



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



Avaliação da Mutagenicidade das Águas do Canal São Gonçalo, Pelotas, RS, 2005.

MICHELE ULLRICH DE SÁ

MONOGRAFIA DE CONCLUSÃO DE CURSO



Universidade Federal de Pelotas

Campus Universitário s/nº
Caixa-postal 354 CEP 96010-900
Pelotas – RS – Brasil

2006

MICHELE ULLRICH DE SÁ

**Avaliação da Mutagenicidade das
Águas do Canal São Gonçalo, Pelotas,
RS, 2005.**

Monografia apresentada como um dos requisitos ao grau de Bacharel em Ciências Biológicas, área de concentração em Meio Ambiente do Curso de Ciências Biológicas do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas – RS. Orientação: Dr^a Maria da Graça Martino-Roth.



Pelotas
Estado do Rio Grande do Sul – Brasil
2006

*"A Natureza, para ser comandada,
precisa ser obedecida".*

Francis Bacon

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro a minha família que sempre me apoiou e incentivou mesmo em frente a grandes dificuldades, não me consentindo desistir antes de tentar.

Agradeço também às minhas colegas de curso Alessandra Rocha, Dávia Talgatti, Fernanda Vasconcellos, Taciane Finatto, que foram em muito responsáveis pela minha manutenção na Faculdade.

Agradeço também a professora Maria da Graça, Bióloga, Doutora em Biotecnologia pela orientação e a professora Loraine André Isoldi, Engenheira Química, Doutora em Ciências, pelo auxílio com as análises físico-químicas, bem como a laboratorista Ana Elisa Nunes Bender pela assistência na contagem das células, todas da Universidade Católica de Pelotas.

Resumo

SÁ, UM. Avaliação da mutagenicidade das águas do Canal São Gonçalo, Pelotas, RS, 2005. Monografia sob a orientação da Dr^a. Maria da Graça Martino-Roth (Bacharel em Ciências Biológicas) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

O presente estudo teve por objetivo avaliar a presença de substâncias mutagênicas nas águas do Canal São Gonçalo, recurso natural de grande extensão que conecta a laguna Lagoa dos Patos a Lagoa Mirim, circundante a cidade de Pelotas, fato que o torna suscetível à carga poluidora proveniente de efluentes residênciais, agrícolas e industriais gerados pela cidade e despejados em seu leito. Para avaliação dessa influência antrópica neste recurso hídrico utilizou-se o teste *Allium cepa*, mundialmente reconhecido pela comunidade científica, sendo recomendado devido a sua praticidade, baixo custo e rapidez na detecção de substâncias mutagênicas em amostras estudadas, também foram realizadas análises bioquímicas da água como pH, acidez, condutividade, índice de cloretos, dureza e alcalinidade dos quatro pontos amostrados. O teste de *Allium cepa* consistiu no crescimento radicular de bulbos de cebola expostos às águas do Canal São Gonçalo, com posterior observação microscópica das células das pontas dessas raízes verificando a presença de anomalias do ciclo mitótico, como pontes anafásicas, cromossomos perdidos na anáfase, cromossomos atrasados, desorganização cromossômica e anomalias interfásicas, identificando células com micronúcleos, células binucleadas, células com núcleos ligados e brotos. Este teste foi executado durante todas as estações do ano de 2005, em quatro pontos ao longo do Canal São Gonçalo: Barragem Eclusa (Po 1), Canal Santa Bárbara (Po 2), Arroio Pelotas (Po 3), e barra do Laranjal (Po 4), concomitantemente a um controle submetido à água tratada. Os dados obtidos foram computados em um banco de dados do programa SPSS “for Windows”, versão 10.0 e analisados estatisticamente através do teste de *Mann-Whitney U*. Ao final do estudo foi possível averiguar que todos os pontos analisados demonstraram um relevante número das variáveis avaliadas, apresentando um aumento significativo das anomalias quando comparados ao controle, o que denota que nestes locais existe a presença de poluentes com potencial genotóxico.

Palavras chaves: *Allium* teste, águas, citotoxicidade, genotoxicidade

Abstract

SÁ, UM. Canal São Gonçalo Strait water mutagenicity evaluation, Pelotas, RS, 2005. Monograph Dr^a. Maria da Graça Martino-Roth, adviser (Biological Science Bachelor) – Institute of Biology, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2006.

This study has the aim of evaluating the mutagenic substances presence in the São Gonçalo Strait water, a natural resource of a big extension that connects the Lagoa dos Patos Firth with Mirim Lagoon, that is around Pelotas city, fact that makes it susceptible to the pollutant charge that comes from home, farm and industrial effluents made by the city and deposited on its bed. To evaluate this entropic influence in that hydrae resource was the made the test *Allium cepa*, worldwide recognized by the scientific community, being recommended because its practicability, low costs and fast detection of mutagenic substances in the samples studied. The test consisted in the radicular growth of onion bulbs exposed to São Gonçalo Strait water, with later microscopic observance of the top cells of their roots verifying the anomalies presence of the mitotic cycle, as anaphasic bridges, lost chromosomes in the anaphases delayed chromosomes, chromosomal disorganization, and interphasic anomalies identifying the cells with micro-nucleus, bi-nucleus cells, and cells with nucleus interchanged and shooting. This test was executed during all stations of 2005 year, in four points along São Gonçalo Strait: Damn Eclusa (Po 1), Santa Bárbara Strait (Po 2), Pelotas brook (Po 3), and bar of Laranjal (Po 4), together with treated water control. The data obtained were computed in a data source in the program SPSS “for Windows”, 10.0 version and statically analyzed through the *Mann-Whitney U* test. It was also made biochemical analysis of the water pH, acidity, conductivity, chloride indices, hardness and alcalinity of the four points sampled. By the end of the study it was possible to verify that all points analyzed have shown a relevant number of the alterations evaluated, presenting a significant growth of the anomalies when compared to the control, fact that demonstrates that in this points there is pollutants presence with genotoxic potential.

Key words: *Allium* test, cytotoxicity, genotoxicity, water

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	pg.1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	pg.4
2.1. CRESCIMENTO DEMOGRÁFICO E A POLUIÇÃO	pg.4
2.2. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS RECURSOS HÍDRICOS	pg.5
2.3. ÁREA DE ESTUDO	pg. 8
2.4. TESTE CITOGENÉTICO	pg.10
2.5. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA	pg.12
2.5.1. POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)	pg.12
2.5.2. ACIDEZ	pg.13
2.5.3. ALCALINIDADE	pg.14
2.5.4. CLORETOS	pg.14
2.5.5. DUREZA	pg.15
2.5.6. CONDUTIVIDADE	pg.16
3. MATERIAL E MÉTODO	pg.17
3.1. TESTE DE MUTAGENICIDADE	pg.19
3.2. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA	pg.20
3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA	pg.20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	pg.21
5. CONCLUSÃO	pg.36
6. ANEXOS	pg.37
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	pg.42

LISTA DE FIGURAS

- 1.1. Figura 1 - *Imagem de satélite da localização do Canal São Gonçalo.*
..... pg.9
- 1.2. Figura 2 - *Imagem de satélite do Canal São Gonçalo, em época de enchente*..... pg.10
- 1.3. Figura 3 - *Mapa demonstrativo dos locais de amostragem* pg.17
- 1.4. Figura 4 - *Foto da Barragem Eclusa*..... pg.18
- 1.5. Figura 5 - *Foto do Canal Santa Bárbara*..... pg.18
- 1.6. Figura 6 - *Foto do Arroio Pelotas*..... pg.18
- 1.7. Figura 7 - *Foto da Barra do Laranjal*..... pg.18
- 1.8. Figura 8 - *Anomalias interfásicas (A: micronúcleo, B: células com núcleos ligados, C: broto nuclear) e anomalias mitóticas (D: cromossomo perdido na anáfase, E: anáfase desorganizada, F: ponte anafásica) visualizadas em células meristemáticas de cebola (Allium cepa L.) tratadas com água do Canal São Gonçalo, Pelotas, RS. Laboratório de Genética, UCPel, 2005.*..... pg. 22
- 1.9. Figura 9 - *Gráfico da quantidade de células em divisão encontradas nos pontos e controle.* pg.37

1.10.	Figura 10 - <i>Gráfico representativo do índice mitótico observado nos pontos e no controle.</i>	pg.37
1.11.	Figura 11 - <i>Gráfico das anomalias mitóticas encontradas nos pontos e no controle.</i>	pg.38
1.12.	Figura 12 - <i>Gráfico das anomalias interfásicas encontradas nos pontos e no controle</i>	pg.38
1.13.	Figura 13 - <i>Gráfico do total de anomalias encontradas nos pontos e no controle.</i>	pg.38
1.14.	Figura 14 - <i>Corte longitudinal da raiz de Allium cepa</i>	pg.39
1.15.	Figura 15 - <i>Disposição das divisões mitóticas na raiz</i>	pg.39
1.16.	Figura 16 - <i>Célula com micronúcleo</i>	pg.40
1.17.	Figura 17 - <i>Célula com núcleos ligados.</i>	pg.40
1.18.	Figura 18 - <i>Célula com cromossomos perdidos na telófase</i>	pg.40
1.19.	Figura 19 - <i>Anáfase desorganizada.</i>	pg.41
1.20.	Figura 20 - <i>Ponte anafásica.</i>	pg.41
1.21.	Figura 21 - <i>Célula com broto nuclear</i>	pg.41

LISTA DE TABELAS

- 1.1. Tabela 1 - *Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos analisados do Canal São Gonçalo, assim como controle, Pelotas, 2005..... pg.23*

- 1.2. Tabela 2 - *Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos analisados do Canal São Gonçalo, assim como controle, em suas respectivas estações do ano e análise das características físico-químicas dos referidos pontos analisados, Pelotas, 2005.....pgs.26 e 27*

- 1.3. Tabela 3 - *Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos do Canal São Gonçalo, assim como controle, durante a estação do verão, Pelotas, 2005. pg.31*

- 1.4. Tabela 4 - *Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos do Canal São Gonçalo, assim como controle, durante a estação do outono, Pelotas, 2005. pg.32*
- 1.5. Tabela 5 - *Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos do Canal São Gonçalo, assim como controle, durante a estação do inverno, Pelotas, 2005. pg.33*
- 1.6. Tabela 6 - *Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos do Canal São Gonçalo, assim como controle, durante a estação da primavera, Pelotas, 2005. pg.34*

1. INTRODUÇÃO

A água é parte do patrimônio do planeta, sendo condição essencial para manutenção da vida de todo ser vegetal, animal ou humano. O direito à água é um dos direitos fundamentais do ser humano e é garantido conforme o Artigo 30 da Declaração Universal dos Direitos Humanos.

O aumento da população humana e os acelerados avanços no processo da industrialização e urbanização das sociedades têm repercussões sem precedentes sobre os ecossistemas. E os corpos d'água não estão imunes a essa degradação. Os habitats de água doce ocupam uma pequena parcela da superfície do planeta, mas são de vital importância para o homem, por se constituírem em fonte apropriada e barata de água para as suas necessidades. No entanto, muitas vezes acabam se tornando um sistema de descarte de efluentes das cidades próximas.

Essa condição e o problema da gestão da água no meio ambiente urbano começam a despertar preocupação nos brasileiros principalmente em função dos problemas de abastecimento de água, bem como o esgotamento sanitário, enchentes recorrentes e a situação de extrema degradação da qualidade da água de nossos rios. Embora seja um elemento abundante no planeta, apenas 2,53% são próprias para o consumo humano. Estima-se que em 2015, quase três bilhões de pessoas - 40% da população mundial projetada - devem viver em países com dificuldades de garantir água suficiente para atender a agricultura, a indústria e as necessidades domésticas da população, tornando-se um problema com implicações políticas, econômicas e sócio ambientais.

As principais fontes de poluição que comprometem a qualidade da água para fins de abastecimento doméstico são os próprios efluentes domésticos, bem como efluentes industriais e deflúvio superficial urbano e agrícola. Os efluentes domésticos, por exemplo, são constituídos basicamente por contaminantes orgânicos, nutrientes e microorganismos, derivados do nosso esgoto e lixo

produzidos diariamente, que podem ser patogênicos. A contaminação por efluentes industriais é decorrente das matérias-primas e dos processos industriais utilizados, podendo ser complexa, devido à natureza, concentração e volume dos resíduos produzidos. A legislação ambiental tem estabelecido regras para o lançamento de efluentes industriais e a tendência é de existir um maior controle sobre esses poluentes. Mas para as condições brasileiras, não se têm dados do quanto esses poluentes contribuem para a degradação dos recursos hídricos.

Os inseticidas, herbicidas e fungicidas que foram intensivamente utilizados durante as últimas décadas para proteger plantas são facilmente levados pelas chuvas, e gradualmente alcançam os rios, lagos e o mar. Mesmo em concentrações baixas, estes compostos em maioria não-biodegradáveis ou contaminantes (p.ex.: cloretos orgânicos), podem ser perigosos devido ao efeito de bioacumulação, podendo afetar cadeias tróficas inteiras, chegando até mesmo a atingir o homem.

Muitos organismos podem ser utilizados como sentinelas para se avaliar possíveis efeitos de riscos naturais ou de origem antropológica. Existem diversos tipos de testes e análises que possibilitam a avaliação da degradação de ecossistemas aquáticos, dentre eles estão os testes de mutagenicidade e genotoxicidade, e análise bioquímica, os quais serão particularmente abordados por este trabalho.

Um estudo realizado através de teste genotóxico foi desenvolvido pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul em associação com a Universidade Luterana do Brasil, utilizando a espécie *Drosophila* para avaliação de poluentes nas águas do Rio Caí.

Alguns estudos utilizam o sistema *Allium cepa* em suas análises, mas ainda estão em fase de desenvolvimento, como exemplos temos o estudo realizado pelo Centro Universitário Feevale, que utiliza o teste de mutagênese através do *Allium cepa* na análise de efluentes de curtume, outro estudo feito no Núcleo de Pesquisas Replicon/UCG avalia também o potencial mutagênico de esgotos tratados, através do teste em células meristemáticas de *Allium cepa*. A Universidade Estadual Paulista utiliza esse mesmo teste para a avaliação do

efeito genotóxico e mutagênico de um efluente de indústria de tingimento de tecidos.

Existem ainda outras análises como a desenvolvida pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte que analisa a genotoxicidade das águas do rio Piranhas-Açu no município de Alto do Rodrigues, bem como faz a avaliação do potencial genotóxico e mutagênico das águas da lagoa de Extremoz no mesmo estado. Da mesma forma a Universidade Federal de Lavras trabalha avaliando o potencial genotóxico da água do Rio Paraíbuna em Juiz de Fora, Minas Gerais. Todos estes estudos estão em fase de desenvolvimento não tendo ainda seus resultados divulgados.

O presente estudo utilizou o teste de *Allium cepa* para verificação do grau de mutagenicidade das águas do Canal São Gonçalo, conjuntamente com a análise dos aspectos físico-químicos dessas águas durante as quatro estações do ano de 2005. A relevância deste recurso hídrico perante a sociedade, justifica quaisquer estudos nessa área, principalmente pela biodiversidade que abrange, visto que este ecossistema comunica dois ambientes de importância biológica inestimável, a Lagoa Mirim e a laguna Lagoa dos Patos. Este ambiente é projetado para suprimir o abastecimento de água da cidade de Pelotas, sendo atualmente utilizado como suplemento para o abastecimento pela cidade de Rio Grande.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Crescimento demográfico e a poluição

Nos últimos duzentos anos, a população humana residente nas cidades aumentou de 5% para 50% (MacMichael, 2000). Esse crescimento foi possível graças ao desenvolvimento científico e tecnológico, especialmente por propiciar a redução da alta mortalidade por várias doenças e permitir o aumento da produção de alimentos, mediante a criação de novas variedades de plantas e o uso maciço de agroquímicos na chamada “revolução verde” dos anos 1960-70, que teve, porém profundas implicações ambientais negativas (Boff, 2003).

As previsões para o ano 2030 são de mais de dois terços da população mundial morando em centros urbanos. Tal mudança trará consigo várias alterações no estilo de vida, visto que o desenvolvimento exponencial tanto das indústrias quanto o desenvolvimento tecnológico serão os responsáveis pelo contínuo aumento dos grandes centros urbanos (MacMichael, 2000).

Porém, ao mesmo tempo em que a industrialização se intensifica, o ambiente é invadido por diferentes tipos de poluentes, sendo a poluição do ar a primeira a ser relacionada com danos à saúde humana. Com o passar do tempo e o contínuo crescimento populacional, outras formas de poluição surgem como a falta de saneamento básico e coleta de esgoto, poluindo águas fluviais e mananciais; e o aumento de depósitos irregulares de resíduos sólidos, trazendo mais poluentes para o solo e águas (MacMichael, 2000).

Estima-se que as águas residuais urbanas contenham quantidades consideráveis de matéria em suspensão, como metais pesados, pesticidas e uma variedade de outras substâncias. A qualidade das águas residuais é, conseqüentemente, muito variável, tendo em certas ocasiões registros de altos

índices de demanda biológica de oxigênio (Mason, 1980). Porém, propriedades físico-químicas, identidade e origens de genotoxinas em águas de despejo doméstico e águas de superfície permanecem ainda pouco conhecidas (White e Rasmussen, 1998).

Certos metais pesados podem causar forte impacto na estabilidade de ecossistemas e provocar efeitos adversos nos seres humanos. Alguns desses metais são capazes de provocar efeitos tóxicos agudos e câncer em mamíferos devido a danos que causam no DNA (Steinkellner *et al.*, 1998). Até mesmo os elementos químicos essenciais à manutenção e ao equilíbrio da saúde, quando em excesso, tornam-se nocivos, podendo comprometer gravemente o bem-estar de qualquer organismo (Rodriguez, 1998).

O desenvolvimento global das últimas décadas é caracterizado pela grande utilização de substâncias químicas, associada aos diferentes tipos de atividades: industrial, urbana, comercial e agrícola (Ronco *et al.*, 2002). Infere-se que compostos orgânicos e metais pesados liberados no ambiente são da ordem de alguns milhões de toneladas por ano (Forget *et al.*, 2000). Não deixando dúvidas que estas substâncias nestas quantidades terão efeitos sobre o ambiente e os seres humanos (Fochtman *et al.*, 2000).

O primeiro passo para a resolução dos problemas sócio-ambientais gerados pela má gestão dos recursos hídricos é o desenvolvimento de metodologias de diagnóstico eficientes (Buss *et al.*; 2003). A idéia de que espécies podem ser usadas para indicar certas condições ambientais tem sido verificada ao longo da história, como por exemplo durante a revolução industrial, século XIX, quando canários eram utilizados para monitoramento do ar em minas de carvão (Cairns e Pratt, 1993).

2.2. Avaliação da qualidade dos recursos hídricos

Muitos estudos com ênfase no aspecto genotóxico vêm sendo realizados em função da preocupação crescente com a poluição dos recursos hídricos em todo o planeta.

Na Universidade de Mansoura na cidade de El-Masoura, Egito, foi realizado um estudo de avaliação genotóxica do esgoto industrial através do teste de *Allium cepa*. As amostras foram obtidas de quatro diferentes lugares: Shawa, Meet El Akrad, Telbana e Belgay, ao longo do dreno de Mansoura na área de Sandub na Província Dakahlia. No monitoramento local do nível de citotoxicidade foi possível verificar que houve uma inibição na divisão mitótica das células meristemáticas. O teste de genotoxicidade indicou um nível crescente de mutagenicidade. Também foram determinadas as concentrações de metais pesados, as quais foram correlacionadas com a toxicidade da água e do lodo industrial (El-Shahaby *et al.*, 2003).

No Japão, na Universidade Kobe, foi realizado um estudo no ano de 2002 avaliando-se a contribuição de precursores genotóxicos de rios tributários e esgotos no Rio Yodo, principal fornecedor de água para cerca de 25 cidades daquela região. Este estudo analisou amostras da água desse rio através do teste de Ames (*S. typhimurium* TA100). Os resultados obtidos indicaram que as águas ao longo do rio foram contaminadas com numerosos componentes orgânicos, e o esgoto contribuiu especialmente para a formação de substâncias genotóxicas através da interação entre clorados e componentes orgânicos (Nobukawa e Sanukida, 2002).

Em estudo publicado na revista *Mutation Research* (2003) foram avaliadas características mutagênicas nas águas de rios em torno a áreas metropolitanas na América do Norte, utilizando a técnica *blue rayon hanging* para coletar mutagênicos orgânicos. O monitoramento abrangeu um total de 21 lugares ao noroeste da América do Norte. Foram detectados níveis de atividades mutagênicas, e na análise com o *blue rayon hanging* associado com a físico-química foi possível demonstrar que a maior parte das áreas analisadas estava contaminada com mutagênicos industriais (Ohe *et al.*, 2003).

Na Itália, a Universidade de Genova fez uma análise do sedimento ao longo do Rio Pó através do teste de Ames, e também avaliou a genotoxicidade em eritrócitos de peixes de áreas poluídas do rio. Os dois testes comprovaram um acúmulo de substâncias genotóxicas tanto no sedimento, como nos peixes (Viganò *et al.*, 2002).

Estudo, realizado na Universidade de Brasília, Distrito Federal, Brasil avaliou a genotoxicidade do esgoto doméstico da cidade, utilizando o teste *Allium cepa* para análise de parâmetros citogenéticos e índice mitótico, além da análise de linfócitos de duas espécies de peixe, *Oreochromis niloticus* e *Tilapia rendalli* para verificação de micronúcleos. Com o teste de *Allium cepa* foram analisadas as etapas da rotina de tratamento do esgoto (esgoto primário, secundário e terciário), já as espécimes de peixes analisadas foram mantidas em um aquário recebendo continuamente esgoto, sendo retiradas amostras de sangue depois de 7, 21, 60, 102 e 142 dias. Os números de células aberrantes na prova de *Allium cepa* não se mostraram diferentes entre as quatro etapas analisadas, nem quando comparadas ao controle. Mas em todas as etapas as amostras concentradas eram mais tóxicas do que suas respectivas diluições o que foi demonstrado pela diminuição do índice mitótico. Quanto à análise do sangue dos peixes não foi encontrado aumento da frequência de micronúcleos tampouco nenhuma correlação entre a exposição em longo prazo com a indução de micronúcleos (Grisolia *et al.*; 2005).

Um estudo, atual, realizado em conjunto pela Universidade Federal do Espírito Santo, Universidade Estadual de Londrina e Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho', analisou a genotoxicidade e a mutagenicidade da água do Córrego de Bagres, do município de Franca em São Paulo, contaminada por efluentes de curtume. Tal estudo utilizou os testes de micronúcleo e Cometa na espécie *Oreochromis niloticus* e avaliação de aberrações cromossômicas através do teste de *Allium cepa*. Este estudo teve três locais de amostragem ao longo do córrego, o primeiro antes do local de despejo do efluente, o segundo no local de escoamento do efluente do curtume e o último posterior ao local de vazão do esgoto. Essa análise foi realizada durante todas as estações dos anos de 2001 e 2002, e em todos os ensaios foi possível observar um aumento na frequência de anomalias das amostras em relação aos controles, nos três testes, fato este atribuído em grande parte, pelos pesquisadores, a presença de resíduos de cromo, comumente encontrado em efluentes provindos de curtume (Matsumoto *et al.*, 2006).

No sul do Brasil, na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no ano de 2005, foi realizado um estudo para avaliação de poluentes de amostras de água de origem urbana e industrial ao longo do curso do Rio Caí, utilizando teste genotóxico com o biomonitor *Drosophila*. As amostras de água foram coletadas em cinco pontos ao longo do rio, em locais estratégicos, próximos a petroquímica e a despejo de esgotos não tratados de cidades como Montenegro, São Sebastião do Caí e Porto Alegre, levando em consideração a influência de diversas indústrias próximas. Este estudo utilizou o teste *SMART*, e a análise foi realizada de acordo com *Frei e Würgler*, a qual permitiu concluir que as áreas metropolitanas localizadas ao longo do Rio Caí apresentam considerável nível de contaminação através de substâncias químicas (Amaral *et al.*; 2005).

2.3. Área de estudo

O Canal São Gonçalo faz a ligação entre a lagoa Mirim e a laguna Lagoa dos Patos, desenvolvendo-se no sentido SO-NE, com uma extensão de 62Km (Figura 1). Sua largura varia de 200m a 300m e sua profundidade média é de 6m. Seu principal afluente é o rio Piratini. No trecho entre a cidade de Pelotas e a foz, numa extensão de 10Km apresentava diversos canais artificiais, dragados para permitir um calado de acesso ao porto de Pelotas de 5,1m. No entanto atualmente, por falta de manutenção este calado está reduzido a 3m (Ministério dos Transportes, 2000).

Como elemento de ligação entre as duas lagoas, suas águas sofrem influência de ambas, podendo correr ora em um sentido, ora em outro, dependendo do desnível entre elas e da ação dos ventos. O represamento das águas provocado pelos ventos na barra do Rio Grande, ou sobre a barra do próprio Canal, influenciam bastante o seu nível, sendo causa de inundações, quando conjugados com períodos de cheia na bacia da Lagoa Mirim (Figura 2), (Ministério dos Transportes, 2000).

O fluxo do canal São Gonçalo é predominante no sentido da Lagoa dos Patos, no entanto sua inversão acontece nos anos de severa estiagem com

penetração de água salgada. Em 1977 foi construída a Barragem Eclusa de Santa Bárbara para controlar a entrada de água salgada na porção norte da Lagoa Mirim. Assim o setor norte do Canal São Gonçalo, compreendido entre a Eclusa e a desembocadura da laguna Lagoa dos Patos pode se salinizar, enquanto o setor sul, compreendido entre a Eclusa e a Lagoa Mirim, não recebe água salobra (Capitoli e Benvenuti, 2005).

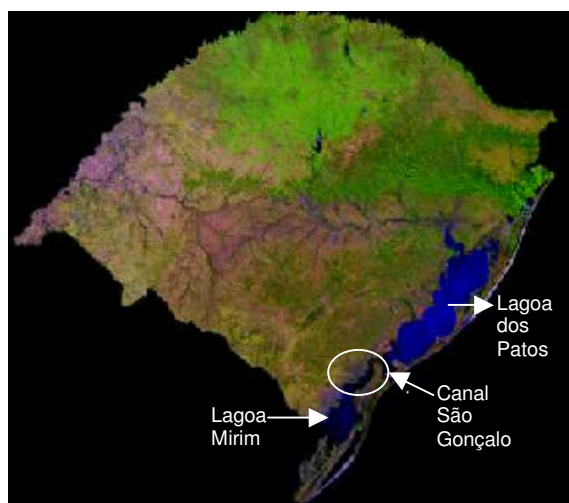


Figura 1. Imagem de satélite da localização do Canal São Gonçalo.

Fonte: Miranda e Coutinho, 2004.

O Canal do Pepino é um receptor de água superficial de várias zonas urbanas da cidade de Pelotas, e serve também como canal de despejo de detritos urbanos e de esgotamento residencial com tratamento de fossas sépticas ou não. Este canal tem início na zona norte, atravessa a cidade e deságua no Canal do São Gonçalo estando localizado numa região mais baixa do município. É preciso salientar que o Canal do Pepino tem uma extensão que corta vários bairros recebendo descarga líquida de muitas zonas urbanas, portanto os poluidores a montante, recebem as águas já poluídas. Isto só vem agravar a qualidade da água que desemboca no Canal São Gonçalo (Barbosa, *et al.*; 2004).



Figura 2. Imagem de satélite do Canal São Gonçalo em época de enchente.

Fonte: Ribeiro, 2005.

2.4. Teste citogenético

Os testes de mutagenicidade têm por objetivo detectar e entender a ação de determinadas substâncias denominadas genotoxinas sobre o organismo, com especificidade para ácidos nucleicos, especialmente DNA. O termo genotóxico se refere às substâncias passíveis de causarem mutações no material genético. Toda e qualquer alteração no DNA ou RNA que pode afetar qualitativa ou quantitativamente o gene, é considerada uma mutação e pode ser transmitida aos descendentes, se atingirem as células germinativas, gerando indivíduos com uma ou mais características genéticas diferentes. Existem ainda, evidências experimentais que sugerem o envolvimento das mutações somáticas em algumas doenças humanas, bem como no processo gradual e progressivo de envelhecimento (Pereira *et al.*; 1995).

Os compostos químicos e agentes físicos que causam alterações no material genético podem ser identificados através de testes de mutagenicidade (De Flora, 1998).

O uso das respostas dos organismos é a base dos índices biológicos, nos quais os bioindicadores são espécies escolhidas por sua sensibilidade ou tolerância a vários parâmetros, como poluição orgânica ou outros tipos de poluentes (Washington, 1984).

Muitos organismos são utilizados atualmente para monitorar possíveis impactos de origem antropogênica. Dentre os mais conhecidos está a análise da frequência de micronúcleos, durante a interfase, em eritrócitos periféricos de organismos expostos a determinado ambiente, visto ser este método bastante eficaz na avaliação do potencial clastogênico (Al-Sabti, 1986; Minissi *et al.*; 1996). Também muito utilizado atualmente é o teste Cometa, teste genotóxico que detecta danos ao DNA, empregado no monitoramento de ambientes aquáticos (Matsumoto *et al.*; 2006).

Alguns testes utilizam-se de plantas como biomarcadores, como *Allium cepa*, *Tradescantia paludosa* e *Vicia faba*. Muitos autores que utilizaram o teste de micronúcleos com *A. cepa* e *V. faba* na avaliação da presença de substâncias genotóxicas, conseguiram avaliar os efeitos clastogênico e aneugênico de poluentes atmosféricos, do solo e da água (Rank e Nielsen, 1998; El-Shahaby *et al.*, 2003).

Historicamente o uso de *Allium cepa* foi introduzido, em 1938, como um sistema biológico para avaliar os efeitos citogenéticos em células tratadas com colchicina (Levan, 1938). Desde então, o *Allium cepa* passou a ser um material biológico de largo uso em testes de laboratório, devido ao crescimento rápido de suas raízes e a resposta do material genético à presença de substâncias com potencial citotóxico e genotóxico (Vesna *et al.*; 1996). O *Allium* teste já foi aplicado para avaliar a qualidade de águas subterrâneas e de superfície bem como efluentes, analisando-se parâmetros macroscópicos, tais como os valores para inibição de crescimento de raiz, e parâmetros citotóxicos, tal como aberrações cromossômicas durante a metáfase e anáfase e também a inibição da divisão celular (Vesna *et al.*, 1996; Fiskesjö, 1988).

Nas últimas décadas, o nível de poluição ou a qualidade da água de rios e lagos foi determinado através de provas físico-químicas, saprobiológicas, radiológicas, citogenéticas e análises de genotoxicidade utilizando o teste de *Allium cepa*. A simplicidade do procedimento deste teste é a razão para sua recomendação por secretarias internacionais do meio ambiente para calcular o grau de poluição de ambientes e a toxicidade causada principalmente por

efluentes industriais não tratados e esgotos de origem doméstica (Vesna *et al.*, 1996).

A ponta de raiz é freqüentemente a primeira parte de qualquer planta que entra em contato com substâncias químicas e poluentes presentes no sedimento ou na água. A observação do sistema de ponta de raiz da cebola, mostrou que esta planta é particularmente sensível aos efeitos prejudiciais de contaminantes do ambiente. O efeito bruto pode ser quantificado por medida de inibição de crescimento e desenvolvimento da raiz, ao passo que exame dos cromossomos das células individuais da ponta da raiz pode indicar possíveis efeitos mutagênicos (Fiskesjö, 1988).

A avaliação da mutagenicidade de extratos orgânicos da água dos rios é de extrema importância visto que pode indicar o perigo potencial mutagênico e ou carcinogênico para a saúde dos indivíduos que vivem naquele local (Ohe *et al.*, 2003).

2.5. Análise físico-química

2.5.1. Potencial Hidrogeniônico (pH)

O termo pH (potencial hidrogeniônico) é usado universalmente para expressar o grau de acidez ou basicidade de uma solução, ou seja, é o modo de expressar a concentração de íons de hidrogênio nessa solução. A escala de pH é constituída de uma série de números variando de 0 a 14, os quais denotam vários graus de acidez ou alcalinidade. Valores abaixo de 7 e próximos de zero indicam aumento de acidez, enquanto valores de 7 a 14 indicam aumento da basicidade (Carmouze, 1994).

As medidas de pH são de extrema utilidade, pois fornecem inúmeras informações a respeito da qualidade da água. As variações do pH no meio aquático estão relacionadas com a dissolução de rochas, absorção de gases da atmosfera, oxidação da matéria orgânica e fotossíntese, por isso águas

naturais tem pH entre 4 e 9 (Baumgarten e Pozza, 2001). Às vezes são ligeiramente alcalinas devido à presença de carbonatos e bicarbonatos. Naturalmente, nesses casos, o pH reflete o tipo de solo por onde a água percorre. Em lagoas com grande população de algas, nos dias ensolarados, o pH pode subir muito, chegando a 9 ou até mais. Isso porque as algas, ao realizarem fotossíntese, retiram muito gás carbônico, que é a principal fonte natural de acidez da água. Geralmente um pH muito ácido ou muito alcalino está associado à presença de despejos industriais. Sendo assim um parâmetro importante em muitos estudos no campo do saneamento ambiental.

A influência do pH sobre os ecossistemas aquáticos naturais dá-se diretamente devido a seus efeitos sobre a fisiologia das diversas espécies. Também o efeito indireto é muito importante podendo, determinadas condições de pH, contribuir para a precipitação de elementos químicos tóxicos como metais pesados; outras condições podem exercer efeitos sobre as solubilidades de nutrientes. Desta forma, as restrições de faixas de pH são estabelecidas para as diversas classes de águas naturais, de acordo com a legislação federal (Resolução nº 20 do CONAMA, de junho de 1986).

Os critérios de proteção à vida aquática fixam o pH entre 6 e 9. O pH é também um padrão de potabilidade, devendo as águas para abastecimento público apresentar valores entre 6,5 e 8,5, de acordo com a Portaria 1469 do Ministério da Saúde (CETESB, 2004).

2.5.2. Acidez

A acidez total representa o teor de dióxido de carbono livre, de ácidos minerais, de ácidos orgânicos e sais ácidos fortes, os quais na hidrólise produzem íons de hidrogênio para a solução. As águas naturais, em geral, têm uma reação alcalina, porém, acidez não é necessariamente indesejável. A importância da determinação da acidez se prende ao fato de que sua variação brusca pode se caracterizar devido o lançamento de algum resíduo industrial (Andrade e Macedo, 1996).

A maioria das águas naturais e dos esgotos domésticos são tamponados por um sistema constituído por dióxido de carbono e bicarbonatos

(HCO₃⁻), sendo que este não é totalmente neutralizado, a não ser que o pH seja superior a 8,2 e não diminuirá se o pH estiver abaixo de 4,5. Assim, a acidez devida ao CO₂ fica em torno de 4,5 a 8,2, enquanto que a acidez decorrente de ácidos minerais fortes, quase sempre devida a efluentes industriais, ocorre geralmente a pH abaixo de 4,5. Sendo expressa em termos de ppm (mg/L) de CaCO₃ (Morgado, 1999).

2.5.3. Alcalinidade

Alcalinidade é a medida total das substâncias presentes na água, capazes de neutralizarem ácidos. Em águas subterrâneas esta é devida principalmente aos carbonatos e bicarbonatos e, secundariamente, aos íons hidróxidos, silicatos, boratos, fosfatos e amônia. Alcalinidade é a soma da alcalinidade produzida por todos estes íons presentes na água. Águas que percolam rochas calcárias (calcita = CaCO₃) geralmente possuem alcalinidade elevada. Granitos e gnaisses, rochas comuns em muitos estados brasileiros, possuem poucos minerais que contribuem para a alcalinidade da águas subterrâneas. A alcalinidade total da água é expressa em mg/L de CaCO₃ (Carmouze, 1994).

Os limites para análise de alcalinidade a carbonatos, devido à presença dos íons CO₃⁻² e HCO₃⁻, estão entre 10 a 500 mg.L⁻¹ (Baumgarten e Pozza, 2001).

2.5.4. Cloretos

O cloreto é o ânion Cl⁻ que se apresenta nas águas subterrâneas através de solos e rochas. Nas águas superficiais são fontes importantes as descargas de efluentes sanitários, sendo que cada pessoa expele através da urina cerca 6 g de cloreto por dia, o que faz com que os efluentes apresentem concentrações de cloreto que ultrapassam a 15 mg/L. Diversos são os efluentes industriais que apresentam concentrações de cloreto elevadas como os da indústria do petróleo, algumas indústrias farmacêuticas, curtumes, etc.

Nas regiões costeiras, através da chamada intrusão da língua salina, também são encontradas águas com altos níveis de cloreto. Nas águas tratadas, a adição de cloro puro ou em solução leva a uma elevação do nível de cloreto, resultante das reações de dissociação do cloro na água. Mas para as águas de abastecimento público, a concentração de cloreto constitui-se em padrão de potabilidade, segundo a Portaria 1469 do Ministério da Saúde.

O cloreto provoca sabor "salgado" na água, sendo o cloreto de sódio o mais restritivo por provocar sabor em concentrações da ordem de 250 mg/L, valor este que é tomado como padrão de potabilidade. O cloreto apresenta também influência nas características dos ecossistemas aquáticos naturais, pois podem provocar alterações na pressão osmótica em células de microrganismos (CETESB, 2004). Segundo a Resolução nº 20 do CONAMA de 1986, o limite estabelecido para as águas de classe 1, 2 e 3 é de no máximo 250 mg.L⁻¹.

2.5.5. Dureza

A dureza da água é dada pela quantidade de sais alcalinos-terrosos que contém, principalmente cálcio e magnésio. Poderá ser dividida em dois tipos: dureza permanente, provocada pelos sulfatos, fosfatos e outros sais de cálcio e magnésio; e dureza temporária, provocada pelos bicarbonatos de cálcio e magnésio. A soma destes dois tipos de dureza dá-nos a dureza total. Habitualmente, consideram-se águas macias aquelas cuja dureza (expressa em mg de carbonato de cálcio por litro) é inferior a 75 mg e duras as que têm valores superiores. Há, no entanto, águas naturais duras consideradas satisfatórias para consumo humano (VMA = 500 mg/L), embora inconvenientes para outras operações, pois pode causar por exemplo incrustações de íons carbonato e hidrogenocarbonato (Blaedel e Melocke, 1963).

Em águas naturais doces a dureza varia de 10 a 200 mgCaCO₃/L e em águas salgadas pode atingir cerca de 300 mgCaCO₃/L (Baumgarten e Pozza, 2001).

2.5.6. Condutividade

A condutividade elétrica é a capacidade que a água possui de conduzir corrente elétrica. Este parâmetro está relacionado com a presença de íons dissolvidos na água, que são partículas carregadas eletricamente. Quanto maior for a quantidade de íons dissolvidos, maior será a condutividade elétrica da água. Em águas continentais, os íons diretamente responsáveis pelos valores da condutividade são, entre outros, o cálcio, o magnésio, o potássio, o sódio, carbonatos, carbonetos, sulfatos e cloretos.

A condutividade elétrica da água também pode variar de acordo com a temperatura e a concentração total de substâncias ionizadas dissolvidas. Em águas cujos valores de pH se localizam nas faixas extremas (pH 9 ou pH 5), os valores de condutividade são devidos apenas às altas concentrações de poucos íons em solução, dentre os quais os mais freqüentes são o H^+ e o OH^- (Branco, 1986).

O parâmetro condutividade elétrica não determina, especificamente, quais os íons que estão presentes em determinada amostra de água, mas pode contribuir para possíveis reconhecimentos de impactos ambientais que ocorram na bacia de drenagem ocasionados por lançamento de resíduos industriais, mineração, esgotos, visto que, indicam a quantidade de sais existentes na coluna d' água, e, portanto, representa uma medida indireta da concentração de poluentes. Em geral, níveis superiores a $100 \mu\Omega/cm$ podem indicar ambientes impactados (CETESB, 2004).

3. MATERIAL E MÉTODO

Para análise da qualidade da água do Canal São Gonçalo, o mesmo foi dividido em quatro pontos (Figura 3): ponto 1 (Po 1) correspondente a Barragem Eclusa, na Agência da Lagoa Mirim, localizado no município de Capão do Leão (Figura 4); ponto 2 (Po 2) situa-se no Canal Santa Bárbara, próximo a ponte do Canal São Gonçalo (Figura 5); ponto 3 (Po 3) localiza-se no Arroio Pelotas, próximo a indústria de processamento de arroz Tio João (Figura 6); e ponto 4 (Po 4), na Barra do Laranjal, junto à desembocadura do Canal São Gonçalo na Laguna Lagoa dos Patos (Figura 7). A coleta de água dos quatro pontos do Canal São Gonçalo foi realizada nas quatro estações do ano de 2005, utilizando-se como controle negativo água tratada.

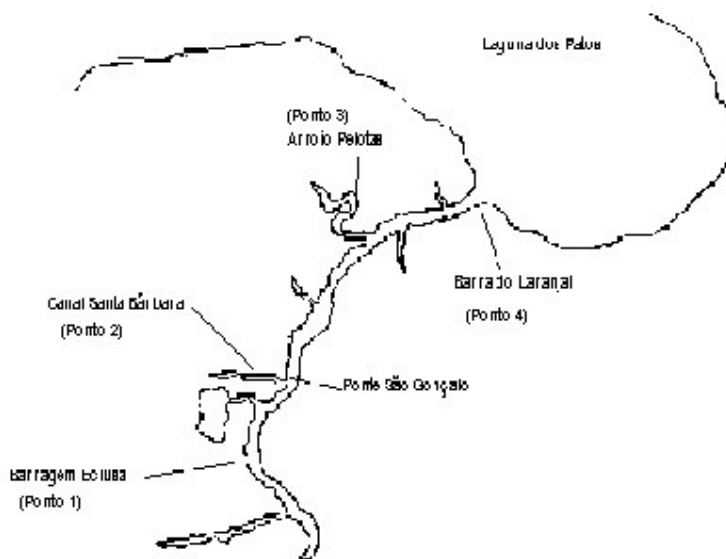


Figura 3. Mapa demonstrativo dos locais de amostragem.

Fonte: Laboratório de Química Ambiental da UCPel.



Figura 4. Foto da Barragem Eclusa.
Fonte: Laboratório de Genética, UCPel.



Figura 5. Foto do Canal Santa Bárbara.
Fonte: Laboratório de Genética, UCPel.



Figura 6. Foto do Arroio Pelotas.
Fonte: Laboratório de Genética, UCPel.



Figura 7. Foto da Barra do Laranjal.
Fonte: Laboratório de Genética, UCPel.

3.1. Teste de mutagenicidade

Para testar a mutagenicidade da água dos quatro pontos analisados sazonalmente, fez-se o uso do teste de *Allium cepa*. Inicialmente foi realizado um estímulo prévio para desenvolvimento radicular dos bulbos de *Allium cepa*, através da imersão dos mesmos em água durante três a quatro dias até atingirem cerca de 0,5cm, antes de serem submetidos à água do Canal. Para cada ponto, foram realizadas quatro repetições, inclusive para o controle. A água do Canal São Gonçalo foi coletada em garrafas plásticas, nos referidos pontos, e levadas ao Laboratório de Genética da Universidade Católica de Pelotas, onde os bulbos (previamente estimulados), foram submetidos por 24 horas à água coletada.

Posteriormente as pontas meristemáticas das raízes dos bulbos foram fixadas com Carnoy, e após 48 horas foram conservadas em Etanol 70%. Para a elaboração das lâminas foram seguidas as seguintes etapas:

1. Lavagem dos meristemas em água destilada (três vezes);
2. Manutenção em água destilada durante 5 minutos;
3. Hidrólise com HCl 1N por 10 minutos;
4. Nova lavagem dos meristemas em água destilada (três vezes);
5. Colocação do meristema em lâmina devidamente seca e limpa, seguido da adição de uma gota de corante orceína acética 1:1 e uma gota deste mesmo corante na concentração 1:2;
6. Leve esmagamento da raiz, efetivando a separação das células para visualização em microscopia;
7. Colocação de lamínula sobre o material;
8. Fixação através de fogo (três passagens pela chama);
9. Retirada do excesso de corante, pressionando a lâmina contra papel absorvente.

A visualização foi realizada em microscópio ótico, utilizando-se as objetivas de 40x e 100x e oculares de 10x.

A realização da leitura das lâminas tratadas se deu conforme os parâmetros:

- Índice mitótico: número de divisões em 1000 células contadas;
- Anomalias do ciclo mitótico (Anáfase - Telófase), pontes anafásicas, cromossomos perdidos na anáfase, cromossomos atrasados e outras anomalias;
- Anomalias interfásicas, identificando células com micronúcleos, células binucleadas, células com núcleos ligados e brotos.

3.2. Análise Físico – Química

Para análise físico-química da água dos quatro pontos do Canal São Gonçalo, nas quatro estações analisadas, foi utilizada a mesma água coletada para a análise de mutagenicidade, sendo realizadas avaliações quanto a oxigênio dissolvido, pH, acidez, alcalinidade, cloreto, dureza e condutividade, seguindo-se a metodologia descrita no Standard Methods (1998).

3.3. Análise Estatística

Para a análise estatística foi elaborado um banco de dados utilizando o programa estatístico SPSS “por Windows”, versão 11.0; realizando o teste de Mann-Whitney, com uma probabilidade em nível de 0,05 ou menor.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise geral, realizada entre todos os pontos nas quatro estações analisadas, permitiu identificar diferenças significativas na comparação entre os pontos da Barragem Eclusa (Po 1) e o Controle, em relação ao total de anomalias mitóticas ($P=0,012$), total de anomalias interfásicas ($P=0,000$) e o total de anomalias gerais ($P=0,000$). Também foram significativas as diferenças encontradas entre os pontos do Canal Santa Bárbara (Po 2) e Arroio Pelotas (Po 3) quanto ao total de anomalias mitóticas ($P=0,017$). Assim como os pontos do Canal Santa Bárbara (Po 2) e o Controle também apresentaram diferenças significativas no total de anomalias mitóticas ($P=0,002$), total de anomalias interfásicas ($P=0,000$), e conseqüentemente quanto ao total de anomalias gerais ($P=0,000$). A comparação entre o Arroio Pelotas (Po 3) e a Barra do Laranjal (Po 4) revelou significativa diferença em relação ao total de anomalias mitóticas ($P=0,011$), a análise comparativa entre o ponto do Arroio Pelotas (Po 3) e o Controle mostrou diferenças significativas quanto ao total de anomalias interfásicas, mitóticas e anomalias gerais ($P=0,000$), os mesmos índices também foram encontrados na análise entre a Barra do Laranjal (Po 4) e o Controle (Tabela 1).

Nesta análise foi possível verificar que o maior número de anomalias mitóticas foi observado no Arroio Pelotas (Po 3), e a maior incidência de anomalias interfásicas foi encontrada na Barragem Eclusa (Po 1). No entanto não observou-se variações relevantes quanto ao número de células em divisão, assim como o índice mitótico (Tabela 1) (Figuras 8 à 13).

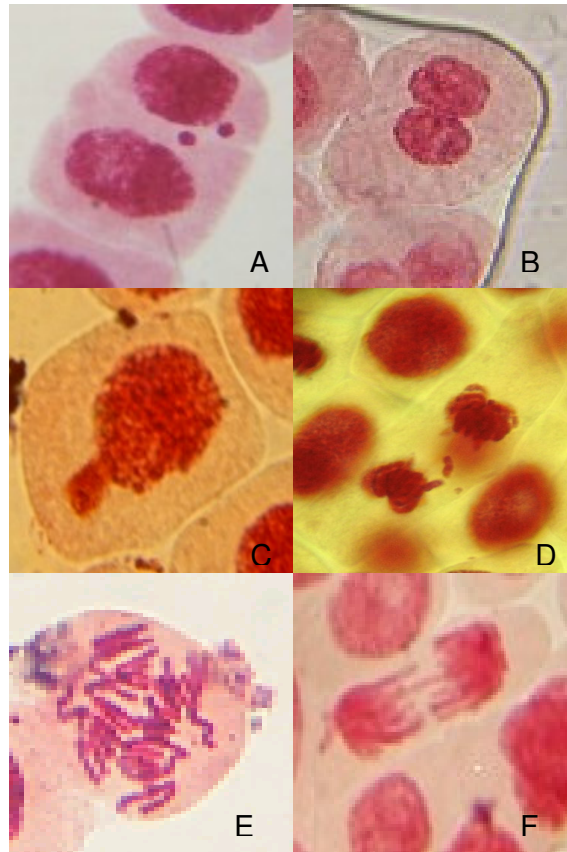


Figura 8. Anomalias interfásicas (A: micronúcleo, B: células com núcleos ligados, C: broto nuclear) e anomalias mitóticas (D: cromossomo perdido na anáfase, E: anáfase desorganizada, F: ponte anafásica) visualizadas em células meristemáticas de cebola (*Allium cepa* L.) tratadas com água do Canal São Gonçalo, Pelotas, RS. Laboratório de Genética, UCPel, 2005.

Tabela 1- Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos analisados do Canal São Gonçalo, assim como controle, Pelotas, 2005.

Ponto	CD (X/DP)	IM	AM (X/DP)	AI (X/DP)	TA (X/DP)	PH	Acidez (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Cloreto (mgCl.L ⁻¹)	Dureza (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Condutivida de (μΩ/cm ⁻¹)
Po 1	102,37± 54,77	10,24	1,44± 1,50 ^a	20,06± 23,55 ^d	21,50± 24,44 ^e	6,6	24,0025	25,2675	47,9275	18,9375	315,75
Po 2	104,19± 64,15	10,42	1,25± 1,00 ^{a, b}	10,44±5,91 ^d	11,69±6,02 ^e	6,7	103,3925	129,2125	61,0525	53,00	684,5
Po 3	129,50±54,22	12,9	2,62± 1,93 ^{a, b, c}	9,12± 5,21 ^d	11,75± 5,86 ^e	6,01	37,0675	33,345	2607,0175	83,75	16169,75
Po 4	130,69± 102,03	13,07	1,12± 1,09 ^{a, c}	10,75± 6,84 ^d	11,87± 7,35 ^e	6,6	27,75	48,015	4295,495	83,5	26357,5
Controle	129,00± 37,95	12,9	0,25± 0,45 ^a	3,00± 1,90 ^d	3,25± 1,81 ^e						

Dados analisados pelo teste de Mann-Whitney U.

a, d, e: Controle diferiu dos demais pontos, p<0,05; b: Po 2 diferiu do Po 3, p<0,05; c: Po 3 diferiu do Po 4, p<0,05.

Po 1: Barragem Eclusa, Po 2: Canal Santa Bárbara, Po3: Arroio pelotas, PO4: Barragem do Laranjal.

Estes resultados permitiram avaliar que todos os pontos analisados citogeneticamente mostraram mais alterações do que o controle, submetido à água tratada, tanto para as anomalias mitóticas quanto as anomalias interfásicas. A análise físico-química (Tabela 1) mostrou que apenas os pontos 3 e 4 obtiveram valores acima da média para águas de classe 1, 2, e 3 estabelecido pelo CONAMA (1986), para cloretos, mas que todos os pontos analisados apresentaram valores de condutividade superiores a média esperada ($100\mu\Omega/\text{cm}^{-1}$), fato que denota um possível impacto neste ambiente.

O número elevado de alterações encontradas nestes quatro pontos demonstra que a água do Canal São Gonçalo contém em sua composição, substâncias tóxicas e até mesmo genotóxicas, isto é, tóxicas para o DNA celular.

Algumas considerações importantes podem explicar, em parte, esse alto índice de anomalias encontradas. No primeiro ponto analisado, a Barragem Eclusa (Po 1), deve-se ponderar sobre a sua localização entre campos de lavouras, onde há naturalmente o processo de lixiviação, remoção pela água das chuvas de materiais solúveis contidos no solo, de agrotóxicos e produtos químicos utilizados pelos agricultores para “imunizar” suas lavouras, essas substâncias, em maioria tóxicas, podem alcançar o leito da Barragem e como existe o represamento da água é possível que haja um acúmulo dessas substâncias neste local.

As anomalias encontradas no Canal Santa Bárbara (Po 2) devem-se provavelmente à alta carga de efluentes despejados em seu leito, fato este que também corrobora as alterações encontradas no Arroio Pelotas, visto que este também recebe alta carga de esgotos de origem doméstica de conjuntos habitacionais presentes ao longo de sua margem. No caso específico do Arroio Pelotas uma pesquisa desenvolvida no Laboratório de genética da UCPel, utilizando plantas aquáticas do baixo curso do leito do arroio, na avaliação de prováveis impactos neste local, vem corroborando a alta incidência de anomalias encontradas (Santos *et al.*, 2005).

Na Barra do Laranjal (Po 4) a relevante incidência de alterações observadas na Barra do Laranjal pode ser tanto de origem da poluição encontrada na própria laguna (Vanz *et al.*, 2003; Vieira *et al.*, 2005; Matthiensen *et al.*, 1999),

devido, em grande parte, ao despejo de efluentes dos Balneários, quanto oriunda do próprio canal, visto que este é o seu local de deságüe na lagoa, ou seja é onde ocorre a concentração de todos os impactos sofridos ao longo do mesmo. Essa alternância nos fatores de influência dessa análise é decorrente da variação do sentido do fluxo do canal, embora a maior parte do tempo seu sentido seja em direção a laguna Lagoa dos Patos.

A Barragem Eclusa (Po 1) foi o local que apresentou a maior incidência do total de anomalias analisadas durante todo o ano (Tabela 2).

Tabela 2- Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos analisados do Canal São Gonçalo, assim como controle, em suas respectivas estações do ano e análise das características físico-químicas dos referidos pontos analisados, Pelotas, 2005.

	Estação	CD (X/DP)	IM	AM (X/DP)	AI (X/DP)	TA (X/DP)	pH	Acidez (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Cloreto (mgCl.L ⁻¹)	Dureza (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Condutividade (μΩ/cm ⁻¹)
Po 1	Verão	101,50±31,18	10,15	0,75±0,96	11,00±4,97	11,75±4,27	6,0	25,99	40,74	177,34	4,00	849
	Outono	149,75±73,82	14,97	3,00±1,41	47,00±37,90	50,00±38,63	7,4	11,67	3,10	2,00	4,75	190
	Inverno	91,75±55,86	9,17	1,00±1,41	9,50±2,52	10,50±3,11	6,2	18,48	33,95	11,42	38,0	133
	Primavera	66,50±24,39	6,65	1,0±1,41	12,75±3,09	13,75±3,86	7,0	39,87	23,28	0,95	29,00	91
Po 2	Verão	182,00±61,06 ^{a, b, d}	18,2	1,00± 1,41	3,75±2,63 ^{f, g, h}	4,75±3,30 ^j	6,3	163,63	217,28	173,42	4,00	902
	Outono	107,75±38,94 ^{a, c}	10,77	1,50±0,58	17,00±4,69 ^{f, i}	18,50±5,07 ^j	6,9	76,83	17,30	6,10	10,00	735
	Inverno	41,00±22,48 ^{b, c}	4,1	0,50±0,58 ^e	11,50±4,04 ^g	12,00±3,56 ^j	6,5	77,80	201,76	62,79	106,00	843
	Primavera	86,00±37,99 ^d	8,6	2,00±0,82 ^e	9,50±3,11 ^{h, i}	11,50±2,38 ^j	7,1	95,31	80,51	1,90	92,00	258
Po 3	Verão	151,75±72,54	15,17	2,50± 1,29	6,00± 3,16	8,50± 4,12	6,0	49,09	57,72	9969,50	106,00	62.500
	Outono	168,75±37,12 ^k	16,87	2,25±1,71	10,25±4,57	12,50±6,24	5,8	18,47	26,19	390,07	158,00	1.650
	Inverno	107,75±30,79	10,77	4,25±2,63	10,25±8,77	14,50±9,29	6,3	12,64	27,16	58,04	48,00	324
	Primavera	87,75±37,99 ^k	8,77	1,50±1,29	10,00±3,26	11,50±2,08	6,2	68,07	22,31	10,46	23,00	205

Continuação Tabela 2- Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos analisados do Canal São Gonçalo, assim como controle, em suas respectivas estações do ano e análise das características físico-químicas dos referidos pontos analisados, Pelotas, 2005.

	Estação	CD (X/DP)	IM	AM (X/DP)	AI (X/DP)	TA (X/DP)	pH	Acidez (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Cloreto (mgCl.L ⁻¹)	Dureza (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Condutividade de (μΩ/cm ⁻¹)
Po 4	Verão	104,00±40,96 ^k	10,4	2,00± 0,82 ⁿ	8,00± 3,37	10,00± 4,16	7,21	9,63	98,94	16.901,60	116,00	103.700
	Outono	261,75±107,87 ^{k, l, m}	26,17	1,00±1,15	16,75±11,09	17,75±11,98	5,9	39,12	30,07	265,15	146,00	1.481
	Inverno	117,75±53,76 ^l	11,77	1,00±1,41	10,00±4,32	11,00±5,48	6,9	9,73	32,98	11,42	43,00	143
	Primavera	39,25±24,92 ^m	3,925	0,50±0,58 ⁿ	8,25±3,77	8,75±3,77	6,5	52,52	30,07	3,81	29,00	106
Controle	Verão	153,75± 21,39 ^{o, p}	15,37	0,00± 0,00	4,25± 1,89	4,25± 1,89						
	Outono	160,75±32,78 ^o	16,07	0,25±0,50	1,25±1,89	1,50±1,73						
	Inverno	122,50±9,88 ^{o, p}	12,25	0,25±0,50	3,50±1,91	3,75±1,89						
	Primavera	79,00±4,54 ^o	7,9	0,50±0,58	3,00±0,82	3,50±0,58						

Dados analisados pelo teste de Mann-Whitney U.

a e f: verão diferiu do outono, p<0,05; b, g, p: verão diferiu do inverno, p<0,05; c, i, l: outono diferiu do inverno, p<0,05; e: inverno diferiu da primavera, p<0,05; d, h, n: verão diferiu da primavera, p<0,05; k, m: outono diferiu da primavera, p<0,05; j: o verão diferiu das demais estações, p<0,05; o: primavera diferiu das demais estações, p<0,05.

Po 1: Barragem Eclusa, Po 2: Canal Santa Bárbara, Po3: Arroio pelotas, PO4: Barragem do Laranjal.

A análise do comportamento dos pontos entre as estações (Tabela 2) demonstrou que a Barragem Eclusa (Po 1) não apresentou variações relevantes quanto ao número de alterações analisadas, mostrando um comportamento homogêneo, apenas observou-se um aumento da condutividade através da análise físico-química durante as estações outono, inverno e primavera.

O Canal Santa Bárbara (Po 2), na análise comparativa entre verão e outono apresentou diferenças significativas em relação ao total de anomalias interfásicas ($P=0,020$), total de células em divisão ($P=0,043$) e quanto ao total de anomalias gerais ($P=0,021$). Entre o verão e o inverno notou-se diferenças em relação ao total de anomalias interfásicas ($P=0,021$), total de células em divisão ($P=0,021$) e total de anomalias gerais ($P=0,029$). Também foi possível observar diferenças significativas quanto ao total de anomalias interfásicas ($P=0,029$), total de células em divisão ($P=0,021$) e total de anomalias gerais ($P=0,029$) na comparação entre o verão e a primavera (Tabela 2).

Neste mesmo ponto a comparação entre o outono e o inverno mostrou diferença relevante quanto ao total de células em divisão ($P=0,043$), na relação entre o outono e a primavera, observou-se diferenças entre o total de anomalias interfásicas ($P=0,020$) e o total de anomalias gerais ($P=0,021$), por fim notou-se diferença significativa entre o total de anomalias mitóticas ($P=0,036$), entre as estações de inverno e primavera. A análise físico-química deste ponto, mostrou apenas alteração considerável quanto a condutividade que ficou acima dos parâmetros esperados durante as quatro estações (Tabela 2) .

Nas amostras do Arroio Pelotas (Po 3), apenas foram encontradas diferenças significativas entre o total de células em divisão ($P=0,021$), na comparação entre o outono e a primavera na análise citogenética e o estudo físico-químico também detectou elevado valor para a condutividade nas quatro estações (Tabela 2).

A Barra do Laranjal (Po 4), apresentou índices relevantes na comparação entre o verão e o outono em relação ao total de células em divisão ($P=0,021$), no verão e primavera foram encontradas diferenças relativas ao total de anomalias mitóticas ($P=0,036$) e total de células em divisão ($P=0,043$). Também foi possível observar diferença significativa no total de células em divisão ($P=0,020$) na

relação entre o outono e o inverno, bem como entre o outono e a primavera ($P=0,021$). Durante o verão, outono e inverno, foi possível verificar alta condutividade nas amostras deste ponto, na análise físico-química (Tabela 2).

O Controle, apresentou variações significativas apenas quanto ao total de células em divisão ($P=0,029$) na comparação entre o verão e o inverno, o verão e a primavera ($P=0,021$); o outono e a primavera ($P=0,021$), entre o inverno e a primavera ($P=0,021$), e o outono e a primavera ($P=0,043$) (Tabela 2).

A avaliação das alterações cromossômicas mitóticas (pontes anafásicas, cromossomos perdidos, anáfases desorganizadas) e interfásicas (brotos, micronúcleos, células com núcleos ligados) observadas no teste de *Allium cepa* permitiu verificar que o Canal Santa Bárbara (Po 2) apresentou variações significativas durante as estações, verão e outono, verão e inverno, verão e primavera e outono e primavera. Essas variações podem ser decorrentes do aumento quantitativo da carga poluidora despejada neste ambiente, é preciso considerar também que durante a primavera e o verão há uma redução natural do volume de chuvas e conseqüentemente do volume do canal, podendo existir desta forma uma concentração maior de substâncias tóxicas (Tabela 2).

O Arroio Pelotas (Po 4) apresentou diferença significativa quanto as anomalias mitóticas, na comparação do verão e da primavera o que indica um aumento bastante drástico de substâncias mutagênicas entre estações subseqüentes (Tabela 2).

Atenta-se para o fato de que os índices mitóticos de todos os pontos apresentaram uma drástica redução durante a primavera, embora no Canal Santa Bárbara tenha apresentado índice ainda mais reduzido durante o inverno, essa diminuição pode ser decorrente da presença de substâncias inibitórias ou que prejudiquem de alguma forma o desenvolvimento celular.

Os dados obtidos através da análise físico-química, demonstraram que nos quatro pontos analisados: Barragem Eclusa, Canal Santa Bárbara, Arroio Pelotas e Barra do Laranjal, o pH apresentou variações entre 5,8 e 7,4 durante todo o período de amostragem. A acidez, dependente do pH, variou entre valores de 9,73 a 163,33 $\text{mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$. A alcalinidade, relativa á produção ou eliminação de íons H^+ , OH^- e bases de ácidos fracos manteve-se entre 3,10 e 217,28

$\text{mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$, quanto aos cloretos a variação ficou entre 1,90 a 9969,50 $\text{mgCl}\cdot\text{L}^{-1}$. A dureza encontrada obteve valores entre 4,00 e 158 $\text{mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$, em determinadas estações como durante o inverno e primavera no Canal Santa Bárbara (Po 2) e durante o verão e o outono no Arroio Pelotas (Po3) e na Barra do Laranjal (Po 4) suas águas apresentaram-se duras, evento natural decorrente da presença de sais alcalinos-terrossos (Tabela 2).

Todos os parâmetros supracitados estavam dentro dos parâmetros esperados. No entanto a condutividade apresentou variações entre 91 e 103.700 $\mu\Omega/\text{cm}^{-1}$, estando portanto acima da média esperada de 100 $\mu\Omega/\text{cm}^{-1}$, principalmente nas estações verão, outono e inverno em todos os pontos, o que adverte para um possível impacto gerado pela presença de poluentes nestes locais.

Durante o verão (Tabela 3) foram observadas diferenças significativas na comparação entre a Barragem Eclusa (Po 1) e o Canal Santa Bárbara (Po 2) ($P=0,043$), assim como entre a Barragem Eclusa (Po 2) e o Controle ($P=0,043$), entre o Canal Santa Bárbara (Po 3) e a Barra do Laranjal (Po 4), ($P=0,021$) e entre a Barra do Laranjal (Po 4) e o Controle ($P=0,021$), em relação ao total de células em divisão. Quanto ao total de anomalias mitóticas foram observados índices relevantes entre o Arroio Pelotas (Po 3) e o Controle ($P=0,014$), e entre a Barra do Laranjal (Po 4) e o Controle ($P=0,013$). Em relação ao total de anomalias interfásicas foram encontradas diferenças significativas entre a Barragem Eclusa (Po 1) e o Canal Santa Bárbara (Po 2), ($P=0,029$), bem como entre a Barragem Eclusa (Po 1) e o Controle ($P=0,042$).

No total de anomalias gerais foram observadas diferenças relevantes entre a Barragem Eclusa (Po 1) e o Controle ($P=0,028$), como também entre o Canal Santa Bárbara (Po 2) e o Controle ($P=0,020$), Arroio Pelotas (Po 3) e o Controle ($P=0,028$), a Barra do Laranjal (Po 4) e o Controle ($P=0,042$), e entre a Barragem Eclusa (Po 1) e o Canal Santa Bárbara (Po 2), ($P=0,043$).

Tabela 3- Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos do Canal São Gonçalo, assim como controle, durante a estação do verão, Pelotas, 2005.

Estação	Ponto	CD (X/DP)	IM	AM (X/DP)	AI (X/DP)	TA (X/DP)
Verão	Po 1	101,50± 31,18 ^{a, b}	10,15	0,75± 0,96	11,00± 4,97 ^{g, h}	11,75± 4,27 ^{i, j}
	Po 2	182,00± 61,06 ^a	18,2	1,00± 1,41	3,75±2,63 ^g	4,75±3,30 ^{i, j}
	Po 3	151,75±72,54 ^c	15,17	2,50± 1,29 ^e	6,00± 3,16	8,50±4,12 ⁱ
	Po 4	104,00±40,96 ^{c, d}	10,4	2,00± 0,82 ^{e, f}	8,00± 3,37	10,00± 4,1 ⁱ
	Controle	153,75± 21,39 ^{b, d}	15,37	0,00± 0,00 ^f	4,25± 1,89 ^h	4,25± 1,89 ⁱ

Dados analisados pelo teste de Mann-Whitney U.

a, g, j: Po 1 diferiu do Po 2, p<0,05; b, h: Po 1 diferiu do Controle, p<0,05; c, e: Po 3 diferiu do Po4, p<0,05; f, d: Po 4 diferiu do Controle, p<0,05; i: todos os pontos diferiram do controle significativamente, p<0,05.

Po 1: Barragem Eclusa, Po 2: Canal Santa Bárbara, Po3: Arroio pelotas, PO4: Barragem do Laranjal.

Nesta análise foi possível verificar que o Arroio Pelotas, apresentou maior incidência de anomalias mitóticas, e que a Barragem Eclusa apresentou maior número de alterações interfásicas, bem como maior total de anomalias observadas. O índice mitótico não apresentou variação considerável (Tabela 3).

Na análise comparativa quanto ao total de células em divisão, durante o outono (Tabela 4), foram encontradas diferenças significativas entre o Canal Santa Bárbara e a Barra do Laranjal (Po 4), (P=0,021). No total de anomalias mitóticas foram observadas diferenças significativas entre a Barragem Eclusa (Po 1) e o Controle (P=0,025) e entre o Canal Santa Bárbara (Po 2) e o Controle (P=0,032). No total de anomalias interfásicas foi possível encontrar diferenças entre a Barragem Eclusa (Po 1) e o Controle (P=0,028), o Canal Santa Bárbara (Po 2) e o Controle (P=0,019), o Arroio Pelotas (Po 3) e o Controle (P=0,027), bem como entre a Barra do Laranjal (Po 4) e o Controle (P=0,028).

Quanto ao total de anomalias gerais, na mesma estação, foram encontradas diferença significativa entre a Barragem Eclusa (Po 1) e o Canal Santa Bárbara (Po 2), (P=0,043), assim como entre a Barragem Eclusa (Po 1) e o Controle (P=0,020), Barra do Laranjal (Po 4) e o Controle (P=0,028), Canal Santa

Bárbara (Po 2) e o Controle (P=0,020), Arroio Pelota (Po 3) e o Controle (P=0,028).

Tabela 4- Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos do Canal São Gonçalo, assim como controle, durante a estação do outono, Pelotas, 2005.

Estação	Ponto	CD (X/DP)	IM	AM (X/DP)	AI (X/DP)	TA (X/DP)
Outono	Po 1	149,75±73,82	14,97	3,00±1,41 ^b	47,00±37,90 ^c	50,00±38,63 ^d
	Po 2	107,75±38,94 ^a	10,77	1,50±0,58 ^b	17,00±4,69 ^c	18,50±5,07 ^d
	Po 3	168,75±37,12	16,87	2,25±1,71	10,25±4,57 ^c	12,50±6,24 ^d
	Po 4	261,75±107,87 ^a	26,17	1,00±1,15	16,75±11,09 ^c	17,75±11,98 ^d
	Controle	160,75±32,78	16,07	0,25±0,50 ^b	1,25±1,89 ^c	1,50±1,73 ^d

Dados analisados pelo teste de Mann-Whitney U.

a: Po 1 diferiu do Controle, p<0,05; b: Po 1 e Po 2 diferiram do Controle, p<0,05; d,c: todos os pontos diferiram do Controle, p<0,05.

Po 1: Barragem Eclusa, Po 2: Canal Santa Bárbara, Po3: Arroio pelotas, PO4: Barragem do Laranjal.

Durante esta estação (Tabela 4) foi possível notar que o Arroio Pelotas (Po 3) apresentou-se com alto índice de células em divisão, conseqüentemente alto índice mitótico em comparação com os demais pontos e controle. A Barragem Eclusa (Po 1), obteve maior número de anomalias mitóticas e interfásicas.

A análise estatística dos dados obtidos durante o inverno (Tabela 5) permitiu observar diferenças significativas entre o Canal Santa Bárbara (Po 2) e o Arroio Pelotas (Po 3), (P=0,021), assim como entre o Canal Santa Bárbara (Po 2) e Controle (P=0,021) em relação ao total de células em divisão encontradas. Quanto ao total de anomalias mitóticas foram notadas diferenças significativas entre os pontos do Canal Santa Bárbara (Po 2) e Arroio Pelotas (Po 3) (P=0,019), bem como entre o Arroio Pelotas (Po 3) e o Controle (P=0,018). O total de anomalias interfásicas permitiu notar relevante índice destas entre a Barragem Eclusa (Po1) e o Controle (P=0,019), e entre o Canal Santa Bárbara e o Controle (P=0,020).

Quanto ao total de anomalias gerais encontradas verificou-se relevantes diferenças entre a Barragem Eclusa (Po 1) e o Controle (P=0,019), o Canal Santa Bárbara (Po 2) e o Controle (P=0,020), o Arroio Pelotas (Po 3) e o Controle (P=0,038) e entre a Barra do Laranjal (Po 4) e o Controle (P=0,020), (Tabela 5).

Tabela 5- Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos do Canal São Gonçalo, assim como controle, durante a estação do inverno, Pelotas, 2005.

Estação	Ponto	CD (X/DP)	IM	AM (X/DP)	AI (X/DP)	TA (X/DP)
Inverno	Po 1	91,75±55,86	9,17	1,00±1,41	9,50±2,52 ^e	10,50±3,11 ^g
	Po 2	41,00±22,48 ^{a, b}	4,1	0,50±0,58 ^c	11,50±4,04 ^f	12,00±3,56 ^g
	Po 3	107,75±30,79 ^a	10,77	4,25±2,63 ^{c, d}	10,25±8,77	14,50±9,29 ^g
	Po 4	117,75±53,76	11,77	1,00±1,41	10,00±4,32	11,00±5,48 ^g
	Controle	122,50±9,88 ^b	12,25	0,25±0,50 ^d	3,50±1,91 ^{e, f}	3,75±1,89 ^g

Dados analisados pelo teste de Mann-Whitney U.

a, c: Po 2 diferiu do Po 3, p<0,05; b, f: Po 2 diferiu do Controle, p<0,05; d: Po 3 diferiu do Controle, p<0,05; e: Po 1 diferiu do Controle, p<0,05; g: todos os pontos diferiram do Controle, p<0,05.

Po 1: Barragem Eclusa, Po 2: Canal Santa Bárbara, Po3: Arroio pelotas, PO4: Barragem do Laranjal.

Durante esta estação o Arroio Pelotas (Po 3) apresentou maior incidência quanto as anomalias mitóticas, e também quanto ao total de anomalias, embora o Canal Santa Bárbara (Po 2) tenha apresentado maior índice de alterações interfásicas. Este último também apresentou drástica redução do índice mitótico durante esta estação, que pode ter sido em decorrência a uma elevação da carga de poluentes recebida neste período (Tabela 5).

Na primavera (Tabela 6) foram encontradas diferenças significativas entre o Canal Santa Bárbara (Po 2) e a Barra do Laranjal (Po 4), (P=0,043), e entre a Barra do Laranjal (Po 4) e o Controle (P=0,029) quanto ao total de células em divisão. Em relação ao total de anomalias mitóticas foram observadas diferenças relevantes entre o Canal Santa Bárbara (Po 2) e o Controle (P=0,036) e entre o Canal Santa Bárbara (Po 2) e a Barra do Laranjal (Po 4) (P=0,036). Quanto ao total de anomalias interfásicas verificou-se diferenças entre a Barragem Eclusa

(Po 1) e o Controle (P=0,020), o Canal Santa Bárbara (Po 2) e o Controle (P=0,020), o Arroio Pelotas (Po 3) e o Controle (P=0,019) e entre a Barra do Laranjal (Po 4) e o Controle (P=0,028). No total de anomalias gerais encontradas observaram-se índices relevantes na análise entre a Barragem Eclusa (Po 1) e o Controle (P=0,019), assim como entre o Canal Santa Bárbara (Po 2) e o Controle (P=0,019), o Arroio Pelotas (Po 3) e o Controle (P=0,019) e a Barra do Laranjal (Po 4) e o Controle (P=0,037).

Tabela 6- Índice Mitótico (IM), Média e Desvio Padrão do número de células em divisão (CD), das anomalias do ciclo mitótico (AM), das anomalias interfásicas (AI) e do total de anomalias (TA) observadas nos quatro pontos do Canal São Gonçalo, assim como controle, durante a estação da primavera, Pelotas, 2005.

Estação	Ponto	CD (X/DP)	IM	AM (X/DP)	AI (X/DP)	TA (X/DP)
Primavera	Po 1	66,50±24,39	6,65	1,00±1,41	12,75±3,09 ^e	13,75±3,86 ^f
	Po 2	86,00±37,99 ^a	8,6	2,00±0,82 ^{c, d}	9,50±3,11 ^e	11,50±2,38 ^f
	Po 3	87,75±37,99	8,77	1,50±1,29	10,00±3,26 ^e	11,50±2,08 ^f
	Po 4	39,25±24,92 ^{a, b}	3,925	0,50±0,58 ^c	8,25±3,77 ^e	8,75±3,77 ^f
	Controle	79,00±4,55 ^b	7,9	0,50±0,58 ^d	3,00±0,82 ^e	3,50±0,58 ^f

Dados analisados pelo teste de Mann-Whitney U.

a, c: Po 2 diferiu do Po 4, p<0,05; b: Po 4 diferiu do Controle, p<0,05; d: Po 2 diferiu do Controle, p<0,05; e, f: todos os pontos diferiram do Controle, p<0,05.

Po 1: Barragem Eclusa, Po 2: Canal Santa Bárbara, Po3: Arroio pelotas, PO4: Barragem do Laranjal.

Durante a primavera notou-se que o Canal Santa Bárbara (Po 2) apresentou maior índice de alterações mitóticas, e a Barragem Eclusa (Po 1) apresentou maior incidência de anomalias interfásicas e totais. A Barra do Laranjal (Po 4) foi o ponto que apresentou redução do índice mitótico nesta estação (Tabela 6).

Todas estas análises permitiram observar que durante as estações os pontos mostraram algumas variações, sendo que a Barragem Eclusa (Po 1) e o Arroio Pelotas (Po 3) os locais onde foi encontrada maior frequência de elevados números de anomalias, dentre os pontos analisados. Desta forma ressalva-se os

prováveis tipos de poluentes que podem ser encontrados nestes locais: os agroquímicos e os oriundos de esgoto residencial, os quais não possuem nenhum tipo de controle e cuidado, tanto para o seu uso, no caso dos agroquímicos, quanto para o descarte em relação aos efluentes, os quais em maioria não recebem tratamento.

Também foi verificado que em todas as estações os pontos se mostraram com índices consideravelmente superiores quando comparados ao controle em relação ao número de alterações encontradas. No entanto a análise dos pontos entre si não demonstrou variações significativas quanto ao número destas anomalias durante as estações, exceto durante o verão e outono entre os pontos da Barragem Eclusa e o Canal Santa Bárbara.

Este estudo sazonal permitiu demonstrar que os pontos apresentaram-se igualmente poluídos durante todo o período de análise, não havendo variações significativas mesmo em períodos chuvosos, como no inverno, o que poderia interferir na análise citogenética devido à diminuição da concentração de substâncias tóxicas nas amostras, este fato pode indicar um elevado estado de poluição ao longo do Canal São Gonçalo.

Por ser este o primeiro trabalho citogenético mais detalhado realizado no Canal São Gonçalo, não foi possível fazer correlações com outras publicações, o que em parte prejudica uma análise da progressão da mutagenicidade encontrada neste recurso hídrico. Entretanto assim como demais estudos citogenéticos realizados em rios e córregos (Sanukida, 2002; El-Shahaby *et al.*, 2003; Ohe *et al.*, 2003; Amaral *et al.*, 2005; Matsumoto *et al.*, 2006) este experimento pode comprovar o aumento da freqüência de anomalias das amostras em relação ao controle.

5. CONCLUSÃO

Este estudo permite concluir que as águas que compõem o Canal São Gonçalo, por ser um receptor natural de todos os efluentes urbanos da cidade de Pelotas, de origem doméstica, pluvial, industrial, além de receber efluentes agrícolas derivados de terras irrigadas e drenadas para a Lagoa Mirim, apresenta-se com relevantes índices de mutagenicidade, corroborado através do teste *Allium cepa*, uma vez que em todas estações foi possível encontrar diferenças significativas quanto às anomalias do ciclo mitótico e anomalias interfásicas na análise dos pontos em relação ao controle. Sendo encontradas as maiores incidências de anomalias na Barragem Eclusa e no Arroio Pelotas.

As análises físico-químicas apresentaram variações relevantes apenas quanto a condutividade elétrica, na maioria das estações, o que concorre, em parte, para a conclusão de um possível impacto ambiental nos locais amostrados.

Estes fatos permitem inferir que mesmo sendo o Canal São Gonçalo um recurso hídrico de grande extensão, a ação antrópica tanto pelo contínuo descarte de poluentes em seu leito, como pela manipulação de seu curso, tem interferido na reciclagem deste recurso, não permitindo que ele sustente uma qualidade considerável de sua água nem tão pouco preserve sua função biológica.

6. ANEXOS

Células em Divisão

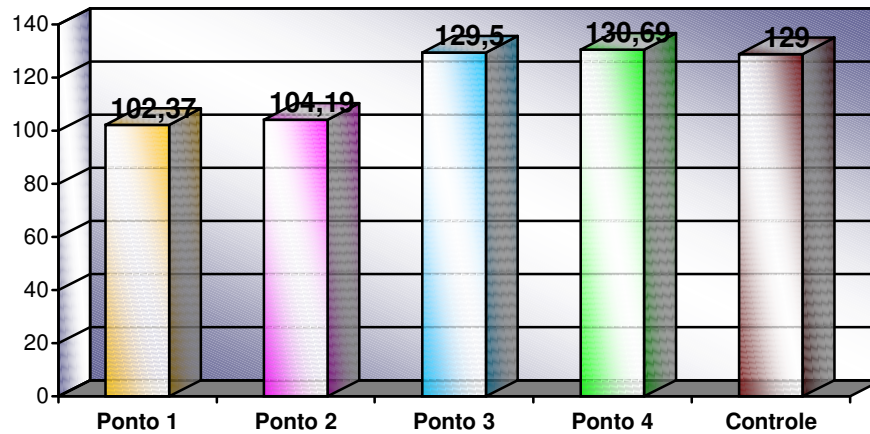


Figura 9. Gráfico da quantidade de células em divisão encontradas nos pontos e controle, no Canal São Gonçalo (Ponto 1 : Barragem Eclusa, Ponto 2: Canal Santa Bárbara, Ponto 3: Arroio Pelotas, Ponto 4: Barra do Laranjal, Controle).

Índice Mitótico

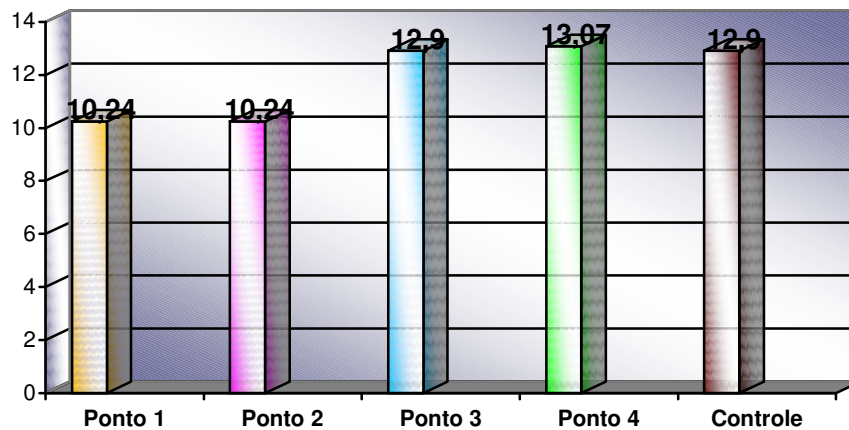


Figura 10. Gráfico representativo do índice mitótico encontrado nos pontos e no controle no Canal São Gonçalo (Ponto 1 : Barragem Eclusa, Ponto 2: Canal Santa Bárbara, Ponto 3: Arroio Pelotas, Ponto 4: Barra do Laranjal, Controle).

Anomalias Mitóticas

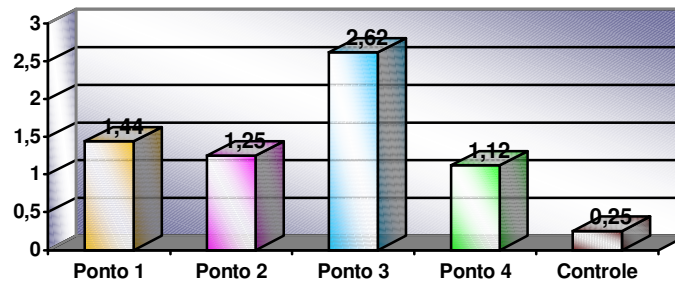


Figura 11. Gráfico das anomalias mitóticas encontradas nos pontos e no controle no Canal São Gonçalo (Ponto 1 : Barragem Eclusa, Ponto 2: Canal Santa Bárbara, Ponto 3: Arroio Pelotas, Ponto 4: Barra do Laranjal, Controle).

Anomalias Interfásicas

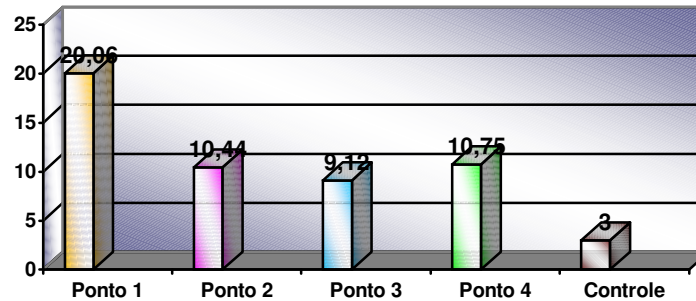


Figura 12. Gráfico das anomalias interfásicas encontradas nos pontos e no controle no Canal São Gonçalo (Ponto 1 : Barragem Eclusa, Ponto 2: Canal Santa Bárbara, Ponto 3: Arroio Pelotas, Ponto 4: Barra do Laranjal, Controle).

Total de anomalias

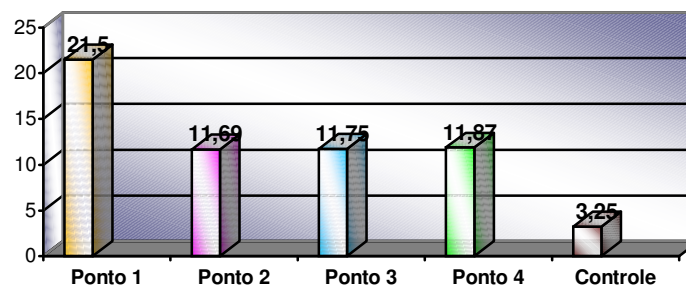


Figura 13. Gráfico do total de anomalias encontradas nos pontos e no controle no Canal São Gonçalo (Ponto 1 : Barragem Eclusa, Ponto 2: Canal Santa Bárbara, Ponto 3: Arroio Pelotas, Ponto 4: Barra do Laranjal, Controle).

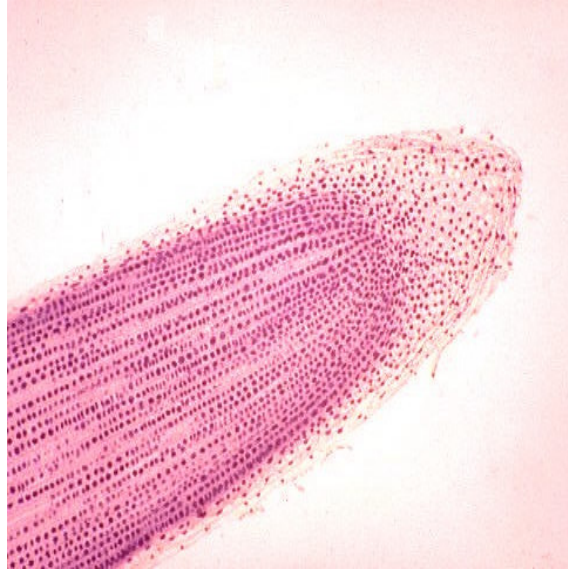


Figura 14. Corte longitudinal da raiz de *Allium cepa* (crescimento celular).

Fonte: Davoglio, 2006.

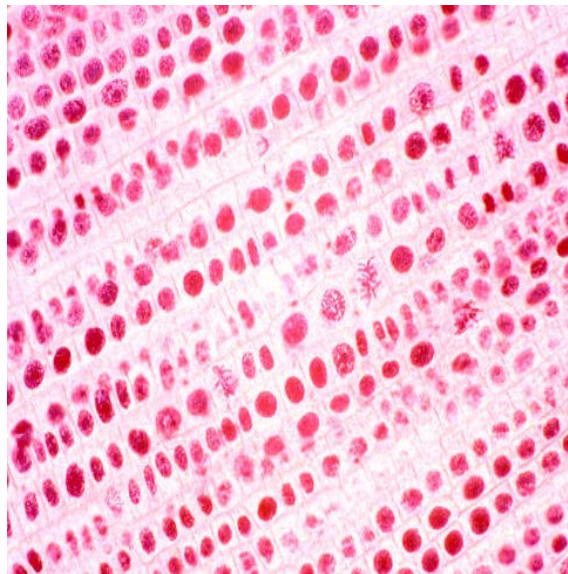


Figura 15. Disposição das divisões mitóticas na raiz. Fonte: Davoglio, 2006.

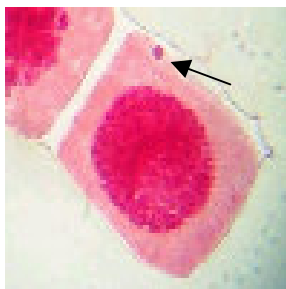


Figura 16. Célula com micronúcleo. Fonte: Laboratório de Genética, UCPel.



Figuras 17. Célula com núcleos ligados. Fonte: Laboratório de Genética, UCPel



Figura 18. Célula com cromossomos perdidos na e telófase. Fonte: Laboratório de Genética, UCPel.

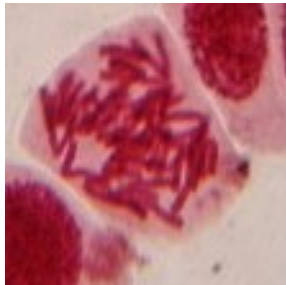


Figura 19. Anáfase desorganizada. Fonte: Laboratório de Genética, UCPel.

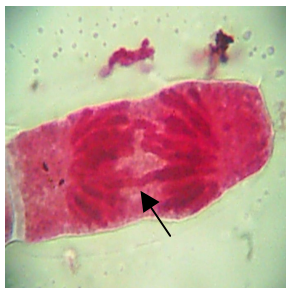


Figura 20. Ponte anafásica. Fonte: Laboratório de Genética, UCPel.



Figura 21. Célula com broto nuclear. Fonte: Laboratório de Genética, UCPel.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEEM, A.; MALIK, A. Genotoxicity of the Yamuna River water at Okhla (Delhi), India. **Ecotoxicol Environ Saf.**; v.61, n.3, p.404-12, jul. 2005.

AL-SABTI, K. Clastogenic effects of five carcinogenic chemicals on the cells of the common *Cyprinus carpio* L. **Comp. Biochem. Physiol.** n.85, p.5-9, 1986.

ANDRADE, N.J. e MACEDO, J.A.B. **Higienização na Indústria de Alimentos.** São Paulo, SP: Livraria Varela, 1996. 182p.

AMARAL, V.S.; SILVA, R.M.; REGULY, M.L.; ANDRADE, H.H.R. *Drosophila* wing-spot test for genotoxic assessment of pollutants in water samples from urban and industrial origin. **Mutation Research**, n.583, p.67-74, 2005.

BABISH, J.G.; JOHNSON, B.; LISK, D.J. Mutagenicity of municipal sewage sludge of American cities. **Environ Sci Technol**, n. 7, p.272-77, 1983.

BARBOSA, S.; PEREIRA-RAMIREZ, O.; CASTRO, N. Impactos ambientais causados por poluição urbana. Disponível em: <http://www.abeq.org.br/view.php?id=202>. Acessado em: 12 nov. 2005.

BARBOSA, J.S.; SANTOS, P.E.; EGITO, L.C.M.; MARCON, A.E.; AGNEZ-LIMA, L.F.; MEDEIROS, S.R.B. Avaliação do potencial genotóxico e mutagênico das águas da lagoa de Extremoz/RN. In: **51º Congresso Brasileiro de Genética**, Anais... Sociedade Brasileira de genética, São Paulo, Brasil, 2005. p.1260.

BAUMGARTEN, M.G. e POZZA, S.A. **Qualidade de águas: descrição de parâmetros químicos referidos na legislação ambiental.** Rio Grande: FURG, 2001. 166p.

BAUMSTARK-KHAN, C.; CIOARA, K.; RETTBERG, P.; HORNECK, G. Determination of geno - and cytotoxicity of groundwater and sediments using the recombinant SWITCH test. **J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.**; v.40, n.2, p.245-63, 2005.

BLAEDEL, W.J. e MELOCKE, V.W. Elementary Quantitative Analysis. Harper e Row, N.Y., Evaston and London, 2ª ed. 1963.

BRAZ, R.F.; VASCONCELOS, C.F.S.; CAMPOS, J.M.S.; OLIVEIRA, F.A. Potencial genotóxico da água do Rio Paraíbuna – Juiz de Fora (MG). In: **51º Congresso Brasileiro de Genética**, Anais... Sociedade Brasileira de genética, São Paulo, Brasil, 2005. p.1233.

BRANCO, S. M. **Hidrobiologia aplicada à engenharia sanitária**. São Paulo, 3 ed., CETESB/ASCETESB, 1986. 616p.

BOFF, L. **Meio Ambiente e Espiritualidade**. Meio Ambiente no Século 21. Ed. Sextante, 35-43, 2003.

BUSS, D.F.; BAPTISTA, D.F.; NESSIMIAN, J.L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.19, n.2, p.465-473, 2003.

CAIRNS Jr. J. e PRATT, J.R. A history of biological monitoring using benthic macroinvertebrates. In: *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*, p.10-27, New York: Chapman e Hall.

CAPÍTOLI, R.; BEMVENUTI, C.E. Cenários de distribuição e processo de colonização do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) entre as bacias da Lagoa dos Patos e Lagoa Mirim (RS Brasil). Disponível em: www.mma.gov.br/port/sbf/invasoras/capa/docs/paineis/cenarios_distribuicao.pdf. Acessado em 05 de abril 2006.

CARITA, R.; UMBUZEIRO, G.^a; MARIN-MORALES, M.A. Avaliação do efeito genotóxico e mutagênico de um efluente de indústria de tingimento de tecidos, utilizando *Allium cepa*. In: **51º Congresso Brasileiro de Genética**, Anais... Sociedade Brasileira de genética, São Paulo, Brasil, 2005. p.1249.

CARMOUZE, J. P. **O Metabolismo dos ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas**. São Paulo - Editora Edgard Blücher – FAPESP, 1994. 253p.

CAVALCANTE, F.L.; BARBOSA, J.S.; ARAÚJO, F.O; MEDEIROS, M.G.; AGNEZ-LIMA, L.F. MEDEIROS, S.R.B.; Análise da genotoxicidade e mutagenicidade do efluente tratado na estação de Tratamento de Esgoto de Ponta Negra, Natal-RN. In: **51º Congresso Brasileiro de Genética**, Anais... Sociedade Brasileira de genética, São Paulo, Brasil, 2005. p.1275.

CETESB. Variáveis de qualidade das águas. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/variaveis.asp>. Acessado em: 20 nov. 2005.

CONAMA 20. Conselho Nacional de Meio Ambiente, Resolução nº 20 Brasília : **Ministério do Meio Ambiente**, 1986. 11356p.

DAVOGLIO, E. Chi ediall' esperto. Disponível em: <http://www.dipbot.unict.it/tavole/tavola01/01b.html>. Acessado em 3 de maio de 2006.

DE FLORA, S. Mechanisms of inhibition of mutagenesis and carcinogenesis. **Mutation Research** 402: 151-158, 1998.

EL-SHAHABY, O.A.; MIGID H.M.A.; SOLIMAN, M.I.; MASHALY, I.A. Genotoxicity Screening of Industrial Wasterwater Using the *Allium cepa* Chromosome berration Assay. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.6, n.1, p.23-28, 2003.

ESTEVES, F.A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro, Editora Interciência Ltda – FINEP, 1988. 574p.

EVSEEVA, T.; GERAS'KIN, S.; SHUKTOMOVA, I.; TASKAEV, A. Genotoxicity and citotoxicity assay of water sampled from natural reservoirs whit contrast level of radioactive and chemical contaminacion. **Radioproteccion**, n.40, p.205-10, 2005.

FISKESJÖ, G. The *Allium* as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, n.102, p.99-102, 1985a.

FISKESJÖ, G. *Allium* test on river water from Bra n and Sax n before and after closure of a chemical factory. **Ambio**, v.14, n.2, p.99-103, 1985b.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, n.102, p.99-112, 1985.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test -an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal íons. **Mutat. Res.**, n.197, p.243-60, 1988.

FORGET, G.; GANON, P.; SÁNCHEZ, W.A.; DUTKA, B.J. Overview of methods and results of the eight country International Development Research Center (IDRC) WaterTox project. **Environm Toxicol**, n.15, p.264-76, 2000.

FOCHTMAN, P.; RASZKA, A.; NIERZEDSKA, E. The use of conventional bioassays microbiotests and some "rapid" methods in the selection of an optimal test battery for the assessment of pesticides toxicity. **Environm Toxicol**, n.15, p.376-384, 2000.

GRISOLIA, C.K.; OLIVEIRA, A.B.B.; BONFIM, H.; KLAUTAU-GUIMARÃES, M.N. Genotoxicity evaluation of domestic sewage in a municipal wastewater treatment plant. **Genet. Mol. Biol.**, v.28, n.2, p.334-338, 2005.

HANG, T.T.M.; SHIGYO, M.; YAGUCHI, S.; YAMAUCHI, N.; TASHIRO, Y. "Effect of single alien chromosome from shallot (*Allium cepa* L. *Aggregatum* group) on carbohydrate production in leaf blade of bunching onion (*A. fistulosum* L.)" **Genes Genet. Syst.**, n.79, p.345-350, 2004.

HORN, R.C.; ROCHA, J.A.; VARGAS, V.M. Determination of sediment mutagenicity and citotoxicity in area subjected to petrochemical contamination. **Mutagenesis**, v.19, n.6, p.445-51, 2004.

ISIDORI, M.; LAVORGNA, M.; NARDELLI, A.; PARRELLA, A. Integrated environmental assessment of Volturno River in South Italy. **Sci Total Environ.**, n.1-3, p.123-34, 2004.

JARDIM, G.M. **Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do rio Corumbataí**, SP. 2004. f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agrossistemas). Universidade de São Piracicaba- SP. Novembro 2004.

JOHNSON, B.T.; PETTY, J.D.; HUCKINS, J.N.; LEE, K.; GAUTHIER, J. Hazard assessment of a simulated oil spill on intertidal areas of the St. Lawrence River with SPMD-TOX. **Environ Toxicol.**, v.19, n.4, p.329-35, 2004.

JUNIOR, A.O. Consciência sobre a Água. Disponível em: <http://www.uniagua.org.br/website/default.asp?tp=3&pag=trabalhos.htm#consciencia>. Acessado em 25 out. 2005.

KUSAMRAN, W.R.; TANTHASRI, N.; MEESIRIPAN, N.; TEPSUWAN, A. Mutagenicity of the Drinking Water Supply in Bangkok. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, n.4, p.31-38, 2003.

LAH, B.; ZINKO, B.; NARAT, M.; MARINSEK-LOGAR, R. Monitoring of Genotoxicity in Drinking Water Using in vitro Comet Assay and Ames Test. **Food Technol. Biotecnol.**, v.43, n.2, p.139-46, 2005.

LEE, K. Globalization and the need for a strong public health response. **European Journal of Public Health**, n.9, p.249-50, 1999.

LEVAN, A. The effect of colchicines on root mitoses in Allium. **Hereditas**, n.24, p.471-86, 1938.

MA, M.; ZHAO, H.; WANG, Z.; SHANG, W. Mutagenic activity of organic pollutants extracted from waters in Guanting Reservoir and Yongding River. **Wei Sheng Yan Jiu**, v.30, n.6, p.355-7, 2001.

MACÊDO, J.A.B. **Introdução à Química Ambiental**. Juiz de Fora, MG: Jorge Macêdo, 2002, 487p.

MARCON, A.E.; BARBOSA, J.S.; MEDEIROS, M.G.; EGITO, L.C.M.; AGNEZ-LIMA, L.F.; MEDEIROS, S.R.B. Análise através do teste de Allium cepa, da genotoxicidade das águas do rio Piranhas-Açu no município de Alto do Rodrigues/RN. In: **51º Congresso Brasileiro de Genética**, Anais... Sociedade Brasileira de genética, São Paulo, Brasil, 2005. p.1261.

MARINOWIC, D.R.; BÜHLER, D.; RODRIGUES, M.A.S.; SILVA, L.B. Teste de mutagênese em Allium cepa: análise de efluente de curtume. In: **51º Congresso Brasileiro de Genética**, Anais... Sociedade Brasileira de genética, São Paulo, Brasil, 2005. p.1262.

MASON CF. **Biología de la contaminación del agua dulce**. S.l.:s.n. 1980.

MATSUMOTO, S.T.; MANTOVANI, M.S.; MALAGUTTII, M.I.A.; DIAS, A.L.; FONSECA, I.C.; MARIN-MORALES, M.A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and

comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, n.1, p.148-58, 2006.

MATTHIENSEN, A.; YUNES, J.S.; CODD, G.A. Occurrence, distribution and toxicity of cyanobacteria from the Patos Lagoon estuary, Southern Brazil. **Rev. Bras. Biol.**, vol.59, no.3, p.361-376, ago. 1999.

MCMICHAEL, A.J. Urbanização e Saúde. Questões do Teceiro Mundo. **Bulletin of the World Health Organization**, v.78, n.9, 2000.

MINISSI S.; CICCOTTI, E.; RIZZONI, M. Micronucleus test in erythrocytes of *Barbus plebejus* from two natural environments: A bioassay for the in situ detection of mutagens in freshwater. **Mutation Research**, n.399, p.135-47, 1996.

MINISTÉRIO DOS TRANSPORTES/ SECRETARIA DE TRANSPORTES AQUAVIÁRIOS/ DEPARTAMENTO DE HIDROVIAS INTERIORES. Canal São Gonçalo. Disponível em: <http://www.transportes.gov.br/bit/hidro/gcanalsaogoncalo.htm>. Acessado em: 12 nov. 2005.

MIRANDA, E.E. e COUTINHO, A.C. Brasil Visto do Espaço. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2004. Disponível em: <http://www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br>. Acesso em: 6 maio 2006.

MORAES, D.S.L.; JORDAO, B.Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Rev. Saúde Pública**, v.36, n.3, p.370-74, 2002.

MORGADO, A.F. **Apostila de águas naturais da Universidade Federal de Santa Maria**; junho, 1999.

NIELSEN, M.H. e RANK, J. Screening of toxicity and genotoxicity in wastewater by the use of the *Allium* test. **Hereditas**, n.121, p.249-54, 1994.

NOBUKAWA, T.; SANUKIDA, S. Contributions of genotoxic precursors from tributary rivers and sewage effluents to the Yodo River in Japan. **Water Research**, n.36, p.989-95, 2002.

OHE, T.; WHITE, P.A.; DE MARINI, D.M. Mutagenic characteristics of river waters flowing through large metropolitan areas in North America. **Mutation Research**, n.534, p.101-12, 2003.

PALUMBO, S. A.; RAJKOWSKI, K.T.; MULLER, A. J. Current approaches for reconditioning process water and its use in food manufacturing operations. **Trends in food Science & Technology**, n.8, p.69-74, 1997.

PEREIRA, F.C.; VILANOVA-COSTA, C.A.S.T.; RODRIGUES, L.O.; Da SILVA, C.C.; Da CRUZ, A.D. Avaliação do potencial mutagênico de esgotos tratados, através do teste em células meristemáticas de *Allium cepa*. In: **51^o Congresso**

Brasileiro de Genética, Anais... Sociedade Brasileira de genética, São Paulo, Brasil, 2005. p.1220.

PEREIRA, P.M.; SALDIVA, P.H.N.; *et al.* Urban levels of air pollution increase lung responsiveness in rats. **Environmental Research**, v.69, p. 96-101, 1995.

PORETTI, M. Quality control of water as raw material in the food industry. **Food Control**, n.4, p.79-83, 1990.

PORTO, R.L., BRANCO, S.M., CLEARY, R.W., ET AL. **Hidrologia Ambiental**, São Paulo, SP: Imprensa Universitária, USP, 1991. 414p.

RANK, J. e NIELSEN, M.H. Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. **Mutation Research**, n.418, p.113-19, 1998.

RESTANI, R.G.; SILVEIRA, I.C.A.; FERNÁNDEZ, R.R. Condições de balneabilidade na laguna dos Patos - Balneário Santo Antônio- Pelotas – RS. In: **XII congresso de Iniciação Científica**, Anais... – Universidade Federal de Pelotas – Ciências Biológicas, 2004.

RIBEIRO, D.C. Destino: La Charqueada. Disponível em: http://www.popa.com.br/imagens/lagoa_mirim/gps/selecao/sgoncalo.jpg. Acessado em 30 out. 2005.

RODRÍGUEZ, A.F. Os caminhos das águas. **Agroanalysis**, n.18, p.22-26, 1998.

RONCO, A.; GAGNON, P.; DÍAZ-BÁEZ, M.C.; ARKHIPCHUK, V.V.; CASTILLO, G.; CASTILLO, L.E. *et al.* Overview of results from the watertox intercalibration and environmental testing phase II program: P.1; Statistical analysis of blind simple testing. **Environm Toxicol**, n.17, p.232-40, 2002.

RUZANTE, J.M.; FONSECA, L.F.L. Água: mais um fator para atingir a qualidade do leite. **Revista Batavo**, v.8, n.108, p.40-2, 2001.

SANTOS, T.C.O.; JORGE, P.M.; OLIVEIRA, G.R.; RIBEIRO, S.G.; MARTINOIROTH, M.G.; GARCIAS, G.L. Biomonitoramento das águas do baixo curso do Arroio Pelotas. In: **III Congresso Sul-Riograndense de Biociências**, Anais..., Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil, 2005.

SILVA, M.F.P.T.B.; FERRARI, G.P.; TOLEDO, F.; ROCHA, C.L.M.S.C.; VICENTINI, V.E.P. Mutagenic effect of fresh water (well, rivers Fichá and Minas Gerais, close to the town of Ubiratã, Paraná, Brazil) in the animal test system. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.26, n.1, p.101-5, 2004.

SILVA, J.; HEUSER, V.; ANDRADE, V. Biomonitoramento Ambiental. In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.E.; HENRIQUES, J.A.P. (org.). **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003, 166-80p.

SILVA, J.; FONSECA, M.B. Estudos Toxicológicos no Ambiente e na Saúde Humana. In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. (org.) **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003, 70-84 p.

STEINKELLNER, H.; MUN-SIK, K.; HELMA, C.; ECKHER, S.; MA, T.H.; HORAK, O. Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays. **Environ. Mol. Mutagen.**, n.31, p.183-91, 1998.

TAKAKO, N. e STAOSHI, S. Contributions of genotoxic precursors from tributary rivers and sewage effluents to the Yodo River in Japan. **Water Research**, n.36, p.989-95, 2002.

UMBUZEIRO, G.A.; ROUBICEK, D.A.; RECH, C.M.; SATO, M.I.; CLAXTON, L.D. Investigating the sources of the mutagenic activity found in a river using the Salmonella assay and different water extraction procedures. **Chemosphere**, v.54, n.11, p.1589-97, 2004.

VANZ, A.; MIRLEAN, N.; BAISCH, P. Evaluation of the air pollution by particulate lead: geochemical approach. **Quím. Nova**, v.26, n.1, p.25-29, 2003.

VESNA, S.; STEGNAR, P.; LOVKA, M. AND TOMAN, M. J. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the Allium test procedure. **Mutation Research**, n.368, p.171-79, 1996.

VIEIRA, J.G.; SILVA, E.B.; COELHO, V.C.; PIEDRAS, S.R.N.; ISOLDI, L.A. Parâmetros físico-químicos da Bacia do Canal São Gonçalo, Pelotas, RS. In: **Eqama 2004** - II Encontro de Qualidade dos Alimentos e Meio Ambiente, 2004, Rio Grande. Anais do Eqama 2004 - II Encontro de Qualidade dos Alimentos e Meio Ambiente, 2004.

VIEIRA, J.G.; CALDAS, S.S.; PIEDRAS, S.R.N.; ISOLDI, L.A. A importância ambiental das análises físico-químicas do Canal São Gonçalo. In: **III Congresso Sul-Riograndense de Biociências**, Anais..., Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil, 2005.

VIGANO, L.; CAMOIRANO, A.; IZZOTI, A.; D'AGOSTINI, F.; POLESELLO, S.; FRANCISCI, C.; DE FLORA, S. Mutagenicity of sediments along the Po River and genotoxicity biomarkers in fish from polluted areas. **Mutation Research**, n.515, p.125-34, 2002.

VIJAYASHREE, B.; AHUJA, Y.R.; REGNIERS, L.; RAO, V.; VERSCHAEVE L. Genotoxicity of the Musi River (Hyderabad, India) investigated with the VITOTOX test. **Folia Biol (Praha)**, v.51, n.5, p.133-9, 2005.

WASHINGTON, H.G. Diversity, biotic and similarity indices. A review with special relevance to aquatic ecosystems. **Water Research**, n.18, p.653-694, 1984.

WHITE, P.; RASMUSSEN, J.B. The genotoxic hazard of domestic wastes in surface waters. **Mutation Res.**, n.410, p.223-36, 1998.

WHO, International Standards for Drinking Water. 3rd ed. Geneva: **World Health Organization**, 1971.