 8 de dezembro de 2000, nº V – 076.

BERNSTEIN, L., KALDOR, J., McCANN, J., PIKE, M. C. An empirical approach to the statistical analysis of mutagenesis data from the Salmonella test. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 97, p. 267- 281, 1982.

BHAMRE,S., GADEA,B.B., KOYAMA,C.A., WHITE,S.J., FLOWLER,R.G. An aerobic *recA*-, *umuC*- dependent pathway in *Escherichia coli*. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 473, p. 229 – 249, 2001.

BLASIAK,J., JALOSZYNSKI,P., TRZECIAK,A., SZYFTER,K. In vitro studies on the genotoxicity of the organophosphorus insecticides malathion and its two analogues. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 445, p. 275 – 283, 1999.

BOLOGNESI,C., LANDINI,E., ROGGIERI,P., FABBRI,R., VIARENGO,A. Genotoxicity biomarkers in the assessment of heavy metal effects in mussels: Experimental studies. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, Inc. Wiley-Liss, v. 33, p. 287 - 292, 1999.

BOLOGNESI,C., MORASSO,G. Genotoxicity of pesticides: potential risk for consumers. *Trends in Food Science & Technology*, Amstedan, v. 11, p. 182 – 187, 2000.

BOURDON,R.H. *Genes and the Environment*. London: Ed. Taylor & Francis, 1999, 243 p.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente, resolução n. 20, de 18 de junho de 1986. Classifica as águas do Território Nacional. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 30 de junho de 1986. Disponível em <http://www.mma.gov.br/pot/conama/res/res86/res2086.html>. Visualizado em 24 de julho de 2001.

CAIRNS,J. The interface between molecular biology and cancer research. *Mutation Research*, Amsterdam, v.462, p. 423 – 428, 2000.

CAMPBELL, J.L., HOPMAN, T.L., MAXWELL, J.A., NEJEDLY, Z. The Guelph PIXE software package III: alternative proton database. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, North-Holland v. B170 p. 193 - 204, 2000.

CANNA-MICHAELIDOU,S., NICOLAOU,A.-S. Evaluation of the genotoxicity potencial (by MutatoxTM test) of ten pesticides found as water pollutants in Cyprus. *The Science of the Environment*, Amsterdam, v. 193, p. 27 – 35, 1996.

CERNÁ,M, PASTORKOVÁ,A., SMÍD,J., BAVOROVÁ,H., OCADLÍKOVA,D., RÖSSNER,P., ZAVADIL,J. Genotoxicity of industrial effluents, river waters, and their fractions using the Ames test and in vitro cytogenetic assay. *Toxicology Letters*, Amsterdam, v. 88, p. 191 – 197, 1996.

CLAXTON,L., HOUK,V.S., HUGHES,T.J. Genotoxicity of industrial wastes and effluents. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 410, p. 237 – 243, 1998.

CLAXTON,L.D., STEAD,A.S., WALSH,D. An analysis by chemical class of *Salmonella* mutagenicity tests as predictors of animal carcinogenicity. *Mutation Research*, Amsterdam, v.205, p.197 – 225, 1988.

CUNHA BASTOS, V. L. F., CUNHA BASTOS, J., LIMA, J. S., CASTRO FARIA, M. V. Brain acetylcholinesterase as an *in vitro* detector of organophosphorus and carbamate insecticides in water. *Water research*, Great Britain, v. 25, n.7, p. 835- 840, 1991.

CROSBY, D.G. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Oxford: Editora Oxford University Press, 1998, 336 p.

DEVAUX,A., FLAMMARION,P., BERNARDON,V., GARRIC,J., MONOD,G. Monitoring of the chemical pollution of the river Rhône through measurement of DNA damage and cytochrome p4501A induction in chub (*Leuciscus cephalus*). *Marine Environmental Research*, Great Britain, v. 46, n. 1 – 5, p. 257 – 262, 1998.

DUAN,C.-Q., HU,B., JIANG,X.-H., WEN,C.-H., WANG,Z., WANG,Y.-X. Genotoxicity of water samples from Dianchi lake detected by the *Vicia faba* micronucleus test. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 426, p. 121 – 125, 1999a.

DUAN,C.-Q., HU,B., WANG,Z.-H., WEN,C.-H., YAN,S.-Q., JIANG,X.-H., WNAG,D.-K., LI,Q., LIANG,X.-F. *Tradescantia* bioassays for the determination of genotoxicity of water in the Panlong river, Kunming, People's Republic of China. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 426, p. 127 – 131, 1999b.

EICHELBERG, J.W., BEHYMER,T.D., BUDDE,W.L. Method 252.1 – *Determination of organic compounds in drinking water by liquid- solid extraction and capillary column gas chromatography/mass spectrometry*. Revisão 2.2. EPA EMSL-Ci, 40 p., Maio 1991.

ELLMAN,G.L., COURTNEY,K.D.,ANDRES,JR., A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemistry and Farmacology [s.l.]*, v. 7, p. 88 – 95, 1961.

FENECH, M. The cytokinesis – block micronucleous technique: A detailed description of the method and applications to genotoxicity studies in human populations. *Mutation Research*, v. 285, p. 35 – 44, 1993.

FEPAM/ GTZ. *Efluentes líquidos industriais: Cargas poluidoras lançadas nos corpos hídricos do estado do Rio Grande do Sul*. Projeto de Cooperação técnica Brasil/Alemanha, Porto Alegre, 145p., 1997.

FEPAM. *Qualidade das águas do Rio Gravataí: Período 1992/1994*. Porto Alegre, 25p., 1996.

FEPAM. *Qualidade das águas do Rio dos Sinos*. Porto Alegre, 49p., 1999a.

FEPAM. *Qualidade das águas do Rio Caí*. Porto Alegre, 40p., 1998.

FEPAM. *Qualidade das águas da bacia hidrográfica do Rio das Antas & Rio Taquarí*. Porto Alegre, 43p., 1999.

FILIPIC, M. Mutagenicity and toxicity of water extracts from the Sora river area. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 342, p. 1 – 8, 1995.

FRIEDBERG, E.C., WALKER, G.C., SIEDE, W. *DNA Repair and Mutagenesis*. Washington: ASM Press, 1995, 698 p.

GALASSI, S., BENFENATI, E. Fractionation and toxicity evaluation of waste waters. *Journal of Chromatography*, Amsterdam, v. 889, p. 149 – 154, 2000.

GRANT, W.F., OWENS, E.T. Chromosome aberration assays in *Pisum* for the study of environmental mutagens. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 488, p. 93 – 118, 2001.

GRISOLIA, C.K., STARLING, F.L.R.M. Micronuclei monitoring of fishes from Lake Paranoá, under influence of sewage treatment plant discharges. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 491, p. 39 – 44, 2001.

GUIMMLER-LUZ, M.C., ERDTMANN, B., BALBUENO, R.A. Analysis of clastogenic effect of Porto Alegre drinking water supplies on mouse bone marrow cells. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 279, p. 227 – 231, 1992.

HAYASHI, M., Mac GREGOR, J.T., GATEHOUSE, D.C., ADLER, I.D., BLAKEY, D.H., DERTINGER, S.D., KRISHN, A., MARITA, T., RUSSO, A., SUTOU, S. *In vitro* rodent erythrocyte micronucleus assay: II Some aspects of protocol design including repeated treatments integration with toxicity testing, and automated scoring. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, Inc. Wiley-Liss, v. 35, p. 234 – 252, 2000.

HAYES, A.W. *Principles and Methods of Toxicology*. Third Edition, New York: Editora Raven Press, USA, 1994.

HENRIQUES, J.A.P., VALSA, J.de O., GOMES, R.A. *Utilização de testes com microorganismos para detecção de atividades mutagênicas e/ou potencialmente oncogênicas*. In: PINTO, S.O.de C. (ed). *Genética molecular de microorganismos*. São Paulo: Manole, 1987, p. 330 – 350.

HOUK, V.S. The genotoxicity of industrial wastes and effluents – a review. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 277, p. 91 – 138, 1992.

HUNBNER,P., GROUX,P.M., WEIBEL,B., SENGSTAG,C., HORLBECK,J., LEONG-MORGENTHALER,P.-M., LÜTHY,J. Genotoxicity of ethyl carbamate (urethane) in Salmonella, yeast and human lymphoblastoid cells. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 390, p. 11 – 19, 1997.

JI,Q., YANG,H., ZHANG,X. *Vicia* root- micronuclei assays on the clastogenicity of water samples from the Kui river near Xuzhou city, People's Republic of China. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 426, p. 133 – 135, 1999.

JOSEPHY,P.D., MANNERVIK,B., MONTELLANO,P.O. *Molecular Toxicology*. New York: Oxford University Press, 368p., 1997.

KELLER,K.L., OVERVBECK-CARRICK,T.L., BECK,D.J. Survival and induction of SOS in *Escherichia coli* treated with cisplatin, UV- irradiation, or mitomycin C are dependent on the function of the RecBC and RecFOR pathways of homologous recombination. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 486, p. 21 – 29, 2001.

KENNEDY,V.J., AUGUSTHY,A., VARIER,K.M., MAGUDAPATHY,P., PANCHAPAKESAN,S., RAMESH,C., NAIR,K.G.M., VIJAYAN,V. PIXE analysis of trace pollutants in Chaliyar river water in Malabar, India. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, North-Holland, v. B134, p. 224 – 228, 1998.

KENNEDY,V.J., AUGUSTHY,A., VARIER,K.M., MAGUDAPATHY,P., PANCHAPAKESAN,S., VIJAYAN,V., NAIR,K.G.M. Trace metal distribution studies in river water by PIXE. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, North-Holland, v. B150, p. 277 – 281, 1999.

KONG,Z.M., ZANG,Y., WU,Q.L., Monitoring the genotoxicity of Lake Taihu, using two kinds of micronucleus tests. *Environmental Pollution*, Amsterdam, v. 99, p. 279 – 283, 1998.

KONOLA,J.Y., SARGENT,K.E., GOW,J-B. Efficient repair of hydrogen peroxide-induced DNA damage by *Escherichia coli* requires SOS induction of RecA and RuvA proteins. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 459, p. 187 – 194, 2001.

LEITÃO,A.C., ALCANTARA GOMES,R. *Radiobiologia e Fotobiologia – Respostas celulares às lesões induzidas por agentes físicos e químicos* (apostila). Rio de Janeiro: Universidade Estadual do Rio de Janeiro, 1997, 119p.

LEMOS,C.T. de, ERDTMANN,B. Cytogenetic evaluation of aquatic genotoxicity in human cultured lymphocytes, *Mutation Research*, Amsterdam, v.467, p. 1 – 9, 2000.

LEMONS,C.T., VARGAS, V.M.F., HENRIQUES, J.A.P., MATTEVI, M.S. Genotoxicity of river water under the influence of petrochemical industrial complexes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, New York v. 52, p. 848 – 855, 1994.

LEVIN, D.E., HOLLSTEIN, M.C., CHRISTMAN, M.F., SCHWIERS, E.A, AMES., B.N. A New *Salmonella* Tester Strain (102) with A: T base pairs at the site of mutation detects oxidative mutagens. *Proceedings of the National of Sciences. Academy Science U.S.A. [s.l.]*, v. 79, p. 7445-7449, 1982b.

LEVIN,D.E., YAMASAKY,E., AMES,B.N. A New *Salmonella* Tester Strain for the Detection of Frameshift Mutagens: A Run of Cytosines as Mutational Hot. Spot. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 94, p. 315-330, 1982 a.

LERDA,D.E., PROSPERI,C.H. Water mutagenicity and toxicology in rio Tercero (Cordoba, Argentina). *Water Research*, Great Briain, v. 30, n.4, p. 819 – 824, 1996.

LIMA, J. S., BASTOS NETO, J. C., BASTOS, V. L. F. C., CUNHA, J. C., MORAES, F. F. M., FERREIRA, M. F. A., MOREIRA, J. C., CASTRO FARIA, M. V. Methyl parathion activation by a partially purified rat brain fraction. *Toxicology Letters*, [s.l.], v. 87, n. 1, p. 53- 60, 1996.

MALMQVIST,K.G., Quantitative PIXE analisis of biomedical material – sample preparation, irradiation and quatity control. *Nuclear Intruments and Methods in Phisics Research*, North-Holland, v. B49, p. 183 – 190, 1990.

MARON,D.M., AMES, B.N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 113, p. 173 – 251, 1983

MIAO,M., FU,R., YANG,D., ZHENG,L. *Vicia* root micronucleus assay on the clastogenicity of water samples from the Xiaoqing river in Shandong province of the People's Republic of China. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 426, p. 143 – 145, 1999.

MONARCA,S., FERETI,D., COLLIVIGNARELLI,C., GUZZELLA,L., ZERBINI,I., BERTANZA,G., PEDRZZANI,R. The influence of different disinfectants on mutagenicity and toxicity of urban wastewater. *Water Research*, Great Britain v. 34, n. 17, p. 4261 – 4269, 2000.

MORIYA,M., OHTA,T., WATANABE,K., MIYAZAWA,T., KATO,K., SHIRASU,Y. Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 116, p. 185 – 216, 1983.

MORTELMANS,K., ZEIGER,E. The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 455, p. 29 – 60, 2000.

MOURA, C. M. *Metodologia enzimática para a detecção de pesticidas organofosforados e carbamatos em água e frutas*. Rio de Janeiro, Instituto de

Biologia Roberto Alcantra Gomes, UERJ, 1998. 62p. (Dissertação de Mestrado em Biociências Nucleares).

MOUSTACCHI,E. DNA damage and repair consequences on dose-responce. *Mutation Research*, Amsterdam, v.404, p. 33 – 40, 2000.

NUKAYA,H., SHIZAWA,T., TADA,A., TERAQ,Y., OHE,T., WATANABE,T., ASANOMA,M., SAWANISHI,H., KATSUHARA,T., SUGIMURA,T., WAKABAYASHI,K. Identification of 2- [2- (acetylamino)- 4- amino- 5- methoxyphenyl]- 5- amino- 7- bromo- 4- chloro- 2H- benzotriazole (PBTA- 4) as a potent mutagen in river water in Kyoto and Aichi prefectures, Japan. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 492, p. 73 – 80, 2001.

ODEIGAH, P. G. C., NURUDEEN, O., AMUND, O. O. Genotoxicity of oil field wastewater in Nigeria. *Hereditas*, [s.l.], 1997, v. 126, p. 161- 167.

PAIS,I; JONES Jr,J.B. *The handbook of Trace Elements*. Florida: St Lucie Press Boca raton. 1997, _ pg.

PANDA,K.K., PATRA,J., PANDA,B.B. Induction of sister chromatid exchange by heavy metal salts in root meristem cells of *Allium cepa* L. *Biologia Plantarum*, [s.l.], v. 38, n. 4, p. 555 - 561, 1996.

PARK,J.H., LEE,B.J., LEE,S.K., KIM,K., LEE,K.H., CHE,J.H., KANG,K.S., LEE,Y.S. Genotoxicity of drinking water from three Korean cities. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 466, p. 173 – 178, 2000.

PAVLICA,M., KLOBUCAR,G.I.V., VETMA,N., ERBEN,R., PAPES,D. Detection of micronuclei in haemocytes of zebra mussel and great ramshorn snail exposed to pentachlorophenol. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 465, p. 145- 150, 2000.

PIZZOLATO T.M. *Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de compostos orgânicos por GC, utilizando extração em fase sólida*. Porto Alegre, Instituto de Química, UFRGS, 1997 (Tese de doutorado).

PRÓ-GUAÍBA/ FEPAM. *Diagnóstico da poluição gerada pelas áreas industriais localizadas na área da bacia hidrográfica do Guaíba*. Porto Alegre, 151p., 1997.

REHANA,Z., MALIK,A., AHMAD,M. Genotoxicity of the Ganges water at Naora (U.P.), India. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 367, p. 187 – 193, 1996.

REHANA,Z., MALIK,A., AHMAD,M. Mutagenic activity of the ganges water with especial reference to the pesticide pollution un the river between Kachla to Kannauj (U.P.), India. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 343, p. 137 – 144, 1995.

ROLLA, H. C. *Avaliação da atividade mutagênica de amostras de sedimentos do rio Guaíba e lodo proveniente da indústria de papel e celulose*. Porto Alegre, Faculdade de Agronomia, UFRGS, 1995. 114p. (Dissertação de mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente).

ROLLA, H.C., HENRIQUES, J.A.P. Avaliação da atividade mutagênica de amostras de sedimento do Rio Guaíba e Lodo proveniente da indústria de papel e celulose. *O Papel*, [s.l.], nº11, p. 85 - 93, 1996.

ROLLA, H.C., HENRIQUES, J.A.P. Avaliação da atividade mutagênica de amostras de lodo proveniente da indústria de papel e celulose. *O Papel*, [s.l.], nº12, p. 95 - 99, 1997.

SECRETARIA DA COORDENAÇÃO E PLANEJAMENTO DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, SECRETARIA EXECUTIVA DO PRÓ-GUAÍBA. *Baía de todas as águas: preservação e gerenciamento ambiental na bacia hidrográfica do Guaíba*. Porto Alegre, 112p., 1998.

SHEN,L., LIN,G.F., TAN,J.W., SHEN,J.H. Genotoxicity of surface water samples from Meilang bay, Taihu lake, Eastern China. *Chemosphere*, Great briatin, v. 41, p. 129 – 132, 2000.

SIERRA- TORRES, C. H., CAJAS- SALAZAR, N., HOYOS, L. S., ZUELA, M., WHORTON, E. B. In vitro and in vivo genotoxic activity of miral, an organophosphorus insecticide used in Colombia. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 415, p. 59- 67, 1998.

SILVA, P.A.L. *Probabilidade e Estatística*. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso Editores, 1999, 174p.

SILVA, R.M.da. *Genotoxicidade associada a amostras de água do rio Caí sob influência de dejetos urbanos*. Porto Alegre, Departamento de Genética, UFRGS, 2000. 100p. (Tese de mestrado em Genética e Biologia Molecular).

SINHA,R.K., CHOUDHURY,R., MALLICK,R. Cytological effects of phosalone on root meristem of *Allium cepa* L. *Cytologia*, Tokyo, v. 54, p. 429 – 435, 1989.

STEINKELLNER,H., MUN-SIK,K., HELMA,C., ECKER,S., MA,T.-H., HORAK,O., KUNDI,M., KNASMÜLLER,S. Genotoxic effects of heavy metals: Comparative investigation with plant bioassays. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, Inc. Wiley-Liss, v. 31, p. 183 - 191, 1998.

SULTATOS, L. G., Mammalian toxicology of organophosphorus pesticides. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, [s.l.], v. 43, p. 271- 289, 1994.

TICE,R.R., AGURELL,E., ADERSON,D., BURLINSON, HARTMANA,A., HOBAYASHI,H., MIYAMAE,Y., ROJAS,E., RYU,J-C., SASAKI,Y.F. Single cell Gel/ comet assay: Guidelines for *In Vitro* and *In Vivo* genetic toxicology testing.

Environmental and Molecular Mutagenesis, Inc. Wiley-Liss, v. 35, p. 206 – 221, 2000.

UMBUZEIRO,G.de A., ROUBICEK,D.A., SANCHEZ,P.S., SATO,M.I.Z. The *Salmonella* mutagenicity assay in a surface water quality monitoring program based on a 20-year survey. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 491, p. 119 – 126, 2001.

VAHL,H.H., KARBE,L., WESTENDORF,J. Genotoxicity assessment of suspended particulate matter in the Elbe river: comparison of *Salmonella* microsome test, arabinose resistance test, and *umu*- test. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 394, p. 81 – 93, 1997.

VARGAS, V. M. F., *Avaliação de Testes para Triagem e Diagnóstico de Agentes Genotóxicos Ambientais*. Porto Alegre, Departamento de Genética, UFRGS, 1992. 237p. (Tese de Doutorado em Ciências).

VARGAS, V. M. F., GUIDOBONO, R. R., JORDÃO, C., HENRIQUES, J. A. P. Use of two short-term tests to evaluate the genotoxicity of river water treated with different concentration / extration procedures. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 343, p. 31- 52, 1995.

VARGAS, V.M.F., MIGLIAVACCA, S.B., MELO, A.C.DE, HORN, R.C., GUIDOBONO, R.R., FERREIRA, I.C.F.S., PESTANA, M.H.D. Genotoxicity assessment in aquatic environments under the influence of heavy metals and organic contaminants. *Mutation Research*, Amsterdam, v.490, p. 141 – 158, 2001

VARGAS, V. M. F.; MOTTA, V. E. P.; HENRIQUES, J. A. P. Analysis of mutagenicity of waters under the influence of petrochemical industrial complexes by the Ames test (*Salmonella*/microsome). *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v. 11, n. 3, p. 505 – 518, 1988.

VARGAS, V. M. F., MOTTA, V. E. P., HENRIQUES, J. A. P. Mutagenic activity detected by the Ames test in river water under the influence of petrochemical industries. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 319, p. 31- 45, 1993.

VILLASANA,A.M.S. Importância de la prueba de Ames para el monitoreo ambiental. In: *XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental*. Porto Alegre, de 3 a 8 de dezembro de 2000, nº VI – 086.

YANG,G. *Tradescantia*- micronucleus assay on the water quality of lake Hongzhe in Jiangsu province, China. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 426, p. 155 – 157, 1999.

YU,M.-H. *Environmental Toxicology*. Boca Raton: Lewis Publishers, 2001, 255p.

WATERS,M.D., STACK,H.F., JACKSON,M.A., Genetic toxicology data in the evaluation of potential human environmental carcinogens. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 437, p. 21 – 49, 1999.

WEI,L.Y., CHAO,J.S., HONG,C.C. Assesment of the ability of propoxur, methomyl, and aldicarb, three carbamate insecticides, to induce micronuclei in vitro in cultured chinese hamster ovary cells and in vivo in BALB/c mice. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, Inc. Wiley-Liss, v. 29, p. 386 – 393, 1997.

WHITE,P.A., RASMUSSEN,J.B. SOS chromotest results in a Broader context: Empirical relationships between genotoxic potency, mutagenic potency ,and carcinogenic potency. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, Inc. Wiley-Liss, v.27, p. 270 – 305, 1996.

WHITE,P.A., RASMUSSEN,J.B. The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. *Mutation Research*, Amsterdam, v.410, p. 223 – 236, 1998.

ZEIGER,E. Mutagens that are not carcinogens: faulty theory or falty tests? *Mutation Research*, Amsterdam, v. 492, p. 29 – 38, 2001.

ZENG,D., LI,Y., LIN,Q. Pollution monitoring of three rivers passing throug Fuzhou city, People's Republic of China. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 426, p. 159 – 161, 1999.

9 - Anexos

Anexo 1 – Histórico dos valores de mutação espontânea e induzida do laboratório GENOTOX.

Histórico dos valores de mutação espontânea para as linhagens de Salmonella typhimurium no GENOTOX - Laboratório de Genotoxicidade do Centro de Biotecnologia - UFRGS.

Linhagens	S9 ^a	n ^b	Médias de Revertentes Espontâneos	Variação	
				Mínima	Máxima
TA98	-	130	20,53 +/- 12,59	5	30
TA98	+	127	30,27 +/- 29,16	8	51
TA100	-	103	135,67 +/- 26,98	91	190
TA100	+	102	128,98 +/- 28,31	73	189

^a Presença de ativação metabólica: - ausente, + presente; ^b Número de testes realizados; ^c Desvio Padrão.

Estes dados correspondem a 177 experimentos realizados consecutivamente no período de 05/00 a 10/2001.

Faixa de mutação espontânea citada na literatura (Maron e Ames, 1983):

TA98: 30 a 50 revertentes por placa.

TA100: 120 a 200 revertentes por placa.

Histórico dos valores do controle negativo (H₂O) para as linhagens de Salmonella typhimurium no GENOTOX - Laboratório de Genotoxicidade do Centro de Biotecnologia - UFRGS.

Linhagens	S9 ^a	n ^b	Médias de Revertentes Espontâneos	Variação	
				Mínima	Máxima
TA98	-	136	20,36 +/- 12,39	6	36
TA98	+	134	26,04 +/- 14,95	5	51
TA100	-	107	123,40 +/- 28,71	66	176
TA100	+	113	121,29 +/- 26,00	70	176

^a Presença de ativação metabólica: - ausente, + presente; ^b Número de testes realizados; ^c Desvio Padrão.

Estes dados correspondem a 177 experimentos realizados consecutivamente no período de 05/00 a 10/2001

Histórico dos valores do controle positivo para as linhagens de Salmonella typhimurium no GENOTOX - Laboratório de Genotoxicidade do Centro de Biotecnologia - UFRGS.

Linhagens	S9 ^a	Controle Positivo	n ^b	Média Revertentes	Variação	
					Mínima	Máxima
TA98	-	4NQO	133	1050,13 +/- 467,02	24	640
TA98	+	AFB ₁	135	323,29 +/- 200,06	91	1015
TA100	-	NaN ₃	107	721,44 +/- 307,27	248	1200
TA100	+	AFB ₁	111	738,41 +/- 296,62	209	1600

^a Presença de ativação metabólica: - ausente, + presente; ^b Número de testes realizados; ^c Desvio Padrão.

Estes dados correspondem a 177 experimentos realizados consecutivamente no período de 05/00 a 10/2001

Anexo 2 - Resultados do teste *Salmonella*/Microsoma das amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba.

Arroio Dilúvio 1ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	15,6	4.62	1,24	100	21	3.61	1,19
200	11	1.00	0,87	200	17,33	6.51	0,98
500	14	1.73	1,11	500	26	11.27	1,47
1000	10,3	3.21	0,82	1000	20	2.65	1,13
2000	9,6	5.51	0,76	2000	24,66	5.51	1,39
CN ^b	12,6	2.08		CN	17,66	4.73	
CP ^c	31,5			CP	252,33		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 39,3% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (58,8%)
 P Dose Resposta – 93,9% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado – negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 47,4% ns
 Modelo Aceitável – linear (56,5%)
 P Dose Resposta – 10,4% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	154	6.56	1,06	100	116,6	8.96	0,83
200	170	16.82	1,17	200	137,66	10.79	0,98
500	171,33	12.42	1,18	500	84	6.08	0,60
1000	146	8.49	1,02	1000	92,66	18.45	0,66
2000	175,33	30.24	1,20	2000	69,33	14.19	0,49
CN ^b	145	2.65		CN	139,33	10.97	
CP ^c	1810			CP	426,33		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 14,9% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (19%)
 P Dose Resposta – 5,9% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 0%
 Modelo Aceitável – bernstein (22,9%)
 P Dose Resposta – 100%
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - tóxico

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Arroio Dilúvio

2ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	15,5	2.12	0,96	100	44,3	16.77	0,84
200	20,33	3.06	1,27	200	62,3	9.02	1,18
500	11	5.29	0,68	500	34,6	11.93	0,66
1000	16,33	10.50	1,02	1000	38,3	7.64	0,73
2000	11	4.58	0,68	2000	27,6	13.01	0,52
CN ^b	16	2.00		CN	52,6	2.89	
CP ^c	180,33			CP	690,66		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 40,1% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (46%)
 P Dose Resposta – 89,3% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 5,7% ns
 Modelo Aceitável – linear (31,8%)
 P Dose Resposta – 99,5% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado – tóxico

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	106,66	3.06	1,26	100	163,33	18.33	1,13
200	88,66	21.13	1,05	200	187,33	57.65	1,30
500	85,66	10.79	1,01	500	156,66	16.65	1,09
1000	89	1.00	1,05	1000	150,66	14.57	1,04
2000	100,33	17.01	1,19	2000	188,33	27.54	1,31
CN ^b	84	5.57		CN	143,66	27.43	
CP ^c	861,33			CP	1136		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 26,2% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (22,4%)
 P Dose Resposta – 18,5% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 15,3% ns
 Modelo Aceitável – linear (16,3%)
 P Dose Resposta – 8,9% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Lago Guaíba após o arroio Dilúvio

1ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	13	5.20	1,05	100	27,66	6.66	0,88
200	12	3.46	0,97	200	37,66	1.15	1,20
500	11,66	2.08	1,02	500	22	2.00	0,70
1000	12	2.65	0,97	1000	23,33	8.02	0,74
2000	6,66	1.15	0,54	2000	27,66	9.81	0,88
CN ^b	12,33	2.52		CN	31,33	2.08	
CP ^c	16,66			CP	402,66		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 4,7%
 Modelo Aceitável – linear (81,2%)
 P Dose Resposta – 99,9% ns^d
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado – tóxico

Análise Estatística:

P Análise Variância – 13,4% ns
 Modelo Aceitável – linear (10,4%)
 P Dose Resposta – 80,5% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado – negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	84,33	8.08	1,04	100	92,66	9.50	1,26
200	95,33	1.15	1,20	200	90	14.42	1,23
500	79,33	14.57	0,97	500	81,33	3.79	1,11
1000	78,33	4.16	0,96	1000	103,66	18.58	1,42
2000	81	4.00	1,00	2000	59,66	15.50	0,81
CN ^b	84	19.97		CN	73	9.54	
CP ^c	74			CP	354,66		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 55,2% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (48,8%)
 P Dose Resposta – 75,7% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 1,2%
 Modelo Aceitável – lintox2 (15,6%)
 P Dose Resposta – 1,4%
 Revertentes/ml -
 Limite de Confiança – (0,012; 0,073)
 Resultado – indício

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Lago Guaíba após o arroio Dilúvio

2ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	16,5	2.12	0,79	100	56	16.5	1,37
200	16	11.36	0,77	200	119	35.50	2,90
500	16,66	4.16	0,80	500	38	12.12	0,93
1000	13,33	2.08	0,64	1000	44	19.22	1,07
2000	12	4.36	0,58	2000	28	9.45	0,68
CN ^b	20,66	4.37		CN	41	11.68	
CP ^c	352			CP	523		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 63,1% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (93,7%)
 P Dose Resposta – 93,8% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - tóxico

Análise Estatística:

P Análise Variância – 1,0%
 Modelo Aceitável – bernstein (59,8%)
 P Dose Resposta – 0,2%
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança – (0,150; 0,467)
 Resultado - positivo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	161	1.00	0,90	100	208,66	9.61	0,90
200	165,66	9.71	0,93	200	288,33	72.75	1,28
500	153	5.00	0,86	500	218	2.65	0,97
1000	162	10.58	0,91	1000	256,66	45.65	1,14
2000	142,33	8.50	0,80	2000	277,33	23.71	1,23
CN ^b	177,66	14.47		CN	224,66	19.43	
CP ^c	1647,33			CP	504,66		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 0,9%
 Modelo Aceitável – linear (13,6%)
 P Dose Resposta – 99,9% ns^d
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 7,3% ns
 Modelo Aceitável – linear (12%)
 P Dose Resposta – 2,9%
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Lago Guaíba ponta inferior do delta do Jacuí

1ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	16	3.00	0,87	100	21	4.36	0,67
200	17,5	2.12	0,95	200	32	9.90	1,03
500	21	5.57	1,14	500	24	3.00	0,77
1000	10	6.93	0,54	1000	25	5.00	0,80
2000	8	3.00	0,44	2000	24,33	2.31	0,78
CN ^b	18,33	7.51		CN	31	1.00	
CP ^c	352			CP	316		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 6,9% ns^d
 Modelo Aceitável – Linear (54,5%)
 P Dose Resposta – 99,7% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - tóxico

Análise Estatística:

P Análise Variância – 11% ns
 Modelo Aceitável – linear (7,5%)
 P Dose Resposta – 69,9% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	112	8.72	1,08	100	106,33	8.33	0,88
200	114	11.79	1,10	200	120,3	7.37	1,00
500	97	6.56	0,94	500	104,66	10.69	0,86
1000	102,66	16.56	0,99	1000	107,66	2.08	0,89
2000	98	4.36	0,95	2000	88,66	16.20	0,73
CN ^b	103	3.61		CN	120,33	11.15	
CP ^c	1220			CP	638,66		

Análise Estatística:

P Análise Variância - 24% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (31,4%)
 P Dose Resposta – 93,2% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 2,5%
 Modelo Aceitável – linear (38,5%)
 P Dose Resposta – 99,9% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Lago Guaíba ponta inferior do delta do Jacuí

2ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
μl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	μl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	28,66	14.22	1,14	100	51,3	12.66	1,06
200	18	6.24	0,75	200	50,5	3.54	1,04
500	13,33	1.53	0,53	500	57,6	5.86	1,19
1000	15,33	4.93	0,61	1000	38,3	8.96	0,79
2000	24,33	7.77	0,97	2000	49,6	9.81	1,02
CN ^b	25	3.00		CN	48,6	32.58	
CP ^c	352			CP	736		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 8,7% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (5,4%)
 P Dose Resposta – 52,6% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 76,5% ns
 Modelo Aceitável – linear (67,7%)
 P Dose Resposta – 66,1% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
μl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	μl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	160	6.93	1,08	100	246,66	6.51	1,08
200	162,33	4.04	1,09	200	272,66	54.22	1,19
500	139,66	10.02	0,94	500	235	14.11	1,03
1000	149,66	15.28	1,01	1000	184,33	22.37	0,80
2000	166,66	16.01	1,12	2000	196,33	28.57	0,86
CN ^b	148	12.29		CN	227,66	18.34	
CP ^c	1656,66			CP	699		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 10,1% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (9%)
 P Dose Resposta – 12,1% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 1,7%
 Modelo Aceitável – linear (8,7%)
 P Dose Resposta – 99,7% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significativa.

Rio Gravataí

1ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	15	2.65	1,32	100	17,66	5.86	0,63
200	22	9.85	1,94	200	29,66	10.79	1,07
500	15	5.29	1,32	500	30	1.00	1,08
1000	14,33	1.15	1,26	1000	27	11.79	0,97
2000	16,66	5.03	1,47	2000	33,33	7.37	1,20
CN ^b	11,33	2.89		CN	27,66	7.09	
CP ^c	464			CP	224		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 27,4% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (22,2%)
 P Dose Resposta – 22,2% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 18,3% ns
 Modelo Aceitável – linear (26,45)
 P Dose Resposta – 5,2% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	110,33	20.13	0,97	100	113	25.06	0,98
200	117,33	5.69	1,03	200	105,3	27.47	0,91
500	93,33	5.13	0,82	500	96	17.00	0,83
1000	106,33	12.50	0,93	1000	87	2.83	0,76
2000	110,66	23.46	0,97	2000	63,66	44.74	0,55
CN ^b	113,33	10.21		CN	115	4.00	
CP ^c	693,33			CP	1108		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 40,2% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (29,6%)
 P Dose Resposta – 57,3% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 25,4% ns
 Modelo Aceitável – linear (99,8%)
 P Dose Resposta – 99,1% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - tóxico

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Rio Gravataí

2ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	11	2.00	0,68	100	86,5	53.03	1,51
200	14,5	2.12	0,90	200	53,6	2.52	0,94
500	24	7.00	1,50	500	50	0.00	0,87
1000	14,66	7.09	0,91	1000	51,5	6.36	0,90
2000	14	4.48	0,87	2000	45,3	4.62	0,79
CN ^b	16	9.90		CN	57,3	7.64	
CP ^c	43,33			CP	792		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 34,1% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (24,8%)
 P Dose Resposta – 42,4% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 18,9% ns
 Modelo Aceitável – linear (16,7%)
 P Dose Resposta – 85,2% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	126	10.15	1,08	100	182,66	12.86	0,93
200	156	31.51	1,34	200	213,5	4.95	1,09
500				500	181,33	18.88	0,93
1000	112	0.00	0,96	1000	135,33	14.19	0,69
2000	78,66	0.58	0,67	2000	179,5	6.36	0,92
CN ^b	116	8.49		CN	194,33	10.02	
CP ^c	702,5			CP	837,33		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 0,3%
 Modelo Aceitável – linear (8,45)
 P Dose Resposta – 100% ns^d
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 0,1%
 Modelo Aceitável – bernstein (10,2%)
 P Dose Resposta – 100% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Rio dos Sinos

1ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	13	2.00	1,03	100	50,33	5.77	1,07
200	14	1.00	1,11	200	56,33	7.09	0,95
500	12	4.36	0,95	500	49,66	5.86	1,08
1000	8,6	4.04	0,68	1000	52,66	4.16	1,02
2000	12	5.66	0,95	2000	54,66	8.39	0,98
CN ^b	12,6	0.58		CN	54	2.00	
CP ^c	32			CP	861,66		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 42,45% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (44,9%)
 P Dose Resposta – 86,9% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 71,5% ns
 Modelo Aceitável – linear (61,3%)
 P Dose Resposta – 35,8% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	68,66	17.56	0,83	100	99,66	26.58	1,11
200	83,33	21.78	1,01	200	116	17.52	1,29
500	86,33	3.51	1,04	500	109,3	27.59	1,22
1000	77	25.24	0,93	1000	97,6	21.55	1,09
2000	60,66	8.50	0,73	2000	102	25.24	1,14
CN ^b	82,33	10.26		CN	89,3	5.51	
CP ^c	615,66			CP	913,6		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 35% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (55,5%)
 P Dose Resposta – 94,7% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 74,1% ns
 Modelo Aceitável – linear (62,4%)
 P Dose Resposta – 43,8% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Rio dos Sinos

2ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	8,33	1.15	0,55	100	64	24.02	1,04
200	15,33	4.16	1,02	200	63,3	9.29	1,03
500	11,66	4.04	0,77	500	33	8.19	0,54
1000	9,33	1.53	0,62	1000	36,6	2.31	0,60
2000	9	1.41	0,60	2000	43,3	3.21	0,71
CN ^b	15	2.00		CN	61,3	34.95	
CP ^c	82,33			CP	544		

Análise Estatística:

P Análise Variância
 Modelo Aceitável – não foi encontrado
 P Dose Resposta
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância - - 6,3% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (7%)
 P Dose Resposta – 93,9% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	93,33	18.88	1,00	100	171,33	7.51	1,09
200	109	19.05	1,17	200	171	32.53	1,09
500	124,66	17.47	1,34	500	151	8.89	0,96
1000	116	13.53	1,25	1000	146,66	20.82	0,93
2000	77,66	8.14	0,83	2000	229	27.84	1,46
CN ^b	92,5	16.26		CN	156,33	13.05	
CP ^c	575,5			CP	1327,33		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 3%
 Modelo Aceitável - lintox1 (75,9%)
 P Dose Resposta – 0,2%
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança – (0,094; 0,276)
 Resultado - indício

Análise Estatística:

P Análise Variância – 0,7%
 Modelo Aceitável – bernstein (72,3%)
 P Dose Resposta – 92,2% ns^d
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Rio Caí

1ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	12	6.24	0,73	100	20,33	5.77	0,90
200	17	7.07	1,04	200	17,66	8.08	0,77
500	8,66	5.13	0,53	500	22,	6.00	0,97
1000	14,33	3.21	0,88	1000	18,	0.00	0,79
2000	11,33	3.51	0,69	2000	18,66	12.34	0,82
CN ^b	16,33	4.73		CN	22,66	6.66	
CP ^c	352			CP	224		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 40,9% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (31,9%)
 P Dose Resposta – 67,8% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 94,4% ns
 Modelo Aceitável – linear (91,4%)
 P Dose Resposta – 66,5% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado – negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	124,6	17.24	0,87	100	96,6	26.50	0,90
200	160	13.86	1,12	200	96,6	39.89	0,90
500	130	0.00	0,91	500	108	15.10	1,01
1000	144	10.39	1,00	1000	110	18.00	1,03
2000	147,3	25.32	1,03	2000	136	54.37	1,27
CN ^b	142,6	18.58		CN	106,3	29.02	
CP ^c	828,3			CP	842,6		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 23,8% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (19%)
 P Dose Resposta – 22,2% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 68,6% ns
 Modelo Aceitável – linear (77,1%)
 P Dose Resposta – 13,7% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Rio Caí

2ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	13,33	3.79	0,93	100	42	10.54	1,31
200	14,33	7.09	1,00	200	58,6	0.58	1,83
500	13,66	1.53	0,93	500	55,3	5.51	1,73
1000	13,66	4.04	0,93	1000	39	7.55	1,22
2000	16,33	3.51	1,13	2000	52	2.65	1,63
CN ^b	14,33	1.53		CN	32	6.08	
CP ^c	46			CP	224		

Análise Estatística:

P Análise Variância - 96,1% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (97,4%)
 P Dose Resposta – 24,9% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 0,3%
 Modelo Aceitável – bernstein (9,6%)
 P Dose Resposta – 0%
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança – (0,029; 0,068)
 Resultado - indícios

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	90	16.37	1,20	100	158,33	14.57	1,14
200	71,66	17.21	0,95	200	226	17.32	1,63
500	81,66	8.14	1,09	500	164	18.33	1,18
1000	68	29.05	0,91	1000	155	31.11	1,12
2000	72,66	9.07	0,97	2000	225	19.31	1,63
CN ^b	74,66	14.29		CN	138	20.66	
CP ^c	496			CP	961		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 73,5% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (68,3%)
 P Dose Resposta – 74% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 0,1%
 Modelo Aceitável – bernstein (59,2%)
 P Dose Resposta – 0%
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança – (0,256; 0,558)
 Resultado - indício

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Rio Jacuí

1ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	IM	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	IM
100	8,66	1.58	0,70	100	48,66	4.04	0,89
200	17	4.36	1,37	200	44,66	2.31	0,82
500	11,33	1.53	0,91	500	49,33	4.04	0,90
1000	10	3.00	0,81	1000	55	3.61	1,01
2000	8	5.29	0,64	2000	44,33	11.15	0,81
CN ^b	12,33	7.57		CN	54,33	0.58	
CP ^c	93			CP	743,33		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 35,9% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (40,4%)
 P Dose Resposta – 89,3% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 17,2% ns
 Modelo Aceitável – linear (14,7%)
 P Dose Resposta – 84,3% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	80	7.94	1,03	100	105	16.00	1,12
200	80,66	1.53	1,02	200	93	17.35	0,99
500	87,66	6.51	1,11	500	83,66	14.57	0,89
1000	69,66	8.62	0,88	1000	89,66	10.79	0,95
2000	57,66	3.06	0,73	2000	68,66	12.50	0,73
CN ^b	78,33	3.21		CN	93,33	16.65	
CP ^c	440,66			CP	724,33		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 0%
 Modelo Aceitável – linear (8,5%)
 P Dose Resposta – 100% ns^d
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 11,2% ns
 Modelo Aceitável – linear (69,2%)
 P Dose Resposta – 99,5% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Rio Jacuí

2ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	19	1.00	1,21	100	54	14.00	1,24
200	19,33	7.57	1,23	200	65	16.46	1,49
500	16,5	3.54	1,05	500	55,6	42.22	1,28
1000	14,33	5.13	0,91	1000	40,3	6.51	0,92
2000	16	6.93	1,02	2000	46,3	6.46	1,06
CN ^b	15,66	2.52		CN	43,6	16.26	
CP ^c	183			CP	224		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 82,3% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (78,5%)
 P Dose Resposta – 73,1% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 70,6% ns
 Modelo Aceitável – linear (63,8%)
 P Dose Resposta – 72,1% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	110	9.17	0,74	100	135,33	22.30	0,94
200	119,66	12.90	0,81	200	182,66	11.72	1,27
500	107,66	13.58	0,72	500	180,66	21.57	1,25
1000	102,66	4.04	0,69	1000	181,66	15.57	1,26
2000	121,66	13.05	0,82	2000	215	28.51	1,49
CN ^b	147,66	62.29		CN	143,66	27.43	
CP ^c	1013			CP	1136		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 38,5% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (29,2%)
 P Dose Resposta – 66% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 0,9%
 Modelo Aceitável – linear (17%)
 P Dose Resposta – 0,1%
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança – (0,02; 0,05)
 Resultado - indício

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Rio Taquarí

1ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	18,33	6.11	1,61	100	49,33	5.77	0,83
200	14	3.00	1,23	200	62	10.39	1,04
500	16	1.73	1,41	500	52	7.94	0,87
1000	12,66	2.08	1,11	1000	60,33	5.51	1,02
2000	10	3.46	0,88	2000	47,33	6.81	0,80
CN ^b	11,33	4.51		CN	59,33	5.03	
CP ^c	103			CP	690,66		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 17,5% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (25,7%)
 P Dose Resposta – 95,1% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 10,9% ns
 Modelo Aceitável – linear (13,1%)
 P Dose Resposta – 93,8% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	80	2.00	1,23	100	90,33	14.57	0,73
200	61,33	7.51	0,94	200	110	19.16	0,89
500	55	15.87	0,85	500	52	5.57	0,42
1000	68	1.73	1,05	1000	82,33	23.46	0,66
2000	72,66	18.50	1,12	2000	32,33	4.62	0,26
CN ^b	64,66	6.81		CN	123,33	65.76	
CP ^c	568			CP	809,33		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 18,6% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (14,3%)
 P Dose Resposta – 22,9% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 0,1%
 Modelo Aceitável – bernstein (71,2%)
 P Dose Resposta – 99,9% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - tóxico

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Rio Taquarí

2ª Coleta

TA98 s/S9				TA98 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	12	7.07	0,58	100	65,6	12.58	0,99
200	19,66	3.51	0,95	200	70	14.93	1,06
500	23	5.29	1,12	500	59	20.42	0,89
1000	15,66	2.52	0,76	1000	39,3	15.04	0,59
2000	17,66	2.52	0,86	2000	53,6	12.74	0,81
CN ^b	20,5	7.78		CN	66,3	9.81	
CP ^c	243			CP	224		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 19,2% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (13,1%)
 P Dose Resposta – 43,9% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 12,7% ns
 Modelo Aceitável – linear (19,7%)
 P Dose Resposta – 96% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

TA100 s/S9				TA100 c/S9			
µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	µl de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	101,33	14.05	1,09	100	161	29.70	1,12
200	110,66	13.32	1,19	200	164	23.07	1,14
500	108	8.00	1,16	500	152,66	16.77	1,06
1000	99	7.21	1,06	1000	174	11.79	1,20
2000	103,33	18.77	1,11	2000	176	61.58	1,22
CN ^b	92,66	17.90		CN	143,66	27.43	
CP ^c	927,66			CP	1136		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 67,25 ns^d
 Modelo Aceitável – linear (55,6%)
 P Dose Resposta – 39,5% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 80,4% ns
 Modelo Aceitável – linear (92%)
 P Dose Resposta – 13,4% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Controle com água desmineralizada

1ª Coleta

<i>TA98 s/S9</i>				<i>TA98 c/S9</i>			
μ l de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	μ l de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	16,33	6.03	1,09	100	20,33	5.51	1,17
200	18	6.24	1,17	200	26	4.58	1,50
500	14	4.24	0,93	500	22,33	6.35	1,29
1000	9,33	2.89	0,62	1000	27	9.64	1,56
2000	13,5	4.95	0,90	2000	19	0.00	1,09
CN ^b	15	1.00		CN	17.33	5.13	
CP ^c	43			CP	221		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 21,4% ns^d
 Modelo Aceitável – linear (27,6%)
 P Dose Resposta – 93,5% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 37,9% ns
 Modelo Aceitável – linear (28%)
 P Dose Resposta – 40,4% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

<i>TA100 s/S9</i>				<i>TA100 c/S9</i>			
μ l de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	μ l de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	188	30.51	1,07	100	111	4.24	1,09
200	169,33	17.01	0,96	200	86,66	19.66	0,85
500	159	3.61	0,90	500	82	10.44	0,80
1000	123	9.54	0,70	1000	70,33	4.73	0,69
2000	120	18.36	0,68	2000	76,33	33.98	0,75
CN ^b	175,66	12.58		CN	101,33	8.96	
CP ^c	1756			CP	426,33		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 0,1%
 Modelo Aceitável – linear (11,8%)
 P Dose Resposta – 100% ns^d
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 26,6% ns
 Modelo Aceitável – linear (44,6%)
 P Dose Resposta – 95,6% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Controle com água desmineralizada

2ª Coleta

<i>TA98 s/S9</i>				<i>TA98 c/S9</i>			
μ l de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	μ l de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	14,33	4.93	1,19	100	61	13.75	1,65
200	16	2.00	1,33	200	55,6	12.50	1,50
500	11,5	2.12	0,95	500	45,3	4.51	1,22
1000	14,66	6.03	1,22	1000	43,3	4.16	1,17
2000	15,66	5.03	1,30	2000	52	26.85	1,40
CN ^b	12	5.29		CN	37	15.87	
CP ^c	48,66			CP	224		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 80% ns ^d
 Modelo Aceitável – linear (77,4%)
 P Dose Resposta – 24,55 ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

Análise Estatística:

P Análise Variância – 42,9% ns
 Modelo Aceitável – linear (33,1%)
 P Dose Resposta – 34,3% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

<i>TA100 s/S9</i>				<i>TA100 c/S9</i>			
μ l de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM ^a	μ l de amostra	His+ /placa	Desvio Padrão	ÍM
100	94	1.41	0,94	100	158,33	4.04	1,10
200	101,33	12.22	1,02	200	177,66	9.50	1,23
500	87,33	3.79	0,87	500	158,66	20.23	1,10
1000	104	21.03	1,04	1000	134	6.00	0,93
2000	101,33	19.66	1,02	2000	201	0.58	1,39
CN ^b	99,33	2.52		CN	143,66	27.43	
CP ^c	956			CP	1136		

Análise Estatística:

P Análise Variância – 36,5% ns ^d
 Modelo Aceitável – linear (26,5%)
 P Dose Resposta – 55,8% ns
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

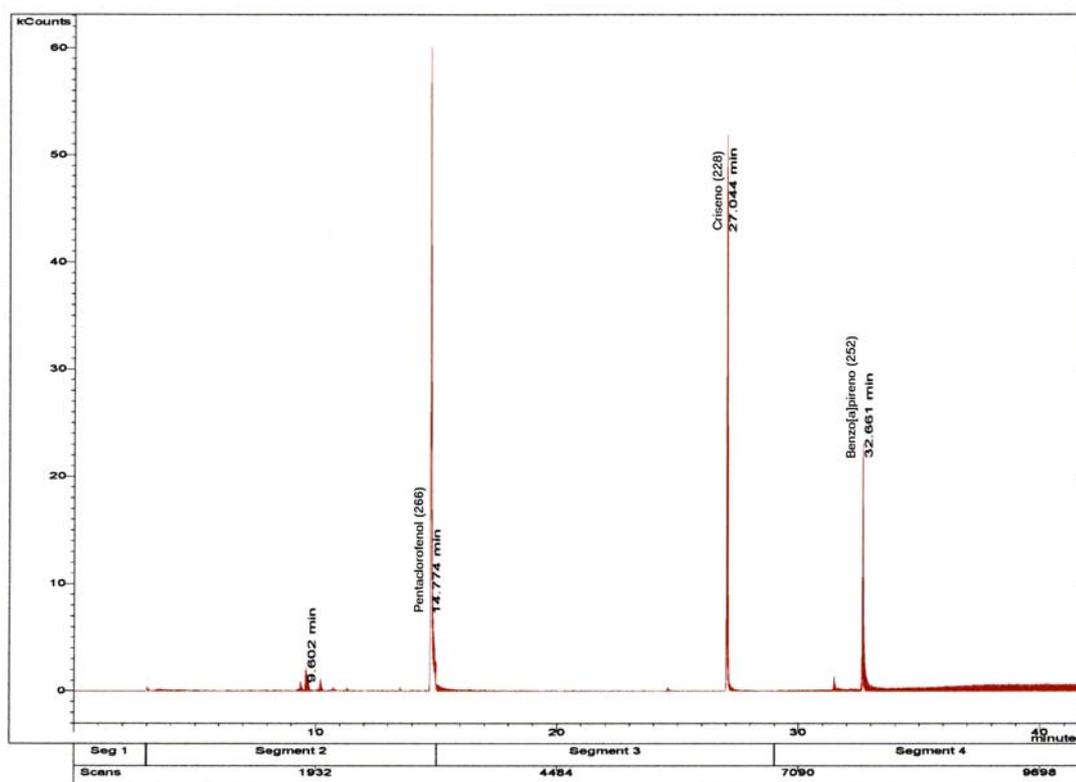
Análise Estatística:

P Análise Variância – 0,4%
 Modelo Aceitável – bernstein (8,8%)
 P Dose Resposta – 96,5%
 Revertentes/ml
 Limite de Confiança
 Resultado - negativo

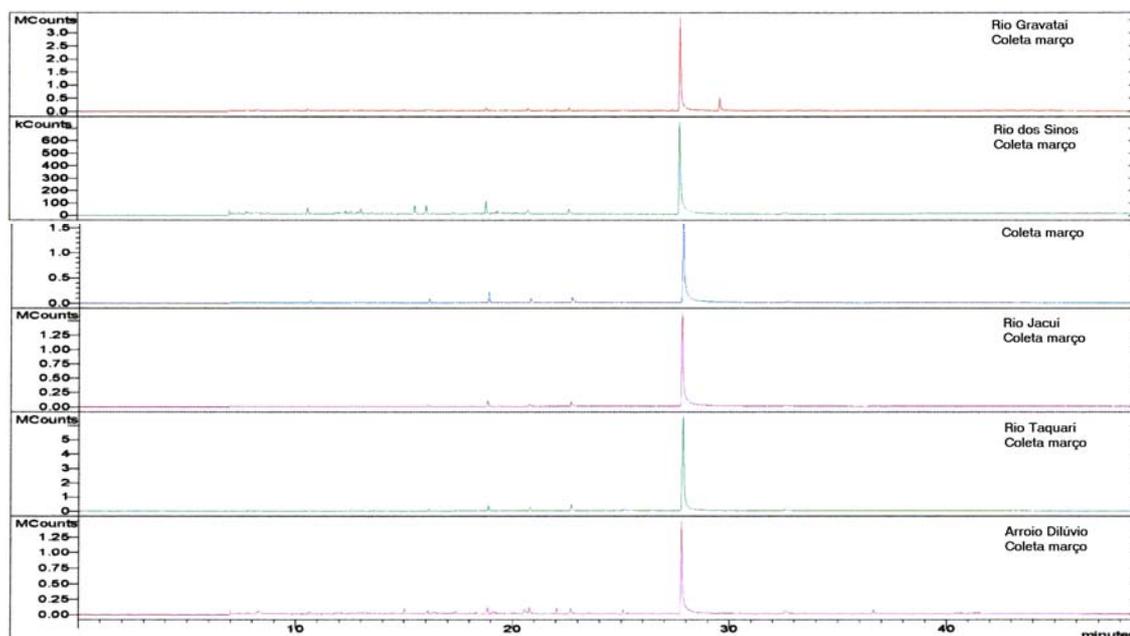
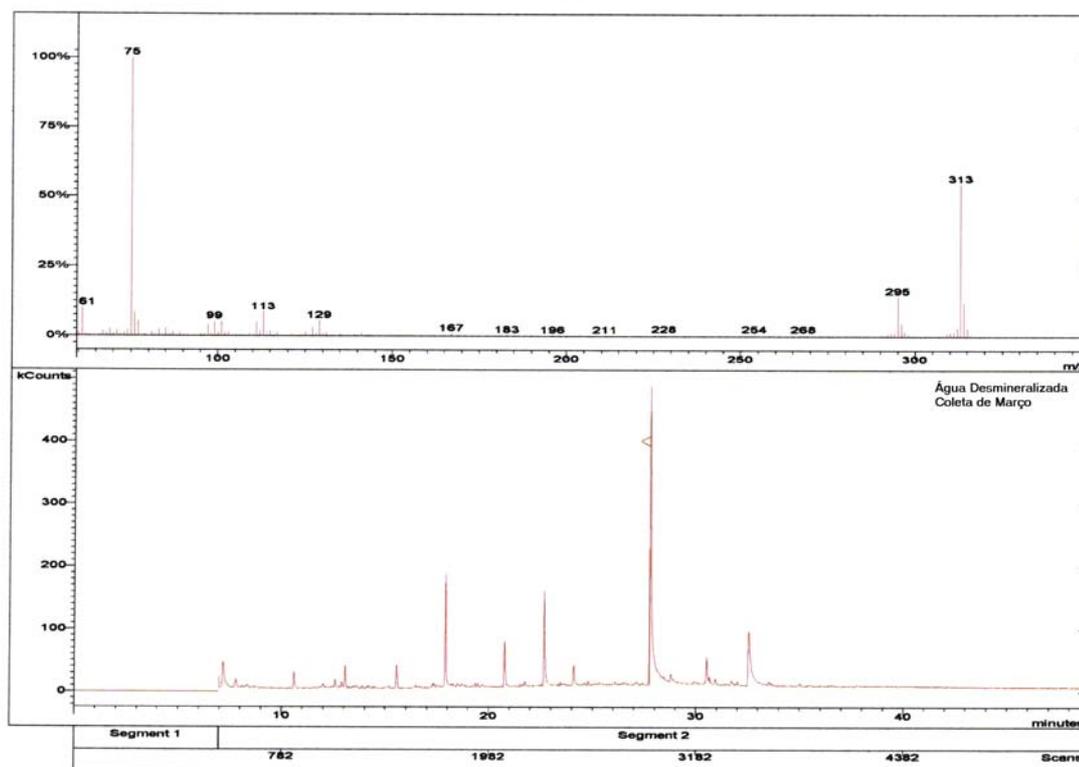
^a Índice Mutagênico; ^b Controle Negativo; ^c Controle Positivo; ^d Não significante.

Anexo 3 – Cromatogramas das análises por GC/MS das amostras da bacia do Guaíba.

Cromatograma com os compostos padrões com suas respectivas massas e tempos de retenção.



Cromatogramas referentes a algumas amostras da Bacia do Guaíba na coleta de março ilustrando o comportamento similar das amostras e do controle.



Anexo 4 - Resultados da detecção de elementos inorgânicos por PIXE nas amostras de água superficial da bacia do Lago Guaíba.

Branco – Filtro limpo

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Cl	0,001081	10,42
Ca	0,000566	9,64
Zn	0,000138	14,85

Arroio Dilúvio 1^a - Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	35,94093	32,42
Si	0,242091	9,94
S	0,059011	2,88
Cl	0,00197	32,34
K	0,15529	0,57
Ca	0,0124	2,52
Ti	0,113198	0,39
Cr	0,000442	14,03
Mn	0,001563	5,62
Fe	0,368675	0,25
Co	0,003635	6,93
Cu	0,000306	23,49
Zn	0,001291	14,28
Rb	0,002038	13,59
Sr	0,000713	29,71
Zr	0,002752	24,49

Arroio Dilúvio 2^a - Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	46,01602	28,5
Si	0,315065	8,58
S	0,039137	4,26
Cl	0,001563	42,6
K	0,187701	0,74
Ca	0,018821	2,31
Ti	0,121691	0,6
Cr	0,001121	8,73
Mn	0,002072	6,71
Fe	0,66091	0,45
Co	0,005843	7,53
Cu	0,000442	23,34

Zn	0,002582	11,46
Rb	0,002208	20,57
Sr	0,000544	44,25
Zr	0,002752	24,03
Pb	0,000544	52,4

Lago Guaíba após o arroio Dilúvio - 1ª Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Si	0,265498	5,38
S	0,004954	9,44
K	0,075075	0,37
Ca	0,012126	1,46
Ti	0,121239	0,26
Cr	0,001602	3,48
Mn	0,002391	3,39
Fe	0,947039	0,11
Co	0,010401	2,7
Ni	0,000419	16,11
Cu	0,000986	7,28
Zn	0,002317	7,01
Rb	0,002637	11,97
Sr	0,000665	22,44
Zr	0,003598	16,59
Pb	0,000394	49,72

Lago Guaíba após o arroio Dilúvio - 2ª Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	101,6522	14,78
Si	0,616299	4,72
S	0,018503	6,28
Cl	0,00124	47,14
K	0,210036	0,60
Ca	0,025241	1,8
Ti	0,299367	0,35
Cr	0,003855	3,59
Mn	0,007508	2,72
Fe	2,383708	0,28
Co	0,021386	3,2
Ni	0,00114	15,09
Cu	0,002078	8,58
Zn	0,00476	8,91
Rb	0,003218	24,22
Sr	0,002715	014,05
Zr	0,006872	16,35
Pb	0,001642	29,47

Lago Guaíba ponta inferior do delta - 1ª Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Si	0,234914	5,52
S	0,005874	7,3
K	0,06476	0,39
Ca	0,010443	1,56
Ti	0,1118	0,28
Cr	0,001523	3,57
Mn	0,002296	3,45
Fe	0,84995	0,12
Co	0,009355	2,91
Ni	0,000435	14,08
Cu	0,000894	7,44
Zn	0,002151	6,59
Rb	0,001934	15,1
Sr	0,000653	21,26
Zr	0,003408	17,02
Pb	0,000387	46,13

Lago Guaíba ponta inferior do delta - 2ª Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	95,38023	15,3
Si	0,590395	4,76
S	0,01002	10,22
Cl	0,002227	26,42
K	0,168043	0,74
Ca	0,03103	1,56
Ti	0,312275	0,37
Cr	0,004741	3,06
Mn	0,007614	2,8
Fe	2,403097	0,30
Co	0,02338	3,06
Ni	0,001257	13,56
Cu	0,001796	9,4
Zn	0,005495	7,07
Rb	0,003125	24,52
Sr	0,001975	17,53
Zr	0,005818	24,57
Pb	0,001724	29,56

Rio Gravataí - 1ª Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	86,53893	17,77
Si	0,546236	5,68
S	0,053423	3,28
Cl	0,001257	49,36
K	0,078423	0,66

Ca	0,027375	1,67
Ti	0,226085	0,41
Cr	0,002828	3,87
Mn	0,003387	4,28
Fe	0,99296	0,34
Co	0,009358	4,85
Ni	0,000454	25,04
Cu	0,001152	10,91
Zn	0,001501	28,32
Rb	0,003003	15,33
Sr	0,001746	20,20
Zr	0,0044	45,78
Pb	0,001222	26,62

Rio Gravataí - 2ª Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	108,602	15,78
Si	0,673888	4,92
S	0,01556	8,34
Cl	0,002242	31,6
K	0,254695	0,64
Ca	0,023577	2,41
Ti	0,310513	0,41
Cr	0,003873	4,11
Mn	0,005606	3,94
Fe	1,640963	0,34
Co	0,016545	4,25
Ni	0,000408	45,8
Cu	0,001325	13,83
Zn	0,003839	11,93
Rb	0,003261	23,4
Sr	0,002888	17,43
Zr	0,009037	22,9
Pb	0,001597	34,34

Rio dos Sinos - 1ª Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	21,54857	40,44
Si	0,16931	11,08
S	0,012313	10,76
Cl	0,003386	21,72
K	0,031399	1,39
Ca	0,0118	1,56
Ti	0,058797	0,97
Cr	0,001898	6,18
Mn	0,000872	15,01
Fe	0,35314	0,89

Co	0,003078	13,63
Ni	0,000103	73,9
Cu	0,000359	25,99
Zn	0,00118	3,39
Rb	0,000308	116,06
Zr	0,001385	52,63

Rio dos Sinos - 2ª Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	81,38613	14,66
Si	0,487599	4,74
S	0,010231	8,42
Cl	0,001812	26,38
K	0,129676	0,73
Ca	0,017189	2,08
Ti	0,229856	0,39
Cr	0,005174	2,36
Mn	0,004619	3,47
Fe	0,914862	0,32
Co	0,015464	3,49
Ni	0,000906	14,09
Cu	0,000965	12,6
Zn	0,00342	9,03
Rb	0,001929	27,4
Sr	0,001959	16,13
Zr	0,004034	25,06
Pb	0,001082	34,1

Rio Caí - 1ª Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	34,85995	19,24
Si	0,206929	6,54
S	0,00742	8,68
Cl	0,004247	25,27
K	0,042665	1,39
Ca	0,00864	2,91
Ti	0,088405	0,51
Cr	0,002197	4,04
Mn	0,002001	6,14
Fe	0,70082	0,21
Co	0,006126	6,63
Ni	0,000635	13,8
Cu	0,000488	18,29
Zn	0,000927	29,9
Rb	0,000879	39,25
Sr	0,000268	72,03
Zr	0,002319	43,34

Rio Cai 2^a - Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	73,70343	15,62
Si	0,445162	5
S	0,006316	12,98
Cl	0,001625	29,88
K	0,115092	0,86
Ca	0,025723	1,64
Ti	0,268906	0,37
Cr	0,005028	2,72
Mn	0,070208	2,84
Fe	2,422392	0,31
Co	0,023392	2,89
Ni	0,001717	8,88
Cu	0,002023	07,6
Zn	0,003863	8,61
Rb	0,002729	27,47
Sr	0,001226	23,88
Zr	0,005151	26,63
Pb	0,000766	53,33

Rio Jacuí 1^a - Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	69,8476	14,64
Si	0,443351	4,44
S	0,003722	17,26
Cl	0,001824	22,1
K	0,144087	0,59
Ca	0,010524	2,81
Ti	0,160625	0,41
Cr	0,001405	5,41
Mn	0,003278	3,44
Fe	0,86765	0,33
Co	0,008207	4,35
Ni	0,000271	31,84
Cu	0,000764	11,57
Zn	0,002489	8,29
Rb	0,001799	18,45
Sr	0,000937	22,39
Zr	0,004116	12,47
Pb	0,000789	33,99

Rio Jacuí 2^a - Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	116,9903	15,16
Si	0,714345	4,78

S	0,006503	18,64
Cl	0,002246	33,86
K	0,338485	0,53
Ca	0,017162	3,21
Ti	0,282775	0,42
Cr	0,003486	4,79
Mn	0,006235	3,79
Fe	1,985825	0,32
Co	0,01971	3,93
Ni	0,000771	26,55
Cu	0,001575	12,67
Zn	0,006201	7,97
Rb	0,007106	13,07
Sr	0,002916	17,61
Zr	0,007844	17,39
Pb	0,001676	33,07

Rio Taquarí 1ª - Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	38,29635	18
Si	0,246791	5,62
S	0,009095	7
Cl	0,001627	20,24
K	0,050206	1,04
Ca	0,008134	2,73
Ti	0,101275	0,51
Cr	0,001035	6,15
Mn	0,002292	4,19
Fe	0,782618	0,42
Co	0,006704	4,72
Ni	0,000271	22,63
Cu	0,000813	8,76
Zn	0,001479	10,8
Sr	0,000493	29,94
Zr	0,001849	21,9
Pb	0,000665	31,83

Rio Taquarí 2ª - Coleta

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
Al	69,3993	15,64
Si	0,428338	4,95
S	0,006345	12,18
Cl	0,001796	25,18
K	0,008482	0,95
Ca	0,014126	2,66
Ti	0,2514	0,39

Cr	0,002185	5,45
Mn	0,006135	3,05
Fe	2,131393	0,33
Co	0,019903	3,19
Ni	0,000419	30,39
Cu	0,002664	5,39
Zn	0,003382	8,8
Rb	0,003382	19,88
Sr	0,001616	19,2
Zr	0,004639	36,26
Pb	0,000688	58,36

Água desmineralizada

Elemento	Quantidade (ppm)	Erro (%)
S	0,001115	21,42
Cl	0,001494	11,79
K	0,000213	34,56
Ca	0,00083	17,12
Ti	0,000119	27,85
Fe	0,000783	8,48
Zn	0,000166	54,76

Anexo 5 – Correlações entre o índice mutagênico das linhagens TA100 e TA98, local e época de coleta e presença e ausência de metabolização pela Análise Fatorial da Variância.

Análise fatorial da variância entre os dados da TA100^a

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F ^b	P (signif. <0,05)
Local	7	1.42263333	0.20323333	5.16	0.0001
Época	1	1.44060000	1.44060000	36.57	<.0001
S9	1	0.07041667	0.07041667	1.79	0.1860
Local X Época	7	0.56993333	0.08141905	2.07	0.0600
Época X S9	1	1.77126667	1.77126667	44.96	<.0001*
Local X S9	7	2.60718333	0.37245476	9.45	<.0001*
Local X Época X S9	7	0.58523333	0.08360476	2.12	0.0536

^a Índice mutagênico referente a maior concentração de amostra; ^b Fator de calculo; *Interações significantes.

Análise fatorial da variância entre os dados da TA98^a

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F ^b	P (signif. <0,05)
Local	7	1.70132917	0.24304702	3.32	0.0044
Época	1	0.00006667	0.00006667	0.00	0.9760
S9	1	0.34320417	0.34320417	4.69	0.0341
Local X S9	7	0.55849583	0.07978512	1.09	0.3800
Local X Época	7	3.61850000	0.51692857	7.06	<.0001*
Época X S9	1	0.08881667	0.08881667	1.21	0.2747
Local X Época X S9	7	0.64635000	0.09233571	0.26	0.2834

^a Índice mutagênico referente a maior concentração de amostra; ^b Fator de calculo; *Interações significantes.

Anexo 6 – Correlação entre IM (concentração de 2000 μ L) das linhagens TA100 e TA98 e os parâmetros físico-químicos e valores dos elementos inorgânicos encontrados pelo Teste de Correlação de Postos de Sperman.

Correlação de Sperman entre os dados físico químicos e o IM da TA100 e TA98 da primeira coleta.

	T ar °C		T água°C		pH		Condut.		OD mg/L	
	r _s ^a	p ^b	r _s	p	r _s	p	r _s	p	r _s	p
TA98	-0,359	0,382	-0,167	0,693	0,407	0,317	0,143	0,736	-0,190	0,651
TA98S9	0,311	0,453	-0,381	0,352	0,575	0,136	0,905	0,002*	-0,881	0,004*
TA100	0,157	0,711	-0,216	0,608	0,434	0,283	0,192	0,649	-0,323	0,435
TA100S9	0,392	0,337	-0,096	0,821	0,054	0,899	0,108	0,799	-0,024	0,955

^a r_s – Coeficiente de Correlação Spearman; ^b p - < 0,05 significante; * correlações significantes

Correlação de Sperman entre os dados físico químicos e o IM da TA100 e TA98 da segunda coleta.

	T ar °C		T água°C		pH		Condut.		OD mg/L	
	r _s ^a	p ^b	r _s	p						
TA98	-0,048	0,910	-0,310	0,456	-0,275	0,509	-0,381	0,352	0,143	0,736
TA98S9	-0,108	0,799	-0,619	0,102	-0,132	0,756	-0,619	0,102	0,524	0,183
TA100	0,491	0,217	0,119	0,779	0,683	0,062	0,286	0,493	0,167	0,693
TA100S9	0,491	0,217	-0,167	0,693	-0,287	0,490	-0,048	0,911	-0,333	0,420

^a r_s – Coeficiente de Correlação Spearman; ^b p - < 0,05 significante; * correlações significantes

Correlação de Spearman para os dados de elementos inorgânicos e o IM da TA100 e TA98 da primeira coleta.

	TA 98		TA 98 S9		TA 100		TA 100 S9	
	r_s^a	P ^b	r_s	p	r_s	p	r_s	p
Al	0,551	0,157	0,240	0,568	0,078	0,865	-0,524	0,182
Si	0,143	0,736	0,095	0,823	0,000	1,000	-0,503	0,204
S	0,357	0,385	0,690	0,058	0,443	0,272	-0,383	0,349
K	-0,381	0,352	0,333	0,420	0,192	0,649	-0,539	0,168
Ca	0,095	0,823	0,786*	0,021	0,216	0,608	-0,108	0,799
Ti	-0,071	0,867	0,214	0,610	-0,072	0,866	-0,395	0,333
Cr	0,571	0,139	0,190	0,651	-0,371	0,365	0,611	0,108
Mn	0,132	0,756	-0,180	0,670	-0,217	0,606	-0,259	0,536
Fe	0,048	0,911	-0,143	0,736	-0,180	0,670	-0,180	0,670
Co	-0,288	0,588	-0,311	0,453	-0,133	0,754	-0,090	0,831
Ni	0,025	0,954	-0,356	0,387	-0,031	0,942	0,451	0,262
Cu	0,036	0,932	-0,279	0,504	-0,183	0,665	-0,183	0,665
Zn	-0,359	0,382	-0,395	0,333	-0,349	0,396	-0,265	0,526
Rb	-0,214	0,610	0,476	0,233	0,048	0,910	-0,108	0,799
Sr	-0,095	0,823	0,262	0,531	0,012	0,978	-0,359	0,382
Zr	-0,119	0,779	0,095	0,823	-0,216	0,608	-0,168	0,691
Pb	0,295	0,479	-0,246	0,558	-0,259	0,535	-0,457	0,234

^a r_s – Coeficiente de Correlação Spearman; ^b p - < 0,05 significante; * correlações significantes

Correlação de Spearman para os dados de elementos inorgânicos e o IM da TA100 e TA98 da segunda coleta.

	TA 98		TA 98 S9		TA 100		TA 100 S9	
	r_s^a	P ^b	r_s	p	r_s	p	r_s	p
Al	0,429	0,289	0,429	0,289	-0,786*	0,021	0,000	10,000
Si	0,429	0,289	0,429	0,289	-0,786*	0,021	0,000	10,000
S	-0,467	0,243	-0,778*	0,023	-0,108	0,799	0,024	0,955
K	0,286	0,493	0,024	0,955	-0,548	0,160	0,190	0,651
Ca	0,000	10,000	0,108	0,799	0,036	0,933	-0,491	0,217
Ti	0,476	233	0,476	0,233	-0,429	0,289	-0,643	0,086
Cr	-0,119	0,779	0,214	0,610	-0,262	0,531	-0,071	0,867
Mn	0,238	0,570	0,619	0,102	-0,071	0,867	-0,310	0,456
Fe	0,167	0,693	0,548	0,160	0,000	10,000	-0,429	0,289
Co	0,204	0,629	0,563	0,146	0,024	0,955	-0,479	0,230
Ni	-0,060	0,888	0,419	0,310	-0,084	0,844	-0,132	0,756
Cu	0,024	0,955	0,333	0,420	-0,095	0,823	-0,405	0,320
Zn	0,503	0,204	0,671	0,069	-0,431	0,286	-0,060	0,888
Rb	0,619	0,102	0,524	0,183	-0,405	0,320	-0,167	0,693
Sr	0,431	0,286	0,359	0,382	-0,790*	0,020	-0,120	0,778
Zr	0,500	0,207	0,452	0,260	-0,762*	0,028	-0,286	0,493
Pb	0,464	0,247	0,512	0,194	-0,659	0,076	-0,024	0,956

^a r_s – Coeficiente de Correlação Spearman; ^b p - < 0,05 significante; * correlações significantes