INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS E MUTAGÊNICOS DE AMOSTRAS AMBIENTAIS DO RIO TIETÊ NA REGIÃO DE SUZANO EM *Biomphalaria glabrata* (SAY, 1818)

LENITA DE FREITAS TALLARICO

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações

Orientadora:
Dra. Kayo Okazaki

SÃO PAULO
2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS E MUTAGÊNICOS DE AMOSTRAS AMBIENTAIS DO RIO TIETÊ NA REGIÃO DE SUZANO EM *Biomphalaria glabrata* (SAY, 1818)

LENITA DE FREITAS TALLARICO

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações

Orientadora:
Dra. Kayo Okazaki

SÃO PAULO
2009

Ao meu irmão Jônatas,
pelo ensinamento deixado em vida e
por todas lembranças saudosas
que me acompanham por todos os meus dias
À minha irmã Aline
e meus pais Décio e Maria Lúcia
pelo amor e carinho incondicionais

ÁGUA

Da nuvem até o chão.
Do chão até o bueiro.
Do bueiro até o rio.
Do rio até a cachoeira.
Da cachoeira até a represa.
Da represa até a caixa d'água.
Da caixa d'água até o cano.
Do cano até a torneira.
Da torneira até o filtro.
Do filtro até o copo.
Do copo até a boca.
Da boca até a barriga.
Da barriga até a privada.
Da privada até o esgoto.
Do esgoto até o rio.
Do rio até outro rio.
Do outro rio a outro rio.
Outro rio outro rio.

Toda água é a mesma água.
Cada água é uma água só.
Cada água é uma outra água.
Toda água é mesmo água e só.

Arnaldo Antunes – letra
Arrigo Barnabé – música

AGRADECIMENTOS

À Dra Eliana Nakano pelos ensinamentos científicos, pelo estímulo, dedicação, companheirismo e grande amizade;

À Dra Kayo Okazaki pela orientação, confiança, apoio e amizade;

À Dra Toshie Kawano que me abriu as portas do Laboratório de Malacologia/Parasitologia do Instituto Butantan, e tem me acompanhado durante toda a minha carreira, pela confiança e amizade;

À amiga e colaboradora da SUCEN, Dra Fernanda Pires Ohweiler;

À Dra Sueli Ivone Borrely, pela parceria, amizade e apoio;

À Cristina A. Albuquerque e Vanessa S. Grazeffe, do Instituto Butantan, pelo apoio técnico, amizade e dedicação;

Aos funcionários da SABESP: Ivana W. Pereira, Flávio Machado, Rosângela C. M. de Carvalho, Roseli D. Sposito, Aristeu M. Matsumoto, José B. do Nascimento e Sara R. A. F. Santana pela parceria;

Ao Dr. Carlos Alberto de B. Pereira, do Instituto de Matemática da Universidade de São Paulo, pela análise estatística;

A Patrícia, Ana Rita e Ludmila, do Instituto Butantan, além do apoio profissional, são grandes amigas que estão presentes em muitos momentos da minha vida;

À minha amiga e irmã Aline, que me auxilia, conforta e é a maior prova de amor e companheirismo;

Aos meus pais Maria Lúcia e Décio que foram os maiores incentivadores para a realização de mais uma etapa de vida e por toda paciência, carinho e amor;

Ao Thiago, meu companheiro e amor, que me apóia, incentiva e consola em muitos momentos;

Às amigas Liz Cristina, Fabiana, Cynthia, Fernanda, Magda e Raquel, que me acompanham profissional e particularmente em vários momentos da minha vida;

Aos amigos do IPEN: Miriam, Natália, Alessandro, Gabriel, Antonio Carlos, Vanessa, Renata, Marcela e Reginaldo, que me auxiliaram direta ou indiretamente no desenvolvimento deste trabalho;

Aos amigos do Instituto Butantan: Edith, Priscilla, Suzete, Simone, Mariana, Camila, Patrícia, Cristina, Dan, Alex, Carlos, Maria de Lurdes, Jurema, Rebeca e Orlando;

Ao IPEN e ao Instituto Butantan, pelas condições fornecidas para a realização deste trabalho;

Ao CNPq e a FAPESP, pelo auxílio financeiro;

A todos os amigos e familiares que ajudaram nos momentos de alegrias, perdas e dores insuportáveis, a superar os limites e chegar ao final;

Aos amigos que por algum motivo esqueci de citar e todos aqueles que acreditaram em mim.

Avaliação dos efeitos tóxicos e mutagênicos de amostras ambientais do Rio Tietê na região de Suzano em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818)

LENITA DE FREITAS TALLARICO

RESUMO

Na região de Suzano, uma grande quantidade de resíduos industriais e domésticos é despejada no Rio Tietê. Essa região merece atenção especial devido a sua proximidade com a nascente do rio. O tratamento biológico de efluentes é realizado pela ETE Suzano (Estação de Tratamento de Esgotos de Suzano) da SABESP (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo). O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial impacto de efluentes lançados no Rio Tietê por meio da análise de toxicidade aguda e da mutagenicidade em caramujos de água doce *Biomphalaria glabrata*. Ensaios de toxicidade aguda foram realizados em espécimes adultos e embriões nos estádios de blástula, gástrula, trocófora e véliger. Os resultados obtidos no ensaio de toxicidade aguda foram utilizados para determinar a faixa de concentração para o teste do letal dominante, que foi empregado para a detecção de mutações em células germinativas. Caramujos selvagens adultos, após o final da exposição nas soluções, foram cruzados com albinos não expostos em diferentes intervalos para avaliar os efeitos nas células germinativas em diferentes estágios da espermatogênese – 10, 17, 24, 31, 38, 45, 52 e 59 dias, para isso foram analisadas as progênies heterozigotas dos albinos quanto à freqüência de malformações. As amostras foram coletadas e transportadas pela SABESP. Os seguintes pontos foram escolhidos: P0 - Barragem Ponte Nova, P1 – 200 metros a montante da estação, P2 – o afluente da estação, P3 – o efluente tratado da estação antes do lançamento no rio e P4 – 200 metros após o lançamento do efluente no rio. Foram realizadas quatro amostragens: duas campanhas no inverno (C1 – agosto de 2006 e C3 – agosto de 2007) e duas no verão (C2 – fevereiro de 2007 e C4 – março de 2008). Nas amostras de agosto de 2006 e agosto de 2007, o afluente foi tóxico para os embriões e adultos. Os resultados foram semelhantes, com valores de CL_{50} de 43,04%, 41,56%, 57,16% e 60,06% para os embriões nos estádios de blástula, gástrula, trocófora e véliger, respectivamente, e 100% para caramujos adultos na primeira amostra e 48,24%, 43,71%, 55,43% e 62,64% para os embriões nos estádios de

blástula, gástrula, trocófora e véliger, respectivamente, e 84,16% para caramujos adultos, em agosto de 2007. A amostra de fevereiro de 2007 foi tóxica apenas para caramujos adultos, com valor de CL_{50} de 41,25% e a amostra de março de 2008 não foi tóxica para os caramujos adultos e embriões. Em todas as amostragens, após a descarga no rio, os efluentes tratados não foram tóxicos para adultos e embriões de *B. glabrata*. Não houve mutagenicidade em todas as amostras. Neste trabalho, o potencial impacto de descargas de efluentes ao biota do Rio Tietê foi observado. Foram realizadas comparações entre os ensaios normatizados de toxicidade aguda com *Daphnia similis* e os ensaios de toxicidade aguda com *B. glabrata*. Os resultados mostraram que houve resposta similar entre *B. glabrata* e *D. similis*. As novas metodologias propostas para o monitoramento da qualidade das águas: o ensaio de toxicidade aguda em adultos e embriões e o teste do letal dominante em *Biomphalaria glabrata* para a avaliação da mutagenicidade *in vivo* – mostraram ser eficientes na avaliação de amostras de água e podem ser integrados na bateria de testes já validados e empregados para o controle de poluição ambiental.

Evaluation of toxic and mutagenic effects of environmental samples of Tietê River in the region of Suzano in *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818)

LENITA DE FREITAS TALLARICO

ABSTRACT

In the region of Suzano, a wide range of industrial and domestic wastes are discharged in the River Tietê. This region deserves special attention because of its proximity to the origin of the river. Biological treatment of effluents is carried out by WWTP (Wastewater Treatment Plant of Suzano) of SABESP (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo). The aim of the study was evaluate the potential impact of secondary effluent discharge on Tietê River by analyzing acute toxicity and mutagenicity in the freshwater snail *Biomphalaria glabrata*. Acute toxicity assays were conducted in adult specimens and embryo at blastulae, gastrulae, trocophore and veliger stages. Dominant lethal test was performed for detection of germ cell mutations. Results obtainded in acute toxicity test were used to determine the range of concentration for the dominant lethal test. After the end of the exposure, adults wild-type snails were crossed with non-exposed albino snails at different intervals to evaluate the effects in the germ cells at the different stages of spermatogenesis – 10, 17, 24, 31, 38, 45, 52 and 59 days. The frequency of malformations on the wild embryos of the albino offspring was used as indicator of germ cell mutations. Samples were collected and transported by SABESP. The following points were chosen: P0 – Ponte Nova Dam, P1 – 200 meters upstream to the plant, P2 – the affluent of plant, P3 – the effluent treated by plant before discharge in the river and P4 – 200 meters downstream to the discharge in the river. Four sampling were performed: two samples in winter (C1 – August of 2006 and C3 – August of 2007) and two in summer (C2 – February of 2007 and C4 – March of 2008). At August 2006 and August 2007, the station affluent was toxic for embryos and adults. The results were similar, with LC_{50} values; 43.04%, 41.56%, 57.16% and 60.06% for embryos at blastulae, gastrulae, trocophore and veliger stages respectively and 100% for adult snails in first sample and 48.24%, 43.71%, 55.43% and 62.64% for embryos at blastulae, gastrulae, trocophore and veliger stages respectively and 84.16% for adult snails in august

2007. Sampling at February 2007 was toxic only for adult snails, with a LC_{50} value of 41.25% and was not toxic for adults and embryos at March 2008. In all samplings, after discharge into the river, treated effluents were not toxic for *B. glabrata* adults and embryos. There was no mutagenicity in any samples. In this study, the potential impact of effluent discharge to the biota of Tietê River was showed. These results show the importance of the WWTP biological treatment of effluents in reducing acute toxicity. Comparisons were made between standardized acute toxicity tests with *Daphnia similis* and acute toxicity tests with *B. glabrata*. The results showed similar response between *B. glabrata* and *D. similis*. The new methodologies proposed for the monitoring of water quality: the acute toxicity test in adults and embryos and the dominant lethal test in *Biomphalaria glabrata* for assessing the *in vivo* mutagenicity - proved to be efficient in the evaluation of the water samples and can be integrated in battery of tests, validated and employed by control of environmental pollution.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	13
1. 1 Contribuições originais do trabalho	14
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivos gerais	17
2. 2 Objetivos específicos	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3. 1 Poluição aquática	18
3. 2 Efeitos biológicos da poluição aquática	20
3. 2. 1 Efeitos agudos e crônicos	20
3. 2. 2 Efeitos mutagênicos	21
3. 3 Sistemas biológicos para biomonitoramento	24
3. 3. 1 Utilização de invertebrados como indicadores de poluição	24
3. 3. 2 Estudos de avaliação ambiental com o gênero *Biomphalaria*	25
3. 4 Estudos com avaliações integradas de efeitos biológicos e análises químicas	28
3. 5 O Rio Tietê	31
3. 6 Estação de Tratamento de Esgotos de Suzano – ETE Suzano	34
3. 7 Estudos com ensaios biológicos na região do Alto Tietê	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4. 1 Coleta de amostras	37
4. 2 Ensaios com *Biomphalaria glabrata*	41
4. 2. 1 Criação e manutenção dos caramujos	41
4. 2. 2 Determinação da concentração letal (CL_{50}) em adultos de *B. glabrata*	42
4. 2. 3 Determinação da concentração letal (CL_{50}) em embriões	43
4. 2. 4 Seleção dos animais para o Teste do Letal Dominante	45
4. 2. 5 Determinação das concentrações para o teste do letal dominante	47
4. 2. 6 Coleta de desovas	48
4. 2. 7 Análise dos embriões de *Biomphalaria glabrata*	48
4. 3 Análise estatística	51

5 RESULTADOS..... 52
5. 1 Análise de toxicidade aguda em *Biomphalaria glabrata* 52
5. 1. 1 Análise de toxicidade aguda em adultos 52
5. 1. 2 Análise de toxicidade aguda em embriões 53
5. 2 Análise dos efeitos mutagênicos em células germinativas de *B. glabrata* 55
6 DISCUSSÃO..... 64
6. 1 Considerações finais 72
7 CONCLUSÕES 74
8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 75
ANEXO I 76
ANEXO II 113
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS...... 118

1. INTRODUÇÃO

A preservação do meio ambiente assumiu caráter global, principalmente após a década de 70, com as conferências de Estocolmo em 1972, de Tbilisi em 1977 e a ECO 92 realizada no Rio de Janeiro. A evolução da mídia também contribuiu significativamente com esse processo, devido à rapidez com que as informações são transportadas de um lugar a outro do mundo.

A poluição do meio ambiente tem ocorrido de diversas formas por meio das ações antrópicas. A exploração desordenada dos recursos naturais, o aumento do gasto de energia e a produção de escórias, leva a contaminação dos solos, das águas e do ar, colocando em risco a sobrevivência da raça humana e de todo ecossistema no planeta.

Atualmente já não se pode deixar de compreender que agressões ambientais que ocorrem em determinado ponto do globo podem ter repercussão à distância, afetando outros continentes, como por exemplo, os casos de acidentes radioativos, as chuvas ácidas e os derramamentos de petróleo nos mares.

Dentre os ambientes, os aquáticos são os mais representativos, já que a água é um elemento fundamental para a existência de qualquer organismo vivo. Aproximadamente 3/4 da superfície da Terra é coberta pela água, sendo 97,4% água salgada dos oceanos e 1,8% congelada. Apenas 0,8% corresponde a água doce disponível para os organismos do nosso planeta e não se sabe realmente quanto já esta contaminada (Sanchez e Sato, 2002).

As principais fontes de poluição das águas são os resíduos industriais, domésticos e rurais, que são despejados voluntária ou involuntariamente nos corpos de água e que podem atingir não só as águas superficiais como também as subterrâneas. Como exemplos de materiais tóxicos que normalmente são despejados nas águas destacam-se metais pesados como o cádmio e o mercúrio, o chumbo, nitratos, compostos orgânicos e pesticidas. Esses poluentes representam grande ameaça à qualidade da água, à saúde e ao meio ambiente, pois são capazes de provocar danos aos organismos vivos, à cadeia alimentar e à saúde humana.

Portanto, além do saneamento ambiental que deve ser considerado como imprescindível para a garantia da qualidade de vida saudável no planeta, também é necessário o desenvolvimento de sistemas capazes de detectar a presença de poluentes no ambiente e de avaliar seus efeitos em populações naturais. Com isso, será possível estabelecer normas para a

liberação dessas substâncias no meio ambiente para que se garanta à população o abastecimento de água de boa qualidade e a preservação dos ambientes ainda não tão impactados.

Outro fator importante é que existe um grande desperdício de água potável pelas atividades humanas. Muitos problemas estão relacionados com o nível de educação, com os hábitos da população e pelo poder aquisitivo. Nesse sentido, existe a importância da Educação Ambiental, para resgatar a cidadania da população e tomar consciência da necessidade da preservação do meio ambiente, já que influi diretamente na manutenção da qualidade de vida. Dentro desse contexto, uma grande parcela da contenção da "saúde das águas" cabe aos brasileiros, já que se a Terra parece o Planeta Água, o Brasil poderia ser considerado sua capital, já que é dotado de uma extensa rede de rios, e privilegiado por um clima excepcional, que assegura chuvas abundantes e regulares em quase todo seu território (Zampieron e Vieira, 2008).

De acordo com a Fundação Nacional da Saúde (1999), "Cuidar da natureza é um assunto que diz respeito a todos nós. O melhor caminho é fazer uso correto e equilibrado do patrimônio natural que possuímos e que está se perdendo pelo consumo excessivo de alguns e pelo desperdício de outros".

1.1 Contribuições originais do trabalho

A inserção dos ensaios ecotoxicológicos como ferramenta de avaliação ambiental é de fundamental importância, pois alguns fatores não são avaliados pelas variáveis abióticas.

Atualmente, vários ensaios de toxicidade estão padronizados nacional e internacionalmente por associações ou organizações tais como ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), AFNOR (Association Française de Normalisation), ISO (International Organization for Standardization), USEPA (United State Environmental Protection Agency), ASTM (American Society for Testing and Materials), AWWA (American Water Work Association), DIN (Deutsches Institut fur Normung) e OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) (Aragão e Araújo, 2008).

Até recentemente, o monitoramento das águas era feito basicamente usando parâmetros físico-químicos e microbiológicos. Visando proteger os corpos receptores de efluentes no Estado de São Paulo, a Secretaria Estadual do Meio Ambiente editou a Resolução SMA 03/2000, para reduzir a carga de toxicidade pelo lançamento de efluentes ao aprovar e fixar o "Controle Ecotoxicológico de Efluentes Líquidos". Essa resolução estabelece os limites de lançamento para garantir que, após a diluição do efluente no rio, este não sofra declínio na qualidade da água.

No âmbito federal, somente em 2005 o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) com a Resolução 357/2005 (antigo CONAMA 20/86), inclui os ensaios ecotoxicológicos como obrigatórios legalmente no controle de efluentes lançados nos corpos de água, direcionando a exigência para o Órgão Ambiental Estadual, que escolherá os melhores organismos e ensaios a serem utilizados.

Grande parte dos estudos de toxicidade aquática tem gerado respostas com base em efeitos agudos, entretanto, os programas oficiais de monitoramento do ambiente aquático têm exigido a realização de ensaios de toxicidade crônica com a análise de efeitos na fecundação, desenvolvimento embrio-larval, reprodução e produção de biomassa. A inclusão de testes de mutagenicidade na avaliação da qualidade das águas vem sendo sugerida em decorrência da forte mistura de efluentes praticadas pelo setor produtivo que, freqüentemente, contém compostos mutagênicos (Claxton *et al.*, 1998; Ohe *et al.*, 2004). Além dos compostos mutagênicos presentes lançados constantemente na água, os sedimentos são reservatórios de muitas substâncias, que podem ser disponibilizadas na coluna d'água. Essa grande quantidade de substâncias mutagênicas poluentes no ambiente pode representar um risco para os ecossistemas, porque, além dos efeitos tóxicos agudos mais evidentes, pode induzir alterações na fecundidade e na viabilidade da prole de populações expostas, por meio da indução de mutações em células germinativas, levando a extinção de espécies.

Nesse sentido, foram propostas duas novas metodologias para o monitoramento da qualidade das águas com o molusco de água doce *Biomphalaria glabrata* – o ensaio de toxicidade aguda em adultos e embriões e o teste do letal dominante. Este trabalho foi realizado no Laboratório de Malacologia/Parasitologia do Instituto Butantan e faz parte de um

projeto em colaboração com os laboratórios de Malacologia da Sucen (Superintendência de Controle de Endemias), de Ensaios Biológicos Ambientais do Centro e Tecnologia das Radiações e do Centro de Biotecnologia do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/Comissão Nacional de Energia Nuclear-SP. Além disso, conta com a parceria da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) que realizou as coletas e transporte das amostras da Estação de Tratamento de Esgotos de Suzano (ETE Suzano) e do seu entorno, para os laboratórios envolvidos.

No projeto foram realizados ensaios normatizados de toxicidade aguda com bactérias *Vibrio fischeri* e com os microcrustáceos *Daphnia similis* para validar as novas metodologias com *Biomphalaria glabrata*. E também, foram propostos ensaios de citotoxicidade e mutagenicidade por meio do teste do micronúcleo em células CHO-K1 e pela indução de mutações letais dominantes em *B. glabrata.*

Procurou-se utilizar organismos de níveis tróficos diferentes para aumentar a probabilidade de detecção de diferentes classes de substâncias tóxicas no ambiente, uma vez que existem grupos de contaminantes mais tóxicos para determinados organismos. Além disso, os protocolos de estudos ecotoxicológicos para monitoramento da qualidade das águas superficiais recomendam a realização de ensaios de toxicidade aguda e crônica com três espécies de organismos aquáticos representativas de níveis tróficos distintos (Rand *et al.*, 1995).

A análise conjunta de efeitos tóxicos e mutagênicos de águas poluídas indicará, a curto e longo prazos, a condição ambiental da região. Esses dados são importantes na adoção de perfis de controle em áreas poluídas e também servirão para a conservação de áreas ainda não tão perturbadas, utilizando novas técnicas que evidenciem os efeitos nocivos dos contaminantes tanto para o biota dos corpos hídricos como para a população.

2. OBJETIVOS

2. 1 Objetivos gerais

Este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos tóxicos e mutagênicos de águas e efluentes do Rio Tietê, na região da Estação de Tratamento de Suzano em *Biomphalaria glabrata*.

2. 2 Objetivos específicos

Foram realizadas as seguintes metodologias de ensaios biológicos:

- Análise da toxicidade aguda em caramujos adultos;
- Análise dos efeitos tóxicos em embriões;
- Análise dos efeitos mutagênicos em células germinativas;
- Validar as metodologias propostas de toxicidade aguda pela comparação de efeitos obtidos em *Biomphalaria glabrata* com os de *Daphnia similis* e a metodologia de análise de efeitos mutagênicos – Teste do Letal Dominante em *Biomphalaria glabrata* – para o monitoramento da qualidade das águas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3. 1 Poluição aquática

Os recipientes finais da maioria das substâncias tóxicas geradas pelas atividades agrícolas, domésticas e industriais liberadas no ambiente são os corpos de água doce naturais (Cooney, 1995). De um modo geral, existem três classes de fontes de poluição, que diferem umas das outras pelo modo de entrada no ambiente – sedimentos contaminados, fontes não pontuais (difusas) e fontes pontuais (Doust *et al.*, 1994).

Os sedimentos são contaminados quando um composto hidrofóbico entra no ambiente aquático, sendo adsorvido e acumulado nas partículas do sedimento, ou em suspensão. A entrada de contaminantes por diversos pontos de origem, que incluem lençóis de água, deposição atmosférica, resíduos agrícolas, são denominadas de fontes difusas de poluição. Já as fontes pontuais de poluição referem-se às descargas diretas de efluentes industriais e urbanos no ambiente aquático (Doust *et al.*, 1994).

Dentre as fontes de poluição, as descargas diretas de efluentes industriais constituem uma das principais fontes de poluentes aquáticos. Nos efluentes, estão presentes compostos químicos que podem ser acumulados em níveis tóxicos no ambiente (Rand *et al.*, 1995).

Entre os agentes tóxicos utilizados e liberados em processos industriais que contaminam as águas estão presentes os metais pesados, metalóides, compostos inorgânicos, compostos orgânicos, detergentes sintéticos, pesticidas e radionuclídeos (Rand *et al.*, 1995).

Os metais compreendem os grupos de metais alcalinos-terrosos, os metais alcalinos, os lantanídeos e actinídeos. Os elementos cobre, zinco, cádmio, mercúrio e chumbo, em certas quantidades são tóxicos ao meio aquático. Já os metalóides não são elementos metálicos, mas apresentam propriedades similares aos metais verdadeiros, como o silício e o arsênio, que também contribuem para a contaminação das águas (Rand *et al.*, 1995).

Nitrogênio, fósforo, boro, cloro, cloreto, amônia, nitritos, nitratos e sulfetos, são compostos inorgânicos que podem ser tóxicos dependendo das condições de sobrevivência das espécies (como por exemplo, mudanças no pH e na temperatura) (Rand *et al.*, 1995).

Nos processos industriais e na aplicação doméstica de produtos industrializados, os compostos orgânicos contribuem direta ou indiretamente em descargas tóxicas para o meio aquático. Esses compostos incluem os PCBs (bifenilas policloradas), as dioxinas, os furanos, os PAHs (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos) e detergentes sintéticos (Rand *et al.*, 1995).

Outras fontes de poluição aquática são os pesticidas e os radionuclídeos. A composição dos pesticidas é muito variada, abrangendo desde simples substâncias inorgânicas até complexas moléculas orgânicas. São substâncias específicas para matar ou controlar uma determinada espécie, mas que podem atingir e afetar toda a comunidade envolvida. Já os radionuclídeos são átomos instáveis e obtêm a estabilidade doando partículas ou emitindo raios eletromagnéticos. A contaminação do ambiente por radionuclídeos pode ser causada por rejeitos das usinas nucleares (Rand *et al.*, 1995).

A persistência de um composto no ambiente pode ser expressa em termos de meia-vida, que é definida como o tempo necessário para reduzir a sua concentração inicial pela metade. Substâncias químicas também podem ser convertidas em outros produtos como resultado de transformações bióticas ou abióticas. As reações de transformação abióticas predominantes na água são a hidrólise, oxidação e fotólise. Essas reações podem levar a um maior ou menor aproveitamento dos compostos nas transformações bióticas. Peixes, invertebrados, microrganismos e plantas transformam os compostos químicos em vários metabólitos após a absorção. Essas biotransformações são mediadas enzimaticamente (Rand *et al.*, 1995).

Apesar dos ecossistemas aquáticos serem adaptáveis, com uma variedade de mecanismos físicos, químicos e biológicos pelos quais substâncias tóxicas podem ser assimiladas sem implicações sérias ao biota endêmico, quando a contaminação ultrapassa a capacidade assimilativa das águas, pode afetar a sobrevivência, desenvolvimento, crescimento, reprodução, ou comportamento (como por exemplo, o movimento) dos organismos (Cooney, 1995). Além da contaminação das águas afetar as espécies habitantes, pode também ter implicações em espécies não aquáticas, via cadeia alimentar, ou simplesmente pelo consumo da água, podendo apresentar riscos cumulativos para as populações expostas (Gauthier *et al.*, 2004).

3. 2 Efeitos biológicos da poluição aquática

3.2.1 Efeitos agudos e crônicos

Um agente tóxico, quando introduzido num determinado ambiente de forma deliberada ou acidental, pode produzir uma resposta adversa em um ou mais sistemas biológicos causando efeitos agudos e crônicos (Cooney, 1995).

Efeitos agudos são aqueles que ocorrem rapidamente como resultado de uma exposição a compostos químicos em um curto período. Efeitos que ocorrem em horas, dias ou semanas são considerados agudos e são, na sua maioria, relativamente severos. O efeito agudo mais comum avaliado em organismos aquáticos é a letalidade. Uma substância química é considerada como tóxica aguda se por ação direta age matando 50% ou mais da população exposta (Rand *et al.*, 1995).

Os efeitos crônicos ou sub-crônicos podem ocorrer quando um agente químico produz efeitos deletérios como resultado de uma exposição simples, entretanto mais freqüentemente eles são conseqüências de exposição repetidas ou a longo prazo, a baixos níveis de substâncias persistentes. Os organismos expostos podem apresentar períodos de latência longos para expressar os efeitos, particularmente se as concentrações da substância forem muito baixas (Rand *et al.*, 1995).

Efeitos crônicos também podem ser letais ou sub-letais. Os efeitos sub-letais mais comuns são: comportamentais – dificuldades na natação, na alimentação e na interação presa-predador; fisiológicos – problemas no crescimento, reprodução e desenvolvimento; bioquímicos – alterações enzimáticas e nos níveis iônicos celulares; e mudanças histológicas. Alguns efeitos sub-letais podem indiretamente causar mortalidade, como, por exemplo, certas mudanças comportamentais que podem diminuir a habilidade de certos organismos aquáticos em encontrar alimento ou de escapar de predadores levando-os à morte (Rand *et al.*, 1995).

Para a detecção de efeitos agudos, são realizados testes, em geral, de curta duração – usualmente de 2 a 4 dias e empregam modelos experimentais simples. Os efeitos

mais comumente avaliados são a letalidade e a imobilização de organismos (Cooney, 1995).

Na avaliação de efeitos crônicos levam-se em consideração o tempo de reprodução e o ciclo de vida do animal. Alguns testes rápidos de efeitos crônicos foram desenvolvidos para água doce, com menos de 7 dias de duração, utilizando alguns parâmetros como sobrevivência larval, reprodução e crescimento (Cooney, 1995).

Os peixes *Pimephales promelas*, *Danio rerio*, *Poecilia reticulata*, os microcrustáceos *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia similis*, *Daphnia magna*, *Hyalella azteca* e a alga verde *Pseudokirchneriella subcapitada* (ex-*Selenastrum capricornutum*) são alguns dos organismos utilizados nestes estudos (Cooney, 1995; Aragão e Araújo, 2008; Domingues e Bertoletti, 2008).

3. 2. 2 Efeitos mutagênicos

Nas avaliações dos efeitos adversos de qualquer agente, os efeitos mutagênicos devem merecer uma atenção especial. Poluentes químicos podem atingir o material genético dos organismos e causar mutações, e a maior parte dos efeitos da indução de mutações em populações naturais só será evidente muito tempo após a exposição, quando o equilíbrio entre as espécies do ecossistema já pode estar afetado (Deplegde, 1998). Por esta razão, é necessário o desenvolvimento de sistemas capazes de detectar a presença de agentes mutagênicos no ambiente e de avaliar seus efeitos nos ecossistemas.

Em populações naturais, a indução de mutações em células somáticas pode levar ao surgimento de doenças neoplásicas ou outras doenças degenerativas, que levarão à perda de alguns indivíduos. Isso não representa um grande risco para a manutenção da maioria das populações naturais expostas (Wurgler e Kramers, 1992). Já, a indução de mutações nas células germinativas é a que traz conseqüências mais graves para os ecossistemas, porque afeta diretamente o potencial reprodutivo das populações. Freqüências muito elevadas de mutações em células germinativas podem levar à perda de gametas; freqüências mais moderadas, bem como a indução de mutações letais pode não

afetar a viabilidade dos gametas, mas podem levar à morte do embrião; ainda, mutações germinativas podem levar a malformações. Todos esses efeitos vão causar declínio nas populações expostas (Deplegde, 1998).

Mutações germinativas podem ser transmitidas e se manifestar mais tarde sob a forma de doenças como câncer. Nesse caso, a perda de alguns indivíduos portadores de mutações deletérias não representaria um risco para populações com bom potencial reprodutivo, mas para populações que não tem um excedente reprodutivo como estratégia, mesmo a perda de poucos indivíduos pode representar uma ameaça de extinção da espécie (Wurgler e Kramers, 1992).

Vários testes *in vivo* e *in vitro* são empregados para avaliar a capacidade mutagênica das substâncias químicas no meio ambiente (Ohe *et al.*, 2004).

Dos testes *in vitro*, um dos primeiros e mais empregados são os testes desenvolvidos com bactérias. O teste de Ames (Ames *et al.*, 1975), que emprega a *Salmonella*, têm sido o mais utilizado na detecção de poluentes mutagênicos em amostras de água (Stahl, 1991; Houk, 1992; Valent *et al.*, 1993; Vargas *et al.*, 1993; Claxton *et al.*, 1998; Ohe *et al.*, 2003; Fátima e Ahmad, 2006; Gana *et al.*, 2008).

Apesar de ser um sistema validado e o único recomendado nos protocolos para avaliação de mutagenicidade em águas poluídas, algumas limitações do teste devem ser consideradas antes de propor o teste de Ames como o único indicador dos compostos mutagênicos em águas poluídas. Detecta apenas mutações de ponto; compostos que agem apenas em nível cromossômico – asbestos, benzeno, pesticidas organoclorados e alguns metais, especialmente os derivados de cromo hexavalente – não são detectados pela *Salmonella* (Legator e Harper, 1988). Além disso, o teste é muito sensível para determinadas categorias de substâncias químicas; os compostos detectados são geralmente eletrofílicos ou originam intermediários eletrofílicos, requerem ativação metabólica simples, são bem absorvidos pela *Salmonella* e não são tóxicos para ela (Stahl, 1991).

Com relação ao emprego do teste na avaliação de amostras de água, deve-se lembrar que a maioria dos poluentes está presente em baixas concentrações, assim é necessário o uso de métodos de extração ou concentração, processos que podem alterar as propriedades da amostra original (Stahl, 1991). Algumas modificações no protocolo original do teste de

Ames foram desenvolvidas para aumentar a sensibilidade do teste – como o método de incorporação em placas, de pré-incubação, ou ainda, de microssuspensão (Umbuzeiro e Vargas, 2003).

Um teste complementar ao teste de Ames, é o teste *in vitro* de aberrações cromossômicas em cultura de células de mamíferos. É um método sensível para a detecção de agentes mutagênicos e carcinogênicos presentes no ambiente. Além da cultura de linfócitos do sangue humano periférico, podem ser utilizadas várias linhagens celulares provenientes de hamster Chinês, como por exemplo, as células CHO (Chinese Hamster Ovary), células V79 (pulmonares), e CHL/IU (Chinese Hamster Lung), etc (Takahashi, 2003; Reifferscheid *et al.*, 2008).

Na avaliação do impacto ambiental de poluentes, os testes *in vivo* apresentam maior relevância ecológica. Muitos compostos capazes de causar mutações gênicas também causam mutações cromossômicas, que só são detectados pelos testes citogenéticos (Rabello-Gay *et al.*, 1991). Dentre os testes citogenéticos, os testes *in vivo* mais utilizados na detecção de agentes genotóxicos no ambiente aquático são os de aberrações cromossômicas (Jha *et al.*, 1996; Pagano *et al.*, 1996; Bolognesi *et al.*, 1999; Jha *et al.*, 2000), micronúcleos (Burgeot *et al.*, 1995; Mersch *et al.*, 1996; Bolognesi *et al.*, 1999 Saotome *et al.*, 1999; Bolognesi *et al.*, 2004; Cardozo *et al.*, 2006; Schiedek *et al.*, 2006; Nigro *et al.*, 2006; Villela *et al.*, 2006; Lemos *et al.*, 2007; Lemos *et al.*; 2008; Linde-Arias *et al.*, 2008) e troca entre cromátides-irmãs (Dixon e Clarke, 1982; Jha *et al.*, 1996; Jha *et al.*, 2000).

Em estudos de genotoxicidade, também é freqüente a utilização de biomarcadores de exposição, como os aductos de DNA, que são altamente sensíveis e específicos para agentes químicos. Quando não reparadas corretamente, essas lesões podem levar ao aparecimento de uma alteração permanente no DNA, como as mutações pontuais, quebras e rearranjos cromossômicos, dependendo da quantidade e tipo do agente genotóxico (Morse *et al.*, 1996; Harvey e Parry, 1998; Békaert *et al.*, 2002; Pinto e Felzenszwalb, 2003; Wessel *et al.*, 2003; Frenzilli *et al.*, 2004; Lyons *et al.*, 2004; Winter *et al.*, 2004).

Outro sistema que vem sendo proposto para estudos de toxicogenética, é o teste do cometa para detectar lesões no DNA que, após serem processadas, podem resultar em mutações. Diferente das mutações, as lesões detectadas pelo teste do cometa são passíveis de correção, assim podendo ser um teste utilizado em estudos de reparo de DNA, trazendo

informações importantes sobre a cinética e o tipo de lesão reparada, embora não possibilite inferir a fidedignidade do processo de reparo (Gontijo e Tice, 2003; Wessel *et al.*, 2003; Frenzilli *et al.*, 2004; Winter *et al.*, 2004; Rank *et al.*, 2005; Lemos *et al.*, 2005; Guecheva *et al.*; 2006; Villela *et al.*, 2006; Grazeffe *et al.*, 2008).

3. 3 Sistemas biológicos para biomonitoramento

Nos estudos ecotoxicológicos, usam-se bioindicadores, que são organismos para detectar a presença de poluentes em estudos *in situ* e/ou em laboratório. Com o uso de bioindicadores, é possível avaliar uma situação ambiental única, resultado de uma interação de fatores numerosos e complexos agindo simultaneamente (Doust *et al.*, 1994).

Bioindicadores devem ter ampla distribuição geográfica e serem facilmente coletados (López-Barea e Pueyo, 1998). Moluscos (Burgeot *et al.*, 1995; Franstsevich *et al.*, 1995; López-Barea e Pueyo, 1998; Jha *et al.*, 2000; Smolders *et al.*, 2003; Quinn *et al.*, 2004; Schiedek *et al.*, 2006; Nigro *et al.*, 2006; Villela *et al.*, 2006), crustáceos (Borrely et al, 2004; Cardozo *et al.*, 2006), peixes (Odeigah e Osanyipeju, 1995; Wessel *et al.*, 2003; Frenzilli *et al.*, 2004; Lemos *et al.*, 2005; Schiedek *et al.*, 2005; Bolognesi *et al.*; 2006; Lemos *et al.*, 2007, Linde-Arias *et al.*, 2008) e anfíbios (Békaert *et al.*, 2002; Gauthier *et al.*, 2004) tem sido utilizados no monitoramento da poluição aquática.

3. 3. 1 Utilização de invertebrados como indicadores de poluição

O meio aquático representa 2/3 da área do planeta Terra e mais de 90% das espécies habitantes são de invertebrados. Isso é significativo quando se quer prever o impacto de poluentes, pois esses organismos representam um papel importante na cadeia alimentar desses ecossistemas (Jha, 1998). Dentre os invertebrados, os moluscos podem ser utilizados no monitoramento de vários tipos de poluentes (Franstsevich *et al.*, 1995; López-Barea e Pueyo, 1998; Steinert *et al.*; 1998; Jha *et al.*, 2000; Smolders *et al.*, 2003; Coeurdassier *et al.*, 2004; Quinn *et al.*, 2004; Nigro *et al.*, 2006). Mas, em se tratando de moluscos, os gastrópodes representam o grupo mais diversificado de todas as classes pertencentes ao filo – compreende mais de 80% dos moluscos vivos (Hickman *et al.*, 2004).

Dentre os gastrópodes, a família Planorbidae (Souza e Lima, 1997) compreende os caramujos de água doce do gênero *Biomphalaria* (Preston, 1910). Esse gênero é amplamente estudado pela sua importância em saúde pública, pois os caramujos são os hospedeiros intermediários do trematódeo *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) causador da esquistossomose mansônica (Lanzer *et al.*, 2006).

O grande conhecimento do gênero *Biomphalaria*, favorece o uso desses organismos em estudos de poluição aquática. Além disso, ensaios empregando espécies de bionfalárias têm evidenciado sua importância como bioindicador na identificação de toxicidade (Lanzer *et al.*, 2006) e mutagenicidade aquática (Nakano e Tallarico, 2006).

3. 3. 2. Estudos de avaliação ambiental com o gênero *Biomphalaria*

A espécie *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, l835) vem sendo utilizada por vários autores em estudos de toxicidade e monitoramento de poluição ambiental.

Grisolia e colaboradores (2004) estudaram o efeito tóxico do surfactante nonilfenol etoxilado, os herbicidas imazapir e arsenal 250 NA. O surfactante foi o mais tóxico para *B. tenagophila*, seguido do herbicida arsenal NA e o herbicida imazapir foi o menos tóxico para o molusco. Em outros estudos, o nonilfenol etoxilado e o endosulfan foram empregados em concentrações sub-letais durante duas gerações em caramujos adultos. O endosulfan causou efeito inibitório sobre a reprodução e sobre o número de ovos por desova, e o nonilfenol etoxilado reduziu a fecundidade e provocou retardo na eclosão dos embriões da segunda geração dos caramujos (Oliveira-Filho *et al.*, 2006; Oliveira-Filho *et al.*, 2009).

Oliveira-Filho *et al.* (2005) expuseram embriões, caramujos recém-eclodidos e adultos de *B. tenagophila* a endosulfan, nonilfenol e etanol e avaliaram a toxicidade aguda das sustâncias. Os embriões recém-eclodidos foram mais suscetíveis aos compostos do que embriões e adultos.

Os efeitos do corante remazol brilliant blue R e da água do arroio Tega em Caxias do Sul, receptor de despejos domésticos e industriais, foram estudados por Lanzer *et al.* (2007). Desovas de *B. tenagophila* foram expostas ao corante nas concentrações de 10 e 25 mg L^{-1} e à água do arroio no estado bruto e diluição de 50%. O corante não teve efeito na taxa

de eclosão, desenvolvimento e mortalidade dos embriões; já as águas do arroio provocaram mortalidade na exposição à água bruta.

Dentre as bionfalárias, a *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) é considerada um bom indicador em estudos de biomonitoramento (Münzinger, 1987). Características como pequeno porte, curto período de reprodução, ciclo de vida curto, com facilidade de reprodução e criação em laboratório, disponibilidade o ano todo, ampla distribuição geográfica e baixo custo de manutenção fazem da *Biomphalaria* um sistema experimental útil para o estudo dos efeitos tóxicos e mutagênicos de agentes físicos e químicos. Esse bioindicador tem sido empregado em estudos de toxicidade de várias substâncias (Miyasato *et al.*, 1999; Oliveira-Filho e Paumgartten, 2000; Santos *et al.*, 2000; Abreu *et al.*, 2001; Schall *et al.*, 2001; Bezerra *et al.*, 2002, Lima *et al.*, 2002; Salice e Miller, 2003).

Ansaldo *et al.* (2008) estudaram o efeito tóxico do cádmio, arsênio e chumbo, expondo caramujos adultos e observando os efeitos na sobrevivência, no desenvolvimento embrionário e na taxa de eclosão de *B. glabrata*. A exposição aguda aos compostos alterou a reprodução, o número total de ovos, o tempo de eclosão e sobrevivência dos embriões.

Ruelas e colaboradores (2006) estudaram os efeitos letais e sub-letais da radiação ultravioleta-B em espécimes juvenis de *B. glabrata*.

Grazeffe *et al.* (2008), estabeleceram o teste do cometa em *B. glabrata*, utilizando a radiação gama de ^{60}Co. O caramujo mostrou ser um bom sistema experimental para detectar os danos no DNA, que podem ser causados pelos mais variados agentes genotóxicos presentes nos ambientes aquáticos.

Outra forma de estudar os efeitos de poluentes nos ecossistemas é analisar as respostas bioquímicas dos organismos expostos aos contaminantes, já que as respostas biológicas se manifestam primeiramente em nível bioquímico-celular.

Nahabedian *et al.* (1998) expuseram caramujos adultos de *B. glabrata* a arsênio, cádmio e chumbo, para investigar os níveis de glicogênio nas gônadas e pulmões, por meio da atividade da enzima ALA-D (ácido dehidratase δ-aminolevulinico). Ansaldo *et al.* (2006) além de observarem os efeitos nas gônadas e pulmões, dos mesmos metais, também analisaram a região cefalopedal (cabeça e pé) e as glândulas digestivas, mostrando que as gônadas dos moluscos podem ser bons biomarcadores de estresse químico.

Aisemberg *et al.* (2005) utilizando a mesma enzima ALA-D como biomarcador de efeito e exposição a chumbo, demonstraram que o molusco é um bom bioindicador da contaminação por chumbo, mesmo em baixos níveis do metal, em ecossistemas aquáticos.

Os efeitos do herbicida paraquat nos níveis de transporte celular de poliaminas (cátions orgânicos) e nos processos de estresse oxidativo (lipoperoxidação, atividades das enzimas catalase e superoxido dismutase) em *B. glabrata* foram estudados por Cochón *et al.* (2007) e mostraram que as alterações nas defesas antioxidantes dos organismos são ferramentas importantes em estudos de contaminação ambiental.

Além dos espécimes adultos, os embriões de *B. glabrata* também constituem um bom sistema para estudos de biomonitoramento. Caramujos adultos colocam, em média, uma desova por dia com 20 a 50 embriões. O desenvolvimento é externo e leva cerca de sete dias até a eclosão. Os ovos são dispostos em uma única camada e envolvidos por uma cápsula gelatinosa transparente, o que permite a visualização dos embriões durante todo o desenvolvimento. Os estádios já foram bem caracterizados e são facilmente reconhecíveis, o que permite detectar claramente os efeitos morfogenéticos (Camey e Verdonk, 1970; Kawano *et al.*, 1992). Esse sistema utiliza como biomarcador, a mortalidade e as alterações no desenvolvimento embrionário (Kawano e Simões, 1986; Ré e Kawano, 1987; Kawano *et al.*, 1992; Yamamoto *et al.*, 1996). Já foram estudados, também, os efeitos da cafeína (Kawano *et al.*, 1979), da radiação gama (Okazaki, 1988; Okazaki e Kawano, 1991; Okazaki *et al.*, 1996; Melo, 1998) e do cádmio (Salice e Miller, 2003).

As malformações embrionárias podem ser usadas, também, como biomarcador em testes de mutagenicidade, já que são um dos efeitos da indução de mutações em células germinativas. Para utilizar apropriadamente esse biomarcador, é necessário, entretanto, poder distinguir as malformações induzidas por efeitos mutagênicos nas células germinativas daquelas induzidas por efeitos tóxicos ou teratogênicos (Nakano *et al.*, 2003). Para isso, é possível usar uma estratégia similar à do teste do letal dominante em roedores (Bateman, 1966). Nessa técnica, ratos ou camundongos machos são expostos à substância-teste e cruzados com fêmeas não expostas, que são sacrificadas a meio termo da prenhez, quando são contados os embriões mortos. No teste em roedores, são realizados cruzamentos em diferentes tempos após a exposição para a detecção dos efeitos mutagênicos nas células nos diferentes estádios da espermatogênese. As mutações letais dominantes resultam de aberrações

cromossômicas que, embora não afetem a viabilidade dos gametas, são letais para o embrião (Bateman e Epstein, 1971) e resultam, geralmente, de anomalias cromossômicas estruturais ou numéricas (Brewen *et al.*, 1975).

A adaptação da técnica do letal dominante para a *B. glabrata* utiliza, basicamente, a mesma estratégia empregada em roedores com algumas adaptações (Nakano *et al.*, 2003). Malformações embrionárias inespecíficas, onde múltiplas estruturas estão afetadas, levam à morte do embrião, assim, mutações que causam esse tipo de malformação são mutações letais; esse é o indicador usado no teste do letal dominante em *Biomphalaria*. É necessário, também, empregar um marcador genético, o albinismo, para identificar os embriões resultantes de fecundação cruzada, já que esses animais são hermafroditas e reproduzem-se tanto por autofecundação como por fecundação cruzada (Paraense, 1955).

Na técnica adaptada para *B. glabrata*, ficou demonstrado que o sistema é eficiente, específico e sensível para a avaliação de mutações induzidas em células germinativas por mutagênicos químicos de referência (Nakano *et al.*, 2003). Com o estabelecimento do teste foi possível, utilizando a radiação gama de ^{60}Co, estimar a cronologia da espermatogênese de *B.glabrata* (Tallarico *et al.*, 2004). Essa informação é essencial para a determinação dos cruzamentos pós-exposição a amostras ambientais, geralmente, misturas complexas de muitas substâncias químicas. O teste também mostrou ser sensível na avaliação do potencial mutagênico do pesticida 2,4-D (Estevam *et al.*, 2006).

A próxima etapa necessária para a validação do teste é o emprego da técnica do letal dominante em *B. glabrata* em amostras de águas (como por exemplo, água tratada, efluentes industriais e domésticos, corpos aquáticos receptores).

3. 4 Estudos com avaliações integradas de efeitos biológicos e análises químicas

Para a Ecotoxicologia, os efeitos adversos dos poluentes sobre os organismos vivos podem ser quantificados por uma variedade de critérios, tais como: número de organismos mortos ou vivos, taxa de reprodução, comprimento e massa corpórea, número de anomalias ou

incidência de tumores, alterações fisiológicas e, mesmo, a densidade de espécies em uma determinada comunidade biológica, dentre outros fatores (Zagatto e Bertoletti, 2008).

Métodos analíticos têm sido usados para estabelecer limites de emissão de poluentes aquáticos e permitem identificar e quantificar substâncias conhecidas a partir de padrões. Entretanto, a análise química por si só não revela a biodisponibilidade e os efeitos biológicos de misturas químicas complexas, assim, apesar da alta sensibilidade dos métodos analíticos, os ensaios biológicos são indicados para a previsão de efeitos de poluentes aquáticos em organismos vivos (Houk, 1992). Por essa razão, vem sendo proposta além das análises de caracterização química dos poluentes nos corpos hídricos, as análises de efeitos biológicos. Segundo a legislação brasileira, por meio do Conselho Nacional de Meio Ambiente (Resolução 357/2005), torna-se obrigatório o uso de ensaios ecotoxicológicos para toxicidade aguda e crônica, dependendo da classe da água (por exemplo, de consumo humano, proteção à vida aquática, recreação, etc.), com diversos organismos aquáticos e cabe ao Órgão Estadual escolher os organismos que mais se enquadram para essas análises.

Além dos efeitos tóxicos mais evidentes, a análise de efeitos genotóxicos e a comparação dos efeitos entre as espécies são fundamentais para avaliar o risco biológico de poluentes para os ecossistemas, particularmente com relação a compostos persistentes ao ambiente (Bolognesi *et al.*; 1999).

São realizados trabalhos com diferentes abordagens no estudo da contaminação das águas por substâncias químicas que induzem efeitos tóxicos e genéticos aos organismos vivos (Vargas *et al.*; 2008).

Békaert e colaboradores (2002), avaliaram o potencial tóxico e genotóxico de esgotos industriais e de solos contaminados na França em larvas do anfíbio *Xenopus laevis*. Foram realizados ensaios de toxicidade sub-crônica e utilizaram três biomarcadores: medida de atividade de EROD (Etoxiresorufina-O-dealquilase) no fígado, detecção de aductos de DNA no fígado e sangue, e identificação de micronúcleos nos eritrócitos do anfíbio. Além disso, foram realizadas análises químicas das amostras. Foi observado que, após ocorrência da biodisponibilidade dos compostos que estavam inertes no solo, as amostras se tornaram mais tóxicas e genotóxicas para as larvas do anfíbio.

Um estudo com amostras do Rio Volturno, na Itália, demonstrou declínio da qualidade do rio ao longo do seu curso. O rio recebe efluentes de indústrias, domésticos e da

agricultura. Foram utilizados ensaios de toxicidade com o rotífero *Brachionus calyciflorus* e com o crustáceo *Daphnia magna* e de genotoxicidade por meio do teste colorimétrico de atividade enzimática, com *Escherichia coli* - cromoteste SOS e pelo sistema Mutatox com a bactéria *Vibrio fischeri*, junto com análises físico-químicas (pH, oxigênio dissolvido, condutividade, temperatura e compostos químicos) (Isidori *et al.*, 2004).

Em Buenos Aires (Argentina), os hospitais lançam resíduos líquidos contendo metais pesados, antibióticos, entre outros poluentes sem tratamento na rede coletora de esgotos e chegam até o Rio de La Plata, que é a principal fonte de abastecimento de água para a população da região. Foi escolhido um hospital da região, coletadas amostras do esgoto e realizados ensaios de inibição do crescimento de bactérias *Pseudomonas fluorescens*, ensaios de toxicidade com a cebola *Allium cepa*, testes de genotoxicidade com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e de aberrações cromossômicas em *Allium cepa*. Os resultados indicaram toxicidade e genotoxicidade para cebola e genotoxicidade para levedura e não apresentou inibição de crescimento para as bactérias (Muzio *et al.*, 2006).

No Brasil, alguns estudos também realizaram análises físico-químicas junto com ensaios biológicos e mostraram a relevância dos diferentes estressores para a vida aquática.

A citotoxicidade e a genotoxicidade das águas de uma bacia localizada na região metropolitana de Porto Alegre (Rio Grande do Sul) foram avaliadas quanto à freqüência de micronúcleos em células V79 de hamster Chinês e pelo teste com bactérias *Salmonella*/microssoma (teste de Kado), respectivamente. Foram realizados ensaios de toxicidade crônica com *Daphnia magna* e caracterização dos compostos orgânicos presentes nas amostras de água e sedimentos (Cardozo *et al.*, 2006).

No Arroio Estância Velha (Rio Grande do Sul) foram coletadas amostras de água desde a nascente até a divisa com a cidade. A região recebe diretamente efluentes de indústrias de curtume (indústrias químicas, curtumes e de beneficiamento de couro) e de calçados. Foram realizadas análises físico-químicas, microbiológicas e testes com *Allium cepa* de toxicidade e de mutagenicidade por meio do teste de micronúcleos. Os resultados obtidos revelam uma correlação significativa entre a baixa qualidade do arroio após a nascente e o lançamento dos compostos poluentes presentes nos efluentes das indústrias (Mitteregger-Júnior *et al.*, 2006).

Vargas *et al.* (2008), demonstraram a forte influência das indústrias petroquímicas nas águas do Rio Caí (Rio Grande do Sul). Foram realizados os testes da *Salmonella*/microssoma e de indução de fago - Microscreen em *Escherichia coli*, além do ensaio de toxicidade crônica com *Daphnia magna.*

Apesar de Guecheva e colaboradores (2006), não realizarem análise físico-química e não analisarem amostras de efluentes ou águas contaminadas, eles estudaram os efeitos do sulfato de cobre, que é um dos produtos utilizados em processos industriais e na agricultura, comparando diferentes sistemas biológicos. Para os testes de toxicidade e de estudos de reparo ao DNA, foram utilizadas planárias *Girardia schubarti* e para o teste do cometa além das planárias, foram utilizados camundongos da linhagem CF1. Os resultados revelaram o potencial tóxico e genotóxico do sulfato de cobre e a capacidade de interferência com processo de reparo do dano no DNA causado por outras substâncias, sugerindo um possível efeito modulador da genotoxicidade em combinação com outros agentes no ambiente.

3. 5 O Rio Tietê

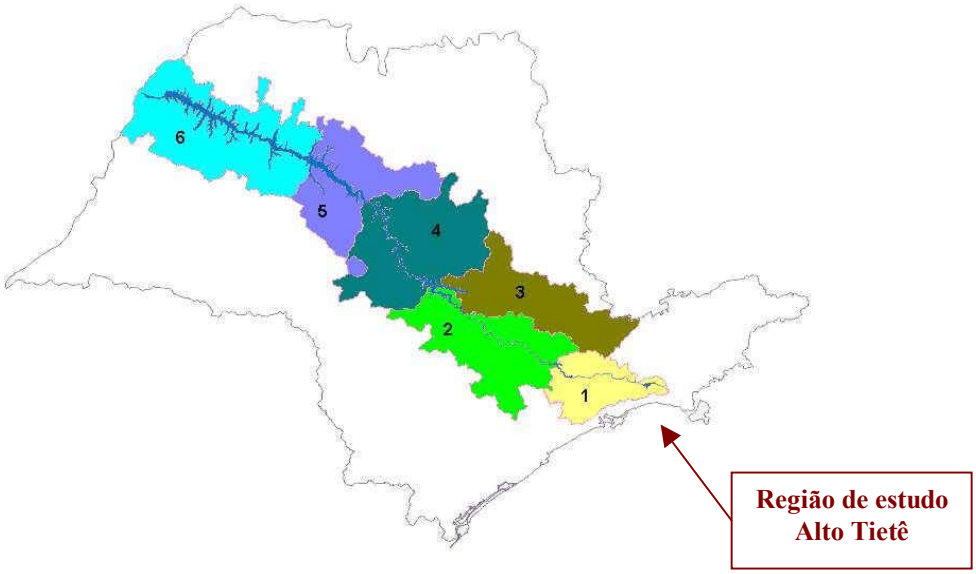
O Rio Tietê ou "rio verdadeiro" como diz seu nome indígena (Adorno, 1999), nasce na cidade de Salesópolis, na Serra do Mar, a 840 metros de altitude e não consegue vencer os picos rochosos rumo ao litoral. Por essa razão, ao contrário da maioria dos rios que correm para o mar, segue para o interior. O rio atravessa a Região Metropolitana de São Paulo e percorre 1.100 quilômetros até o município de Itapura, em sua foz no Rio Paraná, na divisa com o Mato Grosso do Sul (de leste à oeste do Estado de São Paulo). Em sua jornada banha 62 municípios ribeirinhos e seis sub-bacias (FIG. 1), em uma das regiões mais ricas do hemisfério sul (Rede das Águas, 2008).

A ocupação desordenada dos sítios urbanos, aterramento do rio e das várzeas, alteração do trajeto natural dos cursos d'água, exploração econômica sem controle, com a multiplicação em suas margens e arredores de indústrias, agrediram o Rio Tietê e os ambientes em torno dele, décadas a fio. O convívio harmonioso da população com o Rio Tietê começou a ser destruído com a construção das vias marginais na cidade de São Paulo, que se estendeu do início dos anos 40 até fins dos anos 60 (Adorno, 1999).

Com grande importância para o país, o Rio Tietê tem significado histórico e econômico, que apesar de poluído e contaminado por vários tipos de poluentes, o rio quase moribundo ainda participa do desenvolvimento da metrópole paulistana e suas águas são utilizadas na produção de energia elétrica (Rede das Águas, 2008).

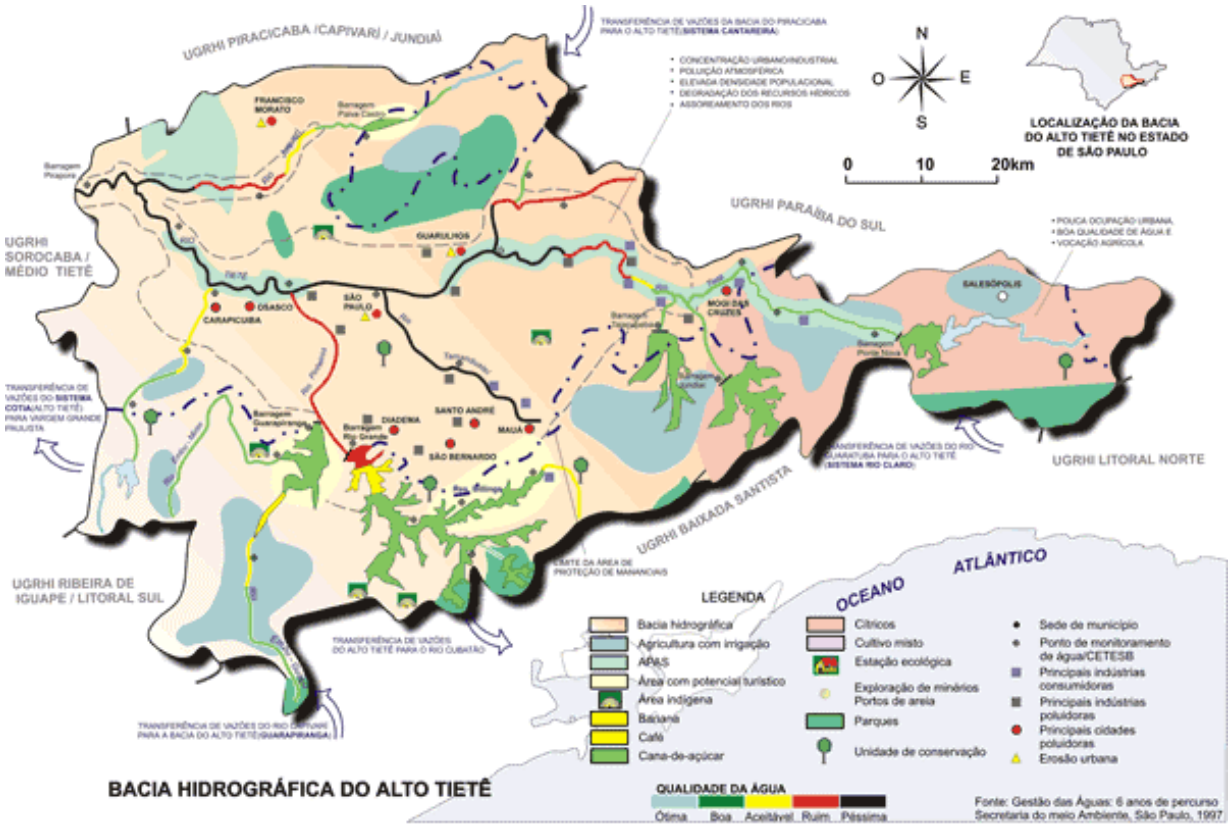
Neste trabalho, foram avaliadas amostras de água e efluentes na região do Alto Tietê, que é uma das Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHIs). Essa região é composta por 34 municípios e abrange a parte superior do Rio Tietê, desde a sua cabeceira até a barragem do Reservatório de Pirapora, numa extensão de 133 km (FIG. 1). Essa sub-bacia abriga quase metade da população do Estado de São Paulo e compreende, em seu território, grande parte da região metropolitana da grande São Paulo (CETESB, 2008).

A relevância dos dados obtidos neste trabalho está diretamente ligada ao local de estudo selecionado. A região do Alto Tietê que inclui a Estação de Tratamento de Esgoto de Suzano, referência principal do estudo, situa-se muito próxima da nascente do Rio Tietê e do Reservatório de Ponte Nova (FIG. 2). O órgão responsável pela estação é a Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP).



Fonte: Rede das Águas, 2008

FIGURA 1 – Mapa do estado de São Paulo e a bacia hidrográfica do Rio Tietê, com as sub-bacias divididas por cores e números: 1 – Alto Tietê, 2 – Médio Tietê, 3 – Piracicaba/Jundiaí, 4 – Tietê/Jacaré, 5 – Tietê/Batalha, 6 – Baixo Tietê.



Fonte: www.marcadagua.org.br

FIGURA 2 – Bacia hidrográfica do Alto Tietê com os locais escolhidos para a realização das coletas na Barragem Ponte Nova e na região da ETE de Suzano, que são próximos da nascente em Salesópolis.

3. 6 Estação de Tratamento de Esgotos de Suzano – ETE Suzano

A ETE Suzano está localizada no município de Suzano (a sudeste de São Paulo), na faixa compreendida entre o Rio Tietê e a estrada Velha São Paulo – Rio de Janeiro. A estação recebe esgotos domésticos, não domésticos e esporadicamente, efluentes de fossas sépticas dos municípios de Ferraz de Vasconcelos, Mogi das Cruzes, Suzano, Poá e Itaquaquecetuba, atendendo uma população estimada de 670.000 habitantes, pois parte dos esgotos de Itaquaquecetuba vão para a planta de São Miguel Paulista (SABESP, 2008).

A principal característica da ETE Suzano é a concentração de despejos de origem industrial, que representa aproximadamente 35% da carga orgânica recebida na estação. Na região, são lançados efluentes provenientes de indústrias de cerâmica, têxtil, metalúrgica, curtume, tinturaria, estamparia, corantes, produção de papel, galvanoplastia farmacêutica e química-farmacêutica. Entretanto, as indústrias química-farmacêutica, representam os principais volumes, seguida pelas indústrias têxteis (Borrely, 2001). Os esgotos são transportados para a estação por meio de um sistema de esgotamento constituído de interceptores e pelo emissário Guaió, perfazendo uma extensão de aproximadamente 15 km, com diâmetros variando de 0,50m a 1,80m (SABESP, 2008).

Na ETE Suzano o tratamento dos afluentes é feito por meio de sistemas de lodos ativados convencionais e em nível secundário, com vazão média de 1,50 m^3/s e está tratando atualmente 0,70 m^3/s de esgoto. O grau de eficiência é superior a 90% de remoção de carga orgânica poluidora, medida em DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio. Os efluentes tratados são lançados no Rio Tietê e o lodo gerado na desidratação é atualmente encaminhado para o aterro São João. O processo de tratamento do esgoto bruto que chega na estação é constituído pelas fases líquida e sólida (SABESP, 2008).

Na fase líquida, é realizado um tratamento preliminar por meio de um gradeamento localizado no canal de entrada da estação, para a remoção dos sólidos grosseiros, como madeiras, galhos de árvore e pedras, para proteger as bombas e tubulações de possível obstrução. Após as grades grosseiras, o esgoto passa por grades finas para remover materiais flutuantes como: tecidos, plásticos e papéis. Após essa primeira etapa, é realizada a aeração por sopradores e difusores de bolhas grossas em um sistema constituído por duas caixas de

areia aeradas. A areia juntamente com uma parcela do esgoto é removida por bombas centrífugas instaladas sobre uma ponte rolante e conduzidas para uma caixa de separação. Neste ponto, o esgoto retorna para o início do processo e a areia é removida e disposta em aterro sanitário (SABESP, 2008).

O tratamento primário utiliza decantadores e peneiras rotativas. O tanque de decantação é utilizado para a remoção do resíduo sedimentável do esgoto, gorduras e óleos flutuantes. O lodo recolhido flui por gravidade para o poço onde será bombeado até os digestores. O sistema apresenta um decantador primário e um secundário. Na segunda etapa, é realizada a remoção da matéria orgânica, efetuada por reações bioquímicas realizadas por microrganismos aeróbios (bactérias, protozoários, fungos, por exemplo) no tanque de aeração. A base de todo o processo biológico é o contato efetivo entre esses organismos e o material orgânico contido nos esgotos, de tal forma que esse possa ser utilizado como alimento pelos microrganismos. Os microrganismos convertem a matéria orgânica em gás carbônico, água e material celular (crescimento e reprodução dos microrganismos) (SABESP, 2008).

Na fase sólida, ocorre o adensamento do lodo nos Adensadores de Densidade e nos Flotadores para a redução do volume do lodo, já que ele contém uma quantidade muito grande de água. O adensamento é um processo que aumenta o teor de sólidos do lodo e, conseqüentemente, reduz o volume. Este processo pode aumentar, por exemplo, o teor de sólidos no lodo descartado de 1% para 5%. Dessa forma, as unidades subseqüentes, tais como a digestão, desidratação e secagem, beneficiam-se desta redução (SABESP, 2008).

O lodo removido durante o processo de tratamento é enviado aos digestores anaeróbios, onde por meio de processo de fermentação se processará a transformação do lodo em matéria mineralizada, com carga orgânica reduzida e diminuição de bactérias patogênicas. Durante o período que o lodo permanece dentro dos digestores, haverá produção continua de gás com alto poder energético. Atualmente, o gás gerado na ETE Suzano está sendo queimado (SABESP, 2008).

Dentre os métodos mais comuns, temos o adensamento do lodo por gravidade e por flotação. O adensamento por gravidade do lodo tem por princípio de funcionamento a sedimentação por zona, o sistema é similar aos decantadores convencionais e o lodo adensado é retirado do fundo do tanque. No adensamento por flotação, o ar é introduzido na solução através de uma câmara de alta pressão. Quando a solução é despressurizada, o ar dissolvido,

forma micro-bolhas que se dirigem para cima, arrastando consigo os flocos de lodo que são removidos na superfície. Na ETE Suzano, o lodo digerido é condicionado com cloreto férrico e cal, sendo posteriormente bombeado para filtros prensas de placas, onde a umidade é reduzida para 60%, então com a desidratação do lodo por filtro prensa, a torta gerada é levada para a disposição final no aterro sanitário (SABESP, 2008).

3. 7 Estudos com ensaios biológicos na região do Alto Tietê

A região do Alto Tietê vem sendo estudada há algumas décadas. Gherardi-Goldstein *et al.* (1983), avaliaram a quantidade de compostos químicos presentes nos principais despejos industriais lançados na Estação de Tratamento de Esgotos de Suzano (ETE Suzano) e realizaram ensaios de toxicidade utilizando como organismo-teste o crustáceo *Daphnia similis*. Foram detectadas altas concentrações de metais nos efluentes de duas indústrias metalúrgicas e no esgoto da estação. De todas as amostras, apenas três das indústrias estudadas não apresentaram efluentes tóxicos aos dafinídeos.

Em 1987, a CETESB observou uma redução da toxicidade dos efluentes durante o tratamento da estação, mas ao calcular o impacto dos efluentes, verificou toxicidade crônica no Rio Tietê.

Zagatto e colaboradores (1992) registraram com *Daphnia similis*, uma eficiência de tratamento na ETE Suzano, que variou entre 47% a 78% e os efluentes finais tratados apresentaram toxicidade residual em todas as amostragens.

Em 2001, Borrely mostrou um agravamento na contaminação associada ao lançamento de efluentes industriais, atingindo níveis altos o suficiente para interferir na eficiência do processo de tratamento biológico, mas verificou que a ETE Suzano apresentou uma eficiência na redução da toxicidade entre 39% a 47% para *D. similis*.

Estudos recentes mostram que, além da evidência de efeitos crônicos para o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* em águas do Rio Tietê, os sedimentos provenientes de pontos nessa mesma região apresentam um agravamento da contaminação à medida que o rio segue em direção à Suzano (Alegre *et al.*, 2008).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4. 1 Coleta de amostras

Foram coletadas amostras de água do rio e amostras compostas de efluentes em cinco pontos na região do Alto Tietê. Foi realizada uma campanha preliminar em setembro de 2005, quando foram estabelecidos os pontos de coleta e os volumes amostrados, e quatro coletas subseqüentes – duas campanhas no inverno (C1 – agosto de 2006 e C3 – agosto de 2007) e duas no verão (C2 – fevereiro de 2007 e C4 – março de 2008).

Os locais selecionados para as amostragens foram: um ponto na Barragem de Ponte Nova, do Departamento de Águas e Energia Elétrica, em Salesópolis, denominado ponto zero (ponto controle negativo), a cerca de 30 km de Suzano (FIG. 3A), dois pontos afluentes à Estação de Tratamento de Esgotos de Suzano (ETE Suzano), da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) (FIG. 3B) – os pontos 1 e 2, o primeiro situado a 200 metros à montante da ETE Suzano (FIG. 3C), o segundo foi o afluente da Estação – na saída do esgoto das grades medianas (FIG. 3D). Dois pontos efluentes, os pontos 3 e 4, o primeiro é o efluente final tratado pela estação, imediatamente antes do lançamento no rio (FIG. 3E), e o último ponto localiza-se 200 metros do lançamento do efluente no rio Tietê (FIG. 3F). Um diagrama dos pontos de coleta está demonstrado na FIGURA 4.

As coletas e o transporte das amostras de água e efluentes foram realizadas pela SABESP, exceto o ponto 0 que foi realizado fora das dependências da SABESP, com a equipe do Laboratório de Ensaios Biológicos e Ambientais (LEBA) do CTR (IPEN/CNEN-SP). Esse ponto é localizado dentro da represa de Ponte Nova, no município de Salesópolis, na Bacia Hidrográfica do Rio Tietê/Cabeceiras (UGRH Alto Tietê). A Barragem de Ponte Nova fornece água para abastecimento da região metropolitana de São Paulo, além de contribuir no controle de enchentes.

A SABESP coletou dos pontos selecionados, quatro alíquotas das amostras em 24 horas, com proporcionalidade de vazão de entrada. Em seguida foi feito a composição das amostras e transferidas para galões de polietileno foscos de 25 litros. A coleta de água do ponto 0 foi realizada por meio de baldes de plástico devidamente amarrado em uma corda e

lançado na água do reservatório de Ponte Nova. Após a coleta a água foi armazenada em galão de polietileno de 25 litros até a chegada ao LEBA.

As amostras para os ensaios de toxicidade aguda foram utilizadas imediatamente após a chegada no laboratório, ou nos dias seguintes da coleta. Já as amostras para os ensaios de mutagenicidade, foram fracionadas em tubos plásticos, identificadas e congeladas em freezer a -20ºC, até o momento do uso por dois meses no máximo, segundo as normas ISO-10706 (2000) e da Associação Brasileira de Normas Técnicas NBR-12713 (2004). (FIG.5).

(A) Ponto 0 – Barragem de Ponte Nova

(B) ETE de Suzano

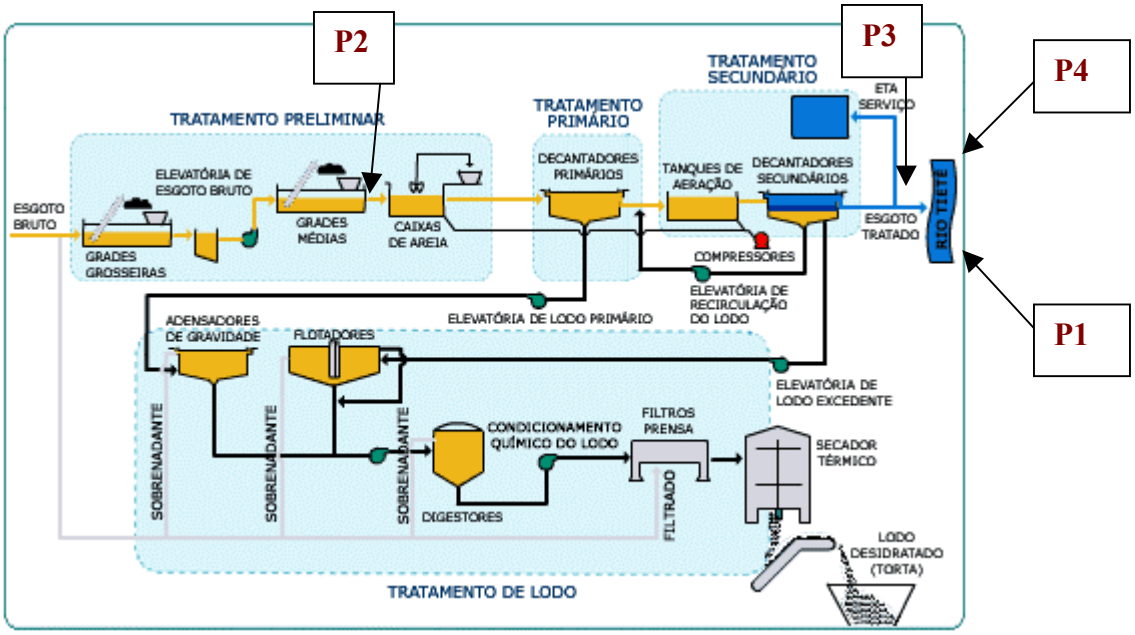
(C) Ponto 1 – 200m à montante do Rio Tietê

(D) Ponto 2 – afluente da estação, nas grades medianas

(E) Ponto 3 – efluente final tratado, na saída da ETE

(F) Ponto 4 – 200 m à jusante da saída da ETE no Rio Tietê

FIGURA 3 – (A) Ponto controle negativo em Salesópolis, **(B)** ETE de Suzano, vista aérea, **(C), (D), (E) e (F) –** Pontos de coleta de amostras no entorno da ETE de Suzano e no Rio Tietê.



Fonte: SABESP, 2008

FIGURA 4 – Diagrama do tratamento de esgotos e dos pontos de coleta. Dois pontos dentro da estação: P2 – afluente da estação, nas grades medianas e P3 – efluente final tratado, na saída da ETE; dois pontos no Rio Tietê: P1 – 200m à montante do Rio Tietê e P4 – 200 m à jusante da saída da ETE.

FIGURA 5 – Amostras ambientais coletadas em agosto de 2006 na Barragem Ponte Nova em Salesópolis e no entorno da Estação de Tratamento de Esgotos de Suzano.

4. 2 Ensaios com *Biomphalaria glabrata*

4. 2. 1 Criação e manutenção dos caramujos

Foram utilizados espécimes cultivados em laboratório durante várias gerações de *Biomphalaria glabrata* selvagens (pigmentadas) (FIG. 6A) coletados em Barreiro de Baixo (Belo Horizonte, Minas Gerais) e albinos (não pigmentadas) (FIG. 6B) provenientes de Amaralina (BA) e Campinas (SP).

A **B**

Ilustrações cedidas por Márcio M. Yamamoto

FIGURA 6 – Espécimes adultos de *Biomphalaria glabrata* - (**A**) Selvagem e (**B**) Albino.

Os caramujos foram mantidos em aquários plásticos (medindo 50 x 23 x 17 cm), com água filtrada, aeradores (FIG. 7) e temperatura ambiente de 25°C (± 2). A alimentação foi diária com alface fresca *ad libitum*, ração de peixe duas vezes por semana e a troca de água foi realizada a cada 15 dias.

FIGURA 7 – *Biomphalaria glabrata* mantida em laboratório.

4. 2. 2 Determinação da concentração letal (CL_{50}) em adultos de *B. glabrata*

Foram utilizados espécimes com diâmetro de 10 a 13mm, com concha intacta e idade mínima de dois meses. Foram realizadas duas repetições com 10 caramujos por grupo, totalizando 30 caramujos. As concentrações foram escolhidas com base em um experimento preliminar, utilizando a amostra bruta e uma diluição de 50% da amostra. Após esse primeiro ensaio, foram realizadas novas diluições até serem estabelecidas as concentrações definitivas, a fim de encontrar a mínima concentração em que se observava letalidade. As concentrações utilizadas foram 10, 25, 50, 75 e 100%. Foram realizados ensaios com todos os pontos de amostragem. Para as amostras dos pontos que apresentaram toxicidade, foram utilizadas 3 das concentrações citadas acima.

Os animais foram colocados em copos de vidro contendo as soluções, com capacidade de 180 ml e 6 cm de diâmetro. Foram mantidos em temperatura ambiente de 25°C (±2). O copo foi vedado com plástico transparente e tampa plástica, para que o animal permanecesse em contato com a substância (FIG. 8). O tempo de exposição foi de 24 horas, após a exposição os animais foram mantidos em água filtrada e observados durante um período de 7 dias. Um grupo controle foi mantido nas mesmas condições experimentais.

A variável observada no teste foi a mortalidade. A morte do animal foi comprovada pela ausência de batimentos cardíacos durante 2 minutos de observação ao

microscópio estereoscópico. Outro critério auxiliar para a verificação da morte dos caramujos foi o aspecto transparente da concha como conseqüência da perda da hemolinfa do animal.

A substância utilizada como referência da sensibilidade dos organismos aos efeitos tóxicos agudos, na avaliação da qualidade dos ensaios realizados e validação dos resultados foi o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), utilizando a mesma metodologia descrita para os ensaios de toxicidade aguda.

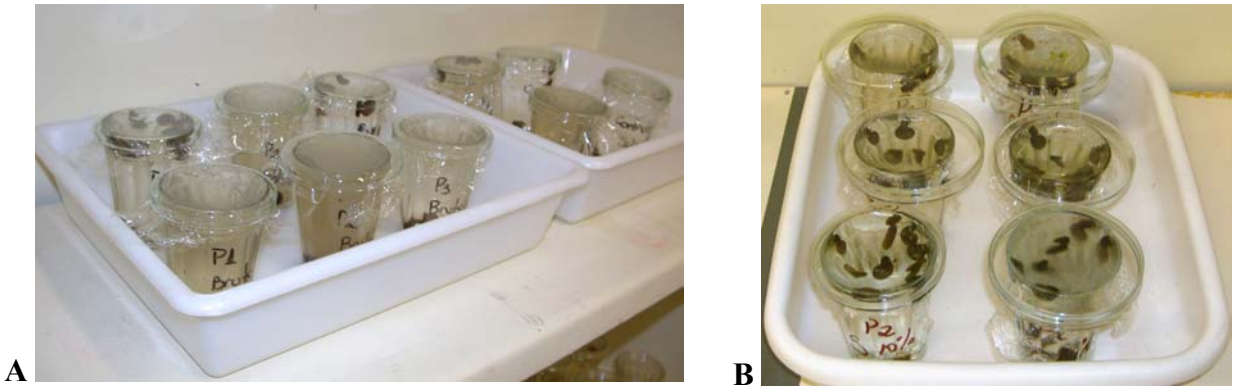


FIGURA 8 – Espécimes de *Biomphalaria glabrata* expostos a amostras ambientais do efluente da estação (ETE-Suzano) para o Ensaio de Toxicidade Aguda. **(A)** animais expostos às amostras brutas e **(B)** animais expostos a amostras do Ponto 2 diluído em várias frações.

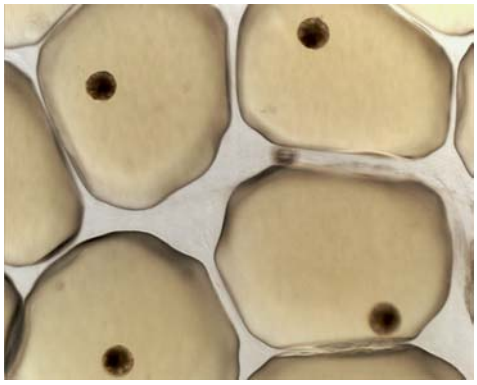
4. 2. 3 Determinação da concentração letal (CL_{50}) em embriões

A exposição foi realizada com embriões nos estádios de blástula (0-15 horas, após a primeira clivagem do ovo), gástrula (24-39 horas), trocófora (48-87 horas) e véliger (96-111 horas) (FIG. 9). Foram realizados ensaios com a amostra bruta de todos os pontos de coleta e foram realizadas até 3 concentrações da amostra do ponto que apresentou toxicidade para os embriões, dentre as seguintes concentrações: 10, 25, 35, 40, 50, 60, 75 e 100%.

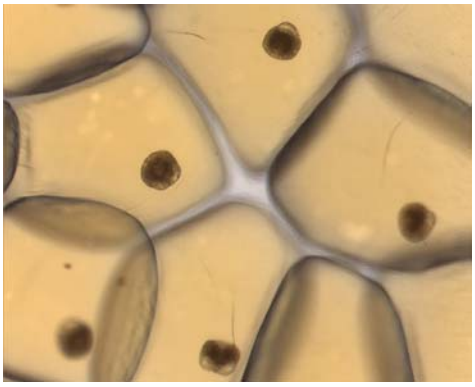
Plásticos transparentes colocados nos aquários serviram como substrato para a oviposição dos moluscos. Todas as desovas íntegras depositadas nos plásticos foram coletadas

e colocadas em placas de Petri contendo água filtrada e declorada. As desovas foram observadas ao microscópio estereoscópico e classificadas de acordo com o desenvolvimento embrionário.

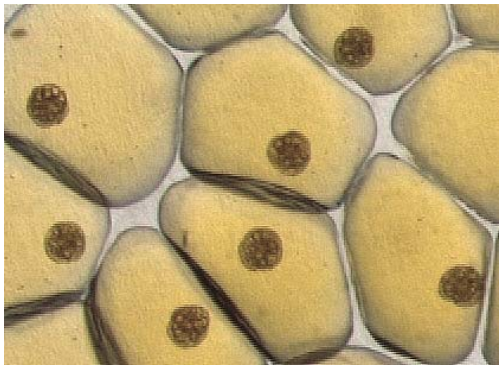
Cinco desovas de cada estádio (100 embriões em média) foram colocadas separadamente em placas de Petri e expostas às soluções por 24 horas. Após esse período, as desovas foram lavadas com água filtrada e recolocadas na placa com água filtrada e observadas durante 8 dias. Um grupo controle foi mantido em água filtrada nas mesmas condições. A análise levou em consideração a mortalidade embrionária. Os animais foram mantidos em estufa incubadora a 24°C (± 2).



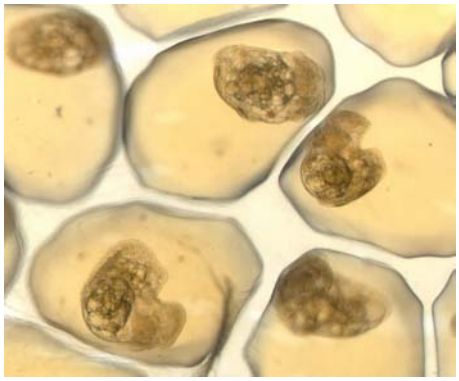
Blástula



Gástrula



Trocófora



Véliger

FIGURA 9 – Estádios embrionários de *Biomphalaria glabrata*

4. 2. 4 Seleção dos animais para o Teste do Letal Dominante

Foram utilizados animais adultos albinos e selvagens, com diâmetro superior a 10 mm, idade mínima de 2 meses e com concha íntegra. Os animais estavam sexualmente maduros, o que foi constatado pelo início da oviposição.

Os animais foram colocados individualmente em copos de vidro de 6 cm de diâmetro e capacidade de 180 ml com água filtrada (FIG. 10). Os animais ficaram isolados por três semanas antes do início dos experimentos (no mínimo).

FIGURA 10 – Animais em isolamento para os cruzamentos.

Os caramujos albinos utilizados nos experimentos foram analisados previamente quanto à freqüência de malformações embrionárias. Cada animal albino foi acasalado com outro albino por 24 horas e selecionados pela análise de, no mínimo, três desovas por caramujo (mínimo de 100 embriões) (FIG.11). A freqüência de embriões inviáveis (embriões mortos e malformados) estabelecida como basal foi de 5%; desta forma, os animais que apresentaram taxas acima desse valor foram descartados. Para cada cruzamento, foram selecionados novos animais albinos.

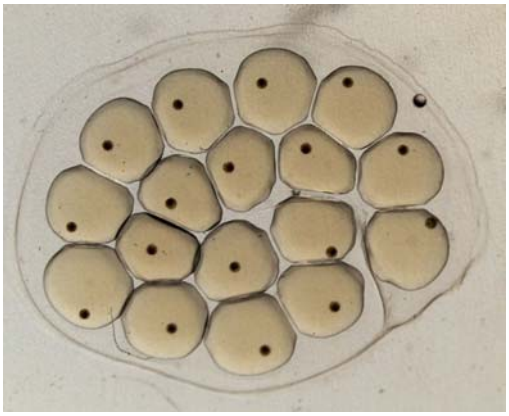


FIGURA 11 – Desova íntegra de *Biomphalaria glabrata*

O grupo selvagem foi selecionado após o cruzamento com albinos antes da exposição. Para isso foram analisados no mínimo, 50 embriões selvagens na progênie dos caramujos albinos: a freqüência basal de embriões inviáveis foi estabelecida em 3%. Os embriões podem ser dinstingüíveis dos albinos a partir do quarto dia de desenvolvimento embrionário pela presença de pigmentação dos olhos (FIG.12).

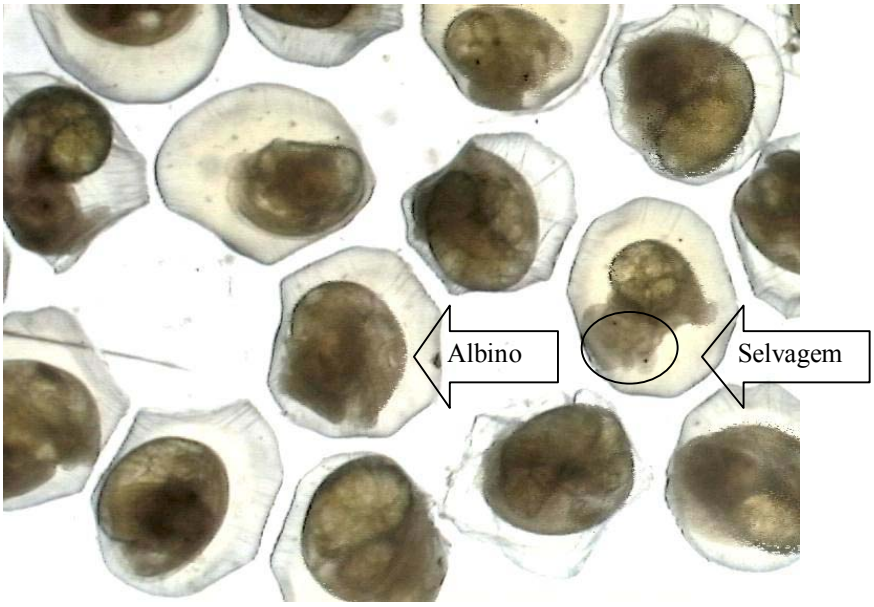


Ilustração cedida porEliana Nakano

FIGURA 12 – Embriões albinos e selvagens de *B. glabrata*. Detalhe do embrião selvagem mostrando a pigmentação dos olhos.

4. 2. 5 Determinação das concentrações para o teste do letal dominante

Os resultados obtidos no ensaio de toxicidade aguda serviram de base para a determinação da faixa de concentração para o teste do letal dominante. Animais mantidos em água de cultivo serviram de controle negativo e um grupo exposto à ciclofosfamida – agente mutagênico de ação indireta – serviu de controle positivo. Foram utilizados, pelo menos, três animais por grupo.

Foram utilizadas as amostras de todos os pontos, exceto o ponto 1. Os caramujos selvagens foram expostos por sete dias às amostras de água. Após esse período, os animais foram lavados em água filtrada e colocados nos copos de vidro individualmente. Foram realizados cruzamentos com albinos previamente selecionados 10, 17, 24, 31, 38, 45, 52 e 59 dias após a exposição, com base no protocolo proposto por Tallarico *et al.* (2004).

Os cruzamentos foram feitos pelo pareamento de um animal albino com um selvagem por 24 horas (FIG. 13). Foram utilizadas, no mínimo, duas concentrações da amostra que apresentou efeito tóxico para os caramujos.

Ao término dos cruzamentos, os animais ficaram isolados novamente em copos de vidro e as desovas foram coletadas e analisadas.

A

B

FIGURA 13 – Animais pareados **(A)** e animais acasalando **(B).**

4. 2. 6 Coleta de desovas

Foram coletadas e analisadas diariamente todas as desovas depositadas em tiras plásticas transparentes. As desovas íntegras foram mantidas em placas de cultura de 24 poços com água filtrada. As placas foram mantidas em incubadora com temperatura controlada de 24°C (±2), durante toda a análise.

4. 2. 7 Análise dos embriões de *Biomphalaria glabrata*

A *Biomphalaria* é hermafrodita simultânea e se reproduz tanto por auto-fecundação como por fecundação cruzada. Assim, caramujos albinos (homozigotos recessivos) cruzados com caramujos selvagens homozigotos produzem (FIG. 14):

- embriões selvagens heterozigotos (Aa) produzidos por fecundação cruzada;
- embriões albinos (aa) produzidos por auto-fecundação ou por fecundação cruzada com outros albinos antes do início do experimento.

Dessa progênie, foram analisados somente os embriões selvagens, que se originaram dos espermatozóides dos animais expostos.

Os embriões foram observados ao microscópio estereoscópico diariariamente, desde o início do desenvolvimento por um período de 8 dias. Foram contados os embriões com base nos critérios adotados por Geilenkirchen (1966) e Nakano e Tallarico (2006) e classificados em:

- mortos: aqueles que não conseguiram sobreviver até a gastrulação (FIG. 15);
- malformados indeterminados: que incluem os embriões vesiculares (exogástrulas) e os embriões teratomorfos ou hidrópicos, caracterizados pelo desenvolvimento anormal em que não foi possível identificar o tipo de malformação (malformações inespecíficas) (FIG. 16A)
- malformados selvagens: embriões com desenvolvimento anormal onde foi possível a identificação dos olhos (FIG. 16B e FIG. 17).

Para a análise dos efeitos das amostras ambientais sobre o desenvolvimento embrionário dos caramujos expostos, também foi criada a categoria de embriões inviáveis, agrupando os embriões mortos, os malformados indeterminados e os malformados selvagens.

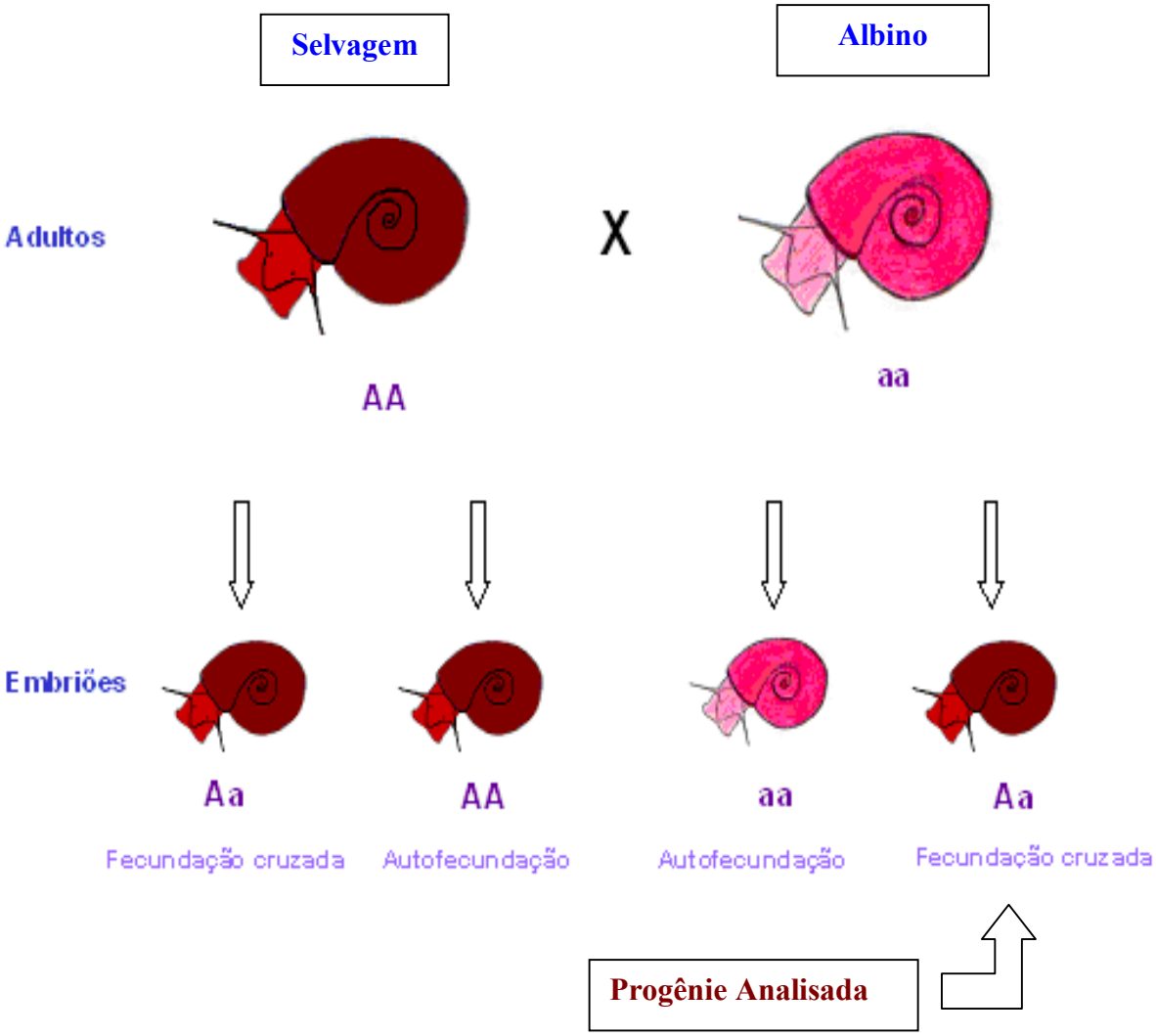


FIGURA 14 – Tipos de embriões produzidos após o cruzamento entre caramujos homozigotos selvagens e albinos. AA, Aa e aa são os genótipos correspondentes aos fenótipos selvagem, selvagem e albino, respectivamente.

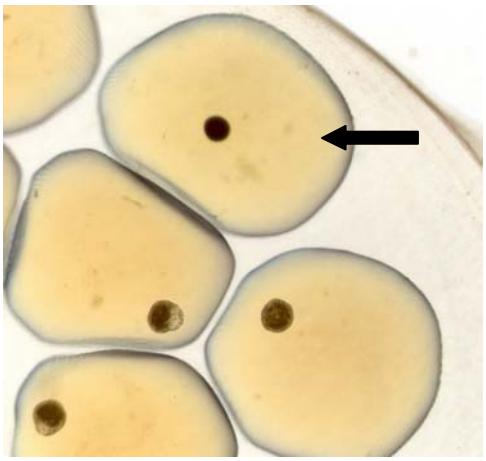


FIGURA 15 – Desova contendo um embrião morto

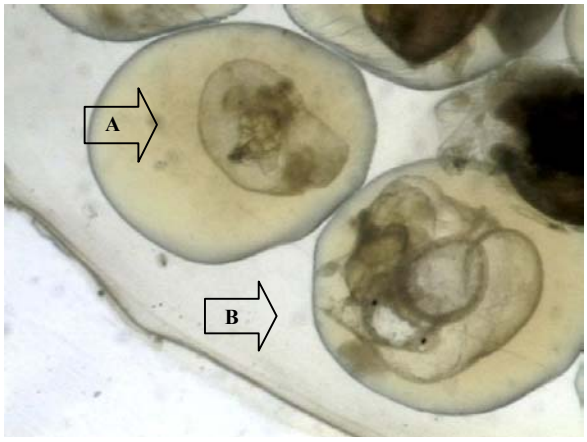


FIGURA 16 – Embriões malformados**:**
(A) – Indeterminado e **(B)** – Selvagem

FIGURA 17 – Embrião malformado selvagem

Ilustrações 16 e 17 cedidas por Eliana Nakano

A freqüência de embriões selvagens nas progênies de alguns albinos que não atingiram o mínimo de 50 embriões e os grupos que não tiveram um mínimo de 3 animais para análise nos cruzamentos foram descartados.

As imagens dos embriões foram obtidas por um sistema composto de uma câmera digital modelo DFC280 acoplada a um microscópio esteroscópico modelo S8 APO e um programa de análise de imagens modelo IM50 da marca Leica.

Todos os animais adultos e embriões utilizados foram sacrificados ao final dos experimentos e descartados em recipientes adequados de coleta.

4. 3 Análise estatística

Para os ensaios de toxicidade aguda em adultos e embriões de *Biomphalaria glabrata* foi utilizado o método dos probitos (programa PROBITCF) desenvolvido no Departamento de Biologia-Genética, Instituto de Biociências – USP, para calcular a Concentração Letal que age matando 50% da população exposta (CL_{50}) e os intervalos de confiança.

Para a análise estatística no Teste do Letal Dominate em *B. glabrata*, foram utilizadas comparações das freqüências de embriões malformados nas progênies dos caramujos albinos cruzados com os selvagens antes e após a exposição as amostras ambientais, foi empregado o teste do χ^2 para comparação de distribuições de Poisson. O modelo de Poisson foi utilizado por ser adequado para contagens de eventos raros. O efeito sobre a taxa de malformações só foi considerado significante quando o $p<0,0001$ e, sobre a taxa de cruzamento, quando $p<0,00001$.

5. RESULTADOS

5. 1 Avaliação de toxicidade aguda em *Biomphalaria glabrata*

Os resultados de todas as campanhas para avaliação da toxicidade aguda em *Biomphalaria glabrata* expostos às amostras de água do Rio Tietê e de afluentes e efluentes da ETE Suzano estão apresentados na TABELA 1. Os dados de toxicidade aguda estão apresentados como valores de CL_{50}. As diluições das amostras foram consideradas como: muito tóxicas as diluições menores que 20%, tóxicas aquelas entre 20 e 50%, pouco tóxicas, acima de 50% e indícios de toxicidade quando não foi possível estimar a faixa de desvio de confiança, com a amostra bruta (100%).

5. 1. 1 Análise de toxicidade aguda em adultos

O ensaio com a substância de referência, dicromato de potássio validou os resultados obtidos em adultos de *Biomphalaria glabrata*, a CL_{50} foi de 61,24 mg/L, com limites de confiança de 33,56 mg/L e 111,74 mg/L.

Não foi observada, em nenhuma campanha, toxicidade aguda para caramujos adultos nos pontos controle (P0) e antes do lançamento de efluentes, à montante do Rio Tietê (P1).

Houve redução total da toxicidade aguda após o tratamento biológico das amostras para caramujos adultos de *Biomphalaria*, o que pode ser constatado pela ausência de toxicidade no efluente tratado (P3) e em amostras do rio à jusante da estação (P4) em todas as campanhas.

O afluente da estação de tratamento (P2), na amostra da campanha C1, apresentou indícios de toxicidade para caramujos adultos e na campanha C3 foi pouco tóxica. Na campanha C2, o afluente foi tóxico e na campanha C4 não apresentou toxicidade aguda para caramujos adultos. Na campanha C3, o afluente da estação de tratamento só foi tóxico para caramujos adultos. A campanha 2 foi a mais tóxica de todas para os caramujos adultos de *B. glabrata*.

5. 1. 2 Análise de toxicidade aguda em embriões

Os embriões apresentaram resposta similar aos adultos com relação à toxicidade aguda nos seguintes pontos: ponto controle (P0), ponto à montante do Rio Tietê (P1), ponto de coleta do efluente tratado pela ETE Suzano (P3) e no ponto do rio à jusante da estação (P4). Em nenhuma campanha foi observada toxicidade aguda para os embriões de *B. glabrata*.

As amostras do afluente da estação (P2) foram as únicas a apresentar toxicidade para os embriões. As amostras das campanhas relativas ao período de inverno (C1 e C3) foram as que apresentaram toxicidade para os embriões. Para os estádios de blástula e gástrula as amostras do afluente foram tóxicas, já para os embriões nos estádios de trocófora e véliger as amostras foram pouco tóxicas.

Os embriões foram mais sensíveis que os caramujos adultos, apresentando valores mais baixos de CL_{50} nas campanhas C1 e C3.

A sensibilidade foi inversamente proporcional ao estágio de desenvolvimento embrionário. Embriões no estádio de véliger foram cerca de 20% menos sensíveis que blástula.

As amostras do afluente coletadas nas campanhas do período de verão (C2 e C4) não foram tóxicas para todos os estádios embrionários de *B. glabrata*.

TABELA 1 – Toxicidade aguda de amostras ambientais do Rio Tietê no entorno e na ETE de Suzano, SP, para caramujos *Biomphalaria glabrata*. Adultos observados durante 7 dias e embriões durante 8 dias.

Campanhas	Pontos de amostragem - CL_{50} (%) 24 horas				
	P0	**P1**	**P2**	**P3**	**P4**
Adultos					
C1	NT	NT	100 (-)	NT	NT
C2	NT	NT	41,25 (32,61-52,18)	NT	NT
C3	NT	NT	84,16 (75,34-94,02)	NT	NT
C4	NT	NT	NT	NT	NT
Embriões					
Blástula					
C1	NT	NT	43,04 (41,92-44,19)	NT	NT
C2	NT	NT	NT	NT	NT
C3	NT	NT	48,24 (47,17-49,34)	NT	NT
C4	NT	NT	NT	NT	NT
Gástrula					
C1	NT	NT	41,56 (41,20-41,91)	NT	NT
C2	NT	NT	NT	NT	NT
C3	NT	NT	43,71 (42,39-45,06)	NT	NT
C4	NT	NT	NT	NT	NT
Trocófora					
C1	NT	NT	57,16 (55,78-58,58)	NT	NT
C2	NT	NT	NT	NT	NT
C3	NT	NT	55,43 (54,16-56,73)	NT	NT
C4	NT	NT	NT	NT	NT
Véliger					
C1	NT	NT	60,06 (59,36-60,76)	NT	NT
C2	NT	NT	NT	NT	NT
C3	NT	NT	62,64 (61,55-63,75)	NT	NT
C4	NT	NT	NT	NT	NT

Abreviações: C – datas das coletas: C1 – 08/2006; C2 – 02/2007; C3 – 08/2007; C4 – 03/2008; NT – Não Tóxica; P0 – Barragem de Ponte Nova, Salesópolis; P1 – 200m à montante da estação; P2 – afluente da estação; P3 – efluente tratado; P4 – 200m à jusante da estação

5. 2 Análise dos efeitos mutagênicos em células germinativas de *B. glabrata*

Nas TAB. 2 a 5 e nas FIG. 18 a 21 estão apresentados os resultados do teste do letal dominante em *B. glabrata* após a exposição às amostras de água do Rio Tietê, do entorno e da ETE de Suzano, SP. Os dados individuais de todos os caramujos utilizados no teste do letal dominante estão apresentados como Anexo I.

As freqüências de embriões inviáveis – total de embriões mortos e malformados – da progênie dos caramujos albinos, após a exposição às amostras ambientais, se mantiveram abaixo de 5%, nível estabelecido como basal para experimentos com embriões.

Em todas as campanhas e pontos amostrados não foi observado um aumento significativo na freqüência de embriões selvagens malformados.

Na primeira campanha, não foi possível realizar o teste do letal dominante em *B. glabrata* com a amostra P2, pois o tempo de armazenamento ultrapassou o prazo recomendado de preservação das amostras sob congelamento que é de até dois meses estabelecido nas normas técnicas ISO-10706 (2000) e pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2004).

TABELA 2 – Teste do letal dominante: análise das progênies de caramujos (*B. glabrata*) albinos cruzados com selvagens antes e em vários tempos após a exposição às amostras de água do Rio Tietê e de afluentes e efluentes da ETE de Suzano. Campanha 1 – agosto de 2006.

Cruzamentos (Dias)	***Pontos de Amostragem***	***Número de animais (N)***	***Embriões***		***Embriões selvagens***	
			Total	***Embriões inviáveis (%)***	***Total***	***Malformados (%)***
Pré- exposição	Controle negativo	14	2190	26 (1,19)	1531	2 (0,13)
	Controle positivo	10	1789	26 (1,45)	1141	0 (0,00)
	Ponto 0	14	2001	39 (1,95)	1533	6 (0,39)
	Ponto 3	15	2408	30 (1,25)	1482	7 (0,47)
	Ponto 4	15	2420	17 (0,70)	1536	3 (0,20)
10	Controle negativo	13	1913	38 (1,99)	1731	17 (0,98)
	Controle positivo	6	781	616 (78,87)	228	83 (36,40)
	Ponto 0	11	1570	53 (3,38)	1445	34 (2,36)
	Ponto 3	5	780	8 (1,03)	582	0 (0,00)
	Ponto 4	12	1777	52 (2,93)	1366	21 (1,54)
17	Controle negativo	8	1080	19 (1,76)	901	8 (0,89)
	Controle positivo	5	715	233 (32,59)	546	121 (22,16)
	Ponto 0	8	1056	28 (2,65)	907	11 (1,21)
	Ponto 3	4	705	19 (2,70)	496	11 (2,22)
	Ponto 4	7	1070	25 (2,34)	426	12 (1,65)
24	Controle negativo	8	1161	18 (1,55)	883	5 (0,57)
	Controle positivo	-	-	-	-	-
	Ponto 0	4	456	16 (3,51)	320	2 (0,63)
	Ponto 3	4	651	11 (1,69)	495	4 (0,81)
	Ponto 4	6	1154	21 (1,82)	762	11 (1,44)
31	Controle negativo	5	606	4 (0,66)	529	0 (0,00)
	Controle positivo	-	-	-	-	-
	Ponto 0	4	419	8 (1,91)	348	3 (0,86)
	Ponto 3	-	-	-	-	-
	Ponto 4	5	513	2 (0,39)	392	1 (0,26)
38	Controle negativo	7	910	9 (0,99)	635	0 (0,00)
	Controle positivo	-	-	-	-	-
	Ponto 0	3	417	2 (0,48)	224	0 (0,00)
	Ponto 3	4	498	8 (1,61)	373	3 (0,80)
	Ponto 4	-	-	-	-	-
45	Controle negativo	4	447	7 (1,57)	325	0 (0,00)
	Controle positivo	-	-	-	-	-
	Ponto 0	5	700	40 (5,71)	533	22 (4,13)
	Ponto 3	4	504	4 (0,79)	327	2 (0,61)
	Ponto 4	7	1030	32 (3,11)	764	11 (1,44)
52	Controle negativo	8	749	16 (1,55)	654	4 (0,61)
	Controle positivo	-	-	-	-	-
	Ponto 0	3	462	13 (2,81)	311	2 (0,64)
	Ponto 3	-	-	-	-	-
	Ponto 4	4	517	3 (0,58)	446	0 (0,00)
59	Controle negativo	4	387	6 (1,55)	303	0 (0,00)
	Controle positivo	3	406	5 (1,23)	268	0 (0,00)
	Ponto 0	4	385	8 (2,08)	345	2 (0,58)
	Ponto 3	-	-	-	-	-
	Ponto 4	-	-	-	-	-

Controle negativo = água filtrada; Controle positivo = $3{,}6 \times 10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação; "-" representa menos de três animais por grupo

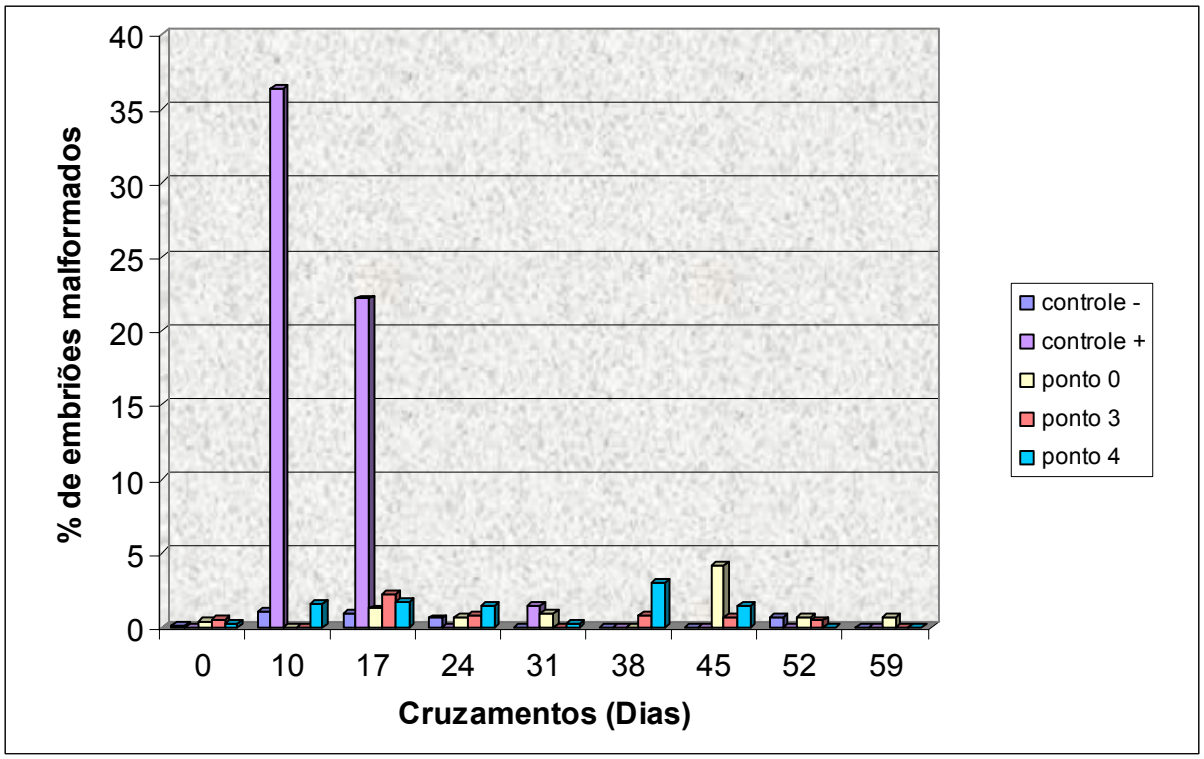


FIGURA 18 – Freqüências de embriões malformados das progênies de caramujos albinos acasalados com caramujos selvagens (*B. glabrata*) em função do tempo após a exposição a amostras de água do Rio Tietê e no entorno da ETE de Suzano, SP. Controle - = água filtrada; Controle + = $3{,}6x10^{-3}$M de ciclofosfamida; P2 – afluente da estação; P3 – efluente tratado; P4 – 200m à jusante da estação. Campanha 1 – agosto de 2006.

Tabela 3 – Teste do letal dominante: análise das progênies de caramujos (*B. glabrata*) albinos cruzados com selvagens antes e em vários tempos após a exposição às amostras de água do Rio Tietê e de afluentes e efluentes da ETE de Suzano. Campanha 2 – fevereiro de 2007.

Cruzamentos (Dias)	***Pontos de amostragem***	***Número de animais (N)***	***Embriões***		***Embriões selvagens***	
			Total	***Embriões inviáveis (%)***	***Total***	***Malformados (%)***
Pré- exposição	Controle negativo	15	2570	59 (2,30)	1803	5 (0,28)
	Controle positivo	10	1519	16 (1,05)	1166	2 (0,17)
	Ponto 0	15	2978	53 (1,78)	1817	3 (0,17)
	Ponto 2 – 25%	15	2113	41 (1,94)	1574	0 (0,00)
	Ponto 2 – 50%	15	2827	31 (1,10)	2021	4 (0,20)
	Ponto 3	15	2300	38 (1,65)	1946	1 (0,05)
	Ponto 4	15	2028	28 (1,38)	1691	3 (0,18)
10	Controle negativo	9	1745	34 (1,95)	1349	7 (0,52)
	Controle positivo	4	871	298 (34,21)	507	112 (22,09)
	Ponto 0	10	1902	45 (2,37)	1334	15 (1,12)
	Ponto 2 – 25%	7	1494	28 (1,87)	972	10 (1,03)
	Ponto 2 – 50%	5	922	12 (1,30)	635	2 (0,31)
	Ponto 3	11	2184	50 (2,29)	1632	15 (0,92)
	Ponto 4	11	2006	69 (3,44)	1491	24 (1,61)
17	Controle negativo	11	1285	41 (3,19)	1014	10 (0,99)
	Controle positivo	-	-	-	-	-
	Ponto 0	8	1239	40 (3,23)	975	8 (0,82)
	Ponto 2 – 25%	6	973	22 (2,26)	658	2 (0,30)
	Ponto 2 – 50%	6	708	17 (2,40)	616	9 (1,46)
	Ponto 3	9	1363	31 (2,27)	960	8 (0,83)
	Ponto 4	7	1089	59 (5,42)	704	17 (2,41)
24	Controle negativo	12	1603	49 (3,06)	1306	10 (0,77)
	Controle positivo	-	-	-	-	-
	Ponto 0	10	1509	41 (2,72)	996	5 (0,50)
	Ponto 2 – 25%	5	735	17 (2,31)	400	3 (0,75)
	Ponto 2 – 50%	5	767	13 (1,69)	478	1 (0,21)
	Ponto 3	9	1479	22 (1,49)	974	3 (0,31)
	Ponto 4	4	1603	49 (3,06)	1306	10 (0,77)
31	Controle negativo	7	904	13 (1,44)	677	8 (1,18)
	Controle positivo	3	429	6 (1,40)	224	1 (0,45)
	Ponto 0	6	910	16 (1,76)	530	1 (0,19)
	Ponto 2 – 25%	3	462	4 (0,87)	254	0 (0,00)
	Ponto 2 – 50%	-	-	-	-	-
	Ponto 3	4	620	10 (1,61)	303	0 (0,00)
	Ponto 4	3	580	12 (2,07)	401	2 (0,50)
38	Controle negativo	4	754	8 (1,06)	431	1 (0,23)
	Controle positivo	3	706	10 (1,42)	234	0 (0,00)
	Ponto 0	-	-	-	-	-
	Ponto 2 – 25%	4	607	4 (0,66)	306	0 (0,00)
	Ponto 2 – 50%	4	594	11 (1,85)	409	4 (0,98)
	Ponto 3	4	640	2 (0,31)	402	0 (0,00)
	Ponto 4	-	-	-	-	-
45	Controle negativo	6	972	33 (3,40)	599	4 (0,67)
	Controle positivo	-	-	-	-	-
	Ponto 0	4	653	9 (1,38)	286	0 (0,00)
	Ponto 2 – 25%	-	-	-	-	-
	Ponto 2 – 50%	-	-	-	-	-
	Ponto 3	5	746	16 (2,14)	408	2 (0,49)
	Ponto 4	3	465	10 (2,15)	337	1 (0,30)
52	Controle negativo	4	566	8 (1,41)	376	0 (0,00)
	Controle positivo	-	-	-	-	-
	Ponto 0	7	879	18 (2,05)	609	1 (0,16)
	Ponto 2 – 25%	4	651	4 (0,61)	427	1 (0,23)
	Ponto 2 – 50%	5	634	17 (2,68)	379	4 (1,06)
	Ponto 3	6	886	21 (2,37)	525	13 (2,48)
	Ponto 4	3	391	21 (5,37)	183	2 (1,09)
59	Controle negativo	5	831	31 (3,73)	406	6 (1,48)
	Controle positivo	-	-	-	-	-
	Ponto 0	3	582	4 (0,69)	309	0 (0,00)
	Ponto 2 – 25%	-	-	-	-	-
	Ponto 2 – 50%	4	833	7 (0,84)	384	0 (0,00)
	Ponto 3	-	-	-	-	-
	Ponto 4	-	-	-	-	-

Controle negativo = água filtrada; Controle positivo = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação; "-" representa menos de três animais por grupo

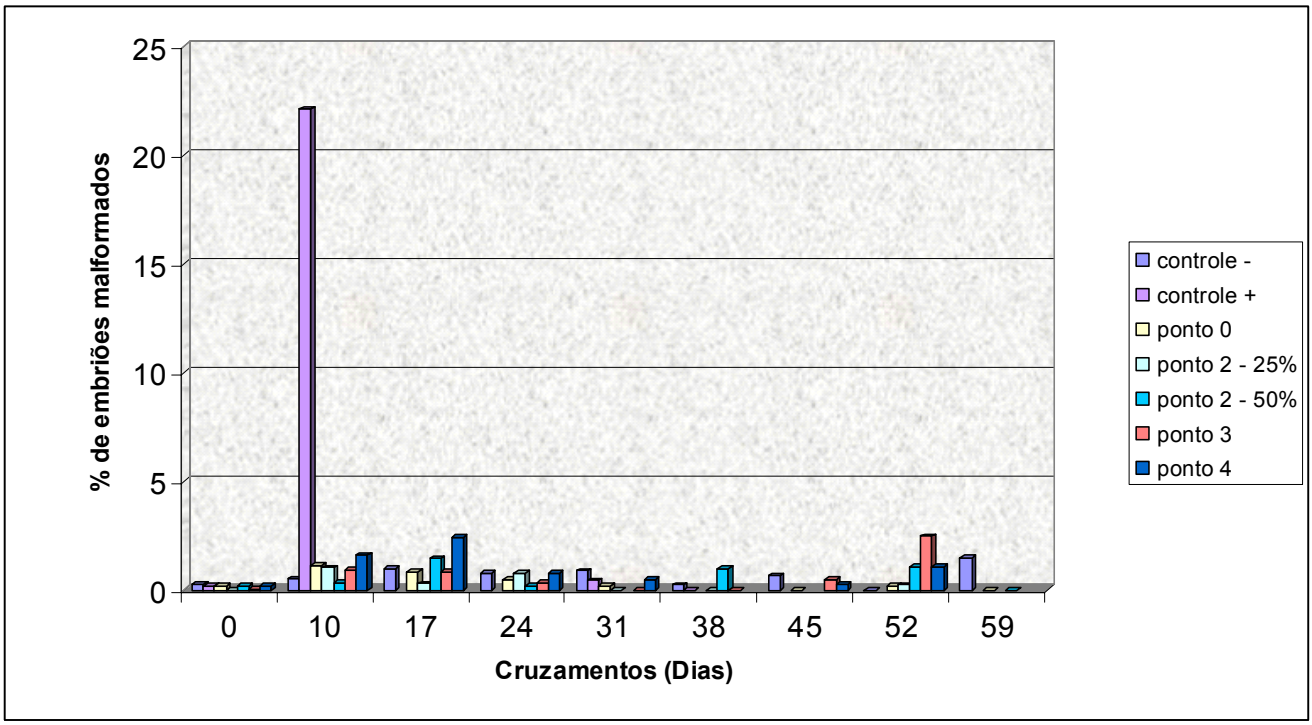


FIGURA 19 – Freqüências de embriões malformados das progênies de caramujos albinos acasalados com caramujos selvagens (*B. glabrata*) em função do tempo após a exposição às amostras de água do Rio Tietê e no entorno da ETE de Suzano, SP. Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; P2 – afluente da estação; P3 – efluente tratado; P4 – 200m à jusante da estação. Campanha 2 – fevereiro de 2007.

Tabela 4 – Teste do letal dominante: análise das progênies de caramujos (*B. glabrata*) albinos cruzados com selvagens antes e em vários tempos após a exposição às amostras de água do Rio Tietê e de afluentes e efluentes da ETE de Suzano. Campanha 3 – agosto de 2007.

Cruzamentos (Dias)	***Pontos de amostragem***	***Número de animais (N)***	***Embriões***		***Embriões selvagens***	
			Total	***Embriões inviáveis (%)***	***Total***	***Malformados (%)***
Pré- exposição	Controle negativo	11	1733	29 (1,67)	1280	5 (0,39)
	Controle positivo	7	1038	17 (1,64)	787	6 (0,76)
	Ponto 0	11	1550	36 (2,32)	1173	2 (0,17)
	Ponto 2 – 1%	11	1863	36 (1,93)	1144	6 (0,52)
	Ponto 2 – 5%	11	1708	32 (1,87)	1233	7 (0,57)
	Ponto 3	11	1898	19 (1,00)	1132	2 (0,18)
	Ponto 4	11	1769	26 (1,47)	1148	3 (0,26)
10	Controle negativo	7	1524	46 (3,02)	884	14 (1,58)
	Controle positivo	3	1091	368 (33,73)	365	54 (14,79)
	Ponto 0	9	2063	51 (2,47)	1526	16 (1,05)
	Ponto 2 – 1%	5	1478	11 (0,74)	634	4 (0,63)
	Ponto 2 – 5%	8	1790	40 (2,23)	965	5 (0,52)
	Ponto 3	7	1544	25 (1,62)	902	2 (0,22)
	Ponto 4	8	2090	31 (1,48)	933	5 (0,54)
17	Controle negativo	8	1323	17 (1,28)	913	5 (0,55)
	Controle positivo	3	622	19 (3,05)	350	8 (2,29)
	Ponto 0	9	1854	55 (2,97)	1410	14 (0,99)
	Ponto 2 – 1%	5	1296	21 (1,62)	747	4 (0,54)
	Ponto 2 – 5%	10	2720	60 (2,21)	1134	9 (0,79)
	Ponto 3	7	1864	42 (2,25)	811	5 (0,62)
	Ponto 4	5	1417	27 (1,91)	816	14 (1,72)
24	Controle negativo	5	954	16 (1,68)	600	2 (0,33)
	Controle positivo	4	775	14 (1,81)	615	3 (0,49)
	Ponto 0	7	1489	14 (0,94)	1211	5 (0,41)
	Ponto 2 – 1%	6	1352	14 (1,04)	817	8 (0,98)
	Ponto 2 – 5%	9	1781	55 (3,09)	1130	14 (1,24)
	Ponto 3	6	1730	47 (2,72)	967	11 (1,14)
	Ponto 4	7	1577	41 (2,60)	850	18 (2,12)
31	Controle negativo	3	616	7(1,14)	388	2 (0,52)
	Controle positivo	6	1176	20 (1,70)	848	9 (1,06)
	Ponto 0	6	1109	15 (1,35)	832	9 (1,08)
	Ponto 2 – 1%	5	1062	18 (1,69)	523	5 (0,96)
	Ponto 2 – 5%	8	1999	42 (2,10)	1041	13 (1,25)
	Ponto 3	5	1077	19 (1,76)	577	11 (1,91)
	Ponto 4	5	965	15 (1,55)	617	1 (0,16)
38	Controle negativo	5	929	35 (3,77)	583	11 (1,89)
	Controle positivo	6	1004	24 (2,39)	699	17 (2,43)
	Ponto 0	8	1447	41 (2,83)	1103	15 (1,36)
	Ponto 2 – 1%	3	493	7 (1,42)	289	1 (0,35)
	Ponto 2 – 5%	7	1327	23 (1,73)	865	10 (1,16)
	Ponto 3	3	661	7 (1,06)	488	2 (0,41)
	Ponto 4	4	587	5 (0,85)	508	1 (0,20)
45	Controle negativo	4	646	4 (0,62)	415	0 (0,00)
	Controle positivo	3	389	7 (1,80)	289	5 (1,73)
	Ponto 0	6	846	11 (1,30)	590	5 (0,85)
	Ponto 2 – 1%	3	679	11 (1,62)	348	2 (0,57)
	Ponto 2 – 5%	5	855	14 (1,64)	464	3 (0,65)
	Ponto 3	5	690	20 (2,90)	357	7 (1,96)
	Ponto 4	4	645	105 (16,28)	379	2 (0,53)
52	Controle negativo	4	380	4 (1,05)	292	3 (1,03)
	Controle positivo	4	704	15 (2,13)	613	6 (0,98)
	Ponto 0	3	415	6 (1,45)	329	1 (0,30)
	Ponto 2 – 1%	4	642	19 (2,96)	408	5 (1,23)
	Ponto 2 – 5%	5	1018	8 (0,79)	646	1 (0,15)
	Ponto 3	3	584	8 (1,37)	375	3 (0,80)
	Ponto 4	4	759	8 (1,05)	412	1 (0,24)
59	Controle negativo	4	697	16 (2,30)	532	5 (0,94)
	Controle positivo	4	647	7 (1,08)	519	2 (0,39)
	Ponto 0	6	1066	8 (0,75)	916	2 (0,22)
	Ponto 2 – 1%	3	493	2 (0,41)	327	0 (0,00)
	Ponto 2 – 5%	6	850	18 (2,12)	567	0 (0,00)
	Ponto 3	3	575	7 (1,22)	384	0 (0,00)
	Ponto 4	4	734	5 (0,68)	432	2 (0,46)

Controle negativo = água filtrada; Controle positivo = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação

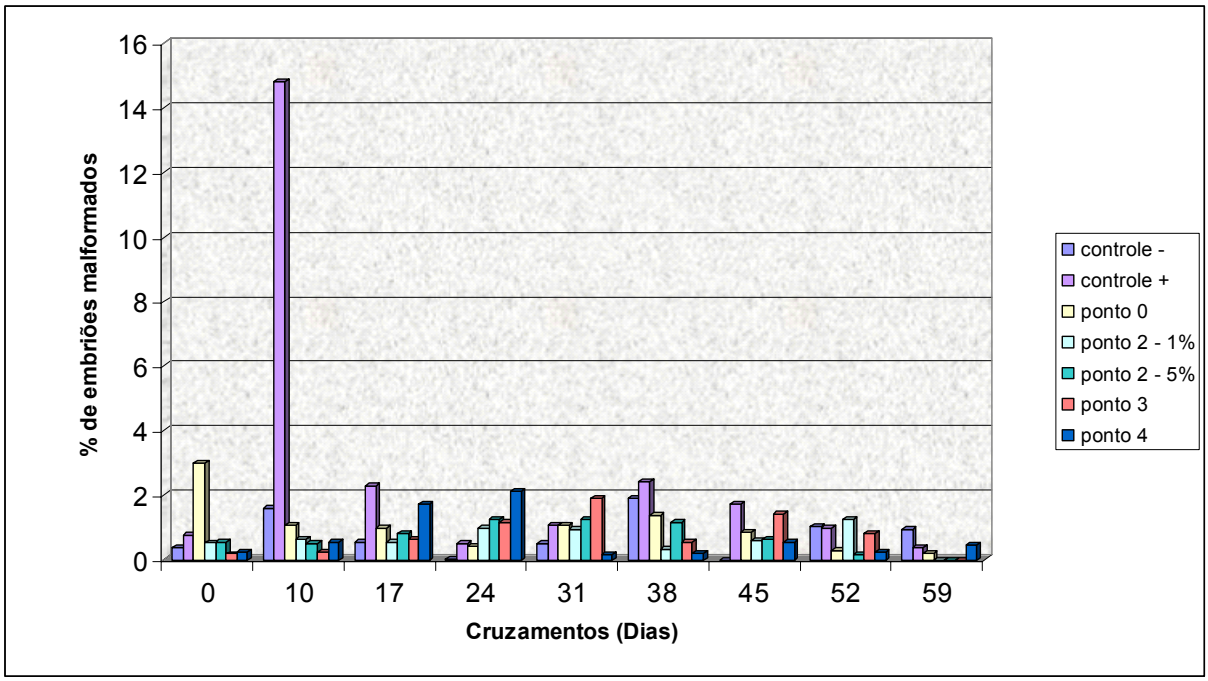


FIGURA 20 – Freqüências de embriões malformados das progênies de caramujos albinos acasalados com caramujos selvagens (*B. glabrata*) em função do tempo após a exposição às amostras de água do Rio Tietê e no entorno da ETE de Suzano, SP. Controle - = água filtrada; Controle + = $1{,}8 \times 10^{-3}$M de ciclofosfamida; P2 – afluente da estação; P3 – efluente tratado; P4 – 200m à jusante da estação. Campanha 3 – agosto de 2007.

Tabela 5 – Teste do letal dominante: análise das progênies de caramujos (*B. glabrata*) albinos cruzados com selvagens antes e em vários tempos após a exposição às amostras de água do Rio Tietê e de afluentes e efluentes da ETE de Suzano. Campanha 4 – março de 2008.

Cruzamentos (Dias)	***Pontos de amostragem***	***Número de animais (N)***	***Embriões***		***Embriões selvagens***	
			Total	***Embriões inviáveis (%)***	***Total***	***Malformados (%)***
Pré- exposição	Controle negativo	11	1288	10 (0,78)	1212	0 (0,00)
	Controle positivo	7	921	10 (1,09)	876	3 (0,34)
	Ponto 0	11	1436	5 (0,35)	1307	0 (0,00)
	Ponto 2	11	1520	10 (0,66)	1436	0 (0,00)
	Ponto 3	11	1238	11 (0,89)	1200	0 (0,00)
	Ponto 4	11	1379	15 (1,09)	1263	2 (0,16)
10	Controle negativo	9	1583	18 (1,14)	1518	5 (0,33)
	Controle positivo	5	827	293 (35,43)	625	142 (22,72)
	Ponto 0	9	1451	17 (1,17)	1276	4 (0,31)
	Ponto 2	10	2173	60 (2,76)	1829	26 (1,42)
	Ponto 3	9	1718	22 (1,28)	1608	9 (0,56)
	Ponto 4	7	1322	19 (1,44)	1238	11 (0,89)
17	Controle negativo	10	1718	17 (0,99)	1570	6 (0,38)
	Controle positivo	6	1203	61 (5,07)	1035	31 (3,00)
	Ponto 0	11	2235	23 (1,03)	2063	4 (0,19)
	Ponto 2	11	2050	33 (1,61)	1931	12 (0,62)
	Ponto 3	8	1448	22 (1,52)	1244	3 (0,24)
	Ponto 4	8	1554	27 (1,74)	1281	6 (0,47)
24	Controle negativo	7	1041	18 (1,73)	980	10 (1,02)
	Controle positivo	6	1060	26 (2,45)	844	12 (1,42)
	Ponto 0	11	1954	35 (1,19)	1651	10 (0,61)
	Ponto 2	8	1214	37 (3,05)	1004	8 (0,80)
	Ponto 3	6	784	5 (0,64)	718	0 (0,00)
	Ponto 4	8	1199	29 (2,42)	889	6 (0,67)
31	Controle negativo	8	1259	20 (1,59)	1179	4 (0,34)
	Controle positivo	5	762	51 (6,69)	610	10 (1,64)
	Ponto 0	10	1860	18 (0,97)	1608	4 (0,25)
	Ponto 2	10	1378	19 (1,38)	1247	2 (0,16)
	Ponto 3	9	1373	20 (1,46)	1284	7 (0,55)
	Ponto 4	10	1424	18 (1,26)	1321	2 (0,15)
38	Controle negativo	8	1138	21(1,85)	943	6 (0,64)
	Controle positivo	7	864	15 (1,74)	671	2 (0,30)
	Ponto 0	9	1496	16 (1,07)	1276	4 (0,31)
	Ponto 2	10	1554	23 (1,48)	1345	7 (0,52)
	Ponto 3	11	1993	20 (1,00)	1776	2 (0,11)
	Ponto 4	9	1369	25 (1,83)	1329	6 (0,45)
45	Controle negativo	9	1373	27 (1,97)	1243	5 (0,40)
	Controle positivo	5	803	10 (1,25)	680	0 (0,00)
	Ponto 0	9	1709	35 (2,05)	1346	6 (0,45)
	Ponto 2	10	1607	142 (8,84)	1369	5 (0,37)
	Ponto 3	9	1508	18 (1,19)	1309	4 (0,31)
	Ponto 4	10	1912	38 (1,99)	1597	8 (0,50)
52	Controle negativo	8	1365	27 (1,98)	1131	11 (0,97)
	Controle positivo	7	1293	16 (1,24)	961	2 (0,21)
	Ponto 0	8	1405	23 (1,64)	1080	6(0,56)
	Ponto 2	10	1708	34 (1,99)	1474	13 (0,88)
	Ponto 3	10	1872	27 (1,44)	1534	3 (0,20)
	Ponto 4	11	1837	52 (2,83)	1457	18 (1,24)
59	Controle negativo	9	1416	27(1,91)	986	5 (0,51)
	Controle positivo	7	1519	35 (2,30)	887	3 (0,34)
	Ponto 0	10	1891	38 (2,01)	1377	17 (1,23)
	Ponto 2	10	2465	46 (1,87)	1380	5 (0,36)
	Ponto 3	11	2212	17 (0,77)	1661	3 (0,18)
	Ponto 4	11	1840	28 (1,52)	1168	5 (0,43)

Controle negativo = água filtrada; Controle positivo = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação

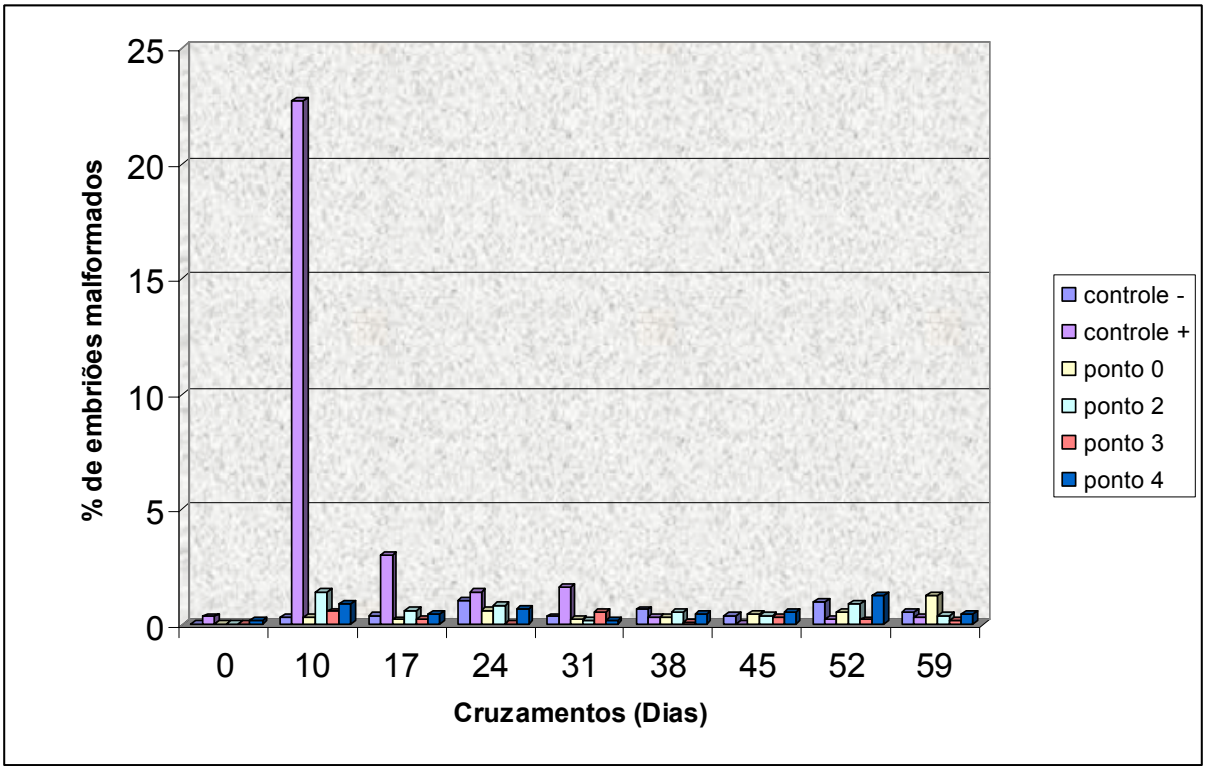


FIGURA 21 – Freqüências de embriões malformados das progênies de caramujos albinos acasalados com caramujos selvagens (*B. glabrata*) em função do tempo após a exposição às amostras de água do Rio Tietê e no entorno da ETE de Suzano, SP. Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; P2 – afluente da estação; P3 – efluente tratado; P4 – 200m à jusante da estação. Campanha 4 – março de 2008.

6. DISCUSSÃO

Neste trabalho, foi proposta a aplicação de novas metodologias para o monitoramento da qualidade das águas: o ensaio de toxicidade aguda em adultos e embriões e o teste do letal dominante em *Biomphalaria glabrata*. Para a validação das metodologias, foram realizadas comparações com métodos já validados de toxicidade aguda em estudos ecotoxicológicos – ensaios com o microcrustáceo *Daphnia similis* e com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri* (Hamada, 2008) apresentados no ANEXO II (TAB. 42). As amostras de água do Rio Tietê e de afluentes e efluentes da ETE Suzano também serviram para a realização do ensaio de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* (Hamada, 2008).

Para a avaliação da mutagenicidade *in vivo* foi proposta a aplicação do teste do letal dominante em *Biomphalaria glabrata* e para estudos de mutagenicidade *in vitro* foi realizado o teste do micronúcleo em CHO (Suzuki *et al.*, 2008).

Com relação ao desempenho e à sensibilidade dos ensaios biológicos empregados, houve uma boa resposta entre os resultados dos sistemas propostos com os ensaios já validados: a toxicidade aguda para *B. glabrata* foi similar à observada em *D. similis* (exceto na C3) sendo as respostas de citotoxicidade das células CHO similares às da bactéria *V.fischeri*. (ANEXO II – TAB. 42).

O ponto controle (P0) no Reservatório de Ponte Nova, em Salesópolis, apresentou resultado negativo para toxicidade aguda em *B. glabrata* e nos outros organismos testados, resultado importante visto que se trata de água de manancial, utilizada para abastecimento de vários municípios da região.

As amostras do ponto afluente da estação (P2) apresentaram altos índices de toxicidade aguda para todos os organismos testados, o que é explicado pelo grande aporte de efluentes complexos na ETE de Suzano provenientes das indústrias na região. O afluente é representado por esgotos domésticos juntamente com efluentes industriais, resíduos de fossas sépticas e chorume de aterro sanitário. Isso justifica a existência de toxicidade para os sistemas testados nas três primeiras campanhas. Na última campanha, realizada em março de 2008, foi observada redução na toxicidade aguda do afluente da ETE, que foi pouco tóxico para *D. similis*, e atóxico para *B. glabrata.* Redução menos acentuada, no entanto, foi observada em *V.*

fischeri; a bactéria mostrou-se mais sensível ao conjunto de contaminantes presentes nessa mistura de efluentes, apresentando os menores valores de $CE(I)_{50}$.

Nas campanhas de inverno (C1 e C3), as amostras do afluente da estação (P2) foram tóxicas para todos os estádios embrionários de *B. glabrata*, já as das campanhas no período do verão (C2 e C4) não foram tóxicas para os embriões. Essas variações sugerem a influência do índice pluviométrico na qualidade do afluente, já que no verão ocorre diluição das águas pelo grande volume de chuva. Santos *et al.* (2006), verificaram na região amazônica, que, apesar do efeito diluidor existir, a qualidade das águas não melhora significativamente no período chuvoso. Isso foi verificado nos sistemas testados – adultos de *B. glabrata*, *D. similis* e *V. fisheri* – que não apresentaram correlação entre o índice pluviométrico e a toxicidade.

Embriões de *B. glabrata* mostraram ser um sistema biológico eficiente na detecção de contaminantes presentes em amostras de água do Rio Tietê. Dentre todos os estádios embrionários, os embriões no estádio de blástula se mostraram os mais sensíveis. Isso poderia ser atribuído à intensa divisão celular nos estádios iniciais de desenvolvimento, apresentando, assim, maior sensibilidade às substâncias citotóxicas (Kawano e Simões, 1986).

Adultos e embriões de *B. glabrata* apresentaram sensibilidades diferentes aos contaminantes químicos presentes nas amostras. Isso já foi observado com outros agentes em estudos anteriores (Kawano e Simões, 1986; Yamamoto *et al.*, 1996). No presente trabalho, uma sensibilidade maior dos embriões à exposição química pode ser observada na primeira e terceira campanhas. Além da sensibilidade diferencial, a toxicidade para os embriões parece depender, ainda, de certas características químicas, como a solubilidade, a polaridade e tamanho das moléculas. Para atingir os embriões, as substâncias precisam atravessar a cápsula gelatinosa que envolve as desovas dos caramujos e a membrana dos ovos. A ausência de toxicidade para embriões observada nas campanhas 2 e 4 poderia estar correlacionada com essas características químicas. Esse fato foi observado em *Biomphalaria tenagophila* após exposição ao endosulfano, nonifenol e etanol: embriões recém-eclodidos foram mais sensíveis do que os embriões ainda nas cápsulas das desovas (Oliveira-Filho *et al.*, 2005).

A maior sensibilidade de embriões mais jovens aos contaminantes presentes nas águas também foi verificado por Lanzer e colaboradores (2007) com desovas de *B. tenagophila* com menos de 24 horas de idade. A análise do desenvolvimento embrionário dos

caramujos mostrou que os organismos são sensíveis aos contaminantes presentes nas águas do arroio Tega em Caxias do Sul em estado bruto, não conseguindo ultrapassar o estádio de trocófora.

As amostras coletadas no efluente da ETE (P3) correspondem ao efluente final da estação, tratado por lodos ativados até o nível secundário de tratamento. Esse ponto apresentou em todas as campanhas menor efeito tóxico para os organismos testados quando comparado com o afluente (P2), apresentando apenas indícios de toxicidade para crustáceos (exceto C3) e ausência de toxicidade para caramujos, o que significa que o efluente final esteve menos tóxico que aquele que entrou na estação de tratamento após a mistura entre esgoto e efluente industrial.

Embora não tenha sido considerado o tempo de detenção dos esgotos durante o tratamento, de sete horas em média, observou-se que o efluente final esteve menos tóxico no geral, reduzindo aos níveis basais a toxicidade aguda dos efluentes. Além do efluente final apresentar um efeito tóxico discreto, a última campanha apresentou menor toxicidade em todos os organismos testados. Esses resultados demonstram os esforços da SABESP no controle dos afluentes da estação de tratamento e na melhoria do processo biológico de tratamento aplicado na ETE. Vários estudos na região da ETE de Suzano, desde a década de 80, já mostraram com o passar dos anos uma acentuada melhoria do efluente tratado pela estação (Gherardi-Goldstein *et al.*, 1983; Zagatto *et al.*, 1992; Borrely, 2001; Hamada, 2008).

Os pontos amostrados no Rio Tietê, ponto à montante do rio (P1) e ponto à jusante da estação (P4), não demonstraram toxicidade para *B. glabrata* e *D. similis*. Para *V. fischeri*, no entanto, a toxicidade aguda nos pontos do Rio Tietê a montante e a jusante da estação foram similares e apresentaram toxicidade menor em relação ao ponto afluente. Quando esses resultados são confrontados com os obtidos no ponto P3, nota-se que o efluente tratado na estação após o lançamento no corpo hídrico, não interfere na qualidade das águas do rio nessa região.

Para a análise de mutagenicidade foram utilizadas as amostras de todos os pontos coletados, com exceção do ponto à montante do rio (P1). Os pontos mais relevantes para estimar a qualidade e eficiência do tratamento empregado na ETE e o grau de influência do efluente tratado lançado no rio, foram os pontos afluentes (P2), o efluente tratado (P3) na ETE

de Suzano e o ponto 4, após a mistura do efluente tratado com a água do rio. O ponto 0 também mereceu uma atenção especial por se tratar da água do reservatório de abastecimento.

A indução de mutações em células germinativas de *B. glabrata* vem sendo utilizada, em estudos ecotoxicológicos, como biomarcador de efeitos populacionais e indicador de alterações ecológicas (Nakano *et al.*, 2003; Tallarico *et al.*, 2004; Estevam *et al.*, 2006). Para utilizar corretamente esse biomarcador é necessário realizar vários cruzamentos em estádios específicos da gametogênese do molusco. Neste trabalho foram realizados cruzamentos – 10, 17, 24, 31, 38, 45, 52 e 59 dias após a exposição dos caramujos às amostras de água do Rio Tietê e da ETE de Suzano, para abranger dois ciclos espermatogênicos completos (Tallarico *et al.*, 2004). Isso é necessário já que compostos químicos interferem em diferentes processos bioquímicos da gametogênese dos organismos e agem de forma estádio-específica das células. Além disso, as amostras ambientais apresentam misturas complexas de compostos químicos, que podem agir isolados ou concomitantemente, muitos compostos necessitam de ativação metabólica e precisam de um tempo maior para agir no organismo (Rand *et al.*, 1995).

Apesar das análises em CHO mostrarem aumentos nas freqüências de micronúcleos, os resultados positivos foram obtidos somente com concentrações bastante citotóxicas, o que impossibilita uma correlação com mutagenicidade. Esse fato também foi observado em estudos de águas poluídas utilizando a bactéria *Salmonella*, onde o alto grau de citotoxicidade interferiu na detecção da genotoxicidade (Cardozo *et al.*, 2006; Vargas *et al.*, 2008).

Segundo o relatório da CETESB de 2006, não foi detectada mutagenicidade na região do Alto Tietê por meio do teste de Ames e no relatório de 2008, o ponto de coleta realizado à jusante da ETE de Suzano também não foi observada mutagenicidade. A ausência de mutagenicidade observada com o teste letal dominante em *B. glabrata* corrobora esse dado e sugere inexistência ou baixas concentrações de compostos mutagênicos presentes na coluna d'água da região.

Apesar da ausência de mutagenicidade em *B. glabrata*, dados positivos obtidos com o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* quanto à toxicidade crônica nas amostras testadas evidenciam a necessidade de maiores investigações na região de estudo (Alegre *et al.*, 2008; Hamada, 2008).

Muitos contaminantes têm a tendência de aderir às partículas de sedimento. Alguns poluentes, como metais pesados e compostos organoclorados, persistem no ambiente associados ao sedimento, podendo ter ação mutagênica, acumular-se em concentrações superiores àquelas encontradas no meio líquido e acarretar efeitos agudos e crônicos para as comunidades que vivem ou entram em contato com o sedimento (Araújo *et al.*, 2006).

Alegre *et al.* (2008) verificaram toxicidade para *C. dubia* em amostras de sedimento integral e elutriato coletadas após a ETE de Suzano.

Além dos ensaios biológicos realizados, a SABESP monitorou no campo e em laboratório as condições físico-químicas dos afluentes e efluentes tratados na ETE de Suzano e nas águas do Rio Tietê por meio dos seguintes parâmetros: temperatura da água e do ar, pH, condutividade, oxigênio dissolvido na água, demanda bioquímica e química de oxigênio (DBO e DQO, respectivamente), nitrogênio e sólidos totais. No IPEN, algumas amostras foram submetidas à análise de carbono orgânico total, que complementa a série de DBO e DQO (ANEXO II, TAB. 43). É importante salientar que o trecho de rio que recebe os efluentes da ETE Suzano é classificado em Classe II segundo a resolução 357 do CONAMA (2005), que prevê a manutenção da vida aquática.

Com relação à temperatura, observou-se baixa variação nas amostras de água do rio, afluentes e efluentes, com valores entre 18°C e 22°C. Esses valores estão adequados para a biodegradação de matéria nos corpos de água (entre 10°C a 30°C). O pH apresentou comportamento semelhante, variando entre 7,12 a 7,27 nas amostras de água do rio e 7,35 a 8,18 nos efluentes. O controle do pH em efluentes é recomendado, bem como seu ajuste, quando necessário, pois se trata de uma variável ambiental importante. A grande maioria dos organismos vivos necessita de pH na faixa da neutralidade (6 a 8) e também o pH ideal para a biodegradação é próximo do neutro (Chasin e Pedrozo, 2004).

Apesar da análise química ser imprescindível na identificação e na quantificação de compostos químicos específicos no ambiente, na maioria das vezes, os esgotos são misturas de compostos orgânicos e inorgânicos, impossibilitando uma análise química completa, e muitos dos compostos não detectados pela técnica analítica são negligenciados (Fent, 2003). A situação piora na medida em que as estações de tratamento projetadas para esgotos domésticos passaram a receber quantidades elevadas de efluentes industriais que, no caso da ETE Suzano, podem representar cerca de 60% da matéria orgânica tratada. Desse modo, métodos empíricos

foram estabelecidos para quantificar a matéria orgânica presente na água ou esgoto que consome oxigênio pela microbiota ao ser degradada por via química ou metabólica, seqüestrando o oxigênio dissolvido das águas (OD). Esses parâmetros são a DQO, DBO e carbono orgânico total (COT). Como a obtenção da DBO leva 5 dias, o ensaio de DQO é um método popular que consiste no consumo de oxigênio por uma solução química (Chasin e Pedrozo, 2004).

No controle de matéria orgânica, foram observadas grandes variações nos valores de DBO tanto à montante quanto à jusante da estação. Por outro lado, no efluente final o valor médio foi de 33 ppm, que representou valores até dez vezes menores quando comparados com os observados nos afluentes da estação, que apresentou valor médio de 354 ppm. Esses resultados mostram a relevância do tratamento na remoção da matéria orgânica.

Do ponto de vista legal, a ETE cumpre a exigência em reduzir 80% da DBO, resultando em valores abaixo do máximo permitido de 60 ppm de oxigênio para que ocorra a biodegradação de matéria orgânica. Segundo o relatório da CETESB de 2008 essa eficiência foi 81%. Mas esses valores ainda ficam acima dos limites permitidos na resolução 357 do CONAMA 357 (2005) para as águas de Classe II, que permite até 5 ppm. Além disso, neste caso a redução de DBO não refletiu nos níveis de oxigênio dissolvido no corpo de água, já que foram observados valores mínimos de OD nas águas do rio, muitas vezes próximos aos limites de detecção das sondas.

Na maior parte dos ambientes aquáticos, as condições aeróbias prevalecem; por esta razão, valores de oxigênio dissolvido (OD) inferiores a 2ppm são incompatíveis com a existência de vida aquática, como foi detectado nas águas do ponto à montante (P1) e para o ponto à jusante (P4). O efluente (P3) apresentou valores de OD entre 2,60 ppm a 3,20 ppm o que não foi suficiente para contribuir com os valores de OD do rio. A presença de oxigênio dissolvido na água é um fator de grande importância para sua qualidade, pois o OD é indispensável para a sobrevivência dos organismos aquáticos e também para a biodegradação da matéria orgânica natural da água (ANEXO II, TAB. 44).

Segundo o Relatório de Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo realizado pela CETESB (2008), o OD e a DBO mostraram um comprometimento de aproximadamente 35% dos recursos hídricos do Estado. A presença desses indicadores em número representativo mostra que, muito embora grande parte dos corpos de água apresentem

capacidade de assimilação das cargas orgânicas, deve-se considerar a questão dos lançamentos de esgotos e efluentes das ETEs por serem capazes de causar efeitos deletérios aos corpos de água, independentemente das substâncias tóxicas lançadas.

Outro fator de extrema importância na avaliação da qualidade das águas é o carbono orgânico total. Esse parâmetro foi analisado para verificar a degradação dos compostos contidos nos efluentes pela transformação do carbono orgânico (CO) em inorgânico (CI). Comparando a presença de carbono orgânico total entre as amostras coletadas em três datas diferentes para os três pontos que representam água do rio, verificou-se que os níveis de carbono orgânico e inorgânico do ponto controle (P0) são significativamente diferentes dos outros dois (P3 e P4). O conteúdo de carbono total nas amostras dos afluentes e efluentes (P2 e P3) também revelaram que o P2 é o pior ponto, refletindo os níveis de toxicidade nas três primeiras campanhas para *B. glabrata* e para os outros organismos (ANEXO II, TAB. 45).

Outro exemplo da relação entre matéria orgânica mensurada e toxicidade pode ser observado quanto aos valores de fenol obtidos nos afluentes, que foram sempre os valores mais críticos, do ponto afluente da estação, em termos de efeitos agudos para todos os organismos testados (com valor médio de 0,344 mg/L), limites acima do máximo permitido no CONAMA 357/2005 (0,003mg/L). A avaliação do composto orgânico fenol é de grande importância nos sistemas biológicos das ETEs, pois em valores muito elevados reduzem a eficiência do tratamento das águas (ANEXO II, TAB. 43).

Foi observada a presença do nitrogênio nas amostras de água do rio à montante da estação (P1). No trecho do rio (P4) após o lançamento do efluente tratado (P3) os valores foram ainda maiores. O lançamento de efluentes contendo nitratos em cursos de água, pode resultar em eutrofização excessiva e acelerada (Fernicola *et al.*, 2004). Esses resultados sugerem que são necessários mais esforços para reduzir o aporte de nitrogênio no sistema hídrico.

Apesar do resultado positivo obtido com os surfactantes aniônicos pela SABESP em uma coleta em maio de 2007, período distinto das coletas deste trabalho, com valores de 0,40ppm no ponto à montante da estação e de 0,47 ppm no ponto à jusante da estação, esses valores foram próximos do máximo permissível pelo CONAMA, que é de 0,50 ppm. Um dos componentes principais dos detergentes, esses compostos tem estreita relação com a

toxicidade, além de ser importante fonte de fósforo para os recursos hídricos. Embora esses compostos estejam representados entre a carga orgânica mensurada, os surfactantes, por si só, são responsáveis por efeitos tóxicos que podem comprometer a biota dos corpos receptores desses efluentes e também podem representar perda de eficiência do sistema de tratamento, pois a grande maioria das bactérias é sensível aos surfactantes em geral (Gutierrez *et al.*, 2002). A presença de surfactantes poderia ser responsável pela toxicidade observada para a bactéria *V. fischeri* em amostras não tóxicas ou pouco tóxicas para *D. similis* e *Biomphalaria*. Mas é importante ressaltar que sua presença vem diminuindo com as iniciativas de controle por parte da SABESP e da CETESB (ANEXO II, TAB. 43).

Além disso, foram evidenciadas a presença de tetracloroeteno, etilbenzeno, m, p-xileno e xilenos remanescente do tratamento biológico da ETE no ponto efluente do rio (P3) em concentrações não desprezíveis, o que pode estar relacionado com a toxicidade encontrada em *V. fischeri* e em *C. dubia* (Hamada *et al.*, 2008). Esses compostos são provenientes das mais variadas indústrias, com aplicações desde solventes de uma variedade de materiais, até nas indústrias de tintas, corantes, vernizes, inseticidas, fármacos, detergentes, plastificantes, produção de resinas, dentre outras (ANEXO II, TAB. 46). Mas, de uma forma geral, a maioria dos compostos orgânicos presentes estavam dentro dos limites permissíveis da resolução 357 do CONAMA (2005).

Após o tratamento dos efluentes, a água retornou ao rio menos turva e com melhor odor, fatores que não indicam a real qualidade da água, mas contribuem no impacto visual, já que a diminuição da transparência afeta negativamente o aspecto estético das águas (Santos *et al.*, 2006).

Quando o efluente tratado é misturado com o rio à jusante, torna-se turva e escura. A presença de materiais em suspensão e a cor das águas podem reduzir significativamente a energia luminosa disponível para a fotossíntese. A turbidez observada nas águas é atribuída principalmente às partículas sólidas em suspensão, como a presença de plâncton, algas, detritos orgânicos, entre outros. Esse fato também foi observado por Naime e Fagundes (2005) nas águas contaminadas do Arroio Portão no Rio Grande do Sul.

6. 1 Considerações finais

Alguns trabalhos já evidenciaram a importância do gênero *Biomphalaria* como bioindicador de agentes químicos (Nahabedian *et al.*, 1998; Nakano *et al.*, 2003; Salice e Miller, 2003; Grisolia *et al.*, 2004; Aisember *et al.*; 2005; Oliveira-Filho *et al.*, 2005; Oliveira-Filho *et al.*, 2006; Estevam *et al.*, 2006; Lanzer *et al.*, 2007; Oliveira-Filho *et al.*, 2007) e físicos (Tallarico *et al.*, 2004; Ruelas *et al.*, 2006; Grazeffe, *et al.*, 2008) para o monitoramento de poluentes ambientais. Mas, estudos mais realistas em *Biomphalaria* com amostras ambientais contendo misturas complexas de substâncias ainda são escassos. No entanto, os resultados positivos obtidos neste trabalho com *B. glabrata* deixam claro que este organismo é um bom modelo experimental para ensaios de toxicidade e mutagenicidade ambiental e podem ser utilizados nos programas oficiais de monitoramento ambiental de águas e efluentes.

A sensibilidade a um determinado poluente químico é, em geral, espécie-específica (Slooff *et al*, 1983; Bernard *et al*, 1996), portanto não é possível selecionar uma espécie como modelo com base na sua alta suscetibilidade, nem prever respostas para uma espécie a partir de resultados obtidos de outra. Ainda, além das diferenças específicas na suscetibilidade, grandes variações entre espécies nos níveis de toxicidade de um poluente podem ser atribuídas a diferenças na metodologia (Sloof *et al*, 1983). Assim, para misturas químicas complexas como as amostras de efluentes, é mais indicado o uso de vários testes.

Neste trabalho, espécies filogeneticamente diferentes foram escolhidas para a composição da bateria de testes para a avaliação dos efeitos biológicos de poluentes químicos presentes no Rio Tietê no entorno na ETE-Suzano. Entre o Reservatório e os pontos do entorno da estação foi evidenciada degradação da qualidade da água, que, por sua vez resultou em efeitos biológicos. Nesse sentido, a necessidade de detectar mais claramente as fontes de contaminação, os efeitos observados para o biota e ações de preservação desse ambiente devem ser propostas, a fim de garantir a melhoria da qualidade dos corpos de água, a disponibilidade de oxigênio para os corpos hídricos, assegurar a ausência de toxicidade e mutagenicidade, e melhorar a autodepuração dos ambientes aquáticos.

A utilização de espécies representativas tem significado ecológico para o ambiente aquático e constituem uma ferramenta necessária para o monitoramento da qualidade das águas e controle de efluentes líquidos, com vistas à proteção da vida aquática.

Apesar do monitoramento contínuo pela SABESP e a realização de pesquisas mostrando evidências da degradação ambiental, resultar em melhoria das condições de afluentes e efluentes das ETEs, ainda é necessário preservar os ambientes por meio do controle das fontes de emissão. Agências reguladoras e de pesquisa precisam trabalhar em conjunto, não somente para ter uma resposta mais realista, mas também para contribuir na busca de soluções tecnológicas e economicamente viáveis para os ecossistemas.

Além disso, uma questão que deve ser discutida com os gestores de recursos hídricos e com a sociedade é uma forma de melhorar ainda mais a eficiência nas ETEs. Os esgotos podem ser tratados em nível terciário, já que o sistema atual implantado (até nível secundário) não é totalmente eficiente na remoção de alguns compostos que são prejudiciais ao ambiente aquático, como o nitrogênio e o fósforo – compostos que contribuem no processo de eutrofização das águas.

7. CONCLUSÕES

A aplicação das novas metodologias – ensaio de toxicidade aguda em adultos e embriões e o teste do letal dominante para a avaliação da mutagenicidade *in vivo* com o molusco *Biomphalaria glabrata,* mostraram que:

- ✓ As respostas de toxicidade aguda para *Biomphalaria* foram similares as de *Daphnia similis*.
- ✓ Não foi observado efeito mutagênico para os moluscos em todas as amostras coletadas.
- ✓ Os ensaios são eficientes na avaliação de amostras de água e podem ser integradas na bateria de testes já validados e empregados para o controle de poluição ambiental.

Com relação à ETE Suzano conclui-se que:

- ✓ O afluente da estação foi o mais tóxico para todos os organismos testados.
- ✓ O efluente não interferiu na qualidade da água do rio, que já se apresentava fortemente impactada.
- ✓ Os pontos à montante e à jusante apresentaram maior toxicidade para *V. fischeri*, não foi muita tóxica para *Daphnia* e não foi tóxica para *Biomphalaria*.
- ✓ A água do afluente, após passar pelo tratamento biológico da estação, diminui a toxicidade, mostrando a eficiência do tratamento empregado pela SABESP.

8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como continuidade do trabalho realizado, será descrito os estádios da espermatogênese por meio do microscópio confocal, para otimizar os cruzamentos pós exposição às amostras ambientais no teste do letal dominante em *B. glabrata*.

Além disso, algumas propostas poderão ser empregadas em estudos de ambientes impactados utilizando o molusco *Biomphalaria glabrata*:

- Análise do sedimento do Rio Tietê em *B. glabrata*, já que muitos contaminantes têm a tendência de aderir às partículas de sedimento;
- Utilização do teste do cometa, padronizado em *B. glabrata* (Grazeffe *et al.*, 2008), para identificação de compostos genotóxicos no ambiente;
- Aplicação de alguns biomarcadores, para detectar efeitos precoces nos organismos expostos, já que os efeitos se manifestam inicialmente em nível bioquímico-celular.

ANEXO I

TABELA 6 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens antes da exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 1 – agosto de 2006. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	158	1	5	109	0	0,00	6	3,80
	2	123	0	1	91	0	0,00	1	0,81
	3	259	1	0	111	0	0,00	1	0,39
	4	215	0	0	75	0	0,00	0	0,00
	5	174	0	0	158	1	0,63	1	0,57
	6	131	0	0	112	0	0,00	0	0,00
	7	173	0	1	105	0	0,00	1	0,58
	8	83	0	1	72	0	0,00	1	1,20
	9	112	0	2	92	1	1,09	3	2,68
	10	196	0	3	109	0	0,00	3	1,53
	11	186	0	1	173	0	0,00	1	0,54
	12	93	0	6	86	0	0,00	6	6,45
	13	132	1	0	125	0	0,00	1	0,76
	14	155	0	1	113	0	0,00	1	0,65
Controle +	**29**	228	0	3	128	0	0,00	3	1,32
	30	172	0	1	104	0	0,00	1	0,58
	31	154	0	0	74	0	0,00	0	0,00
	32	223	0	3	114	0	0,00	3	1,35
	33	83	0	3	64	0	0,00	3	3,61
	34	201	0	9	118	0	0,00	9	4,48
	35	204	0	0	167	0	0,00	0	0,00
	36	173	0	2	109	0	0,00	2	1,16
	37	182	0	4	106	0	0,00	4	2,20
	38	169	0	1	157	0	0,00	1	0,59
Ponto 0	**15**	185	1	3	140	0	0,00	4	2,16
	16	139	0	0	125	0	0,00	0	0,00
	17	145	0	2	102	0	0,00	2	1,38
	18	189	0	0	122	0	0,00	0	0,00
	19	136	0	0	105	1	0,94	1	0,74
	20	174	0	15	121	0	0,00	15	8,62
	21	144	0	1	125	1	0,80	2	1,39
	22	143	0	0	110	0	0,00	0	0,00
	23	110	1	4	79	3	3,80	8	7,27
	24	96	0	1	85	0	0,00	1	1,04
	25	154	0	1	66	0	0,00	1	0,65
	26	131	0	0	122	0	0,00	0	0,00
	27	111	0	2	106	0	0,00	2	1,80
	28	144	0	2	124	1	0,81	3	2,08
Ponto 3	**39**	67	0	0	67	0	0,00	0	0,00
	40	217	0	2	177	5	2,82	7	3,23
	41	227	0	1	111	0	0,00	1	0,44
	42	222	0	1	111	0	0,00	1	0,45
	43	118	0	0	82	0	0,00	0	0,00
	44	231	0	1	124	1	0,81	2	0,87
	45	111	0	2	68	0	0,00	2	1,80
	46	144	1	0	101	1	0,99	2	1,39
	47	155	2	1	107	0	0,00	3	1,94
	48	121	0	3	99	0	0,00	3	2,48
	49	164	1	1	86	0	0,00	2	1,22
	50	231	1	1	124	0	0,00	2	0,87
	51	59	0	2	51	0	0,00	2	3,39
	52	216	0	0	93	0	0,00	0	0,00
	53	125	0	3	81	0	0,00	3	2,40
Ponto 4	**54**	122	0	1	111	0	0,00	1	0,82
	55	178	0	1	120	0	0,00	1	0,56
	56	113	0	0	59	0	0,00	0	0,00
	57	180	0	1	73	0	0,00	1	0,56
	58	226	0	0	151	2	1,32	2	0,88
	59	165	0	0	118	0	0,00	0	0,00
	60	130	0	0	110	0	0,00	0	0,00
	61	141	0	2	88	0	0,00	2	1,42
	62	293	0	2	75	0	0,00	2	0,68
	63	138	2	0	124	0	0,00	2	1,45
	64	167	0	1	113	0	0,00	1	0,60
	65	164	0	1	97	0	0,00	1	0,61
	66	137	1	0	113	1	0,88	2	1,46
	67	155	0	2	118	0	0,00	2	1,29
	68	111	0	0	66	0	0,00	0	0,00

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $3,6x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 7 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 10 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 1 – agosto de 2006. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle +	**1**	170	3	0	167	1	0,60	4	2,35
	2	127	1	1	119	0	0,00	2	1,57
	3	204	0	0	201	2	1,00	2	0,98
	5	145	1	0	59	0	0,00	1	0,69
	6	167	1	3	150	1	0,67	5	2,99
	7	121	0	0	121	1	0,83	1	0,83
	8	71	2	0	69	0	0,00	2	2,82
	9	138	2	2	122	4	3,28	8	5,80
	10	125	0	0	125	0	0,00	0	0,00
	11	138	1	0	125	1	0,80	2	1,45
	12	181	0	0	179	5	2,79	5	2,76
	13	162	3	0	157	2	1,27	5	3,09
	14	164	1	0	137	0	0,00	1	0,61
Controle -	**30**	138	20	63	48	19	39,58	102	73,91
	33	207	10	116	81	34	41,98	160	77,29
	34	117	15	78	16	5	31,25	98	83,76
	35	145	13	66	62	14	22,58	93	64,14
	38	174	77	75	21	11	52,38	163	93,68
Ponto 0	**16**	163	0	1	162	9	5,56	10	6,13
	17	140	0	1	138	6	4,35	7	5,00
	18	112	0	0	105	1	0,95	1	0,89
	19	190	1	2	186	1	0,54	4	2,11
	20	131	0	1	128	2	1,56	3	2,29
	21	158	0	3	134	1	0,75	4	2,53
	22	131	0	0	131	1	0,76	1	0,76
	23	105	0	2	103	10	9,71	12	11,43
	26	140	1	4	72	0	0,00	5	3,57
	27	158	0	0	158	2	1,27	2	1,27
	28	142	0	3	128	1	0,78	4	2,82
Ponto 3	**45**	206	0	1	205	0	0,00	1	0,49
	46	134	0	1	133	0	0,00	1	0,75
	50	235	0	1	125	0	0,00	1	0,43
	51	104	2	2	62	0	0,00	4	3,85
	53	101	0	1	57	0	0,00	1	0,99
Ponto 4	**54**	187	4	11	127	1	2,22	16	8,56
	55	226	0	2	180	1	0,56	3	1,33
	56	55	0	0	51	0	0,00	0	0,00
	57	128	2	0	56	2	3,57	4	3,13
	58	144	0	0	80	0	0,00	0	0,00
	59	157	1	0	120	1	0,83	2	1,27
	60	81	0	0	64	2	3,13	2	2,47
	61	127	1	1	62	0	0,00	2	1,57
	63	139	1	0	136	1	0,74	2	1,44
	65	172	0	2	164	11	6,71	13	7,56
	66	162	1	2	151	0	0,00	3	1,85
	68	199	0	3	175	2	1,14	5	2,51

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $3,6x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 8 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 17 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 1 – agosto de 2006. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle +	**1**	74	0	1	71	0	0,00	1	1,35
	2	179	0	1	152	2	1,32	3	1,68
	6	128	0	3	121	1	0,83	4	3,13
	8	140	0	1	118	0	0,00	1	0,71
	9	68	0	3	55	0	0,00	3	4,41
	10	198	0	1	151	3	1,99	4	2,02
	12	178	0	1	170	0	0,00	1	0,56
	14	115	0	0	63	2	3,17	2	1,74
Controle -	**30**	108	0	6	100	12	12,00	18	16,67
	33	170	0	46	111	49	44,14	95	55,88
	34	99	2	25	55	9	16,36	36	36,36
	35	182	1	4	164	26	15,85	31	17,03
	38	156	1	27	116	25	21,55	53	33,97
Ponto 0	**15**	132	0	1	108	0	0,00	1	0,76
	16	84	0	1	63	1	1,59	2	2,38
	19	106	0	2	92	2	2,17	4	3,77
	20	139	2	1	118	1	0,85	4	2,88
	21	150	1	1	137	3	2,19	5	3,33
	22	177	0	1	159	1	0,63	2	1,13
	24	96	0	2	85	0	0,00	2	2,08
	28	172	1	4	145	3	2,07	8	4,65
Ponto 3	**40**	171	0	5	146	8	5,48	13	7,60
	41	120	0	2	74	3	4,05	5	4,17
	46	170	0	1	96	0	0,00	1	0,59
	53	244	0	0	180	0	0,00	0	0,00
Ponto 4	**54**	155	2	4	106	0	0,00	6	3,87
	56	130	0	0	109	0	0,00	0	0,00
	57	181	0	2	161	6	3,82	8	4,42
	61	130	0	0	106	0	0,00	0	0,00
	66	261	0	1	93	1	1,08	2	0,77
	67	93	0	1	50	0	0,00	1	1,08
	68	120	1	2	100	5	4,76	8	6,67

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $3,6x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 9 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 24 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 1 – agosto de 2006. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle +	**5**	204	0	1	124	0	0,00	1	0,49
	6	136	0	0	114	0	0,00	0	0,00
	8	174	0	6	122	0	0,00	6	3,45
	10	131	0	0	128	3	2,34	3	2,29
	11	109	1	1	76	0	0,00	2	1,83
	12	144	0	2	139	2	1,44	4	2,78
	13	119	0	1	73	0	0,00	1	0,84
	14	144	0	1	107	0	0,00	1	0,69
Controle -	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ponto 0	**16**	81	0	6	53	2	3,77	8	9,88
	19	92	0	1	67	0	0,00	1	1,09
	22	152	0	5	132	0	0,00	5	3,29
	24	131	1	1	68	0	0,00	2	1,53
Ponto 3	**42**	247	0	3	198	1	0,51	4	1,62
	45	151	1	0	108	0	0,00	1	0,66
	46	107	0	3	77	2	2,60	5	4,67
	53	146	0	0	112	1	0,89	1	0,68
Ponto 4	**56**	241	0	1	90	2	2,22	3	1,24
	58	242	2	3	133	0	0,00	5	2,07
	60	197	0	1	161	4	2,48	5	2,54
	61	175	0	2	140	0	0,00	2	1,14
	62	169	0	0	113	0	0,00	0	0,00
	66	130	0	1	125	5	4,00	6	4,62

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $3,6x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 10 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 31 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 1 – agosto de 2006. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle +	**3**	112	0	0	106	0	0,00	0	0,00
	9	128	0	1	105	0	0,00	1	0,78
	10	67	0	1	54	0	0,00	1	1,49
	11	164	0	1	157	0	0,00	1	0,61
	12	135	1	0	107	0	0,00	1	0,74
Controle -	**34**	166	0	6	75	2	2,67	8	4,82
	38	88	0	1	64	0	0,00	1	1,14
Ponto 0	**16**	149	0	0	134	1	0,75	1	0,67
	24	86	0	1	58	2	3,45	3	3,49
	26	63	0	0	50	0	0,00	0	0,00
	28	121	0	4	106	0	0,00	4	3,31
Ponto 3	**45**	218	1	2	108	0	0,00	3	1,38
Ponto 4	**56**	65	0	0	60	0	0,00	0	0,00
	59	76	0	0	55	0	0,00	0	0,00
	60	168	0	0	136	0	0,00	0	0,00
	62	122	0	0	77	0	0,00	0	0,00
	66	82	0	1	64	1	1,56	2	2,44

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $3,6x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 11 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 38 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 1 – agosto de 2006. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**2**	122	0	1	101	0	0,00	1	0,82
	5	100	0	2	58	0	0,00	2	2,00
	6	111	0	0	101	0	0,00	0	0,00
	10	152	2	1	107	0	0,00	3	1,97
	11	115	0	0	109	0	0,00	0	0,00
	12	183	0	3	59	0	0,00	3	1,64
	13	127	0	0	100	0	0,00	0	0,00
Controle +	**38**	206	1	2	109	0	0,00	3	1,46
Ponto 0	**16**	143	0	1	53	0	0,00	1	0,70
	26	123	0	0	103	0	0,00	0	0,00
	28	151	0	1	68	0	0,00	1	0,66
Ponto 3	**43**	74	0	0	58	0	0,00	0	0,00
	45	113	0	4	108	0	0,00	4	3,54
	46	147	0	1	98	3	2,97	4	2,72
	50	164	0	0	106	0	0,00	0	0,00
		498	0	5	370	3	0,80	8	1,61
Ponto 4	**54**	107	0	1	69	0	0,00	1	0,93
	61	198	0	2	123	6	4,65	8	4,04

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $3,6x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 12 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 45 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 1 – agosto de 2006. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**5**	110	2	0	51	0	0,00	2	1,82
	9	144	0	0	101	0	0,00	0	0,00
	10	79	0	2	66	0	0,00	2	2,53
	13	114	1	2	107	0	0,00	3	2,63
Controle +	**36**	136	0	0	117	0	0,00	0	0,00
Ponto 0	**17**	136	0	1	112	0	0,00	1	0,74
	18	185	0	5	99	8	8,08	13	7,03
	19	138	0	0	120	2	1,67	2	1,45
	21	114	0	2	12	3	2,68	5	4,39
	23	127	0	10	90	9	10,00	19	14,96
Ponto 3	**40**	134	0	1	90	0	0,00	1	0,75
	41	122	0	0	120	1	0,83	1	0,82
	42	145	0	1	58	1	1,72	2	1,38
	53	103	0	0	59	0	0,00	0	0,00
Ponto 4	**56**	129	0	4	109	2	1,83	6	4,65
	58	155	0	1	132	0	0,00	1	0,65
	59	163	0	2	145	1	0,69	3	1,84
	60	119	0	5	102	8	7,84	13	10,92
	61	122	1	4	85	0	0,00	5	4,10
	63	192	0	1	92	0	0,00	1	0,52
	68	150	0	3	99	0	0,00	3	2,00

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $3,6x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 13 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 52 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 1 – agosto de 2006. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**2**	79	0	0	74	0	0,00	0	0,00
	6	59	0	0	56	0	0,00	0	0,00
	8	60	0	0	57	0	0,00	0	0,00
	9	109	0	4	102	0	0,00	4	3,67
	10	155	0	1	150	0	0,00	1	0,65
	11	89	1	1	62	1	1,59	3	3,37
	12	112	0	3	80	2	2,44	5	4,46
	13	86	0	2	69	1	1,43	3	3,49
Controle +	**38**	135	2	0	70	0	0,00	2	1,48
Ponto 0	**16**	171	0	1	114	0	0,00	1	0,58
	19	183	0	2	140	1	0,71	3	1,64
	28	108	0	8	55	1	1,79	9	8,33
Ponto 3	**39**	144	0	0	127	0	0,00	0	0,00
	46	154	0	6	106	1	0,93	7	4,55
		298	0	6	233	1	0,43	7	2,35
Ponto 4	**54**	142	0	1	123	0	0,00	1	0,70
	59	118	1	0	102	0	0,00	1	0,85
	60	150	0	0	133	0	0,00	0	0,00
	63	107	0	1	88	0	0,00	1	0,93

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $3,6x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 14 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 59 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 1 – agosto de 2006. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**2**	73	0	0	72	0	0,00	0	0,00
	5	105	0	3	64	0	0,00	3	2,86
	8	82	0	0	55	0	0,00	0	0,00
	12	127	1	2	112	0	0,00	3	2,36
Controle +	**30**	100	0	3	85	0	0,00	3	3,00
	35	99	0	1	60	0	0,00	1	1,01
	38	207	0	1	123	0	0,00	1	0,48
Ponto 0	**18**	119	0	4	104	0	0,00	4	3,36
	19	69	0	1	58	1	1,69	2	2,90
	21	129	0	1	117	1	0,85	2	1,55
	28	68	0	0	64	0	0,00	0	0,00
Ponto 3	**42**	126	0	1	61	0	0,00	1	0,79
Ponto 4	**63**	119	0	0	105	0	0,00	0	0,00

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $3,6x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 15 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens antes da exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 2 – fevereiro de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	1	117	0	0	101	0	0,00	0	0,00
	2	173	0	6	105	0	0,00	6	3,47
	3	176	0	11	113	2	1,77	13	7,39
	4	266	0	7	121	0	0,00	7	2,63
	5	195	0	1	134	0	0,00	1	0,51
	6	194	0	5	110	0	0,00	5	2,58
	7	165	0	1	150	0	0,00	1	0,61
	8	163	0	12	118	0	0,00	12	7,36
	9	127	0	4	112	1	0,89	5	3,94
	10	223	0	1	112	0	0,00	1	0,45
	11	124	0	1	111	2	1,80	3	2,42
	12	232	0	1	196	0	0,00	1	0,43
	13	106	0	1	100	0	0,00	1	0,94
	14	125	0	2	114	0	0,00	2	1,60
	15	184	0	1	106	0	0,00	1	0,54
Controle +	91	109	1	2	81	0	0,00	3	2,75
	92	180	0	1	157	0	0,00	1	0,56
	93	165	1	2	133	1	0,75	4	2,42
	94	177	0	1	149	1	0,67	2	1,13
	95	149	0	3	117	0	0,00	3	2,01
	96	180	0	0	149	0	0,00	0	0,00
	97	115	1	0	91	0	0,00	1	0,87
	98	156	1	0	93	0	0,00	1	0,64
	99	143	0	0	97	0	0,00	0	0,00
	100	145	0	1	99	0	0,00	1	0,69
Ponto 0	16	129	0	2	101	0	0,00	2	1,55
	17	265	0	2	120	0	0,00	2	0,75
	18	188	0	4	143	1	0,70	5	2,66
	19	176	0	0	102	0	0,00	0	0,00
	20	261	0	2	107	0	0,00	2	0,77
	21	200	0	1	132	0	0,00	1	0,50
	22	330	0	1	155	0	0,00	1	0,30
	23	147	0	17	124	0	0,00	17	11,56
	24	180	0	1	106	0	0,00	1	0,56
	25	190	0	3	133	0	0,00	3	1,58
	26	203	1	3	110	0	0,00	4	1,97
	27	171	0	2	102	0	0,00	2	1,17
	28	223	0	2	147	2	1,36	4	1,79
	29	163	0	4	105	0	0,00	4	2,45
	30	152	0	5	130	0	0,00	5	3,29
Ponto 2 - 25%	46	107	0	1	102	0	0,00	1	0,93
	47	140	0	1	116	0	0,00	1	0,71
	48	148	0	2	101	0	0,00	2	1,35
	49	160	0	8	132	0	0,00	8	5,00
	50	200	0	5	101	0	0,00	5	2,50
	51	142	0	2	101	0	0,00	2	1,41
	52	192	0	2	130	0	0,00	2	1,04
	53	202	0	1	105	0	0,00	1	0,50
	54	180	0	3	171	0	0,00	3	1,67
	55	92	0	2	87	0	0,00	2	2,17
	56	106	0	3	86	0	0,00	3	2,83
	57	142	0	2	85	0	0,00	2	1,41
	58	101	0	1	83	0	0,00	1	0,99
	59	104	0	0	89	0	0,00	0	0,00
	60	97	0	8	85	0	0,00	8	8,25

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 15 (continuação) – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens antes da exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 2 – fevereiro de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Ponto 2 - 50%	31	169	0	0	136	0	0,00	0	0,00
	32	182	0	0	122	1	0,82	1	0,55
	33	252	0	0	121	0	0,00	0	0,00
	34	151	0	2	146	0	0,00	2	1,32
	35	203	0	0	152	0	0,00	0	0,00
	36	183	0	0	120	0	0,00	0	0,00
	37	129	0	0	127	0	0,00	0	0,00
	38	154	0	2	128	2	1,56	4	2,60
	39	128	0	4	109	0	0,00	4	3,13
	40	272	0	5	145	0	0,00	5	1,84
	41	162	0	3	136	0	0,00	3	1,85
	42	148	0	6	119	1	0,84	7	4,73
	43	189	0	4	161	0	0,00	4	2,12
	44	268	0	0	141	0	0,00	0	0,00
	45	237	0	1	158	0	0,00	1	0,42
Ponto 3	61	169	0	2	147	0	0,00	2	1,18
	62	163	2	0	128	0	0,00	2	1,23
	63	108	0	0	102	0	0,00	0	0,00
	64	145	0	2	142	0	0,00	2	1,38
	65	221	0	7	163	1	0,61	8	3,62
	66	115	1	0	111	0	0,00	1	0,87
	67	170	0	0	147	0	0,00	0	0,00
	68	143	0	4	123	0	0,00	4	2,80
	69	185	0	1	129	0	0,00	1	0,54
	70	121	0	7	108	0	0,00	7	5,79
	71	100	0	0	100	0	0,00	0	0,00
	72	153	1	7	124	0	0,00	8	5,23
	73	199	0	1	155	0	0,00	1	0,50
	74	149	0	2	130	0	0,00	2	1,34
	75	159	0	0	137	0	0,00	0	0,00
Ponto 4	76	168	0	0	146	0	0,00	0	0,00
	77	128	0	2	112	0	0,00	2	1,56
	78	147	0	3	107	0	0,00	3	2,04
	79	147	0	1	109	0	0,00	1	0,68
	80	127	0	3	117	0	0,00	3	2,36
	81	148	0	2	117	0	0,00	2	1,35
	82	109	0	0	105	0	0,00	0	0,00
	83	192	0	1	155	0	0,00	1	0,52
	84	160	0	4	116	0	0,00	4	2,50
	85	166	0	1	141	0	0,00	1	0,60
	86	133	0	4	92	1	1,09	5	3,76
	87	95	0	0	90	0	0,00	0	0,00
	88	106	0	1	97	0	0,00	1	0,94
	89	95	0	1	94	1	1,06	2	2,11
	90	107	0	2	93	1	1,08	3	2,80

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 16 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 10 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 2 – fevereiro de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	207	1	2	185	0	0,00	3	1,45
	2	277	0	8	201	0	0,00	8	2,89
	3	190	0	1	130	0	0,00	1	0,53
	7	170	0	2	153	1	0,65	3	1,76
	8	98	0	3	62	1	1,59	4	4,08
	9	150	0	1	118	0	0,00	1	0,67
	11	212	0	2	147	1	0,68	3	1,42
	12	226	2	1	190	0	0,00	3	1,33
	15	215	0	4	156	4	2,50	8	3,72
Controle +	**92**	285	0	36	105	15	12,50	51	17,89
	94	134	0	10	86	19	18,10	29	21,64
	97	194	0	68	96	25	20,66	93	47,94
	100	258	0	72	108	53	32,92	125	48,45
Ponto 0	**16**	268	0	5	172	3	1,71	8	2,99
	17	228	0	5	159	0	0,00	5	2,19
	18	177	0	3	122	0	0,00	3	1,69
	22	239	0	1	110	1	0,90	2	0,84
	23	92	0	6	65	1	1,52	7	7,61
	24	248	0	4	207	0	0,00	4	1,61
	25	191	0	2	161	3	1,83	5	2,62
	26	189	0	4	128	6	4,48	10	5,29
	27	110	0	0	80	0	0,00	0	0,00
	29	160	0	0	115	1	0,86	1	0,63
Ponto 2 - 25%	**48**	290	0	2	110	1	0,90	3	1,03
	50	139	0	2	111	0	0,00	2	1,44
	51	136	0	1	107	1	0,93	2	1,47
	53	235	0	2	167	0	0,00	2	0,85
	54	189	0	2	153	0	0,00	2	1,06
	59	267	0	7	188	8	4,08	15	5,62
	60	238	0	2	126	0	0,00	2	0,84
Ponto 2 - 50%	**33**	148	0	0	101	0	0,00	0	0,00
	36	147	0	3	76	1	1,30	4	2,72
	37	168	0	2	106	0	0,00	2	1,19
	42	241	0	1	208	0	0,00	1	0,41
	45	218	1	3	142	1	0,70	5	2,29
Ponto 3	**61**	178	0	6	149	0	0,00	6	3,37
	64	202	0	2	136	0	0,00	2	0,99
	65	280	1	4	192	1	0,52	6	2,14
	66	167	0	0	132	0	0,00	0	0,00
	68	137	0	3	108	1	0,92	4	2,92
	70	215	0	4	169	4	2,31	8	3,72
	71	274	0	4	212	2	0,93	6	2,19
	72	210	0	1	129	1	0,77	2	0,95
	73	228	1	6	127	0	0,00	7	3,07
	74	159	0	2	140	1	0,71	3	1,89
	75	134	0	1	123	5	3,91	6	4,48
Ponto 4	**76**	166	0	1	158	1	0,63	2	1,20
	77	155	0	0	150	2	1,32	2	1,29
	78	181	0	0	152	2	1,30	2	1,10
	79	156	0	3	85	1	1,16	4	2,56
	81	201	0	5	174	1	0,57	6	2,99
	82	163	0	1	123	0	0,00	1	0,61
	83	160	12	12	108	2	1,82	26	16,25
	84	157	0	2	115	10	8,00	12	7,64
	86	192	0	1	172	2	1,15	3	1,56
	88	325	1	1	120	0	0,00	2	0,62
	89	150	0	6	110	3	2,65	9	6,00

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 17 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 17 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 2 – fevereiro de 2007. Dados individuais.

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	60	0	0	57	1	1,72	1	1,67
	2	130	16	8	74	0	0,00	24	18,46
	3	146	0	1	103	0	0,00	1	0,68
	4	161	0	0	142	1	0,70	1	0,62
	5	149	0	0	104	0	0,00	0	0,00
	7	77	0	1	66	0	0,00	1	1,30
	8	61	0	0	52	0	0,00	0	0,00
	11	162	0	0	114	3	2,56	3	1,85
	12	134	0	1	111	0	0,00	1	0,75
	13	64	0	1	58	1	1,69	2	3,13
	15	141	0	3	123	4	3,15	7	4,96
Controle +	**96**	234	0	2	160	11	6,43	13	5,56
	100	172	0	0	65	0	0,00	0	0,00
Ponto 0	**16**	137	0	4	82	0	0,00	4	2,92
	18	180	0	18	139	6	4,14	24	13,33
	19	115	0	0	109	0	0,00	0	0,00
	20	72	1	4	59	0	0,00	5	6,94
	23	220	0	1	213	1	0,47	2	0,91
	25	155	0	0	115	0	0,00	0	0,00
	27	164	0	2	133	1	0,75	3	1,83
	29	196	0	2	117	0	0,00	2	1,02
Ponto 2 - 25%	**50**	175	0	1	117	0	0,00	1	0,57
	51	175	0	0	123	1	0,81	1	0,57
	53	128	0	3	107	0	0,00	3	2,34
	54	84	0	1	69	0	0,00	1	1,19
	57	256	0	7	136	1	0,73	8	3,13
	60	155	1	7	104	0	0,00	8	5,16
Ponto 2 - 50%	**35**	137	0	0	127	3	2,31	3	2,19
	37	86	0	1	80	0	0,00	1	1,16
	39	90	0	2	87	0	0,00	2	2,22
	40	176	1	2	122	4	3,17	7	3,98
	42	94	0	0	90	2	2,17	2	2,13
	43	125	1	1	101	0	0,00	2	1,60
Ponto 3	**64**	180	0	1	168	1	0,59	2	1,11
	66	226	0	4	156	0	0,00	4	1,77
	67	149	0	0	118	2	1,67	2	1,34
	68	86	0	1	63	0	0,00	1	1,16
	69	141	0	0	100	2	1,96	2	1,42
	70	201	0	4	104	0	0,00	4	1,99
	71	137	0	3	82	0	0,00	3	2,19
	72	118	0	7	55	1	1,79	8	6,78
	75	125	0	3	106	2	1,85	5	4,00
Ponto 4	**76**	148	0	20	105	8	7,08	28	18,92
	77	176	0	5	113	1	0,88	6	3,41
	78	206	0	3	103	0	0,00	3	1,46
	82	134	0	0	81	1	1,22	1	0,75
	83	103	0	0	79	1	1,25	1	0,97
	84	168	0	4	95	3	3,06	7	4,17
	88	154	0	10	111	3	2,63	13	8,44

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 18 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 24 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 2 – fevereiro de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens Total	Embriões selvagens Malf. Selv.	% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
Controle -	**1**	114	0	0	112	1	0,88	1	0,88
	2	146	0	0	124	0	0,00	0	0,00
	3	108	0	0	108	0	0,00	0	0,00
	4	84	1	1	71	0	0,00	2	2,38
	5	123	0	3	98	0	0,00	3	2,44
	7	156	0	1	142	0	0,00	1	0,64
	8	136	0	2	116	0	0,00	2	1,47
	9	123	0	2	102	0	0,00	2	1,63
	11	182	0	26	95	5	5,00	31	17,03
	12	134	0	0	105	4	3,67	4	2,99
	13	125	0	1	105	0	0,00	1	0,80
	15	172	0	2	118	0	0,00	2	1,16
Controle +	**91**	149	0	2	58	0	0,00	2	1,34
Ponto 0	**16**	117	0	6	90	1	1,10	7	5,98
	17	146	0	11	101	3	2,88	14	9,59
	19	144	0	6	73	0	0,00	6	4,17
	20	134	0	1	91	1	1,09	2	1,49
	22	112	0	0	72	0	0,00	0	0,00
	23	155	0	0	118	0	0,00	0	0,00
	25	193	0	9	132	0	0,00	9	4,66
	26	220	0	2	137	0	0,00	2	0,91
	29	212	0	1	125	0	0,00	1	0,47
	30	76	0	0	52	0	0,00	0	0,00
Ponto 2 - 25%	**47**	107	0	3	62	2	3,13	5	4,67
	50	145	0	2	106	0	0,00	2	1,38
	53	101	0	2	55	0	0,00	2	1,98
	55	213	0	1	51	1	1,92	2	0,94
	60	169	0	6	123	0	0,00	6	3,55
Ponto 2 - 50%	**35**	156	0	3	69	1	1,43	4	2,56
	39	155	0	1	114	0	0,00	1	0,65
	42	124	0	3	102	0	0,00	3	2,42
	43	163	0	2	119	0	0,00	2	1,23
	45	169	0	3	73	0	0,00	3	1,78
Ponto 3	**61**	116	0	4	88	0	0,00	4	3,45
	63	206	0	2	122	0	0,00	2	0,97
	64	195	0	2	102	0	0,00	2	1,03
	65	159	0	0	120	0	0,00	0	0,00
	66	116	0	4	90	0	0,00	4	3,45
	69	146	0	0	116	0	0,00	0	0,00
	70	192	0	0	135	1	0,74	1	0,52
	73	216	0	6	105	2	1,87	8	3,70
	75	133	0	1	93	0	0,00	1	0,75
Ponto 4	**76**	137	0	4	103	0	0,00	4	2,92
	77	99	0	4	58	2	3,33	6	6,06
	78	170	0	1	102	0	0,00	1	0,59
	90	174	0	1	136	0	0,00	1	0,57

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 19 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 31 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 2 – fevereiro de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	120	1	1	102	0	0,00	2	1,67
	2	118	0	0	80	0	0,00	0	0,00
	5	159	0	1	114	1	0,87	2	1,26
	7	86	0	0	58	0	0,00	0	0,00
	8	180	0	0	151	1	0,66	1	0,56
	12	118	0	3	75	3	3,85	6	5,08
	15	123	0	1	91	1	1,09	2	1,63
Controle +	**94**	132	1	2	51	0	0,00	3	2,27
	97	169	0	1	99	1	1,00	2	1,18
	100	128	1	0	73	0	0,00	1	0,78
Ponto 0	**22**	109	1	2	95	0	0,00	3	2,75
	23	135	0	1	130	0	0,00	1	0,74
	24	122	0	1	52	0	0,00	1	0,82
	25	209	0	6	116	1	0,85	7	3,35
	26	138	0	1	51	0	0,00	1	0,72
	27	197	0	3	85	0	0,00	3	1,52
Ponto 2 - 25%	**47**	161	0	2	78	0	0,00	2	1,24
	51	182	0	2	120	0	0,00	2	1,10
	54	119	0	0	56	0	0,00	0	0,00
Ponto 2 - 50%	**39**	113	0	1	84	0	0,00	1	0,88
	42	162	0	0	112	0	0,00	0	0,00
Ponto 3	**63**	147	0	1	76	0	0,00	1	0,68
	64	128	0	3	60	0	0,00	3	2,34
	65	126	1	2	65	0	0,00	3	2,38
	68	219	0	3	102	0	0,00	3	1,37
Ponto 4	**78**	75	0	1	50	0	0,00	1	1,33
	84	147	0	0	57	4	6,56	4	2,72
	90	99	1	3	51	0	0,00	4	4,04

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 20 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 38 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 2 – fevereiro de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens Total	Embriões selvagens Malf. Selv.	% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
Controle -	**1**	168	0	1	119	0	0,00	1	0,60
	7	309	1	1	100	0	0,00	2	0,65
	11	112	0	2	83	1	1,19	3	2,68
	12	165	1	1	128	0	0,00	2	1,21
Controle +	91	109	0	2	52	0	0,00	2	1,83
	94	338	1	4	64	0	0,00	5	1,48
	98	259	0	3	118	0	0,00	3	1,16
Ponto 0	**16**	166	0	2	100	1	0,99	3	1,81
	24	105	0	2	93	0	0,00	2	1,90
Ponto 2 - 25%	**49**	73	1	1	61	0	0,00	2	2,74
	50	86	0	0	79	0	0,00	0	0,00
	51	125	0	1	79	0	0,00	1	0,80
	59	323	0	1	87	0	0,00	1	0,31
Ponto 2 - 50%	**37**	170	0	0	104	0	0,00	0	0,00
	42	125	1	1	102	1	0,97	3	2,40
	44	135	0	0	100	0	0,00	0	0,00
	45	164	0	5	99	3	2,94	8	4,88
Ponto 3	**61**	147	0	0	119	0	0,00	0	0,00
	64	125	0	0	61	0	0,00	0	0,00
	65	129	0	0	113	0	0,00	0	0,00
	75	239	0	2	109	0	0,00	2	0,84
Ponto 4	**78**	205	1	1	57	0	0,00	2	0,98
	83	222	0	1	83	0	0,00	1	0,45

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 21 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 45 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 2 – fevereiro de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**3**	143	0	1	100	0	0,00	1	0,70
	5	93	0	2	52	1	1,89	3	3,23
	7	205	0	18	109	1	0,91	19	9,27
	11	222	0	7	111	1	0,89	8	3,60
	13	155	0	1	106	0	0,00	1	0,65
	15	154	0	0	117	1	0,85	1	0,65
Controle +	**100**	199	0	11	58	0	0,00	11	5,53
Ponto 0	**17**	172	0	0	77	0	0,00	0	0,00
	20	168	0	2	101	0	0,00	2	1,19
	21	106	0	5	54	0	0,00	5	4,72
	26	207	0	2	54	0	0,00	2	0,97
Ponto 2 - 25%	**53**	244	0	2	127	0	0,00	2	0,82
	54	145	0	2	102	0	0,00	2	1,38
Ponto 2 - 50%	**43**	139	0	8	63	0	0,00	8	5,76
Ponto 3	**68**	139	1	3	100	0	0,00	4	2,88
	69	140	0	3	102	0	0,00	3	2,14
	70	125	0	7	74	1	1,33	8	6,40
	73	104	0	0	54	1	1,82	1	0,96
	74	238	0	0	76	0	0,00	0	0,00
Ponto 4	**82**	151	0	1	121	0	0,00	1	0,66
	83	152	0	7	107	0	0,00	7	4,61
	90	162	0	1	108	1	0,92	2	1,23

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 22 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 52 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 2 – fevereiro de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	100	0	0	66	0	0,00	0	0,00
	2	172	0	1	100	0	0,00	1	0,58
	4	116	0	4	80	0	0,00	4	3,45
	8	178	0	3	130	0	0,00	3	1,69
Controle +	**96**	161	0	0	55	0	0,00	0	0,00
	100	120	1	1	104	0	0,00	2	1,67
Ponto 0	**17**	168	1	1	106	0	0,00	2	1,19
	20	130	0	0	102	0	0,00	0	0,00
	22	204	0	1	152	0	0,00	1	0,49
	24	130	0	13	68	1	1,45	14	10,77
	25	75	0	0	53	0	0,00	0	0,00
	26	99	0	0	74	0	0,00	0	0,00
	27	73	0	1	53	0	0,00	1	1,37
Ponto 2 - 25%	**49**	126	0	0	52	0	0,00	0	0,00
	53	172	0	0	125	0	0,00	0	0,00
	54	197	0	2	141	1	0,70	3	1,52
	57	156	0	1	108	0	0,00	1	0,64
Ponto 2 - 50%	**37**	173	0	11	102	1	0,97	12	6,94
	40	103	0	0	52	0	0,00	0	0,00
	42	127	0	0	54	1	1,82	1	0,79
	43	109	1	0	101	0	0,00	1	0,92
	45	122	0	1	66	2	2,94	3	2,46
Ponto 3	**61**	104	0	3	49	11	18,33	14	13,46
	68	241	0	2	142	0	0,00	2	0,83
	69	176	0	2	138	0	0,00	2	1,14
	72	112	0	0	66	1	1,49	1	0,89
	73	122	0	1	65	1	1,52	2	1,64
	74	131	0	0	52	0	0,00	0	0,00
Ponto 4	**77**	171	0	7	80	0	0,00	7	4,09
	79	220	0	12	101	2	1,94	14	6,36

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 23 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 59 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 2 – fevereiro de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens Total	Embriões selvagens Malf. Selv.	% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
Controle -	**1**	112	0	3	57	0	0,00	3	2,68
	3	157	0	2	101	2	1,94	4	2,55
	7	157	0	1	59	0	0,00	1	0,64
	12	143	0	0	77	1	1,28	1	0,70
	15	262	0	19	106	3	2,75	22	8,40
Controle +	**100**	175	0	1	51	0	0,00	1	0,57
Ponto 0	**16**	243	0	0	101	0	0,00	0	0,00
	17	187	0	4	102	0	0,00	4	2,14
	23	152	0	0	106	0	0,00	0	0,00
Ponto 2 - 25%	**54**	62	0	1	51	0	0,00	1	1,61
Ponto 2 - 50%	**34**	165	2	2	102	0	0,00	4	2,42
	37	240	0	1	76	0	0,00	1	0,42
	42	216	0	0	101	0	0,00	0	0,00
	43	212	0	2	105	0	0,00	2	0,94
Ponto 3	**61**	118	0	3	89	0	0,00	3	2,54
Ponto 4	**90**	177	0	36	53	1	1,85	37	20,90

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 24 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens antes da exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 3 – agosto de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	1	172	0	1	130	0	0,00	1	0,58
	2	170	0	0	123	0	0,00	0	0,00
	3	193	0	1	170	0	0,00	1	0,52
	4	149	0	1	144	0	0,00	1	0,67
	5	163	0	4	103	1	0,96	5	3,07
	6	205	0	2	181	3	1,63	5	2,44
	7	137	1	7	104	1	0,95	9	6,57
	8	205	0	1	80	0	0,00	1	0,49
	9	170	0	5	86	0	0,00	5	2,94
	10	93	0	0	89	0	0,00	0	0,00
	11	76	1	0	65	0	0,00	1	1,32
Controle +	67	126	0	0	110	4	3,51	4	3,17
	68	146	0	0	120	1	0,83	1	0,68
	69	115	0	0	112	0	0,00	0	0,00
	70	170	0	1	133	0	0,00	1	0,59
	71	170	0	2	105	0	0,00	2	1,18
	72	128	0	6	99	1	1,00	7	5,47
	73	183	0	2	102	0	0,00	2	1,09
Ponto 0	12	160	0	4	139	1	0,71	5	3,13
	13	329	0	13	170	0	0,00	13	3,95
	14	114	0	0	109	0	0,00	0	0,00
	15	112	0	1	103	0	0,00	1	0,89
	16	150	0	1	108	1	0,92	2	1,33
	17	150	0	5	119	0	0,00	5	3,33
	18	107	0	0	104	0	0,00	0	0,00
	19	106	0	2	97	0	0,00	2	1,89
	20	149	0	2	81	0	0,00	2	1,34
	21	101	0	6	77	0	0,00	6	5,94
	22	72	0	0	64	0	0,00	0	0,00
Ponto 2 - 1%	45	150	0	3	106	0	0,00	3	2,00
	46	128	0	0	121	0	0,00	6	4,69
	47	161	0	5	117	3	2,50	4	2,48
	48	150	1	1	116	1	0,85	3	2,00
	49	176	0	0	160	1	0,62	4	2,27
	50	134	0	6	117	0	0,00	1	0,75
	51	290	1	5	91	0	0,00	0	0,00
	52	220	2	0	80	0	0,00	0	0,00
	53	120	0	1	80	0	0,00	1	0,83
	54	166	0	3	75	1	1,32	3	1,81
	55	168	0	2	75	0	0,00	0	0,00

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 24 (continuação) – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens antes da exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 3 – agosto de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Ponto 2 - 5%	56	177	0	5	143	1	0,69	6	3,39
	57	158	0	0	114	0	0,00	0	0,00
	58	155	0	0	140	1	0,71	1	0,65
	59	156	0	2	118	0	0,00	2	1,28
	60	167	0	2	159	0	0,00	2	1,20
	61	172	0	2	137	1	0,72	3	1,74
	62	124	0	5	86	1	1,15	6	4,84
	63	195	0	4	92	0	0,00	4	2,05
	64	146	0	1	89	2	2,20	3	2,05
	65	138	0	3	77	1	1,28	4	2,90
	66	120	0	1	71	0	0,00	1	0,83
Ponto 3	23	168	0	0	116	0	0,00	0	0,00
	24	181	0	1	130	0	0,00	1	0,55
	25	220	2	1	107	0	0,00	3	1,36
	26	163	0	0	120	0	0,00	0	0,00
	27	216	0	1	101	0	0,00	1	0,46
	28	196	0	0	130	1	0,76	1	0,51
	29	128	0	0	100	0	0,00	0	0,00
	30	103	0	1	98	0	0,00	1	0,97
	31	166	0	5	86	1	1,15	6	3,61
	32	97	0	1	67	0	0,00	1	1,03
	33	260	1	4	75	0	0,00	5	1,92
Ponto 4	34	133	0	2	115	0	0,00	2	1,50
	35	204	0	3	107	0	0,00	3	1,47
	36	178	0	1	154	0	0,00	1	0,56
	37	212	0	4	101	0	0,00	4	1,89
	38	193	0	2	147	0	0,00	2	1,04
	39	83	0	0	73	2	2,67	2	2,41
	40	122	0	0	114	0	0,00	0	0,00
	41	200	0	1	96	1	1,03	2	1,00
	42	106	0	2	81	0	0,00	2	1,89
	43	196	0	2	95	0	0,00	2	1,02
	44	142	0	6	62	0	0,00	6	4,23

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 25 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 10 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 3 – agosto de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**2**	238	1	0	158	0	0,00	1	0,42
	4	161	0	1	138	2	1,43	3	1,86
	5	226	1	5	103	2	1,90	8	3,54
	6	168	2	15	96	4	4,00	21	12,50
	8	225	0	0	107	0	0,00	0	0,00
	9	293	1	4	128	5	3,76	10	3,41
	11	213	0	2	140	1	0,71	3	1,41
Controle +	**67**	432	7	65	124	22	15,07	94	21,76
	68	267	5	33	136	13	8,72	51	19,10
	70	392	45	159	51	19	27,14	223	56,89
Ponto 0	**12**	166	2	1	117	2	1,68	5	3,01
	13	242	1	2	101	0	0,00	3	1,24
	14	124	0	1	102	1	0,97	2	1,61
	15	253	0	3	199	3	1,49	6	2,37
	16	270	3	0	260	1	0,38	4	1,48
	18	219	2	9	164	7	4,09	18	8,22
	19	220	2	0	205	0	0,00	2	0,91
	20	305	1	6	124	1	0,80	8	2,62
	22	264	0	2	238	1	0,42	3	1,14
Ponto 2 - 1%	**46**	206	0	1	182	0	0,00	1	0,49
	48	231	0	2	58	0	0,00	2	0,87
	49	284	0	1	128	0	0,00	1	0,35
	53	370	1	0	158	0	0,00	1	0,27
	54	387	0	2	104	4	3,70	6	1,55
Ponto 2 - 5%	**57**	131	0	0	51	0	0,00	0	0,00
	58	98	17	1	61	0	0,00	18	18,37
	60	256	0	2	224	1	0,44	3	1,17
	61	252	1	2	146	0	0,00	3	1,19
	62	158	3	2	130	0	0,00	5	3,16
	64	317	0	4	140	1	0,71	5	1,58
	65	245	2	0	71	1	1,39	3	1,22
	66	333	1	0	137	2	1,44	3	0,90
Ponto 3	**23**	266	0	2	186	0	0,00	2	0,75
	24	228	1	1	151	1	0,66	3	1,32
	25	255	2	2	135	0	0,00	4	1,57
	26	201	1	0	54	0	0,00	1	0,50
	27	183	0	1	79	0	0,00	1	0,55
	28	254	0	12	179	1	0,56	13	5,12
	29	157	1	0	116	0	0,00	1	0,64
Ponto 4	**34**	286	1	3	177	0	0,00	4	1,40
	35	269	0	0	103	1	0,96	1	0,37
	37	358	3	2	106	3	2,75	8	2,23
	38	295	1	6	106	0	0,00	7	2,37
	41	153	0	0	63	0	0,00	0	0,00
	42	235	1	2	155	1	0,64	4	1,70
	43	282	0	4	117	0	0,00	4	1,42
	44	212	0	3	101	0	0,00	3	1,42

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado.

TABELA 26 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 17 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 3 – agosto de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	146	1	0	100	0	0,00	1	0,68
	2	127	1	0	102	1	0,97	2	1,57
	3	186	1	4	162	2	1,22	7	3,76
	4	117	0	1	100	0	0,00	1	0,85
	5	208	1	0	117	1	0,85	2	0,96
	6	177	2	0	101	0	0,00	2	1,13
	7	158	0	1	107	1	0,93	2	1,27
	9	204	0	0	119	0	0,00	0	0,00
Controle +	**67**	182	1	0	102	0	0,00	1	0,55
	70	234	3	3	125	6	4,58	12	5,13
	73	206	1	3	115	2	1,71	6	2,91
Ponto 0	**13**	233	0	1	204	1	0,49	2	0,86
	14	299	1	4	270	6	2,17	11	3,68
	15	195	3	2	131	0	0,00	5	2,56
	16	184	2	1	123	1	0,81	4	2,17
	17	191	1	2	126	3	2,33	6	3,14
	18	211	0	0	120	0	0,00	0	0,00
	19	202	0	13	118	1	0,84	14	6,93
	21	202	4	5	176	2	1,12	11	5,45
	22	137	1	1	128	0	0,00	2	1,46
Ponto 2 - 1%	**46**	229	0	0	121	1	0,82	1	0,44
	48	147	0	2	122	1	0,81	3	2,04
	49	277	1	1	257	0	0,00	2	0,72
	53	287	3	0	139	0	0,00	3	1,05
	54	356	2	8	104	2	1,89	12	3,37
Ponto 2 - 5%	**56**	236	2	2	108	0	0,00	4	1,69
	57	367	2	4	107	1	0,93	7	1,91
	58	293	1	0	152	0	0,00	1	0,34
	59	201	0	3	101	0	0,00	3	1,49
	60	261	1	0	106	0	0,00	1	0,38
	61	235	0	0	70	2	2,78	2	0,85
	63	282	1	0	114	1	0,87	2	0,71
	64	174	0	1	113	2	1,74	3	1,72
	65	278	2	6	148	1	0,67	9	3,24
	66	393	14	12	106	2	1,85	28	7,12
Ponto 3	**23**	167	2	2	126	0	0,00	4	2,40
	24	423	1	14	100	2	1,96	17	4,02
	25	237	4	0	104	2	1,89	6	2,53
	26	189	0	1	107	0	0,00	1	0,53
	27	338	2	4	164	1	0,61	7	2,07
	29	327	2	4	103	0	0,00	6	1,83
	33	183	0	1	102	0	0,00	1	0,55
Ponto 4	**35**	352	1	0	107	5	4,46	6	1,70
	38	288	1	0	186	3	1,59	4	1,39
	41	289	2	0	140	2	1,41	4	1,38
	42	270	1	1	202	1	0,49	3	1,11
	43	218	4	3	167	3	1,76	10	4,59

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 27 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 24 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 3 – agosto de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	130	0	1	107	0	0,00	1	0,77
	3	154	1	5	119	2	1,65	8	5,19
	4	145	1	1	98	0	0,00	2	1,38
	8	286	1	3	101	0	0,00	4	1,40
	9	239	0	1	173	0	0,00	1	0,42
Controle +	**67**	183	0	0	142	0	0,00	0	0,00
	68	116	1	1	107	1	0,93	3	2,59
	71	305	4	2	248	2	0,80	8	2,62
	73	171	3	0	115	0	0,00	3	1,75
Ponto 0	**14**	213	0	0	141	1	0,70	1	0,47
	15	180	1	1	156	2	1,27	4	2,22
	16	312	1	0	284	1	0,35	2	0,64
	18	169	1	0	114	0	0,00	1	0,59
	19	159	0	0	115	0	0,00	0	0,00
	21	160	0	1	137	0	0,00	1	0,63
	22	296	4	0	259	1	0,38	5	1,69
Ponto 2 - 1%	**46**	228	0	0	201	1	0,50	1	0,44
	48	205	0	0	136	2	1,45	2	0,98
	49	162	1	0	126	2	1,56	3	1,85
	53	239	1	1	108	2	1,82	4	1,67
	54	266	1	1	109	1	0,91	3	1,13
	55	252	1	0	129	0	0,00	1	0,40
Ponto 2 - 5%	**56**	146	0	0	100	0	0,00	0	0,00
	58	170	0	1	135	3	2,17	4	2,35
	59	136	1	0	126	1	0,79	2	1,47
	60	145	1	0	107	1	0,93	2	1,38
	61	200	3	6	125	1	0,79	10	5,00
	62	197	0	6	138	1	0,72	7	3,55
	63	232	5	3	102	3	2,86	11	4,74
	65	159	0	0	151	0	0,00	0	0,00
	66	396	4	11	132	4	2,94	19	4,80
Ponto 3	**23**	191	0	9	157	0	0,00	9	4,71
	25	251	1	0	110	0	0,00	1	0,40
	26	374	2	6	222	0	0,00	8	2,14
	27	268	0	1	127	1	0,78	2	0,75
	28	368	2	3	234	8	3,31	13	3,53
	29	278	3	9	106	2	1,85	14	5,04
Ponto 4	**36**	287	1	0	121	0	0,00	1	0,35
	37	294	3	1	126	0	0,00	4	1,36
	38	145	1	4	97	5	4,90	10	6,90
	41	364	4	3	141	0	0,00	7	1,92
	42	160	1	1	130	2	1,52	4	2,50
	43	143	0	3	112	10	8,20	13	9,09
	44	184	1	0	105	1	0,94	2	1,09

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 28 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 31 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 3 – agosto de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	176	1	1	119	0	0,00	2	1,14
	8	238	1	0	110	2	1,79	3	1,26
	9	202	1	1	157	0	0,00	2	0,99
Controle +	**67**	166	0	4	126	1	0,79	5	3,01
	68	123	1	0	111	5	4,31	6	4,88
	69	282	0	0	156	0	0,00	0	0,00
	70	247	0	2	158	3	1,86	5	2,02
	71	150	2	0	123	0	0,00	2	1,33
	73	208	1	1	165	0	0,00	2	0,96
Ponto 0	**13**	272	0	1	160	3	1,84	4	1,47
	16	134	0	0	123	0	0,00	0	0,00
	18	205	3	0	142	1	0,70	4	1,95
	19	149	1	1	125	2	1,57	4	2,68
	21	146	0	0	139	1	0,71	1	0,68
	22	203	0	0	134	2	1,47	2	0,99
Ponto 2 - 1%	**48**	148	0	1	141	2	1,40	3	2,03
	49	181	2	2	53	0	0,00	4	2,21
	53	294	1	1	103	3	2,83	5	1,70
	54	230	1	1	112	0	0,00	2	0,87
	55	209	2	2	109	0	0,00	4	1,91
Ponto 2 - 5%	**56**	216	0	0	127	0	0,00	0	0,00
	58	225	1	7	133	0	0,00	8	3,56
	59	157	3	0	127	2	1,55	5	3,18
	60	221	2	0	133	1	0,75	3	1,36
	62	198	1	0	166	1	0,60	2	1,01
	63	316	5	4	117	9	7,14	18	5,70
	65	383	2	2	101	0	0,00	4	1,04
	66	283	1	1	124	0	0,00	2	0,71
Ponto 3	**24**	164	0	1	129	0	0,00	1	0,61
	25	274	2	3	100	1	0,99	6	2,19
	27	328	1	0	109	0	0,00	1	0,30
	28	113	0	0	86	10	10,42	10	8,85
	29	198	1	0	142	0	0,00	1	0,51
Ponto 4	**35**	140	1	0	58	0	0,00	1	0,71
	36	115	1	0	83	1	1,19	2	1,74
	41	266	1	4	120	0	0,00	5	1,88
	42	218	0	1	158	0	0,00	1	0,46
	43	226	2	4	197	0	0,00	6	2,65

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 29 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 38 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 3 – agosto de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	135	1	2	124	2	1,59	5	3,70
	3	141	4	1	114	1	0,87	6	4,26
	5	248	2	0	126	0	0,00	2	0,81
	7	189	2	5	101	6	5,61	13	6,88
	8	216	2	5	107	2	1,83	9	4,17
Controle +	**67**	178	0	1	120	2	1,64	3	1,69
	68	179	0	4	115	9	7,26	13	7,26
	69	215	0	1	101	0	0,00	1	0,47
	70	169	0	0	149	0	0,00	0	0,00
	71	135	1	0	117	5	4,10	6	4,44
	73	128	0	0	80	1	1,23	1	0,78
Ponto 0	**13**	320	2	2	249	0	0,00	4	1,25
	14	173	0	0	69	3	4,17	3	1,73
	15	174	0	7	159	2	1,24	9	5,17
	16	172	4	1	148	2	1,33	7	4,07
	18	155	3	4	121	4	3,20	11	7,10
	19	169	0	0	105	1	0,94	1	0,59
	21	124	0	1	114	3	2,56	4	3,23
	22	160	1	1	123	0	0,00	2	1,25
Ponto 2 - 1%	**46**	113	1	0	100	1	0,99	2	1,77
	47	274	3	2	110	0	0,00	5	1,82
	48	106	0	0	78	0	0,00	0	0,00
Ponto 2 - 5%	**56**	157	0	0	122	2	1,61	2	1,27
	57	168	2	0	97	3	3,00	5	2,98
	59	157	0	0	125	2	1,57	2	1,27
	60	175	0	1	151	2	1,31	3	1,71
	61	193	0	5	111	1	0,89	6	3,11
	63	253	2	2	143	0	0,00	4	1,58
	66	224	1	0	106	0	0,00	1	0,45
Ponto 3	**23**	204	1	2	176	1	0,56	4	1,96
	25	242	1	1	78	1	1,27	3	1,24
	27	215	0	0	101	0	0,00	0	0,00
Ponto 4	**36**	77	1	0	73	0	0,00	1	1,30
	38	151	0	0	131	0	0,00	0	0,00
	41	95	2	0	63	0	0,00	2	2,11
	42	148	0	0	137	1	0,72	1	0,68
	44	116	1	0	103	0	0,00	1	0,86

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 30 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 45 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 3 – agosto de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	124	0	0	100	0	0,00	0	0,00
	3	224	0	1	110	0	0,00	1	0,45
	4	136	2	1	101	0	0,00	3	2,21
	8	162	0	0	104	0	0,00	0	0,00
Controle +	**67**	168	0	0	125	4	3,10	4	2,38
	68	145	1	0	105	1	0,94	2	1,38
	69	76	0	1	54	0	0,00	1	1,32
Ponto 0	**14**	67	0	2	52	0	0,00	2	2,99
	15	110	1	0	106	0	0,00	1	0,91
	16	219	1	0	108	1	0,92	2	0,91
	18	193	0	0	106	0	0,00	0	0,00
	19	77	1	0	66	0	0,00	1	1,30
	22	180	0	1	147	4	2,65	5	2,78
Ponto 2 - 1%	**48**	182	0	4	103	2	1,90	6	3,30
	54	316	3	1	139	0	0,00	4	1,27
	55	181	0	1	104	0	0,00	1	0,55
Ponto 2 - 5%	**56**	135	2	1	101	0	0,00	3	2,22
	59	71	2	0	66	0	0,00	2	2,82
	60	87	1	0	54	0	0,00	1	1,15
	63	261	2	0	121	0	0,00	2	0,77
	66	301	1	2	119	3	2,46	6	1,99
Ponto 3	**23**	139	2	1	120	0	0,00	3	2,16
	24	124	1	1	96	5	4,95	7	5,65
	25	106	0	3	60	0	0,00	3	2,83
	27	176	2	0	100	1	0,99	3	1,70
	29	145	0	3	105	1	0,94	4	2,76
Ponto 4	**36**	169	44	46	57	0	0,00	90	53,25
	38	135	3	0	105	0	0,00	3	2,22
	42	142	0	0	108	2	1,82	2	1,41
	44	199	1	9	107	0	0,00	10	5,03

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 31 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 52 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 3 – agosto de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	126	1	0	79	2	2,47	3	2,38
	4	119	0	0	104	0	0,00	0	0,00
	8	80	0	0	52	0	0,00	0	0,00
	9	55	0	0	54	1	1,82	1	1,82
Controle +	**67**	144	0	0	136	0	0,00	0	0,00
	68	217	1	4	192	2	1,03	7	3,23
	71	122	0	2	101	0	0,00	2	1,64
	73	221	2	0	178	4	2,20	6	2,71
Ponto 0	**18**	185	0	3	145	1	0,68	4	2,16
	19	112	0	0	100	0	0,00	0	0,00
	22	118	1	1	83	0	0,00	2	1,69
Ponto 2 - 1%	**46**	77	1	0	64	3	4,48	4	5,19
	48	182	1	1	116	2	1,69	4	2,20
	49	170	5	2	121	0	0,00	7	4,12
	55	213	1	3	102	0	0,00	4	1,88
Ponto 2 - 5%	**58**	130	0	0	127	0	0,00	0	0,00
	59	182	1	0	140	0	0,00	1	0,55
	60	211	2	1	117	0	0,00	3	1,42
	61	189	2	0	125	0	0,00	2	1,06
	66	306	0	1	136	1	0,73	2	0,65
Ponto 3	**24**	170	0	0	138	2	1,43	2	1,18
	27	236	0	0	127	0	0,00	0	0,00
	29	178	3	2	107	1	0,93	6	3,37
Ponto 4	**35**	230	1	0	99	1	1,00	2	0,87
	36	150	1	3	102	0	0,00	4	2,67
	41	245	1	1	120	0	0,00	2	0,82
	44	134	0	0	90	0	0,00	0	0,00

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 32 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 59 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 3 – agosto de 2007. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	186	0	0	158	3	1,86	3	1,61
	4	171	2	0	150	0	0,00	2	1,17
	5	211	0	7	116	2	1,69	9	4,27
	9	129	0	2	103	0	0,00	2	1,55
Controle +	**67**	126	0	0	104	0	0,00	0	0,00
	68	193	1	0	155	0	0,00	1	0,52
	70	149	2	0	103	0	0,00	2	1,34
	73	179	0	2	155	2	1,27	4	2,23
Ponto 2 - 1%	**46**	128	1	0	114	0	0,00	1	0,78
	49	123	0	0	112	0	0,00	0	0,00
	55	242	1	0	101	0	0,00	1	0,41
Ponto 2 - 5%	**56**	90	2	9	56	0	0,00	11	12,22
	58	67	0	3	60	0	0,00	3	4,48
	59	158	0	1	123	0	0,00	1	0,63
	60	160	0	1	119	0	0,00	1	0,63
	62	232	0	1	106	0	0,00	1	0,43
	66	143	1	0	103	0	0,00	1	0,70
Ponto 0	**14**	168	2	0	127	0	0,00	2	1,19
	15	172	1	0	158	0	0,00	1	0,58
	16	182	0	0	165	0	0,00	0	0,00
	18	250	0	2	215	0	0,00	2	0,80
	19	80	0	1	74	0	0,00	1	1,25
	21	214	0	0	175	2	1,13	2	0,93
Ponto 3	**23**	144	0	3	120	0	0,00	3	2,08
	27	215	1	3	101	0	0,00	4	1,86
	29	216	0	0	163	0	0,00	0	0,00
Ponto 4	**36**	105	1	0	99	1	1,00	2	1,90
	38	249	0	0	125	0	0,00	0	0,00
	41	211	2	0	105	1	0,94	3	1,42
	42	169	0	0	101	0	0,00	0	0,00

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 33 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens antes da exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 4 – março de 2008. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	140	0	2	121	0	0,00	2	1,43
	2	109	0	0	103	0	0,00	0	0,00
	3	134	0	1	126	0	0,00	1	0,75
	4	110	0	1	105	0	0,00	1	0,91
	5	128	0	2	112	0	0,00	2	1,56
	6	122	0	1	118	0	0,00	1	0,82
	7	112	0	0	102	0	0,00	0	0,00
	8	93	0	1	90	0	0,00	1	1,08
	9	126	0	1	122	0	0,00	1	0,79
	10	99	0	0	99	0	0,00	0	0,00
	11	115	0	1	114	0	0,00	1	0,87
Controle +	**56**	90	0	0	86	0	0,00	0	0,00
	57	154	0	0	141	0	0,00	0	0,00
	58	129	0	0	122	0	0,00	0	0,00
	59	147	0	3	137	1	0,72	4	2,72
	60	115	0	0	112	0	0,00	0	0,00
	61	128	0	2	122	1	0,81	3	2,34
	62	158	0	2	153	1	0,65	3	1,90
Ponto 0	**12**	116	0	0	105	0	0,00	0	0,00
	13	160	0	0	132	0	0,00	0	0,00
	14	143	0	1	127	0	0,00	1	0,70
	15	158	0	1	140	0	0,00	1	0,63
	16	137	0	0	131	0	0,00	0	0,00
	17	124	0	2	111	0	0,00	2	1,61
	18	139	0	0	118	0	0,00	0	0,00
	19	136	0	0	132	0	0,00	0	0,00
	20	94	0	0	94	0	0,00	0	0,00
	21	124	0	0	116	0	0,00	0	0,00
	22	105	0	1	101	0	0,00	1	0,95

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 33 (continuação) – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens antes da exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 4 – março de 2008. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Ponto 2	23	171	0	0	159	0	0,00	0	0,00
	24	184	0	4	169	0	0,00	4	2,17
	25	140	0	3	122	0	0,00	3	2,14
	26	126	0	0	124	0	0,00	0	0,00
	27	81	0	0	81	0	0,00	0	0,00
	28	153	0	0	147	0	0,00	0	0,00
	29	122	0	0	111	0	0,00	0	0,00
	30	140	0	0	134	0	0,00	0	0,00
	31	131	0	1	124	0	0,00	1	0,76
	32	167	0	1	161	0	0,00	1	0,60
	33	105	0	1	104	0	0,00	1	0,95
Ponto 3	34	135	0	7	120	0	0,00	7	5,19
	35	114	0	0	107	0	0,00	0	0,00
	36	131	0	1	128	0	0,00	1	0,76
	37	95	0	1	93	0	0,00	1	1,05
	38	111	0	0	111	0	0,00	0	0,00
	39	99	0	0	96	0	0,00	0	0,00
	40	94	0	0	94	0	0,00	0	0,00
	41	117	0	2	114	0	0,00	2	1,71
	42	121	0	0	120	0	0,00	0	0,00
	43	98	0	0	94	0	0,00	0	0,00
	44	123	0	0	123	0	0,00	0	0,00
Ponto 4	45	101	0	0	94	0	0,00	0	0,00
	46	126	0	3	106	0	0,00	3	2,38
	47	166	0	2	141	0	0,00	2	1,20
	48	104	0	1	100	0	0,00	1	0,96
	49	114	0	1	109	0	0,00	1	0,88
	50	130	0	0	129	0	0,00	0	0,00
	51	164	0	2	132	0	0,00	2	1,22
	52	131	1	2	124	2	1,59	5	3,82
	53	117	0	0	117	0	0,00	0	0,00
	54	106	0	0	98	0	0,00	0	0,00
	55	120	0	1	111	0	0,00	1	0,83

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 34 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 10 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 4 – março de 2008. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	153	0	0	153	0	0,00	0	0,00
	2	163	0	2	160	0	0,00	2	1,23
	3	161	0	0	160	1	0,62	1	0,62
	5	194	0	0	190	1	0,52	1	0,52
	6	265	0	1	225	1	0,44	2	0,75
	8	137	0	0	137	0	0,00	0	0,00
	9	190	1	2	187	0	0,00	3	1,58
	10	160	0	0	152	1	0,65	1	0,63
	11	160	0	7	149	1	0,67	8	5,00
Controle +	**56**	196	0	27	121	18	12,95	45	22,96
	58	55	0	7	21	14	40,00	21	38,18
	59	202	0	32	117	49	29,52	81	40,10
	60	183	1	50	101	28	21,71	79	43,17
	61	191	0	34	123	33	21,15	67	35,08
Ponto 0	**13**	150	0	1	146	1	0,68	2	1,33
	14	202	0	1	192	2	1,03	3	1,49
	15	118	0	2	51	0	0,00	2	1,69
	16	170	0	0	147	0	0,00	0	0,00
	17	149	0	0	124	0	0,00	0	0,00
	18	161	0	1	140	0	0,00	1	0,62
	20	199	0	2	179	1	0,56	3	1,51
	21	183	0	1	181	0	0,00	1	0,55
	22	119	0	5	112	0	0,00	5	4,20
Ponto 2	**23**	174	0	1	169	2	1,17	3	1,72
	24	187	1	0	185	1	0,54	2	1,07
	25	409	2	7	136	1	0,73	10	2,44
	26	242	0	3	221	3	1,34	6	2,48
	27	189	0	7	157	1	0,63	8	4,23
	28	133	0	1	125	4	3,10	5	3,76
	29	220	0	3	209	8	3,69	11	5,00
	30	274	3	2	264	5	1,86	10	3,65
	31	160	1	3	155	1	0,64	5	3,13
	33	185	0	0	182	0	0,00	0	0,00
Ponto 3	**34**	238	1	3	193	0	0,00	4	1,68
	36	146	0	2	143	1	0,69	3	2,05
	37	209	0	2	203	4	1,93	6	2,87
	38	134	0	2	115	2	1,71	4	2,99
	39	199	0	0	193	0	0,00	0	0,00
	41	163	0	0	158	1	0,63	1	0,61
	42	240	1	1	213	0	0,00	2	0,83
	43	224	1	0	217	0	0,00	1	0,45
	44	165	0	0	164	1	0,61	1	0,61
Ponto 4	**45**	184	0	0	184	0	0,00	0	0,00
	46	191	0	1	189	1	0,53	2	1,05
	47	135	0	0	106	0	0,00	0	0,00
	48	190	0	2	163	7	4,12	9	4,74
	50	242	0	1	241	0	0,00	1	0,41
	51	227	0	3	220	2	0,90	5	2,20
	53	153	0	1	124	1	0,80	2	1,31

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 35 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 17 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 4 – março de 2008. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	205	0	2	201	1	0,50	3	1,46
	2	174	0	1	162	3	1,82	4	2,30
	3	141	0	0	136	0	0,00	0	0,00
	4	190	0	4	121	2	1,63	6	3,16
	5	180	0	2	178	0	0,00	2	1,11
	6	173	0	1	164	0	0,00	1	0,58
	8	150	0	0	101	0	0,00	0	0,00
	9	161	0	1	160	0	0,00	1	0,62
	10	125	0	0	122	0	0,00	0	0,00
	11	219	0	0	219	0	0,00	0	0,00
Controle +	**56**	162	0	6	147	6	3,92	12	7,41
	57	217	0	5	203	7	3,33	12	5,53
	58	229	0	8	196	6	2,97	14	6,11
	59	180	0	1	111	3	2,63	4	2,22
	60	271	0	7	214	4	1,83	11	4,06
	61	144	1	2	133	5	3,62	8	5,56
Ponto 0	**12**	208	0	2	201	0	0,00	2	0,96
	13	202	0	1	201	0	0,00	1	0,50
	14	219	0	3	176	0	0,00	3	1,37
	15	264	0	1	205	0	0,00	1	0,38
	16	232	0	1	213	0	0,00	1	0,43
	17	160	0	2	152	0	0,00	2	1,25
	18	207	0	5	185	1	0,54	6	2,90
	19	187	0	0	187	0	0,00	0	0,00
	20	184	0	0	176	2	1,12	2	1,09
	21	214	0	2	207	1	0,48	3	1,40
	22	158	1	1	156	0	0,00	2	1,27
Ponto 2	**23**	208	0	0	204	0	0,00	0	0,00
	24	127	0	4	96	5	4,95	9	7,09
	25	207	1	0	198	1	0,50	2	0,97
	26	222	0	3	218	1	0,46	4	1,80
	27	173	0	2	169	1	0,59	3	1,73
	28	162	0	4	156	0	0,00	4	2,47
	29	216	0	3	207	3	1,43	6	2,78
	30	139	0	0	137	0	0,00	0	0,00
	31	209	0	2	206	0	0,00	2	0,96
	32	239	0	1	182	0	0,00	1	0,42
	33	148	0	1	146	1	0,68	2	1,35
Ponto 3	**34**	112	0	0	100	0	0,00	0	0,00
	35	171	0	0	171	0	0,00	0	0,00
	36	146	0	2	133	0	0,00	2	1,37
	37	125	0	0	122	0	0,00	0	0,00
	38	239	0	1	215	0	0,00	1	0,42
	39	214	0	1	207	0	0,00	1	0,47
	41	187	0	3	155	0	0,00	3	1,60
	43	254	0	12	138	3	2,13	15	5,91
Ponto 4	**46**	256	0	0	175	0	0,00	0	0,00
	47	107	0	0	107	0	0,00	0	0,00
	48	234	0	1	232	1	0,43	2	0,85
	50	218	1	1	215	0	0,00	2	0,92
	52	231	0	5	121	0	0,00	5	2,16
	53	195	0	2	190	1	0,52	3	1,54
	54	126	0	7	115	4	3,36	11	8,73
	55	187	0	4	120	0	0,00	4	2,14

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 36 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 24 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 4 – março de 2008. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	180	0	0	170	4	2,30	4	2,22
	2	100	1	0	81	0	0,00	1	1,00
	3	138	1	3	133	1	0,75	5	3,62
	6	87	0	0	86	0	0,00	0	0,00
	8	190	0	1	167	2	1,18	3	1,58
	9	164	0	2	160	1	0,62	3	1,83
	11	182	0	0	173	2	1,14	2	1,10
Controle +	**56**	119	0	1	107	0	0,00	1	0,84
	57	134	0	0	118	2	1,67	2	1,49
	59	233	0	3	117	0	0,00	3	1,29
	60	184	0	3	151	6	3,82	9	4,89
	61	186	0	3	143	2	1,38	5	2,69
	62	204	1	3	196	2	1,01	6	2,94
Ponto 0	**12**	134	0	2	121	0	0,00	2	1,49
	13	283	0	7	100	1	0,99	8	2,83
	14	156	0	1	146	0	0,00	1	0,64
	15	161	0	2	158	1	0,63	3	1,86
	16	230	0	0	224	2	0,88	2	0,87
	17	162	0	2	127	0	0,00	2	1,23
	18	172	0	2	169	1	0,59	3	1,74
	19	132	0	1	127	1	0,78	2	1,52
	20	193	1	1	164	1	0,61	3	1,55
	21	173	0	3	155	0	0,00	3	1,73
	22	158	0	3	150	3	1,96	6	3,80
Ponto 2	**23**	151	0	1	133	2	1,48	3	1,99
	26	210	0	2	131	1	0,76	3	1,43
	27	107	0	0	105	2	1,87	2	1,87
	28	150	0	2	143	2	1,38	4	2,67
	29	147	0	0	143	1	0,69	1	0,68
	31	188	0	3	164	0	0,00	3	1,60
	32	134	0	0	109	0	0,00	0	0,00
	33	127	21	0	68	0	0,00	21	16,54
Ponto 3	**35**	166	0	0	140	0	0,00	0	0,00
	38	56	0	1	51	0	0,00	1	1,79
	40	89	0	3	59	0	0,00	3	3,37
	41	167	0	0	166	0	0,00	0	0,00
	42	124	0	0	121	0	0,00	0	0,00
	43	182	0	1	181	0	0,00	1	0,55
Ponto 4	**45**	299	0	2	102	0	0,00	2	0,67
	47	111	0	0	108	0	0,00	0	0,00
	48	64	0	4	55	0	0,00	4	6,25
	50	120	0	13	99	3	2,94	16	13,33
	51	136	0	1	130	0	0,00	1	0,74
	52	197	0	1	147	3	2,00	4	2,03
	53	114	0	1	111	0	0,00	1	0,88
	54	158	0	1	131	0	0,00	1	0,63

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 37 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 31 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 4 – março de 2008. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	168	0	4	158	2	1,25	6	3,57
	2	138	0	1	123	2	1,60	3	2,17
	5	176	1	1	174	0	0,00	2	1,14
	6	166	1	0	148	0	0,00	1	0,60
	8	152	0	2	135	0	0,00	2	1,32
	9	148	1	2	145	0	0,00	3	2,03
	10	150	0	1	134	0	0,00	1	0,67
	11	161	1	1	158	0	0,00	2	1,24
Controle +	**56**	174	0	2	151	1	0,66	3	1,72
	59	96	0	2	89	2	2,20	4	4,17
	60	139	0	0	129	0	0,00	0	0,00
	61	175	0	23	127	6	4,51	29	16,57
	62	178	0	14	104	1	0,95	15	8,43
Ponto 0	**12**	180	1	6	163	2	1,21	9	5,00
	14	175	0	1	174	0	0,00	1	0,57
	15	128	0	0	117	0	0,00	0	0,00
	16	174	0	0	137	0	0,00	0	0,00
	17	136	0	0	134	0	0,00	0	0,00
	18	245	0	0	215	1	0,46	1	0,41
	19	250	0	0	156	0	0,00	0	0,00
	20	229	0	3	200	1	0,50	4	1,75
	21	127	0	0	125	0	0,00	0	0,00
	22	216	0	3	183	0	0,00	3	1,39
Ponto 2	**23**	60	0	0	57	0	0,00	0	0,00
	24	153	0	1	122	0	0,00	1	0,65
	25	176	0	3	160	0	0,00	3	1,70
	26	94	0	0	83	0	0,00	0	0,00
	27	156	0	0	156	0	0,00	0	0,00
	28	129	1	8	111	0	0,00	9	6,98
	29	209	0	4	180	2	1,10	6	2,87
	30	132	0	0	117	0	0,00	0	0,00
	31	137	0	0	133	0	0,00	0	0,00
	32	132	0	0	126	0	0,00	0	0,00
Ponto 3	**34**	160	0	0	157	1	0,63	1	0,63
	37	132	0	1	128	0	0,00	1	0,76
	38	206	1	2	201	0	0,00	3	1,46
	39	155	0	3	152	0	0,00	3	1,94
	40	162	0	0	161	0	0,00	0	0,00
	41	128	1	0	122	5	3,94	6	4,69
	42	142	0	1	132	0	0,00	1	0,70
	43	176	0	0	173	1	0,57	1	0,57
	44	112	0	4	51	0	0,00	4	3,57
Ponto 4	**45**	159	0	0	151	0	0,00	0	0,00
	46	118	0	1	117	0	0,00	1	0,85
	47	52	0	0	52	0	0,00	0	0,00
	48	144	0	1	143	0	0,00	1	0,69
	49	158	1	3	108	0	0,00	4	2,53
	50	147	0	1	146	0	0,00	1	0,68
	51	228	1	2	219	1	0,45	4	1,75
	52	137	0	3	128	1	0,78	4	2,92
	54	200	0	2	196	0	0,00	2	1,00
	55	81	0	1	59	0	0,00	1	1,23

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 38 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 38 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 4 – março de 2008. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**2**	61	0	1	51	0	0,00	1	1,64
	4	131	1	2	111	1	0,89	4	3,05
	5	69	0	1	62	2	3,13	3	4,35
	6	123	0	0	64	0	0,00	0	0,00
	8	137	0	2	130	2	1,52	4	2,92
	9	217	0	2	213	0	0,00	2	0,92
	10	162	0	3	157	1	0,63	4	2,47
	11	238	1	2	149	0	0,00	3	1,26
Controle +	**56**	78	0	1	56	0	0,00	1	1,28
	57	141	0	4	104	0	0,00	4	2,84
	58	153	0	3	139	0	0,00	3	1,96
	59	93	0	1	52	0	0,00	1	1,08
	60	95	0	0	81	0	0,00	0	0,00
	61	166	0	2	113	1	0,88	3	1,81
	62	138	0	2	124	1	0,80	3	2,17
Ponto 0	**12**	122	0	1	118	1	0,84	2	1,64
	13	144	0	1	143	0	0,00	1	0,69
	14	181	0	0	173	1	0,57	1	0,55
	15	172	0	1	147	0	0,00	1	0,58
	16	232	0	3	190	1	0,52	4	1,72
	19	219	0	2	140	1	0,71	3	1,37
	20	153	0	1	147	0	0,00	1	0,65
	21	177	0	3	145	0	0,00	3	1,69
	22	96	0	0	69	0	0,00	0	0,00
Ponto 2	**23**	223	1	3	191	2	1,04	6	2,69
	24	104	0	3	99	2	1,98	5	4,81
	25	62	0	2	53	0	0,00	2	3,23
	26	247	0	2	208	0	0,00	2	0,81
	27	160	0	0	127	0	0,00	0	0,00
	28	127	0	2	123	1	0,81	3	2,36
	30	75	0	0	51	0	0,00	0	0,00
	31	220	0	1	186	2	1,06	3	1,36
	32	184	0	2	176	0	0,00	2	1,09
	33	152	0	0	124	0	0,00	0	0,00
Ponto 3	**34**	158	0	2	128	0	0,00	2	1,27
	35	152	0	0	147	0	0,00	0	0,00
	36	294	0	5	205	1	0,49	6	2,04
	37	236	0	1	206	1	0,48	2	0,85
	38	211	0	4	181	0	0,00	4	1,90
	39	67	0	0	65	0	0,00	0	0,00
	40	140	0	0	140	0	0,00	0	0,00
	41	261	0	1	260	0	0,00	1	0,38
	42	221	0	0	195	0	0,00	0	0,00
	43	113	0	4	108	0	0,00	4	3,54
	44	140	0	1	139	0	0,00	1	0,71
Ponto 4	**45**	230	2	1	226	1	0,44	4	1,74
	47	141	0	4	135	0	0,00	4	2,84
	48	156	0	1	155	0	0,00	1	0,64
	49	131	0	1	130	0	0,00	1	0,76
	50	176	0	2	172	0	0,00	2	1,14
	51	169	0	4	160	1	0,62	5	2,96
	52	128	0	0	115	1	0,86	1	0,78
	53	186	0	4	178	3	1,66	7	3,76
	54	52	0	0	52	0	0,00	0	0,00

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 39 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 45 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 4 – março de 2008. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	135	0	1	124	0	0,00	1	0,74
	2	150	0	2	145	0	0,00	2	1,33
	3	150	0	2	145	0	0,00	2	1,33
	4	142	0	2	139	0	0,00	2	1,41
	5	115	1	1	112	1	0,88	3	2,61
	8	174	0	5	166	0	0,00	5	2,87
	9	218	0	4	153	4	2,55	8	3,67
	10	103	0	2	73	0	0,00	2	1,94
	11	186	0	2	181	0	0,00	2	1,08
Controle +	**56**	150	0	1	146	0	0,00	1	0,67
	59	195	4	0	145	0	0,00	4	2,05
	60	65	0	1	57	0	0,00	1	1,54
	61	168	0	3	152	0	0,00	3	1,79
	62	225	0	1	180	0	0,00	1	0,44
Ponto 0	**12**	134	0	1	101	0	0,00	1	0,75
	13	168	0	0	167	1	0,60	1	0,60
	14	199	2	2	187	0	0,00	4	2,01
	15	119	0	0	112	1	0,88	1	0,84
	16	154	0	1	109	0	0,00	1	0,65
	17	156	1	2	148	1	0,67	4	2,56
	18	288	0	8	170	2	1,16	10	3,47
	20	294	0	9	153	0	0,00	9	3,06
	21	197	1	2	193	1	0,52	4	2,03
Ponto 2	**23**	182	0	0	166	0	0,00	0	0,00
	24	154	1	2	131	0	0,00	3	1,95
	25	147	0	2	142	0	0,00	2	1,36
	27	122	0	1	102	0	0,00	1	0,82
	28	114	0	2	112	0	0,00	2	1,75
	29	173	0	1	165	1	0,60	2	1,16
	30	129	0	1	126	1	0,79	2	1,55
	31	287	0	126	125	3	2,34	129	44,95
	32	151	0	0	150	0	0,00	0	0,00
	33	148	0	1	145	0	0,00	1	0,68
Ponto 3	**35**	219	0	0	213	0	0,00	0	0,00
	36	181	0	0	177	0	0,00	0	0,00
	37	127	1	8	109	4	3,54	13	10,24
	38	173	0	1	162	0	0,00	1	0,58
	39	232	0	0	120	0	0,00	0	0,00
	40	173	1	1	163	0	0,00	2	1,16
	41	158	0	0	137	0	0,00	0	0,00
	43	132	0	1	120	0	0,00	1	0,76
	44	113	0	1	104	0	0,00	1	0,88
Ponto 4	**45**	225	0	2	222	1	0,45	3	1,33
	46	158	0	4	146	2	1,35	6	3,80
	47	176	0	0	146	0	0,00	0	0,00
	48	165	0	5	141	2	1,40	7	4,24
	49	169	1	1	147	0	0,00	2	1,18
	50	285	0	13	197	0	0,00	13	4,56
	51	144	0	3	138	0	0,00	3	2,08
	52	178	0	1	146	3	2,01	4	2,25
	53	249	0	0	149	0	0,00	0	0,00
	54	163	0	0	157	0	0,00	0	0,00

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 40 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 52 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 4 – março de 2008. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	142	0	1	130	0	0,00	1	0,70
	3	158	0	3	122	0	0,00	3	1,90
	4	272	0	1	119	0	0,00	1	0,37
	5	126	0	3	122	1	0,81	4	3,17
	6	161	0	1	154	0	0,00	1	0,62
	8	166	0	2	160	1	0,62	3	1,81
	9	129	0	0	127	0	0,00	0	0,00
	11	211	0	5	186	9	4,62	14	6,64
Controle +	**56**	177	0	0	129	0	0,00	0	0,00
	57	182	0	0	165	1	0,60	1	0,55
	58	153	0	3	124	0	0,00	3	1,96
	59	121	0	6	55	1	1,79	7	5,79
	60	190	1	1	187	0	0,00	1	0,53
	61	233	0	1	198	0	0,00	1	0,43
	62	237	0	3	101	0	0,00	3	1,27
Ponto 0	**12**	104	0	0	99	1	1,00	1	0,96
	13	143	0	0	142	0	0,00	0	0,00
	14	154	0	1	136	0	0,00	1	0,65
	15	291	0	4	167	1	0,60	5	1,72
	16	284	0	1	152	0	0,00	1	0,35
	19	150	0	2	135	1	0,74	3	2,00
	20	152	0	1	144	0	0,00	1	0,66
	22	127	0	8	99	3	2,94	11	8,66
Ponto 2	**23**	158	0	1	123	0	0,00	1	0,63
	24	62	0	0	61	1	1,61	1	1,61
	25	222	2	0	203	2	0,98	2	0,90
	26	123	0	0	121	0	0,00	0	0,00
	28	197	0	5	179	0	0,00	5	2,54
	29	173	0	5	136	9	6,21	14	8,09
	30	122	0	1	102	0	0,00	1	0,82
	31	160	1	2	142	1	0,70	3	1,88
	32	228	2	2	198	0	0,00	2	0,88
	33	263	0	5	196	0	0,00	5	1,90
Ponto 3	**35**	171	0	8	54	0	0,00	8	4,68
	36	184	0	0	172	0	0,00	0	0,00
	37	167	0	1	136	0	0,00	1	0,60
	38	160	0	5	137	0	0,00	5	3,13
	39	183	1	1	168	1	0,59	2	1,09
	40	190	0	1	178	2	1,11	3	1,58
	41	219	1	1	183	0	0,00	1	0,46
	42	213	2	0	193	0	0,00	0	0,00
	43	195	0	4	191	0	0,00	4	2,05
	44	190	0	3	119	0	0,00	3	1,58
Ponto 4	**45**	159	0	1	155	3	1,90	4	2,52
	46	195	0	0	125	0	0,00	0	0,00
	47	152	0	2	116	0	0,00	2	1,32
	48	176	1	2	107	3	2,73	5	2,84
	49	217	0	19	171	4	2,29	23	10,60
	50	167	0	1	143	4	2,72	5	2,99
	51	143	1	0	133	3	2,21	3	2,10
	52	118	1	1	51	0	0,00	1	0,85
	53	174	0	2	147	1	0,68	3	1,72
	54	198	0	6	172	0	0,00	6	3,03
	55	138	0	0	119	0	0,00	0	0,00

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

TABELA 41 – Análise das progênies de caramujos *B. glabrata* albinos cruzados com selvagens 59 dias após a exposição às amostras do rio Tietê, Campanha 4 – março de 2008. Dados individuais

Pontos de amostragem	Número do animal	Total de embriões	Embriões mortos	Malformações indeterminadas	Embriões selvagens		% total de Malf. Selv.	Total de inviáveis	% total de inviáveis
					Total	Malf. Selv.			
Controle -	**1**	96	1	2	93	0	0	2	2,08
	3	144	0	2	57	0	0,00	2	1,39
	4	172	0	1	116	0	0,00	1	0,58
	5	207	1	2	142	0	0,00	2	0,97
	6	271	0	1	116	0	0,00	1	0,37
	8	163	1	7	152	0	0,00	7	4,29
	9	145	0	4	116	3	2,52	7	4,83
	10	84	0	0	78	0	0,00	0	0,00
	11	134	0	3	111	2	1,77	5	3,73
Controle +	**56**	179	0	3	153	0	0,00	3	1,68
	57	264	0	9	74	0	0,00	9	3,41
	58	276	0	6	147	2	1,34	8	2,90
	59	179	0	3	109	0	0,00	3	1,68
	60	243	0	4	122	0	0,00	4	1,65
	61	239	0	1	152	0	0,00	1	0,42
	62	139	0	6	127	1	0,78	7	5,04
Ponto 0	**12**	142	0	2	112	0	0,00	2	1,41
	13	156	0	1	136	1	0,73	2	1,28
	14	234	0	3	155	0	0,00	3	1,28
	15	165	1	1	139	0	0,00	1	0,61
	16	98	0	0	56	0	0,00	0	0,00
	17	213	1	6	164	1	0,61	7	3,29
	18	225	0	2	147	0	0,00	2	0,89
	20	208	0	0	174	0	0,00	0	0,00
	21	193	1	3	108	1	0,92	4	2,07
	22	257	0	3	169	14	7,65	17	6,61
Ponto 2	**23**	166	0	6	117	1	0,85	7	4,22
	24	188	1	14	135	4	2,88	18	9,57
	25	282	1	1	158	0	0,00	1	0,35
	26	326	0	13	142	0	0,00	13	3,99
	27	215	0	2	156	0	0,00	2	0,93
	28	142	0	2	117	0	0,00	2	1,41
	29	276	0	1	147	0	0,00	1	0,36
	30	213	0	0	152	0	0,00	0	0,00
	31	304	1	1	122	0	0,00	1	0,33
	33	353	0	1	129	0	0,00	1	0,28
Ponto 3	**34**	191	0	0	191	0	0,00	0	0,00
	35	197	3	3	160	0	0,00	3	1,52
	36	257	0	0	155	0	0,00	0	0,00
	37	146	0	2	109	1	0,91	3	2,05
	38	238	0	2	181	1	0,55	3	1,26
	39	196	0	1	131	0	0,00	1	0,51
	40	180	0	1	148	0	0,00	1	0,56
	41	181	0	1	150	0	0,00	1	0,55
	42	292	0	1	147	0	0,00	1	0,34
	43	129	0	0	89	0	0,00	0	0,00
	44	205	0	3	197	1	0,51	4	1,95
Ponto 4	**45**	215	2	4	119	0	0,00	4	1,86
	46	161	0	5	77	1	1,28	6	3,73
	47	167	0	3	125	1	0,79	4	2,40
	48	190	0	0	164	0	0,00	0	0,00
	49	175	0	0	125	1	0,79	1	0,57
	50	83	0	1	78	0	0,00	1	1,20
	51	201	1	2	156	0	0,00	2	1,00
	52	215	0	7	112	1	0,88	8	3,72
	53	99	0	0	52	0	0,00	0	0,00
	54	235	0	0	102	1	0,97	1	0,43
	55	99	0	1	53	0	0,00	1	1,01

Abreviação: Malf. Selv. = malformado selvagem; Malformações indeterminadas = exogástrulas e aquelas em que não foi possível identificar o tipo de malformação; Controle - = água filtrada; Controle + = $1,8x10^{-3}$M de ciclofosfamida; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 2 – afluente da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação. Observação: o número do animal se refere ao selvagem com o qual o albino foi cruzado

Tabela 42 – Ensaios de toxicidade aguda e citotoxicidade com organismos expostos às amostras de água do Rio Tietê e de afluentes e efluentes da ETE Suzano, São Paulo

Pontos de Amostragem	Campanhas	*D.similis* CE_{50} 48 horas	*Vibrio fischeri* CE_{50} 15 min	CHO Fração de Sobrevida C=20%	*Biomphalaria glabrata*- CL_{50} 24 horas				
					Adultos	Embriões			
						Blástula	Gástrula	Trocófora	Véliger
P0	**C1**	NT	NT	0,52 ± 0,04	NT	NT	NT	NT	NT
	C2	NT	NT	0,77 ± 0,04	NT	NT	NT	NT	NT
	C3	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT
	C4	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	NT
P1	**C1**	NT	23,43 (11,16-49,17)	0,61 ± 0,04	NT	NT	NT	NT	NT
	C2	NT	45,95<CE50<81,90	0,70 ± 0,04	NT	NT	NT	NT	NT
	C3	NT	36,91 (7,69-117,5)	0,77 ± 0,07	NT	NT	NT	NT	NT
	C4	NT	>81,90	0,79 ± 0,13	NT	NT	NT	NT	NT
P2	**C1**	14,82 (12,57-17,46)	18,23 (13,47-24,65)	0,24 ± 0,05	100 (-)	43,04 (1,92-44,19)	41,56 (41,20-41,91)	57,16 (55,78-58,58)	60,06 (59,36-60,76)
	C2	11,65 (11,44-)	14,05 (3,23-61,08)	0,53 ± 0,01	41,25 (32,61-52,18)	NT	NT	NT	NT
	C3	18,60 (16,90-26,47)	15,13 (4,13-55,41)	0,23 ± 0,01	84,16 (75,34-94,02)	48,24 (47,17-49,34)	43,71 (42,39-45,06)	55,43 (54,16-56,73)	62,64 (61,55-63,75)
	C4	71,19 (59,92-84,58)	21,14 (18,56-24,08)	0,46 ± 0,01	NT	NT	NT	NT	NT

Abreviações: C – datas das coletas: C1 – 08/2006; C2 – 02/2007; C3 – 08/2007; C4 – 03/2008; NT – Não Tóxica; IT – Indícios de toxicidade; P0 – Barragem de Ponte Nova, Salesópolis; P1 – 200m à montante da estação; P2 – afluente da estação; P3 – efluente tratado; P4 – 200m à jusante da estação

Tabela 42 (continuação) – Ensaios de toxicidade aguda e citotoxicidade com organismos expostos às amostras de água do Rio Tietê e de afluentes e efluentes da ETE Suzano, São Paulo

Pontos de Amostragem	Campanhas	*D.similis* CE_{50} 48 horas	*Vibrio fischeri* CE_{50} 15 min	CHO Fração de Sobrevida C=20%	*Biomphalaria glabrata*- CL_{50} 24 horas				
					Adultos	Embriões			
						Blástula	Gástrula	Trocófora	Véliger
P3	**C1**	100	28,01 (12,78-61,37)	0,43 ± 0,15	NT	NT	NT	NT	NT
	C2	NT	45,95<CE50<81,90	0,63 ± 0,01	NT	NT	NT	NT	NT
	C3	15,67 (12,95-18,96)	37,41 (7,19-194,73)	0,99 ± 0,00	NT	NT	NT	NT	NT
	C4	75,65 (63,31- 90,39)	46,90 (46,5-47,42)	0,88 ± 0,03	NT	NT	NT	NT	NT
P4	**C1**	72,17 (66,12-78,77)	23,11 (8,68-61,54)	0,42 ± 0,05	NT	NT	NT	NT	NT
	C2	75<CE(I)<100	45,95<CE50<81,90	0,48 ± 0,02	NT	NT	NT	NT	NT
	C3	NT	36,04 (7,06-83,98)	0,88 ± 0,01	NT	NT	NT	NT	NT
	C4	NT	> 81,90 (IT)	0,89 ± 0,04	NT	NT	NT	NT	NT

Abreviações: C – datas das coletas: C1 – 08/2006; C2 – 02/2007; C3 – 08/2007; C4 – 03/2008; NT – Não Tóxica; IT – Indícios de toxicidade; P0 – Barragem de Ponte Nova, Salesópolis; P1 – 200m à montante da estação; P2 – afluente da estação; P3 – efluente tratado; P4 – 200m à jusante da estação

Tabela 43 – Parâmetros físicos e químicos de amostras de água do entorno da ETE Suzano, monitorados pela SABESP no período de 28/08/2006 a 14/08/2008.

Data e Hora	Identificação	Temp. AM (ºC)	pH	N_NH_3 (mg NMH_3)	N_NO_3 (mg NNO_3 L^{-1})	ATA mg MBS/L	OD ($mg.L^{-1}$)	DBO ($mg.L^{-1}$)	ST ($mg.L^{-1}$)	FENOL ($mgC_6H_5OH.L^{-1}$)
28/08/06 (09:55)	Montante (P1)	-	-	5,20	-	-	-	54	626	<0,1605
27/02/07 (11:06)	Montante (P1)	-	-	2,50	0,0114	-	-	45	234	<0,1605
03/05/07 (11:00)	Montante (P1)	22	7,12	3,80	0,0468	0,40	-	27	380	<0,1605
14/08/07 (10:30)	Montante (P1)	18	7,20	4,20	-	-	0,50	11	281	<0,1605
28/08/06 (10:25)	Jusante (P4)	20	-	5,60	-	-	-	42	674	<0,1605
27/02/07 (12:00)	Jusante (P4)	-	-	2,90	0,9023	-	-	43	272	<0,1605
03/05/07 (11:00)	Jusante (P4)	21	7,17	7,10	0,6572	0,47	-	63	415	<0,1605
14/08/07 (11:01)	Jusante (P4)	18	7,27	6,50	-	-	0,70	11	339	0,1664
28/08/06 (16:28)	Grade.Fina (IPEN)	-	-	48,50	-	-	-	325	1168	0,3121
26/02/07 (14:30)	Grade.Fina (IPEN)	20	7,65	30,0	0,092	-	-	413	808	0,3762
14/08/07 (*)	Afluente (P2) Grade Fina	-	8,18	56,90	-	-	-	325	1136	-
28/08/07 (16:29)	Efluente Final (P3)	-	-	5,10	-	-	-	26	956	<0,1605
26/02/07 (14:30)	Efluente Final (P3)	20	7,35	9,90	23,43	-	-	52	728	<0,1605
14/08/07 (*)	Efluente Final (P3)	-	7,45	26,70	-	-	-	21	1007	-

*Amostra composta de 2 em 2 horas.

Tabela 44 – OD em águas analisado pelo método eletrométrico, análises realizadas pela SABESP.

Campanhas	P(0) (ppm)	P1 (ppm)	P3 (ppm)	P4 (ppm)
C1	7,20	0,00	3,20	0,00
C2	7,12	0,50	-	0,50
C3	7,10	0,50	2,70	0,70
C4	7,36	-	-	-

C1 – 08/2006; C2 – 02/2007; C3 – 08/2007; C4 – 03/2008;
Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 1 – 200m à montante da estação;
Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação

Tabela 45 – Valores obtidos por meio das análises de COT, CT e CI, análises realizadas pela SABESP.

PONTOS DE AMOSTRAGEM	Carbono Orgânico Total ($mg.L^{-1}$)	Carbono Total ($mg.L^{-1}$)	Carbono Inorgânico ($mg.L^{-1}$)
P0 – 08/09/06	-	12,36	4,43
P0 (C1)	3, 20	6, 92	3,72
P0 (C4)	6, 66	11,33	4, 66
P1-23/09/05	56,85	81,81	24,96
P1 (C1)	34,50	51,94	17,44
P1 (C4)	16,46	35,44	18,98
P2-23/09/05	519,4	646,70	127,3
P2 (C1)	65,12	131,10	65,98
P2 (C4)	42,59	98,86	56,27
P3-23/09/05	78,58	176,9	98,32
P3 (C1)	39,86	41,27	1,40
P3 (C4)	3,25	18,35	15,10
P4-23/09/05	57,92	90,80	32,88
P4 (C1)	45,57	68,72	23,15
P4 (C4)	-1,44 (*)	14,35	15,80
Água destilada20/03/07	6,14	6,54	0,39
Água destilada (C1)	20,65	20,76	0,10
Água de cultivo 23/09/05	6,55	11,19	4,64
Água de cultivo (C1)	4,71	8,94	4,23
Água de cultivo (C4)	9,85	14,19	4,34

C1 – 08/2006; C4 – 03/2008; Ponto 0 – na Barragem de Ponte Nova; Ponto 1 – 200m à montante da estação; Ponto 3 – efluente tratado; Ponto 4 – 200m à jusante da estação

Tabela 46 – Compostos orgânicos presentes na água do Rio Tietê do entorno e no efluente da ETE de Suzano da coleta de março de 2008. Parâmetros analisados pela SABESP.

Produto ($\mu g/L^{-1}$)	Efluente (P3)	Montante (P1)	Jusante (P4)	Produto ($\mu g/L^{-1}$)	Efluente (P3)	Montante (P1)	Jusante (P4)
Benzeno	<0,50	-	-	**Glisofato**	-	-	-
Cloreto de vinila	<0,90	-	-	**Pireno**	<0,020	-	-
2,2 Dicloroetano	<0,50	-	-	**Acenaftileno**	<0,020	-	-
2,1 Dicloroeteno	<0,50	-	-	**Benzo[a]antraceno**	<0,020	-	-
Diclorometano	<2,00	-	-	**Benzo[k]fluoranteno**	<0,020	-	-
Tricloroeteno	<0,50	-	-	**Dibenzo[a,h]antraceno**	<0,002	-	-
Estireno	1,60	-	-	**Acenafteno**	<0,050	-	-
Clorofórmio	<2,00	-	-	**Fluoranteno**	<0,020	-	-
Bromodiclorometano	<2,00	-	-	**Naftaleno**	<2,00	-	-
Dibromoclorometano	<2,00	-	-	**Alacloro**	<2,00	-	-
Bromofórmio	<2,00	-	-	**Aldrin**	<0,010	-	-
Trihalometanos	<2,00			**Dieldrin**	<0,010		
Tetracloreto de carbono	<0,50	-	-	**Aldrin e Dieldrin**	<0,010	-	-
Tetracloroeteno	3,10	2,20	1,70	**Atrazina**	<0,050	-	-
1,2,3-Triclorobenzeno (idem 1,2,4 e 1,3,5)	<2,00	-	-	**Gama-clordano**	<0,010	-	-
Triclorobenzenos	<2,00	-	-	**t-Nonacloro**	<0,010	-	-
Monoclorobenzeno	<0,50	-	-	**Clordano (isômeros)**	<0,010	-	-
Etilbenzeno	55,00	0,50	<0,50	**DDT (isômeros)**	<0,05	-	-
Tolueno	4,90	-	-	**Ensosulfan**	<0,50	-	-
5-Xileno	31,00	-	-	**Endrin**	<0,05	-	-
m,p-Xileno	24,00	1,20	0,70	**Endrin-aldeído**	<0,05	-	-
Xilenos	55,00	1,20	0,70	**Heptacloro**	<0,01	-	-
2,4D-Benzatona	<30,00	-	-	**Heptacloro epóxido**	<0,01	-	-
2,4,6-Triclorofenol	<1,00	-	-	**Hexaclorobenzeno**	<0,05	-	-
Petaclorofenol	<1,00	-	-	**Lindano**	<0,01		
Acrilamida	-	-	-	**Metacloro**	<2,00	-	-
Benzo[a]pireno	<0,002	-	-	**Metaxicloro**	<0,05	-	-
Benzo[ghi]perileno	<0,020	-	-	**Molinato**	<0,50	-	-
Criseno	<0,020	-	-	**Pendimetalina**	<0,50	-	-
Fluoreno	<0,020	-	-	**Permitrina (cis-trans)**	<0,50	-	-
Fenantreno	<0,020	-	-	**Propanil**	<0,50	-	-
Antraceno	<0,010	-	-	**Simazina**	<0,50	-	-
Benzo[a]fluoranteno	<0,020	-	-	**Trifluralina**	<0,50	-	-
Andeno[1,2,3,c,d]pireno	<0,020			**Toxofeno**	<0,10	-	-

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT, NBR 12713, Associação Brasileira de Normas Técnicas; ***Ecotoxicologia aquática – toxicidade crônica – método de ensaio com*** **Ceriodaphnia** ***spp. (Crustacea, Cladocera)***. Rio de Janeiro, 15p.

2. ABREU, F. C.; PAULA, F. S.; SANTOS, A. F.; SANT'ANA, A. E. G.; ALMEIDA, M. V. de; CESAR, E. T.; TRINDADE, M. N.; GOULART, M. O. F.; Synthesis, Electrochemistry, and Molluscicidal Activity of Nitroaromatic Compouds: Effects of Substituents and the Role of Redox Potencial, ***Bioorg. Med. Chem.***, v. 9, p. 659-664, 2001.

3. ADORNO, V.; ***Tietê uma promessa de futuro para as águas do passado***. Patrocínio Cel Lep, São Paulo, 1999.

4. AISEMBERG, J.; NAHEBEDIAN, D. E.; WIDER, E. A.; VWERRENGIA-GUERRERO, N. R.; Comparative tudy on two freshwater invertebrates for monitoring environmental lead exposure. ***Toxicology***, v. 210, p. 45-53, 2005.

5. ALEGRE, G.F.; MATTIOLO, S.R.; BORRELY, S.I.; Avaliação ecotoxicológica em sedimento do rio Tietê entre Salesópolis e Suzano, São Paulo. In: X Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia. 30 de abril – 3 de maio, Bento Gonçalves, RS, ***Livro de Resumos***, 2008, p.1999.

6. AMES, B. N.; McCANN, J.; YAMASAKI, E.; Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian microsome mutagenicity test. ***Mutation Res.***, v. 31, p. 347-364, 1975.

7. ANSALDO, M.; NAHABEDIAN, D. E.; DI FONZO, C.; WIDER, E. A.; Effect of cadmium, lead and arsenic on the oviposition, hatching and embryonic survival of *Biomphalaria glabrata*. ***Sci. Total Environ***, IN PRESS: 10.1016/j.scitotenv.2008.12.001, 2006.

8. ANSALDO, M.; NAHABEDIAN, D. E.; HOLMES-BROWN, E.; AGOTE, M.; ANSAY, C. V.; VERRENGIA-GUERRERO, N. R.; WIDER, E. A.; Potencial use of glycogen level as biomarker of chimical stress in *Biomphalaria glabrata*. ***Toxicology***, v. 224, p. 119-127, 2006.

9. ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A.; ***Métodos de Ensaios de Toxicidade com Organimos Aquáticos***. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E.; Ecotoxicologia Aquática – Princípios e aplicações. Ed. Rima, São Carlos, p. 117-152, 2008.

10. ARAÚJO, R. P. A.; SHIMIZU, G. Y.; BOHRER, M. B. C.; JARDIM, W.; ***Avaliação da Qualidade de Sedimentos***. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E.; Ecotoxicologia Aquática – Princípios e aplicações. Ed. Rima, São Carlos, p. 293-326, 2008.

11. BATEMAN, A. J.; EPSTEIN, S. S.; ***Dominant lethal mutations in mammals***. In: A HOLLAENDER (ed). Chemical Mutagens, Principles and Methods for their detection, v. 2, p. 541-568, Plenum, New York, 1971.

12. BATEMAN, A. J.; Testing chemicals for mutagenicity in a mammal. ***Nature***, v. 5032, p. 205-206, 1966.

13. BÉKAERT, C.; FERRIER, V.; MARTY, J.; PFOHL-LESZKOWICZ, A.; BISPO, A.; JOURDAIN, M. J.; JAUZEIN, M.; LAMBOLEZ-MICHEL, L.; BILLARD, H.; Evaluation of toxic and genotoxic potencial af stabilized industrial waste and contaminated soils. ***Waste Manag.***, v. 22, p. 241-247, 2002.

14. BERNARD, C., GUIDO, P. COHN, J., DFI-DELEPIERRE, A.; Estimation of the hazard of landijs through toxicity testing of leachates. ***Chemosphere***, v. 33, n. 11, p. 2303-2320, 1996.

15. BEZERRA, J. C. B.; SILVA, I. A.; FERREIRA, H. D.; FERRI, P. H.; SANTOS S. C.; Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. ***Fitoterapia***, v. 73, p. 428-430, 2002.

16. BOLOGNESI, C.; FRENZILI, G.; LASAGNA, C.; PERRONE, E.; ROGGIERI, P.; Genotoxicity biomarkers in *Mytilus galloprovincialis*: wild versus caged mussels. ***Mutation Res.***, v.552, p.153-162, 2004.

17. BOLOGNESI, C.; LANDINI, E.; ROGGIERI, P.; FABBRI, R.; VIARENGO, A.; Genotoxicity biomarkers in the assessment of heavy metal effects in mussels: experimental studies. Environ. ***Mol. Mutagen.***, v. 33, p. 287-292, 1999.

18. BORRELY, S. I.; GONÇALVES, A. A.; OIKAMA, H.; DUARTE, C. L.; ROCHA, F. R.; Electron beam accelerator for detoxification of effluents. When radiation processing can enhance the acute toxicity? ***Radiat. Phys. Chem.***, v. 71, p.453-456, 2004.

19. BORRELY, S. I.; ***Redução da toxicidade aguda de efluentes industriais e domésticos tratados por irradiação com feixes de elétrons, avaliada com as espécies*** **Vibrio fischeri, Daphnia similis *e* Poecilia reticulata**. 2001. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - CNEN, Universidade de São Paulo, São Paulo.

20. BREWEN, J. G.; PAYNE H. S.; JONES, K.P.; PRESTON, R. J.; Studies on chemically induced dominant lethality. I. The cytogenetic basis of MMS-induced dominant lethality in post meiotic germ cells. ***Mutation Res.***, v. 33, p.239-250, 1975.

21. BURGEOT, T.; HIS, E.; GALGANI, F.; The micronucleus assay in *Crassosstrea gigas* for the detection of seawater genotoxicity. ***Mutation Res.***, v. 342, p. 125-140, 1995.

22. CAMEY, T.; VERDONK, N. H.; The early development of the snail *Biomphalaria glabrata* (Say) and the origin of the head organs. ***Neth. J. Zool.***, v. 20, n.1, p.93-121, 1970.

23. CARDOZO, T. R.; ROSA, D. P.; FEIDEN, I. R.; ROCHA, J. A. V.; OLIVEIRA, N. C. D.; PEREIRA, T. S.; PASTORIZA, T. F.; MARQUES, D. M.; LEMOS, C. T.; TERRA, N. R.; VARGAS, V. M. F.; Genotoxicity and toxicity assessment in urban hydrographic basins. ***Mutation Res.***, v. 603, p.83-96, 2006.

24. CHASIN, A. A. M.; PEDROZO, M. F. M.; ***O Estudo da Toxicologia***. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M.; As bases toxicológicas da Ecotoxicologia. Ed. Rima e InerTox, São Carlos e São Paulo , p. 1-25, 2004.

25. CLAXTON, L. D; HOUK V. S; HUGLES, T. J.; Genotoxicity of industrial wastes and effluents. ***Mutation Res.***, v. 410, p. 237-243, 1998.

26. COCHÓN, A. C.; DELLA-PENNA, A. B.; KRISTOFF, G.; PIOL, M. N.; SAN-MARTÍN de VIALE, L. C.; VERRENGIA-GUERRERO, N. R.; Differencial effects on oxidative stress parameters and polyamine levels in two freshwater invertabrates. ***Ecotoxicol. Environ. Saf.***, v . 68, p. 286-292, 2007.

27. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL; ***Norma Técnica L5.227***, São Paulo, 1987.

28. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL; ***Relatório de Qualidade das águas Interiores no Estado de São Paulo, 2005***. São Paulo, 2006.

29. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL; ***Relatório de Qualidade das águas Interiores no Estado de São Paulo, 2007***. São Paulo, 2008.

30. COEURDASSIER, M.; VAUFLEURY, A.; SCHEIFLER, R.; MORHAIN, E.; BADOT, P. –M.; Effects of cadmium on th survival of three life-stages of the freshwater pulmononate *Lymnaea stagnalis* (Mollusca: Gastropoda). ***Bull. Environ. Contam. Toxicol.***, v. 72; p. 1083-1090, 2004.

31. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – Ministério do Meio Ambiente; ***Resolução N° 357***, 17 de março de 2005.

32. COONEY, J. D.; ***Freshwater tests***. In: RAND, G. M.; Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment. Washington, D. C., Taylor & Francis, 2°Ed., p. 71-102, 1995.

33. DEPLEDGE, M. H.; The ecological significance of genotoxicity in marine invertebrates. ***Mutation Res.***, v. 39, p.109-122, 1998.

34. DIXON, D. R.; CLARKE, K. R.; Sister chromatid exchange: a sensitive method for detecting damage caused by exposure to environmental mutagens in the chromosomes of adult *Mytilus dulis*. ***Mar. Biol. Letters***, v. 3, p. 163-172, 1982.

35. DOMINGUES, F. D.; BERTOLETTI, E.; ***Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismos Aquáticos***. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E.; Ecotoxicologia Aquática – Princípios e aplicações. Ed. Rima, São Carlos, p. 153-184, 2008.

36. DOUST, J.L.; SCHMIDT, M.; DOUST, L.L.; Biological assessment of aquatic pollution: a review, with emphasis on plants as biomonitors. ***Biol. Rev.***, v.69, p. 147-186, 1994.

37. ESTEVAM, E. C.; NAKANO, E.; KAWANO, T.; PEREIRA, C. A. B.; AMANCIO, F. F.; MELO A. M. M. A.; Dominant lethal effects of 2,4-D in *Biomphalaria glabrata*. ***Mutation Res.***, v. 611, p.83-88, 2006.

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

39. FENT, K.; Ecotoxicological problems associated with contaminated sites. ***Toxicol. Lett.***, v. 140, p.353-365, 2003.

40. FERNICOLA, N. A.G.G.; BOHRER-MOREL, M. B.; BAINY, A. C. D.; ***Ecotoxicologia***. In; AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M.; As bases toxicológicas da Ecotoxicologia. Ed. Rima, p. 221-243, 2004.

41. FRANSTSEVICH, L. I.; PAN'KOV, I. V.; ERMAKOV, A. A.; KORNYUSHIN, A. V.; ZAKHARCHUK, T. N.; Molluscs as indicator of Environmental Pollution by Radionuclides. ***Russ. J. Ecol.***, v. 26, n. 1, p. 47-52, 1995.

42. FRENZILLI, G.; SCARCELLI, V.; BARGA, I. D.; NIGRO, M.; FÖRLIN, L.; BOLOGNESI, C.; STURVE, J.; DNA damage in eelpout (*Zoarces viviparous*). ***Mutation Res.***, v. 552, p.187-195, 2004.

43. FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE; ***Manual de Saneamento***. Departamento de Saneamento. Ministério da Saúde. 3ª ed., Brasília, 374p., 1999.

44. GANA, J. M.; ORDÓÑEZ, R.; ZAPINI, C.; IDALGO, M.; MEONI, S.; ISLA, M. I.; Industrial effluents and surface waters genotoxicity and mutagenicity evaluation of a river of Tucuman, Argentina. ***J. Hazard. Mater.***, v. 155, p. 403-406, 2008.

45. GAUTHIER, L.; TARDY, E.; MOUCHET, F.; MARTY, J.; Biomonitoring of the genotoxic potential (micronucleus assay) and detoxifying activity (EROD induction) in the River Dadou (France), using the amphibian *Xenopus laevis*. ***Sci. Total Environ.***, v. 323, p. 47-61, 2004.

46. GEILENKIRCHEN, W.L. M.; Cell division and morphogenesis of *Limnaea* eggs after treatment with heat pulses at successive stages in early division cycles. ***J. Embriol. Exp. Morphol.***, v. 16, n.2, p. 321-337, 1966.

47. GHERARDI-GOLDSTEIN, E., ZAGATTO, P.A., ARAUJO, R.P.A., BERTOLETTI, E. Avaliação da toxicidade dos principais despejos industriais da região da ERQ-Suzano, através de ensaios biológicos. ***Revista DAE***, n. 132, 1983.

48. GONJITO, A. M. M. C. & TICE, R.; ***Teste do cometa para a detecção de dano no DNA e reparo em células individualizadas***. In: RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K.; Mutagênese Ambiental. Canoas, RS, Ed. ULBRA, 1° Ed, p. 173-200, 2003.

49. GRAZEFFE, V. S.; TALLARICO, L. F.; PINHEIRO, A. S.; KAWANO, T.; SUZUKI, M. F.; OKAZAKI, K.; PEREIRA, C. A. B.; NAKANO, E.; Establishment of the comet assay in the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). ***Mutation Res.***, v. 654, p. 58-63, 2008.

50. GRISOLIA, C. K.; BILICH, M. R.; FORMIGLI, L. M.; A comparative toxicologic and genotoxic study of the herbicide arsenal, its active ingredient imazapir, and the surfactant nonyphenol ethoxylate. ***Ecotoxicol. Environ. Saf.***, v . 59, p. 123-126, 2004.

51. GUECHEVA, D. PRÁ, T.; FRANKE, S. I. R.; KNAKIEVICZ, T.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P.; Toxicidade e Genotoxicidade do Sulfato de Cobre em Planárias de água Doce e Camundongos. ***J. Braz. Soc. Ecotoxicol.***, v. 1, n.2, p. 171-175, 2006.

52. GUTIERREZ, M.; ETXEBARRIA, J.; DE LAS FUENTES, L.; Evaluation of wastewater toxicity: comparative study between Microtoxs and activated sludge oxygen uptake inhibition. ***Water Res.***, v. 36, p. 919-924, 2002.

53. HAMADA, N.; ***Ensaios de toxicidade empregados na avaliação de efeitos no sistema de tratamento de esgotos e efluentes, ETE Suzano, e seu entorno, utilizando organismos aquáticos***. 2008. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - CNEN, Universidade de São Paulo, São Paulo.

54. HARVEY, J. S.; PARRY, J. M.; The analysis of adduct formation, removal and persistence in the commom mussel *Mytilus edulis* exposed to 4-nitroquinoline-1-oxide. ***Mutation Res.***, v. 399, p. 31-42, 1998.

55. HICKMAN JR., C. P.; ROBERTS, L. S.; LARSON, A.; ***Moluscos***. In: Princípios integrados de Zoologia. Ed. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 11° Edição, p-306-335, 2004.

56. HOUK, V. S.; The genotoxicity of industrial wastes and effluents. *Mutation Res.*, v. 277, p. 91-138, 1992.

57. ISIDORI, M.; LAVORGNA, M.; NARDELLI, A.; PARRELLA, A.; Integrated environmental assessment of Volturno River in South Italy. *Sci. Total Environ.*, v. 327, p. 123-134, 2004.

58. ISO 10706 (International Organization for Standardization); ***Water quality – Determination of long term toxicity of substances to* Daphnia magna *Straus (Cladocera, Crustacea)***. 17 p., 2000.

59. JHA, A. N.; CHEUNG, V. V.; FOULKES, M. E.; HILL, S. J.; DEPLEDGE, M. H.; Detection of genotoxins in the marine environment: adoption and evaluation of an integrated approach using the embryo-larval stages of the marine mussel, *Mytilus edulis*. ***Mutation Res.***, v. 464, p. 213-228, 2000.

60. JHA, A. N.; Use of aquatic invertebrates in genotoxicological studies. ***Mutation Res.***, v. 399, p. 1-2, 1998.

61. JHA, A.; HUTCHINSON, T. H., MacKAY, J. M.; ELLIOT, B. M.; DIXON, D. R.; Development of an in vivo genotoxicity assay using the marine worn *Platynereis dumerilii* (Polychaeta: Nereidae). ***Mutation Res.***, v. 359, p. 141-150, 1996.

62. KAWANO, T.; CHAVES, W. R.; SIMÕES, L. C. G.; Effects of caffeine on embryonic development of *Biomphalaria glabrata*. ***Ciência e Cultura***, v. 31, n. 11, p. 1266-1273, 1979.

63. KAWANO, T.; OKAZAKI, K.; RÉ, L.; Embryonic development of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Mollusca, Gastropoda, Planorbidae): a pratical guide to the main stages. ***Malacologia***, v. 34, n. 1-2, p. 25-32, 1992.

64. KAWANO, T.; SIMÕES, L. C. G.; Efeito da *Stevia rebaudiana* em *Biomphalaria glabrata*. ***Rev. Bras. Biol.***, v. 46, n. 3, p. 555-562, 1986.

65. LANZER, R.; MÜLLER, M.; DUMCKE, M.; RASERA, K.; Comparação de testes ecotoxicológicos com *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835) e *Daphnia magna* (Straus, 1820) utilizando Remazol Brilliant Blue R e água de Arroio Urbano. ***J. Braz. Soc. Ecotoxicol.***, v. 2, n.1, p. 27-32, 2007.

66. LEGATOR, M. S.; HARPER, B.; Mutagenicity screening in vitro testing – the end of an era; animal an human studies – the direction for the future. ***Ann. N. Y. Acad. Sci.***, v. 534, p. 833-844, 1988.

67. LEMOS C. T.; IRANÇO, F. A.; OLIVEIRA, N.C. D.; SOUZA, G. D.; FACHEL, J. M. G. Biomonitoring of genotoxicity using micronuclei assay in native population of *Astyanax jacuhiensis* (Characiformes: Characidae) at sites under petrochemical influence. ***Sci. Total Environ.***, v. 406, p. 337-343, 2008.

68. LEMOS, C. T.; RODELA, P. M.; TERRA, N. R.; OLIVEIRA, N. C. D.; ERDTMANNH, B.; River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes. ***Ecotoxicol. Environ. Saf.***, v . 66, p. 391-401, 2007.

69. LEMOS, N. G.; DIAS, A. L.; SILVA-SOUZA, A. T.; MANTOVANI, M. S.; Evaluation of environmental waters using the comet assay in *Tilapia rendalli*. ***Environ. Toxicol. Pharmacol.***, v. 19, p. 197-201, 2005.

70. LIMA N. M. F.; SANTOS A. F.; PORFÍRIO, Z.; GOULART, M. O. F.; SANT'ANA, A. E. G.; Toxicity of lapachol and isolapachol and their potassium salts against *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* cercariae, *Artemia salina* and *Tilapia nilotica*. ***Acta Trop.***, v. 83, p. 43-47, 2002.

71. LINDE-ARIAS, A. R.; INÁCIO, A. F.; ALBUQUERQUE, C.; FREIRE, M. M.; MOREIRA, J. C.; Biomarkers in an invasive fish species, *Oreochromis niloticus*, to assess the effects of pollution in a highly degraded Brazilian River. ***Sci. Total Environ.***, v. 399, p. 186-192, 2008.

72. LÓPEZ-BAREA, J.; PUEYO, C.; Mutagen content and metabolic activation of promutagens by molluscs as biomarkers of marine pollution. ***Mutation Res.***, v. 399, p. 3-15, 1998.

73. LYONS, B. P.; STENTIFORD, G. D.; GREEN, M.; BIGNELLI, J.; BATEMAN, K.; FEIST, S. W.; GOODSIR, F.; REYNOLDS, W. J.; THAIN, J. E.; DNA adducts analysis and histopathological biomarks in European flounder (*Platichthys flesus*) sampled from UK estuaries. ***Mutation Res.***, v. 552, p.177-186, 2004.

74. MELO, A. M. M. A.; ***Estudo dos efeitos da radiação gama de ^{60}Co sobre larvas de* Biomphalaria glabrata *(Say, 1818)***. 1998. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - CNEN, Universidade de São Paulo, São Paulo.

75. MERSCH, J.; BEAUVAIS, M. N.; NAGEL, P.; Induction of micronuclei in haemocytes and gill cells of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, exposed to clastogens. ***Mutation Res.***, v. 371, p. 47-55, 1996.

76. MITTEREGGER-JÚNIOR, H.; FERRAZ-DIAS, J.; YONEMA, M. L.; ARENZON, A.; SILVA, J.; PEGAS-HENRIQUES, J. A.; Avaliação das atividades tóxicas e mutagênicas da água e do sedimento do Arroio Estância Velha, região coureira-calçadista, utilizando *Allium cepa*. ***J. Braz. Soc. Ecotoxicol.***, v. 1, n. 2, p. 147-151, 2006.

77. MORSE, H. R.; JONES, N. J.; PELTONEN, K.; HARVEY, R. G.; WATERS, R.; The identification and repair of DNA adducts induced by waterborne benzo[a]pyrene in developing ***Xenopus laevis*** larvae. ***Mutagenesis***, v. 11, n. 1, p. 101-109, 1996.

78. MÜNZINGER, A.; *Biomphalaria glabrata* (Say), a suitable organism for a biotest. ***Technol. Lett.***, v. 8, p. 141-148, 1987.

79. MUZIO, M. P. H.; MENDELSON, A.; MAGDAALENO, A.; TORNELLO, C.; BALBIS, N.; MORETTON, J.; Evaluation of genotoxicity and toxicity of Buenos Aires city hospital wastewater samples. ***J. Braz. Soc. Ecotoxicol.***, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2006.

80. NAHABEDIAN, D. E.; VERRENGIA-GUERRERO, N. R.; WIDER, E. A.; Utilidad de *Biomphalaria glabrata* para la evaluacion de riesgo por elementos tóxicos. ***Acta Toxicol. Argent.***, v. 6, n. 2, p. 41, 1998.

81. NAIME R.; FAGUNDES, R. S.; Controle da Qualidade da Água do Arroio Portão, Portão, RS. ***Pesqui. Geociências***, v. 32, n. 1, p. 27-35, 2005.

82. NAKANO, E.; WATANABE, L. C.; OHLWEILER, F. P.; PEREIRA, C. A. de B.; KAWANO, T.; Establishment of the dominant lethal test in the freshwater mollusk *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). ***Mutation Res.***, v. 536, p. 145-154, 2003.

83. NIGRO, M.; FALLENI, A.; BARGA, I. D.; SCARCELLI, V.; LUCCHESI, P.; REGOLI, F.; FRENZILLI, G.; Cellular biomarkers for monitoring estuarine environments: Transplanted versus native mussels. ***Aquat. Toxicol.***, v. 77, p. 339-347, 2006.

84. ODEIGAH, P. G. C.; OSANYIPEJU, A. O.; Genotoxic effects of two industrial effluents and ethyl methane sulfonate in *Clarias lazera*. ***Fd. Chem. Toxic.***, v. 33, n. 6, p. 501-505, 1995.

85. OHE, T.; WATANABE, T.; WAKABAYASHI, K.; Mutagens in surface waters: a review. ***Mutation Res.***, v. 567, p. 109-149, 2004.

86. OHE, T.; WHITE, P. A.; DeMARINI, D. M.; Mutagenic characteristics of river waters flowing through large metropolitan in North America. ***Mutation Res.***, v. 534, p. 101-112, 2003.

87. OKAZAKI, K.; ANDRADE JR., H. F.; KAWANO, T.; Effect of ^{60}Co gamma radiation on *Biomphalaria glabrata* (Mollusca, Gastropoda) embryos: mortality, malformation and hatching. ***Braz. J. Méd. Biol. Res.***, v. 29, n. 8, 1996.

88. OKAZAKI, K.; ***Efeitos da radiação gama de ^{60}Co sobre o desenvolvimento embrionário de* Biomphalaria glabrata *(Say, 1818)***. 1988. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

89. OKAZAKI, K.; KAWANO, T.; Cytogenetic effects of ^{60}Co gamma radiation on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) embryos. ***Caryologia***, v. 44, n. 2, p. 121-136, 1991.

90. OLIVEIRA-FILHO, E. C.; GERALDINO, B. R.; GRISOLIA, C. K.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; Acute toxicity of endosulfan, nonylphenol ethoxylate, and ethanol to different life stages of the freshwater snail *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835). ***Bull. Environ. Contam. Toxicol.***, v. 75; p. 1185–1190, 2005.

91. OLIVEIRA-FILHO, E. C.; GERALDINO, B. R.; GRISOLIA, C. K.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; Método multigeração para avaliação dos efeitos de poluentes sobre a reprodução de caramujos de água doce. ***J. Braz. Soc. Ecotoxicol.***, v. 1, n. 2, p. 115-118, 2006.

92. OLIVEIRA-FILHO, E. C.; GRISOLIA, C. K.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; Trans-generation study of the effects of nonylphenol ethoxylate on the reproduction of the snail Biomphalaria tenagophila. ***Ecotoxicol. Environ. Saf.***, v. 72, p. 458-465, 2009.

93. OLIVEIRA-FILHO, E. C.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; Toxicity of *Euphorbia milii* latex and niclosamide to snails ond nontarget aquatic species. ***Ecotoxicol. Environ. Saf.***, v. 46; p. 342–350, 2000.

94. PAGANO, G.; HIS, E.; BEIRAS, R.; BIASE, A. DE; KORKINA, L. G.; IACCARINO, M.; ORAL, R.; QUINIOU, F.; WARNAU, M.; TRIEFF, N. M.; Cytogenetic, developmental and biochimical effects of aluminum, iron and their mixture in sea urchins and mussels. ***Arch. Environ. Contan. Toxicol.***, v. 31, p. 466-474, 1996.

95. PARAENSE, W. L.; Auto-fecundação e fecundação cruzada em *Australorbis glabratus*. ***Mem. Inst. Oswaldo Cruz***, v. 53, n. 2, 3, 4, p. 277-284, 1955.

96. PINTO, L. F. R.; FELZENSZWALB, I.; ***Genética do câncer humano***. In: RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K.; Mutagênese Ambiental. Canoas, RS, Ed. ULBRA, 1° Ed, p. 173-200, 2003.

97. PROJETO MARCA D'ÁGUA. ***Comitê da Bacia Hidrográfica do Alto Tietê***. Disponível em: <http://www.marcadagua.org.br/>. Acesso em: 30 de março de 2009.

98. QUINN, B.; GAGNÉ, F.; COSTELLO, M.; McKENZIE, C.; WILSON, J.; MOTHERSILL, C.; The endocrine disrupting effect of municipal effluent on the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). ***Aquat. Toxicol.***, v. 66, p. 279-292, 2004.

99. RABELLO-GAY, M. N.; RODRIGUES, M. A. La R.; MONTELEONE-NETO, R.; ***Mutagênese, teratogênese e carcinogênese – Métodos e critérios de avaliação***. Sociedade Brasileira de Genética, São Paulo, 1991.

100. RAND, G. M.; WELLS, P. G.; McCARTY, L. S.; ***Introduction to Aquatic Toxicology***. In: RAND, G. M. Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment. Washington, D. C., Taylor & Francis, 2°Ed, p.3-67, 1995.

101. RANK, J.; JENSEN, K.; JESPERSEN, P. H.; Monitoring DNA damage in indigenous blue mussels (*Mytilus edulis*) sampled from coastal sites in Denmark. ***Mutation Res.***, v. 585, p. 33-42, 2005.

102. RÉ, L.; KAWANO, T.; Effects of *Laurus nobilis* (Lauraceae) on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). ***Mem. Inst. Oswaldo Cruz***, v. 82, suppl. IV, p. 315-320, 1987.

103. REDE DAS ÁGUAS; ***Núcleo de União Pró-Tietê***. SOS Mata Atlântica. Disponível em: <http://www.rededasaguas.org.br/nucleo/projeto_tiete.htm>. Acesso em: 10 de janeiro de 2009.

104. REIFFERSCHEID, G.; ZIEMANN, C.; FIEBLINGER, D.; DILL, F.; GMINSKI R.; GRUMMTE, H.; HAFNER, C.; HOLLERT, H.; KUNZ, S.; RODRIGO, G.; STOPPER, H.; SELKE, D.; Measurement of genotoxicity in wastewater samples with the in vitro micronucleus test – Results of a round-robin study in the context of standardisation according to ISO. ***Mutation Res.***, v. 649, 15–27, 2008.

105. RUELAS, D. S.; KARENTZ, D.; SULLIVAN, J. T.; Lethal and sub-lethal of UVB on juvenile *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata). ***J. Invertebr. Pathol.***, v. 93, p. 192-200, 2006.

106. SABESP, ***Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo***. Disponível em: <http://www.sabesp.com.br/>. Acesso em: 08 de outubro de 2008.

107. SALICE, C. J.; MILLER, T. J.; Population-level responses to long-term cadmium exposure in two strains of the freshwater gastropod *Biomphalaria glabrata*: results from a life-table reponse experiment. ***Environ. Toxic. Chem.***, v. 22, n.3, p.678-688, 2003.

108. SANCHEZ, P. S.; SATO, M. I. Z.; ***Microbiologia Aquática: Metodologias e Aplicações***. In: Apostila do curso – Diagnóstico de Ecossistemas Aquáticos. Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

109. SANTOS I. N.; HORBE, A. M.C.; SILVA, M. S. R.; MIRANDA, S. A. F.; Influência de um aterro sanitário e de efluentes domésticos nas águas superficiais do Rio Tarumã e afluentes – AM. ***Acta Amazonica***, v. 36, n. 2, p. 229-236, 2006.

110. SANTOS, A. F.; FERRAZ, P. A. L.; PINTO, A.V.; PINTO, M. C. F. R.; GOULART, M. O. F.; SANT'ANA, A. E. G.; Molluscicidal activity of 2-hydroxy-3-alkyl-1,4-naphthoquinones and derivatives. ***Int. J. Parasitol.***, v. 10, p. 1199-1202, 2000.

111. SAOTOME, K.; SOFUNI, T.; HAYASHI, M.; A micronucleus assay in sea urchin embryos. ***Mutation Res.***, v. 446, p. 121-127, 1999.

112. SCHALL, V. T.; VASCONCELLOS, M. C.; ROCHA, R. S.; SOUZA, C. P.; MENDES, N. M.; The control of the schistosome-transmitting snail Biomphalaria glabrata by the plant Molluscicide *Euphorbia splendens* var. hislopii (syn milli Des. Moul): a longitudinal field study in an endemic area in Brazil. ***Acta Trop.***, v. 79, p. 165-170, 2001.

113. SCHIEDEK, D.; BROEG, K.; BARSIENÉ, J.; LEHTONEN, K. K.; GERCKEN, J.; PFEIFER, S.; VUONTISJÄRVI, H.; VUORINEN, P. J.; DEDONYTE, V.; KOEHLER, A.; BALK, L.; SCHNEIDER, R.; Biomarker responses as indication of contaminant effects in blue mussel (*Mytilus edulis*) and female eelpout (*Zoarces viviparous*) from the southwestern Baltic Sea. ***Mar. Pollut. Bull.***, v. 53, p.387-405, 2006.

114. SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE – Governo do Estado de São Paulo, ***Resolução SMA N° 3***, 22 de fevereiro de 2000.

115. SLOOF, F., W.; CANTON, J.H AND HERMENS, J.L.M.; Comparison of the susceptibility of 22 freshwater species to 15 chemical compounds. (sub)acute toxicity tests aquatic. ***Toxicology***, v.4, p. 113-128, 1983.

116. SMOLDERS, R.; BERVOETS, L.; WEPENER, V.; BLUST, R.; A conceptual framework for using mussels as biomonitors in whole effluent toxicity. ***Hum. Ecol. Risk Assess.***, v. 9, n. 3, p. 741-760, 2003.

117. SOUZA, C. P.; LIMA, L. C.; ***Moluscos de interesse parasitológico do Brasil***. 2a ed – Belo Horizonte: FIOCRUZ/CPqRR, 79p., 1997.

118. STAHL JR., R. G; The genetic toxicology of organic compounds in natural waters and wastewaters. ***Ecotoxicol. Environ. Saf.***, v. 22, p. 94-125, 1991.

119. STEINERT, S. A.; STREIB-MONTEE, R.; LEATHER, J. M.; CHADWICK, D. B.; DNA damage in mussels at sites in San Diego Bay. ***Mutation Res.***, v. 399, p. 65-85, 1998.

120. SUZUKI, M. F.; TALLARICO, L. F.; BORRELY, S. I.; GRAZEFFE, V. S.; OHLWEILER, F. P.; HAMADA, N.; PEREIRA, C. A. B.; NAKANO, E.; OKAZAKI, K.; Efeitos citotóxico e genotóxico de efluentes do rio Tietê, avaliados em células de ovário de hamster chinês (CHO-K1), antes e após a passagem pela Estação de Tratamento de Esgotos de Suzano, SP, Brasil. In: 54° Congresso Brasileiro de Genética, 16 – 19 de setembro, Salvador, Ba. ***Livro de Resumos***, 2008, p. 54.

121. TAKAHASHI, C. S.; ***Testes citogenéticos in vitro e aneuploidia***. In: RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K.; Mutagênese Ambiental. Canoas, RS, Ed. ULBRA, 1° Ed, p. 173-200, 2003.

122. TALLARICO, L. F.; NAKANO, E.; KAWANO, T.; ***Efeito da radiação gama de ^{60}Co em* Biomphalaria tenagophila *(D'Orbigny, 1835)***. 1998. Monografia – Faculdade de Ciências Exatas e Experimentais da Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo.

123. TALLARICO, L. F. OKAZAKI, K.; KAWANO, T.; PEREIRA, C. A. B.; NAKANO, E.; Dominant lethal effect of ^{60}Co in *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). ***Mutation Res.***, v. 561, p. 139-145, 2004.

124. UMBUZEIRO, G. A.; VARGAS, V. M. F.; ***Teste de mutagenicidade com* Salmonella typhimurium *(Teste de Ames) como indicador de carcinogenicidade em potencial para mamíferos***. In: RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K.; Mutagênese Ambiental. Canoas, RS, Ed. ULBRA, 1° Ed, p. 81-112, 2003.

125. USEPA (United States Environmental Protection Agency); ***Handbook for sampling and sample preservation of water and wastewater***. EPA-600/4-82-029. Cincinnati, Ohio, USA, 402 p., 1982.

126. VALENT, G. U.; SATO, M. I. Z., CRISTINA, M.; COELHO, L. S.; COIMBRA, C. A.; SANCHEZ, P. S.; MARTINS, M. T.; BONATELLLI JR., R.; Monitoring São Paulo State rivers in Brazil for mutagenic activity using the Ames test. ***Environ. Toxicol. Water Qual.***, v. 8, p. 371-381, 1993.

127. VARGAS, V. M. F.; MIGLIAVACCA, S. B.; HORN, R. C.; TERRA, N. R.; Comparative temporal ecotoxicological study in a river basin influenced by petrochemical industries. ***Sci. Total Environ.***, v. 392, p. 79-92, 2008.

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

129. VILLELA, I. V.; OLIVEIRA, I. M.; SILVA, J.; HENRIQUES, J. A. P.; DNA damage and repair in haemolymph cells of golden mussel (*Limnoperna fortunei*) exposed to environmental contaminants. ***Mutation Res.***, v. 605, p. 78-86, 2006.

130. WESSEL, N.; ROUSSEAU, X.; CAISEY, F.; QUINIOU, F.; AKCHA, F.; VINCENT HUBERT, F.; PFHOL-LESZKOWICZ, A.; Potential value of the comet assay and DNA adduct measurement in dab (*Limanda limanda*) for assessment of in situ exposure to genotoxic compounds. ***Mutation Res.***, v. 534, p. 21-32, 2003.

131. WINTER, M. J.; DAY, N.; HAYES, R. A.; TAYLOR, E. W.; BUTLER, P. J.; CHIPMAN, K.; DNA strand breaks and adducts determined in feral and caged chub (*Leuciscus cephalus*) exposed to rivers exhibiting variable water quality around Birmingham, UK. ***Mutation Res.***, v. 552, p. 163-175, 2004.

132. WURGLER, F. E.; KRAMERS, P. G. N.; Environmental effects of genotoxins (eco-genotoxicology). ***Mutagenesis***, v. 7, p. 321-327, 1992.

133. YAMAMOTO, M. M.; KAWANO, T.; YONG, M. C. M.; CHU, E. P.; HARAGUCHI, M.; HIROKI, K.; Molluscicidal activity of three Brazilian plant species. ***Fitoterapia***, v. LXVII, n.1, p. 59-62, 1996.

134. ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E.; ***Ecotoxicologia Aquática – Princípios e aplicações***. Ed. Rima, São Carlos, p. 1-472, 2008.

135. ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E.; GOLDSTEIN, E.G.; DE SOUZA, H.B. Avaliação de toxicidade em sistema de tratamento biológico de afluentes líquidos. ***Revista da SABESP***, 166:1-6. 1992.

136. ZAMPIERON, S. L. M.; VIEIRA, J. L. A.; ***Programa Educar***. CDCC – São Carlos, USP. Disponível em: <http://educar.sc.usp.br/biologia/textos/>. Acesso em: 3 de dezembro de 2008.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo