

Rosalina Pereira de Almeida Araújo



Testes de toxicidade como instrumento na avaliação dos sedimentos de água doce do Estado de São Paulo



**São Paulo
2005**

Rosalina Pereira de Almeida Araújo

**Testes de toxicidade como instrumento na avaliação dos
sedimentos de água doce do Estado de São Paulo.**

São Paulo

2005

Rosalina Pereira de Almeida Araújo

**Testes de toxicidade como instrumento na avaliação dos
sedimentos de água doce do Estado de São Paulo.**

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade de São
Paulo, para a obtenção do Título de
Doutor em Ciências, na Área de Ecologia.

São Paulo
2005

Araújo, Rosalina Pereira de Almeida

Testes de toxicidade como instrumento na avaliação dos sedimentos de água doce do Estado de São Paulo.

Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo,
Departamento de Ecologia.

1. Testes de toxicidade. 2. Sedimento. 3. *Hyalella azteca*

I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Ecologia

Comissão Julgadora:

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Profa. Dra. Gisela Yuka Shimizu

Orientadora

AGRADECIMENTOS

A Prof. Gisela Yuka Shimizu gostaria de agradecer mais uma vez a oportunidade, orientação e confiança na realização deste estudo, mas acima de tudo pela amizade.

Ao apoio recebido pelo Departamento de Análises Ambientais, Divisão de Análises Hidrobiológicas, Setor de Ecotoxicologia Aquática, Setor de Águas Interiores da Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. Os meus sinceros agradecimentos pelas facilidades concedidas.

A todos os integrantes dos Setores de Ecotoxicologia Aquática e Comunidade Aquáticas e a Divisão de Análises Hidrobiológicas, gostaria de agradecer o apoio, carinho e incentivos.

Ao amigo Eduardo, pelo incentivo, apoio irrestrito, confiança e amizade.

A Mônica e Helena pela paciência em discutir, fornecer e reenviar muitos dos dados desse trabalho, mas acima de tudo pela amizade.

A Adriana, Daniel, Ivo, Liliana, Márcia, Sandra, Valéria, William pelo apoio técnico e por toda a paciência. Vocês me ajudaram a realizar esse trabalho.

A Gisela e Marta, minhas grandes incentivadoras, agradeço pelo apoio, carinho e amizade.

A Márcia, pelo apoio e dedicação na identificação da *Hyalella* e por todo o conhecimento técnico compartilhado.

Ao Prof. Mozeto, Patrícia, Fernanda, Ana Paula e Clarice, eu aprendi muito com vocês.

Ao Renato e Cláudia pela ajuda com os mapas.

Ao Aurélio, Daniel e Felipe que souberam entender as minhas ausências, agradeço de coração a torcida e o apoio para que eu pudesse realizar esse sonho.

A todos os amigos, que de uma forma direta ou indireta ajudaram na elaboração desse estudo, meus sinceros agradecimentos a todos vocês.

RESUMO

A necessidade de se considerar o sedimento na análise da qualidade de corpos de água motivou a realização desse estudo, visando contribuir para o estabelecimento de protocolos de testes com o anfípoda *Hyalella*, critérios para a avaliação da toxicidade de sedimentos de água doce e um quadro da situação atual das principais bacias do Estado de São Paulo, em termos ecotoxicológicos. Desta forma, inicialmente, foi comparada a sensibilidade de duas espécies de *Hyalella*, ou seja *H. azteca* e *Hyalella* sp., adotando diferentes substâncias e sedimentos. Também comparou-se a taxa de fecundidade e sobrevivência destas duas espécies em determinadas condições de cultivo. Após a escolha da espécie teste mais adequada, *Hyalella azteca*, foram avaliadas diferentes condições de cultivo (tipo e quantidade de alimento) e de ensaio (sistema estático e semi-estático, razão de sedimento e água 1:4 e 1:2, os critérios de avaliação sobrevivência e crescimento) com amostras de sedimento, apresentando diferentes graus de contaminação. Esse estudo permitiu estabelecer uma condição de cultivo (100 organismos em recipientes com 2,5L de água natural ou reconstituída, a planta aquática Elódea como substrato e, como alimento, ração de coelho granulada mais uma solução de ração de peixe digerida, levedura e óleo de prímula). Esta condição permitiu obter um número médio de jovens/fêmea/semana de *H. azteca* de 9,2 com um desvio padrão de 2,7. Para avaliar a condição de ensaio que melhor representaria as do ambiente, os resultados dos testes de toxicidade com *Hyalella azteca* foram comparados com dados químicos e da comunidade bentônica, de amostras coletadas no mesmo local e data. Dessa forma verificou-se que a melhor condição de teste de toxicidade, com a duração de 10 dias, com *H. azteca* foi em sistema semi-estático com trocas de água a cada dois dias, adotando a razão de sedimento e água de 1:2 e avaliando a mortalidade e o crescimento. A partir desses dados, foram elaborados critérios que expressam classes de qualidade de sedimentos, ou seja: bom, quando o sedimento não apresentou toxicidade; regular, efeito sub-letal (redução do crescimento); ruim, mortalidade <50% e péssimo, mortalidade ≥50%. Esse critério foi aplicado nos estudos realizados para avaliação da qualidade dos sedimentos em 12 das 22 das Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos, para os quais foram compilados e selecionados dados ecotoxicológicos, além de químicos e da comunidade bentônica, quando disponíveis. A análise integrada desses resultados, utilizando classes de qualidade para as variáveis químicas, ecotoxicológicas e índices para a comunidade bentônica, permitiu estabelecer uma melhor avaliação da qualidade dos sedimentos. Além disso, verificou-se a importância de se integrar outros dados, como deformidade em *Chironomus* e teste de mutagenicidade, para se confirmar ou não a presença e estabelecer possíveis grupos de compostos, que poderiam estar causando impactos na comunidade de organismos que vivem no sedimento. A integração dessas diferentes linhas de evidências é que permitiu o estabelecimento do diagnóstico ou das análises a serem realizadas para se determinar o tipo de agentes estressores que possam estar presentes em um dado local em estudo. Portanto, testes de toxicidade se mostraram úteis e necessários na caracterização e em estudos para avaliar e identificar a qualidade de sedimentos, e devem ser adotados no monitoramento, junto com outras variáveis.

Descritores: *Hyalella*, critérios ecotoxicológicos, avaliação da qualidade, sedimento, água doce.

ABSTRACT

The need to include the sediment evaluation in the quality assessment of surface waters, motivated this study, in order to contribute to the establishment of testing protocols with the amphipod *Hyalella*, to toxicity evaluation criteria. It was also motivated by a lack of a survey of the São Paulo State freshwater quality sediment watersheds situation in terms of toxicity. Initially, the sensitivity of two *Hyalella* species, *H. azteca* and *Hyalella* sp. (previously named *H. meinerti*), were compared using different substances and sediment samples. The rates of fecundity and survival of these two species were compared in standardized culture conditions. After the selection of the most suitable species, *Hyalella azteca*, different culturing conditions (food type and quantity) and assays design (semi-static and static system, water/sediment ratio 1:2 and 1:4, evaluation criteria for survival and growth) were studied using sediment with different contamination levels. The best culturing conditions were: 100 organisms/2.5 liters of natural or reconstituted water; the aquatic plant *Elodea* as substrate and rabbit granulated food plus a mixture of digested fish food, yeast and primula oil. Adopting this culturing conditions it was possible to obtain 9.2 juvenile *Hyalella azteca* for each female/week with a standard error of 2.7 for around three months. In order to evaluate the best test conditions, the toxicity tests results were compared with chemical analysis and benthic community data. These results were obtained with samples collected in the same sites and at the same time. The analyses of the results showed that the best condition for 10 days exposition time was semi-static system with water exchange every two days, 1:2 sediment/water ratio and evaluation of mortality and growth as endpoints. Based in these results, a toxicity criteria that express sediment quality classes were elaborate. The classes established were: good, when the sediment was non toxic, regular when sublethal effect were observed (growth reduction), bad, when the mortality was less than 50% and extremely bad, when mortality was equal or greater than 50%. These criteria were applied to analyze toxicity data from different sediment quality studies performed in 12 from the 22 Freshwater Watershed Management Units of São Paulo State that were compiled and selected, using ecotoxicological, chemical and benthic community data when available. Only using sediment classes for these three variables it was possible to establish the sediment quality of the survey data. Other variables (benthic deformities and mutagenicity) were considered important to confirm, or not, the presence and establish the possible chemical groups that could be causing effects on benthic organisms. Only by the integration of these different evidence lines it was possible to define the sediment quality or which analyses should to be done in order to point out the stressor types that could be present at the studied sites. The conclusion was that toxicity tests with aquatic organisms are reliable and necessary for the quality evaluation and identification of toxicity of the sediments and should be used in monitoring studies together with other tools.

Descriptors: *Hyalella*, ecotoxicological criteria, quality assessment, freshwater sediment.

SUMÁRIO

| | |
|-------------------------------------|---|
| 1. Introdução | 1 |
| 2. Objetivos | 5 |
| 3. Referências bibliográficas | 7 |

Parte 1. Método de cultivo e de teste de toxicidade de sedimento para *Hyalella*

Capítulo 1. Avaliação da reprodução, sobrevivência e sensibilidade das espécies *Hyalella azteca* e *Hyalella* sp.

| | |
|--|----|
| 1.1. Introdução | 13 |
| 1.2. Material e métodos | 15 |
| 1.2.1. Avaliação da reprodução e sobrevivência | 15 |
| 1.2.2. Avaliação da sensibilidade | 16 |
| 1.2.2.1. Teste de toxicidade aguda (48h), em solução aquosa com diferentes substâncias de referência | 16 |
| 1.2.2.2. Teste de toxicidade de sedimento, com duração de 10 dias | 17 |
| 1.3. Resultados | 17 |
| 1.3.1. Reprodução e sobrevivência ‘ | 17 |
| 1.3.2. Avaliação da sensibilidade | 23 |
| 1.3.2.1. Teste de toxicidade aguda (48h), em solução aquosa com diferentes substâncias de referência | 23 |
| 1.3.2.2. Testes de toxicidade de sedimento, com a duração de 10 dias | 23 |
| 1.4. Discussão | 25 |
| 1.5. Conclusões | 33 |
| 1.6. Recomendações | 34 |
| 1.7. Referências bibliográficas | 35 |

Capítulo 2. Avaliação dos procedimentos de cultivo de *Hyalella azteca* com relação ao tipo e quantidade de alimento

| | |
|--|----|
| 2.1. Introdução | 44 |
| 2.2. Material e métodos | 45 |
| 2.2.1. Razão entre machos e fêmeas | 46 |

| | |
|---|----|
| 2.2.2. Tipo e quantidade de alimento e número de organismos por cultura | 46 |
| 2.2.2.1. Experimento 1 | 46 |
| 2.2.2.2. Experimento 2 | 47 |
| 2.2.2.3. Experimento 3 | 48 |
| 2.2.3. Análise dos dados | 48 |
| 2.3. Resultados | 49 |
| 2.3.1. Razão entre machos e fêmeas | 49 |
| 2.3.2. Tipo e quantidade de alimento e número de organismos por cultura | 49 |
| 2.3.2.1. Experimento 1 | 49 |
| 2.3.2.2. Experimento 2 | 54 |
| 2.3.2.3. Experimento 3 | 57 |
| 2.4. Discussão | 59 |
| 2.5. Conclusões | 62 |
| 2.6. Recomendações | 62 |
| 2.7. Referências bibliográficas | 63 |

Capítulo 3. Teste de toxicidade de sedimento com *Hyalella azteca*: avaliação do método de ensaio e sua aplicação no estabelecimento da qualidade dos sedimentos de água doce

| | |
|---|----|
| 3.1. Introdução | 65 |
| 3.2. Material e Métodos | 66 |
| 3.2.1. Coleta | 66 |
| 3.2.2. Organismos-teste | 67 |
| 3.2.3. Avaliação da sensibilidade | 67 |
| 3.2.4. Testes de toxicidade de sedimento com <i>H. azteca</i> | 69 |
| 3.2.4.1. Avaliação do tipo de sistema (estático e semi-estático), razão sedimento e água (1:2 e 1:4) e critérios de avaliação (mortalidade e crescimento) | 69 |
| 3.2.4.2. Cálculo estatístico: avaliação dos resultados adotando o teste “t” e o “t por bioequivalência” | 70 |
| 3.3. Resultados | 71 |
| 3.3.1. Avaliação da sensibilidade | 71 |
| 3.3.2. Teste toxicidade de sedimento com <i>H. azteca</i> | 72 |
| 3.3.2.1. Determinação da constante de proporcionalidade “r” | 72 |
| 3.3.2.2. Comparação dos resultados adotando os testes “t” e “t por bioequivalência” | 72 |
| 3.3.2.3. Avaliação do tipo de sistema (estático e semi-estático), razão sedimento e água (1:2 e 1:4) e critérios de avaliação (mortalidade e crescimento) | 75 |
| 3.4. Discussão | 76 |
| 3.4.1. Avaliação da sensibilidade | 76 |
| 3.4.2. Teste de toxicidade de sedimento com <i>H. azteca</i> | 77 |

| | |
|--|----|
| 3.4.2.1 Constante de proporcionalidade “r” | 77 |
| 3.4.2.2. Tipo de sistema (estático e semi-estático), razão sedimento e água (1:2 e 1:4) | 78 |
| 3.4.2.3. Validação dos resultados: análise integrada dos dados químicos, biológicos e ecotoxicológicos | 80 |
| 3.5. Conclusões e recomendações | 88 |
| 3.6. Referências bibliográficas | 89 |

Parte 2. Avaliação ecotoxicológica da qualidade dos sedimentos de rios e reservatórios do Estado de São Paulo

Capítulo 4. Procedimentos de ensaio e critérios de aceitação dos resultados dos diferentes estudos efetuados no Estado de São Paulo

| | |
|--|-----|
| 4.1. Introdução | 96 |
| 4.2. Procedimentos de ensaios ecotoxicológicos com sedimentos de água doce | 97 |
| 4.2.1. Tipo de matriz | 97 |
| 4.2.2. Sistema | 97 |
| 4.2.3. Razão entre sedimento e água | 97 |
| 4.2.4. Organismo-teste | 98 |
| 4.2.5. Idade dos organismos | 99 |
| 4.2.6. Sensibilidade | 99 |
| 4.2.7. Água de diluição | 100 |
| 4.2.8. Sedimento controle e referência | 100 |
| 4.2.9. Outras variáveis | 101 |
| 4.3. Análise estatística dos resultados dos ensaios de toxicidade | 101 |
| 4.4. Critérios de aceitação dos ensaios ecotoxicológicos | 103 |
| 4.5. Referências bibliográficas | 105 |

Capítulo 5. Avaliação da qualidade dos sedimentos de rios e reservatórios do Estado de São Paulo, com ênfase nos dados ecotoxicológicos

| | |
|---|-----|
| 5.1. Introdução | 111 |
| 5.2. Material e métodos | 112 |
| 5.3. Avaliação da qualidade dos sedimentos do Estado de São Paulo | 117 |
| 5.3.1. URGHI 2 - Paraíba do Sul | 117 |
| 5.3.2. UGRHI 5 - Piracicaba, Capivari e Jundiá | 119 |
| 5.3.3. UGRHI 6 - Alto Tietê | 133 |

| | |
|---|------------|
| 5.3.3.1. Bacia do reservatório Billings | 140 |
| 5.3.3.2. Bacia do reservatório Guarapiranga | 146 |
| 5.3.3.3. Bacia do rio Cotia | 150 |
| 5.3.3.4. Alto Tietê - Zona metropolitana | 152 |
| 5.3.4. UGRHI 7 - Baixada Santista | 155 |
| 5.3.5. UGRHI 9 - Mogi-Guaçu | 156 |
| 5.3.6. UGRHI 10 - Sorocaba/Médio Tietê | 162 |
| 5.3.7. UGRHI 11 - Ribeira de Iguape/Litoral Sul | 171 |
| 5.3.8. UGRHI 12 - Baixo Pardo/Grande | 176 |
| 5.3.9. UGRHI 13 - Tietê/ Jacaré | 178 |
| 5.3.10. UGRHI 15 - Turvo/Grande | 183 |
| 5.3.11. UGRHI 16 - Tietê/Batalha | 185 |
| 5.3.12. UGRHI 19 - Baixo Tietê | 187 |
| 5.4. Conclusões | 189 |
| 5.5. Recomendações | 191 |
| 5.6. Referências bibliográficas | 198 |
| Capítulo 6. Considerações Finais | 205 |

Anexos

Anexo A.

Anexo B.

Anexo C.

Anexo D.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS

AIT: AVALIAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DA TOXICIDADE

ASTM: AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS

CCME: CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT

CETESB: COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL

CONAMA: CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE

MDS: MÍNIMA DIFERENÇA SIGNIFICATIVA

ISQG: "INTERIM SEDIMENT QUALITY GUIDELINES"

NOAA: NATIONAL OCEANIC AND ATMOSPHERIC ADMINISTRATION

OECD: ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT

PAHS: HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

PCBs: BIFENILAS POLICLORADAS

PEL : "PROBABLE EFFECT LEVEL"

SABESP: COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO

SVA: SULFETOS VOLATILIZÁVEIS EM ÁCIDO

TEL: "THRESHOLD EFFECT LEVEL"

UFSCAR: UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

USEPA: UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY

UNICAMP: UNIVERSIDADE DE CAMPINAS

TESTES DE TOXICIDADE COMO INSTRUMENTO NA AVALIAÇÃO DOS SEDIMENTOS

DE ÁGUA DOCE DO ESTADO DE SÃO PAULO

TESTES DE TOXICIDADE COMO INSTRUMENTO NA AVALIAÇÃO DOS SEDIMENTOS

DE ÁGUA DOCE DO ESTADO DE SÃO PAULO

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento econômico do Estado de São Paulo, intensificado a partir da década de 50, foi freqüentemente baseado num processo caótico de ocupação territorial e de industrialização, o que levou à invasão de áreas de proteção de mananciais e várzeas de rios que, somada a insuficiência dos sistemas de coleta e tratamento de esgotos industriais e domésticos, gerou uma condição crítica de qualidade dos recursos hídricos.

A grande diversidade de indústrias existentes no Estado de São Paulo faz com que haja uma variabilidade mais intensa nos contaminantes lançados aos corpos de água, que estão relacionados aos tipos de matérias-primas e processos industriais utilizados (CETESB, 2003).

No Estado de São Paulo, o lançamento de esgoto in natura nos corpos de água representa o maior desafio para o controle das águas superficiais. A poluição orgânica é preocupante nas UGRHIs mais populosas, como as do Alto Tietê, do Piracicaba/Jundiaí/Capivari e Mogi-Guaçu.

O deflúvio superficial urbano também representa uma fonte de poluentes, pois contém todos os poluentes que se depositam na superfície do solo. Quando da ocorrência de chuvas, os materiais acumulados em valas, bueiros, etc., são arrastados pelas águas pluviais para os cursos de água superficiais, constituindo-se numa fonte de poluição tanto maior quanto mais deficiente for a coleta de esgotos ou mesmo a limpeza pública (CETESB, 2003).

Nas regiões de desenvolvimento agrícola, o uso intensivo de defensivos agrícolas e insumos químicos acarretam problemas, sendo que seus efeitos dependem muito das práticas agrícolas adotadas em cada região e da época do ano em que se realizam a preparação do terreno e plantio a aplicação de fertilizantes, defensivos agrícolas e a colheita. A contribuição representada pelo material proveniente da erosão de solos intensifica-se quando da ocorrência de chuvas em áreas rurais (CETESB, 2003). Assim, estas práticas podem causar tanto a contaminação, como a eutrofização das águas, a bioacumulação na biomassa, e até a ocorrências de casos de mortandade de organismos aquáticos.

A preocupação com a água vem se tornado cada vez maior, sendo percebido por todos o impacto do crescimento da população no consumo e na degradação deste recurso. É preciso, desta forma, aperfeiçoar e melhorar cada vez mais os sistemas de monitoramento e controle.

O controle das fontes industriais através das substâncias específicas, de acordo com a legislação tanto estadual como federal, nem sempre acarretam uma melhora na qualidade da água, uma vez que o número de substâncias lançadas no ambiente é muito maior que os padrões estabelecidos na legislação, além disto, não é levado em consideração as interações entre os diversos componentes (GUERARDI-GOLDSTEIN, 1988). Por isso, a CETESB, órgão de controle ambiental do Estado de São Paulo, desenvolveu um modelo para controle de lançamento de efluentes líquidos baseado no da EPA (USEPA, 1991). Esta abordagem leva em consideração dados de análises físicas e químicas, testes de toxicidade, vazão representativa do efluente líquido e vazão crítica do corpo receptor. Estes dados permitem a determinação de um limite de emissão condizente com a capacidade do corpo receptor de assimilar poluentes em quantidades seguras para a manutenção e preservação da vida aquática (BASSOI et al., 1990; GUERARDI-GOLDSTEIN et al., 1990, 1991).

Apesar da realização de vários estudos (BERTOLETTI, 1989, 1990a, 1990b; BERTOLETTI et al., 1988, 1989; GALVÃO et al. 1988; GUERARDI-GOLDSTEIN, 1988; GUERARDI-GOLDSTEIN et al., 1981, 1983, 1985; NAVAS-PEREIRA, 1979, 1987; NIETO, 2000; ZAGATTO et al., 1988, 1990, 1992), que forneceram uma boa base técnica para a implantação de um sistema de controle de efluentes industriais, esta ferramenta tem sido pouco utilizada na avaliação da qualidade de efluentes lançados em corpos de água no Estado de São Paulo.

Somente em 2000 foi publicada pela Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, a resolução nº3 (SÃO PAULO, 2000), que estabelece o controle do lançamento de efluentes industriais baseada na abordagem citada anteriormente, ou seja esta resolução estabelece a toxicidade permissível para rios de classe dois baseada em testes de toxicidade. Segundo esta resolução, o órgão ambiental pode solicitar às indústrias, quando necessário, um Plano de Estudo e Implantação de Medidas Corretivas, que deve conter resultados de testes de toxicidade para três espécies, além da sua variabilidade ao longo do tempo e estudos de dispersão no corpo receptor.

Com relação ao monitoramento, a CETESB, desde a década de 70, desenvolve um trabalho de avaliação da qualidade ambiental dos corpos de água deste estado, através de uma rede de monitoramento que possui atualmente 290 pontos distribuídos em 22 bacias hidrográficas.

Durante mais de vinte anos, a qualidade da água foi avaliada visando o estabelecimento da qualidade do manancial para fins de abastecimento público. A metodologia de cálculo utilizada foi a do IQA - Índice de Qualidade da Água - que leva em conta nove variáveis químicas, sendo que os limites estabelecidos permite a classificação das águas em cinco categorias (excelente, boa, aceitável, ruim e péssima), refletindo principalmente a contaminação dos corpos hídricos ocasionada pelo lançamento de esgotos domésticos (CETESB, 2003). Além disto, é feita uma comparação dos parâmetros de qualidade com os referidos valores de referência da classificação do corpo de água correspondente com os limites estabelecidos pela resolução CONAMA nº 20 de 1986 (BRASIL, 1986).

Em 1995, foi proposto um índice complementar ao IQA para avaliação da qualidade da água, denominado Índice de Parâmetros Mínimos para Proteção de Comunidades Aquáticas (IPMCA). Este índice incorpora ponderações entre o grupo de parâmetros essenciais (OD, pH e testes de toxicidade) e o grupo de substâncias tóxicas (metais, fenóis e surfactantes). O grande avanço deste índice foi incorporar testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia*, o qual pode detectar a presença, ausência, interações e a biodisponibilidade de substâncias em concentrações capazes de causar efeito tóxico sobre a reprodução e a sobrevivência dos organismos (ZAGATTO et al., 1998, 1999). Os testes de toxicidade foram introduzidos na rede de monitoramento a partir de 2000 (CETESB, 2001).

Após discussões, em 1998 este novo índice foi revisto, tendo sido considerado importante se introduzir parâmetros que avaliassem a qualidade da água no que se refere ao processo de eutrofização. Este novo índice passou a ser denominado Índice do Estado Trófico (IET). Verificou-se também que era preciso desenvolver outros índices básicos para o monitoramento das ambientes aquáticos: o Índice de Qualidade das Águas para Abastecimento Público (IAP) e o Índice de Proteção da Vida Aquática (IVA), que engloba o IET e IPMCA, e o Índice de Balneabilidade. Estes índices foram introduzidos na Rede de Monitoramento de Qualidade da Água a partir do ano 2002 (CETESB, 2003).

A CETESB, em conjunto com a Universidade São Paulo, vem desenvolvendo estudos para o estabelecimento de índices de comunidades aquáticas (fitoplâncton, perifíton, zooplâncton, bentos e peixes) que seriam complementares ao IVA (SHIMIZU et al., 2002).

Estes estudos estão propiciando um entendimento cada vez maior dos ecossistemas aquáticos, no sentido de se poder verificar o que está sendo alterado e o por quê destas modificações estarem ocorrendo, permitindo desta forma que se possa atuar corretamente sobre as causas das alterações encontradas. Estas informações são importantes para que os órgãos gestores possam tomar decisões mais adequadas, baseadas não apenas no fato se os padrões legais de qualidade da água estão sendo seguidos ou não numa determinada bacia (CETESB, 2003).

Em função destes trabalhos, a partir de 2003, foi possível a inclusão dos índices de comunidades biológicas – fitoplâncton, zooplâncton e bentos - e a inserção da contagem de células de cianófitas, também denominadas cianobactérias, na análise das comunidades fitoplanctônicas, o que irá complementar a avaliação da qualidade do ambiente com vistas à proteção da vida aquática e ampliar sobremaneira o conhecimento dos corpos de água paulistas (CETESB, 2004).

Na revisão da resolução CONAMA nº 20 de 1986 (BRASIL, 2005), já é possível também verificar um grande avanço na legislação federal. Este documento estabelece que, para os corpos de água em que é contemplado a preservação da vida aquática e a aquacultura e pesca amadora, é necessária a realização de testes de toxicidade com organismos aquáticos. Assim, corpos de água de classe 1 e 2, tanto de água doce como salina e salobra, não devem apresentar, respectivamente,

toxicidade aguda e crônica a organismos aquáticos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, comprovado por ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido. Além disso, estabelece que efluentes líquidos não devem conferir características em desacordo com as metas progressivas e intermediárias do seu enquadramento e limites permissíveis para o seu lançamento, considerando que as eventuais interações não devam causar efeitos tóxicos. Estes critérios devem ser estabelecidos pelo órgão ambiental competente, baseados em testes de toxicidade com organismos aquáticos.

No entanto, é preciso avançar mais e desenvolver instrumentos adequados para o monitoramento da qualidade, não só da água como também dos sedimentos de ecossistemas aquáticos.

A CETESB vem adotando o teste de toxicidade com *Hyalella* na avaliação da qualidade de sedimentos, em conjunto com os resultados de análises físicas e químicas, assim como da estrutura da comunidade bentônica (CETESB, 2000; CETESB/SABESP, 1998, 1999; LAMPARELLI et al., 1996). Na análise integrada destes dados, tem sido utilizado o procedimento descrito por Chapman e colaboradores (CHAPMAN, 1986, 1989, 1990; CHAPMAN et al., 1997), conhecido como tríade de qualidade dos sedimentos. A grande vantagem desta abordagem é que, integrando vários parâmetros, o grau de incerteza para se determinar o nível de contaminação de uma área é bastante reduzido.

Numa cooperação entre a UFSCar, UNICAMP e CETESB, foi desenvolvido o projeto Qualised (1999-2003), cujo principal objetivo foi o levantamento das bases técnico-científicas para a elaboração e proposição de um programa de avaliação integrada e hierárquica da qualidade de sedimentos, tendo como objeto de estudo a cascata de represas do Rio Tietê (SP) (MOZETO et al., 2003).

Esses estudos possibilitaram a introdução do teste de toxicidade na avaliação da qualidade de sedimentos a partir de 2002, na rede de monitoramento da CETESB, abrangendo pontos localizados em bacias que apresentam maiores problemas de contaminantes no corpo de água.

Na Universidade Federal de São Carlos e na Escola de Engenharia de São Carlos (USP), foram realizados estudos para o aperfeiçoamento de métodos de avaliação da toxicidade de sedimentos com *Chironomus xanthus* (FONSECA, 1997) *Ceriodaphnia* e *Daphnia* (FONSECA, 1997), *Hyalella* (MARROQUIM, 2000) e peixes (MELETTI, 1997). Pesquisadores dessas instituições realizaram importantes trabalhos de investigação limnológica e ecotoxicológica na bacia hidrográfica do rio Mogi-Guaçu (BRIGANTE; ESPÍNDOLA, 2003), represa Salto Grande (ESPÍNDOLA et al., 2004) e bacia do rio Tietê (MOZETO et al., 2003), dentre outros.

Visando contribuir para o estabelecimento de protocolos de testes adequados para a avaliação da toxicidade de sedimentos de água doce, foram realizados no presente estudo ensaios com o objetivo de estabelecer qual dentre as espécies adotadas de *Hyalella*, ou seja *H. azteca* e *Hyalella sp.*, seria a mais adequada para ser utilizada em testes de toxicidade, qual o método de cultivo e ensaio recomendado para estas espécies. Para tanto, foram realizados experimentos para comparar a sensibilidade de *H. azteca* e *Hyalella sp.*, adotando diferentes substâncias e sedimentos, e a reprodução e sobrevivência em diferentes condições de cultivo (tipo de água, tipo e quantidade de alimento).

Após a escolha da espécie teste foram avaliadas mais algumas condições de cultivo (tipo e quantidade de alimento) e do ensaio como tipo de sistema (estático e semi-estático), proporção sedimento e água (1:4 e 1:2) e critério de avaliação (sobrevivência e reprodução) com amostras de sedimento coletadas em diferentes ambientes no Estado de São Paulo. Esses trabalhos possibilitaram a elaboração de um manual contendo diretrizes para a realização de testes de toxicidade com *Hyalella*.

Também será apresentado um panorama dos estudos realizados para avaliação da qualidade dos sedimentos de ecossistemas de água doce do Estado de São Paulo, com ênfase na avaliação da toxicidade, visando, desta forma, contribuir para o conhecimento dos locais onde seria necessário estudos mais detalhados para se avaliar melhor a contaminação dos sedimentos.

2. OBJETIVOS

Este estudo foi dividido em duas partes, a primeira visou o desenvolvimento metodológico, envolvendo avaliação do cultivo e de método para a realização de teste de toxicidade com *Hyalella* e, a segunda, a aplicação dos resultados dos testes de toxicidade de sedimentos na avaliação da qualidade de diferentes rios e reservatórios do Estado de São Paulo, sendo que os objetivos específicos foram:

Parte 1. Estabelecimento de método de cultivo e de teste de toxicidade com sedimento para *Hyalella*.

1. Estabelecer a espécie mais adequada de *Hyalella* (*H. azteca* ou *Hyalella sp.*) para a realização de teste de toxicidade de sedimento de água doce.
2. Avaliar o procedimento de cultivo de *Hyalella* com relação à água de diluição, tipo e quantidade de alimento.
3. Estabelecer procedimentos de teste para avaliar a toxicidade de sedimento utilizando *Hyalella*.

4. Elaborar manual de teste de toxicidade com organismos de água doce utilizando *Hyalella*.

Parte 2. Avaliação ecotoxicológica da qualidade dos sedimentos de rios e reservatórios do Estado de São Paulo.

1. Avaliar os procedimentos de teste adotados para determinar a toxicidade de um sedimento.
2. Propor uma abordagem para avaliar a qualidade do sedimento considerando testes de toxicidade, análises químicas e análise da comunidade bentônica.
3. Estabelecer um quadro da situação atual das principais bacias do Estado de São Paulo, em termos ecotoxicológicos.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASSOI, L. J.; NIETO, R.; TREMAROLI, D.; BERTOLETTI, E.; GHERARDI-GOLDSTEIN, E. **Implementação de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos**. São Paulo: CETESB, 1990. 7 p.

BERTOLETTI, E. Tratabilidade e toxicidade de efluentes industriais. **Engenharia Sanitária**, v. 28, n. 1, p. 38-41, 1989.

BERTOLETTI, E. Estimativa da carga tóxica de efluentes industriais. **Ambiente**, v. 4, n. 1, p. 54-61, 1990a.

BERTOLETTI, E. Toxicidade e concentração de agentes tóxicos em efluentes industriais. **Ciência e Cultura**, v. 42, n. 3/4, p. 271-277, 1990b.

BERTOLETTI, E.; ARAÚJO, R. P. A.; ZAGATTO, P. A.; GHERARDI-GOLDSTEIN, E. Toxicity evaluation of paper mill effluents. **Water Science and Technology**, v. 20, n. 2, p. 191, 1988

BERTOLETTI, E.; GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; NIPPER, M. G. Toxicidade de efluentes industriais na Grande São Paulo. **Revista DAE**, v. 49, n. 155, p. 63-70, 1989.

BRASIL. CONAMA. Resolução nº20, de 18 de junho de 1986. Dispõe sobre a classificação e enquadramento de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 de julho de 1986, p. 72-89.

BRASIL. CONAMA. Resolução nº357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 março 2005. Seção 1, n. 53, p. 58-63.

BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed). **Limnologia fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu**. São Carlos: RiMa, 2003. 278 p.

CETESB (São Paulo). **Serviços de coleta de amostras, análises e estudos de avaliação das características biológicas, físico-químicas e microbiológicas das águas e sedimentos do rio Juquiá: relatório final**. São Paulo: CETESB, 2000, 144 p. Contrato Sabesp 010/97.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo-2000**. São Paulo: CETESB, 2001. 214 p.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 2002**. São Paulo: CETESB, 2003. 263 p. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rel_aguas_int_2002/index.htm>. Acesso em 21 de maio 2004.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 2003**. São Paulo: CETESB, 2004. 268 p. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/agua_geral.asp>. Acesso em 21 de maio 2004.

CETESB (São Paulo); SABESP (São Paulo). **Monitoramento integrado bacias do Alto e Médio Tietê**: relatório final. São Paulo: CETESB, 1998. 312 p.

CETESB (São Paulo); SABESP (São Paulo). **Monitoramento integrado bacias do Alto e Médio Tietê**: avaliação da qualidade água, sedimento e peixes - relatório final. São Paulo: CETESB, 1999. 138 p. Contrato 020/97.

CHAPMAN, P. M. Sediment quality criteria from the sediment quality triad: an example. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 5, p. 957-964, 1986.

CHAPMAN, P. M. Current approaches to developing sediment quality criteria. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 8, p. 589-599, 1989.

CHAPMAN, P. M. The sediment quality triad approach to determining pollution-induced degradation. **The Science of the Total Environment**, v. 97/98, p. 815-825, 1990.

CHAPMAN, P. M.; ANDERSON, B.; CARR, S.; ENGLES, V.; GREEN, R.; HAMEEDI, J.; HARMON, M.; HAVERLAND, P.; HYLAND, J.; INGERSOLL, C.; LONG, E.; RODGERS JR, J.; SALAZAR, M.; SIBLEY, P.; SMITH, P. J.; SWARTZ, R. C.; THOMPSON, B.; WINDOM, H. General guidelines for using the Sediment Quality Triad. **Marine Pollution Bulletin**, v. 34, n. 6, p. 368-372, 1997.

ESPÍNDOLA, E. L. G. ; LEITE, M. A.; DORNFELD, C. B. (Ed). **Reservatório de Salto Grande (Americana, SP)**: caracterização, impactos e propostas de manejo. São Carlos: RiMa, 2004. 484 p.

FONSECA, A. L. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade com invertebrados**. 1997. 210 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

GALVÃO, J. B. F.; GRIECO, V. M.; ARAÚJO, R. P. A.; ORTOLANO M. R.; BERTOLETTI, E.; RAMOS, M. L. L. C. Treatability studies and toxicity reduction in pulp and paper mill effluents. **Water Science and Technology**, n. 20, v. 1, p. 149-160, 1988.

GHERARDI-GOLDSTEIN, E. Testes de toxicidade de efluentes industriais. **Ambiente**, n.2, v. 1, p. 33-38, 1988.

GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; FERNICOLA, N. A. G. G.; ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E.; ARAÚJO, R. P. A.; MOURA, M. C. N. **Contribuição da toxicologia ambiental para o controle da poluição das águas**. São Paulo: CETESB, 1981. 19 p. Trabalho apresentado ao 11º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Fortaleza, CE, 1981.

GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; ZAGATTO P. A.; ARAÚJO, R. P. A.; BERTOLETTI, E. Avaliação da toxicidade dos principais despejos industriais da região de ERQ-Suzano, através de ensaios biológicos. **Revista DAE**, n. 132, p. 42-48, 1983.

GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E.; ARAÚJO, R. P. A.; MARTINS, M. H. R. B.; LOMBARDI, C. C. **Estimativa da carga poluidora de efluentes industriais da região de Cubatão, através de ensaios biológicos com microcrustáceos e peixes**. São Paulo: CETESB, 1985. 10 p. Trabalho apresentado ao 13º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Maceió, AL., 1985.

GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. A.; ARAÚJO, R. P. A.; RAMOS, M. L. L. C. **Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos**. São Paulo: CETESB, 1990. 17 p.

GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. A.; ARAÚJO, R. P. A.; RAMOS, M. L. L. C. **Utilização de ensaios biológicos como instrumento de controle da poluição industrial**. São Paulo: CETESB, 1991. 13 p. Anexos.

LAMPARELLI, M. C.; KUHLMANN, M. L.; CARVALHO, M. C.; SALVADOR, M. E. P.; SOUZA, R. C.; BOTELHO, M. J. C.; COSTA, M. P.; MARTINS, M. C.; CARVALHO, P. M.; ARAÚJO, R. P. A.; HACHICH, E. M.; BARI, M.; CURSIO, R. L. S.; TOLEDO, JR, A. P.; LORENZETTI, M. D. L.; TRUZZI, A. C.; NAVAS-PEREIRA, D.; VARGAS-BOLDRINI, C. **Avaliação do complexo Billings: comunidades aquáticas, água, sedimento - out/92 a out/93**. São Paulo: CESTESB, 1996. 53 p.

MARROQUIM, A. C. G. **Ciclo de vida de *Hyaella meinerti* Stebbing, 1899 (Crustacea, Amphipoda) e avaliação de sua sensibilidade em testes ecotoxicológicos**. 2000. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2000.

MELETTI, P. C. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade aguda com peixes**. 1997. 148 f. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

MOZETO, A. A.; JARDIM, W. F.; ARAGÃO, G. U (Coord.). **Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos (CQS):** experimentos de campo e laboratório - relatório final. São Carlos: UFSCar, 2003, 465 p. Proc. No. 98/12177-0 Projeto QualiSed.

NAVAS-PEREIRA, D.; GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; MARTINS, M. T. **Bioensaios: Perspectivas de sua utilização na avaliação da qualidade das águas e no controle da poluição.** São Paulo: CETESB, Public. n. 86, 1979. 9 p. Trabalho apresentado ao 10º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Manaus, 1979.

NAVAS-PEREIRA, D.; GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; ZAGATTO, P. A.; SASSI, R. Bioensaios: Um programa a serviço do controle da poluição - Resultados Iniciais. **Ambiente**, v.1, n. 1, p. 32-36, 1987.

NIETO, R. Caracterização ecotoxicológica de efluentes líquidos industriais: ferramenta para ações de controle da poluição das águas. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA AMBIENTAL, 27., 2000. Disponível em: <<http://www.cepis.org.pe/bvsaidis/aresidua/i-067.pdf>>. Acesso em: 24 de maio 2004.

SÃO PAULO. Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. Resolução n. 3, de 22 de fevereiro de 2000. Implementa o controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no Estado de São Paulo. **Diário Oficial Executivo**, de 23 fevereiro de 2000. p. 14 Republicada em 24 de fevereiro de 2000, p. 28 e em 25 de fevereiro de 2000, p. 24.

SHIMIZU, G. Y.; LAMPARELLI, M. C.; JOHNSCHER-FORNASARO, G.; WATANABE, H. M.; SALVADOR, M. E. P.; COSTA, M. P.; CARVALHO, M. C; KUHLMANN, M. L.; SOUZA, R. C. R.; BERTOLETTI, E.; ARAÚJO, R. P. A.; BURATINI, S. V.; AGUJARO, L. F.; PRADELLA, D. Z. A.; FIALHO, R. C.; SOUZA, J. B.; BEVILACQUA, J. E.; MENEGON JR, N.; TRUZZI, A. C.; AVELINO, E. L.; BRANDIMARTE, A. L.; CARVALHO, M. A. J.; SENDACZ, S. **Estudos preliminares para o uso de índices biológicos no monitoramento de ambientes aquáticos continentais:** riachos e corredeiras na bacia hidrográfica do rio Atibaia. São Paulo: CETESB, 2002. 85 p.

USEPA (Estados Unidos). **Technical support document for water quality-based toxics control.** Washigton, D.C.: USEPA. 1991. (EPA/505/2-90-001, PB91- 127415).

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E.; GHERARDI-GOLDSTEIN, E. Toxicidade de efluentes industriais do rio Piracicaba. **Ambiente**, v. 2, n. 1, p. 39-42, 1988.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E.; RAMOS, M. L. L. C.; GOLDSTEIN, E. G.; SOUZA, H. B.; SILVA, E. P. **Redução da toxicidade em sistemas de tratamento secundário de desejos líquidos.** São Paulo: CETESB, 1990.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E.; GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; BERNHARD DE SOUZA, H. Avaliação de toxicidade em sistema de tratamento biológico de afluentes líquidos. **Revista DAE**, v. 52, n. 166, p. 1-6, 1992.

ZAGATTO, P. A.; LORENZETTI, M. L.; PEREZ, L. S. N.; MENEGON JR, N.; BURATINI, S. V. Proposal for a new water quality index. **Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie**, v. 26, p. 2449-2451, 1998.

ZAGATTO, P. A.; LORENZETTI, M. L.; LAMPARELLI, M. C.; SALVADOR, M. E.; MENEGON JR, N.; BERTOLETTI, E. Aperfeiçoamento dos índices de qualidade das águas. **Acta Limnológica Brasiliensia**, v. 11, n. 2, p. 111-126, 1999.

PARTE I

MÉTODO DE CULTIVO E DE TESTE DE TOXICIDADE COM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS PARA *HYALELLA*

CAPÍTULO 1

AValiação DA REPRODUÇÃO, SOBREVIVÊNCIA E SENSIBILIDADE DAS ESPÉCIES

Hyalella azteca e *Hyalella* sp.

1.1. INTRODUÇÃO

Os anfípodos possuem características adequadas para uso em testes de toxicidade, tais como: ciclo reprodutivo relativamente curto, maior sensibilidade a poluentes quando comparada a outros organismos, além de tolerar diferentes tipos de sedimento.

Dentre os anfípodos de água doce, a espécie *Hyalella azteca* tem sido utilizada em teste de toxicidade, para avaliar a qualidade de sedimentos de corpos de água ou de sedimentos contaminados em laboratório, nos Estados Unidos, Canadá e Europa. Atualmente, existem procedimentos normatizados e recomendados para o teste de curta duração, cujo tempo de exposição é de 10 dias, sendo que o critério de avaliação é a sobrevivência e o crescimento (ASTM, 2000; ENVIRONMENT CANADA, 1997; HILL et al., 1993; USEPA, 2000). Para avaliar os efeitos na reprodução, o período de exposição adotado é de 42 dias (ASTM, 2000; USEPA, 2000).

O gênero *Hyalella* é fácil de ser cultivado em condições de laboratório, apresenta boa sensibilidade e é tolerante a diferentes características físicas e químicas do sedimento como por exemplo granulometria (ASTM, 2000; BURTON et al., 1992; CALL et al., 1994; INGERSOLL et al., 1995; USEPA, 2000). É preciso, no entanto, cuidado na obtenção dos exemplares para dar início à cultura, uma vez que podem existir diferenças genéticas entre populações de uma mesma espécie, podendo acarretar mudanças na sensibilidade (DUAN et al., 1997, 2000a, 2000b). Por isso, é recomendada a identificação por um especialista (ASTM, 2000; CALL et al., 1994; EPA, 2000;) e, se possível, a identificação genética (DUAN et al., 1997).

Quanto ao cultivo, existem diversos procedimentos descritos na literatura. As condições de temperatura, luminosidade e fotoperíodo adotados estão na faixa de 20 a 25 °C, 100 a 1000 lux e 12h ou 16h de luz e 12h ou 8h de escuro. Com relação à água de manutenção, a natural é a mais utilizada, uma vez que alguns laboratórios não obtiveram sucesso no cultivo de *Hyalella* em água reconstituída (McNULTY, 1995; USEPA, 2000). Como substrato e alimento, os mais utilizados são folhas de fanerófitas (bordo, eucalipto entre outras), gaze de algodão, tela de material sintético ("nylon", Nitex®), ração para peixe e coelho, alimento composto contendo ração de peixe digerida, levedura e alfafa e suspensão de alga *Selenastrum capricornutum*, dentre outros. Cada laboratório estabelece um balanço entre a qualidade da água, o tipo de substrato, a quantidade e a qualidade de alimento. A maioria dos laboratórios adota cultura com idade desconhecida, só separando casais ou fêmeas ovadas quando da obtenção de jovens para teste. Porém, em culturas de idade conhecida é possível controlar a reprodução e sobrevivência dos adultos (ASTM, 2000; BORGMANN et al., 1989;

CALL et al., 1994; De MARCH, 1981; ENVIRONMENT CANADA, 1999; INGERSOLL et al., 1998; TOMASOVIC et al., 1995; USEPA, 2000).

É importante ressaltar que todos esses fatores podem afetar o crescimento e a reprodução de organismos quando cultivados em laboratório. Estudos realizados com *Hyalella azteca* mostram a influência da temperatura, recurso alimentar, densidade, qualidade da água, luminosidade, fotoperíodo e tipo de substrato na sobrevivência, crescimento, maturidade sexual, reprodução e fecundidade da espécie (FRANCE, 1992; MOORE; FARRAR, 1996; NEBEKER et al., 1992; NELSON; BRUNSON, 1995).

A ocorrência das espécies de *Hyalella* no Brasil ainda não está totalmente esclarecida. De acordo com o inventário feito por Wakabara e Serejo (1998), existe o registro de seis espécies: *H. azteca* (RJ e RS), *H. caeca* (SP), *H. longistila* (RJ), *H. meinerti* (AM e SP), *H. pernix* (GO, RJ, PR, RS) e *H. warmingi* (SP e MG). Além destas, Bousfield (1996) encontrou uma espécie nova no Paraná, denominada *H. brasiliensis*. Grosso e Peralta (1999), em sua revisão do gênero na América do Sul, não alteram os registros da espécie *H. azteca* efetuados por outros autores no Brasil. No entanto, González e Watling (2003a) citam que são oito as espécies conhecidas de *Hyalella* no Brasil: *H. brasiliensis*, *H. caeca*, *H. curvispina* (sinônimo de *H. pernix*), *H. gracilicornis*, *H. longistila*, *H. meinerti*, *H. montenegrinae*, *H. warmingi*. Portanto, não confirmam os registros de *H. azteca*. Esses autores, no entanto, descrevem nesse trabalho uma nova espécie, *H. pseudoazteca*, morfologicamente similar a *H. azteca* (Saussure, 1858). Pereira (2004) descreve e registra a ocorrência de *Hyalella dielaii* sp. nov (SP), citada anteriormente na literatura como *Hyalella serrana*.

No Brasil, estudos de avaliação da toxicidade de sedimentos têm sido realizados com *H. azteca* e *Hyalella* sp. (citada nos trabalhos como *H. meinerti*). *Hyalella azteca* foi utilizada para avaliar a toxicidade de sedimentos do estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande, RS (ZAMBONI, 2000), do Arroio Sapucaia, RS (PORTELA, 2002) e dos rios e reservatórios localizados no Estado de São Paulo (CETESB, 2003, 2004; COELHO-BOTELHO, em elaboração; MOZETO et al., 2003; NASCIMENTO, 2003; SHIMIZU et al., 2002), enquanto *Hyalella* sp. tem sido utilizada no Estado de São Paulo (ARAÚJO, 1998; CETESB, 2000; CETESB; SABESP, 1998, 1999; EYSINK et al., 2000; LAMPARELLI et al., 1996; MARROQUIM, 2000).

Com o objetivo de verificar qual dessas espécies seria a mais adequada para se utilizar em testes de toxicidade com sedimentos de água doce, foram realizados experimentos para avaliar a reprodução e a sobrevivência, em laboratório, de *H. azteca* e de *Hyalella* sp., por meio do fornecimento de diferentes alimentos. Ainda, para comparar a sensibilidade de ambas as espécies foram efetuados testes de toxicidade com algumas substâncias de referência e com amostras de sedimento coletadas em locais com diferentes graus de contaminação.

1.2. MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1. AVALIAÇÃO DA REPRODUÇÃO E SOBREVIVÊNCIA

Foram realizados 6 experimentos para avaliar a reprodução e sobrevivência de *H. azteca* e *Hyalella* sp. em diferentes condições de cultivo. Os exemplares que deram início às culturas de *H. azteca* foram obtidos com o Dr. Allen G. Burton da Wright State University, Dayton, OH e, aqueles que deram início às culturas de *Hyalella* sp., com a Prof. Dra. Odete Rocha da Universidade São Paulo, São Carlos, SP.

As duas espécies foram cultivadas em cristalizadores de 4L de vidro com cerca de 2,5L de água de diluição, sendo que em cada recipiente foram colocados 100 organismos. Como substrato e alimento foram fornecidos Elódea e ração de coelho (Cargill®) granulada (15 a 25 mg/cristalizador) às segundas, quartas e sextas e 2,5ml do alimento RL composto de ração para truta (Purina®), para peixe (Tetramin®, Tetra®) ou para coelho (Cargill® ou Purina®) digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®), preparado segundo CETESB (1991a). Neste alimento foi acrescentado óleo de prímula (0,1ml para cada 100ml de alimento composto).

No experimento I, o alimento digerido (RL) preparado com a ração para Truta (Purina®) foi comparado com o preparado com ração para coelho (Cargill®), sendo que nos outros experimentos o alimento fornecido foi o alimento digerido preparado com ração de peixe Tetramin® (Tetra®) Tabela 1.1). A água de diluição foi o meio MS, preparado segundo Buratini-Mendes (2002), nos experimentos I a V. No experimento VI foi utilizada a água natural coletada no reservatório Ribeirão do Pirai, localizado na bacia do rio Jundiá (Tabela 1.1). A faixa de dureza, tanto do meio MS como da água natural foi de 40 a 48 mg/L, condutividade 72 a 212 μ S e pH 7,2 a 7,6. O ajuste da dureza na água natural foi realizado segundo indicado em CETESB (1991 a) e no meio artificial foi introduzida uma maior quantidade de cálcio e magnésio (BURATINI-MENDES, 2002).

Semanalmente, no dia da troca de água, foi contado o número de adultos em cada cristalizador e separados os jovens, utilizando peneira de 145 μ m de malha. Esses organismos foram colocados em recipientes de vidro com capacidade de 1L contendo cerca de 900 ml de água de diluição e deixados por 7 dias nas mesmas condições da cultura, antes de serem contados. Nesse período, eles foram alimentados diariamente com 1,5ml de alimento composto (RL) e com uma pequena quantidade de ração de coelho granulada (quarta, sexta e segunda). Nos experimentos IV e V, o número de jovens foi contado no dia da separação dos mesmos das culturas e após uma semana. O período de observação das culturas foi de 4 a 5 meses.

Para avaliar as culturas, foi observado semanalmente: o início da reprodução, o número de adultos e o número de jovens produzidos por fêmea por semana. A razão entre macho e fêmea

adotada foi a de 1,2 e foi estabelecida como aceitável a ocorrência de 20% mortalidade dos adultos nas culturas.

Nos experimentos II, IV e VI, a contagem dos organismos jovens deu-se somente a partir das semanas 10 a 11, 7 a 8 e 8 a 9, respectivamente. Devido a problemas técnicos, não foi possível a contagem desde o início do aparecimento de jovens nas culturas nesses experimentos.

A temperatura de cultivo foi de $24 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16h de luz e 8 h de escuro e 500 a 1000Lux de luminosidade.

Tabela 1.1. Resumo do tipo de água e alimento adotado nos diferentes experimentos para avaliar a sobrevivência e reprodução de *H. azteca* e *Hyaella* sp.

| Experimento | Água | Espécie | Alimento | Data |
|-------------|-----------------|---------------------------------------|--|------------------|
| I | MS ^a | <i>H. azteca</i> x <i>Hyaella</i> sp. | 2,5 ml RL (coelho ou truta) ^c (diariamente) + ração de coelho (3x/semana) | set. a nov. 1999 |
| II | MS | <i>H. azteca</i> x <i>Hyaella</i> sp. | 2,5 ml RL (peixe Tetramin®) ^d (diariamente) + ração de coelho (3x/semana) | jan. a jun. 2000 |
| III | MS | <i>H. azteca</i> x <i>Hyaella</i> sp. | Idem | maio a set. 2000 |
| IV | MS | <i>H. azteca</i> x <i>Hyaella</i> sp. | Idem | set. a fev. 2001 |
| V | MS | <i>H. azteca</i> x <i>Hyaella</i> sp. | Idem | jan. a maio 2001 |
| VI | RP ^b | <i>H. azteca</i> x <i>Hyaella</i> sp. | Idem | jan. a maio 2001 |

a = meio MS

b = RP água do reservatório Ribeirão do Pirai, localizado na bacia do rio Jundiá

c = RL alimento composto de ração para coelho (Cargill®) ou truta (Purina®) digerida mais levedura + óleo de primula (0,1ml/100ml)

d = RL alimento composto de ração para peixe Tetramin® (Tetra®) digerida mais levedura + óleo de primula (0,1ml/100ml)

1.2.2. AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE

1.2.2.1. TESTE DE TOXICIDADE AGUDA (48H), EM SOLUÇÃO AQUOSA COM DIFERENTES SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA.

Foram realizados testes com os seguintes compostos: sulfato de cobre P. A. da Merck (5 testes), sulfato de zinco P. A. da E.M. Science (5 testes), dicromato de potássio P. A. da Merck (11 testes) e cloreto de potássio P. A. da Merck (4 testes). Para cada composto foram realizados testes simultâneos com as duas espécies, em sistema estático, com a duração de 48h. A água de diluição utilizada foi o meio MS, com dureza na faixa de 40 a 48mg/L de CaCO₃. Em cada recipiente teste foram colocados 100ml de solução teste e 10 organismos com 7 a 14 dias de vida. Os organismos foram alimentados no primeiro dia (entre 18 e 24h) com 0,5ml do alimento composto RL. O número de replicatas foi de 4 por concentração. O critério de avaliação adotado foi a concentração letal mediana aos organismos (CL50, 48h) calculada pelo método estatístico Trim Spearman Karber (HAMILTON et al., 1977).

Para comparar a sensibilidade das duas espécies foi calculado o valor médio da CL50, 48h, o coeficiente de variação e realizada análise de variância/covariância, utilizando o aplicativo Statsoft (1995). Nessa análise foi considerada a porcentagem de mortalidade em uma concentração comum às duas espécies nos respectivos testes.

1.2.2.2. TESTE DE TOXICIDADE DE SEDIMENTO, COM DURAÇÃO DE 10 DIAS.

Para a condução dos testes de toxicidade, com 10 dias de duração, utilizando *H. azteca* e *Hyalella* sp., foram obtidas amostras compostas dos sedimentos. As amostras de sedimento foram coletadas em 4 pontos em rios (Atibainha, Cachoeira, Atibaia e Tietê) e 8 pontos localizados em reservatórios (Barirí, Barra Bonita, Billings, Guarapiranga, Pedro Beicht, Ponte Nova, Promissão e Rasgão). Essas localidades fazem parte de projetos mais amplos de avaliação da qualidade desenvolvidos pela CETESB.

Amostras de sedimento para as análises químicas e de toxicidade foram coletadas na margem deposicional de rios e na zona profunda nos reservatórios, com pegadores do tipo Petit Ponar (232 cm²) em rios e Ekman-Birge, modificado por Lenz (200 cm²). Foram tomadas amostras em triplicatas, compostas a partir volumes iguais de cada réplica, em campo. Nos reservatórios foram considerados apenas os 6 cm superiores da coluna de sedimento. Os sedimento foram acondicionados em frascos descartáveis e mantidas sob refrigeração (4°C) até o momento da realização dos testes (no máximo até 14 dias após a coleta) (ASTM, 2000).

Com essas amostras, foram realizados testes de toxicidade com a duração de 10 dias com o anfípodo *H. azteca* e *Hyalella* sp., segundo metodologia ASTM (1993). Nesse procedimento, indivíduos jovens de 7 a 14 dias são expostos às amostras de sedimento (razão sedimento e água 1:4) durante dez dias, em sistema estático ou semi-estático com troca de água (2/3) a cada dois dias. Ao final deste período, registra-se a mortalidade dos organismos-teste. A água de diluição adotada foi meio MS ou água natural com 40 a 48mg/L de dureza. Foi verificada a significância da diferença da mortalidade das amostras em relação ao ponto de referência/controle (USEPA, 2000), aplicando-se o “Teste t por bioequivalência”, disponível no Programa TOXSTAT 3.5 (WEST; GULLEY, 1996), adotando o valor de 0,86 para a constante de proporcionalidade (r).

1.3. RESULTADOS

1.3.1. REPRODUÇÃO E SOBREVIVÊNCIA

Os resultados obtidos nos experimentos realizados para avaliar a reprodução e sobrevivência de *H. azteca* e *Hyalella* sp. estão apresentados na tabela 1.2, figuras 1.1 e 1.2, e, no Anexo A (Tabelas A1 a A6).

O início da reprodução para as duas espécies deu-se geralmente entre a 5^a e 6^a semana. A maior taxa de reprodução foi observada a partir da 8^a semana e foi mais freqüente a partir da 12^a semana. Com relação à mortalidade dos adultos, observa-se que ocorreu mortalidade acima de 20% a partir da 16^a semana, exceto nos experimentos III e VI na cultura de *H. azteca* (14^a a 15^a e 11^a a 12^a semana, respectivamente).

No experimento I, o alimento digerido (RL) preparado com ração para Truta (Purina®) foi comparado com o preparado com ração para coelho (Cargill®). Verificou-se no final do experimento, ou seja, após a 17^a a 18^a semana, que a sobrevivência dos organismos adultos foi superior a 80%, tanto nas culturas alimentadas com RL preparado com ração para Truta como naquelas alimentadas com RL preparado com ração para coelho (Tabela 1.1). O número de jovens produzidos por fêmea de *H. azteca* e *Hyalella* sp., alimentadas com RL preparado com ração para coelho foi de 9,2 e 4,2, e de 7,8 e 4,2 para as culturas alimentadas com RL preparado com ração para peixe, respectivamente. Verifica-se, pelos resultados obtidos (Figura A1), que a produção de jovens nas culturas de *H. azteca* foi superior a de *Hyalella* sp., independente do tipo de alimento. A cultura que produziu o maior número de jovens (16,2) foi a de *H. azteca* que recebeu como alimento RL preparado com ração para Truta. A reprodução na cultura de *Hyalella* sp. alimentada com RL preparado com ração para coelho foi apenas ligeiramente superior àquela alimentada com ração para Truta.

Nos experimentos II a V, foi fornecido como alimento RL preparado com ração para peixe Tetramin® (Tabela 1.1). Verifica-se na figura 1.1 que a produção de jovens de *H. azteca* foi superior a de *Hyalella* sp., sendo que o número médio de jovens (Tabela 1.1) variou de 10,0 a 5,0 e de 4,9 a 1,5, respectivamente. A ocorrência de 20% de mortalidade dos adultos foi observada no experimento III, a partir da 14^a semana para *H. azteca*, mas não para *Hyalella* sp., pois mesmo após 19 semanas a porcentagem de mortalidade dos adultos foi de 13%. Nos experimentos II, IV e V, essa porcentagem de mortalidade ocorreu apenas a partir da 17^a a 18^a semana, sendo que no experimento II isto não foi observado após 24 semanas para a cultura de *Hyalella* sp. No experimento V, é importante ressaltar que na 19^a e 20^a semana na cultura de *H. azteca* observou-se 100% de mortalidade, enquanto na de *Hyalella* sp. apenas 20%. Nos experimentos III e VI, a ocorrência de mortalidade dos adultos acima de 20% parece não ter afetado a produção de jovens.

Verifica-se na tabela 1.2 que nos experimentos IV e V, nos quais foi avaliada a sobrevivência dos jovens que, após uma semana nas mesmas condições de cultivo, ocorreu 20% de mortalidade em um número elevado de lotes no experimento V, tanto para *H. azteca* como para *Hyalella* sp., fato que demonstrou que as culturas não estavam em boas condições.

No experimento VI, no qual se adotou água natural, verificou-se maior mortalidade dos adultos na cultura de *H. azteca* a partir da 11^a a 12^a semana, enquanto que para *Hyalella* sp., isto só ocorreu entre as 16^a e 17^a semana. Nesse experimento, realizado com água natural, a porcentagem de sobrevivência dos adultos de *H. azteca* e *Hyalella* sp. foi menor do que o observado no

experimento realizado com o meio MS. A produção de jovens em água natural, adotando-se os mesmos alimentos, não acarretou numa melhora significativa (Figura 1.2).

O maior número de jovens por fêmea para *H. azteca* (16,0) foi obtido no experimento I em que se utilizou meio MS como água de diluição e alimento RL preparado com ração para peixe, enquanto para *Hyalella* sp. esse resultado foi 7,0 organismos, obtido no experimento I e II.

Tabela 1.2. Resultados dos experimentos realizados com diferentes alimentos e águas de diluição para avaliar a reprodução de *H. azteca* e *Hyalella* sp.

| Experimento | I | | | | II | | III | | IV | | V | | VI | |
|--|--------------------------|---------------------|--------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| | setembro a novembro/1999 | | setembro a novembro/1999 | | janeiro a junho/2000 | | maio a setembro/2000 | | setembro/2000 a fevereiro/2001 | | janeiro a maio/2001 | | janeiro a maio/2001 | |
| Espécie | <i>H. azteca</i> | <i>Hyalella</i> sp. | <i>H. azteca</i> | <i>Hyalella</i> sp. | <i>H. azteca</i> | <i>Hyalella</i> sp. | <i>H. azteca</i> | <i>Hyalella</i> sp. | <i>H. azteca</i> | <i>Hyalella</i> sp. | <i>H. azteca</i> | <i>Hyalella</i> sp. | <i>H. azteca</i> | <i>Hyalella</i> sp. |
| Tipo de água | Meio MS | Meio MS | Meio MS | Meio MS | Meio MS | Meio MS | Meio MS | Meio MS | Meio MS | Meio MS | Meio MS | Meio MS | Natural ^b | Natural |
| Tipo da ração utilizada no preparo do alimento RL ^a (marca) | Coelho (Cargill) | Coelho (Cargill) | Truta (Purina) | Truta (Purina) | Tetramin (Tetra) | Tetramin (Tetra) | Tetramin (Tetra) | Tetramin (Tetra) | Tetramin (Tetra) | Tetramin (Tetra) | Tetramin (Tetra) | Tetramin (Tetra) | Tetramin (Tetra) | Tetramin (Tetra) |
| Início da reprodução Idade dos org. expressa em semanas | 5 a 6 | 5 a 6 | 5 a 6 | 6 a 7 | 5 a 6 | 5 a 6 | 5 a 6 | 5 a 6 | 5 a 6 | 5 a 6 | 6 a 7 | 6 a 7 | 5 a 6 | 5 a 6 |
| Período de maior reprodução Idade dos org. expressa em semanas | 13 a 18 | 13 a 18 | 14 a 18 | 14 a 18 | 13 a 23 | 14 a 16 | 9 a 13 e 15 a 18 | 13 a 19 | 12 a 16 | 10 a 12 | 12 a 18 | 9 a 12 e 13 a 16 | 13 a 17 | 11 a 14 |
| > taxa de reprodução (Idade dos org. expressa em semanas) | 15 (17 a 18) | 6,3 (16 a 17) | 16,2 (17 a 18) | 7,1 (15 a 16) | 12,2 (21 a 22) | 7,2 (14 a 15) | 14,8 (12 a 13) | 5 (17 a 18) | 12,5 (18 a 19) | 3,5 (8 a 9) | 8,3 (15 a 16) | 6,2 (13 a 14) | 13,7 (13 a 14) | 5,2 (11 a 12) |
| N. médio jovens/fêmea/semana (Desvio padrão) | 9,2 (3,1) | 4,2 (1,4) | 7,8 (4,7) | 4,2 (1,8) | 10,0 (1,5) | 4,9 (1,3) | 8,6 (3,8) | 2,1 (1,3) | 7,0 (3,3) | 1,5(1,0) | 5,0 (1,6) | 3,6 (1,6) | 9,9 (2,0) | 2,8 (1,0) |
| >20% mortalidade dos adultos Idade dos org. expressa em semanas | >17 a 18 | >17 a 18 | >17 a 18 | >17 a 18 | >23 a 24 | >19 a 20 | 14 a 15 | >19 a 20 | 20 a 21 | 19 a 20 | 17 a 18 | 18 a 19 | 11 a 12 ^b | 16 a 17 |

a = RL ração de peixe ou coelho digerida acrescido de óleo de primula e levedura/dia mais ração de coelho granulada 3 vezes/semana

b = água natural: coletada no reservatório Ribeirão do Pirai

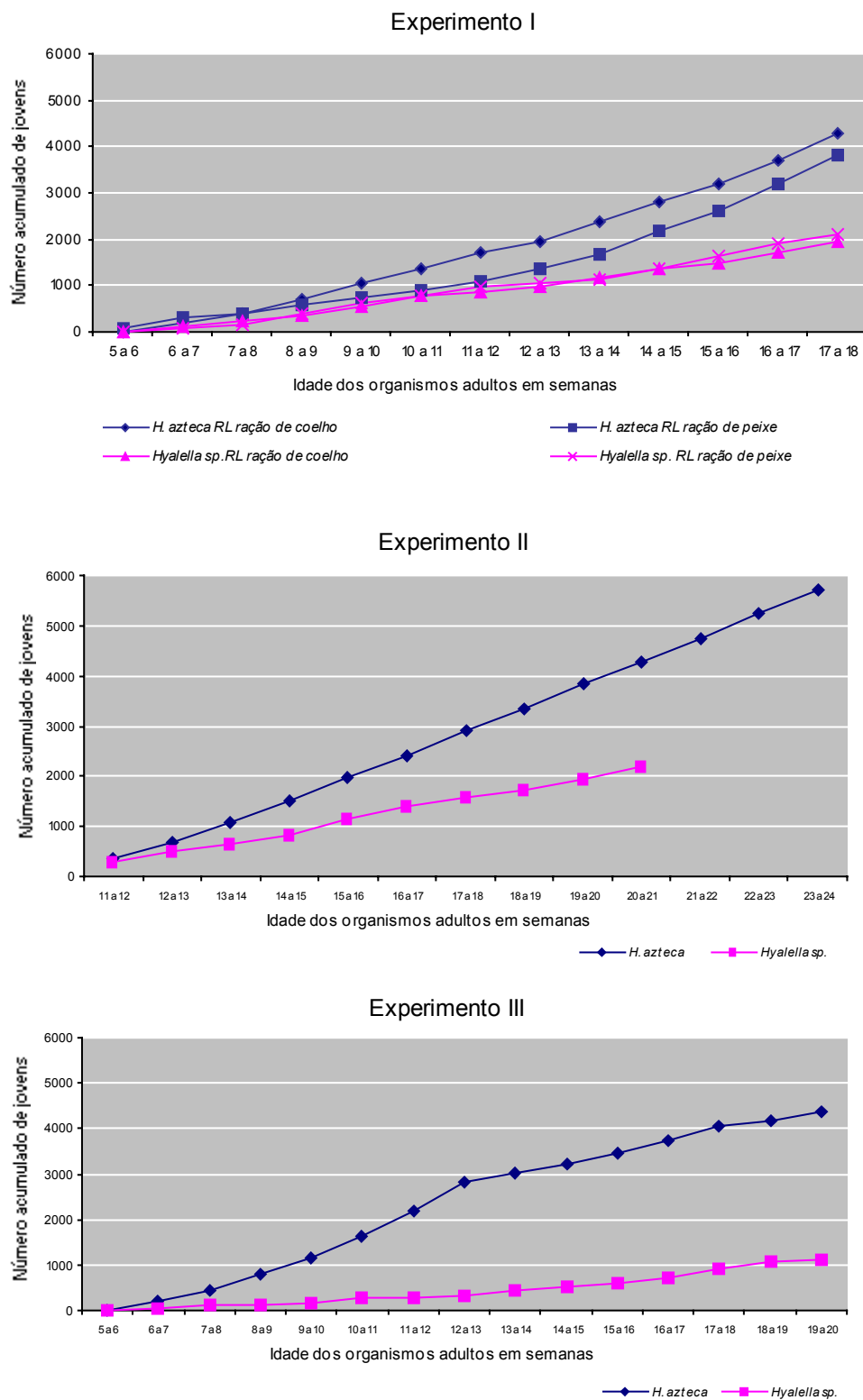


Figura 1.1 Gráficos da produção acumulada de jovens de *H. azteca* e *Hyalella* sp. por cultura dos experimentos I a III .

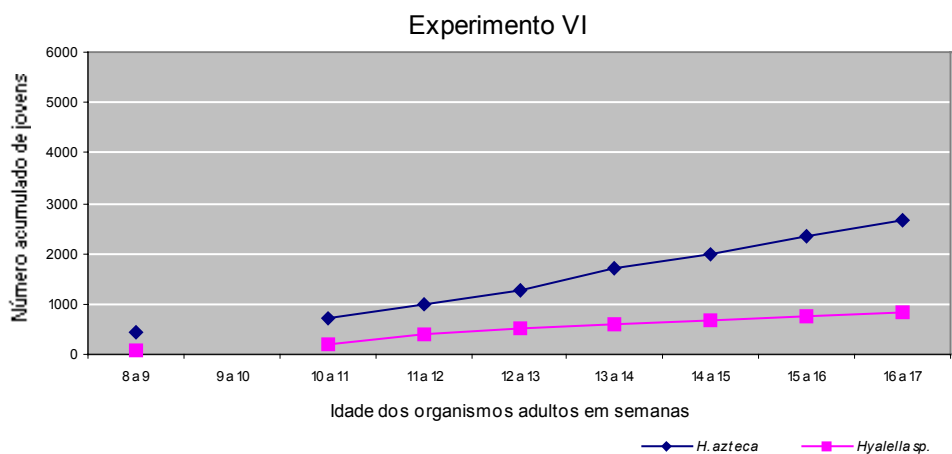
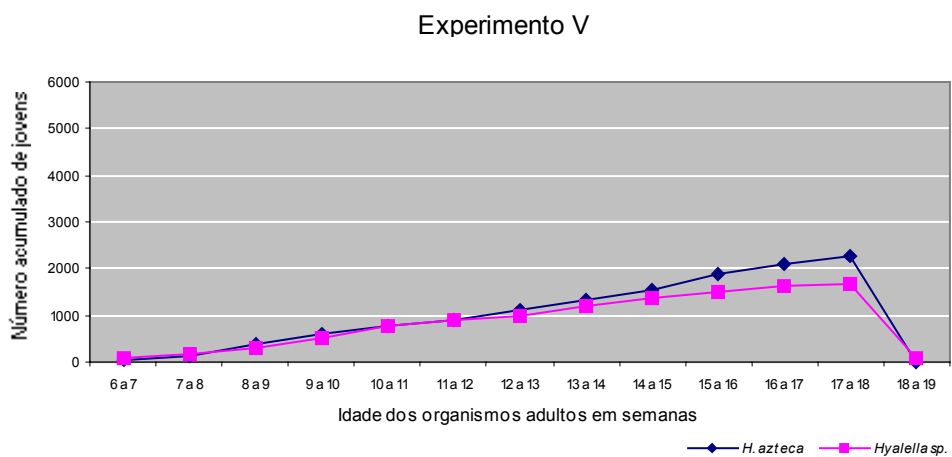
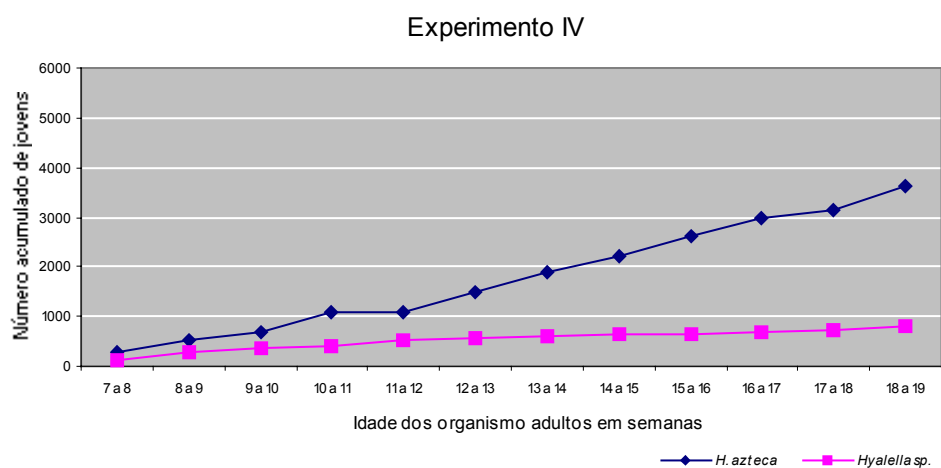


Figura 1.2. Gráficos da produção acumulada de jovens de *H. azteca* e *Hyalella sp.* por cultura dos experimentos IV a VI.

1.3.2. AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE

1.3.2.1. TESTE DE TOXICIDADE AGUDA (48h), EM SOLUÇÃO AQUOSA COM DIFERENTES SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA.

Com relação à avaliação da sensibilidade, os resultados obtidos estão apresentados na tabela 1.3 e figura 1.3. Verifica-se que as CL50, 48h expressas em mg/L de dicromato de potássio, sulfato de cobre, sulfato de zinco e cloreto de potássio foram, respectivamente, 2,04; 2,77; 5,80; 706,40 para *Hyalella* sp. e 0,41; 2,06; 4,07; 249,53 para *H. azteca*.

1.3.2.2. TESTES DE TOXICIDADE DE SEDIMENTO, COM A DURAÇÃO DE 10 DIAS.

Na tabela 1.4 são apresentados os resultados dos testes de toxicidade de sedimento com *H. azteca* e *Hyalella* sp. Verifica-se que, dos 31 testes realizados com as duas espécies, houve concordância em 26, sendo que *H. azteca* mostrou-se mais sensível em quatro casos e *Hyalella* sp. em apenas um.

Tabela 1.3. Resultados dos testes de toxicidade utilizando *H. azteca* e *Hyalella* sp. com as substâncias de referência: dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), sulfato de cobre ($CuSO_4$), sulfato de zinco ($ZnSO_4$) e cloreto de potássio (KCl).

| Substância | Parâmetros | <i>Hyalella</i> sp. | <i>Hyalella azteca</i> |
|---|------------------------------|---------------------|------------------------|
| K ₂ Cr ₂ O ₇ | CL50, 48h, mg/L ^a | 2,04 | 0,41 |
| | Desvio padrão | 0,33 | 0,08 |
| | Coefficiente de variação % | 16,17 | 19,51 |
| CuSO ₄ | CL50, 48h, mg/L ^b | 2,77 | 2,06 |
| | Desvio padrão | 0,67 | 0,63 |
| | Coefficiente de variação % | 24,18 | 30,58 |
| ZnSO ₄ | CL50, 48h, mg/L ^b | 5,80 | 4,07 |
| | Desvio padrão | 1,11 | 0,55 |
| | Coefficiente de variação % | 19,14 | 13,52 |
| KCl | CL50, 48h, mg/L ^c | 706,40 | 249,53 |
| | Desvio padrão | 59,67 | 9,19 |
| | Coefficiente de variação % | 8,44 | 3,68 |

a = valor médio de 11 testes

b = valor médio de 5 testes

c = valor médio de 4 testes

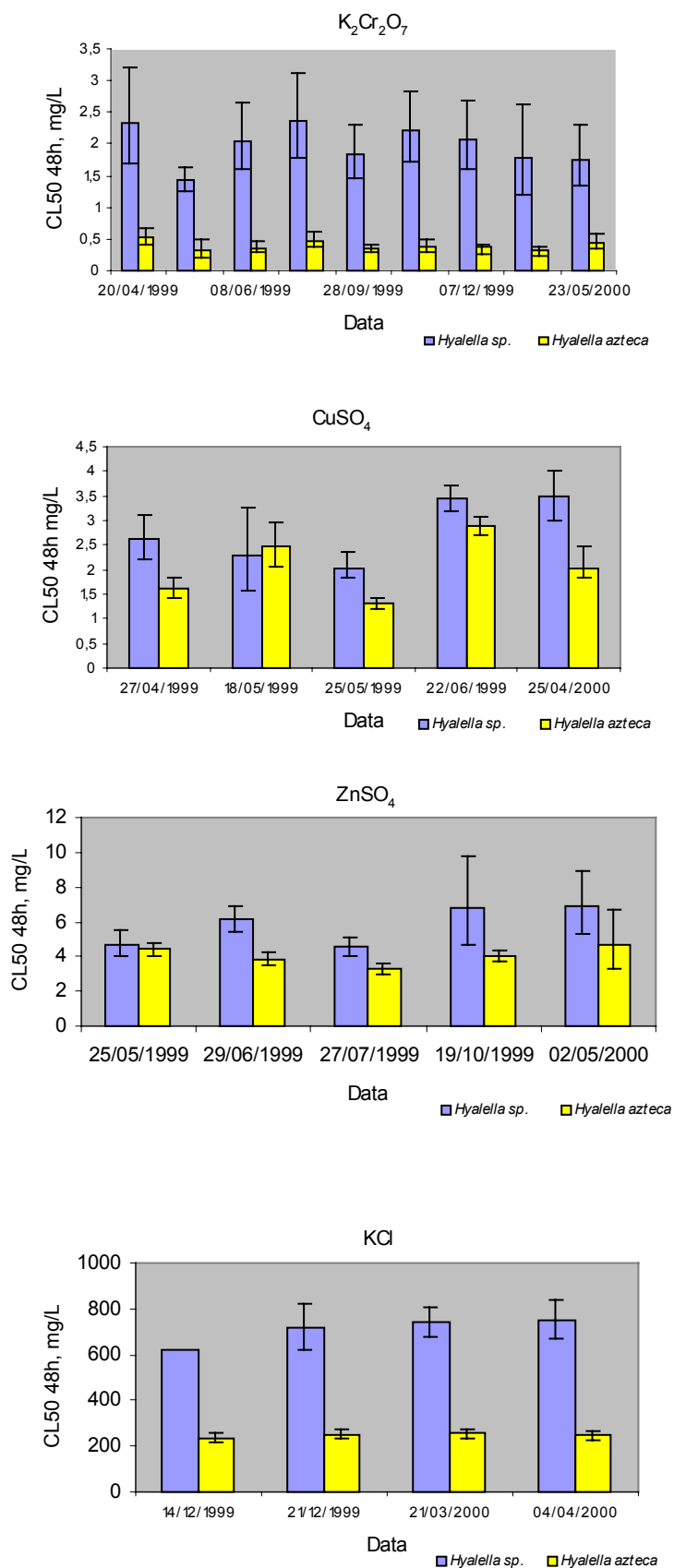


Figura 1.3. Resultados dos testes de toxicidade com dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇), sulfato de cobre (CuSO₄), sulfato de zinco (ZnSO₄) e cloreto de potássio (KCl), utilizando *H. azteca* e *Hyalella sp.*

Tabela 1.4. Resultados dos testes de toxicidade de sedimentos, com 10 dias de duração utilizando *Hyalella* sp. e *H. azteca*, coletados em diferentes rios e reservatórios do Estado de São Paulo.

| Local | Data coleta | Sistema | %Efeito | |
|--|-------------|---------------|------------------|---------------------|
| | | | <i>H. azteca</i> | <i>Hyalella</i> sp. |
| Rio Atibainha, a jusante do reservatório, município de Nazaré Paulista | mar/00 | Estático | 100 (T) | 5 (NT) |
| Rio Cachoeira, a jusante do reservatório, município de Piracaia | mar/00 | Estático | 5 (NT) | 5 (NT) |
| Rio Atibaia, município de Itatiba, a montante da captação da SABESP | mar/00 | Estático | 22,5 (NT) | 7,5 (NT) |
| Rio Tietê, próximo a captação da SABESP em Biritiba Mirim | mai/99 | Estático | 20 (NT) | 65 (T) |
| Reserv. Bariri; Corpo Central; próximo a barragem | out/00 | Semi-estático | 17,5 (NT) | 12,5 (NT) |
| | jun/01 | Semi-estático | 7,3 (NT) | 5 (NT) |
| Reserv. Barra Bonita, Corpo Central; próximo a barragem | jun/00 | Estático | 100 (T) | 7,5 (NT) |
| | out/00 | Semi-estático | 25 (NT) | 12,5 (NT) |
| Reserv. Billings, aprox. 2Km do Summit Control, corpo central | dez/97 | Estático | 17,5 (NT) | 2,5 (NT) |
| Reserv. Billings, no corpo central na direção do Bororé | mar/99 | Estático | 45 (T) | 75 (T) |
| | out/00 | Semi-estático | 12,5 (NT) | 10 (NT) |
| Reserv. Guarapiranga | nov/97 | Estático | 67 (T) | 90 (T) |
| | nov/97 | Estático | 40 (T) | 55 (T) |
| | nov/97 | Estático | 22,5 (NT) | 15 (NT) |
| | nov/97 | Estático | 5 (NT) | 2,5 (NT) |
| Reserv. Guarapiranga, no braço do Parelheiros | ago/98 | Estático | 12,5 (NT) | 12,5 (NT) |
| | mar/99 | Estático | 52,5 (T) | 7,5 (NT) |
| Reserv. Guarapiranga, no meio do corpo central | set/98 | Estático | 7,5 (NT) | 15 (NT) |
| Reserv. Pedro Beicht, corpo central a 2km da barragem | ago/98 | Estático | 5 (NT) | 5 (NT) |
| | mar/99 | Estático | 0 (NT) | 3,3 (NT) |
| Reserv. Pedro Beicht; corpo central; próximo a barragem | set/98 | Estático | 2,5 (NT) | 7,5 (NT) |
| | out/00 | Semi-estático | 2,5 (NT) | 5 (NT) |
| Reserv. Ponte Nova, braço à direita, cerca de 3km da barragem | abr/97 | Estático | 27,5 (T) | 2,5 (NT) |
| Reserv. Ponte Nova, aprox. 2km da barragem do corpo central | dez/97 | Estático | 7,5 (NT) | 10 (NT) |
| Reserv. Ponte Nova, braço do Rio Tietê, cerca de 6Km da barragem | ago/97 | Estático | 5 (NT) | 5 (NT) |
| | ago/97 | Estático | 2,5 (NT) | 10 (NT) |
| | ago/97 | Estático | 17,4 (NT) | 0 (NT) |
| Reserv. Promissão, Corpo Central; próximo a barragem | out/00 | Estático | 10 (NT) | 5 (NT) |
| | out/00 | Semi-estático | 5 (NT) | 22,5 (NT) |
| | jun/01 | Semi-estático | 15 (NT) | 5 (NT) |
| Reserv. Rasgão; Corpo central, próximo a barragem | out/00 | Semi-estático | 100 (T) | 100 (T) |

T= Tóxico

NT= Não Tóxico

1.4. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostraram que a taxa reprodução de *H. azteca* foi superior a de *Hyalella* sp. em todos os experimentos realizados (Tabela 1.2, Figuras 1.1 e 1.2), no entanto, a sobrevivência dos adultos de *Hyalella* sp. foi superior a de *H. azteca*, nas condições de cultivo estudadas. Não houve um aumento expressivo na taxa de reprodução com o alimento composto

preparado com ração digerida de peixe ou coelho (Experimento I). O número médio de jovens por fêmea de *H. azteca* por semana foi de $7,9 \pm 3,0$ e para *Hyalella* sp. de $3,4 \pm 1,4$, adotando-se a razão de macho e fêmea de 1,2 em meio MS. Em água natural (experimento VI), não foi observado aumento significativo na taxa de reprodução das duas espécies, tendo sido obtido um valor médio de jovens por fêmea para *H. azteca* de $9,9 \pm 2,0$ e para *Hyalella* sp. de $2,8 \pm 1,0$.

A taxa admissível de mortalidade dos adultos (<20%) pareceu adequada para se avaliar as condições da cultura. No entanto, a reprodução parece não ter sido afetada, mesmo quando a mortalidade dos adultos foi superior a esta porcentagem (Tabela A3 e A6, Anexo A). A EPA sugere ser até 50% uma porcentagem aceitável (USEPA, 2000).

Nebeker et al. (1992) verificaram, em culturas com água natural aerada (OD = 7,0mg/L), que o número médio de jovens por fêmea de *H. azteca* foi de 9,4. Taxa de reprodução semelhante foi observada por Othman e Pascoe (2001), ou seja, em média 9 jovens por fêmea, com número mínimo de 3 e máximo de 17, em culturas mantidas em água desclorada. O período de observação nesses experimentos foi 30 e, 40 a 42 dias, respectivamente (Tabela 1.5).

Moore e Farrar (1996) também obtiveram resultados semelhantes, ou seja, média de 9,3 jovens por fêmea, sendo que a razão macho e fêmea foi de 1,5. Nesse experimento foi acompanhado o desenvolvimento dos organismos jovens até a fase adulta por 49 dias (Tabela 1.5).

Tabela 1.5. Dados de literatura sobre a reprodução de *H. azteca* em experimentos realizados em diferentes condições.

| Número de Organismos/ Recipiente | Capacidade recipiente ou vol. de água/cultura | Tempo de observação dias | Tipo de água (dureza ^a) | Temperatura °C | Alimento/ substrato | Número médio de jovens/fêmea | Referência |
|----------------------------------|---|--------------------------|-------------------------------------|----------------|---|------------------------------|-----------------------|
| 10 casais | 400ml | 30 | Natural de poço (34,5±3,5) | 16,8 | <i>Artemia</i> e ração de coelho granulada (2 vezes/semana)/ tela de aço inox | 9,4 | Nebeker et al., 1992 |
| 1 casal (30 replicatas) | 20ml | 40 a 42 | Desclorada (123,4±1,5) | 22±1 | Tetramin® (2 vezes/semana)/ folhas de <i>Alnus glutinosa</i> (0,6cm ² /placa de Petri) | 9,0 | Othman e Pascoe, 2001 |
| 20 jovens (10 replicatas) | 1 L | 49 | Desclorada (65) | 23±1 | 0,6g ração de coelho/organismos a cada 3 dias/ gaze | 9,3 | Moore e Farrar, 1996 |

a = expressa em mg/L de CaCO₃

No documento da EPA (USEPA, 2000) afirma-se que é possível obter 500 jovens por semana de uma cultura com 60 organismos, adotando-se os procedimentos de cultivo com organismos de idade conhecida baseado em Call et al. (1994 apud USEPA, 2000) e USEPA (1991 apud USEPA, 2000), ou seja, 16,7 jovens/semana/fêmea, considerando-se a razão 1:1 de macho e fêmea. Num outro procedimento de cultivo com organismos de idade desconhecida sugerido pela EPA (USEPA, 2000), pode-se obter cerca de 800 jovens/dia separando-se 750 casais ou 4000 adultos de idade

desconhecida. Considerando-se que a proporção de machos e fêmeas seja de 1:1, a produção destas culturas seria de 2,1 e 0,4 jovens/dia/fêmea, respectivamente (Tabela 1.6).

Em um dos procedimentos descritos pela ASTM (2000), baseado no descrito por Brooke et al. (1993 apud ASTM, 2000) e USEPA Duluth (1993 apud ASTM, 2000), é citado que a taxa reprodutiva típica das culturas com 60 adultos pode ser tão alta quanto 900 jovens por semana (30 jovens/semana/fêmea considerando a razão 1:1 de macho e fêmea) (Tabela 1.6).

Call et al. (1994), no entanto, obtiveram em culturas com 50 adultos cerca de 75 a 100 jovens por semana e Lasier et al. (2000), colocando cerca de 500 adultos, retirados de uma cultura de idade desconhecida, em um recipiente com 6L de água e alimentação conseguiram ao redor de 600 jovens após 24h, ou seja 2,4 jovens/fêmea por dia considerando a razão de macho e fêmea de 1:1 (Tabela 1.6).

Tabela 1.6. Dados de literatura sobre a reprodução em culturas de *H. azteca*, em condições de laboratório.

| Número de Organismos/ Cultura | Capacidade do Recipiente ou vol. água/cultura | Temperatura °C | Alimento/ substrato | Número de organismos separados por cultura | Produção jovens /cultura | Número médio jovens/fêmea ^d (valor estimado/semana) | Referência |
|-------------------------------|---|----------------|--|--|--------------------------|--|---------------------|
| Desconhecido | 50L/aquário 80L | Não é citada | Tetramin (20g peso seco/ 50L duas vezes/semana/ folhas de bordo e substrato artificial | 750 casais | 800/dia | 2,1 em 24h (14,7/semana) | USEPA, 2000 |
| Desconhecido | 6L | Não é citada | Tetramin® (adultos) e YCT ^a + <i>Selenastrum capricornutum</i> | 500 adultos | 600/dia | 2,4 em 24h (16,8/semana) | Lasier et al., 2000 |
| 50 | 2L | 23±1 | YCT/ <i>Ankistrodesmus</i> sp. | 50 | 75 a 100/semana | 3 a 4/semana | Call et al.,1994 |
| 50 | 1L/ béqueres 2L | 23 | 5 ml YCT ^b + 5 ml <i>Selenastrum capricornutum</i> ^c / diariamente e 10 ml de cada no dia da troca | 60 adultos | 500/semana | 16,7/semana | USEPA, 2000 |
| 50 | 1L/ béqueres 2L | 23 | 10 ml YCT ^b + 10ml <i>Selenastrum capricornutum</i> ^c 3 vezes /semana | 60 adultos | 900/semana | 30/semana | ASTM, 2000 |

a = alimento composto YCT = Cerophyll®, ração de peixe e levedura.

b = este alimento deve conter 1,7 a 1,9g sólidos/ml

c = solução algácea de *Selenastrum capricornutum* com 3×10^7 células /ml

d = considerando a razão macho e fêmea de 1:1

Marroquim (2000) estudou o ciclo de vida de *Hyalella* sp. em condições laboratoriais e naturais (tanques). Como alimento e substrato foram utilizadas folhas de *Eucalyptus* sp., ração para peixe Tetramin® moída ou o alimento composto de ração para peixe digerida, levedura e alfafa (YCT). Estes alimentos foram adicionados às culturas 3 a 4 vezes por semana. No laboratório o acompanhamento do desenvolvimento e da reprodução dos organismos foi realizado em recipientes contendo dois machos e uma fêmea, com 300ml de água na temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas de escuro e 12 horas de luz. Em condições naturais, a maturação sexual foi observada a partir do 19º dia, podendo demorar até um mês e o número de jovens por fêmea foi de $9,15 \pm 4,0$. Nas

culturas em condições de laboratório entretanto, o número de jovens por fêmea por semana foi bem menor, ou seja, 4 a 5 quando fornecido YCT e apenas 2 a 3 jovens/fêmea/semana quando fornecido Tetramin ou folhas de *Eucalyptus* sp.

Verifica-se que os valores médios de jovens obtidos por fêmea por semana, tanto de *H. azteca* como de *Hyalella* sp., estão dentro da faixa obtida por outros autores, independente das condições de cultivo. Apenas em um dos procedimentos recomendados pela ASTM, baseado no recomendado por Brooke et al.(1993 apud ASTM, 2000) e pela USEPA Duluth (1993 apud ASTM, 2000), é que se obteve um número bem mais elevado de jovens por cultura (Tabela 1.6).

Quanto à água utilizada no cultivo, verificou-se no presente trabalho que o meio MS modificado (sem a adição de glicilglicina e com acerto de dureza para a faixa de 40 a 48 mg/L de CaCO₃, pela adição de sais de cálcio e magnésio) é adequado para o cultivo de *Hyalella*, pois foi observada uma boa sobrevivência e reprodução dos organismos por um período igual ou superior a 16 semanas. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos com água natural coletada no reservatório Ribeirão do Piraí, considerada de boa qualidade (BURATINI-MENDES, 2002). Borgmann (1996) também constatou que no meio desenvolvido por Elendt e Bias (1990), com algumas modificações (sem adição de rubídio, lítio e estrôncio, tiamina e biotina), a reprodução de *H. azteca*, num período de observação de 4 semanas, foi semelhante ao obtido em água natural. É importante ressaltar que o meio proposto por Elendt e Bias (1990) é uma modificação do meio MS (foi retirado o tampão glicilglicina e ajustada a quantidade de sais de cálcio e magnésio). Este meio é recomendado pela OECD para o cultivo e testes com *Chironomus* (OECD, 2001).

Um decréscimo na reprodução foi observado entre janeiro de 2000 e janeiro de 2001 para as duas espécies (Tabela 1.2), que não pode ser atribuído apenas as possíveis diferenças na qualidade da água. No final deste período, foi observado que o fermento seco poderia ser um dos responsáveis por esse efeito, uma vez que o mesmo não estava sendo estocado adequadamente, ou seja, em pequenas quantidades e hermeticamente selado. Verificou-se, após a introdução desse procedimento, uma melhora nas condições das culturas.

Apesar de Smith et al. (1997) sugerirem e a EPA (USEPA, 2000) recomendar o uso da água reconstituída, obtida pela mistura de apenas poucos sais, essa formulação não se mostrou adequada para ser adotada no cultivo e em testes de toxicidade com *Hyalella*, com períodos de exposição acima de 10 dias de duração (KEMBLE, 1994, 1998, 1999; McNULTY, 1995). Segundo Borgmann (1996), seria necessário adicionar bromo na formulação proposta pela EPA, uma vez que os outros íons, considerados essenciais para promover a sobrevivência e o crescimento de *Hyalella*, estão presentes nessa água reconstituída .

Portanto, apesar do esforço de se obter uma água reconstituída simplificada para ser adotada no cultivo e testes de toxicidade, os resultados tem mostrado que é necessário a adição de macro e

micronutrientes, como no meio MS, para se obter culturas contínuas com boa reprodução e baixa mortalidade.

Quanto à sensibilidade, verifica-se que a *Hyalella* sp. apresentou valores de CL50, 48h maiores do que *H. azteca* para todas as substâncias testadas (Tabela 1.3 e Figura 1.3). Os coeficientes de variação das CL50, 48h obtidas nos testes realizados foram semelhantes para ambas espécies, sendo que tais coeficientes situaram-se na faixa aceitável para testes ecotoxicológicos, ou seja, 30% conforme estabelecido pelo Environment Canada (1990) e que é aceita pela maioria dos pesquisadores na área de ecotoxicologia (MOORE et al., 2000). Comparando as porcentagens de mortalidade para as duas espécies e, considerando as diferentes concentrações e substâncias como covariadas na análise de variância/covariância, verificou-se que há diferença significativa de resposta, sendo que *H. azteca* foi de 50 a 70% mais sensível que a *Hyalella* sp. para o grupo de substâncias estudado.

Estudos comparativos da sensibilidade entre grupos taxonômicos diversos mostram que *H. azteca* é bastante sensível a contaminantes isolados e a misturas complexas (USEPA, 2000; ASTM, 2000). Dados de literatura sobre testes com *Hyalella* realizados com diferentes metais e compostos clorados apresentam, geralmente, a duração de 96h e 10 dias (ASTM, 2000; USEPA, 2000; MARROQUIM, 2000) e não 48h, como no presente estudo. Portanto, não foi possível a comparação com os resultados analíticos da literatura, devido à diferença de tempos de teste do adotado no presente trabalho.

No entanto, verifica-se que a CL 50, 96h do cobre estabelecida por Marroquim (2000) para *Hyalella* sp. para água natural (tipo mineral) com dureza de 7,4 a 57mg/L de CaCO₃ e de 62,7 a 91,2 mg/L de CaCO₃, foi de 357,14 ± 24,73 µg/L de Cu e 1316,50±228,40 µg/L de Cu, respectivamente. Dados da literatura, apesar de diferirem das condições deste trabalho, mostram que *H. azteca* é mais sensível ao cobre para testes realizados com o mesmo período de exposição (COLLYARD et al., 1994; SCHUBAUER-BERIGAN et al., 1993; SUEDEL et al., 1996) (Tabela 1.7).

Tabela 1.7. Resultados de CL50, 96h de sulfato de cobre para *Hyalella azteca*.

| Idade dos organismos teste | Água de diluição | | CL50, 96h (µg de Cu) | Referência |
|---|-------------------------------------|------------------|-------------------------|--------------------------------|
| | Dureza (mg/L CaCO ₃) | pH (unidades) | | |
| 2 a 3 semanas | 80,0 | 6,9 a 8,0 | 65,6 | Suedel et al., 1996 |
| Organismos com diferentes idades, 0 a 2 dias até 24 –26 dias | 90,0 | 7,4 a 8,1 | 35 a 55 | Collyard et al., 1994 |
| 7 a 14 dias | 280,0 a 300,0 | 6,0 a 6,5 | 17 (10 a 28) | Schubauer-Berigan et al., 1993 |
| | | 7,0 a 7,5 | 24 (4,9 a 120) | |
| | | 8,0 a 8,5 | 87 (65 – 120) | |

Com relação aos testes de toxicidade de sedimento, verifica-se na tabela 1.4 que existe variação dos resultados quando se analisa a porcentagem de efeito observado no teste. A análise estatística dos resultados, no entanto, mostra que em 84% das amostras o resultado analítico (em termos da significância do efeito) foi idêntico para as duas espécies. Nos sedimentos dos reservatórios Ponte Nova (ponto próximo à barragem), Pedro Beicht e Promissão, considerados referência/controle, não foi observado toxicidade, tanto para *Hyalella* sp. como para *H. azteca*. No entanto, a amostra coletada no rio Tietê, próxima à captação da SABESP em Biritiba Mirim, considerada como ponto controle para a bacia do rio Tietê, tanto para a comunidade bentônica como em termos químicos, foi verificada toxicidade aguda para *Hyalella* sp. (CETESB; SABESP, 1998). Portanto, os resultados obtidos mostram que, apesar de não terem sido observadas alterações na cultura, o lote de organismos utilizados no teste não estavam em condições adequadas. Nesse caso foi obtido um resultado falso positivo.

Nos sedimentos coletados no rio Atibainha, a jusante do reservatório de Atibaia, reservatório Barra Bonita, reservatório Guarapiranga (março de 99) e reservatório Ponte Nova, braço da margem direita, houve discordância de resultado, sendo que a *Hyalella azteca* foi muito mais sensível.

Na tabela 1.8 são apresentados os enquadramentos dos resultados das análises químicas e da comunidade bentônica realizadas no mesmo período. Verifica-se que o níveis encontrados, segundo os critérios provisórios canadenses estabelecidos pela Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME, 1999), estiveram entre os valores de ISQG (do inglês "Interim Sediment Quality Guidelines") que é a concentração abaixo da qual raramente são esperados efeitos adversos para organismos aquáticos e PEL (do inglês "Probable effect level"), que é a concentração acima da qual frequentemente são esperados efeitos adversos para organismos aquáticos, ou seja, na faixa de valores em que efeitos adversos podem eventualmente ocorrer. A análise da comunidade bentônica mostrou-se boa, no caso do rio Atibainha, e regular na represa de Barra Bonita.

A análise integrada destes resultados, levando em consideração o resultado obtido com *H. azteca*, segundo o método da matriz tabular de decisão, proposto por Chapman (1990, 1996), indica que contaminantes ou condições não analisadas nesses pontos têm potencial para causar degradação do ambiente.

O diagnóstico baseado no resultado do teste com *H. azteca*, apesar de mais conservativo, parece o mais indicado, pois levaria a recomendação de uma investigação mais detalhada para se verificar se nestes locais não estariam presentes outros contaminantes ou condições que não foram analisados nestes estudos.

De forma geral, a escolha de um organismo em ensaios ecotoxicológicos é baseada em uma série de critérios como: sensibilidade, importância ecológica e/ou comercial e recreacional, facilidade de cultivo em laboratório, existência de informações biológicas da espécie. Sempre que possível,

deve-se adotar espécies nativas e representativas do ecossistema estudado (RAND et al, 1995). No entanto, não existe uma espécie indicada para todos os ambientes e nem para todos os tipos de estudo. É importante levar em consideração o objetivo do estudo para que se possa escolher as espécies mais adequadas (RAND et al., 1995).

Tabela 1.8. Dados químicos e biológicos de sedimentos coletados em diferentes corpos de água do estado de São Paulo.

| Local | Data Coleta | Contaminantes Químicos | | Bentos | Referência |
|--|-------------|---------------------------|--------|---------|----------------------|
| | | >ISQG e <PEL ^a | >PEL | | |
| Rio Atibainha, a jusante do reservatório, município de Nazaré Paulista | mar./00 | Cd | Nenhum | Boa | Shimizu et al., 2002 |
| Res. Barra Bonita, corpo central, próximo à barragem | jun./00 | Cd, Ni | Nenhum | Regular | Mozeto et al., 2003 |
| Res. Guarapiranga, no braço do Parelheiros | ago./98 | Pb, Cr, Cu | Nenhum | - | CETESB; SABESP, 1999 |

a = Critérios provisórios avaliação da qualidade de sedimentos adotados pela Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME, 1999): ISQG (do inglês "Interim Sediment Quality Guidelines") concentração abaixo da qual raramente são esperados efeitos adversos sobre os organismos aquáticos, PEL (do inglês "Probable Effect Level") concentração acima da qual freqüentemente são esperados efeitos adversos severos sobre organismos aquáticos.

A comparação da sensibilidade entre espécies exóticas e nativas do mesmo gênero tem mostrado resultados semelhantes. Como exemplo, podemos citar o estudo realizado com *Daphnia similis* e *D. magna*, comparando diversas substâncias químicas e resultados de testes com efluentes industriais. Os dados obtidos mostram que ambas as espécies apresentam sensibilidade similar com algumas exceções. Estas diferenças não foram consideradas expressivas, sob o ponto de vista ecológico, uma vez que as razões entre as CE50 foram inferiores a duas vezes. A indicação da *D. similis* como organismo teste baseou-se no fato de ser uma espécie que se adapta bem em águas moles (BURATINI et al., 2004), características do estado de São Paulo (ARAGÃO et al., 2003).

A comparação da sensibilidade das espécies *Ceriodaphnia dubia*, *C. cf. reticulata* e *C. cornuta* ao cloreto de sódio, realizada por LORENZETTI et al. (1991), evidenciou que *C. dubia* e *C. cf. reticulata* foram mais sensíveis que *C. cornuta*. Esse dado, acrescentada à facilidade de manutenção e ao porte maior destas espécies, levou à indicação da *C. dubia* e *C. cf. reticulata* como organismos teste mais adequados a serem adotados pela CETESB em testes crônicos.

Baseada nestes resultados, a Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB), órgão de controle ambiental do Estado de São Paulo, tem adotado espécies exóticas como *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Chlorella vulgaris* (CETESB, 1991a, b, 1994). No caso de testes de toxicidade aguda com peixes, são indicadas espécies pertencentes à família *Characidae* (*Cheirodon notomelas*, *Hemigramus marginatus* e *Poecilia reticulata*) (CETESB, 1990 a, b, c) e, no caso de teste crônico, a espécie *Danio rerio* (BERTOLETTI, 2000).

No entanto, existem importantes estudos sobre a biologia e sensibilidade de espécies nativas do estado de São Paulo, como por exemplo: *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia laevis* (FONSECA, 1991), *Girardia tigrina* (SÁFADI, 1993), *Chironomus xanthus* (FONSECA, 1997) e *Prochilodus scrofa*, *Cheirodon stenodon*, *Hyphessobrycon bifasciatus* (MELETTI, 1997) e *Hyalella* sp. (citada como *H. meinerti* em ARAÚJO, 1998; MARROQUIM, 2000).

A ABNT, órgão de padronização brasileiro, estabelece procedimentos de teste para o gênero (*Daphnia* spp e *Ceriodaphnia* spp) ou grupo de organismo-teste (peixe), não citando mais, como nas normas anteriores, uma única espécie a ser adotada (ABNT, 2004a, 2004b, 2005). No caso do teste com *Daphnia*, são sugeridas as espécies *D. similis* e *D. magna*, com *Ceriodaphnia*, *C. dubia* e *C. silvestrii* e peixes, *Danio rerio* e *Phimephales promelas*.

No caso de *Hyalella*, a sistemática desse gênero encontra-se em fase de revisão. Nos últimos dez anos têm sido realizados estudos observando espécimes coletados em campo e o material de diversas partes do mundo que estão depositados em museus (BOUSFIELD, 1996; GONZALEZ; WATLING, 2002; GROSSO; PERALTA, 1999). Descrições anteriores, normalmente insuficientes em detalhes morfológicos e em figuras, vem sendo substituídas por redescritões mais completas e, com isto, novas espécies vem sendo descritas e a distribuição das diferentes espécies do gênero reavaliadas (PERALTA, 2001).

Gonzalvez e Watling (2002) e Bousfield (1996) consideram *H. azteca* um complexo de espécies, cuja ocorrência está restrita à América do Norte, Central e Caribe. Gonzalvez e Watling (2002) redescreveram a *H. azteca*, comentam que não foram encontrados espécimes com caracteres morfológicos do complexo *azteca* nem na América do Sul nem nos Andes. Dessa forma, os registros da América do Sul referem-se à espécie nova descrita por González e Watling (2003a) como *H. pseudoazteca*, identificada anteriormente por Pereira (1983) como *H. azteca*.

Dentre as espécies conhecidas no Brasil, *Hyalella meinerti* ocorre no estado de São Paulo e tem sido registrada em outros países da América do Sul como Venezuela, Colombia, Perú e Equador (GONZALEZ; WATLING, 2003a, 2003b). Esta e *H. caeca*, (espécie cavernícola), *H. montenegrinae*, *H. curvispina* são consideradas as espécies com ampla distribuição, enquanto as espécies *H. brasiliensis*, *H. gracilicornis*, *H. longistila*, *H. warmingi* e *H. pseudoazteca* são mais conhecidas no local tipo ou áreas próximas (GONZALEZ; WATLING, 2003a).

H. curvispina é adotada como organismo teste na Argentina (GARCIA et al., 2002; GRAÇA et al., 2002; Di MARZO et al., 1999) e tem sido indicada como espécie teste para a América do Sul (GARCIA et al., 2002; SEVERO, 1997). No entanto, assim como *H. azteca*, é também um complexo de espécies que está sendo analisado pelo Prof. Dr. Exequiel R. González da Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile (informação pessoal), especialista em Crustacea, Amphipoda, não sendo recomendado o uso desta espécie até que seja melhor estudada.

O exame de exemplares das espécies *Hyalella meinerti* pelo Dr. Exequiel R. González, levantou à possibilidade de se tratar de uma outra espécie, *H. gracilicornis*, e não de *Hyalella meinerti*, especialmente devido ao tipo de gnatopodo 2 no macho, tipo de cerdas no telson, e gnatopodo 2 da fêmea, além da característica das antenas (muito longas) (informação pessoal).

O exame detalhado dos caracteres diagnósticos de exemplares da espécie juntamente com a Dra. Márcia Janete Coelho Botelho, especialista em zooplâncton, comparando as descrições realizadas por Bousfield (1996), González e Watling (2003a, b), Grosso e Peralta (1999) Pereira (1985, 2004), não permitiu chegar a uma conclusão a respeito da espécie. Os caracteres observados não foram totalmente concordantes com as descrições fornecidas para as espécies registradas no Brasil. Desta forma, no presente estudo foi dada a denominação de *Hyalella* sp.

Os resultados obtidos neste estudo indicam que a *H. azteca* foi a espécie mais sensível, tanto nos testes em solução aquosa como com sedimento. Quanto à reprodução, os dados obtidos neste trabalho foram compatíveis com os de outros laboratórios, e mostraram também que o número de jovens produzidos por fêmea de *H. azteca* é maior que de *Hyalella* sp., independente da fonte de alimento e tipo de água. A baixa taxa de reprodução de *Hyalella* sp. leva à necessidade de um número maior de culturas do que de *H. azteca*, para que se possa obter o mesmo número de jovens para teste.

Portanto, atualmente não existe no Brasil uma espécie conhecida de *Hyalella* com ampla distribuição que pudesse ser adotada em testes de toxicidade; desta forma, *H. azteca* é uma espécie exótica possível de ser adotada em todos os estados, apresentado boa reprodução e sensibilidade.

1.5. CONCLUSÕES

A reprodução das culturas de *H. azteca* foi superior a das culturas de *Hyalella* sp., independente do tipo de alimento, nas condições do teste. O número médio de jovens produzidos por fêmea para *H. azteca* foi de $7,9 \pm 3,0$ e para *Hyalella* sp. $3,4 \pm 1,4$.

Quanto à água de diluição, tanto o meio MS com a água natural foram adequados para o cultivo e testes de toxicidade com as duas espécies, assim como o alimento composto RL preparado com ração para coelho ou para peixe com a adição de óleo de prímula.

Os resultados obtidos mostraram que *H. azteca* foi mais sensível que *Hyalella* sp. para todos os compostos estudados e também com relação aos sedimentos testados.

A escolha das espécies de *Hyalella* como organismo-teste deve ser analisada levando em consideração o ambiente a ser estudado, o objetivo do estudo, e as vantagens e limitações de cada espécie.

1.6. RECOMENDAÇÕES

Que *H. azteca* seja adotada como organismo teste para se avaliar a toxicidade de sedimento de água doce no Brasil, pois apresenta sensibilidade a diferentes contaminantes e boa reprodução, sendo fácil de se cultivar em condições de laboratório.

Hyalella sp., por ser uma espécie que ocorre no Estado de São Paulo, pode ser adotada por este Estado como organismo teste na avaliação da qualidade de sedimentos de água doce, porém é recomendado que seja realizada a identificação por mais de um especialista.

1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. **NBR 13373**: ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica - método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2005. 15 p.

ABNT. **NBR 12.713**: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda - método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2004a. 21 p.

ABNT. **NBR 15088**: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda - método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro, 2004b. 19 p.

ARAGÃO, M. A.; BURATINI, S. V. ; BERTOLETTI, E. Total hardness of surface waters in São Paulo State. **Acta Limnologica Brasiliense**, v. 1, n. 15, p. 15-18, 2003.

ARAÚJO, R. P. A. **Avaliação da toxicidade de sedimentos ao anfípodo de água doce *Hyalella meinerti* Stebbing, 1899 (Crustacea, Amphipoda)**. 1998. 184 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Geral) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia, 1993. 27 p.

ASTM. **ASTM E 1706-00**: test method for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. Philadelphia, 2000. 117 p.

BERTOLETTI, E. **Estimativa de efeitos tóxicos crônicos com *Danio rerio* (Pices, Cyprinidae)**. 2000. 118 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

BORGMANN, U. Systematic analysis of aqueous ion requirements of *Hyalella azteca*: a standard artificial medium including the essential bromide ion. **Archives of Environmental Continental and Toxicology**, v. 30, p. 356-363, 1996.

BORGMANN, U.; RALPH, K. M.; NORWOOD, W. P. Toxicity test procedures for *Hyalella azteca*, and chronic toxicity of cadmium and pentachlorophenol to *H. azteca*, *Gammarus fasciatus*, and *Daphnia magna*. **Archives of Environmental Continental and Toxicology**, v. 18, p. 756-764, 1989.

BOUSFIELD, E. L. A contribution to the reclassification of neotropical freshwater Hyalellid Amphipods (Crustacea: Gammaridea, Talitroidea). **Bolletino del Museo Civico di Storia Naturale di Verona**, v. 20, n. 1993, p. 175-224, 1996.

BURATINI-MENDES, S. V. **Efeitos do meio de cultivo sobre a sobrevivência, reprodução e sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia***. 2002. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

BURATINI, S. V.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. A. Evaluation of *Daphnia similis* as a test species in ecotoxicological assays. **Bulletin of Environmental and Toxicology**, v. 73, p. 878-882, 2004.

BURTON, G. A.; NELSON, M. K.; INGERSOLL, C. G. Freshwater benthic toxicity tests. In: BURTON, G. A. (Ed.). **Sediment Toxicity Assessment**. Chelsea, MI: Lewis, 1992. cap. 10, p. 213-240.

CALL, D. J.; BROOKE, L. T.; ANKLEY, G. T.; BENOIT, D. A.; HOKE, R. A. Appendix G: Biological effects testing procedures. In: UNITED STATES. Environmental Protection Agency. Regions II, III, V. Great Lakes National Program Office; UNITED STATES. Army Corps of Engineers. North Central Division. **Great Lakes dredged material testing and evaluation manual**. 1994.

CCME. Canadian sediment quality guidelines for the protection of the aquatic life: summary tables. In: CCME. **Canadian environmental quality guidelines**. Winnipeg, 1999. Disponível em: <http://www.ec.gc.ca/ceqg-rcqe/English/Pdf/sediment_summary_table.htm>. Acesso em: 5 nov. 2002.

CETESB (São Paulo). **L5.019**: água: teste de toxicidade aguda com peixes - parte I - sistema estático. São Paulo, 1990a. 29 p. Norma Técnica.

CETESB (São Paulo). **L5.019**: água: teste de toxicidade aguda com peixes - parte II - sistema semi-estático. São Paulo, 1990b. 29 p. Norma Técnica.

CETESB (São Paulo). **L5.019**: água: teste de toxicidade aguda com peixes - Partes III - sistema de fluxo contínuo. São Paulo, 1990c. 31 p. Norma Técnica.

CETESB (São Paulo). **L5.022**: água: avaliação de toxicidade crônica utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (Cladocera, Crustacea). São Paulo, 1991a. 25 p. Norma Técnica.

CETESB (São Paulo). **L5.020**: água: teste de toxicidade com *Chorella vulgaris*. São Paulo, 1991b. 15 p. Norma Técnica.

CETESB (São Paulo). **L5.018**: água: teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea). São Paulo, 1994. 25 p. Norma Técnica.

CETESB (São Paulo). **Serviços de coleta de amostras, análises e estudos de avaliação das características biológicas, físico-químicas e microbiológicas das águas e sedimentos do rio Juquiá.** São Paulo: CETESB, 2000. 144 p.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 2002.** São Paulo, 2003. 263 p. Disponível em :<http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rel_aguas_int_2002/index.htm>. Acesso em: out. 2003.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 2003.** São Paulo, 2004. 268 p.

CETESB (São Paulo); SABESP (São Paulo). **Monitoramento integrado bacias do Alto e Médio Tietê: relatório final- revisão zero.** São Paulo: CETESB, 1998. 312 p.

CETESB (São Paulo); SABESP (São Paulo). **Monitoramento integrado bacias do Alto e Médio Tietê: avaliação da qualidade água, sedimento e peixes.** São Paulo: CETESB, 1999. 138 p. Projeto Billings, contrato 020/97.

CHAPMAN, P. M. The sediment quality triad approach to determining pollution-induced degradation. **The Science of the Total Environment**, v. 97/98, p. 815-825, 1990.

CHAPMAN, P. M. Presentation and interpretation of sediment quality triad data. **Ecotoxicology**, n. 5, p. 1-13, 1996.

COELHO-BOTELHO, M. J.; CARVALHO, M. C.; KUHLMANN, M. L.; SALVADOR, M. E. P.; SOUZA, R.C.R.; WATANABE; H. M.; ARAÚJO, R. P. A.; BRESSAN JR, H.; BRANDIMARTE, A. L.; ANAYA, M.; GUERESCHI, R. M. **Desenvolvimento de índices biológicos para o biomonitoramento em reservatórios do Estado de São Paulo.** São Paulo: CETESB. Em elaboração.

COLLYARD, S. A.; ANKLEY, G. T.; HOKE, R. A.; GOLDENSTEIN, T. Influence of age on the relative sensitivity of *Hyalella azteca* to diazinon, alkylphenol ethoxylates, copper, cadmium and zinc. **Archives of Environmental Continental and Toxicology**, v. 26, p. 110-113, 1994.

De MARCH, B. G. E. *Hyalella azteca* (SAUSSURE) In: LAWRENCE, S.G. (Ed.) **Manual for the culture of selected freshwater invertebrates.** Department of Fisheries and Oceans, 1981. p. 61-77. (Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences, n. 54).

Di MARZIO, W. D.; SAENZ, M. E.; ALBERDI, J. L.; TORTORELLI, M. C. Assessment of the toxicity of stabilized sludges using *Hyalella curvispina* (amphipod) bioassay. **Bulletin of the Environmental Contamination and Toxicology**, v. 63, n. 5, p. 654-659, 1999.

DUAN, Y.; GUTTMAN, S. I.; ORIS, J. T. Genetic differentiation among laboratory populations of *Hyalella azteca*: implications for toxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, n. 4, p. 691-695, 1997.

DUAN, Y.; GUTTMAN, S. I.; ORIS, J. T.; HUANG, X. ; BURTON, G. A. Genotype and toxicity relationships among *Hyalella azteca*: II. Acute exposure to fluoranthene-contaminated sediment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, n. 5, p. 1422-1426, 2000a.

DUAN, Y.; GUTTMAN, S. I.; ORIS, J. T.; BAILER, A. J. Genotype and toxicity relationships among *Hyalella azteca*: I : acute exposure to metals or low pH. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, n. 5, p. 1414-1421, 2000b.

ELENDT, B. P.; BIAS, W. R. Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing: effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *D. magna*. **Water Research**, v. 24, n. 9, p. 1157-1168, 1990.

ENVIRONMENT CANADA. **Guidance document on control of toxicity test precision using reference toxicants**. Ottawa, 1990. 85 p. (EPS 1/RM/12).

ENVIRONMENT CANADA. **Biological test method: test for survival and growth in sediment using the freshwater amphipod *Hyalella azteca***. Ottawa, 1997. 123 p. (EPS 1/RM/33).

EYSINK, G. G. J.; TOLEDO JR, A .P. ; MENEGON JR, N. ; ARAÚJO, R. P. A.; ISHIHARA, M. **Qualidade ambiental do rio Ribeira de Iguape com relação à presença de metais pesados e arsênio**. São Paulo: CETESB. 2000. 70 p. Relatório técnico.

FONSECA, A. L. **A biologia das espécies *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea Cladocera) e *Poecilia reticulata* (Pisces Poecillidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais**. 1991. 210 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1991.

FONSECA, A. L. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade com invertebrados**. 1997. 210 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

FRANCE, R. L. Biogeographical variation in size-specific fecundity of the amphipod *Hyalella azteca*. **Crustaceana**, v. 3, n. 62, p. 240-248, 1992.

GARCIA, M. E.; FERARRI, L.; RODRIGUES-CAPÍTULO, A. Ensayos de toxicidad com *Hyaella curvispina*, um amphipoda de sudamérica austral. In: JORNADAS INTERDISCIPLINARIAS DE TOXICOLOGÍA, 12., 2002, Buenos Aires. **Anais Eletrônicos...**Buenos Aires: Asociación Toxicológica Argentina (ATA). Disponível em: <<http://www.ataonline.org.ar/002/jornadas/trabajos/ecotoxicologia/09.htm>>. Acesso em: 24 jan. 2005.

GRAÇA, M. A. S.; RODRÍGUES-CAPÍTULO, A.; OCÓN, C.; GÓMEZ, N. In situ tests for water quality assessment: a case study in Pampean rivers. **Water Research**, n. 36, p. 4033-4040, 2002.

GONZALEZ, E. R.; WATLING, L. Redescription of *Hyaella azteca* from its type locality, Vera Cruz, Mexico (Amphipoda: Hyalellidae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 22, n. 1, p. 173-183, 2002.

GONZALEZ, E. R.; WATLING, L. A new species of *Hyaella* from Brazil (Crustacea: Amphipoda: Hyalellidae), with redescrptions of other species in the genus. **Journal of Natural History**, v. 37, n. 17, p. 2045-2076, 2003a.

GONZALEZ, E. R.; WATLING, L. A new species of *Hyaella* from Colombia, and redescription of *H. meinerti* Stebbing, 1899 from Venezuela (Crustacea: Amphipoda). **Journal of Natural History**, v. 37, n.17, p. 2095-2111, 2003b.

GROSSO, L. E.; PERALTA, M. Anfípodos de água dulce sudamericanos. Revisión del género *Hyaella* Smith. I. **Acta Zoológica Lilloana**, v. 45, n. 1, p. 79-98, 1999.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Karber method for estimating median lethal concentrations. **Environmental Science and Technology**, v. 11, n. 7, p. 714-719, 1997.

HILL, I. R.; MATTHIESSEN, P.; HEIMBACH, F. (Ed.). **Sediment toxicity test and bioassays for freshwater and marine environments**. Pensacola: SETAC, 1993. 105 p.

INGERSOLL, C. G.; ANKLEY, G. T.; BENOIT, D. A.; BRUNSON, E. L.; BURTON, G. A.; DWYER, F. J.; HOKE, R. A.; LANDRUM, P. F.; NORBERG-KING, T. J.; WINGER, P. V. Toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants using freshwater invertebrates: a review of methods and applications. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 11, n. 14, p. 1885-1894, 1995.

INGERSOLL, C. G.; BRUNSON, E. L.; DWYER, F. J.; HARDESTY, D. K.; KEMBLE, N. E. Use of sublethal endpoints in sediment toxicity tests with the amphipod *Hyaella azteca*. **Environment Toxicology and Chemistry**, v. 17, n. 8, p. 1508-1523, 1998.

KEMBLE, N. E.; BRUMBAUGH, W. G.; BRUSON, E. L.; CANFIELD, T. J.; DWYER, F. J.; INGERSOLL, C. G.; MONDA, D. P.; WOODWARD, D. F. Toxicity of metal-contaminated sediments from the upper Clark Fork River Montana, to aquatic invertebrates and fishes in laboratory exposures. **Environment Toxicology and Chemistry**, v. 13, n. 12, p.1985-1997, 1994.

KEMBLE, N. E.; BRUSON, E. L.; CANFIELD, T. J.; DWYER, F. J.; INGERSOLL, C. G. Assessing sediment toxicity from navigational pools of Mississippi River using a 28-day *Hyalella azteca* test. **Archives of Environmental Continental and Toxicology**, v. 35, n. 2, p. 181-190, 1998.

KEMBLE, N. E.; DWYER, F. J.; INGERSOLL, C. G.; DAWSON, T. D.; NORBERT-KING, T. J. Tolerance of freshwater test organisms to formulated sediments for use as control materials in whole-sediment toxicity tests. **Environment Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 222-230, 1999.

LAMPARELLI, M. C.; KUHLMANN, M. L.; CARVALHO, M. C; SALVADOR, M. E. P.; SOUZA, R. C.; BOTELHO, M. J. C; COSTA, M. P.; MARTINS, M. C.; CARVALHO, P. M.; ARAÚJO, R. P. A.; A.;HACHICH, E. M.; BARI, M.; CURSIO, R. L. S.; TOLEDO, JR, A. P.; LORENZETTI, M. L.; TRUZZI, A. C.; NAVAS-PEREIRA, D.; VARGAS-BOLDRINI, C. **Avaliação do complexo Billings: comunidades aquáticas, água, sedimento - out/92 a out/93**. São Paulo: CETESB, 1996. 53 p.

LASIER, P. J.; WINGER, P. V.; BOGENRIEDER, K. J. Toxicity of manganese to *Ceriodaphnia dubia* and *Hyalella azteca*. **Archives of Environmental Continental and Toxicology**, v. 38, p. 298-304, 2000.

LORENZETTI, M. L.; ARAÚJO, R. P. A.; GOMES, M. J.; DOMINGUES, D. F.; BATISTA, B. A. **Desenvolvimento e implantação de testes de toxicidade com organismos aquáticos: testes de toxicidade com *Ceriodaphnia***. São Paulo: CETESB, 1991. 28 p. Anexos. Relatório técnico.

MARROQUIM, A. C. G. **Ciclo de vida de *Hyalella meinerti* Stebbing, 1899 (Crustacea, Amphipoda) e avaliação de sua sensibilidade em testes ecotoxicológicos**. 2000. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2000.

McNULTY, E. W. **Culturing and testing issues of *Hyalella azteca* in contamination assessments**. 1995. 63 p. MS Thesis - University of Missouri, Columbia, MO, USA, 1995.

MELETTI, P. C. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade aguda com peixes**. 1997. 148 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

MOORE, D. W.; FARRAR, J. D. Effect of growth on reproduction in the freshwater amphipod, *Hyalella azteca*. **Hydrobiologia**, v. 328, p. 127-134, 1996.

MOORE, D. R. J.; WARREN-HICKS, W.; PARKHURST, B. R.; TEED, R. S.; BAIRD, R. B.; BERGER, R.; DENTON, D. L.; PLETL, J. J. Intra-and intertreatment variability in reference toxicant tests: implications for whole effluent toxicity testing programs. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, n. 1, p. 105-112, 2000.

MOZETO, A. A.; JARDIM, W. F.; ARAGÃO, G. U. (Coord.). **Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos (CQS):** experimentos de campo e laboratório - relatório final. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2003, 465 p. Projeto QualiSed proc. n. 98/12177-0.

NASCIMENTO, A. P. C. **Comparação metodológica de testes de toxicidade com *Hyalella azteca* (Crustacea, Amphipoda) e avaliação da qualidade do sedimento em reservatórios do rio Tietê (SP).** 2003. 122 f. Anexos. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

NEBEKER, A. V.; ONJUKKA, S. T.; STEVENS, D. G.; CHAPMAN, G. A.; DOMINGUEZ, S. E. Effects of low dissolved oxygen on survival, growth and reproduction of *Daphnia*, *Hyalella* and *Gammarus*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 11, p. 373-379, 1992.

NELSON, M. K.; BRUNSON, E. L. Postembryonic growth and development of *Hyalella azteca* in laboratory cultures and contaminated sediments. **Chemosphere**, v. 31, n. 4, p. 3129-3140, 1995.

OECD. **Guidelines for testing of chemicals:** proposal for new guideline 219 - sediment-water chironomid toxicity test spiked water. 21 p. 2001. Draft document. Disponível em: <www.oecd.org/dataoecd/40/45/2739742.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2004.

OTHMAN, M. S.; PASCOE, D. Growth, development and reproduction of *Hyalella azteca* (Saussure, 1858) in laboratory culture. **Crustaceana**, v. 74, n. 2, p. 171-181, 2001.

PERALTA, M. A. Crustacea Eumalacostraca. In: FERNANDEZ, H. R.; DOMÍNGUEZ . (Ed). **Guia para la determinación de los artrópodos bentónicos sudamericanos.** Tucumán: Universidad Nacional de Tucumán, 2001, cap.12, p. 257-282.

PEREIRA, V. F. G. C. **Espécies brasileiras do gênero *Hyalella* (Crustacea - Amphipoda).** 1983. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Zoologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1983.

PEREIRA, V. F. G. C. Redescrição de *Hyalella pernix* (Moreira) (Amphipoda - Hyalellidae) com discussão de seu sinônimo *H. curvispina* Shoemaker. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 3, n. 4, p. 209-217, 1985.

PEREIRA, V. F. G. C. *Hyalella dielaii* sp. nov. from São Paulo, Brazil (Amphipoda, Hyalellidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 2, p. 179-184, 2004.

PORTELA, C. M. S. **Avaliação ecotoxicológica da Arroio Sapucaia, RS, com a utilização de diferentes metodologias em água superficial e sedimento**. 2002. Não paginado. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; McCARTY, L. S. Introduction to aquatic toxicology. In: RAND, G. M. (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology**. Washington: Taylor & Francis, 1995. cap. 1, p. 3-67.

SÁFADI, R. S. **Emprego de planárias de água doce, *Girardia tigrina* (Girard, 1850) (Platyhelminthes, Tricladida, Paludicola) na avaliação de toxicidade de compostos metálicos**. Proposta metodológica. 1993. 208 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Ecologia). Universidade São Paulo, São Paulo, 1993.

SCHUBAUER-BERIGAN, M. K.; DIERKES, J. R.; MONSON, P. D. ANKLEY, G. T. Ph - dependent toxicity of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn to *Ceriodaphnia dubia*, *Pimephales promelas*, *Hyalella azteca* and *Lumbriculus variegatus*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, p. 1261-1266, 1993.

SEVERO, S. A. **Estudo do ciclo de vida de *Hyalella pernix* (Moreira, 1903) (Crustacea - Peracarida - Amphipoda) em laboratório**. 1997. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Biologia Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1997.

SHIMIZU, G. Y.; LAMPARELLI, M. C.; JOHNSCHER-FORNASARO, G.; WATANABE, H. M.; SALVADOR, M. E. P.; COSTA, M. P.; CARVALHO, M. C.; KUHLMANN, M. L.; SOUZA, R. C. R.; BERTOLETTI, E.; ARAÚJO, R. P. A.; BURATINI, S. V.; AGUJARO, L. F.; PRADELLA, D. Z. A.; FIALHO, R. C.; SOUZA, J. B.; BEVILACQUA, J. E.; MENEGON JR, N.; TRUZZI, A. C.; AVELINO, E. L.; BRANDIMARTE, A. L.; CARVALHO, M. A. J.; SENDACZ, S. **Estudos preliminares para o uso de índices biológicos no monitoramento de ambientes aquáticos continentais: riachos e corredeiras na bacia hidrográfica do rio Atibaia**. São Paulo: CETESB, 2002. 85 p.

SMITH, M. E.; LAZORCHAK, J. M.; HERRIN, L. E.; BREWER-SWARTZ, S.; THOENY, W. T. A formulated, reconstituted water for testing the freshwater amphipod, *Hyalella azteca*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, n. 6, p. 1229-1233, 1997.

STATSOFT, Inc. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 1995. Disponível em: <<http://www.statsoft.com>>. Acesso em: maio 2003.

SUEDEL, B. C.; DEEVER, E.; RODGERS JR, J. H. Experimental factors that may affect toxicity of aqueous and sediment-bound copper to freshwater organisms. **Archives Environmental Contamination and Toxicology**, n. 30, p. 40-46, 1996.

TOMASOVIC, M. J.; DWYER, F. J.; GREER, I. E.; INGERSOLL, C. G. Recovery of know-age *Hyalella azteca* (Amphipoda) from sediment toxicity tests. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 14, n. 7, p. 1177-1180, 1995.

USEPA (Estados Unidos). **Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates**. 2^a ed. Duluth: USEPA, 2000, 191 p. (EPA/600/R-99/064).

ZAMBONI, A. J. **Caracterização ecotoxicológica do estuário da lagoa dos Patos no entorno de Rio Grande, RS: fundamentos e técnicas**. 2000. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

WAKABARA, Y.; SEREJO, C. S. Malacostraca – Peracarida. Amphipoda. Gammaridae and Caprellidea. In: YOUNG, P.S. (Ed.). **Catalogue of Crustacea of Brazil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 1998. p. 561-594. (Série Livros, n. 6).

WEST, I.; GULLEY, D. **Toxstat 3.5**. Wyoming: USA University of Wyoming, 1996. 38 p.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS DE CULTIVO DE *HYALELLA AZTECA* COM RELAÇÃO AO TIPO E QUANTIDADE DE ALIMENTO.

2.1. INTRODUÇÃO

A realização de testes de toxicidade envolve a utilização de organismos obtidos de culturas de laboratório ou coletados na natureza. O cultivo em laboratório, apesar de trabalhoso, fornece organismos de idade e sensibilidade conhecidas em quantidade adequada, por um determinado período ou durante o ano todo.

Para que se possa estabelecer as condições adequadas de cultivo de cada espécie, é necessário ter o conhecimento da biologia do organismo (taxonomia, ciclo biológico, morfologia) e de dados ecológicos da espécie (distribuição geográfica, habitat, comportamento sexual, competição).

A espécie *Hyalella azteca* vem sendo muito utilizada para avaliação da qualidade de sedimentos, principalmente nos Estados Unidos e Canadá. Essa espécie é considerada uma das que podem ser adotadas, para se realizar testes de toxicidade de sedimento de água doce no Brasil, pois apresenta boa sensibilidade e é facilmente cultivada em laboratório (vide Parte 1, Capítulo 1).

Existem na literatura vários métodos descrevendo procedimentos de cultivo de *Hyalella azteca*. A maioria dos laboratórios mantém uma cultura mista e segrega alguns adultos para obtenção de jovens para teste. Como o procedimento de cultivo adotado por um laboratório pode não funcionar em outro, tanto o órgão de controle ambiental (USEPA) como a sociedade de padronização dos Estados Unidos (ASTM), recomendam mais do que um método para a obtenção de jovens de *Hyalella* para a realização de testes de toxicidade. A USEPA (2000) e a ASTM (2000) sugerem que seja realizado o controle da sobrevivência dos adultos e do lote de jovens separados para teste, além do controle esporádico de qualidade da água das culturas (pH, condutividade, OD alcalinidade, dureza, temperatura).

O órgão de controle ambiental canadense (ENVIRONMENT CANADA, 1999) recomenda que as culturas sejam organizadas de acordo com a idade, sendo que para cada estágio de vida dos mesmos seria adotado um volume de água determinado, número de organismos por recipiente e quantidade e frequência de alimentação próprios. Para a obtenção de jovens para teste, é sugerido que sejam estabelecidas culturas com 65 organismos. Como alimento a estas culturas deve ser fornecido 10mL de YCT (Ração de truta digerida, alfafa, e levedura) três vezes por semana. Os critérios adotados para a avaliação das culturas são: adultos com aparência saudável, comportamento normal e baixa mortalidade (ENVIRONMENT CANADA, 1999).

Portanto, tanto Environment Canada, USEPA como ASTM recomendam que sejam feitos controles nas culturas, sem especificar o valor para cada parâmetro analisado (ENVIRONMENT CANADA, 1999; USEPA, 2000; ASTM, 2000). Assim, no presente estudo procurou-se estabelecer os critérios adequados para avaliação de culturas de *H. azteca*, adotando os procedimentos descritos por Araújo (1998). Este método é baseado no descrito em ASTM (1987), com modificações, principalmente quanto ao substrato (planta aquática Elódea ao invés de folhas de fanerógamas) e alimento (ração para coelho e Ração para peixe digerida mais levedura e óleo de prímula ao invés de YCT, folhas de cereais, comida em flocos para peixe, dentre outros alimentos sugeridos). Em cada cultura é adicionado cerca de 2,5 L de água, aeração branda e 100 jovens de 0 a 7 dias. Semanalmente, é feita a troca de água. A temperatura de cultivo é de $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, luminosidade 500 a 1000Lux, com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 de escuro.

A adição de óleo de prímula ao alimento digerido RL tem como base a necessidade de adição de ácido linolênico, presente em óleos vegetais como o de prímula, na dieta de organismos de água doce (LÉGER et al., 1989), uma vez que estes são incapazes de sintetizar ácidos graxos insaturados (VIEGAS, s.d). Neste experimento, tentou-se então avaliar importância da adição deste óleo no alimento RL, composto de ração para peixe Tetramin® digerida mais levedura.

Os resultados obtidos no estudo anterior (Parte 1, Capítulo 1) indicaram que, apesar do número médio de jovens produzidos por fêmea ($7,9 \pm 3,0$ em meio MS e $9,9 \pm 2,0$ em água natural) estar próximo do obtido por alguns laboratórios (9,2) (MOORE; FARRAR, 1996; NEBEKER et al., 1992; OTHMAN; PASCOE, 2001), este foi inferior ao indicado pela EPA (2000) e ASTM (2000), ou seja 17 e 30 jovens por fêmea adulta por semana, respectivamente. Verificou-se assim que seria necessário avaliar o tipo e quantidade de alimento e número de organismos por cultura, uma vez que o tipo água (natural e meio MS) não foi considerado um fator limitante.

Neste estudo, procurou-se avaliar também a mortalidade de adultos aceitável nas culturas. Inicialmente, estabeleceu-se (Parte 1, Capítulo 1) que as culturas deveriam ser descartadas quando observada mortalidade dos adultos superior a 20% por duas semanas consecutivas. No entanto, no protocolo da EPA é citado que deve ser motivo de preocupação apenas quando esta for superior a 50% (USEPA, 2000). Outro parâmetro avaliado foi a razão de machos e fêmeas nas culturas, visando o estabelecimento desta razão em culturas de laboratório.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados três experimentos para avaliar a adequação do tipo e quantidade de alimento e número de organismos por cultura de *H. azteca*. Nestes experimentos os organismos foram cultivados em cristalizadores de vidro com capacidade para 4 L. A água de diluição foi a coletada no reservatório do Ribeirão do Pirai, localizado na bacia do rio Jundiá, com dureza acertada

para a faixa de 40 a 48mg/L, segundo indicado em CETESB (1991). A condutividade da água sempre esteve na faixa de 72 a 212 μ S e o pH entre 7,2 a 7,6 unidades.

Os organismos foram cultivados na temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$, luminosidade 500 a 1000Lux e fotoperíodo de 16h de luz e 8 h de escuro. Em cada cristalizador foi acrescentado 2,5L de água, aeração branda e como substrato e alimento a planta aquática Elódea, adquirida em lojas de aquário.

A troca de água dos cristalizadores foi realizada semanalmente e, nestes dias, foram contados os organismos adultos e jovens de cada cultura. Esses últimos foram separados passando a água dos cristalizadores, após a retirada dos adultos, em uma rede de malha de 145 μ m. Estes organismos jovens foram colocados em recipientes de vidro com capacidade de 1L, contendo cerca de 900 ml de água de diluição, e deixados por 7 dias nas mesmas condições da cultura, antes de serem contados. Este procedimento foi adotado para facilitar a contagem, uma vez que organismos com 7 a 14 dias apresentam tamanho bem maior que os de 0 a 7 dias. Neste período, os mesmos foram alimentados diariamente com 1,5mL de alimento composto (RL) com óleo de prímula e com uma pequena quantidade (1,5 a 2,0 mg) de ração para coelho (quarta, sexta e segunda).

A produção de jovens por fêmea foi também avaliada nas culturas, ao longo do tempo, até a ocorrência de pelo menos um limite determinado de 30% mortalidade dos adultos.

2.2.1. RAZÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS

A razão entre machos e fêmeas foi estabelecida com base em observações nas culturas de *Hyalella* alimentadas diariamente com 2,5mL do alimento composto RL (ração para peixe Tetramin® digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®) preparado segundo descrito em CETESB (1991). Nesse alimento foi acrescentado óleo de prímula (0,1mL a cada 100mL de alimento composto). Os organismos adultos foram identificados quanto ao sexo em 18 culturas ao longo do tempo, sendo que na maioria (15) foi realizada mais do que uma determinação. Os caracteres distintivos do sexo nos adultos são o segundo par de gnatópodos, muito mais desenvolvido nos machos que nas fêmeas, e os ovos presentes na bolsa incubadora nas fêmeas.

2.2.2 Tipo e quantidade de alimento e número de organismos por cultura

2.2.2.1. EXPERIMENTO 1

Foram estabelecidas 4 culturas, identificadas como 1A, 1B, 1C e 1D, sendo que os respectivos tipos de alimentos e o número de organismos por cultura estão apresentados na tabela 2.1. Para assegurar o número inicial de organismos nas culturas, foi adicionado no dia zero 130 (cultura 1D) e 65 jovens (culturas 1A, 1B e 1C) com 0 a 7 dias de vida, sendo que após sete dias este

número foi reduzido para 100 e 50, respectivamente, para permitir a estabilização da mortalidade e número igual inicial de organismos em todos os tratamentos.

Neste experimento foi avaliada a produção de jovens por cultura e a sobrevivência destes organismos após uma semana. Assim, os organismos foram contados logo após a separação (0 a 7 dias de vida) e após uma semana (7 a 14 dias de vida).

O alimento suspensão de alga *Selenastrum* foi preparado segundo descrito por CETESB (1991).

Tabela 2.1. Resumo das condições de cultivo de *H. azteca* (tipo de água, número de organismos e tipo, quantidade e frequência de alimento) adotadas no **Experimento 1**.

| Cultura | Tipo de água | Número de organismos | Alimento (tipo, quantidade e frequência) |
|---------|--------------------------------|----------------------|--|
| 1A | Reservatório Ribeirão do Pirai | 50 | 2,5ml RL ^a + óleo de prímula (0,1mL/100mL) (diariamente) + ração para coelho (segundas, quartas e sexta feiras) |
| 1B | Reservatório Ribeirão do Pirai | 50 | 2,5ml RL + óleo de prímula (0,2ml/100mL) (diariamente) + ração para coelho (segundas, quartas e sexta feiras) |
| 1C | Reservatório Ribeirão do Pirai | 50 | 5mL RL + óleo de prímula (0,1mL/100mL) + 5mL <i>Selenastrum capricornutum</i> (diariamente) |
| 1D | Reservatório Ribeirão do Pirai | 100 | 2,5ml RL+óleo de prímula (0,1mL/100mL) (diariamente) + ração para coelho (segundas, quartas e sexta feiras) |

a = RL (ração para peixe Tetramin® digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®) preparado segundo descrito em CETESB, 1991.

2.2.2.2 EXPERIMENTO 2

Foram estabelecidas 3 culturas, identificadas como 2A, 2B e 2C, sendo que os respectivos tipos de alimentos e o número de organismos por cultura estão apresentadas na tabela 2.2.

Inicialmente, em cada cultura foram colocados 150 jovens de *Hyalella azteca* com até 7 dias de vida. Esses jovens foram provenientes das culturas mantidas em água coletada no reservatório Ribeirão do Pirai, conforme descrito no item 2.2 Quando os organismos atingiram a idade adulta, ou seja, cinco semanas após o início do teste, este número foi reduzido para 100, tendo sido mantidos 50 fêmeas e 50 machos em cada recipiente. Ao longo do experimento, foram identificados os sexos dos adultos para verificar se havia mortalidade em função do sexo.

Tabela 2.2. Resumo das condições de cultivo de *H. azteca* (tipo de água, número de organismos e tipo, quantidade e frequência de alimento por cultura) adotadas no **Experimento 2**.

| Cultura | Tipo de água | Número de organismos | Alimento (tipo, quantidade e frequência) |
|---------|--------------------------------|-----------------------|--|
| 2A | Reservatório Ribeirão do Pirai | 50 fêmeas e 50 machos | 2,5ml RL ^a sem óleo de prímula (diariamente) + ração para coelho (segundas, quartas e sexta feiras) |
| 2B | Reservatório Ribeirão do Pirai | 50 fêmeas e 50 machos | 2,5 ml RL + óleo de prímula (0,1ml/100mL) (diariamente) + ração para coelho (segundas, quartas e sexta feiras) |
| 2C | Reservatório Ribeirão do Pirai | 50 fêmeas e 50 machos | 5,0 ml RL + óleo de prímula (0,1ml/100mL) (diariamente) + ração para coelho (segundas, quartas e sexta feiras) |

a = RL (ração para peixe Tetramin® digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®) preparado segundo descrito em CETESB, 1991).

2.2.2.3. EXPERIMENTO 3

Os organismos foram cultivados conforme descrito no item 2.2, tendo sido alimentados diariamente com 2,5mL do alimento composto RL (ração para peixe Tetramin® digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®) preparado segundo descrito em CETESB (1991). Nesse alimento foi acrescentado óleo de prímula (0,1mL a cada 100mL de alimento composto).

Foram acompanhadas 4 culturas (3A, 3B, 3C, 3D) estabelecidas em diferentes datas ao longo do período de janeiro de 2001 a setembro de 2002, com 100 organismos em cada cristalizador. Esses dados foram comparados com as culturas do **Experimento 1** (1D) e 2 (2B), que receberam o mesmo tipo e quantidade de alimento.

2.2.3. ANÁLISE DOS DADOS

Para avaliar se existia diferença significativa na produção de jovens entre os diferentes tratamentos foi aplicado o teste estatístico de Kruskal-Wallis, utilizando o programa computadorizado Toxstat 3,5 (WEST; GULLEY, 1996). A estatística de F-Fisher, disponível no pacote estatístico Toxstat 3,5 (WEST; GULLEY, 1996), foi aplicada para evidenciar se existia diferença significativa nas medidas (pH e oxigênio dissolvido) realizadas nos diferentes tratamentos.

Para comparar os resultados de sobrevivência observados durante as semanas de acompanhamento das culturas, nos **Experimentos 1 e 2**, foi utilizada a Tabela de Vida, sendo as diferentes sobrevivências discriminadas pelo χ^2 , empregando-se o aplicativo Statistica 95 para a finalidade dos cálculos (StatSoft, 1995).

2.3. RESULTADOS

2.3.1. RAZÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS

A razão entre machos e fêmeas de *Hyalella azteca*, determinada pela observação de 18 culturas, foi de 1,2 com desvio padrão de 0,28 (Tabela B1, Anexo B). A menor razão foi de 0,81 e a maior 2,0.

Na maioria das culturas analisadas, o número de machos foi apenas ligeiramente superior ao número de fêmeas. A razão 2:1 foi observada em apenas uma cultura, no final do período de observação (3 meses). Nas culturas em que foi realizada mais do que uma determinação ao longo do tempo, a razão entre machos e fêmeas se manteve relativamente constante, com predominância de um número maior de machos do que de fêmeas com o passar do tempo.

2.3.2. Tipo e quantidade de alimento e número de organismos por cultura

2.3.2.1. EXPERIMENTO 1

Neste experimento foi avaliada a influência da adição de 0,1 ou de 0,2 mL óleo de prímula ao alimento RL (cultura 1A e 1B), a quantidade de alimento fornecida e o número de organismos por cultura (cultura 1A e 1D) e um dos tipos de alimentação sugerido pela EPA (USEPA, 2000) (cultura 1C) com a adição de o dobro do alimento RL e a suspensão de alga *Selenastrum capricornutum* (Tabelas B2 a B7, Anexo B).

Verifica-se na cultura 1A (com adição de 2,5 mL de RL com 0,1mL de óleo de prímula) ocorreu mortalidade dos adultos acima de 20% na 16^a a 17^a semana, sendo que na 18^a a 19^a semana ocorreu 45% de mortalidade (Figura 2.1). Nas culturas 1B (com adição de 2,5 mL de RL com 0,2 mL de óleo de prímula) e 1D (100 organismos e a mesma quantidade de alimento da cultura 1A), a porcentagem de mortalidade acima de 20% ocorreu na 14^a a 15^a semana. Na cultura 1C, em que foi adicionado 5,0 mL de RL com 0,1 mL de óleo de prímula e 5,0 mL de alga, esta taxa de mortalidade foi observada já na 7^a a 8^a semana.

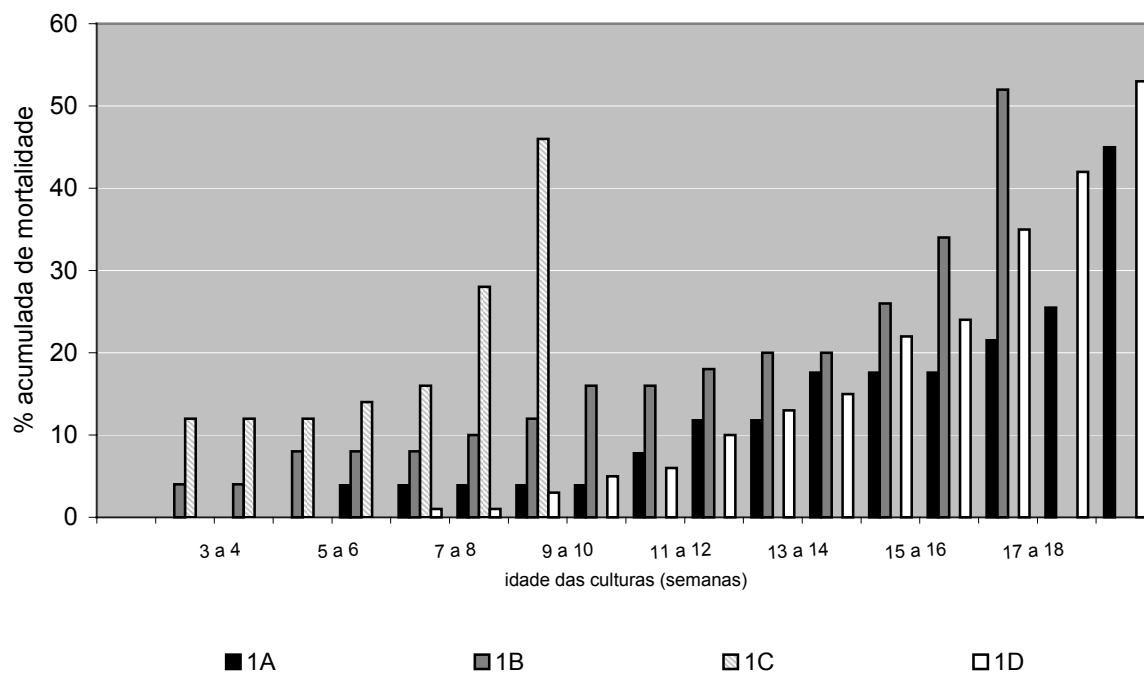


Figura 2.1. Porcentagem de mortalidade dos adultos nas culturas 1A (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula), 1B (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,2mL de óleo de prímula), 1C (50 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula e 5,0 mL de *Selenastrum capricornutum*) e 1D (100 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula).

Na comparação dos dados de sobrevivência dos organismos adultos foi obtido valor de χ^2 de 204,2 com $p < 0,001$, ou seja, foi evidenciada diferença significativa nas taxas de sobrevivência associadas aos diferentes tratamentos.

Na figura 2.2, que apresenta as curvas de sobrevivência nas diferentes culturas, verifica-se que a distribuição que diferiu significativamente das demais foi a associada a cultura 1C, ou seja, a condição de alimento 5,0 mL de RL com adição de óleo de prímula e 5,0 mL de *Selenastrum capricornutum*.

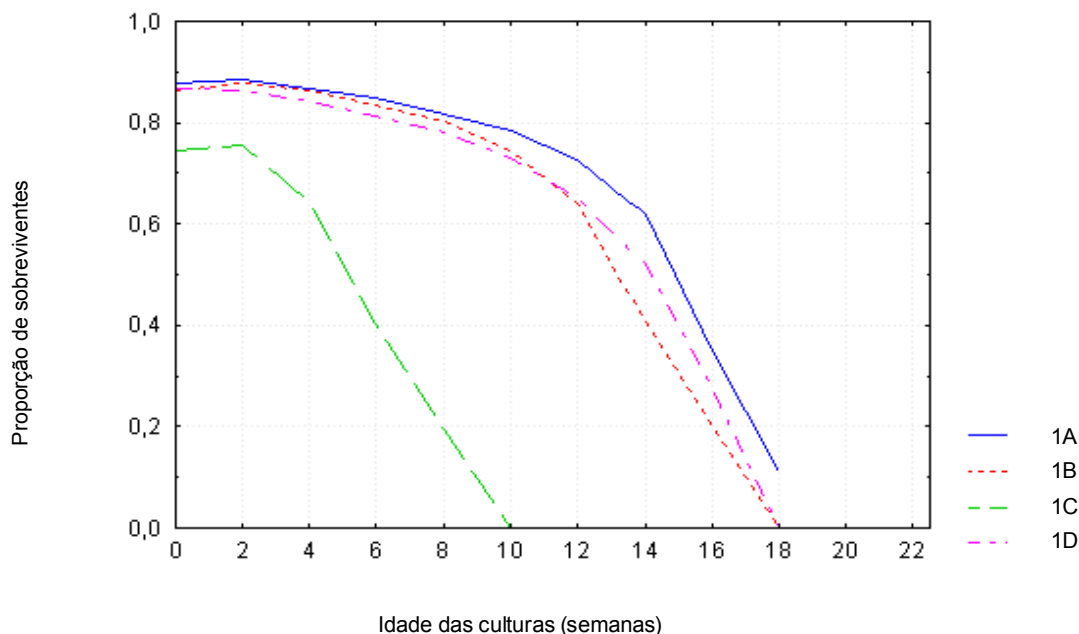


Figura 2.2. Curvas de sobrevivência das culturas 1A (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula), 1B (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,2mL de óleo de prímula), 1C (50 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula e 5,0 mL de *Selenastrum capricornutum*) e 1D (100 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula).

Não foi evidenciada uma diferença significativa nos valores médios de pH e OD, medidas nas diferentes culturas, pela estatística de F-Fisher ($p= 0,35$ para pH e $p=0,65$ para OD). Portanto, as condições dos quatro tratamentos foram relativamente equivalentes quanto ao pH e OD (Tabelas B2 a B5, Anexo B).

As razões entre machos e fêmeas foram determinadas para as culturas 1A (1,2), 1B (1,1) e 1D (1,6) (Tabela B6, Anexo B). É importante ressaltar que essa determinação foi realizada no final do experimento, quando foi observada uma mortalidade alta nos adultos. Assim, decidiu-se adotar a razão média encontrada de 1,2 no cálculo da produção de jovens/fêmea (Item 2.3.1).

Na tabela B7 (Anexo B) e na figura 2.3 são apresentados os dados de produção de jovens por fêmea de cada tratamento. Verifica-se que o início da reprodução foi entre a 4^a e 5^a semanas em todos os tratamentos, sendo que um aumento no número de jovens foi observado a partir da 6^a e 7^a semanas.

Verifica-se, na figura 2.3 e na tabela B7 (Anexo B), que o maior número de jovens por fêmea foi obtido na cultura 1A (50 organismos, 2,5mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula) na 10ª semana, ou seja 18,3. No entanto, nas outras semanas, a produção de jovens/fêmea foi menor (cerca de 9 jovens/fêmea). Na cultura 1B (50 organismos, 2,5mL RL com adição de 0,2 mL de óleo de prímula) foram obtidos 17 a 18 jovens /fêmea por três semanas consecutivas, ou seja, na 11ª, 12ª e 13ª. Na cultura 1D (100 organismos, 2,5mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula), a maior produção foi de 11 jovens/ fêmea, sendo que esta se manteve relativamente estável entre a 7ª a 12ª semanas. Nesta cultura observou-se uma queda na produção na 12ª a 13ª e na 15ª a 16ª semanas, com uma certa recuperação nas semanas subsequentes, e uma queda acentuada de produção a partir da 17ª a 18ª semanas.

A menor produção média de jovens por fêmea foi obtida no tratamento 1C (50 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula e 5,0 mL de *S. capricornutum*), com o resultado de 3,7 jovens/fêmea/semana. Nos tratamentos 1A, 1B e 1D, a produção média de jovens/fêmea/semana foi semelhante: 9,2; 10,7; 7,6, com desvios padrão de 3,7; 4,8 e 3,2, respectivamente.

Na tabela B7 (Anexo B), é possível observar que, apesar ter ocorrido mortalidade dos adultos acima de 20% a partir da 17ª a 18ª semanas na cultura 1A, da 14ª a 15ª no 1B e no 1D, a produção de jovens permaneceu dentro da média, exceto no caso da cultura 1D na 15ª e 16ª semanas.

Na figura 2.4 é apresentado o gráfico contendo as produções acumuladas do número de organismos jovens de 0 a 7 dias. Verifica-se que a produção de jovens foi semelhante para todos os tratamentos até a 6ª e 7ª semanas. A partir dessa semana, a produção acumulada da cultura 1C foi inferior ao dos outros tratamentos (1A, 1B e 1D). Nesses últimos, a produção acumulada foi semelhante até a 12ª semana. A partir dessa semana, a produção da cultura 1D foi proporcionalmente inferior a das culturas 1A e 1B. No entanto, aplicando-se o teste de Kruskal-Wallis, não foi observada diferença significativa na reprodução entre as culturas 1A, 1B e 1D.

Quanto à mortalidade dos organismos jovens, esta foi superior a 20% nos lotes provenientes das culturas 1A e 1B apenas na 4ª e 5ª semana (Tabelas B2 e B3, Anexo B) e na 14ª a 15ª semana nos jovens da cultura 1D (Tabela B5, Anexo B). Nos organismos provenientes da cultura 1C a mortalidade foi sempre bastante elevada, com exceção de um evento, quando esta ficou abaixo de 20% (Tabela B4, Anexo B).

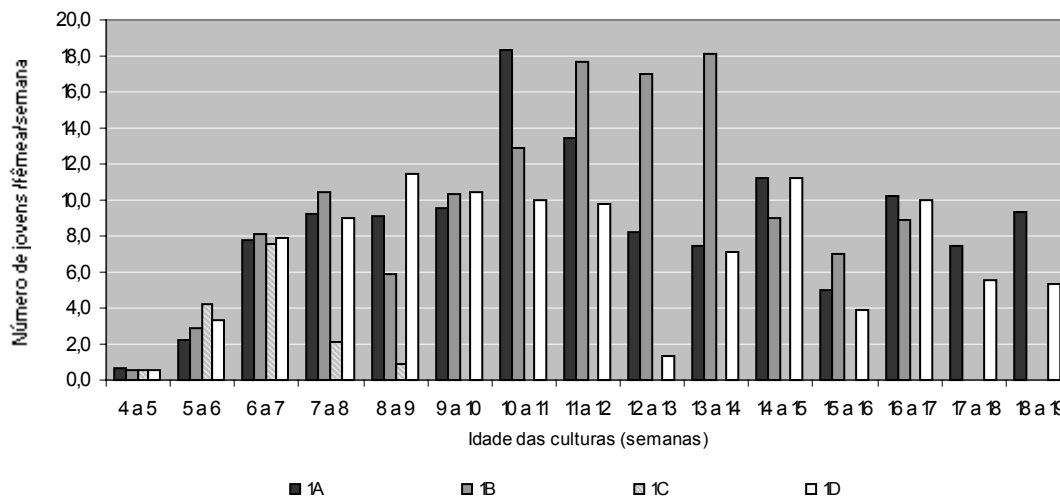


Figura 2.3. Número médio de jovens produzidas por fêmea por semana nas culturas 1A (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula), 1B (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,2mL de óleo de prímula), 1C (50 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula e 5,0 mL de *Selenastrum capricornutum*) e 1D (100 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula).

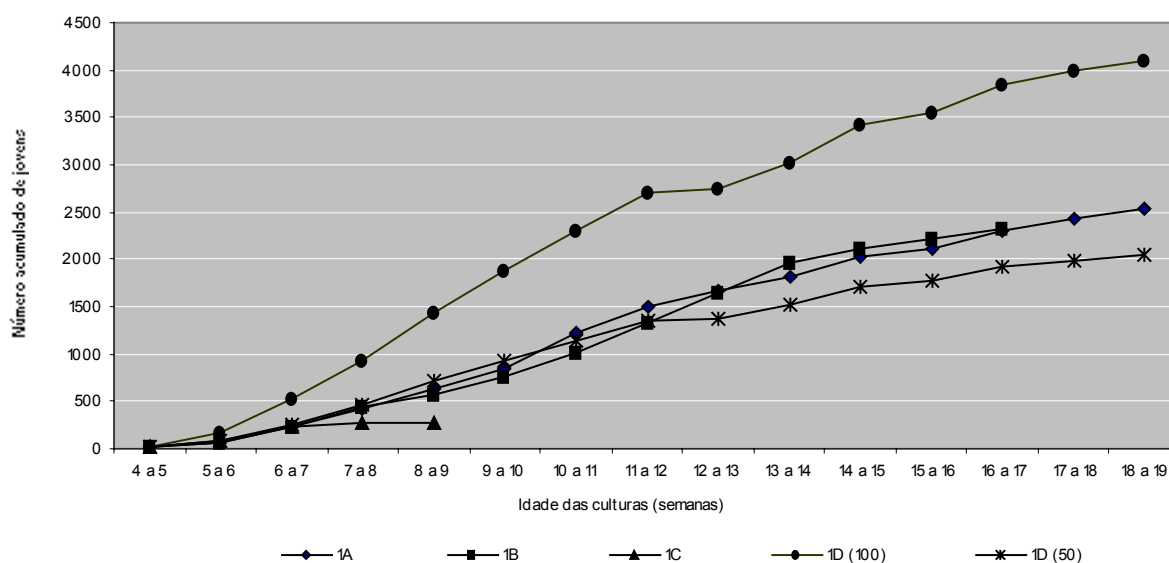


Figura 2.4. Produção acumulada de jovens (0 a 7 dias) nas culturas 1A (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula), 1B (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,2mL de óleo de prímula), 1C (50 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula e 5,0 mL de *Selenastrum capricornutum*) e 1D (100 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula). A curva denominada cultura 1D (50) é relativa a 50% da produção desta cultura.

2.3.2.2. EXPERIMENTO 2

A comparação entre a cultura 2A e 2B avalia o efeito da introdução do óleo de prímula na alimentação de *Hyalella azteca* e, entre 2B e 2C, possibilita inferir a duplicação da quantidade do alimento RL com adição de 0,1 de óleo de prímula (Figuras 2.5 a 2.8, Tabelas B8 a B11, Anexo B).

Verifica-se na figura 2.5 que ocorreu mortalidade superior a 20% dos adultos nas culturas 2A (2,5 mL RL sem adição de óleo de prímula) e 2B (2,5 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula) a partir da 13^a a 14^a semanas, de 36% na 14^a a 15^a semanas na cultura 2A e de 32 % na 16^o a 17^o semanas na 2B.

Para a comparação dos dados de sobrevivência dos organismos adultos foram elaboradas as Tabelas de Vida e construídas as curvas de sobrevivência para ambas as culturas (Figura 2.6). A introdução de óleo de prímula na ração (2B) leva a uma maior longevidade ($p=0,0021$). Até a sétima semana não foi observado comportamento diferenciado para as duas condições (cultura 2A sem óleo de prímula e 2B com óleo de prímula), entretanto, após este período, a mortalidade dos organismos alimentados com ração sem óleo de prímula é maior que quando adotando a ração com óleo. A introdução do dobro de alimento RL (2C) foi negativo para a sobrevivência dos organismos ($p = 0,0001$), sendo o efeito foi mais acentuado após a sétima semana (Figura 2.7).

Verifica-se que o pH se manteve entre os valores de 7,1 a 7,6 unidades nas culturas com organismos adultos (Tabelas B8 a B10, Anexo B). Quanto ao OD, foi observado teores acima de 4,0mg/L de O₂ em todas as culturas, com exceção de uma ocasião na cultura 2A (3,8mg/L de O₂). No entanto, as menores médias, tanto do pH como de OD, foram observadas na cultura 2C, na qual foi duplicada a quantidade de alimento e foram significativamente diferentes ($p = 0,039$) nas culturas 2A e 2B.

A razão entre machos e fêmeas foi de 1,0 a 1,1 nas culturas 2A e 2B e 1,0 a 0,7 na 2C. Nesta última, a menor razão entre os machos e fêmeas no final do experimento (0,7), não corresponde a encontrada nas culturas, uma vez que, foi observado desaparecimento de animais, um dia após terem sido contados e separados para a verificação do sexo, mostrando que ocorreu canibalismo e uma maior mortalidade dos machos.

Os dados de produção de jovens por fêmea estão apresentados figura 2.8 e na tabela B11 (Anexo B). Verifica-se que a produção média foi semelhante nos três tratamentos, tendo sido obtido 7,4; 9,0 e 8,0 com desvio padrão de 1,9; 2,6; 2,5, respectivamente para as culturas 2A, 2B e 2C. Aplicando-se o teste de Kruskal-Wallis, não foi observada diferença significativa na taxa de reprodução entre as culturas 2A, 2B e 2C. Quanto ao número de jovens, a maior produção total de organismos (Tabelas B8 a B10, Anexo B e Figura 2.9) ocorreu na cultura 2B (4579 jovens), com adição de 0,1mL de óleo de prímula. Nas culturas 2A (sem adição de óleo de prímula) e 2C (adição

do dobro do alimento RL), a produção de jovens foi menor (3089 e 2319, respectivamente) (Figura 2.9).

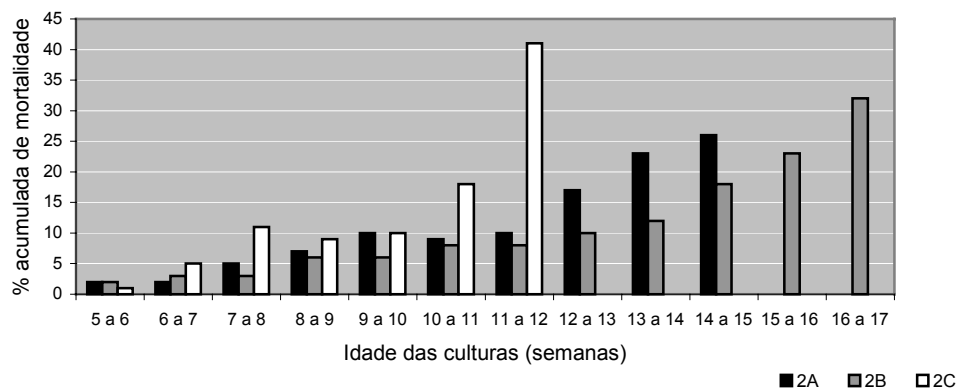


Figura 2.5. Porcentagem de mortalidade nas culturas 2A (2,5 mL de RL sem a adição de óleo de prímula), 2B (2,5 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula) e 2C (5,0 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula).

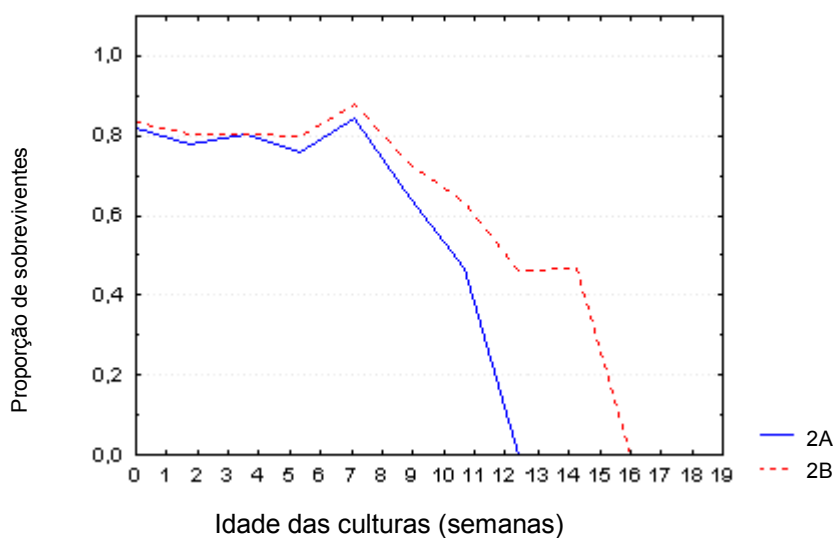


Figura 2.6. Curvas de sobrevivência das culturas 2A (2,5 mL de RL sem a adição de óleo de prímula) e 2B (2,5 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula).

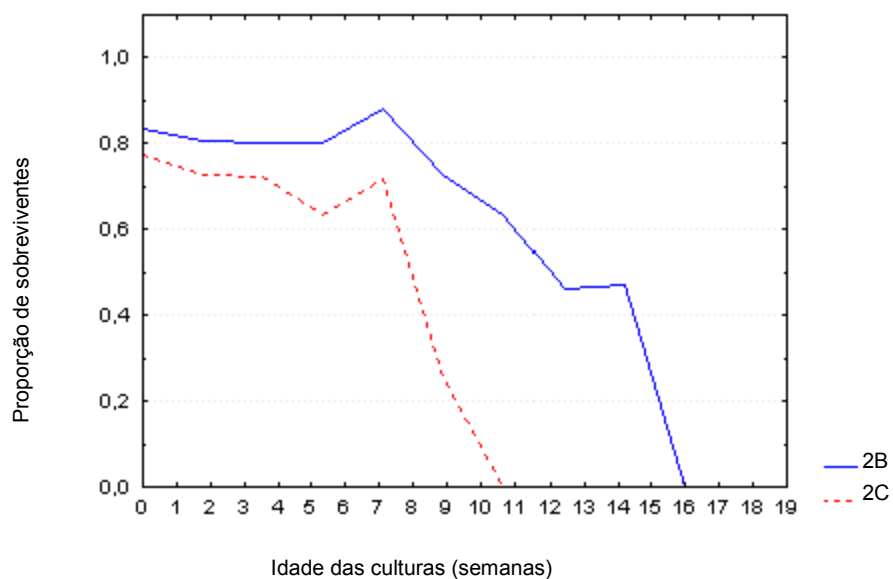


Figura 2.7. Curvas de sobrevivência das culturas 2B (2,5 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula) e 2C (5,0 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula).

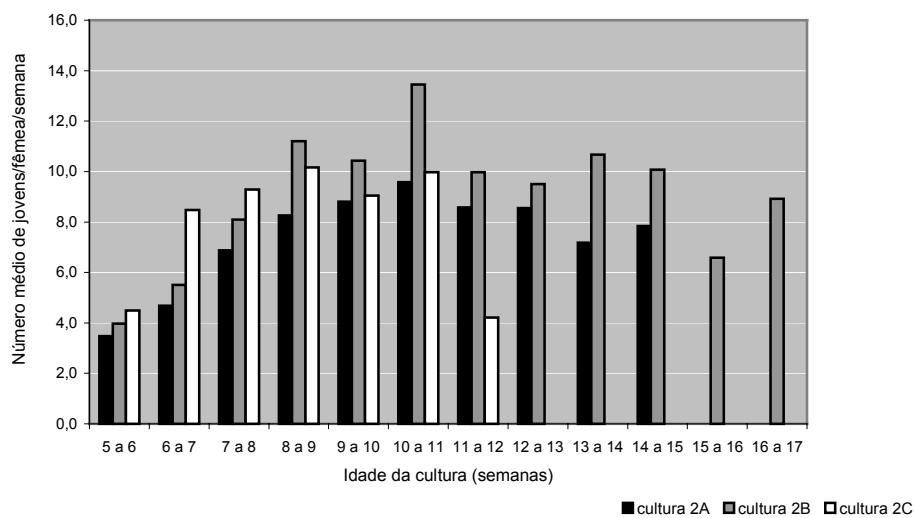


Figura 2.8. Número médio de jovens produzidos por fêmea por semana das culturas 2A (2,5 mL de RL sem a adição de óleo de prímula), 2B (2,5 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula) e 2C (5,0 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula).

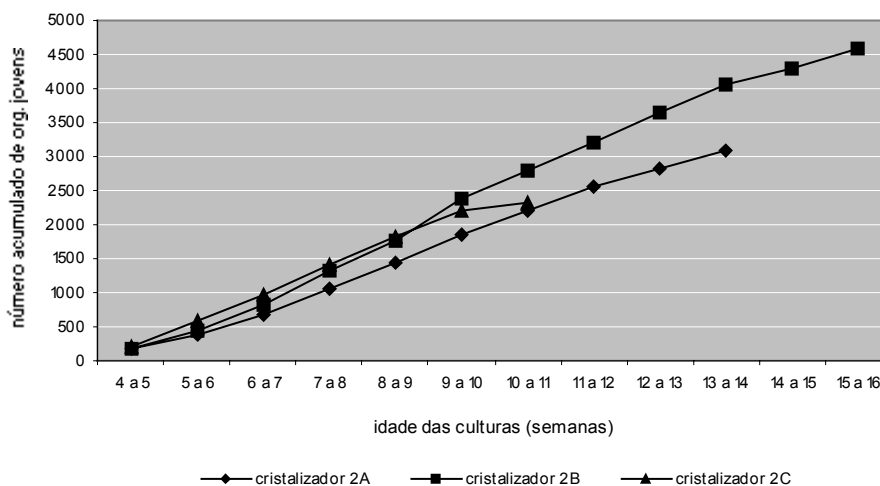


Figura 2.9. Produção acumulada de organismos jovens (0 a 7 dias) nas culturas 2A (2,5 mL de RL sem a adição de óleo de prímula), 2B (2,5 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula) e 2C (5,0 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula).

2.3.2.3. EXPERIMENTO 3

Neste experimento foi avaliada a constância da reprodução e a porcentagem de sobrevivência aceitável de culturas com 100 organismos alimentados com 2,5 mL de RL com adição de 0,1 mL de óleo de prímula. Para tanto, foram observados 4 culturas estabelecidas em diferentes datas ao longo de 1 ano e 7 meses, sendo que cada um teve a duração de 3 a 4 meses.

A sobrevivência e reprodução dos adultos das culturas 3A, 3B, 3C e 3D (100 organismos, 2,5 mL de RL com adição de 0,1 mL de óleo de prímula) estão apresentados nas tabelas B12 a B15 (Anexo B).

Verifica-se que, em 3 das 4 culturas analisados (Tabelas B13 a B15, Anexo B), ocorreu 20% da mortalidade dos adultos nas culturas a partir da 11^a e 12^a semanas.

O início da reprodução de jovens sempre se deu a partir da 4^a e 5^a semanas, ou seja, quando os organismos estavam com 28 a 35 dias de vida.

Verifica-se que a produção média de jovens nessas culturas foi de 9,9; 9,8; 11,1 e 9,1 com desvio padrão de 2,1; 2,3; 2,9 e 3,3, respectivamente. Portanto, valor médio obtido foi de 9,2, com um desvio padrão de 2,7. Assim, o número de jovens produzidos por fêmea obtido nas condições de cultivo estabelecidas foi de 6,5 a 11,9.

O maior número médio de jovens/fêmea/ semana foi observada na cultura 3C, ou seja 16,7 jovens/ fêmea por semana, enquanto nos outros foi ao redor de 13.

Verifica-se, nas tabelas B12 a B15 (Anexo B), que a produção de jovens oscilou ao longo do tempo, porém não foi observada uma redução acentuada quando da ocorrência de mortalidade dos adultos superior ou igual a 20%. Aplicando-se o teste de Kruskal-Wallis, não foi observada diferença significativa entre as taxas de reprodução nas culturas.

A partir da análise das Tabelas da Vida, verificou-se a existência de diferenças significativas entre as distribuições apresentadas (Figura 2.10). Nessa análise foram incluídas as culturas 1D do **Experimento 1** e 2B do **Experimento 2**, uma vez que tanto o alimento com número de organismos foram iguais aos das culturas 3B, 3C e 3D, tendo sido excluída a cultura 3A, pois os dados não estavam completos.

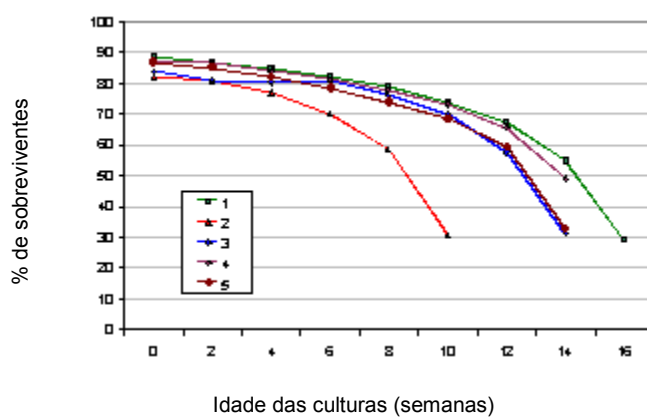


Figura 2.10. Curvas de sobrevivência das culturas com 100 organismos e alimento 2,5ml de RL mais óleo de prímula (0,1mL)/dia com adição de ração de coelho três vezes/semana (1= cultura 1D, 2 = cultura 3B, 3 =cultura 2A, 4 = cultura 3C, 5 = cultura 3D).

Foi apontado no teste estatístico a existência de diferenças significativas entre as distribuições apresentadas na figura 2.10. A estatística do teste foi igual a $\chi^2 = 206,99$ com $p < 0,001$.

O cultura 3B foi o que mais diferiu das demais, sendo que as outras curvas apresentam diferenças a partir da décima semana. Essas curvas foram elaboradas baseadas na construção de números índices, considerando o cultura 1D do **Experimento 1** como referência (100%), pois foi a cultura com a menores porcentagens de mortalidade. Verifica-se na figura 2.10 que o comportamento diferenciado entre os experimentos deu-se a partir da décima semana.

2.4. DISCUSSÃO

No primeiro experimento, verificou-se que ocorreu variação da razão entre machos e fêmeas, tendo sido verificada a razão de 1:1 até 1:2 (Tabela B6, Anexo B). Esta variação poderia ser atribuída a uma alta mortalidade dos organismos adultos no final do experimento no presente estudo e não a normalmente encontrada nos cultivos dessa espécie em laboratório.

Assim, decidiu-se confirmar esse dado com a determinação da razão entre machos e fêmeas das culturas mantidas no laboratório. Os resultados obtidos mostraram que a razão média entre machos e fêmeas foi um pouco superior ao esperado de 1:1, ou seja 1,2:1, com desvio padrão de 0,28. Verificou-se também que não ocorre uma variação alta desta razão ao longo do tempo. A razão de 1:2 foi encontrada apenas em 1 cultura, dentre as 18 analisadas.

Para avaliar as culturas submetidas a diferentes tratamentos, os parâmetros adotados foram: semana do início da reprodução, semana em que ocorreu mortalidade dos adultos superior a 20%, número médio de jovens/fêmea/semana, considerando a razão entre machos e fêmeas de 1,2:1 e no caso do **Experimento 2** de 1,1:1, o maior número médio de jovens/fêmea/semana e o maior período de reprodução da cultura. Estes dados estão apresentados nas tabelas 16B a 18B (Anexo B).

Verifica-se, pelos resultados do **Experimento 1** (Tabelas B2 a B5 e B16, Anexo B), que os alimentos *Selenastrum* mais RL (cultura 1C) não foram adequados para manter as culturas, uma vez que foi observada alta mortalidade dos adultos em curto espaço de tempo (8 a 9 semanas), baixa produção de jovens e mortalidade elevada dos mesmos após 7 dias.

Observou-se que o número médio de jovens por fêmea das culturas 1A e 1B foi semelhante, portanto, o aumento da quantidade de óleo de primula no alimento RL de 0,1 para 0,2 mL, não resultou num aumento significativo na reprodução e na sobrevivência dos organismos.

A redução do número de organismos nas culturas de 100 para 50 não teve efeito significativo na sobrevivência e, com relação à reprodução, considerando-se 50% da produção (Figura 2.4), esta foi 20 a 30% menor que nas culturas 1A e 1B. Esses resultados mostraram que, provavelmente, ocorre limitação dependente de densidade (espaço ou alimento). No entanto, o teste de Kruskal-Wallis não apontou diferença significativa entre os três tratamentos.

Nelson e Bruson (1995) observaram que a maturação sexual de *Hyalella azteca* é mais rápida quando se estabelece culturas com casais isolados (menos de 4 semanas, 24 dias de vida ou quinta muda) que nas culturas com 200 adultos com a proporção de 3 fêmeas para cada macho (5^a semana com a presença de apenas 5,33% de casais nas culturas e na 8^a semana 85% de casais).

Portanto, os dados aqui obtidos mostram que a maturação sexual observada nas culturas com 100 organismos foi semelhante à das culturas isoladas, mostrando, desta forma, que a disponibilidade de espaço, quantidade de alimento e substrato parecem estar adequados.

A taxa de reprodução nas culturas não se manteve constante ao longo do tempo em nenhum dos tratamentos. O início da reprodução ocorreu entre a 4^a e 5^a semana, com um número de jovens por fêmea muito baixo, tendo sido observado um pico máximo de reprodução em todas as culturas por volta da 10^a a 12^a semana.

A maior taxa de reprodução foi de 18 jovens/fêmea observada tanto na cultura 1A na 10^a a 11^a semana e na cultura 1B na 13^a a 14^a semana (Tabela B7, Anexo B). No entanto, na cultura 1B foi observada, por três semanas consecutivas, uma alta taxa de reprodução (Tabela B7, Anexo B). Taxa de reprodução semelhante foi obtida por Call et al. (1994), de adultos provenientes de culturas com 60 organismos e alimentados com YCT (alimento composto de Cerophyll®, ração para peixe e levedura) e *Selenastrum*.

Quanto à sobrevivência dos organismos jovens, na maior parte do tempo foi superior a 20%. A mortalidade dos jovens, provenientes das culturas 1A, 1B e 1D parece não estar relacionada com a saúde dos organismos adultos, uma vez que foi obtida baixa mortalidade dos jovens mesmo quando a mortalidade dos adultos foi elevada (Tabelas B1 a B4, Anexo B). A baixa sobrevivência foi muitas vezes associada à baixa taxa de aeração nos recipientes ou ao manuseio inadequado da peneira na separação dos organismos. Com relação à peneira, esta foi modificada, ou seja, o tamanho da peneira foi reduzido de modo a facilitar o manuseio.

Os resultados obtidos mostraram que é possível manter as culturas com baixa taxa de mortalidade dos adultos e boa reprodução por até mais de 14 semanas consecutivas, ou seja, por cerca de 3 a 4 meses.

O **Experimento 2** teve como objetivo verificar se ocorreria uma melhora no cultivo dos organismos dobrando-se a quantidade de alimento atualmente fornecido para as culturas de *Hyalella*, e se seria necessário adicionar óleo de prímula ao alimento composto RL.

Nesse experimento foi adicionado, inicialmente, o mesmo número de machos e fêmeas (50), porém essa razão se alterou ligeiramente ao longo do tempo, com uma tendência a uma maior mortalidade das fêmeas. O procedimento adotado, ou seja, adição inicial de 150 organismos e redução para 100 adicionando-se igual número de machos e fêmeas, quando os mesmos atingiram a fase adulta, foi bastante adequado para se ter uma maior homogeneidade na produção de organismos jovens/cultura.

Os resultados obtidos (Tabela B17, Anexo B) mostraram que o tratamento 2B (2,5ml de RL com adição de 0,1mL óleo de prímula/100mL) foi mais adequado que o tratamento 2A, pois proporcionou uma maior longevidade da cultura. A adição de uma maior quantidade de alimento (tratamento 2C), por outro lado, acarretou uma maior mortalidade dos adultos, principalmente após a sétima semana (Figura 2.6, Tabela B17, Anexo B). Com relação à produção de jovens, aplicando-se o teste de Kruskal-Wallis, não foi observada diferença significativa no número médio de jovens/fêmea/ semana entre as culturas 2A, 2B e 2C.

Comparando-se os resultados do **Experimento 1**, cultura 1D e **Experimento 2**, cultura 2B, com as das culturas do **Experimento 3**, cultura 3A a 3D, que continham o mesmo número de organismos, e que receberam igual quantidade e tipo de alimento, verifica-se que a mortalidade de cerca de 20% dos organismos adultos pode ocorrer a partir da 12^a semana (Tabela B18, Anexo B). Quanto à produção de jovens, observou-se oscilação em todas as culturas, sendo que foi de aproximadamente 9 organismos/fêmea/semana. A recomendação de duração das culturas, de 4 meses ou até 20% de mortalidade dos adultos, parece adequada, pois nesse período foi observado uma boa produção de jovens nas culturas.

Os resultados do **Experimento 1** (Tabela B16, Anexo B) mostraram, aplicando-se o teste de Kruskal-Wallis, que não houve diferença significativa na produção de organismos ao longo do tempo entre as culturas. Conclui-se, assim, que o procedimento de cultivo descrito é adequado para a obtenção de jovens em número suficiente para a realização de testes de toxicidade com *Hyalella azteca*. O número médio de jovens/fêmea/semana na cultura 1A ($9,2 \pm 3,7$) e 1B ($10,7 \pm 4,8$) foi semelhante à média das culturas com 100 organismos, ou seja $9,2 \pm 2,8$, porém a cultura 1D foi a que apresentou a melhor curva de sobrevivência.

Na literatura é relatado que o número de ovos por fêmea de *Hyalella* no ambiente natural, apesar de variar com o tamanho e com a idade, é em média de 18 por fêmea (PENNAK, 1989). Em culturas de laboratório, o número médio de jovens por fêmea é menor, pois pode ocorrer canibalismo de adultos sobre os jovens e, possivelmente, também, devido às condições constantes a que estes organismos são submetidos para que ocorra a produção ao longo do ano inteiro de jovens para teste. Considera-se, no entanto, importante continuar os estudos para se tentar melhorar a produção de jovens nas culturas, avaliando diferentes alimentos e substratos.

2.5. CONCLUSÕES

O alimento RL preparado com óleo de prímula na razão de 0,1mL mais a suspensão de alga *Selenastrum capricornutum* com 3,0 a $3,5 \times 10^7$ células /mL não se mostrou adequado para as culturas de *Hyalella*, uma vez que foi observada alta mortalidade dos adultos na 8ª e 9ª semanas.

A redução de 100 para 50 organismos por cultura não acarretou uma produção significativamente maior de organismos jovens.

A adição de 5mL ao invés de 2,5mL de RL/dia em cada cultura com 100 organismos não acarretou melhora na produção de jovens e na sobrevivência dos adultos.

A necessidade de adição de óleo de prímula deve ser melhor avaliada em experimentos acompanhando várias gerações.

2.6. RECOMENDAÇÕES

Estabelecer culturas de *Hyalella azteca* com 100 organismos de 7 a 0 dias de vida por recipiente (cristalizadores de vidro de 4L de capacidade), contendo cerca de 2,5L de água natural, tendo como substrato a planta aquática Elódea e alimento ração para coelho (3 vezes por semana) e 2,5 mL de RL com adição de óleo de prímula. Desta forma é possível a obtenção de um número médio de jovens/fêmea por semana de 9,2 com um desvio padrão de 2,7, por um período de cerca de três meses.

Recomenda-se a continuidade dos experimentos com diferentes alimentos, substratos e densidade de organismos, uma vez que alguns autores obtiveram um número médio bem mais elevado de jovens por fêmea.

2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, R. P. A. **Avaliação da toxicidade de sedimentos ao anfípodo de água doce *Hyalella meinerti* Stebbing, 1899 (Crustacea, Amphipoda)**. 1998. 184 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Geral). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM. 1987, 40 p. Draft 1, 10/15/87.

ASTM. **E 1706-00**: test method for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. Philadelphia: ASTM, 2000. 117 p.

CALL, D. J.; BROOKE, L. T.; ANKLEY, G. T.; BENOIT, D. A.; HOKE, R. A. Appendix G: Biological effects testing procedures. In: United States Environmental Protection Agency, Regions II, III, V; Great Lakes national program Office; U.S. Army Corps of Engineers, North Central Division. **Great Lakes dredged material testing and evaluation manual**. 1994.

CETESB. **Água**: avaliação de toxicidade crônica utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (Cladocera, Crustacea). São Paulo: CETESB, 1991 . 25 p. Norma Técnica L5.022.

ENVIRONMENT CANADA. **Standard operating procedure for the culturing of *Hyalella azteca***. Vancouver, Environment Canada, 1999.

LÉGER, P.; BENTSON, D. A.; SORGELOOS, P. Analytical variation in the determination of the fatty acid composition of standard preparations of the brine shrimp *Artemia*; an interlaboratory exercise. In: **Aquatic toxicology and hazard assessment**. COWGILL, U. M; WILLIAMS, L. R. (Ed.). American Society for Testing and Materials: Philadelphia, 1989, p. 413-423.

MOORE, D. W.; FARRAR, J. D. Effect of growth on reproduction in the freshwater amphipod, *Hyalella azteca*. **Hydrobiologia**, v. 328, p. 127-134, 1996.

NEBEKER, A. V.; ONJUKKA, S. T.; STEVENS, D. G.; CHAPMAN, G. A.; DOMINGUEZ, S. E. Effects of low dissolved oxygen on survival, growth and reproduction of daphnia, *Hyalella* and *Gammarus*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.11, p. 373-379, 1992.

NELSON, M. K; BRUNSON, E. L. Postembryonic growth and development of *Hyalella azteca* in laboratory cultures and contaminated sediments. **Chemosphere**, v. 31, n. 4, p. 3129-3140, 1995.

OTHMAN, M. S.; PASCOE, D. Growth, development and reproduction of *Hyalella azteca* (Saussure, 1858) in laboratory culture. **Crustaceana**, v. 74, n. 2, p.171-181, 2001.

PENNAK, R. W. **Freshwater invertebrates of the United States**. New York: John Wiley and Sons, Inc., 1989. 628 p.

STATSOFT, Inc. **Statistica for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc. 1995. Disponível em: <<http://www.statsoft.com>>. Acesso em: maio 2003.

USEPA. (Estados Unidos). **Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates**. 2. ed. Duluth: Environmental Protection Agency, 2000, 191 p. (EPA/600/R-99/064).

VIEGAS, E. M. M. **Lipídios na nutrição de animais aquáticos**. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP. s.d. Mimeografado.

WEST. I.; GULLEY, D. **Toxstat 3.5**. University of Wyoming, Wyoming, USA, 1996. 38 p.

CAPÍTULO 3

TESTE DE TOXICIDADE COM AMOSTRAS DE SEDIMENTO COM *HYALELLA AZTECA*: AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE ENSAIO E SUA APLICAÇÃO NO ESTABELECIMENTO DA QUALIDADE DOS SEDIMENTOS DE ÁGUA DOCE.

3.1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, houve internacionalmente um grande desenvolvimento e aperfeiçoamento de métodos para avaliação química, biológica (análise da comunidade bentônica), e ecotoxicológica da qualidade de sedimentos. Com relação à avaliação ecotoxicológica, um dos primeiros testes de toxicidade de sedimento com organismos de água doce (*Hexagenia limbata*, *Asellus communis*, *Daphnia magna* e *Phimephales promelas*) foram desenvolvidos por Prater e Anderson (1977). Estes autores descreveram também procedimentos de cultivo e para a realização de testes de bioacumulação, de toxicidade aguda e crônica de sedimento, assim como testes *in situ* para *Daphnia magna*, *Gammarus lacustris*, *Hyalella azteca* e *Hexagenia limbata*.

Apesar de ter sido recomendado o uso de espécies representativas da coluna de água para avaliação da qualidade de sedimento (BURTON, 1991; BURTON et al., 1992), estas foram praticamente abandonadas à medida em que foram sendo estabelecidos procedimentos de cultivo de espécies bentônicas (INGERSOLL; NELSON, 1990; INGERSOLL et al., 1995; NEBEKER et al., 1984). Além disso, estudos comparando a sensibilidade de várias espécies (BURTON, 1991; BURTON et al., 1996a) possibilitaram a determinação dos organismos mais adequados. A partir desses dados, os trabalhos com algumas espécies intensificaram-se, o que resultou no desenvolvimento de procedimentos de testes de toxicidade padronizados para *Hyalella azteca* e *Chironomus tentans* pela ASTM (2000), USEPA (1994, 2000) e Environment Canada (1997) e o de bioacumulação com *Lumbriculus variegatus* pela USEPA (1994, 2000). Atualmente, apenas a ASTM mantém a descrição das diretrizes para a realização de testes com organismos da coluna de água (ASTM, 2000).

A ASTM (1987, 1989, 1990, 1993, 1995) recomendava que os testes de sedimentos deveriam ter a duração igual ou menor a 10 dias e serem realizados em sistema estático ou de fluxo contínuo, adotando a razão de sedimento e água de 1:4, com 4 réplicas. Baseada nos procedimentos da USEPA (1994, 2000), a ASTM adotou, a partir da versão publicada em 2000, o período de exposição de 10 dias em sistema semi-estático, com troca de água intermitente (1 volume total a cada 12 horas) e a razão de sedimento e água passou a ser de 1:1,75. O crescimento corpóreo, um critério de avaliação opcional (USEPA, 1994), passou a ser obrigatório (ASTM, 2000; USEPA, 2000). O número de réplicas indicado passou a ser de oito para testes de rotina, podendo ser modificado de acordo com o objetivo do estudo.

As condições de teste e os critérios de aceitação dos resultados passaram também a ser mais específicos, tendo sido estabelecidas exigências de controle das culturas e do lote de

organismos teste (ASTM, 1995, 2000). Quanto à avaliação da sensibilidade, era solicitado que os laboratórios realizassem testes com a substância de referência mensalmente, ou com o lote de organismos a ser utilizado no teste de sedimento. Na versão mais recente (ASTM, 2000), esta exigência foi retirada, uma vez que foi verificado que este teste pode não ser efetivo na identificação de populações estressadas (McNULTY et al. 1999).

No Brasil, a CETESB, órgão de controle ambiental do Estado de São Paulo, adotou inicialmente o teste de toxicidade com *Daphnia similis* (JOHNSCHER-FORNASARO; ZAGATTO, 1987; ZAGATO et al., 1987) e *Ceriodaphnia dubia* (LORENZETTI et al., 1992). Porém, a partir de 1992, passou a utilizar o teste de toxicidade com duração de 10 dias com *Hyalella sp.*, citada como *Hyalella meinerti* (CETESB, 2000; CETESB; SABESP, 1998, 1999; LAMPARELLI et al., 1996) e depois com a espécie *Hyalella azteca* (CETESB, 2003, 2004; SHIMIZU et al., 2002), seguindo os procedimentos estabelecidos pela ASTM (1987), com algumas modificações. Esses dados, analisados em conjunto com os resultados de análises físicas e químicas, assim como da estrutura da comunidade bentônica, contribuíram para a identificação dos locais nos corpos de água onde poderiam estar ocorrendo efeitos tóxicos para a comunidade bentônica.

Considerando as modificações introduzidas no método padronizado da ASTM (2000) para o teste de toxicidade de sedimento com 10 dias de duração usando *Hyalella azteca*, o presente estudo avaliou os seguintes procedimentos: sistema teste (estático e semi-estático), razão sedimento e água (1:4 e 1:2), critério de avaliação (crescimento corpóreo avaliado pelo peso seco), além da análise estatística dos resultados (teste t e t por bioequivalência), água de diluição (reconstituída e natural) e resultados de teste de toxicidade com a substância de referência.

Para a escolha do desenho experimental que melhor representasse os possíveis efeitos *in loco*, os resultados dos testes foram avaliados em conjunto com os dados químicos do sedimento e da comunidade bentônica, de amostras coletadas no mesmo local e período.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. COLETA

Amostras de sedimento para as análises químicas e de toxicidade foram coletadas na margem deposicional de rios e na zona profunda nos reservatórios, com pegadores do tipo Petit Ponar (232 cm²), em rios e Ekman-Birge, modificado por Lenz (200 cm²). Foram tomadas amostras em triplicatas, compostas a partir volumes iguais de cada réplica, em campo. Nos reservatórios foram considerados apenas os 6 cm superiores da coluna de sedimento. Os sedimentos foram acondicionados em frascos descartáveis e mantidas sob refrigeração (4°C) até o momento da realização dos testes (no máximo até 14 dias após a coleta) (ASTM, 2000).

As amostras de sedimento foram coletadas nos rios Atibainha, Cachoeira, Atibaia (setembro de 2002) e Sorocaba (agosto de 2002) e nos reservatórios Barra Bonita, Billings, Pedro Beicht, Rasgão (outubro de 2000) Promissão e Bariri (outubro de 2000 e junho de 2001), Itupararanga, Paraibuna, Santa Branca e Jaguari (julho e agosto de 2002). Essas localidades, assinaladas na figura 3.1, fazem parte de projetos mais amplos de avaliação da qualidade ambiental de rios e reservatórios (CETESB em elaboração a e b; KUHLMANN et al., em elaboração; MOZETO et al., 2003).

3.2.2. ORGANISMOS-TESTE

Hyalella azteca jovens, com 7 a 14 dias de vida foram obtidos de culturas de idade conhecida cultivados em cristalizadores de vidro de 4L. A água de cultivo foi o meio MS, sugerido por Keating (1985) e preparado segundo Buratini-Mendes (2002), ou água natural de superfície, coletada em reservatórios do Ribeirão do Campo (bacia do rios Claro e Guaratuba), Ponte Nova (bacia do rio Tietê Alto – cabeceiras) e Ribeirão do Pirai (rio Ribeirão do Pirai), com dureza ajustada para a faixa de 40 a 48mg/L, segundo indicado pela ABNT (2004). A condutividade da água sempre esteve entre 72 a 212 μ S e o pH entre 7,2 a 7,6 unidades.

Os organismos foram cultivados na temperatura de $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, luminosidade entre 500 a 1000Lux e fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro. Em cada cristalizador foi adicionado cerca de 2,5L de água, aeração branda e como substrato e alimento, a planta aquática Elódea, alimento digerido denominado RL, preparado segundo (CETESB, 1991), tendo sido adicionado óleo de prímula (0,1mL/100mL RL). Semanalmente, foi realizada a troca de água dos cristalizadores. A planta Elódea foi adquirida no comércio em lojas de aquário.

Os exemplares jovens de *H. azteca*, utilizados nos ensaios, foram obtidos passando-se a água dos cristalizadores, após a retirada dos adultos, em uma rede de malha de 145 μ m. Esses organismos (0 a 7 dias de vida), foram colocados em recipientes de vidro com capacidade de 4L, contendo cerca de 2,5L de água de cultivo e mantidos por 7 dias nas mesmas condições da cultura.

3.2.3. AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE

Para avaliar a sensibilidade de *H. azteca* foram realizados testes de toxicidade aguda, com dicromato de potássio P.A. (Merk e Quimex) e com cloreto de potássio P.A. (Merck, Caal). A água de diluição adotada foi a natural (reservatório Ribeirão do Campo, Ponte Nova e Ribeirão do Pirai) e a reconstituída (meio MS), com dureza ajustada para 40 a 48mg/L. Em cada recipiente teste foram colocados 200ml de solução teste, 10 organismos com 7 a 14 dias de vida. Os organismos foram alimentados no primeiro dia (entre 18 e 24h) com 0,5mL do alimento composto RL. O número de réplicas foi de 4 por concentração.



Figura 3.1. Localização dos pontos de amostragem de sedimento

Os resultados foram expressos sob a forma de concentração letal mediana aos organismos (CL50) calculada pelo método estatístico Trim Spearman Karber (HAMILTON et al., 1977). O período de exposição foi de 48h, sendo que com KCl foram realizados testes de 48 e 96h de duração.

3.2.4. TESTES DE TOXICIDADE DE SEDIMENTO COM *H. azteca*

3.2.4.1. AVALIAÇÃO DO TIPO DE SISTEMA (ESTÁTICO E SEMI-ESTÁTICO), RAZÃO SEDIMENTO E ÁGUA (1:2 E 1:4) E CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO (MORTALIDADE E CRESCIMENTO)

Foram realizados testes de toxicidade com as amostras de sedimento, coletadas nos rios e reservatórios citados no item 3.2.1, para avaliar o sistema teste (estático ou semi-estático) (**Experimento 1 e 2**) e a razão sedimento e água 1:2 e 1:4 (**Experimento 2 e 3**) (Tabela 3.1). Com essas amostras foram realizados testes de toxicidade com o anfípoda *H. azteca*, baseado na metodologia descrita pela ASTM (1993) (teste estático) e ASTM (2000) (teste semi-estático). O procedimento básico de teste consistiu na exposição de indivíduos jovens de *H. azteca* com 7 a 14 dias de idade às amostras de sedimento (razão sedimento e água 1:4 ou 1:2) durante dez dias, em sistema estático ou semi-estático, com troca de água (2/3) a cada dois dias. Foi adicionada aeração nos **Experimentos 1 e 2**, e no **Experimento 3** apenas quando o oxigênio dissolvido atingiu valores abaixo de 2,5 mg/L. A água de diluição adotada foi água reconstituída (meio MS) ou natural, coletada no reservatório do Ribeirão do Piraí, com dureza acertada para 40 a 48mg/L CaCO₃, conforme descrito no item 3.2.2. No início e no final do teste, assim como no dia da troca de água, foram retiradas alíquotas, duas ou três conforme o número de replicatas, para a determinação do pH, condutividade e oxigênio dissolvido. Nos testes estáticos, foram retiradas alíquotas de água para a determinação das características químicas e físicas da água apenas no início e no final do teste. Após 10 dias de exposição foi contado o número de organismos vivos. Os organismos desaparecidos foram considerados mortos.

Como sedimento referência (Tabela 3.1), adotou-se no **Experimento 1** a amostra coletada no reservatório Pedro Beicht, no **Experimento 2** a do reservatório Promissão e, no **Experimento 3**, a do rio Cachoeira, a montante do reservatório e da Cachoeira dos Pretos, no município de Joanópolis, para as amostras coletadas, respectivamente, nos rios Atibainha, Cachoeira, e Atibaia; a do reservatório Paraibuna, quando se testou amostras dos reservatórios Itupararanga, Jaguarí e Santa Branca; e a do rio Sorocaba, a jusante da barragem de Votorantim, no município de Votorantim, para as amostras coletadas no rio Sorocaba.

No **Experimento 3** (Tabela 3.1), além da mortalidade, foi avaliado o crescimento corpóreo, expresso pelo peso seco, determinado pelo método descrito em USEPA (2000). Os organismos sobreviventes de cada réplica foram transferidos para formas de papel de alumínio, previamente pesadas e colocadas em uma estufa, por 24 horas, na temperatura na faixa de 60 a 90°C. As

amostras foram mantidas em dessecador e pesadas em uma balança com 0,01mg de precisão. Os resultados foram expressos através do peso médio por organismo sobrevivente por amostra.

Tabela 3.1. Resumo das condições avaliadas ou adotadas em cada experimento.

| Experimento | Sistema e razão sedimento e água | Tipo de água | Sedimento controle | Efeito observado |
|-------------|--|---------------------------|--|------------------------------------|
| 1 | Estático 1:4 x Semi-estático 1:4 | Meio MS | Reserv. Pedro Beicht | Mortalidade |
| 2 | Estático 1:4 x Semi-estático 1:4 x Semi-estático 1:2 | Meio MS | Reserv. Promissão | Mortalidade |
| 3 | Semi-estático 1:4 x Semi-estático 1:2 | Reserv. Ribeirão do Pirai | Rio Cachoeira, a montante do reserv. Município de Joanópolis; reserv. Paraibuna; Rio Sorocaba, a jusante da barragem de Votorantim, município de Votorantim. | Mortalidade e crescimento corpóreo |

3.2.4.2. CÁLCULO ESTATÍSTICO: AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS ADOTANDO O TESTE “T” E O “T POR BIOEQUIVALÊNCIA”

Para avaliar se a mortalidade e o crescimento corpóreo dos organismos nas amostras foi significativa em relação ao ponto de referência/controle foi aplicado o teste “t” e o “t por bioequivalência”, disponível no Programa TOXSTAT 3.5 (WEST; GULLEY, 1996), para o conjunto de dados obtidos. Por meio desse programa foram conduzidos, primeiramente, testes de Normalidade (Shapiro Wilks e χ^2) e, em seguida, para a análise de variância, aplicaram-se depois o teste “F” e o “t de Student”. Dessa forma foram obtidos os valores da diferença mínima significativa da amostra em relação ao controle (DMS), como uma porcentagem em relação à resposta registrada no controle (% DMS = DMS/média do controle x 100).

Para se aplicar o teste de bioequivalência foi necessário o estabelecimento da constante de proporcionalidade “r”, ou seja, calcular a variabilidade da porcentagem de efeito (mortalidade e crescimento corpóreo) no controle nos testes para *Hyalella azteca*, nas condições de teste estabelecidas. Assim, inicialmente foram levantados valores da diferença mínima significativa da amostra em relação ao controle (DMS), obtidos nos cálculos de testes de toxicidade com *H. azteca* com amostras de sedimento dos testes realizados nos **Experimentos 1 a 3**, adotando relação sedimento e água 1:4. Como o número de testes foi considerado pequeno, decidiu-se acrescentar outros valores de DMS obtidos nos testes realizados com esta espécie adotando a mesma metodologia, totalizando, assim, 36 valores para a variável mortalidade e 24 para crescimento corpóreo, com diferentes amostras de sedimento coletadas no estado de São Paulo e que fizeram parte de projetos mais amplos de avaliação da qualidade desenvolvidos pela CETESB. Os valores da DMS assim obtidos foram ordenados, para identificação do 75º percentil. Para o cálculo deste, utilizou-se a fórmula $X[n.p]^+$, que corresponde à observação seguinte à n.p (onde n corresponde ao

número total de observações e p ao percentil em decimais), quando o produto n.p não resulta em um número inteiro. O “r” foi calculado subtraindo-se de 100 o valor correspondente ao 75º percentil da DMS (Denton; Norbert–King, 1996).

3.3. RESULTADOS

3.3.1. AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE

A CL50;48h média do dicromato de potássio para *H. azteca* foi de 0,47mg/L em água coletada no reservatório Ribeirão do Campo, 0,42mg/L em meio MS e 0,57mg/L em água coletada no reservatório Ponte Nova (Tabela 3.2). O coeficiente de variação dos testes realizados com água coletada no reservatório de Ribeirão do Campo (44,7) foi superior aos dos testes em meio MS (23,8%) e água natural do reservatório Ponte Nova (26,3%). Para o cloreto de potássio, a CL50; 48h média foi de 218,7mg/L em meio MS e 213,4 mg/L em água do reservatório Ribeirão do Pirai, com coeficiente de variação de 15,1 e 9,23%, respectivamente. A CL50 média dos testes realizados com tempo de exposição de 96h, em meio MS, foi muito semelhante à obtida com 48h, ou seja 222,2mg/L, com coeficiente de variação de 5,6%(Tabela 3.2).

Tabela 3.2. Resultados dos testes de toxicidade realizados com *H. azteca* com as substâncias de referência dicromato de potássio e cloreto de potássio, em diferentes águas.

| Substância | Água | CL50;48h, mg/L | Desvio Padrão | Coeficiente de variação | Número de ensaios | Período |
|---|---------------|--------------------|---------------|-------------------------|-------------------|---------------------|
| K ₂ Cr ₂ O ₇ | Rib. do Campo | 0,47 | 0,21 | 44,7 | 8 | 15/9/98 a 20/4/99 |
| K ₂ Cr ₂ O ₇ | MS | 0,42 | 0,10 | 23,8 | 26 | 4/5/99 a 14/8/01 |
| K ₂ Cr ₂ O ₇ | Ponte Nova | 0,57 | 0,15 | 26,3 | 10 | 22/04/97 a 19/5/98 |
| KCl | MS | 218,7 | 33,0 | 15,1 | 15 | 14/12/99 a 13/11/01 |
| KCl | MS | 222,2 ^a | 12,5 | 5,6 | 5 | 14/12/99 a 5/6/01 |
| KCl | Rib. do Pirai | 213,4 | 19,7 | 9,23 | 17 | 7/8/01 a 18/5/04 |

a = CL50;96h

3.3.2. TESTE DE TOXICIDADE DE SEDIMENTO COM *H. azteca*

3.3.2.1. DETERMINAÇÃO DA CONSTANTE DE PROPORCIONALIDADE “r”

Os valores da diferença mínima significativa (DMS) da amostra em relação ao controle registrados nos testes de toxicidade de sedimento com *H. azteca* encontram-se na Tabela C1, no Anexo C.

O 75º percentil para *H. azteca* para os efeitos mortalidade e crescimento corpóreo referem-se à 26ª e 18ª observação, respectivamente, após a ordenação, ou seja o valor 11,4 e 17,9. Com base nesses valores foram calculadas as constantes de proporcionalidade “r” de 0,89 e 0,82 para as variáveis mortalidade e crescimento corpóreo, respectivamente.

3.3.2.2. COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS ADOTANDO OS TESTES “t” e “t POR BIOEQUIVALÊNCIA”

Verifica-se na tabela 3.3 (dados assinalados em negrito) que foi observada mortalidade significativa aplicando-se o teste “t” mas não pelo “t por bioequivalência” nos seguintes ensaios: reservatório de Barra Bonita e Bariri no experimento 1 (razão sedimento e água 1:4), rio Atibainha a jusante do reservatório (razão sedimento e água 1:2), rio Cachoeira a jusante do reservatório (razão sedimento e água 1:2 e 1:4), rio Sorocaba no ponto localizado no bairro Vitória Régia (razão sedimento e água de 1:4) e a montante do rio Sarapuí (razão sedimento e água 1:2 e 1:4) e no rio Sorocaba na captação do município de Cerquilha (razão sedimento e água 1:2). Nestes casos, aplicando-se o teste t por bioequivalência, ou seja, considerando o histórico da variabilidade da porcentagem do efeito no controle neste tipo de teste, esta diferença não foi considerada significativa, o que resultou na constatação que estes sedimentos não apresentam efeitos na sobrevivência dos organismos teste.

Com relação ao efeito sobre o crescimento corpóreo, verifica-se na tabela 3.4 (dados assinalados em negrito) que aplicando-se o teste “t” foi observado efeito nas amostras coletadas no rio Atibaia nos pontos junto à captação do município de Atibaia e Itatiba (razão sedimento e água de 1:2), e no rio Sorocaba nos pontos a montante do rio Sarapuí (município de Iperó) e na captação de Cerquilha (razão sedimento e água 1:4), também foi observado efeito no crescimento corpóreo apenas quando se aplicou o teste “t” na análise estatística dos dados

Tabela 3.3. Resultados dos testes de toxicidade de sedimento (mortalidade) coletados em diferentes corpos de água do Estado de São Paulo, realizados com *H. azteca* (experimentos 1, 2 e 3) em sistema semi-estático, adotando a razão sedimento e água de 1:2 e 1:4, e em sistema estático adotando a razão sedimento e água de 1:4.

| Descrição do ponto | Sistema semi-estático | | | | Sistema estático | |
|---|-----------------------|--------|---------------|--------|------------------|--------------|
| | 1:2 ^a | | 1:4 | | 1:4 | |
| | % mortalidade | efeito | % mortalidade | efeito | % mortalidade | efeito |
| Experimento 1 | | | | | | |
| Reserv. Pedro Beicht; corpo central; próximo à barragem | - | - | 2,5 | NT | 5 | NT |
| Reserv. Billings; corpo central; em frente ao braço do Bororé. | - | - | 12,5 | NT | 2,5 | NT |
| Reserv. Rasgão; corpo central, próximo a barragem | - | - | 100 | T | 100 | T |
| Reserv. Pedro Beicht; corpo central; próximo à barragem | - | - | 2,5 | NT | 5 | NT |
| Reserv. Barra Bonita; corpo central; próximo à barragem. | - | - | 25 | NT | 85 | T |
| Reserv. Bariri; corpo central; próximo à barragem | - | - | 17,5 | NT | 9,76 | NT |
| Reserv. Promissão; corpo central; próximo à barragem. | - | - | 5 | NT | 15 | NT |
| Reserv. Pedro Beicht; corpo central; próximo à barragem | - | - | 0 | NT | 27,5 | ^b |
| Experimento 2 | | | | | | |
| Reserv. Bariri | 12,5 | NT | 7,3 | NT | 5 | NT |
| Reserv. Promissão | 10 | NT | 15 | NT | 7,5 | NT |
| Experimento 3 | | | | | | |
| Rio Atibainha; jusante do reserv., município de Nazaré Paulista, no Hotel Estância Atibainha | 15 | NT | 6,67 | NT | - | - |
| Rio Cachoeira, montante do reser., município de Joanópolis, montante da Cachoeira dos Pretos | 2,5 | NT | 3,32 | NT | - | - |
| Rio Cachoeira, montante do reserv., município de Joanópolis, ponte sobre o rio, estrada Joanópolis-Cachoeira dos Pretos | 2,5 | NT | 1,5 | NT | - | - |
| Rio Cachoeira, a jusante do reserv., município de Piracaia, bairro Caneados, estrada Batatuba-Caneados | 17,5 | NT | 15 | NT | - | - |
| Rio Atibaia; município de Atibaia, junto à captação Atibaia | 7,5 | NT | 3,32 | NT | - | - |
| Rio Atibaia, jusante do ponto 7, junto à captação do município de Itatiba | 5 | NT | 10 | NT | - | - |
| Reservatório Itupararanga, corpo central a 2km da barragem | 13,3 | NT | 12,9 | NT | - | - |
| Reservatório Paraibuna, corpo central a 2km da barragem | 6,25 | NT | 5 | NT | - | - |
| Reservatório Jaguari, corpo central a 2km da barragem | 10 | NT | 10 | NT | - | - |
| Reservatório Santa Branca, corpo central a 2km da barragem | 3,33 | NT | 10 | NT | - | - |
| Rio Sorocaba, jusante da barragem da Votorantim, município de Votorantim | 2,5 | NT | 1,66 | NT | - | - |
| Rio Sorocaba, ponte do Pinga Pinga, na avenida Marginal do município de Sorocaba | 100 | T | 100 | T | - | - |
| Rio Sorocaba, bairro Vitória Régia | 35 | T | 15 | NT | - | - |
| Rio Sorocaba, a montante do rio Sarapuí, município de Iperó | 15 | NT | 11,6 | NT | - | - |
| Rio Sorocaba, na captação do município de Cerquilha | 17,5 | NT | 1,66 | NT | - | - |

NT = não tóxico T = tóxico - = amostra não realizada Em negrito = amostras que apresentaram toxicidade adotando o teste t.

a = razão sedimento e água

b = resultado considerado inadequado para um sedimento controle, pois a mortalidade foi superior a 20%.

Tabela 3.4. Resultados dos testes de toxicidade de sedimento (peso seco) coletados em diferentes corpos de água do Estado de São Paulo realizados com *H. azteca* (experimento 3) realizados em sistema semi-estático, adotando a razão sedimento e água de 1:2 e 1:4.

| Descrição do ponto | Semi-estático | | | | | |
|---|---------------------|--|--------------------------|----------------------|---------------------------|--------------------------|
| | 1:2 ^a | | | 1:4 | | |
| | Peso seco µg(DP) | % de redução peso seco ^b | Efeito no crescimento | Peso seco µg (DP) | % de redução peso seco | Efeito no crescimento |
| Rio Atibainha; jusante do reserv., município de Nazaré Paulista, entre Bom Jesus dos Perdões e Nazaré Paulista | 103,25 (25,9) | 42,7 | T | 113,0 (23,97) | 14,1 | NT |
| Rio Cachoeira, montante do reserv., município de Joanópolis, montante da Cachoeira dos Pretos | 180,25 (30,76) | 0 | NT | 131,5 (11,99) | 0 | NT |
| Rio Cachoeira, montante do reserv., município de Joanópolis, ponte sobre o rio, estrada Joanópolis-Cachoeira dos Pretos | 142,5 (39,7) | 20,9 | NT | 131,5 (28,9) | 0 | NT |
| Rio Cachoeira, a jusante do reserv., município de Piracaia no bairro dos Caneados, estrada Batatuba-Caneados | 149,5 (27,8) | 17,1 | NT | 134,2 (34,1) | 0 | NT |
| Rio Atibaia; município de Atibaia, junto à captação do município de Atibaia | 129,5 (38,1) | 28,2 | NT | 136,5 (33,4) | 0 | NT |
| Rio Atibaia, jusante do ponto 7, junto à captação do município de Itatiba | 144,0 (15,12) | 20,1 | NT | 69,33 (28,97) | 47,3 | T |
| Reservatório Itupararanga, corpo central a 2km da barragem | 167,5(3,5) | 0 | NT | 165,6(14,2) | 0 | NT |
| Reservatório Paraibuna, corpo central a 2km da barragem | 152,3(8,39) | 0 | NT | 151,8 (15,8) | 0 | NT |
| Reservatório Jaguari, corpo central a 2km da barragem | 132,7 (16,8) | 12,9 | NT | 136,8 (21,6) | 9,9 | NT |
| Reservatório Santa Branca, corpo central a 2km da barragem | 121,6 (13,3) | 20,2 | NT | 145,0 (12,2) | 4,5 | NT |
| Rio Sorocaba, jusante da barragem da Votorantim, município de Votorantim | 119,0 (11,2) | 0 | NT | 111,7 (13,1) | 0 | NT |
| Rio Sorocaba, ponte do Pinga Pinga, na avenida Marginal do município de Sorocaba | - | - | - | - | - | - |
| Rio Sorocaba, bairro Vitória Régia | 47,3 (8,8) | 60,3 | T | 71,8 (11,5) | 35,7 | T |
| Rio Sorocaba, a montante do rio Sarapuí, município de Iperó | 45,5 (7,9) | 61,8 | T | 80,3(13,0) | 28,1 | NT |
| Rio Sorocaba, na captação do município de Cerquilha | 73,8 (23,0) | 38 | T | 83,8 (15,4) | 25,4 | NT |

DP = desvio padrão NT = não tóxico T = tóxico - = amostra não realizada

Em negrito = amostras que apresentaram toxicidade adotando o teste t.

a = razão sedimento e água

b= em relação ao controle

3.3.2.3. AVALIAÇÃO DO TIPO DE SISTEMA (ESTÁTICO E SEMI-ESTÁTICO), RAZÃO SEDIMENTO E ÁGUA (1:2 E 1:4) E CRITÉRIO DE AVALIAÇÃO (MORTALIDADE E CRESCIMENTO)

Ressalta-se que, neste item, os resultados analisados foram obtidos utilizando-se o teste “t por bioequivalência” no cálculo estatístico.

Verifica-se na tabela 3.3 que os resultados dos testes realizados em sistema semi-estático, e estático com a razão sedimento e água de 1:4 no **Experimento 1**, foram semelhantes em 6 dos 8 testes realizados. Nos testes com sedimentos coletados no reservatório Pedro Beicht (data do teste 21/11/00) e Barra Bonita foi observada uma porcentagem de mortalidade bem mais elevada nos testes realizados em sistema estático que em sistema semi-estático.

Na **Experimento 2**, observa-se que o efeito tóxico foi semelhante para os três sistemas avaliados, ou seja, semi-estático, adotando a razão de sedimento e água de 1:2 e 1:4 e estático, razão sedimento e água 1:4.

Quando se comparam os resultados dos testes do **Experimento 3** (razão sedimento a água 1:2 e 1:4), realizado em sistema semi-estático, verifica-se que, na maioria dos casos, a porcentagem de mortalidade no teste com a razão de sedimento e água de 1:2 foi igual ou um pouco superior aos dos testes com a razão de 1:4. A análise estatística dos resultados também mostra que o efeito na sobrevivência foi o mesmo, exceto no caso do sedimento coletado no rio Sorocaba, bairro Vitória Régia, em que foi observada diferença significativa em relação à referência (rio Sorocaba, jusante da barragem da Votorantim, município de Votorantim) no teste na razão 1:2 e não no de 1:4.

Com relação ao crescimento corpóreo (Tabela 3.4), expresso em porcentagem de redução do peso seco em relação ao controle, observaram-se valores bastante próximos, exceto nos pontos coletados no rio Cachoeira a montante do reservatório (referência), rio Atibaia, junto à captação do município de Itatiba e rio Sorocaba, nos pontos coletadas no bairro Vitória Régia e a montante do rio Sarapuí. A variabilidade entre as réplicas foi de cerca de 10 até 40%. Após análise estatística dos dados de diferentes proporções de sedimento, verificou-se que houve discordância no diagnóstico nesta série de testes apenas nas amostras coletadas no rio Atibainha, coletadas a jusante do reservatório; no rio Atibaia, junto à captação do município Itatiba e no rio Sorocaba, nos pontos a montante do rio Sarapuí e na captação de Cerquilha.

3.4. DISCUSSÃO

3.4.1. AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE

A amplitude de variação da CL₅₀; 48h do dicromato de potássio para *H. azteca* foi de 0,42 a 0,57mg/L nas diferentes águas testadas e, para cloreto de potássio, esta amplitude foi de 213 a 222mg/L para os testes realizados com 48 e 96h de duração. Os coeficientes de variação estiveram dentro do considerado aceitável, ou seja, de 30% (ENVIRONMENT CANADA, 1990), exceto nos testes realizados com água coletada no reservatório Ribeirão do Campo com dicromato de potássio, cujo valor foi mais elevado (44%). Portanto, essa última água não foi considerada adequada para a realização de testes de toxicidade.

Quanto ao tempo de exposição, no caso do cloreto de potássio, verificou-se não existir diferença significativa entre os resultados obtidos com 48h e 96h de duração, tanto em água natural como em reconstituída, conforme também observado por Smith et al. (1997). Portanto, o tempo de exposição de 48h é suficiente para avaliar o efeito agudo de cloreto de potássio para *H. azteca*, uma vez que após este período não é observada porcentagem expressiva de mortalidade dos organismos. É importante ressaltar que, nesses testes, apesar de não ter sido adicionado substrato artificial, conforme recomendado pela USEPA (2000), a sobrevivência dos organismos no controle foi sempre $\geq 90\%$, portanto dentro da faixa aceitável.

Smith et al. (1997) obtiveram diferentes valores de CL₅₀; 96h para KCl em três diferentes águas com mesma dureza (100mg/l CaCO₃), ou seja: água natural obtida pela mistura de água de torneira desclorada e água de poço mais água deionizada (CL₅₀; 96h = 216mg/L); água reconstituída preparada segundo USEPA (1993), porém com a adição de uma maior quantidade de íons cloreto pela adição de cloreto de cálcio e redução do sulfato de magnésio (CL₅₀; 96h = 320mg/L), e água natural da marca Perrier, misturada com água desionizada, na razão de 1:3 (CL₅₀; 96h = 134mg/L). Verifica-se que estes autores obtiveram CL₅₀; 96h para o KCl com água natural semelhante ao obtido neste estudo, tanto em água natural como em meio MS (CL₅₀; 48h = 213mg/L), enquanto que com água reconstituída, a CL₅₀ foi semelhante à estabelecida no estudo interlaboratorial utilizando a mesma água (320mg/L) (ASTM, 2000; BURTON et al., 1996b; USEPA, 1994, 2000). Este estudo foi realizado entre 10 laboratórios, sendo que a amplitude de variação da CL₅₀ foi de 232 a 372mg/L, com coeficiente de variação de 14,2% e desvio padrão de 45,26mg/L (ASTM, 2000; BURTON et al., 1996b).

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que o meio MS, com dureza ajustada para 40-48mg/L CaCO₃, pode ser utilizado tanto nos testes de sedimento como com substância de referência em testes interlaboratoriais, pois no controle foi observada sobrevivência $\geq 90\%$ e o coeficiente de variação obtido esteve dentro do aceitável em testes ecotoxicológicos (30%). Dados anteriormente obtidos mostram que este meio é também adequado para ser utilizado no cultivo de *Hyalella azteca*

(ver Capítulo 1), conforme já tinha sido observado por Keating et al. (1985) para cladóceros. No entanto, em um estudo realizado para avaliar a capacidade do meio MS, MS + selênio e água do reservatório Ribeirão do Pirai, para sustentar a reprodução por várias gerações (18) de *Ceriodaphnia dubia* (BURATINI-MENDES, 2002), verificou-se no meio MS uma oscilação muito maior no ciclo reprodutivo deste organismo que em água natural.

Assim, mesmo com a desvantagem do custo e trabalho na preparação, o meio MS mostrou ser uma água adequada para ser adotada por qualquer laboratório com dificuldade de obter água de boa qualidade e em testes interlaboratoriais com *H. azteca*.

Com relação à avaliação da sensibilidade, apesar da ASTM não sugerir mais a realização mensal ou com o lote de organismos a serem testados, uma vez que foi demonstrado a pouca utilidade destes testes para detectar mudança nas condições do organismo teste (McNULTY et al., 1999), é interessante que cada laboratório avalie a sensibilidade das suas culturas, para que estes dados possam ser comparados com os de outros laboratórios e para verificar se os seus técnicos são capazes de os conduzir adequadamente.

É importante ressaltar que as faixas estabelecidas neste estudo que compreendem os valores médios mais ou menos dois desvios padrão, para dicromato de potássio (0,22 a 0,62mg/L) e cloreto de potássio (174 a 253mg/L), poderão somente ser utilizadas para este fim, desde que o laboratório mantenha cultura de *H. azteca* com a mesma procedência da deste estudo e adote o mesmo método de cultivo e teste, principalmente com relação ao tipo de água e alimento.

3.4.2. TESTE DE TOXICIDADE DE SEDIMENTO COM *H. azteca*

3.4.2.1 CONSTANTE DE PROPORCIONALIDADE “r”

Para avaliar se o efeito observado na amostra é significativo em relação ao controle, é recomendada a aplicação do teste de hipótese, sendo que a mínima diferença significativa (MDS) em relação ao controle é estabelecida para cada tipo de teste, número de réplicas e a variabilidade do efeito entre as mesmas.

O teste de hipóteses por bioequivalência permite detectar, para uma determinada variável considerada (por exemplo, reprodução e crescimento), se as médias de efeito obtidas no controle, representadas por uma constante (r) diferem significativamente da obtida na amostra. Esta abordagem, portanto, não leva em consideração apenas a diferença mínima observada no teste, mas também a média histórica obtida para aquele organismo, utilizando uma metodologia específica. Desta forma, é possível definir um percentual de efeito que pode ocorrer no controle.

O método adotado para a definição da constante de proporcionalidade, ou seja, o levantamento da diferença mínima significativa do conjunto de dados, até então realizados com *H. azteca*, em sedimentos coletados em diferentes locais, foi o recomendado por Denton e Norberg-King (1996), o qual segundo Thursby et al. (1997), constitui uma abordagem que pode ser aplicada à grande maioria dos procedimentos estatísticos, visando verificar se existe diferença entre a amostra e o controle.

O teste de hipótese por bioequivalência foi considerado mais adequado do que o cálculo utilizando teste “t”, por levar em consideração o efeito que pode ocorrer normalmente no controle, ou seja, não só o que é estatisticamente significativo. É importante ressaltar que o valor da constante de proporcionalidade determinado para *H. azteca* para o efeito sobre a mortalidade ($r = 0,89$) e crescimento corpóreo ($r = 0,82$) foi semelhante ao obtido para *Danio rerio* e *Lytechinus variegatus* em testes que avaliam o efeito sobre o desenvolvimento embrionário, e um pouco superior ao de *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* para os efeitos sobre a sobrevivência e reprodução, respectivamente (BURATINI et al., 2005).

3.4.2.2. TIPO DE SISTEMA (ESTÁTICO E SEMI-ESTÁTICO) E RAZÃO SEDIMENTO E ÁGUA (1:2 E 1:4)

Os resultados do experimento 1 mostram que quando se adota o sistema estático pode-se obter efeito mais pronunciado, evidenciado principalmente pelo resultado do sedimento de Barra Bonita (85%), uma vez que foi observada mortalidade bem acima daquela do teste realizado em sistema semi-estático (25%).

Apesar da norma da ASTM (2000) recomendar o sistema de teste semi-estático, com 1 a 4 renovações do volume total de água por dia, os resultados dos testes realizados mostraram que a troca de 2/3 do volume total de água a cada dois dias foi suficiente para manter a qualidade da mesma ao longo do tempo, sem grandes alterações. As variáveis analisadas (pH, condutividade e OD) não oscilaram mais do que 50%, tendo sido observado que o oxigênio dissolvido, na maioria dos casos, permaneceu acima de 2,5mg/L (Figuras C1 a C6, Anexo C) .

Nascimento (2003) e Araújo et al. (2001) avaliaram paralelamente a toxicidade das mesmas amostras analisadas no experimento 1, utilizando o sistema estático, adotando a razão de sedimento de 1:57, conforme sugerido por Borgmann e Norwood (1999) e semi-estático, com troca de 2 volumes de água por dia, conforme sugerido pela USEPA (1994). Os dados obtidos foram revistos e recalculados segundo o teste de hipótese por bioequivalência, conforme descrito no item 3.4.2.1. Estes resultados, apresentados na Tabela 3.5, mostraram que nos testes realizados segundo o método proposto pela EPA, a porcentagem de mortalidade para algumas amostras foi maior que nos outros ensaios. Esse efeito foi atribuído principalmente à adição de uma quantidade considerada excessiva de alimento (1,5 mL contendo 1,7 a 1,9g de sólidos /L), o que causou a queda do OD,

mesmo tendo sido mantida à aeração. Na revisão desse método pela EPA, a quantidade de alimento foi reduzida em 30% (USEPA, 2000).

Tabela 3.5. Resultados dos testes de toxicidade com *Hyalella* de sedimento coletados em reservatórios do rio Tietê (ARAÚJO et al. , 2001; MOZETO et al., 2001; NASCIMENTO, 2003).

| Localização | Data/coleta | Data/teste | % de Mortalidade | | | |
|----------------------|-------------|------------|---------------------------------------|----------------------------------|-----------------|-------------------|
| | | | 1:4 (troca de água 3 x por semana) | 1:2 (troca de água 2 vol/dia) | 1:4 estático | 1: 57 estático |
| Reserv. Billings | 09/10/00 | 17/10/00 | 12,5 | 37,5 | 2,5 | 22,5 |
| | | | NT | T | NT | NT |
| Reserv. Rasgão | 08/10/00 | 17/10/00 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | | | T | T | T | T |
| Reserv. Pedro Beicht | 10/10/00 | 17/10/00 | 2,5 | 7,5 | 5 | 5 |
| | | | NT | NT | NT | NT |
| Reserv. Barra Bonita | 10/10/00 | 31/10/00 | 25,0 | 35 | 85 | 17,5 |
| | | | NT | T | T | NT |
| Reserv. Pedro Beicht | 10/10/00 | 31/10/00 | 2,5 | 7,5 | 5 | 10 |
| | | | NT | NT | NT | NT |
| Reserv. Bariri | 27/06/01 | 03/07/01 | 12,5 | 100 | 5,0 | 75,0 |
| | | | NT | T | NT | T |
| Reserv. Promissão | 27/06/01 | 03/07/01 | 10,0 | 100 | 7,5 | 70,0 |
| | | | NT | T | NT | T |

NT = não tóxico

T = tóxico

Quanto aos outros procedimentos, em sistema estático, adotando a razão 1:57, conforme proposto por Bogmann e Norwood (1999), foi obtida toxicidade nas amostras coletadas no reservatório de Bariri e Promissão, enquanto em sistema estático razão 1:4, que representaria a pior condição, não foi observado esse efeito. Nos testes realizados em sistema estático, adotando a proporção 1:4, por sua vez, foi verificada toxicidade na amostra coletada no reservatório de Barra Bonita, sendo que este efeito não foi observado nos testes semi-estático (1:4) e estático adotando a proporção de 1:57. Com relação à qualidade da água de diluição, verificou-se no teste em sistema semi-estático que as variáveis pH, OD e condutividade, de uma forma geral, se mantiveram mais estáveis no decorrer do teste (Figura C1, C2 e C3 Anexo C). Assim sendo, o sistema semi-estático, com troca de água a cada dois dias, foi considerado o procedimento mais adequado para a realização de testes de toxicidade com *Hyalella azteca* (ARAÚJO, et al., 2001; MOZETO et al., 2001).

Portanto, baseado nesses dados, o teste de toxicidade com *Hyalella azteca*, adotando o sistema semi-estático, com troca de água a cada dois dias, passou a ser adotado na análise conjunta dos resultados obtidos nas amostras coletadas em cinco reservatórios do rio Tietê (**Experimento 1 e 2**) e foi o sistema adotado nos testes subsequentes (**Experimento 3**) (Tabela 3.3). Este sistema

também foi o adotado por Portela (2002) na avaliação da qualidade dos sedimentos do Arroio Sapucaia (RS), utilizando como espécie-teste *H. azteca*.

Quando se avalia os resultados de redução de crescimento corpóreo, expressos pelo peso seco (Tabela 3.4), verifica-se que em sistema semi-estático, adotando a proporção de sedimento e água de 1:2, foi observado efeito em um número maior de pontos que nos testes realizados com a proporção de 1:4. No entanto, é importante ressaltar que foi observado efeito no ponto localizado no rio Atibainha, a jusante do reservatório, adotando a proporção sedimento e água de 1:2 mas não 1:4 e o inverso foi observado no ponto do rio Atibaia, junto à captação de Itatiba.

Os resultados do experimento para avaliar a proporção adequada entre sedimento e água a ser adotada nos testes de toxicidade de sedimento mostraram que os testes com a proporção 1:2 discriminaram, em um maior número de locais, o efeito agudo (Rio Sorocaba, bairro Vitória Régia) e subletal (rio Atibainha, a jusante do reservatório e rio Sorocaba, a montante do rio Sarapuí e na captação de Cerquilha) do que com a proporção 1:4.

3.4.2.3. VALIDAÇÃO DOS RESULTADOS: ANÁLISE INTEGRADA DOS DADOS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E ECOTOXICOLÓGICOS

Para verificar qual dos grupos de dados representaria melhor o observado no ambiente, os resultados obtidos nos testes adotando razão sedimento e água 1:2 a 1:4, foram comparados com os dados das análises químicas e com os da comunidade bentônica obtidas para as mesmas amostras.

A análise conjunta dos dados da comunidade bentônica, análise química e testes de toxicidade, conforme sugerido por Chapman (1986, 1990, 1996), incorpora as três fontes essenciais de informação sobre o grau de qualidade do sedimento: as concentrações de compostos químicos, a toxicidade e a biota residente, fornecendo maior consistência às conclusões ou fundamentando estudos que deverão ser realizados ou não nas etapas posteriores.

Uma boa correlação entre testes de toxicidade, análise química e estrutura da comunidade bentônica seria esperada nos casos extremos, ou seja, nos locais em que existem evidências grandes de contaminação e nos considerados limpos ou preservados. Nos casos intermediários não existe uma correlação direta entre a concentração total do contaminante no sedimento e efeito para a comunidade aquática, uma vez que outros fatores podem estar interferindo, como a concentração de matéria orgânica e de sulfetos (representados pelos sulfetos volatilizáveis por acidificação), granulometria, concentração de oxigênio dissolvido e o pH, entre outros. Além disso, a comunidade pode responder de forma diferente aos processos de competição, predação e a outros distúrbios naturais, devido à presença de contaminantes no ambiente.

Quanto às análises químicas, para se estabelecer o nível de contaminação seria necessário se conhecer o nível base de cada bacia ou os valores naturais típicos da região. Como se sabe, a concentração de metais no ambiente natural pode variar muito, sendo que em algumas áreas não afetadas pela atividade humana o sedimento pode mostrar níveis de efeito observados em outros locais. Os critérios numéricos, que incorporam efeitos biológicos no processo de derivação, sugeridos pelo Canadá e Estados Unidos (BURTON, 2002; CCME, 2001; BUCHMAN, 1999), fornecem apenas uma base para se avaliar o grau de contaminação química, não levando em consideração as condições específicas de cada ambiente.

No caso dos testes de toxicidade, não existe a certeza de que um impacto observado no ambiente natural possa ou deva sempre resultar em um efeito para os organismos testados em condições de laboratório. Isso porque, o que ocorre no ambiente é o resultados de uma série de interações entre fatores bióticos e abióticos, enquanto que os testes de toxicidade são realizados em uma determinada condição controlada no laboratório. Além disso, nem sempre é possível estabelecer uma relação causa e efeito, pois apenas um número reduzido de substâncias é analisado e, geralmente, temos a presença de mais de um contaminante nestes ambientes. Estes testes, no entanto, têm um papel muito importante, pois mostram se as frações disponíveis no sedimento podem ou não causar efeito para a espécie e para as condições adotadas no ensaio. Assim sendo, é esperado que o desenho experimental seja capaz de refletir as condições observadas no ambiente natural, ou seja, a existência ou não da presença local de contaminantes em concentrações capazes de causar danos para as comunidades aquáticas que desejamos proteger.

A análise dos dados do ambiente em estudo (fontes pontuais, tipo de ocupação, dados físicos, dentre outros) além dos químicos, biológicos e ecotoxicológicos, permitem, portanto, que se estabeleça evidências que auxiliarão no diagnóstico da qualidade do sedimento deste ambiente. Incoerências entre esses fatores são esperadas e devem ser melhor investigadas, de uma forma hierarquizada, conforme sugerido por Mozeto et al. (2003). Esse processo possibilita a eliminação de algumas hipóteses, o que facilita o direcionamento das análises a serem realizadas nas etapas subseqüentes, para se chegar a um diagnóstico da qualidade do sedimento. Além disso, propicia ações adequadas a serem tomadas para recuperar os sedimentos impactados.

Esta abordagem integrada foi a adotada para se tentar avaliar a proporção de sedimento e água mais adequada para ser utilizada nos testes de toxicidade com *H. azteca*, ou seja, o desenho experimental que melhor representaria a qualidade esperada do sedimento, baseada nos dados levantados do ambiente em estudo. Para tanto, foram obtidos dados de literatura das análises químicas e da comunidade bentônica, realizadas nas mesmas amostras no mesmo período (CETESB, em elaboração a e b; KUHLMANN et al., em elaboração; MOZETO et al., 2003). Para avaliar o grau de contaminação química dos sedimentos foram adotados os valores estabelecidos pelo Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME, 2001, Tabela C7, Anexo C). O menor valor, "Interim Sediment Quality Guidelines" (ISQG), representa a concentração abaixo da qual é

esperado que raramente ocorra efeitos para os organismos, enquanto “Probable Effect Level” (PEL), refere-se à concentração acima da qual freqüentemente é esperado efeito para os organismos. Na faixa entre ISQG e PEL o efeito é esperado ocasionalmente. Quanto à comunidade bentônica foi utilizado o diagnóstico expresso pelo Índice da Comunidade Bentônica (ICB). Este índice é obtido pela média aritmética da ordenação dos índices descritores (riqueza, dominância, índice de diversidade de Shannon-Wiener, índice de comparação sequencial, razão Tubificidae sem queta capilar/total de Oligochaeta, razão Tanytarsini/ Chironomidae e riqueza de taxa sensíveis) (CETESB, 2003; MOZETO et al., 2003).

O reduzido número de testes realizados e a análise de diferentes variáveis químicas nos locais estudados não permitiu a aplicação de uma análise estatística. Dessa forma, procurou-se apenas buscar evidências a partir dos dados existentes (níveis de contaminação química, índice da comunidade bentônica) para estabelecer o melhor desenho experimental (razão sedimento e água 1:2 e 1:4) para o teste de toxicidade com *H. azteca*.

Quanto aos resultados dos testes realizados com sedimentos dos reservatórios Pedro Beicht, Billings, Barra Bonita, Bariri e Promissão, pelo projeto Qualised (MOZETO et al., 2003), a análise conjunta dos dados químicos e toxicológicos mostrou concordância dos resultados (Tabela 3.6 e Tabela C3, Anexo C), principalmente para os metais, quando estes foram expressos não em termos da concentração total dos contaminantes presentes no sedimento, mas determinados utilizando a fração disponível, após a correção pela concentração presente de sulfetos volatilizáveis em ácido (SVA) e carbono orgânico. Desta forma, verificou-se que a fase sulfídrica e o carbono orgânico, particulado ou total, estariam controlando a disponibilidade dos metais nestes sedimento, portanto não seria esperado a ocorrência de toxicidade, como foi observado nos testes realizados com *H. azteca*.

A fração SVA é considerada a principal fase controladora da partição, biodisponibilidade e, por conseguinte, da toxicidade de alguns cátions metálicos divalentes no sedimento (cádmio, cobre, níquel, chumbo e zinco). A comparação direta da soma da concentração desses cinco metais ($\mu\text{mol/g}$) menos a concentração de SVA ($\mu\text{mol S/g}$), permite avaliar o potencial de toxicidade de um sedimento. Assim, quando o resultado desta diferença for menor ou igual a zero, não é esperada toxicidade da concentração da mistura de metais presente no sedimento para organismos aquáticos, uma vez que a fase sulfídrica estaria controlando a disponibilidade destes metais. No entanto, quando há um excesso de metais em relação ao SVA, o sedimento pode não ser tóxico, uma vez que outras frações podem estar controlando a partição dos metais, com a fração orgânica (carbono orgânico total).

Os dados da comunidade bentônica, foram mais coerentes com os dados das análises químicas quando expressos em termos da fração total dos metais e dos compostos orgânicos, tendo sido observada uma gradação da qualidade do sedimento. O sedimento do reservatório Rasgão foi o

que apresentou pior qualidade (azóico) em termos de comunidade bentônica e o de Promissão, o de melhor condição ambiental (Tabela 3.6 e Tabela C3, Anexo C). Esta gradação de efeito foi observada nos testes de toxicidade com *Chironomus xanthus* (MOZETO et al. 2003), mas não nos testes com *H. azteca*. Estes dados sugerem que a sensibilidade de *Chironomus xanthus* é maior que a de *H. azteca*.

O estudo de identificação da toxicidade realizado com sedimentos coletados no reservatório de Rasgão confirmou que os metais e orgânicos, apesar de presentes, não eram os principais responsáveis pelos efeitos observados, tanto em laboratório como na comunidade bentônica e sim a amônia, sulfetos e a ausência de oxigênio dissolvido (OD) no fundo (MOZETO et al. 2003).

Portanto, os resultados do estudo realizado nos reservatórios do Alto e Médio Tietê (MOZETO et al., 2003) evidenciaram a importância da determinação das frações que interferem na disponibilidade de contaminantes no sedimento (SVA e carbono orgânico total ou particulado), além da concentração de OD e amônia da água de fundo, no caso de reservatórios, entre outras variáveis, para se poder avaliar melhor os possíveis efeitos para as comunidades bentônicas.

Com relação aos sedimentos coletados na área da cabeceira do rio Atibaia (Tabela 3.6 e Tabela C4, Anexo C), foi observado efeito subletal apenas nos sedimentos coletados no rio Atibainha, a jusante do reservatório, e no rio Atibaia, próximo à captação de Itatiba, quando foi adotado a proporção 1:2 e 1:4, respectivamente. Nos outros pontos não foi observado efeito tóxico (agudo e subletal). Os resultados das análises químicas mostraram que as substâncias avaliadas encontram-se abaixo das concentrações nas quais seria esperado efeito adverso para os organismos aquáticos. É importante ressaltar, no entanto, que o limite de detecção foi, em alguns casos, superior ao limite de interesse, não se excluindo a possibilidade de alguns dos contaminantes analisados estarem causando algum tipo de efeito para as comunidades presentes nestes locais. Com relação aos resultados da comunidade bentônica, observou-se qualidade ótima e boa, exceto no ponto do rio Atibaia, junto à captação de Itatiba, cuja qualidade foi considerada regular (CETESB, em elaboração a).

Tabela 3.6. Qualidade dos sedimentos dos diferentes locais estudados quanto à contaminação química, segundo CCM (1999), índice de comunidade bentônica e resultados dos testes de toxicidade com *H. azteca* (Mozeto et al., 2003; CETESB, em elaboração a; CETESB, em elaboração b; Kulhmann et al., em elaboração).

| Descrição do ponto | Nº Ponto | Contaminação química >PEL | Índice da Comunidade Bentônica | Toxicidade (<i>Hyalella azteca</i>) | | | |
|---|-------------|--|--------------------------------------|---------------------------------------|-------------|----------------------|-------------|
| | | | | 1:2 ^a | | 1:4 | |
| | | | | mortalidade | crescimento | mortalidade | crescimento |
| Reserv. Pedro Beicht; Corpo Central; próximo à barragem | - | | 3 | - | - | NT | - |
| Reserv. Billings; Corpo central; em frente ao braço do Bororé. | - | As, Pb, Cu, Cr, Ni, Zn, PCB's, acenafteno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno | 4 | - | - | NT | - |
| Reserv. Rasgão; Corpo central, próximo à barragem | - | As, Pb, Cu, Cr, Ni, Zn, Fluoreno, Fenantreno | 5 | - | - | T (100) ^b | - |
| Reserv. Barra Bonita; Corpo Central; próximo à barragem. | - | Ni | 4 | - | - | NT | - |
| Reserv. Bariri; Corpo Central; próximo à barragem | - | As e Ni | 3 | - | - | NT | - |
| Reserv. Promissão; Corpo Central; próximo à barragem. | - | As, Cr, Ni | 1 | - | - | NT | - |
| Rio Atibaína; jusante do reserv., município de Nazaré Paulista, no Hotel Estância Atibaína | 3 | | 2 | NT | T (42,7) | NT | NT |
| Rio Cachoeira, montante do reser., município de Joanópolis, montante da Cachoeira dos Pretos | 4 | | 2 | NT | NT | NT | NT |
| Rio Cachoeira, montante do reserv., munic. Joanópolis, ponte sobre rio, estrada Joanópolis-Cachoeira dos Pretos | 5 | | 1 | NT | NT | NT | NT |
| Rio Cachoeira, a jusante do reserv., município de Piracaia, bairro Caneados, estrada Batatuba-Caneados | 6 | | 2 | NT | NT | NT | NT |
| Rio Atibaia; município de Atibaia, junto à captação Atibaia | 7 | | 2 | NT | NT | NT | NT |
| Rio Atibaia, junto à captação do município de Itatiba | 8 | | 3 | NT | NT | NT | T (47,3) |
| Reservatório Itupararanga, corpo central a 2km da barragem | 1 | DDE | 2 | NT | NT | NT | NT |
| Reservatório Paraibuna, corpo central a 2km da barragem | 1 | | 2 | NT | NT | NT | NT |
| Reservatório Jaguari, corpo central a 2km da barragem | 1 | | 2 | NT | NT | NT | NT |
| Reservatório Santa Branca, corpo central a 2km da barragem | 1 | | 1 | NT | NT | NT | NT |
| Rio Sorocaba, jusante da barragem da Votorantim, município de Votorantim | 1 | | 1 | NT | NT | NT | NT |
| Rio Sorocaba, ponte do Pinga Pinga, na avenida Marginal do município de Sorocaba | 2 | | 4 | T (100) | - | T(100) | - |
| Rio Sorocaba, bairro Vitória Régia | 3 | | 4 | T (35) | T (60,3) | NT | T (35,7) |
| Rio Sorocaba, a montante do rio Sarapuí, município de Iperó | 4 | | 4 | NT | T(61,8) | NT | NT |
| Rio Sorocaba, na captação do município de Cerquilha | 5 | | 2 | NT | T(38,0) | NT | NT |

Contaminação Química: >PEL = > da concentração acima da qual freqüentemente é esperado efeito para os organismos bentônicos, segundo CME (2002).

Índice de Comunidade Bentônica: péssima = 5; ruim = 4; regular = 3; boa = 2; ótima = 1.

Teste de Toxicidade (*Hyalella azteca*): NT = não tóxico T = tóxico

- = amostra não realizada ou não se aplica

a = proporção sedimento e água

b = entre parênteses a porcentagem de efeito observado, ou seja mortalidade ou redução de crescimento corpóreo em relação ao controle.

No caso do rio Atibaia, as atividades poluidoras seriam provenientes da pecuária e reflorestamento existentes nos terrenos localizados na região serrana, enquanto que na zona da várzea seriam devidas à ocupação humana mais intensa e diversificada acrescida da atividade agrícola. Quanto ao esgoto, apenas uma parte é tratada. Além disso, existe a disposição inadequada de resíduos domésticos em alguns locais, como por exemplo próximo ao ponto coletado no rio Cachoeira, a jusante do reservatório.

Os resultados dos testes de toxicidade, adotando a razão 1:2 e 1:4, indicaram pontos diferentes (rio Atibainha, a jusante do reservatório e no rio Atibaia junto à captação Itatiba) onde poderia estar ocorrendo a presença de agrotóxicos, ou outros compostos, em baixas concentrações nesses corpos de água. Porém, considerando-se os dados da análise da comunidade bentônica, o desenho experimental mais adequado foi aquele adotando razão sedimento e água de 1:4.

É interessante ressaltar que num estudo realizado nesses mesmos locais em março de 2000, foi observado efeito tóxico agudo para *H. azteca*, em pelo menos duas das 3 réplicas testadas nos pontos localizados no rio Atibainha a jusante do reservatório, e no rio Atibaia, junto à captação do município de Atibaia e de Itatiba. O diagnóstico da comunidade bentônica foi boa no rio Atibainha a jusante do reservatório, e regular para o ponto no rio Cachoeira a jusante do reservatório e para o ponto no rio Atibaia junto à captação de Atibaia e, péssimo para o rio Atibaia, junto á captação do município de Itatiba. As análises químicas realizadas não foram capazes de explicar esses resultados (SHIMIZU et al., 2002).

Portanto, os resultados obtidos sugerem que seria importante realizar o monitoramento destes pontos, visando avaliar melhor os possíveis efeitos sobre a biota presente nesses locais.

Quanto aos sedimentos coletados nos reservatórios Itupararanga, Paraibuna, Jaguari e Santa Branca (Tabela 3.6 e Tabela C5, Anexo C), dos compostos analisados, apenas o DDE esteve presente acima da concentração de efeito esperado no reservatório de Itupararanga. A comunidade bentônica foi considerada boa no reservatório de Itupararanga, Jaguari e Paraibuna e no de Santa Branca ótima (CETESB, em elaboração **b**). Para *H. azteca*, não foi observada toxicidade em nenhum desses locais, nas duas condições avaliadas (razão sedimento e água 1:2 e 1:4).

Com relação ao reservatório de Itupararanga, apesar dos resultados dos testes de toxicidade e da comunidade bentônica terem mostrado que a concentração de DDE presente no sedimento parece não causar efeito deletério para os organismos, seria importante avaliar melhor as causas e efeitos da presença deste contaminante nesse ambiente.

Os resultados dos testes de toxicidade realizados com amostras do rio Sorocaba (Tabela 3.6 e Tabela C6, Anexo C), adotando a razão 1:2 mostraram maior coerência com os dados da comunidade bentônica. No ponto coletado no rio Sorocaba, a jusante da barragem da Votorantim,

adotado inicialmente como referência, foram encontrados valores acima de efeito para alguns contaminantes (cobre, cromo, níquel e DDE) e a comunidade bentônica foi classificada como regular (Kulhmann et al, em elaboração), porém não foram observados efeitos tóxicos para *H. azteca*. Este ponto está localizado a jusante do reservatório de Itupararanga, onde foram encontradas concentrações elevadas de DDE. Neste caso, considerou-se que os contaminantes presentes nesse local podem estar causando algum tipo de impacto, porém não foi detectado no teste de toxicidade com *H. azteca*. Desta forma, seria importante realizar uma avaliação mais detalhada desse ponto, utilizando outros marcadores de efeito. Nos outros pontos do rio Sorocaba, a comunidade bentônica indicou estado ruim no ponto localizado na ponte do Pinga Pinga, próximo ao bairro Vitória Régia e a montante do rio Sarapuí, e boa para o ponto na captação de Cerquilho. Esses resultados não foram coerentes com os efeitos observados nos testes de toxicidade. Porém, os resultados dos testes adotando a razão sedimento e água de 1:2, indicam uma recuperação nos pontos após a cidade de Sorocaba, porém com a presença de possíveis contribuições de contaminantes de origem industrial e/ou agrícola, não analisados neste estudo.

Apesar do número de resultados de testes de toxicidade comparando as duas condições de testes ser muito pequeno, a análise dos dados mostrou que os testes na condição 1:2 podem estar evidenciando um maior número de situações, onde seriam necessários estudos posteriores, mais detalhados e por um espaço de tempo maior para se verificar a ocorrência ou não de impacto para as comunidades do local.

Os resultados dos testes de toxicidade têm sido utilizados para classificar os sedimentos (3 classes), assim como é feito para a comunidade (5 classes) e substâncias químicas (3 classes) (CETESB, 2003, 2004) (Tabela 3.7). As classes sugeridas foram baseadas, inicialmente, na porcentagem de efeito na sobrevivência dos organismos, após os dados terem sido submetidos a uma análise estatística, para se verificar a significância da diferenças com o controle (CETESB, 2003). Posteriormente, foi possível estabelecer classes levando em consideração os efeitos (agudo e subletal) observados no teste com *H. azteca* (CETESB, 2004). Analisando os resultados obtidos neste trabalho, considera-se que, ainda que preliminarmente, poderia ser criada mais uma classe expressando a qualidade do sedimento, baseadas na intensidade de efeito na sobrevivência, além da presença ou ausência no crescimento dos organismos teste, como apresentada na tabela 3.7, ou seja, classe 4 = péssima, efeito agudo, mortalidade dos organismos superior ou igual a 50%; classe 3 = ruim, efeito agudo, mortalidade dos organismo inferior a 50%; classe 2 = regular, efeito sub-letal, redução crescimento; classe 1 = boa, não tóxico em relação ao crescimento e sobrevivência dos organismos (Tabela 3.7).

Dessa forma, seriam classificados como qualidade péssima os sedimentos do reservatório Rasgão e do rio Sorocaba ponte do Pinga Pinga, ruim os do rio Sorocaba no bairro Vitória Régia e regular os do rio Sorocaba nos pontos a montante do rio Sarapuí e na captação do município de

Cerquilho, rio Atibainha a jusante do reservatório. Nos outros locais, os sedimentos seriam classificados como bons, ou seja, não seriam esperados efeitos para a biota.

Tabela 3.7. Classificação dos sedimentos segundo concentrações de substâncias químicas, comunidade bentônica e toxicidade baseada nos resultados dos testes com *H. azteca*.

| Classificação | Substância Química (CETESB, 2004) | Comunidade bentônica (CETESB, 2004) | Toxicidade | | |
|---------------|--------------------------------------|--|--------------------|--------------------|---|
| | | | CETESB, 2003 | CETESB, 2004 | Proposta |
| Ótima | | ICB = 1 | | | |
| Boa | <TEL | ICB = 2 | 0-20% mortalidade | Não tóxico | Não tóxico |
| Regular | ≥TEL e ≤PEL | ICB = 3 | 20-50% mortalidade | Toxicidade crônica | Efeito subletal, redução do crescimento |
| Ruim | >PEL | ICB = 4 | >50% mortalidade | Toxicidade aguda | Efeito agudo, mortalidade <50% |
| Péssima | | ICB = 5 | | | Efeito agudo, mortalidade ≥50% |

Segundo resultados das análises químicas, testes de toxicidade e da comunidade bentônica, seriam necessárias ações de recuperação no reservatório de Rasgão, uma vez que este ambiente apresentou toxicidade aguda (mortalidade $\geq 50\%$), ausência de organismos bentônicos e vários contaminantes acima de efeito para a biota. No caso do rio Sorocaba, logo após a cidade de Sorocaba, o sedimento apresentou toxicidade aguda (mortalidade $\geq 50\%$), comunidade bentônica ruim, porém não foram observados contaminantes acima de efeito para a biota. Neste caso, deveria ser indicado um estudo de avaliação e identificação da toxicidade, porém existem evidências suficientes que mostram presença de elevada carga orgânica proveniente de esgoto doméstico neste trecho do rio (CETESB, 2003). Assim, não seriam necessários outros estudos até que sejam tomadas medidas para o tratamento adequado de esgoto doméstico. Estudos mais detalhados, avaliando os possíveis contaminantes que possam estar presentes, são sugeridos apenas para os pontos localizados no rio Sorocaba no trecho entre o bairro Vitória Régia, a montante do rio Sarapuí e no rio Atibainha, a jusante do reservatório, e rio Atibaia, junto à captação do município de Itatiba, uma vez que nesses pontos foram observados efeitos evidenciados pelos resultados da comunidade bentônica (rio Sorocaba e Atibaia) e testes ecotoxicológicos (rio Sorocaba e Atibainha).

A proposta de integração dos dados químicos, biológicos e ecotoxicológicos, utilizando pesos ou classes, deve ser melhor investigada para um número maior de resultados, procurando inclusive estabelecer um índice de qualidade dos sedimentos, como é feito para a água na rede de monitoramento da CETESB.

3.5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Os dados até aqui obtidos mostraram que os testes de toxicidade de sedimento com *H. azteca* devem ser realizados utilizando a razão de sedimento e água de 1:2 em sistema semi-estático com troca de 2/3 de água a cada três dias.

A classificação proposta para expressar a qualidade dos sedimentos em termos ecotoxicológicos mostrou-se adequada, utilizando os resultados dos testes de toxicidade com *H. azteca*, baseada no efeito observado na sobrevivência e no crescimento dos organismos teste.

Os testes para avaliar a precisão analítica entre laboratórios podem ser realizados com a duração de 48h com cloreto de potássio ou com dicromato de potássio, adotando meio MS ou água natural como água de diluição.

O meio MS mostrou-se adequado para ser utilizado como água de diluição, tanto em testes de sedimento como naqueles com substância de referência.

Testes de toxicidade, em conjunto com as análises químicas e dados da comunidade bentônica, devem ser utilizados na avaliação da qualidade do sedimento, e em estudos mais detalhados para se avaliar melhor as possíveis causas e efeitos visando subsidiar ações adequadas de controle e gerenciamento ambiental.

3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT. **NBR 12.713**: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda - método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro: ABNT, 2004. 21 p.
- ARAÚJO, R. P. A.; NASCIMENTO, A. P. C.; ALMEIDA, C. A. A.; RODRIGUES, P. F. Metodologia de avaliação da toxicidade de sedimento com amostras coletadas em represas do rio Tietê. In: MOZETO, A.A.; JARDIM, W.F.; UMBUZEIRO, G.A. (Coord.). **Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos**: experimentos de campo e laboratório. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2001. p. 47-51.
- ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1987. 40 p. Draft 1, 10/15/87.
- ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1989. p.i. Draft 2, 1/19/89.
- ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1990. 19 p.
- ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1993. 27 p.
- ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity test with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1995. 81 p.
- ASTM. **E 1706-00**: test method for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. Philadelphia, ASTM, 2000. 117 p.
- BORGMANN, U.; NORWOOD, W. P. Sediment toxicity testing using large water-sediment ratios: an alternative to water renewal. **Environmental Pollution**, v. 106, p. 333-339, 1999.
- BUCHMAN, M.F. **NOAA screening quick reference tables (SquiRTs)**. Seattle: Coastal Protection and Restoration Division, National Oceanic and Atmospheric Administration, 1999. 12 p.
- BURATINI - MENDES, S. V. **Efeitos do meio de cultivo sobre a sobrevivência, reprodução e sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia***. 2002. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

BURATINI, S.V.; PRÓSPERI, V. A.; BERTOLETTI, E.; ARAÚJO, R. P. A.; WERNER, L. I. Minimum significant difference applied to "bioequivalence t-test". **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. 2005. No prelo.

BURTON JR, G. A. Assessing the toxicity of freshwater sediments. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.10, p. 1585-1627, 1991.

BURTON JR, G. A. Sediment quality criteria in use around the world. **Limnology**, v. 3, p. 365-375, 2002.

BURTON, JR, G. A.; NELSON, M. K.; INGERSOLL, C. G. Freshwater benthic toxicity tests. In: BURTON, Jr., G. A. (Ed.) **Sediment toxicity assessment**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992. cap. 10, p. 213-240.

BURTON, JR, G. A.; INGERSOLL, C. G.; BURNETT, L. C.; HENRY, M.; HINMAN, M. L.; KLAINE, S. J.; LANDRUM, P.F.; ROSS, P.; TUCHMAN, M. A comparison of sediment toxicity test methods at three Great Lake areas of concern. **Journal of Great Lake Research**, v. 22, n. 3, p. 495-511, 1996a.

BURTON, G. A.; NORBERG-KING, T. J.; INGERSOLL, C. G.; BENOIT, D. A.; ANKLEY, G. T.; WINGER, P. V.; KUBITZ, J.; LAZORCHAK, J. M.; SMITH, M. E.; GREER, E.; DWYER, F. J.; CALL, D. J.; DAY, K.E. Interlaboratory study of precision: *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans* freshwater sediment toxicity assays. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n. 8, p. 1335-1343, 1996b.

CCME. Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: summary tables. In: Canadian Council of Ministers of the Environment. **Canadian environmental quality guidelines**. Winnipeg: CCME, 2001. Disponível em: <<http://www.ec.gc.ca/cegg-rcqe/English/Pdf/sediment-summary-table.htm>>. Acesso em: 15/01/2002.

CETESB (São Paulo). **L5.022**: água avaliação de toxicidade crônica utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (Cladocera, Crustacea). São Paulo: CETESB, 1991. 25 p. Norma Técnica.

CETESB (São Paulo). **Serviços de coleta de amostras, análises e estudos de avaliação das características biológicas, físico-químicas e microbiológicas das águas e sedimentos do rio Juquiá**. São Paulo: CETESB, 2000. 144 p.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 2002**. Disponível em :<http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rel_aguas_int_2002/index.htm>. Acesso em: out. 2003.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 2003**. São Paulo: CETESB, 2004. 268 p.

CETESB (São Paulo). **Estudos preliminares para o uso de índices biológicos no monitoramento de ambientes aquáticos continentais: riachos e corredeiras na bacia hidrográfica do rio Atibaia. Fase II**. São Paulo: CETESB. Em elaboração a.

CETESB (São Paulo). **Desenvolvimento de índices biológicos para o biomonitoramento em reservatórios do Estado de São Paulo. Fase II**. São Paulo: CETESB. Em elaboração b.

CETESB (São Paulo); SABESP (São Paulo). **Monitoramento integrado bacias do Alto e Médio Tietê: relatório final**. São Paulo: CETESB, 1998. 312 p.

CETESB (São Paulo); SABESP (São Paulo). **Monitoramento integrado bacias do Alto e Médio Tietê: avaliação da qualidade água, sedimento e peixes - relatório final**. São Paulo: CETESB, 1999. 138 p. Contrato 020/97.

CHAPMAN, P. M. Sediment quality criteria from the sediment quality triad: an example. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 5, p. 957- 964, 1986.

CHAPMAN, P. M. The sediment quality triad approach to determining pollution-induced degradation. **The Science of the Total Environment**, v. 97/98, p. 815-825, 1990.

CHAPMAN, P. M. Presentation and interpretation of sediment quality triad data. **Ecotoxicology**, v. 5, p.1-13, 1996.

DENTON, D. L.; NORBERG-KING, T.J. Whole effluent toxicity statistics: a regulatory perspective. . In: GROTHE, D. R.; DICKSON, K. L.; REED-JUDKINS, D. K. (Ed.). **Whole effluent toxicity testing: an evaluation of methods and prediction of receiving system impacts**. Pensacola, Florida, USA: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1996. p. 83-103.

ENVIRONMENT CANADA. **Guidance document on control of toxicity test precision using reference toxicants**. Ottawa: Environment Protection Publications, Conservation and Protection, 1990. 85 p.

ENVIRONMENT CANADA. **Biological test method: test for growth and survival in sediment using the freshwater amphipod *Hyalella azteca***. Ottawa, Ontario: Environment Canada. 1997. (Technical Report EPS 1/RM/33).

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations. **Environmental Science and Technology**: vol. 11, n. 7, p. 714-719, 1997.

INGERSOLL, C. G.; NELSON, M. K. Testing sediment toxicity with *Hyalella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (Diptera). In: LANDIS, W. G.; SCHALIE, W. H. (Eds.) **Aquatic Toxicology and Risk Assessment**: thirteenth volume. Philadelphia: ASTM, 1990. p. 93-109.

INGERSOLL, C. G.; ANKLEY, G. T.; BENOIT, D. A.; BRUSON, E. L.; BURTON, G. A.; DWYER, F. J.; HOKE, R. A.; LANDRUM, P. F.; NORBERT-KING, T. J.; WINGER, P. V. Toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants using freshwater invertebrates: a review of methods and applications. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.14, n. 11, p. 1885-1894, 1995.

JOHNSCHER-FORNASARO, G.; ZAGATTO, P. A. The use of benthic community as a water quality indicator in Cubatão River Basin. **Water Science and Technology**, v. 19, n. 11, p. 107-112, 1987.

KEATING, K. I. A system of defined (sensu stricto) media for *Daphnia* (Cladocera) culture. **Water Research**, v. 19, n. 1, p. 73-78, 1985.

KEATING, K. I.; CAFFREY, P. B.; SCHULZ, K. A.; Inherent problems in reconstituted water. In: COWGILL, U. M. ; WILLIAMS, L. R. (Eds.). **Aquatic toxicology and hazard assessment**: 12th volume. Philadelphia: ASTM, 1989. p. 367-378. ASTM STP 1027.

KUHLMANN, M. L.; WATANABE, H. M.; ARAÚJO, R. P. A . **Aplicação da tríade na avaliação da qualidade de sedimentos em redes de monitoramento**. São Paulo: CETESB. Em elaboração.

LAMPARELLI, M.C.; KUHLMANN, M.L.; CARVALHO, M.C; SALVADOR, M.E.P.; SOUZA, R.C.; BOTELHO, M.J.C; COSTA, M.P.; MARTINS, M.C.; CARVALHO, P.M.; ARAÚJO, R.P.; A.; HACHICH, E.M.; BARI, M.; CURSIO, R.L.S.; TOLEDO JR, A. P.; LORENZETTI, M.D.L.; TRUZZI, A.C.; NAVAS-PEREIRA, D.; VARGAS-BOLDRINI, C. **Avaliação do complexo Billings**: comunidades aquáticas, água, sedimento - out/92 a out/93. São Paulo: CETESB, 1996. 53 p.

LORENZETTI, M. L.; ARAÚJO, R. P. A.; GOMES, M. A. **Testes de toxicidade com sedimentos de água doce: resultados preliminares**. São Paulo: CETESB, 1992. 7 p. Anexos.

McNULTY, ELLEN, DWYER, F.J., ELLERSIECK, M. R., GREER, E. I., INGERSOOL, C. G., RABENI, C. F. Evaluation of ability of reference toxicity test to identify stress in laboratory populations of the amphipod *Hyalella azteca*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.18, n. 3, p. 544-548, 1999.

MOZETO, A. A.; JARDIM, W.F.; ARAGÃO, G.U. (Coord.). **Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos (CQS):** experimentos de campo e laboratório - relatório n.1. São Carlos: UFSCar, 2001. 371 p. Projeto QualiSed proc. n. 98/12177-0.

MOZETO, A. A.; JARDIM, W.F.; ARAGÃO, G.U. (Coord.). **Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos (CQS):** experimentos de campo e laboratório - relatório final. São Carlos: UFSCar, 2003. 465 p. Projeto QualiSed proc. n. 98/12177-0.

NASCIMENTO, A. P. C. Comparação metodológica de testes de toxicidade com *Hyalella azteca* (Crustacea, Amphipoda) e avaliação da qualidade do sedimento em reservatórios do rio Tietê (SP). 2003. 122 f. Anexos. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

NEBEKER, A. V.; CAIRNS, M. A.; GAKSTATTER, J. H.; MALUEG, K. W.; SCHUYTEMA, G. S.; KRAWCZYK, D. F. Biological methods for determining toxicity of contaminated freshwater sediments to invertebrates. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 3, p. 617-630, 1984.

PRATER, B. L.; ANDERSON, M. A. A 96-hour sediment bioassay of Duluth and Superior Harbor Basins (Minnesota) using *Hexagenia limbata*, *Asellus communis*, *Daphnia magna*, and *Pimephales promelas* as test organisms. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 18, n. 2, p. 159-169, 1977.

PORTELA, C. M. S. **Avaliação ecotoxicológica do Arroio Sapucaia, RS, com a utilização de diferentes metodologias em água superficial e sedimento.** 2002. Dissertação (Mestrado Ecologia) – Universidade federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

SHIMIZU, G. Y.; LAMPARELLI, M. C.; JOHNSCHER-FORNASARO, G.; WATANABE, H. M.; SALVADOR, M. E. P.; COSTA, M. P.; CARVALHO, M. C; KUHLMANN, M. L.; SOUZA, R. C. R.; BERTOLETTI, E.; ARAÚJO, R. P. A.; BURATINI, S. V.; AGUJARO, L. F.; PRADELLA, D. Z. A.; FIALHO, R. C.; SOUZA, J. B.; BEVILACQUA, J. E.; MENEGON JR, N.; TRUZZI, A. C.; AVELINO, E. L.; BRANDIMARTE, A. L.; CARVALHO, M. A. J.; SENDACZ, S. **Estudos preliminares para o uso de índices biológicos no monitoramento de ambientes aquáticos continentais: riachos e corredeiras na bacia hidrográfica do rio Atibaia.** São Paulo: CETESB, 2002. 85 p.

SMITH, M. E.; LOZORCHAK, J. M.; HERRIN, L. E.; BREWER-SWARTZ, S.; THONEY, W. T. A reformulated, reconstituted water for testing the freshwater amphipod, *Hyalella azteca*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, n. 6, p. 1229-1233, 1997.

THURSBY, G. B.; HELTSHE, J.; SCOTT, K. J. Revised approach to toxicity test acceptability criteria using a statistical performance assessment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.16, n. 6, p. 1322-1329, 1997.

USEPA (Estados Unidos). **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. 4 ed. Washington, DC: USEPA, Washington, DC, 1993. 293 p.

USEPA (Estados Unidos). **Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates**. Duluth: USEPA, 1994. 133 p. (EPA/600/R-94/024).

USEPA (Estados Unidos). **Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates**. 2. ed. Duluth: USEPA, 2000. 191 p. (EPA/600/R-99/064).

WEST, I.; GULLEY, D. **Toxstat 3.5**. University of Wyoming, Wyoming, USA, 1996, 38 p.

ZAGATTO, P. A.; GUERARDI-GOLSTEIN, E.; BERTOLETTI, E.; LOMBARDI, C.C.; MARTINS, M.H.R.B.; RAMOS, M.L.L.C. Bioassay with aquatic organism: toxicity of water and sediment from Cubatão River basin. **Water Science and Technology**, v. 19, n. 11, p. 95-106, 1987.

PARTE II

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA QUALIDADE DOS SEDIMENTOS DE RIOS E
RESERVATÓRIOS DO ESTADO DE SÃO PAULO**

CAPÍTULO 4

PROCEDIMENTOS DE ENSAIO E CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO DOS RESULTADOS DOS DIFERENTES ESTUDOS EFETUADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO

4.1. INTRODUÇÃO

No Estado de São Paulo, os primeiros trabalhos para avaliar a toxicidade de sedimentos foram realizados na década de 80, com material proveniente da represa Billings e do rio Cubatão, como parte de projetos destinados ao controle da poluição e recuperação ambiental, desenvolvidos pela Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB, 1983a, b). Os resultados obtidos nos testes de toxicidade, realizados com *Daphnia similis*, utilizando eluatos dos sedimentos coletados na bacia do rio Cubatão, foram comparados com dados de análises químicas e da estrutura da comunidade bentônica, o que resultou em indicações seguras quanto à detecção dos problemas de contaminação por metais e compostos orgânicos, bem como a sua extensão, contribuindo de forma relevante para o diagnóstico ambiental da região (JOHNSCHER-FORNASARO; ZAGATTO, 1987; ZAGATTO et al., 1987).

Somente a partir da década de 90, os estudos envolvendo a avaliação da toxicidade de sedimentos foram retomados pela CETESB. Os procedimentos propostos foram os testes de toxicidade com água intersticial, utilizando-se o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* e a bactéria marinha *Vibrio fischeri* (sistema Microtox), e com a fase sólida do sedimento, com *Hyalella* sp. (citada anteriormente como *Hyalella meinerti*, ver Parte 1, Capítulo 1). As áreas estudadas foram as bacias dos rios Cubatão e Ribeira de Iguape (ARAÚJO, 1998; ARAÚJO et al., 1993; LORENZETTI et al., 1992). Estes estudos permitiram o estabelecimento de diretrizes para a avaliação do nível de contaminação dos sedimentos, levando em consideração uma análise integrada dos dados químicos, da comunidade bentônica e da toxicidade, que foram posteriormente aprimorados em outros estudos da mesma instituição (CETESB, 2000; CETESB; SABESP, 1998, 1999; LAMPARELLI et al., 1996; SHIMIZU et al., 2002).

O Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, vem desenvolvendo estudos na área de limnologia, ecologia e ecotoxicologia, voltados principalmente para o planejamento e gerenciamento de lagos e reservatórios. Os estudos ecotoxicológicos, coordenados pela profa. Dra. Odete Rocha e prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola, visaram principalmente o desenvolvimento de métodos com espécies nativas (ESPÍNDOLA et al., 1998; FONSECA, 1997; MELETTI, 1997) e, sua aplicação na caracterização de rios e reservatórios do estado de São Paulo. Os locais avaliados foram as bacias do rio Mogi-Guaçu (ESPÍNDOLA et al., 2003), Piracicaba (FONSECA, 1997; MELETTI, 1997), Tietê (COSTA; ESPÍNDOLA, 2000; RODGHERS et al., 2002) o reservatório de Salto Grande (TONISSI et

al., 2004; TONISSI; ESPÍNDOLA, 2000) e a represa do Lobo (DORNFELD et al., 2002), dentre outros, tendo sido levantadas as condições da água, sedimento e das comunidades bentônicas.

No presente estudo, será apresentada uma visão geral dos procedimentos de ensaios ecotoxicológicos com sedimento, adotados nos diferentes trabalhos realizados no estado de São Paulo. Com base em alguns critérios de aceitabilidade serão identificados os mais adequados, os quais, serão então utilizados na avaliação da qualidade dos sedimentos do Estado de São Paulo (Capítulo 5).

4.2. PROCEDIMENTOS DE ENSAIO ECOTOXICOLÓGICOS COM SEDIMENTOS DE ÁGUA DOCE.

4.2.1. TIPO DE MATRIZ

Inicialmente, os estudos de avaliação ecotoxicológica dos sedimentos no Estado de São Paulo foram realizados utilizando testes de toxicidade com eluato (JOHNSCHER-FORNASARO; ZAGATTO, 1987; ZAGATTO et al., 1987) e água intersticial (LORENZETTI et al., 1992). Para a obtenção destas fases é necessário retirar a água do sedimento, seja por agitação, centrifugação, diálise, pressão ou sucção. No entanto, estas manipulações podem acarretar concentrações mais elevadas dos contaminantes fase aquosa. Além disso, é preciso realizar os testes o mais rápido possível, uma vez que mudanças podem ocorrer nestas amostras mesmo quando armazenadas por um curto período de tempo (INGERSOLL, 1995). Por esses motivos, foram considerados apenas os resultados gerados com a utilização da a fase sólida do sedimento.

4.2.2. SISTEMA

O sistema adotado foi geralmente o estático ou com trocas de água a cada dois dias. Araújo et al. (2001) e Nascimento (2003) avaliaram diferentes sistemas de teste: estático utilizando razão de sedimento água de 1:4 e 1:1,75, semi-estático com troca de 2/3 do volume de água a cada dois dias (razão sedimento e água 1:4) e dois volumes por dia (razão sedimento e água 1:2). Os resultados obtidos mostraram que testes em sistema semi-estático, adotando a proporção 1:4 e regime de troca de água a cada dois dias, foram os mais simples e os que acarretaram sobrevivência adequada nos sedimentos considerados controle (ARAÚJO et al., 2001; MOZETO et al., 2001). Desta forma, foram considerados adequados os dois sistemas de ensaio.

4.2.3. RAZÃO ENTRE SEDIMENTO E ÁGUA

De uma forma geral, os testes de toxicidade de sedimento com amostra total foram realizados segundo os procedimentos sugeridos pela USEPA (1994), ASTM (1998, 1993), Burton (1992). Desta forma, a razão entre sedimento e água adotada na maioria dos trabalhos é de 1:4 para os testes realizados com diferentes espécies e tempos de exposição, em sistema estático ou semi-estático.

Experimentos realizados para avaliar o melhor desenho experimental do teste de toxicidade (ver Parte 1, Capítulo 3) indicaram que os testes adotando a razão entre sedimento e água 1:2, sistema semi-estático (com trocas de 2/3 do volume de água a cada dois dias), apesar de não conclusivos, parecem avaliar melhor os possíveis efeitos no ambiente. No entanto, Marroquim (2000) salienta que podem ocorrer baixas concentrações de oxigênio dissolvido, quando se adota a razão entre sedimento e água 1:2 nos testes de toxicidade em sistema estático, mesmo adicionado-se aeração.

Neste estudo foram considerados os resultados considerando razão sedimento e água 1:2 e 1:4.

4.2.4. ORGANISMO-TESTE

Como organismos-teste, tem sido indicado o uso de organismos representativos da comunidade bentônica, destacando-se os anfípodas *Hyalella meinerti* (MARROQUIM, 2000, ARAÚJO, 1998) e *Hyalella azteca* (MOZETO et al, 2001); larvas de dípteros da espécie *Chironomus xanthus* (FONSECA, 1997); o oligoqueta *Tubifex tubifex* (SILVÉRIO, 2003). Além desses, tem sido utilizado organismos representativos da coluna de água como os microcrustáceos *Ceriodaphnia dubia*, *C. silvestrii* (FONSECA, 1997) e *Daphnia similis* (FONSECA, 1997), e as espécies de peixe: *Prochilodus scrofa*, *Poecilia reticulata*, *Cheiodon stenodon*, *Hyphessobrycon bifaciatatus* (MELETTI, 1997), *Danio rerio* fase larval (TONISSI; ESPÍNDOLA, 2000) e adulto (ESPÍNDOLA et al., 1998; FRACÁCIO, 2001; TONISSI; ESPÍNDOLA, 2000), *Hyphessobrycon eques* (PAMPLIN, 1999) e *Moenkhausia intermedia* (ESPÍNDOLA et al., 1998). Além disso, Meletti et al. (2003) e Tonissi e Espíndola (2000) implantaram testes *in situ*, com as espécies de peixes *Serrapinus stenodon*, *Serrapinus notomelas* e *Danio rerio*.

É importante ressaltar que o gênero *Serrapinus* era denominado anteriormente de *Cheirodon* (MELETTI et al., 2003) e que *Hyalella meinerti*, será denominada nesse trabalho como *Hyalella* sp., pois existem dúvidas com relação à sua identificação (ver Parte 1, Capítulo 1).

Quanto aos testes com *Daphnia* e *Ceriodaphnia*, apesar de indicados pela ASTM (2000) para avaliação da toxicidade de sedimentos, não simulam a condição de exposição dos invertebrados bentônicos, ou seja não são diretamente expostos ao sedimento. Os resultados desses ensaios permitem discriminar sedimentos contaminados e comparar a toxicidade relativa dos mesmos. No entanto, como não se tratam de organismos bentônicos, as respostas obtidas, podem não representar os efeitos que poderiam ser esperados na comunidade bentônica (ASTM, 2000). Portanto, quando o objetivo do estudo é preservação de espécies do bentos, devem-se utilizar, preferencialmente, organismos bentônicos para avaliar os efeitos tóxicos para estes organismos.

No entanto, neste estudo foram considerados os resultados os ensaios ecotoxicológicos com espécies bentônicas e da coluna de água.

4.2.5. IDADE DOS ORGANISMOS

Com relação à idade dos organismos e ao tempo de exposição, verificou-se que grande parte dos trabalhos seguiu as orientações sugeridas nas normas da ASTM (2000), ou seja, *Hyalella* com 7 a 14 dias de idade e tempo de exposição de 10 dias, *Daphnia* e *Ceriodaphnia* com idade inferior a 24h, com duração de 48h para testes agudos e 7 dias ou até a obtenção da 3ª ninhada para os crônicos. Nos testes com peixes, contudo, utilizou-se organismos em diferentes estágios de vida (larvas, jovens e adultos). Para *Chironomus xanthus*, como o ciclo de vida é curto, Fonseca (1997) sugere a realização de testes crônicos com a duração de 10 dias ao invés de 28, como indicado para *Chironomus tentans* e *Chironomus riparius* (USEPA, 2000; ASTM, 2000). Para *Chironomus xanthus*, a comparação das diferentes fases de desenvolvimento das larvas, ou seja 2º, 3º e 4º instars e tempo de exposição de 96h, e, larvas no 2º instar e tempo de exposição de 10 dias, mostrou que o teste com larvas no 4º instar e tempo de exposição de 96 horas foi o mais adequado para esta espécie, uma vez que foi o que evidenciou um maior número de sedimentos tóxicos dentre os testados (FONSECA, 1997).

4.2.6. SENSIBILIDADE

Quanto à sensibilidade das espécies, Araújo e colaboradores (ARAÚJO, 1998; ARAÚJO et al., 1993), apesar de terem sugerido o anfípoda *Hyalella* sp., para avaliar a qualidade de sedimentos, verificou-se posteriormente que *Hyalella azteca*, espécie padronizada pela USEPA (2000), ASTM (2000) e Environment Canada (1997), além de mais sensível é também mais fácil de se cultivar em condições de laboratório (ver Parte 1, Capítulo 1). A partir destes resultados, *Hyalella azteca* passou a ser adotada como organismo teste no estado de São Paulo (CETESB, 2003, 2004; MOZETO et al., 2001; SHIMIZU et al., 2002).

Fonseca (1997) verificou que *Ceriodaphnia silvestrii* foi mais sensível que *Daphnia similis*. Costa (2001) e Costa e Espíndola (2000), comparando a sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* e *Ceriodaphnia dubia* com amostras de água e sedimento coletadas em vários locais, verificaram que a sensibilidade de *Ceriodaphnia silvestrii* foi superior à de *Ceriodaphnia dubia*, tanto para as amostras de água como de sedimento. No entanto, Espíndola et al. (2003) observaram que a sensibilidade *Daphnia similis* foi superior a de *Ceriodaphnia dubia* e que estas duas espécies parecem ter sensibilidade diferentes para as substâncias presentes nos sedimentos amostrados.

Espíndola e colaboradores (1998), avaliaram a qualidade do sedimento utilizando testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis* e com duas espécies de peixe *Moenkhausia intermedia* e *Danio rerio*. Os resultados obtidos mostraram que *Moenkhausia intermedia* e *Daphnia similis* foram mais sensíveis do que *Danio rerio*.

Meletti (1997), verificou diferenças de sensibilidade entre as espécies de peixe testadas, (*Hyphessobrycon bifasciatus*, *Serrapinus stenodon*, *Poecilia reticulata*, *Prochilodus scrofa*) dependendo da idade ou tamanho dos organismos.

A utilização da espécie *Danio rerio* foi avaliada por Tonissi e Espíndola (2000) em ensaios agudos (fase adulta), crônico parcial (fase larval) e *in situ* (fase adulta). Os resultados dos testes mostraram que a sensibilidade dos organismos adultos em testes *in situ* é maior que em laboratório, com tempo de duração de 96 horas, e que a fase larval é mais sensível do que a fase adulta em testes em condições de laboratório.

Com base nos dados gerados, verifica-se que testes de toxicidade em laboratório com adultos de *Danio rerio* não apresentaram boa sensibilidade, por isso os resultados com esta espécie não foram considerados adequados.

Quanto às outras espécies de peixe avaliadas, os dados gerados foram considerados, uma vez que as mesmas foram sensíveis na detecção de substâncias tóxicas presentes nos sedimentos testados.

4.2.7. ÁGUA DE DILUIÇÃO

A água de diluição adotada na maioria dos trabalhos foi a água natural, com dureza ajustada ou não para a faixa de 40 a 48mg/L. Quando realizado o ajuste de dureza, foi seguido o indicado nas normas da CETESB (1990, 1991, 1994) e ABNT (1995, 2004a, b).

Nos ensaios com amostras de sedimento em que foi utilizada água do próprio local de coleta como água de diluição, constatou-se que, em alguns casos, as mesmas apresentaram algum tipo de efeito para os organismos teste. Desta forma, não foram considerados válidos os resultados gerados nos testes com amostras de sedimento, quando foi observado efeitos nos testes realizados com a água, para as mesmas espécies.

4.2.8. SEDIMENTO CONTROLE E REFERÊNCIA

Embora seja necessário o uso de sedimentos de controle para estabelecer a validade do teste e comparação de dados e, sedimento referência para quando se quer indicar as condições do sedimento do local, conforme estabelecido pela ASTM (2000) e USEPA (2000), a maioria dos estudos realizados só apresentou os resultados com um sedimento referência. Como sedimento controle em alguns trabalhos foi adotado para rio e reservatório, respectivamente, o do Tietê, em Biritiba Mirim e o de Ponte Nova (ARAÚJO 1998, CETESB; SABESP, 1998). Porém, em alguns estudos foi adotado como controle apenas água de diluição, ou seja foram indicadas as condições dos organismos-teste conforme mantidos no laboratório.

Neste estudo, considerando a dificuldade de se encontrar um sedimento controle, a totalidade dos dados foi aceita, embora seja fundamental o uso deste sedimento para se estabelecer a validade dos resultados.

4.2.9. OUTRAS VARIÁVEIS

Quanto às outras variáveis, o fotoperíodo geralmente adotado foi de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. No entanto, é importante ressaltar que em todas as normas é citado 16 horas de luz e 8 de escuro (USEPA, 2000; ASTM, 2000; ENVIRONMET CANADA, 1999). As variáveis controladas durante os testes, na maior parte dos trabalhos, foram o pH, condutividade, dureza e oxigênio dissolvido. Nascimento (2003) e Meletti et al. (2003) avaliaram também a concentração inicial e final de amônia.

4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS DOS ENSAIOS DE TOXICIDADE

Na análise dos resultados, geralmente, foram aplicados testes de hipóteses para detecção da diferença significativa entre o efeito observado (mortalidade, crescimento, fecundidade), sob um determinado nível fixo de erro, na amostra e no controle, conforme indicado pela EPA (2000) e ASTM (2000).

No caso de se aplicar testes de hipóteses, tem sido recomendado que se avalie se o efeito observado nos organismos teste nas amostras foi significativa, não em relação ao ponto de referência/controle aplicando o teste “t”, mas sim a média histórica do porcentual de efeito que pode ocorrer no controle. Neste caso, é necessário estabelecer, para cada organismo e tipo de teste, a constante de proporcionalidade “r” para que se possa aplicar o testes “t por bioequivalência”, disponível no Programa TOXSTAT 3.5 (WEST; GULLEY, 1996). Buratini et al. (2005), estabeleceram, para várias espécies, a constante de proporcionalidade “r” para os efeitos mortalidade, crescimento e fecundidade.

Outros autores sugerem, para os testes agudos, faixas para estabelecer a ausência ou presença de indícios ou toxicidade nos sedimentos, adotadas com algumas variações no intervalo das faixas adotadas, conforme apresentado na Tabela 4.1. Neste caso, não existe uma base estatística que permita obter uma evidência objetiva de efeito neste tipo de avaliação.

No caso dos testes crônicos com *Daphnia* e *Ceriodaphnia*, em que o efeito observado é a reprodução, Fonseca (1987) e Costa (2001) recomendam o cálculo da taxa intrínseca do crescimento populacional, além da avaliação da diferença da fecundidade entre os organismos expostos no controle e os expostos ao sedimento.

Tabela 4.1. Faixas adotadas por diferentes autores para avaliar a ausência e o grau de toxicidade de sedimento, utilizando diferentes organismos e métodos de ensaio.

| Referência | Organismo teste | Duração do teste | Efeito expresso em % de mortalidade | | |
|-----------------------------|---|-------------------|-------------------------------------|--------------------------------|--|
| | | | Não tóxica | Indícios de toxicidade | Tóxica |
| Meletti (1997) | Peixes | 96h | <10 | Não mencionado | <25 (baixa) 25 a 50 (média) >50 (alta) |
| Espíndola et al. (1998) | <i>D. similis</i> Peixes | Não mencionado | ≤30 | 30 e 50 | ≥50 |
| Pamplim (1999) | <i>C. xanthus</i> Peixes | 96h | Não mencionado | Não mencionado | >50 <i>C. xanthus</i> >40 Peixes |
| Marroquim (2000) | <i>Hyalella</i> sp. | 10 dias | <25 | 25 a 50 | ≥50 |
| Fracácio (2001) | <i>D. rerio</i> (Larva) | 7 dias | Não mencionado | <25 (baixa) 25 a 50 (média) | >50 (alta) |
| Rodgher (2001) | <i>D. similis</i> | 48h | <10 | 10 a 40 | >40 |
| Dornfeld (2002) | <i>C. xanthus</i> <i>D. similis</i> | 96h 48h | 0 | >0 e 50 | >50 |
| Brigante e Espíndola (2003) | <i>D. similis</i> , <i>C. dubia</i> <i>C. xanthus</i> | 48h 48h 96h | <10 | >10 e < 50 | ≥50 |

Para uniformizar os resultados compilados, em função das disparidades dos procedimentos adotados na avaliação dos resultados dos ensaios agudos nos diferentes trabalhos, decidiu-se definir um valor crítico para se considerar um sedimento tóxico (Tabela 4.2). Para tanto, foi levado em consideração a maior diferença porcentual observada em ensaios ecotoxicológicos com diferentes organismos estabelecido por Buratini et al. (2005), a qual permite declarar uma amostra como tóxica em relação ao controle. Desta forma a diferença porcentual estabelecida foi de 30% entre a amostra e o controle ou referência. No caso do teste crônico com *Ceriodaphnia*, a diferença estabelecida para se verificar efeito tóxico crônico quando da mortalidade dos organismos teste foi de 40% (ABNT, 1995).

Tabela 4.2. Critérios adotados na análise dos resultados dos ensaios ecotoxicológicos com sedimento.

| Variável | Análise do resultado |
|---------------|---|
| Sobrevivência | Não Tóxico quando a diferença entre a amostra e o controle for <30% Baixa toxicidade quando a diferença de efeito entre a amostra e o controle for ≥30 e <50% Alta toxicidade quando a diferença de efeito entre a amostra e o controle for ≥50% |
| Crescimento | Não tóxico quando na amostra a redução for <30% em relação ao controle Efeito tóxico subletal quando a redução for ≥30% em relação ao controle |
| Fecundidade | Não Tóxico quando a diferença na fecundidade entre a amostra e o controle não for estatisticamente significativa Efeito tóxico crônico quando ocorrer mortalidade >40% na amostra no final do teste em relação ao controle ou quando a redução na reprodução na amostra for estatisticamente significativa em relação ao controle |

4.4. CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO DOS ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS

Com base nas variáveis discutidas no item 4.2, foram considerados válidos os ensaios apresentados na tabela 4.3, cujos resultados atenderam os critérios de aceitação descritos na tabela 4.4.

Tabela 4.3. Testes ecotoxicológicos adotados na avaliação da qualidade dos sedimentos.

| Organismo teste | Sistema | Tempo de exposição | Idade dos organismos | Efeito |
|---|---------------------------|-------------------------|--------------------------------|--|
| <i>Hyalella</i> sp. | Estático | 10 dias | 7 a 18 dias | Mortalidade e crescimento |
| <i>Hyalella azteca</i> | Semi-estático | 10 dias | 7 a 14 dias | Mortalidade e crescimento |
| <i>Chironomus xanthus</i> | Estático | 96h | 2° a 4° instar | Mortalidade |
| <i>Daphnia similis</i> <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> | Estático | 48h | 6 a 24 h | Mortalidade |
| <i>Daphnia similis</i> <i>Ceriodaphnia dubia</i> | Semi-estático | 3° ninhada ou 7 dias | 6 e 24h | Mortalidade, crescimento e fecundidade |
| <i>Serrapinus notomelas</i> , <i>Serrapinus stenodon</i> , <i>Poecilia reticulata</i> , <i>Hyphessobrycon bifaciatus</i> , <i>Prochilodus scrofa</i> , <i>Danio rerio</i> , <i>Moenkhausia intermedia</i> | Estático ou Semi-estático | 96h | Fase larval, juvenil ou adulta | Mortalidade |
| <i>Danio rerio</i> | Semi-estático | 7 dias | Fase larval | Mortalidade e crescimento |
| <i>Serrapinus notomelas</i> <i>Serrapinus stenodon</i> (in situ) | - | 96h | Fase juvenil ou adulta | Mortalidade |

- = não se aplica

Tabela 4.4. Critérios de aceitação estabelecidos para selecionar os resultados dos ensaios de toxicidade de sedimento considerados válidos, com *Ceriodaphnia*, *Daphnia*, *Chironomus*, *Hyalella* e peixes.

| Variáveis | Critérios de aceitabilidade dos testes |
|----------------------------|--|
| Idade dos organismos teste | <i>Chironomus</i> : 2° a 4° instar, <i>Ceriodaphnia</i> e <i>Daphnia</i> : <24h, <i>Hyalella</i> : 7 a 18 dias, peixes: adultos, jovens e larvas |
| Água de diluição | Água reconstituída ou natural, desde que não tenha apresentado toxicidade aguda ou crônica para os organismos teste. |
| Oxigênio dissolvido | <i>Hyalella</i> e <i>Chironomus</i> >2,5mg/L, <i>Daphnia</i> e <i>Ceriodaphnia</i> : >2,0mg/L, peixes > 5,0mg/L |
| Fecundidade no controle | Média de jovens/fêmea ≥ 12 (<i>Ceriodaphnia</i>) |
| Sobrevivência no controle | Testes 24, 48, 96h de duração: $\geq 90\%$ Teste com 7 e 10 dias de duração: $\geq 80\%$ |

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT **NBR 13373**: água - avaliação de toxicidade crônica utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (Cladocera, Crustacea.) Rio de Janeiro: ABNT, 1995. 14 p.

ABNT **NBR 13373**: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda - método de ensaio com *Daphnia* spp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT, 2004a. 12 p.

ABNT **NBR 15088**: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda - método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro: ABNT, 2004b. 19 p.

ALMEIDA, C. A. **Estudo ecotoxicológico do sedimento de represas do rio Tietê com o organismo-teste bentônico *Chironomus xanthus* Rempel (Insecta: Diptera)**. 2002. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2002.

ARAÚJO, R. P. A.; LORENZETTI, M. L.; BURATINI, S. V. **Implantação de testes com *Hyaella pernix* para avaliação da toxicidade de sedimentos de água doce**. São Paulo: CETESB, 1993. 20 p. Anexos.

ARAÚJO, R. P. A. **Avaliação da toxicidade de sedimentos ao anfípodo de água doce *Hyaella meinerti* Stebbing, 1899 (Crustacea, Amphipoda)**. São Paulo, 1998. 184 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Geral). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1998.

ARAÚJO, R. P.A.; NASCIMENTO, A. P. C.; ALMEIDA, C. A.; RODRIGUES, P. F. Metodologia de avaliação da toxicidade de sedimento com amostras coletadas em represas do rio Tietê. In: MOZETO, A. A.; JARDIM, W. F.; UMBUZEIRO, G. A. (Ed.). **Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos: experimentos de campo e laboratório**. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2001. p. 47-51.

ASTM. **Proposed standard guide for conducting solid-phase sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1988. 51 p. Anexos. Draft nº2, 09/01/1988.

ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1993. 27 p.

ASTM. **E 1706-00**: test method for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. Philadelphia: ASTM, 2000. 117 p.

BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. O Estudo no rio Mogi-Guaçu: a abordagem metodológica. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed.). **Limnologia fluvial** : um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: RiMa, 2003. cap.2, p. 15-22.

BURATINI, S.V.; PRÓSPERI, V. A.; BERTOLETTI, E.; ARAÚJO, R. P. A.; WERNER, L. I. Minimum significant difference applied to "bioequivalence t-test". **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. 2005. No prelo.

BURTON, G. A.; NELSON, M. K.; INGERSOLL, C.G. Freshwater benthic toxicity tests. In: BURTON, G. A. (Ed.). **Sediment Toxicity Assessment**. Chelsea, MI: Lewis Publishers, 1992. cap. 10, p. 213-240.

CETESB (São Paulo). **Avaliação da toxicidade das águas e sedimentos dos rios da região de Cubatão**. São Paulo: CETESB, 1983a. 10 p.

CETESB (São Paulo). **Ensaio biológicos com água e sedimento da represa Billings**. São Paulo: CETESB, 1983b. 29 p.

CETESB (São Paulo). **Norma Técnica L5.019**: água - teste de toxicidade aguda com peixes - Parte II - sistema semi-estático. São Paulo: CETESB, 1990. 29 p.

CETESB (São Paulo). **Norma Técnica L5.022**: água - avaliação de toxicidade crônica utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (Cladocera, Crustacea). São Paulo: CETESB, 1991. 25 p.

CETESB (São Paulo). **Norma Técnica L5.018**: água - teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea). São Paulo: CETESB, 1994. 25 p.

CETESB (São Paulo). **Serviços de coleta de amostras, análises e estudos de avaliação das características biológicas, físico-químicas e microbiológicas das águas e sedimentos do rio Juquiá – Relatório Final**. São Paulo: CETESB, 2000. 144 p. Contrato Sabesp 010/97.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 2002**. Disponível em :<http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rel_aguas_int_2002/index.htm>. Acesso em: out. 2003.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 2003**. São Paulo: CETESB, 2004. 268 p.

CETESB (São Paulo); SABESP (São Paulo). **Monitoramento integrado bacias do Alto e Médio Tietê: relatório Final - revisão zero**. São Paulo: CETESB, 1998. 312 p.

CETESB (São Paulo); SABESP (São Paulo). **Monitoramento integrado bacias do Alto e Médio Tietê: avaliação da qualidade água, sedimento e peixes – relatório final.** São Paulo: CETESB, 1999. 138p. Contrato 020/97.

COSTA, J. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Avaliação ecotoxicológica da água e sedimento de tributários do reservatório de Barra Bonita (Médio Tietê Superior). In: ESPÍNDOLA, E. L. G. ; PASCHOAL, C. M. R. B.; ROCHA, O.; BOHER, M. B. C.; NETO, A. L. O. (Ed.). **Ecotoxicologia perspectivas para o século XXI.** São Carlos: RiMa, 2000. p. 75 - 93.

COSTA, J. B. **Avaliação ecotoxicológica da água e sedimento de tributários do reservatório de Barra Bonita (Médio Tietê Superior).** 2001. 281 f. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

DORNFELD, C. B.; MAZUTTI, M. B.; SILVÉRIO, P. F.; ANDRADE, C. A.; ALMEIDA, C. A. Caracterização ecotoxicológica do sedimento da represa do Lobo (Itirapina, Brotas, SP) e seus tributários. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; MAUAD, F. F.; SCHALCH, V.; ROCHA, O.; FELICIDADE, N.; RIETZLER, A. C. (Ed.). **Recursos hidroenergéticos: usos, impactos e planejamento integrado.** São Carlos: RIMA, 2002. v.1, p. 75 - 89. (Série - Ciências da Engenharia Ambiental. Programa de Pós Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental. CRHEA- SHS -USP).

ENVIRONMENT CANADA. **Biological test method: test for survival and growth in sediment using the freshwater amphipod *Hyalella azteca*.** Ottawa: Environment Canada, 1997. 123p. Report EPS 1/rm/33.

ESPÍNDOLA, E. L. G.; BOTTA-PASCHOAL, C. M. R.; TONISSI, F. B.; MAGALHÃES, R. Avaliação ecotoxicológica de sedimento como instrumento de controle de qualidade da água do reservatório de Salto Grande (Americana, SP). In: SIMPÓSIO DE ECOSSISTEMAS BRASILEIROS. 1998, Águas de Lindóia. **Resumos...** São Paulo: ACIESP, v. 4. p. 99-111. 1998.

ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C. B. Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed.). **Limnologia fluvial : um estudo no rio Mogi-Guaçu.** São Carlos: RiMa, 2003. p. 129-148.

FONSECA, A . L. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade com invertebrados.** 1997. 210 f. Tese (Doutorado Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

FRACÁCIO, R. **Utilização de bioensaios ecotoxicológicos com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae) e análises limnológicas para avaliação ambiental dos reservatórios do Médio a**

Baixo Tietê (SP). 2001. 233 f. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

INGERSOLL, C. G. Sediment test. In: RAND, G. M. (Ed.) **Aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment.** 2. ed. Washington: Taylor & Francis, 1995. p. 231- 255.

JOHNSCHER-FORNASARO, G.; ZAGATTO, P. A. The use of benthic community as a water quality indicator in Cubatão River Basin. **Water Science and Technology**, v. 19, n. 11, p. 107-112, 1987.

LAMPARELLI, M. C.; KUHLMANN, M. L.; CARVALHO, M. C; SALVADOR, M. E. P.; SOUZA, R. C.; BOTELHO, M. J. C; COSTA, M. P.; MARTINS, M. C.; CARVALHO, P. M.; ARAÚJO, R. P. A.; HACHICH, E. M.; BARI, M.; CURSIO, R. L. S.; TOLEDO JR, A. P.; LORENZETTI, M. D. L.; TRUZZI, A.C.; NAVAS-PEREIRA, D.; VARGAS-BOLDRINI, C. **Avaliação do complexo Billings: comunidades aquáticas, água, sedimento - out/92 a out/93.** São Paulo, CETESB, 1996. 53 p.

LORENZETTI, M. L.; ARAÚJO, R. P. A.; GOMES, M. A. **Testes de toxicidade com sedimentos de água doce:** resultados preliminares. São Paulo: CETESB, 1992. 7 p. Anexos.

MARROQUIM, A. C. G. **Ciclo de vida de *Hyalella meinerti* Stebbing, 1899 (Crustacea, Amphipoda) e avaliação de sua sensibilidade em testes ecotoxicológicos.** 2000. 90 f. Dissertação (Mestrado Ecologia e Recursos Naturais) - Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2000.

MELETTI, P. C. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade aguda com peixes.** 1997. 148 f. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

MELETTI, P. C.; ROCHA, O.; MARTINEZ, C.B.R. Avaliação de degradação ambiental na bacia do rio Mogi-Guaçu por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes. IN: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed.). **Limnologia fluvial : um estudo no rio Mogi-Guaçu.** São Carlos: RiMa, 2003. p.149-180.

MOZETO, A. A.; JARDIM, W. F.; ARAGÃO, G. U. (Coord.). **Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos (CQS):** experimentos de campo e laboratório. São Carlos: UFSCar, 2001. 371 p. Relatório n.1 - Projeto QualiSed Proc. No. 98/12177-0.

NASCIMENTO, A. P. C. **Comparação metodológica de testes de toxicidade com *Hyalella azteca* (Crustacea, Amphipoda) e avaliação da qualidade do sedimento em reservatórios do rio Tietê (SP).** 2003. 122 f. Anexos. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

PAMPLIN, P. A. Z. P. **Avaliação da qualidade ambiental da represa de Americana (SP - Brasil) com ênfase no estudo da comunidade bentônica e parâmetros ecotoxicológicos.** 1999. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.

RODGHER, S. **Estudo ecotoxicológico e limnológico nos reservatórios em cascata do médio e baixo Tietê: uma análise espacial e temporal.** 2001. 159 f. Anexos. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

RODGHER, S.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; FRACÁCIO, R.; RODRIGUES, M. H.; PEREIRA, R. H. G.; ROCHA, O. Estudos ecotoxicológicos nos reservatórios em cascata do médio e baixo Tietê: uma avaliação dos impactos ambientais. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; MAUAD, F. F.; SCHALCH, V.; ROCHA, O.; FELICIDADE, N.; RIETZLER, A. C. (Ed.). **Recursos hidroenergéticos: usos, impactos e planejamento integrado.** São Carlos: RiMa, 2002, v.1. p. 131 - 144. (Série - Ciências da Engenharia Ambiental. Programa de Pós Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental. CRHEA- SHS -USP)

SHIMIZU, G. Y.; LAMPARELLI, M. C.; JOHNSCHER-FORNASARO, G.; WATANABE, H. M.; SALVADOR, M. E. P.; COSTA, M. P.; CARVALHO, M. C.; KUHLMANN, M. L.; SOUZA, R. C. R.; BERTOLETTI, E.; ARAÚJO, R. P. A.; BURATINI, S. V.; AGUJARO, L. F.; PRADELLA, D. Z. A.; FIALHO, R. C.; SOUZA, J. B.; BEVILACQUA, J. E.; MENEGON JR., N.; TRUZZI, A. C.; AVELINO, E. L.; BRANDIMARTE, A. L.; CARVALHO, M. A. J.; SENDACZ, S. **Estudos preliminares para o uso de índices biológicos no monitoramento de ambientes aquáticos continentais: riachos e corredeiras na bacia hidrográfica do rio Atibaia.** São Paulo: CETESB, 2002. 85 p.

TONISSI, F. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Utilização de bioensaios agudo, crônico-parcial e in situ com *Danio rerio* para avaliação ecotoxicológica do reservatório de Salto Grande (Americana, SP). In: ESPÍNDOLA, E. L. G. ; PASCHOAL, C. M. R. B.; ROCHA, O.; BOHER, M. B. C.; NETO, A. L. O. (Ed). **Ecotoxicologia perspectivas para o século XXI.** São Carlos: RiMa, 2000, p. 483 - 498.

TONISSI, F. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; DORNFELD, C. B.; PAMPLIN; P. A. Z., FONSECA, A. L.; MELETTI, P.C.; BOTTA-PASCHOAL, C. M. R.; ROCHA, O. Estudos ecotoxicológicos no reservatório de Salto Grande (Americana, SP), utilizando organismos bentônicos, zooplancctônicos e peixes. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; LEITE, M. A.; DORNFELD, C. B. (Ed). **Reservatório de Salto grande (Americana, SP): caracterização , impactos e propostas de manejo.** São Carlos: RiMa, 2004, cap. 17, p. 315-337.

USEPA (Estados Unidos). **Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates.** Duluth: USEPA, 1994. 133 p. (EPA/600/R-94/024).

USEPA (Estados Unidos). **Methods for measuring toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates**. Washington, DC, USEPA, 2000 192 p. (EPA/600/R-99/064).

WEST, INC.; GULLEY, D. **Toxstat 3.5**. University of Wyoming, Wyoming, USA, 1996. 38 p.

ZAGATTO, P. A.; GUERARDI-GOLDSTEIN, E.; BERTOLETTI, E.; LOMBARDI, C. C.; MARTINS, M. H. R. B.; RAMOS, M. L. L. C. Bioassay with aquatic organism: toxicity of water and sediment from Cubatão River Basin. **Water Science and Technology**, v. 19, n. 11, p. 95-106, 1987.

CAPÍTULO 5

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS SEDIMENTOS DE RIOS E RESERVATÓRIOS DO ESTADO DE SÃO PAULO, COM ÊNFASE NOS DADOS ECOTOXICOLÓGICOS

5.1. INTRODUÇÃO

Testes de toxicidade permitem avaliar efeitos interativos de misturas complexas presentes no sedimento sobre os organismos aquáticos. Estes testes medem, portanto, os efeitos tóxicos das frações biodisponíveis presentes nos sedimentos, em condições controladas de laboratório ou através de testes em campo. Desta forma, o resultado do teste de toxicidade é útil para o estabelecimento de concentrações aceitáveis de contaminantes que podem estar presentes no sedimento, isto é concentrações em que não são esperados efeitos para os organismos bentônicos. Os resultados destes testes, juntamente com os dados sobre a estrutura da comunidade bentônica e contaminação, são ferramentas importantes para a avaliação da qualidade do sedimento, como também para o gerenciamento de material dragado e orientação na tomada de decisões quanto a necessidade de limpeza e recuperação de sedimentos.

Baseado nas informações geradas pelos diferentes grupos de pesquisa e pelo órgão de controle ambiental, o presente trabalho apresentará uma síntese da qualidade dos sedimentos de ecossistemas de água doce do estado de São Paulo, com ênfase na avaliação da toxicidade.

Como muitos dos estudos compilados neste estudo tiveram como objetivo, como já mencionado no Capítulo 4, implantar e avaliar espécies teste, além de métodos de ensaio, inicialmente foi realizada uma análise crítica desses estudos, visando verificar os procedimentos adotados. Após este processo, foram estabelecidos critérios de aceitabilidade para os dados gerados nos testes de toxicidade.

Com relação a interpretação do resultados obtidos, verificou-se que foram adotados diferentes critérios e abordagens. Desta forma, inicialmente foi necessário estabelecer criterios adequados tanto para análise dos dados ecotoxicológicos, como para os químicos e biológicos. Assim, os dados levantados foram reavaliados com base nos critérios estabelecidos no presente trabalho.

Uma vez que, atualmente o estado de São Paulo conta com uma rede de monitoramento da qualidade do sedimento gerenciada pela CETESB (2003, 2004), a abordagem e os critérios adotados nesse estudo foram baseados nos adotados por este órgão ambiental. Em 2002, esta rede contou com 12 locais de amostragem, que foram ampliados para 16 a partir de 2003 (CETESB, 2003, 2004).

O presente trabalho tem como objetivo apresentar um panorama da qualidade dos sedimentos, visando contribuir para escolha dos pontos que devam ser monitorados na rede de monitoramento da qualidade de águas interiores do Estado de São Paulo, e no direcionamento de estudos posteriores e/ou ações adequadas de controle nas diferentes bacia hidrográficas.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

Os resultados obtidos a partir dos diferentes estudos, envolvendo testes de toxicidade, são expressos através de parâmetros como porcentagem de sobrevivência, inibição do crescimento e fecundidade dos organismos. Os métodos de ensaio e dados compilados foram selecionados com base, respectivamente, nas justificativas e critérios de aceitação estabelecidos no capítulo 4. De acordo com o efeito (agudo e crônico) e intensidade observados nos testes foram estabelecidos intervalos de efeito para expressar a qualidade do sedimento (Tabela 5.1). Os valores críticos adotados, para se considerar um sedimento como tóxico, foram estabelecidos considerando a maior diferença porcentual observada em ensaios ecotoxicológicos com diferentes organismos (ver capítulo 4). Nos estudos em que foram realizadas várias campanhas, foi considerado o resultado mais restritivo. No caso de ter sido realizado mais do que um teste com a mesma amostra, foi considerado apenas o primeiro resultado.

Tabela 5.1. Diagnósticos baseados nos resultados dos testes de toxicidade de sedimento.

| Variável | Diagnóstico |
|---------------|---|
| Sobrevivência | Não Tóxico quando a diferença entre a amostra e o controle for <30% Baixa toxicidade quando a diferença de efeito entre a amostra e o controle for ≥30 e <50% Alta toxicidade quando a diferença de efeito entre a amostra e o controle for ≥50% |
| Crescimento | Não tóxico quando na amostra a redução for <30% em relação ao controle Efeito tóxico subletal quando a redução for ≥30% em relação ao controle |
| Reprodução | Não Tóxico quando a diferença na reprodução entre a amostra e o controle não for estatisticamente diferente Efeito tóxico crônico quando ocorrer mortalidade >40% na amostra no final do teste em relação ao controle ou quando a redução na reprodução na amostra for estatisticamente diferente do controle |

Considerando a importância da integração dos dados ecotoxicológicos com os químicos e da comunidade bentônica, estes resultados também foram considerados. sempre que estas variáveis foram abordadas nos trabalhos levantados

Quanto à contaminação química, verificou-se que foram adotadas as abordagens do índice de geoacumulação (IGEO) proposto por Muller (1979 apud FORSTNER et al., 1990), que representa o enriquecimento do substrato geológico relativo a um valor base geoquímico compilados por Turekian e Wedepohl (1961), o próprio valor base geoquímico, a classificação de Thomas (1987 apud

DORNFELD, 2002) e os valores guias ou orientadores propostos pelo “Canadian Council of Ministers of the Environment” para a proteção da vida aquática (CCME, 2001).

Os valores estabelecidos pelo Canadá foram baseados em dados químicos (concentrações totais) e biológicos (testes de toxicidade e parâmetros da comunidade bentônica). Esses dados, compilados em um banco de dados, permitiram o estabelecimento de correlações que levaram à geração de dois valores, o “Interim Sediment Quality Guidelines” (ISQG) e o Probable Effect Level (PEL), que expressam a probabilidade de ocorrência de efeito para a biota. O menor valor, ISQG, também denominado TEL (“Threshold Effect Level”), representa a concentração abaixo do qual raramente é esperada a ocorrência de efeitos para os organismos, e o maior valor, PEL, refere-se à concentração acima da qual freqüentemente é esperado efeito para os organismos. No intervalo entre ISQG (ou TEL) e PEL ocasionalmente é esperado efeito para a biota (Tabela 7C, Anexo C).

Na literatura existem outras sugestões de valores para a avaliação da qualidade do sedimento, com diferenças relevantes entre os limites estabelecidos para cada substância, dependendo do procedimento utilizado na sua derivação (BURTON, 2002; CHAPMAN et al., 1999; MacDONALD et al., 2000). Todos os valores trazem, no entanto, incertezas referentes a relevância ecológica dos mesmos. Além disto, na geração destes valores, não é levado em consideração fatores que afetam a disponibilidade dos contaminantes no ambiente natural. Portanto, os valores canadenses foram adotados, entre outros existentes, apenas como uma orientação para buscar evidências com relação à presença de contaminantes em concentrações capazes de causar efeitos para a biota. É importante ressaltar que estes valores têm sido adotados pela CETESB para monitorar a qualidade dos sedimentos (CETESB, 2003, 2004).

Com relação aos dados de comunidade bentônica, verificou-se que foram utilizadas diferentes métricas para a sua avaliação, visando refletir os diferentes danos ambientais nos recursos hídricos estudados. Desta forma, é difícil comparar os dados dos diferentes ambientes estudados. Recentemente, as pesquisadoras M. L. Kuhlmann e H. M. Watanabe (CETESB) desenvolveram um índice da comunidade bentônica, levando em consideração os seguintes descritores: riqueza (S), dominância (DOM), razão Tubificidae sem queta capilar/total de Oligochaeta, Razão Tanytarsini/Chironomidae, riqueza de taxa sensíveis e o índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') ou o índice de comparação seqüencial (ICS) (MOZETO et al., 2003). Estas autoras fundiram estes descritores em índices multimétricos adequados para cada ambiente, ou seja, reservatórios e rios, atualmente adotado pela CETESB na avaliação da qualidade dos sedimentos na rede de monitoramento da qualidade das águas (CETESB, 2003, 2004). O diagnóstico ou a classificação final da qualidade do habitat é calculado pela média aritmética dos valores dos índices parciais.

Conforme relatórios da CETESB (CETESB, 2003, 2004), dados dos testes de mutagenicidade (teste de AMES) e a freqüência de ocorrência de deformidade do mento em larvas de *Chironomus*, foram também utilizadas para complementar o diagnóstico da qualidade dos sedimentos.

A análise da frequência da deformidade em larvas de *Chironomus* só é realizada quando ocorrem populações significativas nas amostras, sendo considerado deformidade falta ou excesso de dentes no mento (KUHLMANN et al., 2000). Estas deformidades são associadas à presença de contaminantes inorgânicos (metais) e orgânicos (PCBs, PAHs e agrotóxicos) no sedimento. Quando a frequência de efeito for superior a 3%, normalmente encontrado em ambientes não impactados, o resultado é considerado positivo (CETESB, 2004). Desta forma, seria possível distinguir na comunidade bentônica alterações provocadas pela presença de contaminantes das de outros fatores (predação, falta ou excesso de alimento, habitat inadequado).

Quanto ao teste de AMES, estes ensaios utilizam diferentes linhagens bacterianas para avaliar a capacidade de um composto ou mistura de causar dano ao seu material genético. Desta forma é possível obter também informações importantes sobre a classe de compostos que estão presentes nas amostras avaliadas, como aminas aromáticas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) (CETESB, 2004).

Apesar de muitos trabalhos terem levantado diferentes dados que expressam a qualidade do sedimento, esses foram geralmente analisados isoladamente (só toxicidade, comunidade ou análise química), ou confrontado a toxicidade e os dados de comunidade com as análises químicas. A integração dos dados químicos, ecotoxicológicos e do bentos segundo a abordagem da Tríade da Qualidade do Sedimento, conforme proposta por Chapman et al. (1987) e Chapman (1990), foi adotada por Lamparelli et al. (1996). Esta abordagem foi utilizada em trabalhos subseqüentes deste grupo de pesquisadores da CETESB na caracterização da qualidade de sedimento (CETESB, 2000; CETESB; SABESP, 1998, 1999; SHIMIZU et al., 2002). A maior limitação para a aplicação da tríade é dificuldade de se encontrar um sedimento controle para ambiente lótico e outro para o ambiente lêntico, que atenda as três variáveis (química, bentos e testes de toxicidade). Além disto, existem outras variáveis importantes a serem consideradas, como a quantidade de nutrientes, granulometria, características da água e do habitat em estudo, entre outras.

A adoção de diversas linhas de evidência tem sido recomendada como a abordagem mais adequada para se determinar a extensão e as possíveis causas da deterioração da qualidade dos sedimentos (BURTON et al., 2003). Esta linha de trabalho vem sendo adotada pela CETESB na caracterização e no monitoramento da qualidade das águas Interiores do Estado de São Paulo, ou seja a qualidade dos sedimentos é analisada integrando os dados químicos, biológicos e ecotoxicológicos. Para tanto, para cada variável, foram estabelecidas intervalos ou valores de corte, chegando-se a até 5 classes, variando de ótima a péssima. Neste estudo esta abordagem foi a adotada, com algumas modificações, conforme apresentada na tabela 5.2.

Além destas variáveis, foram também considerados na avaliação geral de qualidade dos sedimentos, os resultados de granulometria, pH, potencial redox, teor de matéria orgânica e de sulfetos volatilizáveis em ácido. Estas variáveis permitem se obter informações sobre a forma de

associação entre os metais e compostos orgânicos com as partículas do sedimento. É importante ressaltar que, nos trabalhos em que foram realizadas diferentes campanhas, foi considerado o dado médio das diferentes variáveis.

Para quantificar a contribuição das fontes potenciais de nutrientes, expressa pela concentração de matéria orgânica presente no sedimento, este foi classificado como orgânico quando apresentou teores de matéria orgânica acima de 10% em seu peso seco; caso contrário foi considerado inorgânico (ESTEVEES, 1998). As relações entre os constituintes elementares, como a razão carbono/nitrogênio, forneceram subsídios para discriminar a contribuição relativa das fontes destes elementos no sedimento. Assim, razão C/N com baixos valores (até 12%) a origem da matéria orgânica foi considerada predominantemente devido à produção autóctone (algas) enquanto valores mais altos, alóctone, ou seja, devido a materiais carregados do solo pelas águas de chuva ou esgoto (SILVÉRIO, 1999).

Tabela 5.2. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos, baseado na concentração de metais e compostos orgânicos, presença ou ausência de compostos mutagênicos, efeitos observados nos testes ecotoxicológicos, ausência ou presença de deformidade no mento de *Chironomus* e estrutura comunidade bentônica, descrita por índices.

| Diagnóstico | Substância química ^a | Mutagenicidade Teste de AMES revertentes/g base seca | Toxicidade ^b | Deformidade ^c (%) | Comunidade bentônica ^d |
|-------------|---------------------------------|--|--|---------------------------------|-----------------------------------|
| Ótimo | | não detectado | | | ICB = 1 |
| Bom | <TEL | <50 | Não tóxico | ≤3 | ICB = 2 |
| Regular | ≥TEL e ≤PEL | >50 e <500 | Efeito subletal, redução no crescimento e/ou efeito crônico na sobrevivência e/ou na fecundidade | >3 e ≤6 ^e | ICB = 3 |
| Ruim | >PEL | >500 e 5000 | Efeito agudo, mortalidade inferior a 50% | >6 | ICB = 4 |
| Péssimo | | >5000 | Efeito agudo, mortalidade maior ou igual a 50% | | ICB = 5 |

a = segundo os valores guias TEL (Threshold Effect Level) e PEL (Probable Effect Level), sugeridos pelo "Canadian Council of Ministers of the Environment" (CCME, 2001).

b = segundo os intervalos de efeito apresentadas na tabela 5.1.

c = deformidade no mento em larvas de *Chironomus*.

d = ICB_{rio} ou ICB_{reservatório} Índice da Comunidade Bentônica para rios e reservatórios.

e = considerou-se regular também quando o número de larvas analisado foi menor que o ideal (maior ou igual a 100), mas a frequência de efeito superior a 6%.

No diagnóstico da qualidade do sedimentos foi levado em consideração também o modelo hierárquico sugerido por Mozeto et al. (2003). Neste, que segue os princípios da rede europeia "European Sediment Research Network" (conhecida pela sigla "SedNet"), é considerado também dados ecotoxicológicos, químicos e da comunidade bentônica e a concentração de nutrientes, além da presença de substâncias capazes de se bioacumular em organismos aquáticos.

A proposta consta, basicamente, de um inventário dos dados, seguida da avaliação da qualidade considerando dados físicos (granulometria), químicos (metais, metalóides, nutrientes e compostos orgânicos), ecotoxicológicos (testes de toxicidade) e biológicos (comunidade bentônica). Para classificar os sedimentos é recomendado o uso de critérios de qualidade, ou valores de precaução, ou de ação, baseado nos valores numéricos de concentração para as substâncias avaliadas, testes de toxicidade e dados da comunidade bentônica. Quando a análise resultar em danos desprezíveis, dispensa-se estudos mais específicos ou detalhados. Caso as análises químicas realizadas não sejam capazes de explicar os efeitos observados nos testes de toxicidade, é indicado estudo de avaliação e identificação da toxicidade (AIT). Assim, essa forma hierárquica de se interpretar os resultados foi também adotada neste estudo para se avaliar a qualidade dos sedimentos.

O conjunto de dados levantados nos diferentes estudos foram agrupados nas Unidades de Gerenciamento dos Recursos Hídricos (UGRHI), designadas conforme estabelecido pelo Anexo III da Lei estadual N.9034, de 1994, dentro do Plano Estadual de Recursos Hídricos. Como se sabe, a UGRHI está baseada no conceito de bacia hidrográfica, nos quais os recursos hídricos convergem para um corpo principal, segundo a topografia regional. Os rios extensos, como o Tietê, estão subdivididos em mais de uma UGRHI.

Na tabela 5.3 são apresentados os rios e reservatórios do Estado de São Paulo em que foram levantados dados ecotoxicológicos, químicos, físicos e biológicos e na figura 5.1 a localização destas UGRHIs.

Tabela 5.3. Rios e reservatórios do estado de São Paulo onde existem dados ecotoxicológicos.

| UGRHI | | Corpos de água estudados |
|--------|-------------------------------|---|
| Número | Denominação | |
| 2 | Paraíba do Sul | Reserv. Paraibuna, Santa Branca e Jaguarí |
| 5 | Piracicaba, Capivarí e Jundiá | Rios Atibaia, Atibainha, Cachoeira, Corumbataí, Piracicaba, Capivari, Jaguarí Reserv. Barra Bonita, Tatú e Salto Grande ou Americana |
| 6 | Alto Tietê | Rio Tietê, Embú-Guaçu, Ribeirão Santa Rita e dos Cristais Reserv. Billings, Guarapiranga, Ponte Nova, Taiaçupeba, Pedro Beicht, Cachoeira das Graças e Pirapora |
| 7 | Baixada Santista | Rio Cubatão |
| 9 | Mogi-Guaçu | Rio Mogi-Guaçu e do Peixe |
| 10 | Sorocaba/Médio Tietê | Rio Sorocaba e Alto e Médio Tietê Reserv. Rasgão, Barra Bonita e Itupararanga |
| 11 | Ribeira do Iguape/Litoral Sul | Rio Ribeira de Iguape (tributários) e Juquiá |
| 12 | Baixo Pardo/Grande | Rio Pardo |
| 13 | Tietê/Jacaré | Rio Tietê, reserv. Bariri, Ibitinga, Lobo e tributários, córrego Monjolinho |
| 15 | Turvo/Grande | Reserv. Água Vermelha |
| 16 | Tietê/Batalha | Rio Tietê e reserv. Promissão |
| 19 | Baixo Tietê | Rio Tietê, reserv. Avanhandava e Três Irmãos |

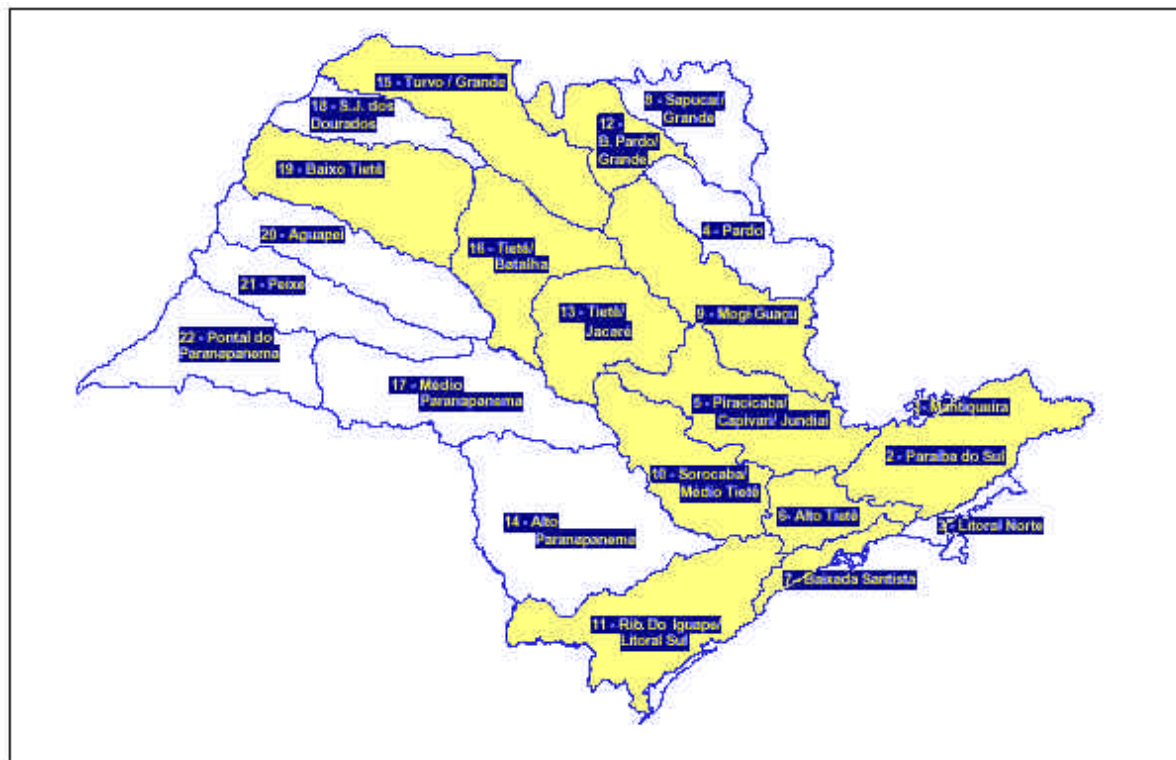


Figura 5.1. Unidades de Gerenciamento dos Recursos Hídricos (UGRHI) do Estado de São Paulo onde existem dados ecotoxicológicos.

5.3. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS SEDIMENTOS DO ESTADO DE SÃO PAULO

5.3.1. UGRHI 2 - PARAÍBA DO SUL

Os constituintes principais desta bacia são os rios Paraibuna e Paraitinga, formadores do rio Paraíba do Sul, e os rios Parateí, Jaguari e Una. Estão presentes nesta UGRHI os reservatórios de Paraibuna, Paraitinga, Santa Branca e Jaguari. Nesta área ocorre o domínio da pecuária, além de áreas cultivadas, principalmente por milho e arroz, intensiva atividade de extração de areia e grandes áreas de reflorestamento (CETESB, 2003) (Figura 5.2).

Nesta UGRHI foi determinada a qualidade do sedimento dos reservatórios Paraibuna (P1), Santa Branca (P2) e Jaguari (P3), em um estudo realizado pela CETESB (em elaboração a), em 2002 (Tabela 5.4, Figura 5.2). Nas amostras coletadas nestes reservatórios (período de seca), não foi observado efeito (crescimento e mortalidade) para *Hyalella azteca* e a comunidade bentônica foi considerada ótima no reservatório de Santa Branca, boa nos de Paraibuna e Jaguari. As análises químicas mostraram níveis baixos de contaminação para os compostos analisados (metais e organoclorados), tendo sido observadas concentrações entre TEL e PEL para chumbo e cromo nos

reservatórios de Paraibuna e Jaguari, e apenas o cromo no reservatório de Santa Branca. Esses contaminantes, no entanto, parecem não estar disponíveis, uma vez que não foi observado efeito sobre as comunidades bentônicas.

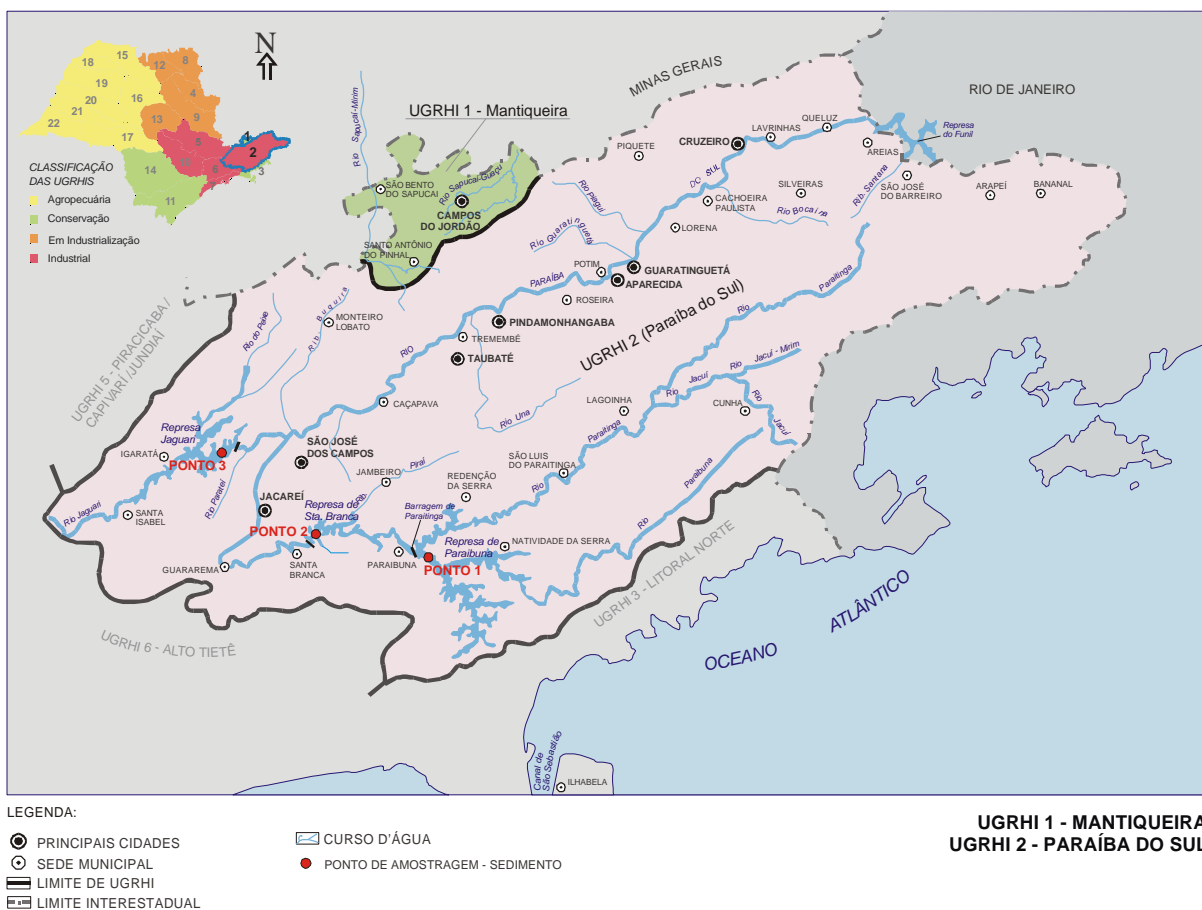


Figura 5.2. UGRHI 2 - Paraíba do Sul, com a localização dos pontos de amostragem.

Tabela 5.4. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletado na UGRHI 2 - Paraíba do Sul, entre julho e agosto de 2002, segundo as concentrações encontradas das substâncias químicas, os feitos observados nos testes ecotoxicológicos e na estrutura da comunidade bentônica (CETESB, em elaboração a).

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química ^a | Toxicidade ^b | Bentos ICB |
|-------|----------------------|---------------------------------|----------------------|-------------------------|------------|
| 1 | Represa Paraibuna | Corpo central a 2km da barragem | Pb e Cr | | |
| 2 | Represa Santa Branca | Corpo central a 2km da barragem | Cr | | |
| 3 | Represa Jaguarí | Corpo central a 2km da barragem | Pb e Cr | | |

a = As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, DDT, DDD, Clordano, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

b= testes realizados com *Hyalella azteca*; efeitos observados: mortalidade e crescimento

Ótimo  ICB = 1 Bom  não tóxico, ICB = 2 Regular  \geq TEL e \leq PEL

5.3.2. UGRHI 5 - PIRACICABA, CAPIVARÍ E JUNDIAÍ

Esta UGRHI é dividida em três bacias hidrográficas: bacia do rio Capivarí, rio Jundiaí e Piracicaba. Os principais constituintes da bacia do rio Piracicaba são os rios: Atibaia, Corumbataí, Jaguarí e Piracicaba. Nesta bacia estão localizados os reservatórios de Salto Grande ou Americana (Rio Atibaia), Atibainha, Cachoeira e Jaguarí, estes três, nos rios dos mesmos nomes. Quanto aos rios Capivarí e Jundiaí, esses são tributários da margem direita do rio Tietê, sendo que esse último no reservatório da Usina de Porto Góes, no município de Salto (CETESB, 2003) (Figura 5.3).

Dos rios localizados nesta bacia, o rio Atibaia é considerado um dos mais importantes mananciais com vistas ao abastecimento público da região, existindo ao longo desse corpo de água várias captações. Nas regiões de cabeceira predomina a atividade agrícola com aumento da atividade industrial de montante para jusante, culminando no município de Paulínia, onde existe um polo petroquímico. Dada a importância deste corpo de água, este tem sido estudado por pesquisadores e instituições com diferentes abordagens, cujos pontos de amostragem estão assinalados na figura 5.3.

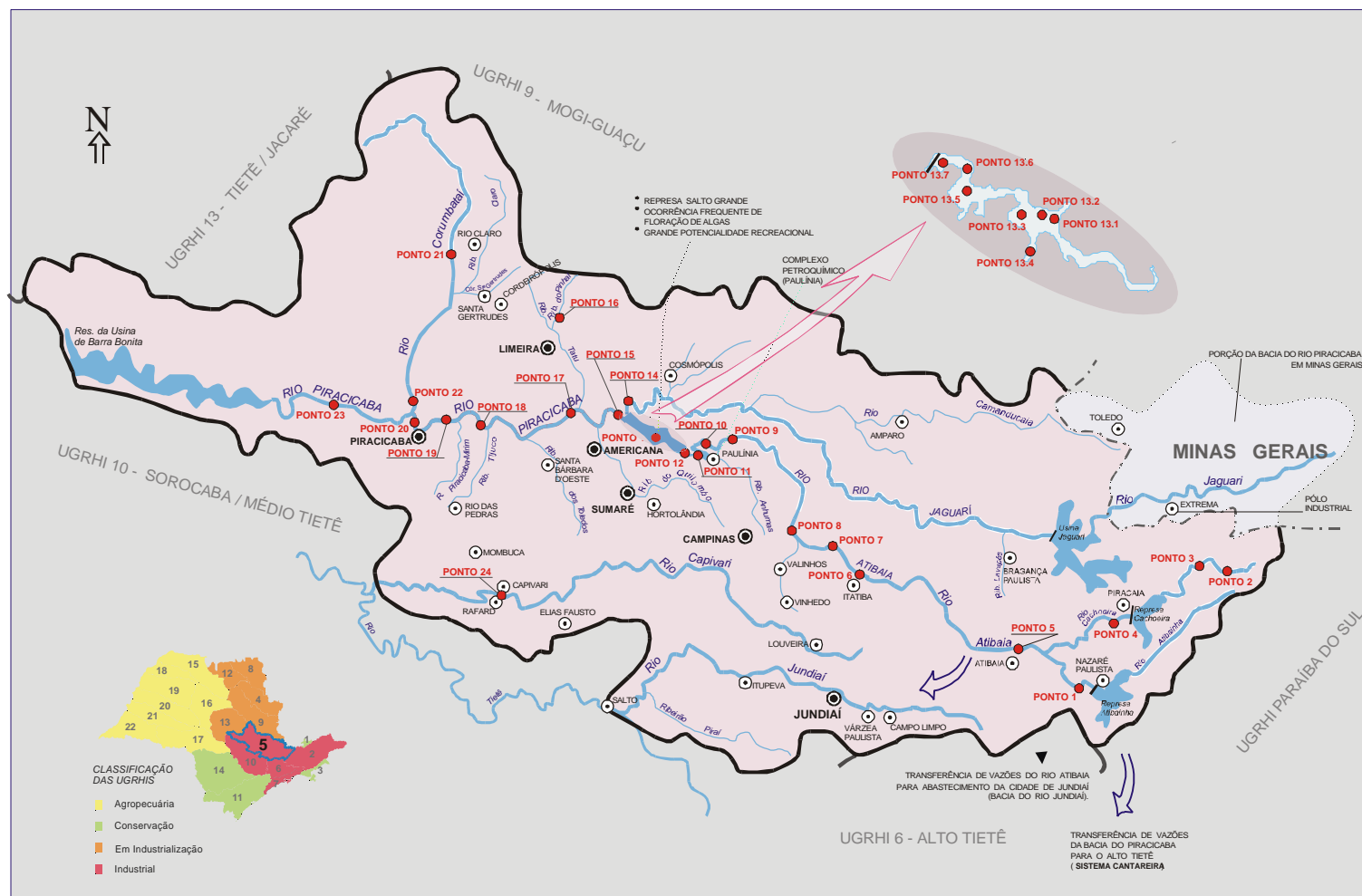


Figura 5.3. UGRHI 5 - Piracicaba, Capivarí e Jundiá, com a localização dos pontos de amostragem.

Shimizu et al. (2002) realizaram estudo em 2000 (março), que inclui o trecho inicial rio Atibaia (2 pontos) e seus formadores, Atibainha (3 pontos) e Cachoeira (3 pontos), visando o desenvolvimento ou adequação de índices para a realização de biomonitoramento múltiplo (Tabela 5.5). Assim, foram avaliadas comunidades biológicas (comunidades fitoplantônicas, zooplantônicas, perifítica, bentônica, de peixes e de vegetação perimetral), variáveis químicas e realizados testes ecotoxicológicos. Para cada ponto, foram coletas três amostras de sedimento. Com relação aos dados ecotoxicológicos, foram realizados testes de toxicidade com amostras de água com *Ceriodaphnia dubia* e sedimento com *Hyaella azteca*.

Os resultados dos testes com *Hyaella azteca* (Tabela 5.5), realizados em sistema estático e razão sedimento e água 1:4, mostraram variabilidade de efeito entre as réplicas, tendo sido considerado o resultado mais restritivo. Com relação ao ponto referência, para os testes de toxicidade foi considerado o Ponto 4 réplica 1. Desta forma, foi observado qualidade péssima nos sedimentos do rio Atibainha nos pontos localizados a jusante do reservatório de Atibainha (Ponto1), sendo que este foi considerado referência para esta bacia para as outras variáveis, junto à captação do município de Atibaia (Ponto 5), e ruim, no ponto junto à captação de Itatiba (Ponto 6).

A análise da comunidade bentônica nos pontos amostrados mostrou um gradiente de qualidade, tendo sido verificada qualidade boa e ótima nos pontos localizados nos rios Atibainha (Pontos 1 e 3) e Cachoeira (Ponto 2) e no rio Atibaia, regular (Pontos 4 e 5) e ruim (Ponto 6) (Tabela 5.5).

Quanto às análises químicas, não foram observados níveis elevados de metais (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg), PCBs e Lindano nos pontos analisados. Portanto, como foi observado efeito, tanto na comunidade como nos testes de toxicidade, considerou-se importante verificar a presença de outros possíveis contaminantes nesta região, principalmente nos Pontos 1, 5 e 6 (Tabela 5.5).

Tabela 5.5. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do rio Atibaia, em março de 2000 (SHIMIZU et al., 2002) e setembro de 2002 (CETESB, em elaboração b), segundo as concentrações encontradas das substâncias químicas, os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na estrutura da comunidade bentônica.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Shimizu et al., (2002) | | | CETESB (em elaboração b) | | | |
|-------|---------------|--|------------------------|-------------------------|------------|--------------------------|------------------------------|-------------------------|------------|
| | | | Química ^a | Toxicidade ^b | Bentos ICB | Química ^c | Mutagenicidade Teste de AMES | Toxicidade ^d | Bentos ICB |
| 1 | Rio Atibainha | A jusante da represa Atibainha, município de Nazaré Paulista (referência para a bacia). | Regular | Péssimo | Bom | Regular | Bom | Ótimo | Bom |
| 2 | Rio Cachoeira | A montante da represa Cachoeira, município de Joanópolis, montante cachoeira dos Pretos | Bom | Bom | Bom | Bom | Bom | Bom | Bom |
| 3 | Rio Cachoeira | A montante da represa Cachoeira, município de Joanópolis, próximo ao bairro dos Pretos. | Bom | Bom | Ótimo | Bom | Bom | Bom | Ótimo |
| 4 | Rio Cachoeira | A jusante do represa Cachoeira, município de Piracaia (referência para toxicidade) | Regular | Bom | Regular | Bom | Bom | Bom | Bom |
| 5 | Rio Atibaia | Município de Atibaia, junto à captação do município de Atibaia (ATIB 02010 ^e). | Cr | Péssimo | Regular | Cr | Bom | Bom | Bom |
| 6 | Rio Atibaia | Município de Atibaia, junto à captação do município de Itatiba (ATIB 02030 ^e). | Bom | Ruim | Péssimo | Bom | Bom | Bom | Regular |







a = Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, PCBs e Lindano

b = testes realizados com *Hyalella azteca*; efeitos observados: mortalidade

c = Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido e Lindano

d = testes realizados com *Hyalella azteca* (razão sedimento e água 1:2); efeitos observados: mortalidade e crescimento

e = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

| | | | |
|---------------|---|---|---|
| Não realizado |  | Ótimo |  ICB = 1 |
| Bom |  | <TEL, não tóxico, ICB =2, ausência de compostos mutagênicos | |
| Regular |  | ≥TEL e ≤PEL , efeito sub-letal (redução do crescimento), ICB =3 | |
| Ruim |  | efeito agudo na sobrevivência <50% | |
| Péssimo |  | efeito agudo na sobrevivência ≥50%, ICB = 5 | |

Nestes mesmos locais, em 2002 (setembro), foi realizada uma investigação mais detalhada, abrangendo um número maior de contaminantes, tendo sido analisados 11 organoclorados, 7 metais e avaliado a presença de compostos mutagênicos pelo teste de AMES (CETESB, em elaboração b). Porém, ao contrário do estudo anterior, os testes de toxicidade com *Hyalella azteca*, realizados em sistema semi-estático e adotando razão sedimento e água 1:2, mostraram qualidade boa nos Ponto 2 a 6 e regular no Ponto 1. As análises químicas não indicaram concentração de efeito severo para as comunidades aquáticas e o teste de AMES mostrou a ausência de compostos mutagênicos. Quanto aos resultados da análise das comunidade bentônicas verificou-se qualidade ótima no Ponto 3, regular no Ponto 6 e boa nos outros pontos amostrados (Pontos 1, 2, 4, e 5) (Tabela 5.5).

Os resultados, não coincidentes nas duas campanhas, mostraram a importância de se continuar a monitorar a qualidade dos sedimentos neste trecho do rio Atibaia, para que se possa, com mais segurança, estabelecer a sua qualidade nesses locais.

O trecho do rio Atibaia, nas proximidades da captação da água da cidade de Itatiba até a montante do reservatório de Americana (6 Pontos) foi avaliado por Araújo (1998) (Tabela 5.6). Neste estudo, realizado em novembro de 1994, verificou-se qualidade ruim para o sedimento usando *Hyalella* sp., no ponto a montante da barragem da Companhia Paulista de Força e Luz (CPFL) (Ponto 7) e qualidade péssima a jusante do conjunto de indústrias, após a confluência com o Ribeirão Anhumas (Ponto 10) e nas proximidades da captação de água de Sumaré (Ponto 12). Nestes pontos foi detectado cianeto (Ponto 7), e concentrações acima de efeito severo para níquel (Pontos 10 e 12) e zinco (Ponto 12). No ponto próximo a captação de Sumaré (Ponto 12) foi detectado também tolueno (ARAÚJO, 1998). Como os Pontos 10 e 12 apresentaram frações mais grossas (areia e areia argilosa) a toxicidade e contaminação encontradas nestes pontos foi considerada extremamente significativa pois, provavelmente, a maior parte dos contaminantes lançados neste local devem estar ligadas a pequenas quantidades de partículas finas.

Fonseca (1997), Meletti (1997) e Marroquim (2000) avaliaram a toxicidade de amostras de sedimento e água coletados em pontos próximos à captação de água de abastecimento das principais cidades da bacia do Piracicaba: três pontos no rio Piracicaba (captações de Americana, Piracicaba e futura captação de Santa Bárbara d'Oeste), dois no rio Atibaia (captações de Campinas e Sumaré), um no rio Jaguari (captação de Limeira) e um local considerado controle (Ribeirão dos Pinhais - Represa do Tatu) que desemboca no rio Jaguari, próximo a captação de Limeira. Estes locais fazem parte da rede de amostragem da CETESB para avaliação da qualidade das águas interiores do estado de São Paulo (CETESB, 2003) (Tabelas 5.6 e 5.7). Fonseca (1997) e Meletti (1997) realizaram duas campanhas ao longo de 1996 (janeiro e outubro), sendo que os testes de toxicidade de sedimento foram realizados com a água coletada no próprio de coleta (Tabelas 5.6 e 5.7).

Tabela 5.6. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do rio Atibaia, em novembro de 1994 (ARAÚJO, 1998), janeiro, outubro (FONSECA, 1997, MELETTI, 1997) e maio de 1996 (MELETTI, 1997), setembro de 1999 (MARROQUIM, 2000), segundo as concentrações encontradas das substâncias químicas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Araújo (1998) | | Fonseca (1997) | | | Meletti (1997) | | | Marroquim (2000) |
|-------|---------------|---|----------------------|---|-------------------------|----------------------|-------------------|---|----------------------|---|---|
| | | | Química ^a | Toxicidade ^b <i>Hyalellasp.</i> | Toxicidade ^b | | | Toxicidade ^b | | | Toxicidade ^c <i>Hyalellasp.</i> |
| | | | | | <i>C. xanthus</i> | <i>C. silvestrii</i> | <i>D. similis</i> | <i>P. scrofa</i> <i>H. bifasciatus</i> | <i>P. reticulata</i> | <i>C. stenodon</i> <i>in situ</i> e lab. | |
| 6 | Rio Atibaia | Município de Atibaia, junto à captação do município de Itatiba (ATIB 02030 ^d) | Pb, Ni, Zn | | | | | | | | |
| 7 | Rio Atibaia | A montante da barragem da Companhia de Força e Luz (CPFL) | Pb, Ni | | | | | | | | |
| 8 | Rio Atibaia | Nas proximidades da captação de água de Campinas (SANASA) (ATIB02065 ^d) | Cu, Cr, Ni, Zn | | | | | | | | |
| 9 | Rio Atibaia | A montante do complexo Rhodia (ATIB 02300 ^d) | Pb, Cu, Cr, Ni, Zn | | | | | | | | |
| 10 | Rio Atibaia | A jusante do conjunto de indústrias, após a confluência com o ribeirão Anhumas | As, Cu, Cr, Zn Ni | | | | | | | | |
| 12 | Rio Atibaia | Nas proximidades da captação de água de Sumaré (ATIB02800 ^d) | Pb, Cu, Cr Ni, Zn | | | | | | | | |

a = As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni e Zn

c = efeitos observados: mortalidade e crescimento

b = efeito observado: mortalidade

d = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Não realizado



Regular

≥TEL e ≤PEL

Péssimo

efeito agudo na sobrevivência ≥50%

Bom



não tóxico

Ruim



> PEL , efeito agudo na sobrevivência <50%,

Tabela 5.7. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos de amostras coletadas na bacia do rio Piracicaba, em janeiro, outubro (FONSECA, 1997, MELETTI, 1997) e maio de 1996 (MELETTI, 1997), em abril e junho de 1999 (COSTA, 2001) e setembro de 1999 (MARROQUIM, 2000), segundo as os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Fonseca (1997) | | | Meletti (1997) | | | | Marroquim, (2000) | Costa e Espíndola (2000) |
|-------|-----------------|---|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| | | | <i>C. xanthus</i> ^a | <i>C. silvestrii</i> ^a | <i>D. similis</i> ^a | <i>P. reticulata</i> ^a | <i>H. bifasciatus</i> ^a | <i>C. stenodon</i> ^a | <i>P. scrofa</i> ^a | <i>Hyalella</i> sp. ^b | <i>C. silvestrii</i> ^c |
| 14 | Rio Jaguari | captação de Limeira (JAGB02800 ^d) | | | | | | | | | |
| 15 | Rio Piracicaba | captação de Americana (PCAB02100 ^d) | | | | | | | | | |
| 16 | Represa do Tatú | captação de Limeira (referência) (PIAL 02900 ^d) | | | | | | | | | |
| 18 | Rio Piracicaba | futura captação St. Bárbara d'Oeste(PCAB02192 ^d) | | | | | | | | | |
| 19 | Rio Piracicaba | captação de Piracicaba (PCAB02220 ^d) | | | | | | | | | |
| 20 | Rio Piracicaba | na cidade de Piracicaba (PCB 02300 ^d) | | | | | | | | | |
| 22 | Rio Corumbataí | antes da confluência com o rio Piracicaba (CRUM 2900 ^d) | | | | | | | | | |
| 23 | Rio Piracicaba | na cidade de Artemis (PCAB 02800 ^d) | | | | | | | | | |
| 24 | Rio Capivari | entre as cidades de Capivari e Rafard | | | | | | | | | |

a = teste de toxicidade aguda; efeito observado: mortalidade

b = teste com duração de 10 dias; efeitos observados: mortalidade e crescimento

c = teste de toxicidade crônica; efeitos observados: reprodução e mortalidade

d = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

e = teste *in situ* e em condições de laboratório

Não realizado



Regular



Péssimo



Bom



Ruim



não tóxico

efeito agudo na sobrevivência <50%

Fonseca (1997) realizou testes de toxicidade aguda e crônica com sedimento e água com *Chironomus xanthus*, *Daphnia similis*, *Daphnia silvestrii* e *Ceriodaphnia silvestrii*. Porém, como na água foi observado efeito crônico no crescimento, reprodução, fecundidade e/ou sobrevivência, para pelo menos uma espécie (*Daphnia similis*, *Daphnia silvestrii* e *Ceriodaphnia silvestrii*), considerou-se apenas os resultados dos testes de toxicidade aguda com sedimento realizados com *C. xanthus* (96h), *D. similis* (48h) e *C. silvestrii* (48h). Os resultados dos testes realizados mostraram qualidade péssima no rio Atibaia, nas proximidades da captação de Sumaré (Ponto 12), para as três espécies testadas e apenas para *C. xanthus* nos pontos próximos à captação de Campinas (Ponto 8) e Santa Bárbara d'Oeste (Ponto 18) (Tabelas 5.6 e 5.7). Foi observada qualidade ruim para os sedimentos coletados no rio Jaguari na captação de Limeira (Ponto 14) e péssima no rio Piracicaba, na captação de Americana (Ponto 15), nos testes realizados com *C. xanthus* (Tabela 5.7).

Meletti (1997) realizou testes de toxicidade aguda com água e sedimento em laboratório, com as seguintes espécies de peixe: *Prochilodus scrofa* (cultivado em laboratório); *Hyphessobrycon bifasciatus*, *Cheirodon stenodon*, *Poecilia reticulata* (coletadas na natureza). Com a espécie *Cheirodon stenodon* foram realizados também testes *in situ*.

Foi observada qualidade péssima nos sedimentos coletados no rio Atibaia, nas proximidades da captação de Sumaré (Ponto 12), para três das quatro espécies-teste, ou seja *Prochilodus scrofa*, *Hyphessobrycon bifasciatus* e *Cheirodon stenodon*. Os testes em campo realizados com a espécie *Cheirodon stenodon*, confirmaram os resultados dos testes em laboratório (Tabela 5.6). Nos rios Jaguari (Ponto 14) e Piracicaba, na futura captação de Santa Barbara d'Oeste (Ponto 18), foi verificada qualidade ruim para os sedimentos apenas nos testes realizados, respectivamente, com *P. reticulata* e *P. scrofa* (Tabela 5.7).

Marroquim (2000) avaliou a toxicidade de sedimento, coletadas em setembro de 1999, utilizando como organismo teste *Hyalella* sp. O critério de avaliação foi crescimento e mortalidade. Os resultados obtidos mostraram qualidade péssima para os sedimentos do rio Atibaia, na captação de Sumaré (P12) e do rio Piracicaba, na captação de Piracicaba (P19) (Tabelas 5.6 e 5.7).

Costa e Espíndola (2000) realizaram um estudo em 14 pontos localizados em tributários do reservatório de Barra Bonita, sendo que as amostras foram coletadas em abril e junho de 1999. Dentre os pontos estudados quatro estão localizados nesta UGRHI, dois no rio Piracicaba (na cidade de Piracicaba e Artemis) (Pontos 20 e 23), um no rio Corumbataí (a montante da confluência com o rio Piracicaba) (Ponto 22) e um no rio Capivari (entre as cidades de Capivari e Rafard) (Ponto 24)

(Tabela 5.7). Neste estudo, foi avaliada a toxicidade de água e sedimento, com as espécies *Ceriodaphnia silvestrii* e *Ceriodaphnia dubia*, assim como análises físicas e químicas (metais biodisponíveis, nutrientes, granulometria, dentre outras variáveis) nestes dois compartimentos. Os testes de toxicidade de sedimento foram realizados utilizando água do próprio local de coleta. Os resultados apresentados na tabela 5.7 correspondem aos obtidos na campanha de abril de 1999, pois em junho foi observada toxicidade crônica em muitas das amostras de água. Verifica-se que todos os pontos apresentaram qualidade regular para *C. silvestrii* e *C. dubia*, exceto no ponto localizado no rio Piracicaba, na cidade de Piracicaba (Ponto 20) (Tabela 5.7).

O reservatório Salto Grande, também denominado Americana (Coelho, 1993 apud Espíndola et al., 2004), pode ser dividido em três compartimentos com diferentes profundidades, em função da sua batimetria de fundo. O primeiro é denominado “Minipantanal”, o segundo localiza-se entre Saltinho e Salto do Foguete e o terceiro de Salto do Foguete até a barragem. Suas águas são utilizadas para regularizar a vazão do rio Piracicaba, além de irrigação, piscicultura, recreação e abastecimento (ESPÍNDOLA et al., 2004).

Espíndola et al. (1998), Tonissi e Espíndola (2000), Pamplin (1999) e Dornfeld (2002) realizaram estudos ecotoxicológicos e limnológicos (DORNFELD, 2002; ESPÍNDOLA et al., 1998), levantamento da comunidade bentônica (PAMPLIN, 1999) e bioacumulação de metais em organismos bentônicos (DORNFELD, 2002) no reservatório de Salto Grande. Os estudos ecotoxicológicos realizados nesse reservatório foram sintetizados por Tonissi et al. (2004). Foram avaliados 6 pontos localizados ao longo do corpo central do reservatório (Pontos 13.1 a 13.3, Ponto 13.5 a 13.7), em um dos braços (Ponto 13.4) e a montante no rio Atibaia, próximo à captação de Sumaré (Ponto 12), no período de fevereiro de 1997 a fevereiro de 2001, com coletas no período de chuva e seca (Figura 5.3 e Tabela 5.8).

As análises químicas mostraram concentrações, acima do qual é esperado efeito freqüentemente sobre os organismos aquáticos, principalmente para cádmio nos pontos mais próximos da barragem (ESPÍNDOLA et al., 1998; DORNFELD, 2002) (Tabela 5.8). No entanto, é importante enfatizar que os sedimentos, tanto no reservatório como no rio Atibaia (P12), apresentaram, de forma geral, predominância da fração areia e argila e elevada concentração de nitrogênio e fósforo e matéria orgânica (>10%) (ESPÍNDOLA et al., 1998; PAMPLIN, 1999). Portanto, esses sedimentos apresentam capacidade potencial de associação com metais e outros contaminantes.

Com relação aos testes de toxicidade realizados com diferentes organismos e condições (laboratório e *in situ*, com peixes), verificou-se que o ponto mais crítico foi o localizado no rio Atibaia, na captação de Sumaré (Ponto 12), com qualidade péssima, ou seja efeito na mortalidade dos organismos acima de 50%, para mais do que uma espécie. Nos pontos localizados no reservatório verificou-se qualidade ruim e péssima, em pelo menos uma ocasião, para uma das espécies testadas (Tabela 5.8).

Dornfeld et al. (2004) constatou alterações na composição e na densidade da comunidade bentônica desse reservatório ao longo do tempo, sendo uma das principais causas apontadas a eutrofização e a poluição orgânica. Dornfeld (2002) verificou também que alguns metais presentes no sedimento (cádmio, cobre, ferro, magnésio, manganês e chumbo) tendem a se bioacumular na comunidade bentônica.

Paschoal (2002) verificou que os sedimentos coletados nos pontos localizados no segundo compartimento, na porção final e na área de estreitamento deste reservatório, são ácidos com pH entre 4,3 e 7,2) no Ponto 6 e entre 4,9 e 6,9 no Ponto 7, anóxicos ou com baixas concentrações de oxigênio (0,0 a 2,7 mg/L O₂), potencial redox com valores negativos altos (-362 a -398 mV) e concentrações elevadas de sulfetos (1570 a 2473 mg/kg AVS).

Neste reservatório, como em outros que recebem também elevada carga de material alóctone, é observada a presença de áreas cobertas por diferentes espécies de plantas aquáticas. O processo de decomposição desta biomassa devolve os nutrientes e metais acumulados para o ambiente com o consumo de oxigênio, resultando num potencial redox com valores negativos altos. Este processo gera sulfetos que ligam-se aos metais presentes na água intersticial formando compostos insolúveis (SILVÉRIO, 1999, 2003). No entanto, segundo Silvério (1999), os metais podem ser liberados dos sedimentos em consequência de mudanças nas condições ambientais (bioturbação, ação dos ventos), provocando processos de oxidações bioquímicas. Nesses casos, pode ocorrer acidificação do meio, aumentando a solubilidade dos metais, que passariam para a forma aquosa livre. Como a forma livre é a menos estável, tenderia a reprecipitar, readsorver ou recomplexar. Esta autora postula que estas formas, sendo mais lábeis, estariam mais disponíveis nos sedimentos aquáticos, portanto, poderiam acarretar efeitos para os organismos aquáticos.

Paschoal (2002) e Paschoal et al. (2003), realizando estudo para a avaliação e identificação da toxicidade (AIT) dos sedimentos do reservatório de Salto Grande confirmaram os pressupostos acima mencionados. A solubilização do sedimento para a obtenção da fase aquosa, para a realização






Tabela 5.8. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do rio Atibaia e no reservatório de Salto Grande, no período de fevereiro de 1997 a fevereiro de 2001, com coletas no período de chuva e seca (fevereiro, março, maio, junho, setembro, outubro, novembro, de 1997 e janeiro de 1998, ESPÍNDOLA et al, 1998; agosto de 1998 e maio de 1999, PAMPLIN, 1999; julho de 1998 e março de 1999, TONISSI; ESPÍNDOLA, 2000; maio, agosto, novembro de 2000 e fevereiro de 2001, DORNFELD, 2002), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos.

| Ponto | Localização | Espíndola et al. (1998) | | Pamplin (1999) | | Tonissi e Espíndola (2000) | | Dornfeld (2002) | | | |
|-------|---|--------------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|------------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------|
| | | Química ^a | Toxicidade ^b | | Toxicidade ^b | | Toxicidade ^b | | Química ^a | Toxicidade ^b | |
| | | | <i>D. similis</i> | <i>M. intermedia</i> | <i>C. xanthus</i> | <i>H. eques</i> | <i>D. rerio in situ</i> | <i>D. rerio Lab. (larva)</i> | | <i>C. xanthus</i> | <i>D. similis</i> |
| 12 | Rio Atibaia, próximo captação Sumaré (ATIB 02650 ^c) | Cd, Cu, Cr, Pb Ni, Zn | | | | | | | Cr | | |
| 13.1 | Reservatório Salto Grande | | | | | | | | Cd, Cu, Pb, Zn Cr | | |
| 13.2 | Reservatório Salto Grande | Cd, Cu, Pb, Zn Ni | | | | | | | | | |
| 13.3 | Reservatório Salto Grande | Cu, Ni Cd | | | | | | | Cu, Cr, Pb, Zn Cd | | |
| 13.4 | Reservatório Salto Grande | | | | | | | | | | |
| 13.5 | Reservatório Salto Grande | Ni Cd | | | | | | | Cu, Pb, Cr Cd | | |
| 13.6 | Reservatório Salto Grande | Cu, Ni Cd | | | | | | | Cu, Pb, Cr Cd | | |
| 13.7 | Reservatório Salto Grande | | | | | | | | | | |

a = Cd, Pb, Cu, Cr, Ni e Zn

b = efeito observado nos testes de toxicidade: mortalidade

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

| | | | | |
|---------------|---|------|--|---|
| Não realizado |  | Bom |  | não tóxico |
| Regular |  ≥TEL e ≤PEL | Ruim |  | > PEL , efeito agudo na sobrevivência <50%, |
| Péssimo |  | | | efeito agudo na sobrevivência ≥50% |

dos testes de toxicidade nos estudos de AIT, mostrou uma acidificação acentuada, tendo-se obtido valores de pH em torno de 3 a 4. A acidez observada foi provocada pela oxigenação do sedimento no processo de obtenção do solubilizado, o que deve ter provocado a liberação dos metais para a fase aquosa, imobilizados na forma de sulfetos insolúveis no sedimento inicialmente anóxico. Portanto, a ressuspensão destes sedimentos em contato com uma coluna de água oxigenada, os sulfetos metálicos podem ser oxidados, provocando a formação de formas oxidadas de enxofre e liberando o metal associado para a coluna de água e íons hidrogênio. Essa acidez foi apontada como uma das causas da toxicidade observada nos sedimentos e fator indutor de reações de remobilização de contaminantes, especialmente metais.

Porém, é preciso enfatizar que no ambiente natural este metal liberado pode ser rapidamente removido da coluna por adsorção/complexação na superfície dos óxi-hidróxidos de ferro, manganês ou alumínio, ou se complexar com a matéria orgânica (SILVÉRIO, 1999), como já foi anteriormente citado.

No rio Atibaia, a CETESB possui um ponto de coleta a jusante do lançamento da Societal, antiga Shell (ATIB 09605 em CETESB, 2003 e ATIB 02605 em CETESB, 2004) (Tabela 5.9). Esse ponto foi selecionado por ser representativo das cargas difusas da região metropolitana de Campinas (CETESB, 2002). Nesse trecho do rio, foi observado por dois anos consecutivos, qualidade ruim para *Hyalella azteca* e índice regular para a comunidade bentônica (CETESB, 2003, 2004), não tendo sido observada deformidade do mento em *Chironomus* no ano de 2002 (CETESB, 2003). Quanto à contaminação química, apenas os metais ultrapassaram os limites de início de efeito em 2002 e, em 2003, o zinco ultrapassou o de efeito severo. Os efeitos observados, no entanto, podem não estar sendo causados apenas por estes contaminantes, mas também devido à presença de esgoto doméstico ou outros não pesquisados. Neste local também não foi detectada atividade mutagênica pelo teste de AMES em sedimento, indicando que substâncias orgânicas como aminas aromáticas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos não estão presentes em concentrações que possam causar alteração no material genético de organismos expostos.

No rio Piracicaba, a CETESB avalia a qualidade dos sedimento em um ponto localizado a cerca de 300m a jusante do rio Tatú (PCAB 09135 em CETESB, 2003 e PCAB 02135 em CETESB, 2004) (Ponto 17, Tabela 5.9). Os resultados dos testes de toxicidade evidenciaram qualidade ruim e regular nos anos 2002 e 2003, respectivamente. Quanto aos dados da comunidade bentônica, nos dois anos foi observado qualidade regular e, pelas análises químicas, constatou-se concentrações elevadas para o zinco, apenas em 2003, capazes de causar efeitos deletérios para as comunidades

aquáticas. Foi detectada também elevada incidência de deformidade em mento de larvas de *Chironomus*, porém, em 2003, o diagnóstico não foi conclusivo, tendo sido recomendado um estudo específico neste local. O teste de AMES também não detectou, tanto em 2002 como em 2003, a presença de compostos orgânicos como aminas aromáticas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em concentrações que possam causar alteração no material genético de organismos expostos. Assim, os efeitos observados podem não estar sendo causados apenas por estes contaminantes, mas também devido a presença de esgoto doméstico ou outros não pesquisados.

O rio Corumbataí conta com um ponto de amostragem da rede de monitoramento de sedimento da CETESB (CRUM, 09200 em CETESB, 2003 e CRUM 02190 em CETESB 2004) (Ponto 21, Tabela 5.9). Neste trecho do rio, a qualidade da comunidade foi regular em 2002 e boa em 2003, mas não foi detectado nenhum contaminante em concentração superior àquela que poderia causar efeito deletério para as comunidades aquáticas, apenas cromo e níquel, em 2002, ultrapassaram os níveis em que é esperado ocasionalmente efeito para as comunidades aquáticas.

No entanto, é importante ressaltar que estes sedimentos apresentam predominância da fração areia, baixo valores de resíduo volátil e de sulfetos voláteis, sendo caracterizado como tipicamente arenoso, inorgânico e oxidante, ou seja, com pequeno poder de associação com metais e outros contaminantes. Não foi observada toxicidade para *Hyalella azteca* e presença de compostos orgânicos como aminas aromáticas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em concentrações que possam causar alteração no material genético de organismos expostos (CETESB, 2003, 2004). O resultado de deformidade, embora positivo (4%) foi próximo à frequência observada em ambientes não impactados (3%) (CETESB, 2004). Como a montante deste local existe um complexo de indústria cerâmica (Santa Gertrudes), o local estudado pode não estar refletindo a contribuição do material fino proveniente desta atividade, pois o sedimento se mostrou predominantemente arenoso, provavelmente devido ao padrão de velocidade das águas do rio neste trecho.

A análise da qualidade do sedimento da represa de Barra Bonita será discutida no item referente a UGRHI 10, para facilitar a compreensão deste ambiente como um todo.

Verifica-se que, na UGRHI 5, o ponto mais crítico é o trecho do rio Atibaia, próximo à captação de Sumaré e o reservatório de Salto Grande, pois foi observada toxicidade aguda para a maioria dos organismos testados. Desta forma, considera-se importante que nesses locais seja realizado um levantamento, analisando outras linhas de evidências, ou seja contaminantes orgânicos, teste de mutagenicidade, análise da comunidade bentônica e deformidade em bentos.






Tabela 5.9. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do rio Atibaia, em junho de 2002 e agosto de 2003 (CETESB, 2003, 2004), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas, os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química ^a | | Mutagenicidade Teste de Ames | | Toxicidade <i>Hyalella azteca</i> ^b | | Deformidade <i>Chironomus</i> | | Bentos ICB | |
|-------|----------------|---|----------------------|------------------|---------------------------------|------------------|---|------------------|----------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | | CETESB (2003) | CETESB (2004) | CETESB (2003) | CETESB (2004) | CETESB (2003) | CETESB (2004) | CETESB (2003) | CETESB (2004) | CETESB (2003) | CETESB (2004) |
| 11 | Rio Atibaia | a jusante do lançamento da Societal S/A, antiga Shell (ATIB 2605 ^c) | Cd, Pb, Cu, Zn | Cu, Cr, Ni Zn | | | | | | | | |
| 17 | Rio Piracicaba | a jusante do ribeirão do Tatú (PCAB 02130 ^c) | | Cu, Cr, Ni Zn | | | | | | | | |
| 21 | Rio Corumbataí | na fazenda São José, no bairro Assistência, em Rio Claro (CRUM 02190 ^c) | Cr | | | | | | | | | |

a = CETESB, 2003 e 2004: Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, DDT, DDD, Clordano, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

b = efeitos observados: mortalidade e crescimento

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

| | | | | | |
|---------------|---|--|---|---|--|
| Não realizado |  | Bom |  | ausência de compostos mutagênicos, <TEL, não tóxico, ICB =2 | |
| Regular |  | \geq TEL e \leq PEL , efeito sub-letal (redução do crescimento) , ICB =3 | Ruim |  | > PEL , efeito agudo na sobrevivência <50% |
| Péssimo |  | efeito agudo na sobrevivência \geq 50% | | | |

5.3.3 UGRHI 6 - ALTO TIETÊ

Esta UGRHI abrange a parte superior do rio Tietê, desde as suas cabeceiras até a barragem do reservatório de Pirapora, sendo dividida, de acordo com as bacias hidrográficas, em cinco sub-unidades: do Alto Tietê – Cabeceiras; Billings; Guarapiranga; Cotia e Alto Tietê – Zona metropolitana. Esta unidade caracteriza-se pela presença de atividades de uso do solo tão complexas quanto diversificadas. Na área das cabeceiras do rio Tietê predominam a produção hortifrutigrangeira, a silvicultura e a mineração de não metálicos para a construção civil. A produção industrial tem maior expressão nos municípios de Santo André, São Bernardo, São Caetano, Diadema, Mauá e Guarulhos (CETESB, 2003).

A bacia do Alto Tietê – cabeceiras engloba o rio Tietê desde a sua nascente até as proximidades da cidade de São Paulo, na divisa com o município de Itaquacetuba, e seus tributários, rios Claro, Paraitinga, Biritiba-Mirim e Taiaçupeba. Nesta sub-unidade estão os reservatórios Ribeirão do Campo (rios Claro e Guaratuba), Ponte Nova (rio Tietê), Paraitinga (rio Paraitinga), Biritiba (rio Biritiba-Mirim), Jundiá (rio Jundiá) e Taiaçupeba (rio Taiaçupeba-Mirim) (Figura 5.4).

No levantamento realizado em dois pontos no reservatório de Ponte Nova (no corpo central próximo à barragem, Ponto 1.1 e no braço do Rio Claro, no meio do braço, Ponto 1.2.), em março de 1997 e agosto de 1998, não foi observado toxicidade para *Hyalella* sp. e as concentração dos metais Cd, Pb, Cr e DDE estiveram entre TEL e PEL. Foi detectado também a presença de Lindano, PCBs, hexacloro benzeno, TDE (também denominado DDD), BHC e até DDT no corpo central (CETESB; SABESP, 1998) (Tabela 5.10). Nesses locais foram verificadas elevadas concentrações de carbono, nitrogênio e fósforo, indicando aporte de matéria orgânica e fertilizantes nestes corpos de água. Considerou-se também que nesses pontos os metais estariam complexados com ácidos húmicos, provenientes da degradação da matéria orgânica de origem autóctone (CETESB; SABESP, 1998).

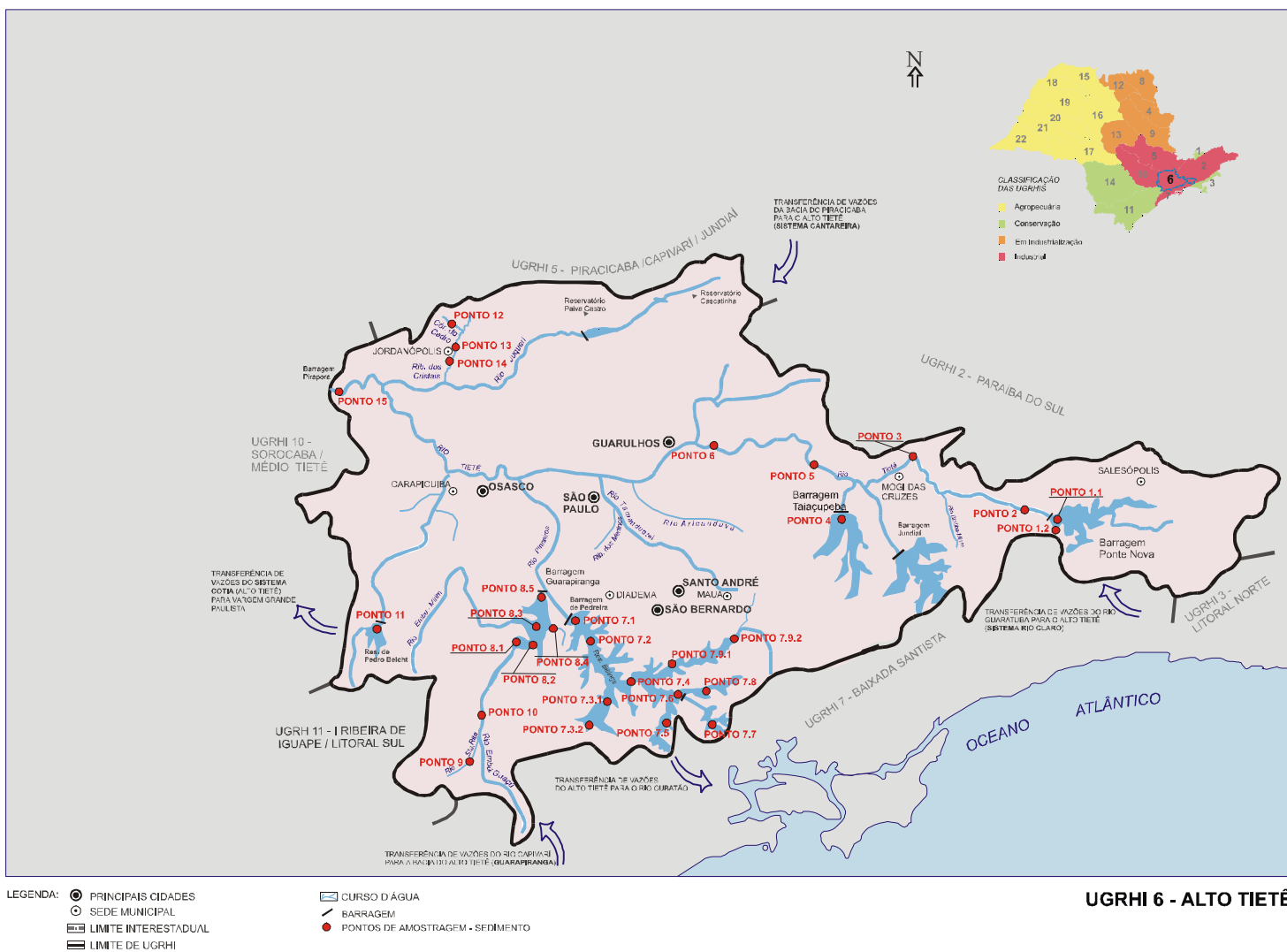


Figura 5.4. UGRHI 6 – Alto Tietê, com a localização dos pontos de amostragem.

Tabela 5.10. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados nos reservatórios de Ponte Nova e Taiaçupeba, em março de 1997 e agosto de 1998 (CETESB; SABESP, 1998), julho de 1997 e junho de 1998 (COELHO-BOTELHO et al., em elaboração) e junho de 2002 e agosto 2003 (CETESB, 2003, 2004), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas, os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade | Química ^a | | | | Toxicidade | | | | Bentos | |
|-------|-----------------|--|----------------|----------------------|----------------------------------|----------------------|---------------|------------------------------|----------------------------------|---------------|---------------|----------------------------------|---------------|
| | | | Teste de AMES | | | | | <i>Hyalella</i> ^b | | | | ICB | |
| | | | CETESB (2004) | CETESB/SABESP(1998) | Coelho-Botelho et al. (em elab.) | Mozeto et al. (2003) | CETESB (2004) | CETESB/SABESP(1998) | Coelho-Botelho et al. (em elab.) | CETESB (2003) | CETESB (2004) | Coelho-Botelho et al. (em elab.) | CETESB (2004) |
| 1.1 | Res. Ponte Nova | perto da barragem (NOVA00800 ^c) | | Cd, Pb, Cr, DDE | Pb, DDE | As, Cr, Ni, Pb | Cr, Lindane | | | | | | |
| 1.2 | Res. Ponte Nova | braço do rio Claro | | Cd, Pb, DDE | | | | | | | | | |
| 4 | Res. Taiaçupeba | perto da barragem (PEBA 00900 ^c) | | | | | Cu, DDE Zn | | | | | | |

a = CETESB; SABESP, 1998 = As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, DDT, DDD, Lindano e PCBs

Coelho-Botelho et al. (em elaboração) = Cd, Pb, Cu, Hg, Ni, Zn, BHC, DDE, DDD, Lindano e PCBs

Mozeto et al., 2003 = As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn

CETESB, 2003, 2004 = Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, DDT, DDD, Clordano, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

b = CETESB; SABESP, 1998: testes realizados com *Hyalella* sp.; efeitos observados: mortalidade

Coelho-Botelho et al., em elaboração; CETESB, 2003, 2004: testes realizados com *Hyalella azteca*; efeitos observados: mortalidade e crescimento

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Não realizado



Regular



>TEL e <PEL, ICB = 3

Péssimo



efeito agudo na sobrevivência ≥50%

Bom



Ruim



> PEL

ausência de compostos mutagênicos, não tóxico, ICB = 2

Em um estudo realizado para desenvolver índices para o biomonitoramento de reservatórios (COELHO-BOTELHO et al., em elaboração), verificaram nos sedimentos deste reservatório, coletados a cerca de 2km da barragem, concentrações entre TEL e PEL para Pb e DDE em junho de 1997 e julho de 1998. Estes sedimentos não apresentaram toxicidade para *Hyalella sp.*, porém apresentaram comunidades bentônicas boa a regular. No corpo central, o empobrecimento da comunidade deve estar relacionado com causas naturais (anoxia de fundo).

Dentro do projeto QualiSed o pesquisador Marcos R. L. Nascimento realizou um estudo para a determinação de valores de referência para metais e metalóides em sedimentos, para a bacia do Rio Tietê. Para a região do Alto-Tietê, foram analisados sedimentos de rios e reservatórios, dentre eles o do reservatório de Ponte Nova (MOZETO et al., 2003). Para cada uma das variáveis foram realizadas 7 a 8 determinações, cujos resultados mostraram concentrações entre TEL e PEL para arsênio, cromo, níquel e chumbo.

A qualidade da água e do sedimento do reservatório de Ponte Nova é monitorada pela CETESB (2004) (Tabela 5.10), sendo que o ponto de coleta está localizado próximo da barragem (Ponto1.1). Com relação ao sedimento, não foram observados efeitos tóxicos e mutagênicos, mas a concentração de cromo e Lindano conferiram qualidade regular a este ambiente, e a comunidade bentônica, como já tinha sido constatado no levantamento anterior, mostrou-se empobrecida, dominada por organismo de tolerância incerta. Dados de outros estudos mostram que este reservatório exibe estratificação por tempo prolongado, o que impediria a instalação e desenvolvimento de uma comunidade diversificada. Assim, o diagnóstico do bentos (regular) não necessariamente estaria refletindo efeito biológico devido à contaminação, mas sim variáveis naturais para este ambiente. Além disto, como já foi citado, os dados obtidos mostram que a fração orgânica estaria controlando os contaminantes, atenuando a biodisponibilidade para os organismos. No entanto, apesar de não terem sido encontradas concentrações elevadas de contaminantes, considera-se importante que sejam verificadas as fontes de chumbo, cromo e pesticidas clorados (DDE e Lindano) neste corpo de água, uma vez que este reservatório está localizado em área de proteção ambiental.

Não foi encontrada contaminação por metais no rio Tietê, em Biritiba-Mirim (Ponto 2), no levantamento realizado em 1994 (ARAÚJO, 1998) (Tabela 5.11). No entanto, verificaram-se, nos levantamentos realizados em 1997/1998 (CETESB; SABESP, 1998) e em 1998 (CETESB, 2000) valores entre TEL e PEL para o cádmio, além da presença de DDE, PCBs, DDT e Hexaclorobenzeno (CETESB; SABESP, 1998; CETESB, 2000) (Tabela 5.12). Em 2003, foi verificado concentrações

entre TEL e PEL para PCBs e DDE (CETESB, 2004). A comunidade bentônica apresentou-se diversificada, com presença de elementos sensíveis à degradação ambiental produzida por poluentes (CETESB; SABESP, 1998; IMBIMBO, 2001; CETESB, 2000), exceto no levantamento realizado pela CETESB (2000), mostrou qualidade regular na coleta realizada no período das chuvas (fevereiro), provavelmente decorrente da perda de organismo por arraste durante o período de fluxo mais intenso. Com relação à toxicidade, não foi observado efeito para *Hyalella* sp. (ARAÚJO, 1998; CETESB; SABESP, 1998, CETESB, 2000) (Tabela 5.11 e 5.12). Este ponto, avaliado na rede de monitoramento da CETESB, com a denominação TIET 09800, em 2002 e TIET 02050, em 2003, não apresentou toxicidade para *Hyalella azteca*, compostos mutagênicos, e a comunidade bentônica foi considerada ótima, porém observou-se a presença de PCBs e DDE em concentrações entre TEL e PEL (CETESB, 2004) (Tabela 5.15). A granulometria foi predominantemente arenosa e o valor de sulfetos bastante baixo, típico de ambientes óxidos (CETESB, 2004). Apesar de não ter sido observado nenhum efeito, considera-se importante verificar as possíveis fontes desses contaminantes (organoclorados e PCBs) neste trecho do rio.

Tabela 5.11. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no rio Tietê, em setembro de 1995 (ARAÚJO, 1998), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Araújo (1998) | |
|-------|---------------|--|-----------------------|---|
| | | | Química ^a | Toxicidade <i>Hyalella</i> sp. ^b |
| 2 | Rio Tietê | em Biritiba Mirim próximo à captação de água (TIET 02050 ^c) | | |
| 3 | Rio Tietê | em Mogi das Cruzes, próximo à captação da SEMAE (TIET 02090 ^c) | Cr | |
| 5 | Rio Tietê | em Suzano, em frente à captação de água da empresa Hoescht do Brasil | Cd, Pb, Cu e Hg Zn | |
| 6 | Rio Tietê | em São Miguel Paulista, próximo à captação de água da empresa Nitroquímica | Pb, Cu, Hg e Zn | |

a = Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Zn

b = efeito observado: mortalidade

c= denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Bom  <TEL, não tóxico

Regular  ≥TEL e ≤PEL

Ruim  > PEL, efeito agudo na sobrevivência <50%,


Péssimo  efeito agudo na sobrevivência ≥50%

Tabela 5.12. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no rio Tietê, em Biritiba Mirim, em março de 1997 e agosto de 1998 (CETESB; SABESP, 1998), março e julho de 1998 (CETESB, 2000), junho de 2002 e agosto 2003 (CETESB, 2003, 2004), segundo os resultados dos testes de mutagenicidade, as concentrações das substâncias químicas encontradas, os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade Teste de AMES | | Química ^a | | | | Toxicidade ^b | | | | Bentos ICB | |
|-------|---------------|---|---------------------------------|------------------|-------------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | | CETESB (2003) | CETESB (2004) | CETESB/ SABESP(1998) | CETESB (2000) | CETESB (2003) | CETESB (2004) | CETESB/ SABESP(1998) | CETESB (2000) | CETESB (2003) | CETESB (2004) | CETESB (2000) | CETESB (2004) |
| 2 | Rio Tietê | em Biritiba Mirim (TIET 02050 ^c) | | | Cd | Cd | | PCBs e DDE | | | | | | |

a = CETESB; SABESP, 1998: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, DDT, DDD, Lindano e PCBs

CETESB, 2000: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, DDT, Lindano e PCBs

CETESB, 2003 e 2004: Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, DDT, DDD, Clordano, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

b = CETESB; SABESP, 1998; CETESB, 2000: testes realizados com *Hyalella* sp.; efeitos observados: mortalidade


CETESB, 2003 e 2004: testes realizados com *Hyalella azteca*; efeitos observados: mortalidade e crescimento

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB


Ótimo

 ICB = 1

Bom

 ausência de mutagênicos, <TEL, não tóxico, ICB =2

Regular

 ≥TEL e ≤PEL, ICB =3

Apesar de apresentarem algum tipo de contaminação os sedimentos do reservatório de Ponte Nova (Ponto 1.1) e do rio Tietê em Biritiba-Mirim (Ponto 2), têm sido recomendados como controle para testes de toxicidade de sedimento, respectivamente, em rios e reservatórios. O Ponto 2, tem sido adotado também como referência para comunidade bentônica para ambiente lótico (ARAÚJO, 1998; CETESB; SABESP, 1998).

No levantamento realizado em 1995 (ARAÚJO, 1998), no rio Tietê, no trecho a montante da cidade de Mogi das Cruzes até o município de São Paulo, em São Miguel Paulista, foi observado qualidade regular nos três pontos analisados, devido à presença de metais em concentrações entre TEL e PEL, sendo que no ponto localizado próximo à captação de água da companhia Hoescht, foi verificado Zn em concentrações acima de efeito severo (Tabela 5.11). Verificou-se que, à medida que o rio se aproxima da região metropolitana (Pontos 5 e Pontos 6), o sedimento torna-se mais fino, ou seja, com predominância de silte e argila na sua composição, e uma quantidade maior de matéria orgânica. Desta forma, os Pontos 5 e 6 foram classificados como orgânicos e os Pontos 2 e 3 como inorgânicos. Os resultados dos testes de toxicidade mostraram qualidade ruim e péssima, respectivamente, nos Pontos 5 e 6.

Imbimbo (2001) realizou um estudo limnológico e da comunidade bentônica nesse mesmo trecho do rio Tietê, no ano de 1993. Este autor verificou que esta comunidade apresentou perturbações cada vez mais acentuadas nos pontos mais próximos da região metropolitana, sendo que no Ponto 6 não foram encontrados organismos representativos da mesma, demonstrando, desta forma, o alto grau de deterioração da comunidade nesse local.

Quanto ao reservatório de Taiapuê (Ponto 4), observou-se qualidade péssima do sedimento para *Hyalella azteca*, alteração na biota classificada como regular, e concentrações muito acima de PEL para zinco (CETESB, 2004) (Tabela 5.10). Verificou-se também acumulação de matéria orgânica e composição granulométrica com predominância da fração fina, o que atenua a biodisponibilidade de metais. Não foi observada presença de compostos mutagênicos. Em 2002, nesse local foi observado também concentrações acima de PEL para zinco, além de cobre e cádmio (CETESB, 2003). Como trata-se de uma região de manancial, foi recomendada uma investigação detalhada da fonte de metais nesse corpo de água, principalmente zinco.

5.3.3.1. BACIA DO RESERVATÓRIO BILLINGS

Para facilidade de análise, o complexo Billings pode ser dividido em corpo central (Pontos 7.1, 7.2, 7.4, 7.6), braços (Pontos 7.3.1, 7.3.2, 7.5, 7.8) e reservatórios isolados (Pontos 7.7 e 7.9.1, 7.9.2) (Figura 5.4). Em 1993, foi realizado um levantamento, no período de janeiro a outubro de 1993 (4 campanhas), que teve como objetivo caracterizar e acompanhar a recuperação deste reservatório após a suspensão do bombeamento das águas do Alto Tietê para o mesmo (LAMPARELI et al., 1996). Foram amostrados 9 pontos, sendo 4 ao longo de corpo central (Ponto 7.1: próximo Usina Elevatória de Pedreira, Ponto 7.2: entre o braço do Grota Funda e o braço dos Alvarengas, Ponto 7.4: junto à rodovia dos Imigrantes Ponto 7.4 e Ponto 7.6: junto ao “Summit Control”), 3 nos braços (Ponto 7.3.1: Taquacetuba, Ponto 7.5: Capivarí e Ponto 7.8: Rio Pequeno) e nos reservatórios do Rio das Pedras e do Rio Grande (Ponto 7.7 e Ponto 7.9.1). Verifica-se na tabela 5.13, que todos os pontos apresentaram qualidade ruim em termos de contaminação química por metais e PCBs. Os Pontos 7.7, 7.8 e 7.9.1, localizados, respectivamente, no reservatório Rio das Pedras, no braço do Rio Pequeno e no reservatório do Rio Grande, foram os que apresentaram menor frequência de contaminantes em concentrações acima da PEL.

Com relação aos metais, foram consideradas preocupantes as concentrações encontradas para mercúrio (Pontos 7.1 a 7.4, e Ponto 7.9.1), principalmente no reservatório do Rio Grande (Ponto 7.9.1). Foram encontradas também concentrações elevadas de PCBs em todo o corpo de água, mas principalmente nos Pontos 7.1 a 7.6. Em termos ecotoxicológicos, a qualidade do sedimento no corpo central foi péssima nos Pontos 7.1 e 7.2, passando a ruim nos Pontos 7.4 e 7.6, nos braços verificou-se qualidade boa apenas no do Rio Pequeno e no reservatório Rio das Pedras, sendo que nos outros, a qualidade foi péssima e ruim (Pontos 7.3.1, 7.5 e 7.9.1) (ARAÚJO, 1998). No entanto, é importante ressaltar que foi observada variabilidade nos resultados entre as 4 campanhas, exceto nos Pontos 7.1 (qualidade péssima), 7.7 e 7.8 (qualidade boa).

Nos Pontos 7.1 a 7.5, e 7.9.1. não foi encontrada uma verdadeira comunidade bentônica. No Ponto 7.6, em apenas uma campanha foi possível caracterizar a comunidade, ainda que simplificada, e dominada por um grupo de organismo. Apenas no reservatório Rio das Pedras e no braço do Rio Pequeno (Ponto 7.7 e 7.8) apresentaram populações bentônicas estabelecidas na zona profunda (LAMPARELLI et al., 1996).

Tabela 5.13. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no complexo Billings, em janeiro, abril, julho, outubro de 1993 (ARAÚJO, 1998; LAMPARELLI et al., 1996), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Araújo (1998) | |
|-------|-----------------------|---|---|---|
| | | | Química ^a | Toxicidade <i>Hyalella</i> sp. ^b |
| 7.1 | Reservatório Billings | próximo à Usina Elevatória de Pedreira, em frente ao braço Guacuri | As, DDE Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, PCBs | |
| 7.2 | Reservatório Billings | no corpo central, na direção do braço do Bororé (BILL 02500 ^c) | As Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, PCBs, DDE | |
| 7.4 | Reservatório Billings | corpo central, junto à rodovia dos Imigrantes | DDE, DDD As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, PCBs | |
| 7.6 | Reservatório Billings | junto à barragem reguladora, entre os reservatórios Billings e Rio das Pedras | Cd, Cu, Cr, Hg, DDE As, Pb, Ni, Zn, PCBs | |
| 7.3.1 | Reservatório Billings | Braço Taquacetuba, aproximadamente a 2/3 de distância do corpo central do reservatório | Cd, Cr, DDE, DDD As, Pb, Cu, Hg, Ni, Zn, PCBs | |
| 7.5 | Reservatório Billings | Braço Capivari, aproximadamente na metade da dist. entre corpo central e barragem Cubatão de Cima | As, Cd, Cu, Cr Pb, Ni, PCBs | |
| 7.7 | Reservatório Billings | Reserv. Rio das Pedras, aproximadamente a 3/4 de distância da barragem reguladora "Summit Control" | As, Cd, Pb, Cu, Hg, Zn, PCBs Cr, Ni | |
| 7.8 | Reservatório Billings | Braço Rio Pequeno, aproximadamente a 1/2 da distância entre rod. Anchieta e o final do reservatório | Cd, Ni, PCBs As, Pb | |
| 7.9.1 | Reservatório Billings | Braço Rio Grande, próximo à captação da SABESP (RGDE 02900 ^c) | As, Cd, Pb, Ni, DDE, DDT, Lindane, PCBs Cu, Hg | |

a = As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Clordano, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Hexaclorobenzeno, Lindano e PCBs

b = efeito observado: mortalidade

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

| | | | |
|------|--|---------|--|
| Bom |  não tóxico | Regular |  \geq TEL e \leq PEL, efeito sub-letal (redução do crescimento) |
| Ruim |  > PEL, efeito agudo na sobrevivência <50%, | Péssimo |  efeito agudo na sobrevivência \geq 50% |

Nesse estudo, foi avaliado também concentrações de metais nas vísceras e na musculatura de peixes, porém apesar de ter sido observado valores elevados desses contaminantes tanto na água como no sedimento, os peixes foram considerados, na época, próprios para consumo humano.

Estes resultados retrataram o histórico da introdução, na represa Billings, de contaminantes provenientes do lançamento de esgoto doméstico da região Metropolitana de São Paulo e industrial durante muitos anos.

O Ponto 7. 2, localizado no corpo central da Billings na direção do braço do Bororé (Tabela 5.14), foi analisado nos anos subsequentes (1997 a 2001), em diferentes épocas do ano (estação chuvosa e seca), e, em diferentes projetos (agosto 1997 e fevereiro de 1998, CETESB; SABESP, 1998; setembro 1998 e março 1999, CETESB; SABESP, 1999; junho de 1997 e junho de 1998, Coelho - Botelho et al., em elaboração; outubro de 2000 e 2001, Mozetto et al., 2003; junho de 2003, CETESB, 2004).

Em relação à contaminação química (Tabela 5.14), os dados obtidos neste novo período mostram que esses sedimentos continuam apresentando níveis acima de efeito severo para muitos metais (acima de PEL para Cd, Pb, Cu, Ni e Zn), porém para as bifenilas policloradas (PCBs) foram observadas concentrações mais baixas, ou seja, de início de efeito (entre TEL e PEL), exceto no estudo realizado por Mozetto et al.(2003), cujos valores encontrados estiveram acima de PEL. Nesse último estudo, foi verificado também a presença de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) em concentrações acima de PEL para os compostos antraceno, acenafteno, fenantreno, fluoreno e pireno.

Como no levantamento anterior (1993), verificou-se variabilidade dos resultados nos diferentes testes de toxicidade realizados com sedimentos coletados nesse ponto, tendo sido observado qualidade boa a péssima. A comunidade bentônica foi classificada de ruim e regular nos levantamentos realizados por Coelho-Botelho et al. (em elaboração), Mozetto et al. (2003) e CETESB, 2004.

Silvério (2003) verificou que os metais neste ponto do reservatório são controlados pelos sulfetos volatilizáveis por acidificação (SVA), uma vez que a concentração destes compostos excedeu a soma molar da concentração dos metais, sendo que nesse caso não é esperado toxicidade nos sedimentos. Nestes sedimentos foram encontradas concentrações elevadas de nutrientes (carbono e nitrogênio e fósforo), tendo sido considerados eutrofizados.

Tabela 5.14. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletado no complexo Billings, no período de 1997 a 2003, segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas, os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica.

| Referência | Ponto 7.2 Reservatório Billings, no meio do corpo central na direção do braço Bororé | | | |
|--|--|-------------------------------------|-------------------------------|---------------|
| | Mutagenicidade Teste de AMES | Química ^a | Toxicidade <i>Hyalella</i> | Bentos ICB |
| CETESB/ SABESP (1998) | | Hg e PCB's | b e c | |
| | | Cd, Pb, Cu, Cr, Ni, DDE, DDT | | |
| CETESB/SABESP (1999) | | Hg, DDE, DDT e PCB's | b | |
| | | Cd, Pb, Cu, Cr, Ni | | |
| Coelho-Botelho et al. (em elaboração) | | PCB's | b | |
| | | Cd, Pb, Cu, Hg, Ni, Zn, DDE | | |
| Mozeto et al.(2003) | | Cd, Hg, Lindane, PAH's ^f | d | |
| | | As, Pb, Cu, Cr, Ni, Zn, | | |
| | | PCB's, DDE, PAH's ^g | | |
| CETESB (2004) | | PCB's | e | |
| | | Cd, Pb, Cu, Ni, Zn | | |

a = CETESB; SABESP, 1998 e 1999: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, Lindano, PCBs, DDT, DDE, DDD, BHC

Coelho - Botelho et al., em elaboração: Cd, Pb, Cu, Hg, Ni, Zn, Lindano, PCBs, DDE, DDD.

Mozeto et al., 2003: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, Lindano, PCB's, os PAHs: acenafteno, acenaftaleno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, naftaleno, pireno CETESB, 2004: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, Lindano, PCBs, DDT, DDE, DDD, BHC, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido

b = testes realizados com *Hyalella* sp., efeito analisado mortalidade

c = laudos emitidos pela CETESB em 1997 e 1998, referentes aos resultados de testes de toxicidade

d = testes realizados com *H. azteca*; efeito analisado: mortalidade


e = testes realizados com *H. azteca*; efeito analisado: mortalidade e crescimento


f = acenataleno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo (a,h) antraceno, fluoranteno, naftaleno


g = antraceno, acenafteno, fenantreno, fluoreno, pireno

Não realizado 

Bom  não tóxico

Regular  ≥TEL e ≤PEL, ICB =3

Ruim  > PEL, efeito agudo na sobrevivência <50%, ICB= 4

Péssimo  efeito agudo na sobrevivência ≥50%

No braço do Taquacetuba, os estudos realizados no período de 1997 a 1999 (agosto 1997 e fevereiro de 1998, CETESB; SABESP, 1998; setembro 1998 e março 1999, CETESB; SABESP, 1999) (Tabela 5.15) mostram uma melhora no grau de contaminação em relação aos dados de 1993 (Tabela 5.13). Porém, os pontos amostrados (Pontos 7.3.1 e 7.3.2) continuam apresentando níveis acima de efeito severo, principalmente para Cr, Ni e DDE, mas não foi observado efeito na mortalidade dos organismos teste (*Hyalella* sp.).

Tabela 5.15. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos de amostras coletadas no complexo Billings, no braço do Taquacetuba, em março de 1997, agosto de 1998 (CETESB; SABESP, 1998) setembro de 1998 e março de 1999 (CETESB; SABESP, 1999), segundo as concentrações encontradas das substâncias químicas, os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos.

| Ponto | Corpo de água | Localização | CETESB/SABESP (1998) | | CETESB/SABESP (1999) | |
|-------|------------------|---|--|---|--------------------------------|---|
| | | | Química ^a | Toxicidade <i>Hyalella</i> sp. ^{b,c} | Química ^a | Toxicidade <i>Hyalella</i> sp. ^c |
| 7.3.1 | Reserv. Billings | braço Taquacetuba, no meio do braço | Pb, Cu, PCBs Cd, Cr, Ni, Zn, DDE, DDT | | | |
| 7.3.2 | Reserv. Billings | braço Taquacetuba, na captação da SABESP ^d | Pb, Cd Cr, Ni, DDE | | Cd, Pb, Cu, Zn, Cr, Ni, DDE | |

a = As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, DDT, DDD, Lindano e PCBs

b = laudos emitidos pela CETESB em 1997 e 1998, referentes aos resultados de testes de toxicidade

c = efeito observado: mortalidade

d = ponto BITQ 00100 da rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Não realizado

Bom não tóxico

Regular \geq TEL e \leq PEL

Ruim > PEL

Silvério (1999) realizou experimentos em laboratório, simulando aeração forçada, para avaliar mudanças no comportamento dos metais em sedimentos coletados neste braço, próximo à captação de água pela SABESP. Esta situação corresponderia à ocorrência tanto de processos naturais (ventos e bioturbação) como artificiais (dragagem e aeração). Os resultados obtidos mostraram um aumento na concentração de todos os metais na fase aquosa, o que mostrou que mudanças nas condições redox do meio levaram a alterações na especiação das formas metálicas. Em outras palavras, parte da matéria orgânica e dos sulfetos, que são a fase controladora desses metais, foram oxidados, o que provocou uma diminuição do valor do pH que, por sua vez, resultou em um aumento da solubilidade dos metais, que passaram para a forma aquosa livre. No entanto, como a forma livre não é a mais estável para os metais pesados no meio aquoso, esses tendem novamente a se precipitar, adsorver ou complexar em novos sítios ativados, representados pelos óxidos de Fe, Mn e Al. Foi postulado que essas formações recentes seriam mais lábeis e que contribuiriam para aumentar o estoque de metais nos sedimentos superficiais. Essa capacidade de produção ácida também foi observada nos sedimentos da Billings em um estudo de remobilização de metais por Carvalho e Zanardi (1997).

O braço do Rio Grande tem sido monitorado pela CETESB, em dois pontos: próximo à captação da SABESP (RGDE 9900, CETESB, 2003 e RGDE 02900, CETESB, 2004) e no braço do Ribeirão Pires (RGDE 02100, CETESB, 2004) (Tabela 5.16).

No ponto localizado próximo à captação da SABESP (Ponto 5.9.1), o sedimento foi classificado como ruim, pois verificou-se concentrações acima de PEL para vários metais, destacando-se o mercúrio, e toxicidade aguda, porém, a comunidade bentônica apresentou qualidade boa. Quanto ao resultado da comunidade bentônica, o índice calculado parece ter superestimado a condição real da comunidade, uma vez que foram observadas densidades muito baixas da biota, mostrando que as populações não estariam se desenvolvendo normalmente neste local. Comparando estes resultados com os obtidos no levantamento realizado em 1993, verificou-se um aumento relevante nas concentrações de cobre, porém redução nas concentrações de PCBs e mercúrio.

No braço do Ribeirão Pires (Ponto 5.9.2) não foi observada toxicidade, porém, a qualidade foi regular, tanto em termos químicos como pelo índice da comunidade bentônica. Além disso, foram observadas freqüências elevadas de deformidade no mento de larvas de *Chironomus*. Nesses pontos não foi observada a presença de compostos mutagênicos. Estes resultados indicam a necessidade de um estudo mais aprofundado no local.

Tabela 5.16. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no complexo Billings, no braço do Rio Grande, em junho 2003 (CETESB, 2004), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas, os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade Teste de Ames | Química ^a | Toxicidade <i>H. azteca</i> ^b | Deformidade <i>Chironomus</i> | Bentos |
|-------|-----------------|--|------------------------------|----------------------|--|-------------------------------|--------|
| 7.9.1 | Reser. Billings | Braço Rio Grande, prox. à captação da SABESP ^c | | Cd, Pb, Cu, Hg, Ni | | | |
| 7.9.2 | Reser. Billings | Braço do Rio Grande, no braço do Ribeirão Pires ^d | | Pb, Cu, Cr, Hg, Zn | | | |

a = Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, DDT, TDE, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

b= efeitos observados: mortalidade e crescimento.

c = ponto RGDE 02900 da rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

d = ponto RGDE 02100 da rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Não realizado

Bom ausência de compostos mutagênicos, não tóxico, ICB = 2

Regular \geq TEL e \leq PEL, presença de deformidade, ICB = 3

Ruim $>$ PEL, efeito agudo na sobrevivência $<$ 50%

5.3.3.2. BACIA DO RESERVATÓRIO GUARAPIRANGA

O reservatório do Guarapiranga (Figura 5.4) apresenta, desde a década de 80, freqüentes ocorrências de florações de cianobactérias. Este fenômeno pode causar graves conseqüências para o abastecimento público, uma vez que algumas espécies podem produzir compostos extremamente tóxicos. A ocorrência destas florações é causada pelo aumento significativo de nutrientes dos cursos hídricos que abastecem esse corpo de água, levando eutrofização de suas águas, o que propicia, em determinadas épocas do ano, condições ideais para a proliferação excessiva de cianobactérias. Em decorrência dessas florações, a SABESP tem utilizado sulfato de cobre como algicida no controle da proliferação de cianobactérias no reservatório.

Zagatto e Aragão (1995) realizaram um levantamento da qualidade da água, sedimento e do nível de contaminação da biota aquática por cobre neste corpo de água. Os sedimentos foram amostrados em três pontos (Pontos 8.1, 8.3 e 8.5), em três campanhas realizadas no ano de 1994 (Tabela 5.17) (ARAÚJO, 1998; ZAGATTO; ARAGÃO, 1995). Os resultados obtidos mostraram níveis de contaminação acima do efeito severo para o cobre (Pontos 8.3 e 8.5) e entre TEL e PEL para zinco (Pontos 8.1, 8.3 e 8.5), chumbo (Pontos 8.3 e 8.5) e Ni (Ponto 8.5). Apesar das concentrações elevadas de cobre, não foi observado efeito agudo para *Hyalella* sp. (Tabela 5.17). Esses sedimentos foram classificados como orgânicos e anóxicos, o que permite considerar que nesse local, ocorre a atenuação da disponibilidade de metais e outras espécies de contaminantes à biota.

Nos levantamentos realizados em 1997/1998 e 1998/1999 (Tabela 5.17), verifica-se que, no meio do corpo central (Ponto 8.3) o cobre esteve presente acima de efeito severo. No entanto, tanto nesse ponto como no situado no corpo central, não foi observado efeito agudo para *Hyalella* sp. A comunidade bentônica nestes dois pontos foi considerada ruim, tendo sido observada dominância de organismo resistentes à poluição por esgoto doméstico e metais.

A CETESB realizou um estudo na bacia do reservatório Guarapiranga para caracterizar a qualidade da água e dos sedimentos, no período de chuvas (fevereiro/março de 1998) e seca (julho e agosto de 1998), visando avaliar a possibilidade de reversão das águas da bacia do Rio Juquiá para a bacia do Guarapiranga (CETESB, 2000). Foram avaliados 3 pontos nesta UGRHI (Pontos 8.2, 9 e 10) (Tabelas 5.18 e 5.19) e mais dois na UGRHI 11 (ver item 5.3.7, Tabela 5.33). No ponto localizado no reservatório Guarapiranga, em frente à futura estação da ETA de Alvorada (Ponto 8.2), foram detectadas baixas concentrações de metais, ausência de toxicidade, mas foram observados efeitos na comunidade bentônica e baixa mutagenicidade (Tabela 5.18).

Tabela 5.17. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no reservatório Guarapiranga, em 1994 (ARAÚJO, 1998; ZAGATTO; ARAGÃO, 1995), 1997, 1998 e 1999 (CETESB; SABESP, 1998, 1999), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química | | | Toxicidade | | |
|-------|----------------------|---|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | | Araújo (1998) ^a | CETESB/ SABESP (1998) ^b | CETESB/ SABESP (1999) ^b | <i>Hyalella</i> sp. ^c | | |
| | | | | | | Araújo (1998) | CETESB/ SABESP (1998) | CETESB/ SABESP (1999) |
| 8.1 | Reserv. Guarapiranga | próx. à entrada rio Embú-Guaçú | Zn | | | | | |
| 8.3 | Reserv. Guarapiranga | no meio do reservatório | Pb, Zn Cu | Cd, Pb, Cu, Cr, DDE | Pb, Cr Cu | | | |
| 8.4 | Reserv. Guarapiranga | no braço Parelheiros | | | Pb e Cr Cu, DDE | | | |
| 8.5 | Reserv. Guarapiranga | próx. à captação da SABESP (GUAR 00900 ^d) | Pb, Ni, Zn Cu | | | | | |

a = Araújo, 1998: Cd, Pb, Cu, Hg, Ni, Zn

b = CETESB; SABESP, 1998 e 1999: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, Lindano, PCBs, DDT, DDE e DDD

c = efeito observado: mortalidade

d = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Não realizado

Regular \geq TEL e \leq PEL

Bom <TEL, não tóxico

Ruim > PEL

Tabela 5.18. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no reservatório Guarapiranga, em fevereiro/março e julho e agosto de 1998 (CETESB, 2000), julho de 2003 (CETESB, 2004), segundo resultados dos testes de mutagenicidade, as concentrações das substâncias químicas encontradas, os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade | | Química ^a | | Toxicidade ^b | | Bentos | |
|-------|----------------------|--|----------------|---------------|---------------------------|---------------|-------------------------|---------------|----------------|---------------|
| | | | CETESB (2000b) | CETESB (2004) | CETESB (2000b) | CETESB (2004) | CETESB (2000b) | CETESB (2004) | CETESB (2000b) | CETESB (2004) |
| 8.2 | Reserv. Guarapiranga | no braço do rio Embú-Guaçú em frente a futura ETA Alvorada | | | Cr e Zn | | | | | |
| 8.5 | Reserv. Guarapiranga | próximo a captação da SABESP (GUAR 00900 °) | | | Pb, Cr, PCB's Cu e DDE | | | | | |

a = CETESB, 2000: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, Lindano, PCBs, DDT, DDE

CETESB, 2004: Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, Lindano, PCBs, DDT, DDE, DDD, BHC, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido

b = CETESB, 2000: testes realizados com *Hyalella sp.*, efeito observado: mortalidade

CETESB, 2004: testes realizados com *H. azteca*, efeitos observados: mortalidade e crescimento

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Não realizado



Bom



ausência de mutagênicos, não tóxico

Regular



baixa mutagenicidade, ≥TEL e ≤PEL, efeito sub-letal

Ruim



> PEL, ICB = 5

Nos pontos localizados no rio Embú-Guaçú (Ponto 9) e Santa Rita (Ponto 10) (Tabela 5.19), foram verificadas baixas concentrações de metais e compostos orgânicos clorados (DDE, DDT, Lindano e PCBs), ausência de compostos mutagênicos e toxicidade. No rio Embú-Guaçú (Ponto 9) a qualidade da comunidade bentônica foi considerada ruim e regular no rio Santa Rita (Ponto 10).




Na análise integrada destes dados, através da tríade da qualidade do sedimento, verificou-se que os efeitos observados na comunidade bentônica nos Pontos 8.2 e no 10, podem estar sendo causados pela presença de contaminantes químicos nas amostras. No entanto, no Ponto 9, provavelmente são devido à poluição por esgoto doméstico, uma vez que não foi evidenciada contaminação química e efeito tóxico agudo para *Hyalella* sp.

Tabela 5.19. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do reservatório Guarapiranga, em março e julho de 1998, segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas, os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e de mutagenicidade, e na comunidade bentônica (CETESB, 2000).

| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade Teste de AMES | Química ^a | Toxicidade ^b <i>Hyalella</i> sp. | Bentos ICB |
|-------|---------------------|--|---------------------------------|----------------------|--|---------------|
| 9 | Rio Embú Guaçú | à jusante da entrada do Ribeirão Santa Rita | | | | |
| 10 | Ribeirão Santa Rita | estrada Bayton, à montante da ponte no Km 4, vindo do bairro Boa Vista | | Pb, Cr | | |

a = As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, DDT, Lindano, PCBs

b = efeito observado: mortalidade

| | | |
|---------|---|---|
| Bom |  | <TEL, não tóxico, ausência de mutagênicos |
| Regular |  | ≥TEL e ≤PEL |
| Ruim |  | ICB =4 |

Na rede de monitoramento de sedimento da CETESB é avaliado um ponto neste reservatório, localizado próximo à captação da SABESP (Ponto 8.5, Tabela 5.18). Os dados obtidos mostraram efeito sub-letal (redução no crescimento) para *Hyalella azteca*, concentrações acima de PEL para cobre e DDE, e a comunidade bentônica foi considerada ruim, ou seja com estrutura empobrecida, com forte dominância de organismos tolerantes, inclusive a metais pesados (Tabela 5.18). Neste ponto, os sedimentos foram considerados orgânicos e apresentaram composição granulométrica predominantemente frações finas, com baixas concentrações de sulfetos voláteis. Tais

características permitiram considerar que a fração orgânica, oriunda em grande parte do aporte de esgoto ao reservatório, é a fase controladora da disponibilidade de metais e outros contaminantes presentes nestes sedimentos (CETESB, 2004).

É importante ressaltar que foi observado um grande aumento na concentração de cobre no sedimento do reservatório, principalmente próximo à captação da SABESP, ou seja, em 1993 era cerca de 3 vezes superior ao valor de PEL (ARAÚJO, 1998) e no levantamento de 2003, cerca de 13 vezes (CETESB, 2004).

5.3.3.3. BACIA DO RIO COTIA

O rio Cotia tem suas águas represadas em dois reservatórios, Pedro Beicht e Cachoeira da Graça, a montante do município de Cotia. Esta área do rio é denominada de Alto Cotia e encontra-se coberta por matas naturais da Reserva Estadual do Morro Grande (CETESB, 2003).

A qualidade do sedimento do reservatório Pedro Beicht (Ponto 11), avaliada em 1993, foi considerada boa, tanto em relação a contaminação por metais como em termos ecotoxicológicos (Figura 5.4, Tabela 5.20). Assim sendo, os sedimentos deste corpo de água foram considerados adequados como controle para reservatórios. No entanto, na época considerou-se que seria importante realizar uma avaliação quanto a presença de compostos organoclorados, uma vez que foi observado na água, em uma ocasião, presença de Lindano (ARAÚJO, 1998).

Nos levantamentos realizados em 1998/1999 (CETESB; SABESP, 1999; CETESB, 2000), a qualidade do sedimento foi considerada regular, pois foram observadas concentrações entre TEL e PEL para Pb, Cu e Cr. No estudo realizado pela CETESB/SABESP (1999), apesar de ter sido avaliado alguns organoclorados, as concentrações encontradas para Lindano e DDE estiveram abaixo do limite de detecção analítico, cujos valores foram muito próximos dos TELs estabelecidos para esses compostos. Os sedimentos foram classificados como orgânicos, usando-se a fração orgânica volátil. Como este reservatório encontra-se protegido da entrada de despejos domésticos e industriais, a elevada concentração de carbono orgânico foi atribuída a acumulação de material húmico nesse ambiente. No ponto analisado, não foi observada toxicidade para *Hyalella sp.* e a comunidade bentônica foi considerada boa. Desta forma, como não foram observados efeitos na biota, este sedimento foi utilizado como controle, na análise integrada pela abordagem da tríade, para

Tabela 5.20. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos de amostras coletadas no reservatório Pedro Beicht, em julho/agosto 1993 (ARAÚJO, 1998), setembro de 1998 e março 1999 (CETESB; SABESP, 1999), fevereiro/março e julho/agosto de 1998 (CETESB, 2000) e em outubro de 2000 (MOZETO et al., 2000), segundo as concentrações encontradas das substâncias químicas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química ^a | | | | Toxicidade ^b | | | | Bentos (ICB) |
|-------|----------------------|-------------------|----------------------|----------------------|----------------|---------------------------------------|-------------------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------|
| | | | Araújo (1998) | CETESB/SABESP (1999) | CETESB, (2000) | Mozeto et al. (2003) | Araújo (1998) | CETESB/SABESP (1999) | CETESB (2000) | Mozeto et al. (2003) | CETESB (2000) |
| 11 | Reserv. Pedro Beicht | perto da barragem | | Pb, Cu, Cr | Pb, Cr, Cu | As, Cr, Cu, Ni, Pb, PAHs ^c | | | | | |

a= Araújo, 1998: Cd, Pb, Cu, Hg, Ni, Zn

CETESB; SABESP, 1999: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Lindano e PCBs

CETESB, 2000: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, Lindano e PCBs


Mozeto et al., 2003: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, Lindano, PCBs, os PAHs: acenafteno, acenaftaleno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, naftaleno, pireno

b = Araújo, 1998 e CETESB; SABESP, 1999: testes realizados com *Hyalella* sp.; efeito observado: mortalidade

MOZETO et al., 2003: testes realizados com *Hyalella azteca*; efeito observado: mortalidade

c = fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo (g,h,i)perileno

Bom

 <TEL, não tóxico, ICB = 2

Regular

 ≥TEL e ≤PEL

avaliação da qualidade dos sedimentos dos reservatórios do Sistema Alto e Médio Tietê (reservatório Billings e Guarapiranga) (CETESB;SABESB, 1999).

No estudo realizado por Mozeto et al. (2003) para avaliação da qualidade dos reservatórios do rio Tietê, visando o desenvolvimento de critérios de qualidade para sedimento, verificou-se que o reservatório de Pedro Beicht apresenta concentrações entre TEL e PEL para cromo, cobre, chumbo, (conforme já tinha sido detectado no estudos anteriores), arsênio e níquel, e para alguns compostos aromáticos policíclicos (PAHs), porém não foi observada toxicidade para *Hyalella azteca* (Tabela 5.20).

No reservatório de Pedro Beicht, apesar de não ter sido observado efeito para a comunidade bentônica, considera-se importante que este corpo de água seja melhor caracterizado, principalmente em termos químicos, para metais e compostos clorados, uma vez que é trata-se de um sedimento que tem sido adotado como controle de reservatórios do Estado de São Paulo.

5.3.3.4. ALTO TIETÊ - ZONA METROPOLITANA

Para esta unidade existem dados de avaliação da qualidade do sedimento da sub-bacia do Ribeirão dos Cristais (Pontos 12 a 14) (Figura 5.4). Devido a resultados positivos periódicos do teste de AMES em amostras de água superficial, indicativo da presença de compostos mutagênicos, foi desenvolvido um estudo específico para avaliar as causas e os efeitos da presença desses compostos neste corpo de água. É importante ressaltar que essas águas são utilizadas para abastecimento público após tratamento convencional. Os resultados obtidos mostraram que tratava-níquel e se de corantes provenientes de uma indústria de tingimento de náilon e poliéster.

Em 2003, o ponto próximo a captação de água pela ETA de Cajamar, em Jordanópolis, foi avaliado quanto à qualidade do sedimento pela CETESB (2004). Mais tarde, foi realizado um estudo mais detalhado nessa parte da bacia do Ribeirão dos Cristais, para se avaliar a qualidade da água e do sedimento em termos ecológicos e ecotoxicológicos (KUHLMANN et al., 2005).

A qualidade da água neste ponto, monitorada pela CETESB no período de 1999 a 2003, mostra qualidade boa. No entanto, algumas variáveis indicam a presença de lançamento de esgoto doméstico sem tratamento, proveniente de um presídio localizado próximo ao ponto de amostragem.

Os resultados das análises químicas, realizadas em três pontos de amostragem (Tabela 5.21), mostraram a presença apenas de corantes nos pontos coletados a jusante da indústria de tingimento (Ponto 13 e 14), porém esses não foram detectados na biomassa de organismos bentônicos. Quanto à toxicidade, o sedimento do Ponto 12 foi classificado como bom (referência), de Ponto 13 como ruim e do Ponto 14 como regular, tendo sido observados concentrações elevadas de amônia no final do teste no Ponto 13.

A comunidade bentônica foi classificada como regular nos Pontos 12 e 13 e ruim no Ponto 14. Apesar do diagnóstico do Ponto 12 (referência) e 13 ter sido semelhante, foi observado um gradiente decrescente de qualidade entre eles. Com relação à deformidade no mento de larvas de *Chironomus*, a frequência observada no ponto 13 (5%) foi um pouco superior à considerada normal (3%), mas esta deformidade não pode ser atribuída ao efluente da indústria de tingimento, pois a jusante da saída desse efluente a frequência de efeito foi menor (2%).

Os resultados da rede de monitoramento da CETESB no Ponto 14 (Tabela 5.21) foram semelhantes ao do estudo realizado por Kuhlmann et al. (2005). Estes mostraram que o comprometimento da qualidade do sedimento parece estar principalmente ligada à alta carga de esgoto, sendo que os efeitos observados devem ser devidos à presença de compostos ou produtos de degradação desse tipo de efluente.

No rio Tietê, entre os municípios de Santana do Parnaíba e Pirapora do Bom Jesus, está localizado o reservatório de Pirapora. Esse reservatório foi avaliado, entre julho de 1997 e junho de 1998, quanto às variáveis químicas, físicas, biológicas (comunidade fitoplactônica, zooplactônica e bentônica) e ecotoxicológicas, tanto na massa de água como no sedimento (Tabela 5.22). Os testes de toxicidade, as comunidades do bentos, e as análises químicas permitiram classificar os sedimentos desse reservatório (Ponto 15) como de qualidade ruim a péssima (Coelho-Botelho et al., em elaboração). Esse resultado reflete a grande carga de esgoto e poluentes que é lançada neste reservatório, sem tratamento adequado, provenientes da região metropolitana de São Paulo.

Tabela 5.21. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos de amostras coletadas na sub-bacia do Ribeirão dos Cristais, em junho 2003 (CETESB, 2004) e agosto de 2003 (Kuhlmann et al., 2005), segundo as concentrações encontradas das substâncias químicas, os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade | Química ^a | | | Toxicidade | | Deformidade | Bentos | |
|-------|-------------------|--|----------------|----------------------|------------------------|---------------|-------------------------------------|------------------------|-------------------|------------------------|--|
| | | | Teste de AMES | | | | <i>Hyalella atzeca</i> ^b | | <i>Chironomus</i> | ICB | |
| | | | CETESB (2004) | CETESB (2004) | Kuhlmann et al. (2005) | CETESB (2004) | Kuhlmann et al. (2005) | Kuhlmann et al. (2005) | CETESB (2004) | Kuhlmann et al. (2005) | |
| 12 | Córrego do Cedro | na fazenda dos Cristais (referência) | | | | | | | | | |
| 13 | Rib. dos Cristais | a jusante da saída da indústria MATEC | | | | | | | | | |
| 14 | Rib. dos Cristais | a montante da captação da ETA, em Cajamar ^c | | | | | | | | | |

a = CETESB, 2004: Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

Kuhlmann et al., 2005: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, Chlordane, DDT, DDE, DDD, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

b = efeitos observados: mortalidade e crescimento

c = ponto CRIS 03400 da Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB




| | | |
|---------|---|---|
| Bom |  | <TEL, não tóxico, ausência de deformidade e compostos mutagênicos |
| Regular |  | ≥TEL e ≤PEL, efeito sub-letal (redução do crescimento), ICB =3, presença de deformidade |
| Ruim |  | > PEL, efeito agudo na sobrevivência <50%, ICB = 4 |

Tabela 5.22. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no reservatório Pirapora, em julho 1997 e junho de 1998 (Coelho-Botelho et al., em elaboração), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas, os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Coelho-Botelho et al. (em elaboração) | | |
|-------|------------------|-------------------|---|---|------------|
| | | | Química ^a | Toxicidade <i>Hyalella</i> sp. ^b | Bentos ICB |
| 15 | Reserv. Pirapora | perto da barragem | PCBs e DDE Cd, Pb, Cu, Hg, Ni, Zn, Lindane | | |

a = Cd, Pb, Cu, Hg, Ni, Zn, DDE, DDD, Lindano e PCBs

b = efeito observado: mortalidade

Regular \geq TEL e \leq PEL Ruim $>$ PEL Péssimo efeito agudo na sobrevivência \geq 50% , ICB = 5

5.3.4. UGRHI 7- Baixada Santista

Apesar de existirem dados referentes à avaliação ecotoxicológica realizada em alguns pontos nesta unidade em 1992 (ARAÚJO, 1998), será feita referência apenas ao resultado do teste de toxicidade realizado com amostra de sedimento do rio Cubatão, a jusante da desembocadura do rio Pilões e a montante da estação da SABESP (Figura 5.5), pois considerou-se que nos outros pontos pode ter ocorrido interferência da salinidade, não determinada previamente nas amostras analisadas. Nesse ponto não foi observado toxicidade para *Hyalella* sp., portanto naquela ocasião, este sedimento seria classificado como de boa qualidade considerando esta variável.

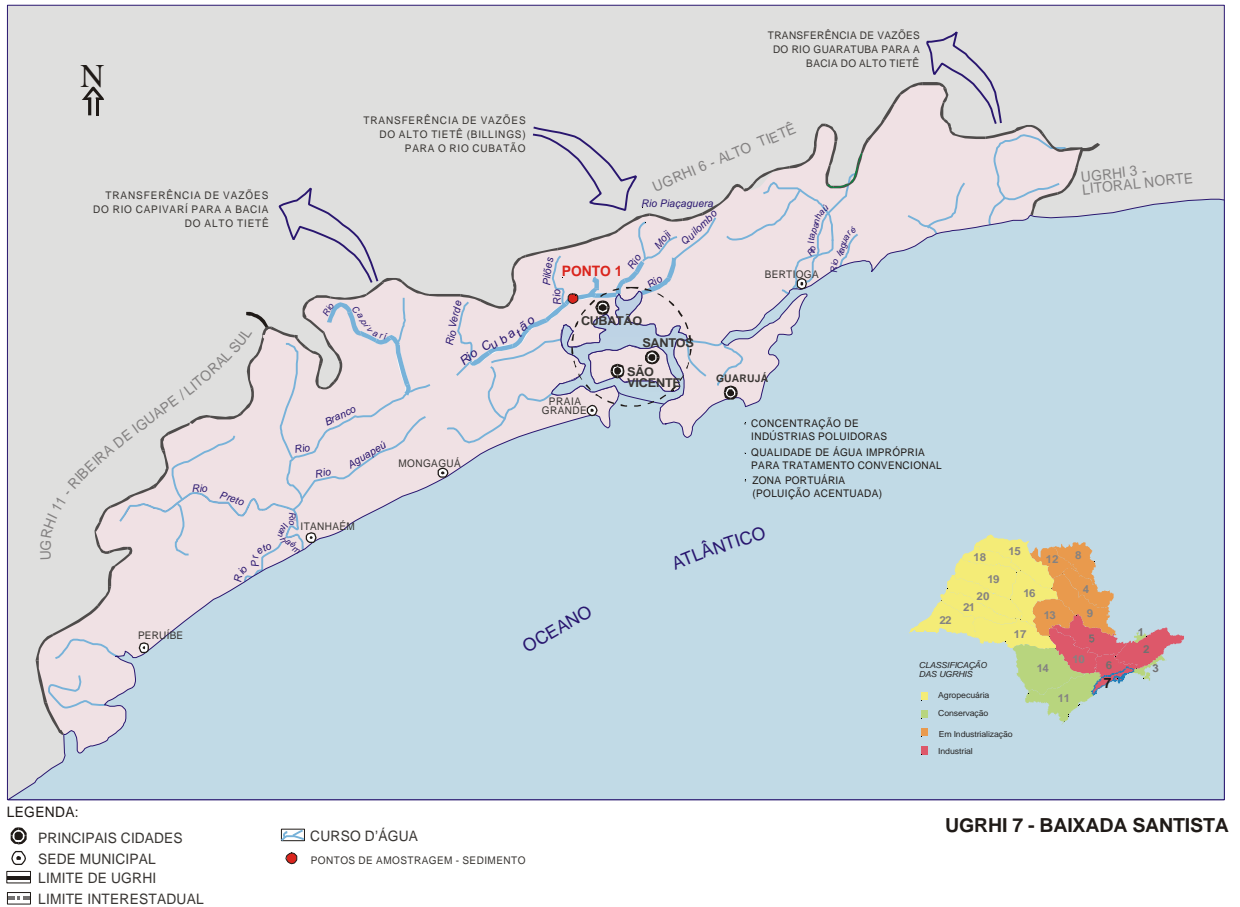


Figura 5.5. UGRHI 7- Baixada Santista, com a localização dos pontos de amostragem.

5.3.5. UGRHI 9 - Mogi-GUAÇÚ

A bacia do rio Mogi-Guaçu localiza-se na região nordeste estado de São Paulo. O rio Mogi-Guaçu é o principal afluente do rio Pardo e nasce em Minas Gerais, no município de Bom Repouso, na Serra da Mantiqueira (Figura 5.6).

As águas da bacia do rio Mogi-Guaçu recebem esgotos domésticos e efluentes industriais (papel e celulose, curtume, usina de açúcar e álcool, química, dentre outras) e produtos químicos provenientes da atividade agrícola exercida ao longo da bacia, com ênfase nas lavouras de batata, morango e café na região de Minas Gerais e cana-de-açúcar, laranja, milho e silvicultura de *Eucalyptus* e *Pinus* na de São Paulo (CETESB, 2003).

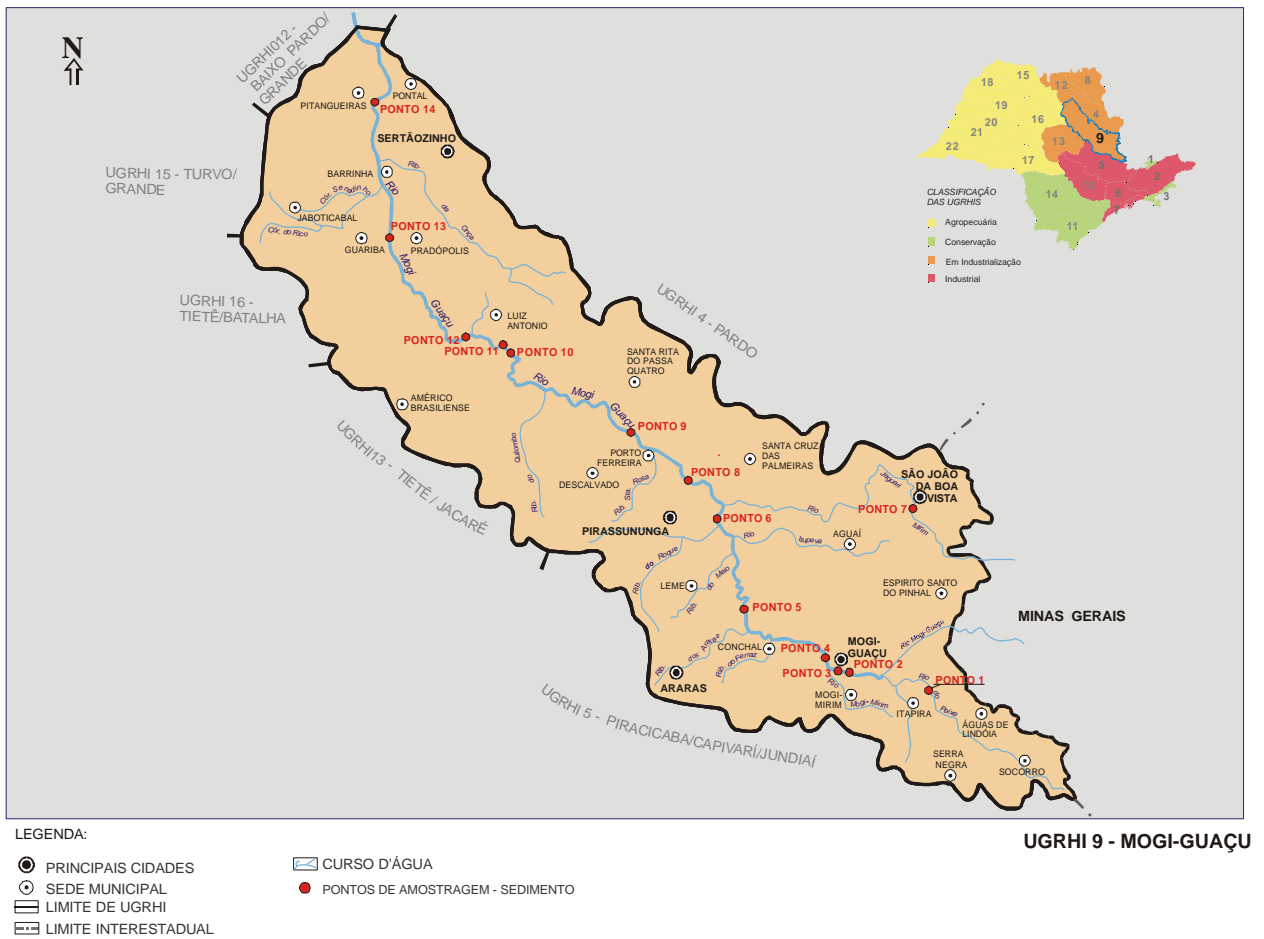


Figura 5.6. UGRHI 9 – Mogi-Guaçu, com a localização dos pontos de amostragem.

Brigante e Espíndola (2003) desenvolveram um estudo nesta bacia no período de agosto de 2000 a junho de 2001. Foram realizadas quatro campanhas (agosto e novembro/2000 e março e junho de 2001) em 15 pontos de coleta, sendo 7 nesta UGRHI no rio Mogi-Guaçu (Pontos 1, 3, 8, 9, 10, 13, 14, Figura 5.6) e 1 no rio Pardo, localizado na UGRHI 12 (ver item 5.3.8). Nesses pontos, foram avaliadas amostras de água, sob o ponto de vista físico (material em suspensão) químico (metais, nutrientes, sulfetos, cloreto, dureza), aspectos sanitários (coliformes totais e fecais), ecotoxicológicos. Nas amostras de sedimento as seguintes variáveis foram analisadas: físicas (granulometria), químicas (nutrientes, metais, pesticidas organoclorados), comunidade bentônica e ecotoxicológicas. Na avaliação ecotoxicológica foram utilizados como organismo-teste os microcrustáceos *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* (amostras de água e sedimento), e larvas do díptero *Chironomus xanthus* (sedimento).

Com relação à granulometria, nos pontos do rio Mogi-Guaçu, no território paulista, houve predomínio da fração areia fina. No entanto, verificou-se variação das frações granulométricas ao longo do tempo, refletindo as variações sazonais. Quanto à matéria orgânica, foi observada variabilidade ampla (0,9 a 38,8%), sendo que o Ponto 10 apresentou os valores mais altos. Os

valores elevados de matéria orgânica foram provavelmente devido à presença de macrófitas e gramíneas observadas com frequência nas margens onde as amostras foram coletadas. Os valores de fósforo total e nitrogênio orgânico total também apresentaram variação ao longo dos pontos, e entre as 4 campanhas realizadas no período de agosto de 2000 a junho de 2001 (BRIGANTE et al., 2003a).

Nos testes de toxicidade (Tabela 5.23) realizados com *Daphnia similis*, foi observado toxicidade no trecho paulista do rio Mogi-Guaçú nos Pontos 3 (na cidade de Mogi-Guaçú), 9 (próximo da Usina Santa Rita, em Descalvado), 10 (próximo a Luiz Antônio), 13 (no município de Pradópolis), e no rio do Peixe (Ponto 1), em pelo menos uma das 3 campanhas realizadas (novembro de 2000 e março e junho de 2001) (ESPÍNDOLA et al., 2003). Os ensaios com *Ceriodaphnia dubia* evidenciaram toxicidade nos Pontos 9 e 10 em apenas uma das 3 campanhas. Quanto aos testes com *Chironomus xanthus*, a toxicidade foi observada em todos os pontos, exceto no Ponto 1 (Rio do Peixe), em pelo menos uma das 4 campanhas (agosto e novembro/2000 e março e junho de 2001), sendo que um maior número de amostras que apresentaram toxicidade do sedimento foi verificado na campanha de março. O Ponto 10 (próximo a Luiz Antônio) foi o mais crítico dentre os testados, pois apresentou toxicidade >50% em 3 das 4 campanhas realizadas (ESPÍNDOLA et al., 2003).

Os resultados das análises químicas (Tabela 5. 23) mostram concentrações acima de PEL apenas para o cádmio no rio do Peixe (Ponto 1) e entre TEL e PEL para cromo, chumbo e níquel e cádmio nos outros pontos (BRIGANTE et al., 2003b).

Com relação aos compostos organoclorados, foi realizada apenas um coleta em junho de 2001. Dos resultados obtidos, destacam-se níveis acima de efeito para o endrin no rio do Peixe (Ponto 1). Além deste composto, foram detectados outros organoclorados utilizados em culturas que existem ao longo do rio Mogi-Guaçú. Dentre estes, aldrin foi detectado em todos os pontos (sendo o maior valor neste trecho do rio encontrado no Ponto 1), trans-heptaclor nos Pontos 8, 13 e 14, isômeros do BHC nos Pontos 13 e 14 e a ocorrência de endrin–aldeído no Ponto 9 (BRIGANTE et al., 2003c). É importante ressaltar que só foi possível estabelecer o grau de contaminação para endrin, pois para os outros compostos não existem valores guias estabelecidos pelo CCME (2001).





Tabela 5.23. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do Rio Mogi-Guaçu, em agosto e novembro de 2000 e março e junho de 2001 (BRIGANTE et al., 2003b, c; ESPÍNDOLA et al., 2003), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química ^a | Toxicidade ^b | | |
|-------|----------------|---|-------------------------------|-------------------------|-----------------|-------------------|
| | | | Brigante et al. (2003b, c) | Espíndola et al(2003) | | |
| | | | | <i>D. similis</i> | <i>C. dubia</i> | <i>C. xanthus</i> |
| 1 | Rio do Peixe | na rodovia SP 352, Km 172, que liga Jacutinga a Itapira | Cr, Pb, Ni, Endrin Cd | | | |
| 3 | Rio Mogi-Guaçu | na cidade de Mogi-Guaçu | Cd, Cr, Pb, Ni | | | |
| 8 | Rio Mogi-Guaçu | no distrito de Cachoeira das Emas, Pirassununga | Cd, Cr, Pb, Ni | | | |
| 9 | Rio Mogi-Guaçu | nas prox. da usina Santa Rita, município de Descalvado | Cd, Cr, Pb, Ni | | | |
| 10 | Rio Mogi-Guaçu | na rodovia SP 225, que liga Araraquara a Ribeirão Preto | Cd, Cr, Pb, Ni | | | |
| 13 | Rio Mogi-Guaçu | na rodovia 252, nas prox. do município de Pradópolis | Cd, Cr, Pb, Ni | | | |
| 14 | Rio Mogi-Guaçu | na rodovia SP 322, nas proximidades de Pitangueiras | Cd, Cr, Pb, Ni | | | |

a= Cu, Cd, Cr, Zn, Pb, Ni, DDT, DDE, DDD, Endrin e Lindano

b= efeito observado: mortalidade

c = próximo à Luiz Antônio

| | | | |
|------|---|---------|---|
| Bom |  <TEL, não tóxico | Regular |  ≥TEL e ≤PEL |
| Ruim |  > PEL , efeito agudo na sobrevivência <50%, | Péssimo |  efeito agudo na sobrevivência ≥50% |

Meletti e colaboradores (2003) realizaram testes de toxicidade com o peixe *Serrapinus notomelas* em condições de laboratório e *in situ*, em cinco pontos localizados ao longo do rio Mogi-Guaçu e um no rio Jaguari-Mirim (controle). As amostras foram coletadas no período chuvoso (março de 2000) e seco (setembro de 2000). Os sedimentos testados não apresentaram toxicidade (Tabela 5.24), apesar de terem sido observadas alterações histológicas nos rins, fígado e brânquias dos peixes.

Tabela 5.24. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do Rio Mogi-Guaçú, em março e novembro de 2000, segundo os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos (MELETTI et al., 2003).

| Ponto | Corpo de água | Localidade | Meletti et al. (2003) | |
|-------|-------------------|--|----------------------------------|-------------|
| | | | <i>S. notomelas</i> ^a | |
| | | | <i>In situ</i> | Laboratório |
| 2 | Rio Mogi-Guaçú | no munic. Mogi-Guaçú, a montante da Ind. Papel e Celulose International Paper | | |
| 4 | Rio Mogi-Guaçú | no munic. Mogi-Guaçú, a jusante da Ind. Papel e Celulose International Paper | | |
| 6 | Rio Mogi-Guaçú | no município de Pirassununga | | |
| 7 | Rio Jaguari-Mirim | em São João da Boa Vista, a montante da captação de água da cidade | | |
| 10 | Rio Mogi-Guaçú | no munic. Luiz Antônio, a montante da Indústria Votorantin de Papel e Celulose | | |
| 11 | Rio Mogi-Guaçú | no munic. Luiz Antônio, a jusante da Indústria Votorantin de Papel e Celulose | | |

a = efeito observado: mortalidade

Bom  não tóxico

Na rede de monitoramento da CETESB, desde 2002 (CETESB, 2003 e 2004) tem sido monitorado um ponto no rio Mogi-Guaçú, a jusante da confluência com o córrego Arari ou Araras e da indústria International Paper. Os sedimentos deste local apresentaram baixo teor de frações finas, com predominância da fração areia, sendo classificados como inorgânicos. Portanto, estes sedimentos apresentam baixo poder de associação, tanto com metais quanto com contaminantes orgânicos. Dos compostos analisados (metais e compostos organoclorados) não foi verificado nenhum parâmetro com valor superior a TEL. Com relação aos resultados dos testes de toxicidade realizados com *Hyalella azteca* (CETESB, 2003 e 2004) e aos dados de comunidade bentônica (CETESB, 2003), não foram verificados efeitos biológicos relevantes (Tabela 5.25).

Os resultados obtidos indicam que este corpo de água, principalmente o trecho entre a Usina Santa Rita e o município de Luiz Antônio, deveria ser melhor investigado, uma vez que foi observada toxicidade aguda para as três espécies testadas (Tabela 5.23), segundo o levantamento realizado por Espíndola et al. (2003)

Tabela 5.25. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do Rio Mogi-Guaçu, em junho 2002 e 2003, segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica (CETESB, 2003, 2004).

| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade | Química ^a | | | Toxicidade | | Bentos |
|-------|----------------|---|----------------|----------------------|---------------|---------------|-------------------------------|---------------|--------|
| | | | Teste de Ames | | | | <i>H. azteca</i> ^b | | ICB |
| | | | CETESB (2004) | CETESB (2003) | CETESB (2004) | CETESB (2003) | CETESB (2004) | CETESB (2004) | |
| 5 | Rio Mogi-Guaçu | a jusante da confluência com o córrego Arari ou Araras (MOGU 02220 ^c) | | | | | | | |

a = CETESB, 2004 e 2003: Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

b= efeitos observados: mortalidade e crescimento

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade da Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Bom  ausência mutagênicos <TEL, não tóxico, ICB =2

5.3.6. UGRHI 10 - RIO SOROCABA/ MÉDIO TIETÊ

Esta unidade de gerenciamento abrange duas bacias hidrográficas, a do rio Tietê, na sua porção média-superior, e a do rio Sorocaba. A bacia do Tietê médio-superior engloba o trecho do rio que se inicia na saída do reservatório de Pirapora do Bom Jesus e termina na barragem do reservatório de Barra Bonita (Figura 5.7).

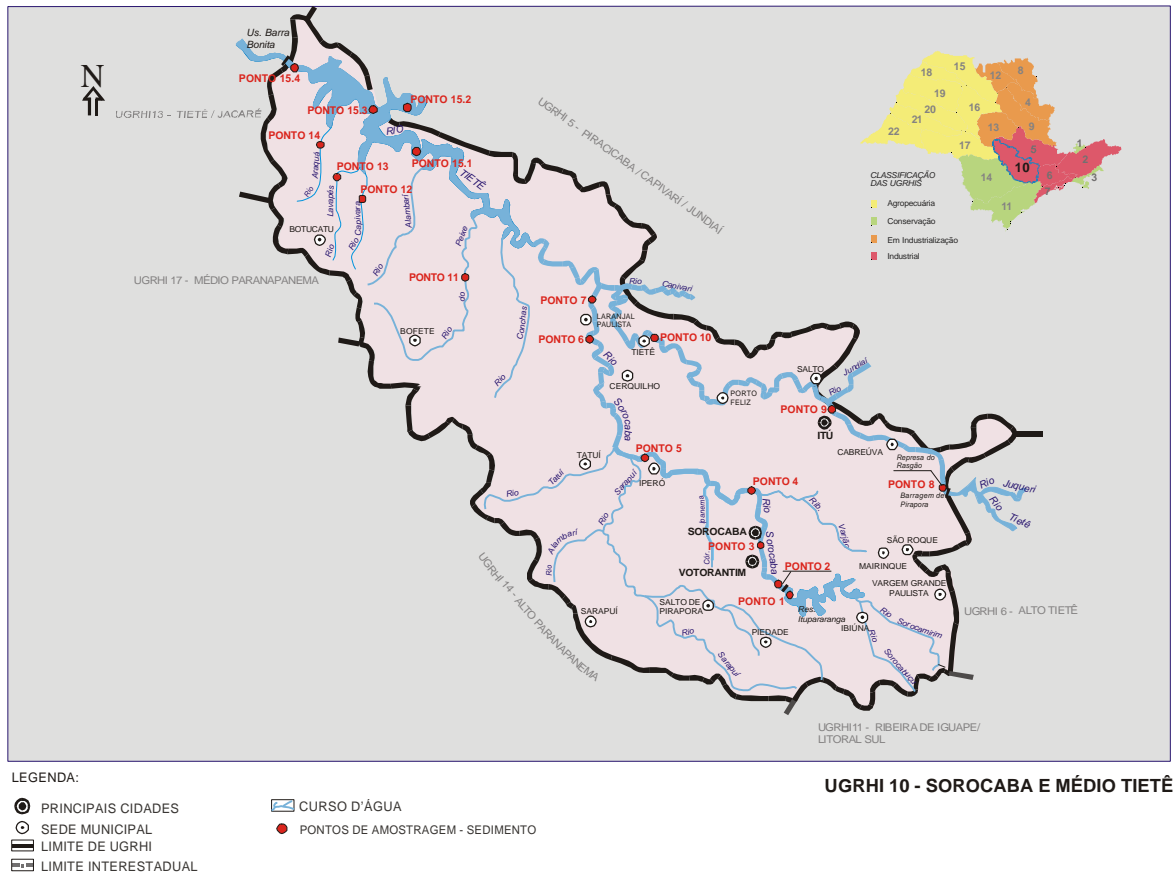


Figura 5.7. UGRHI 10 - Sorocaba e Tietê Médio-Superior, com a localização dos pontos de amostragem.

A bacia do rio Sorocaba é constituída pelo rio do mesmo nome, formado pelos rios Sorocamirim e Sorocabuçu. Seus principais afluentes são os rios Tatuí, Sarapuí e Pirajibú. Este rio tem a sua foz no rio Tietê, após percorrer cerca de 80km. Nesta bacia, encontra-se solo coberto por

mata natural, cerrado e cerradões, reflorestamento, pastagens e policultura variada, além de uso urbano e industrial. Este rio e afluentes recebem efluentes de indústrias têxteis, mecânica, química, papel e celulose, alimentícias, metalúrgicas, curtumes e usinas de açúcar e álcool. No alto curso do rio Sorocaba está localizado o reservatório de Itupararanga, que atende o abastecimento público de 63% da população da região. A preservação deste recurso hídrico é muito importante, pois a região é pobre em mananciais subterrâneos. Na área de drenagem dos rios Sorocamirim e Sorocabuçu existem culturas que são consumidoras de grandes quantidades de pesticidas, como morango, cebola, batata e tomate (CETESB, 2001, 2002).

A qualidade das águas e sedimentos do reservatório Itupararanga (Ponto 1) foram avaliadas em um projeto da CETESB, que teve como objetivo o desenvolvimento de índices biológicos da qualidade de comunidades aquáticas para reservatórios (CETESB, em elaboração a) (Tabela 5.26). Quanto à qualidade dos sedimentos, verificaram-se valores de efeito severo para DDE, porém não foi observada toxicidade aguda ou subletal para *Hyalella azteca* e a comunidade bentônica foi considerada boa, mostrando que este contaminante parece não estar disponível (CETESB, em elaboração a).

No rio Sorocaba, Kuhlmann e colaboradores (em elaboração) realizaram um estudo, simulando diferentes formas de integrar dados da comunidade bentônica, químicos e físicos e testes de toxicidade, existentes na literatura, visando estabelecer formas adequadas para se analisar os dados da rede de monitoramento da qualidade dos sedimentos do estado de São Paulo. Os resultados dos testes de toxicidade realizados com *Hyalella azteca*, adotando a proporção de sedimento e água de 1: 2, mostraram toxicidade aguda nos Pontos 3 e 4 e subletal nos Pontos 5 e 6 (Tabela 5.26). No Ponto 2, adotado inicialmente como referência, foi observado valores acima de efeito severo para alguns metais, e a comunidade bentônica apresentou qualidade regular, mas não foi observado toxicidade. Nos outros Pontos 3 a 5, a comunidade bentônica indicou estado ruim e boa apenas no Ponto 6. No ponto 4 foi obtida frequência elevada de deformidade no mento de *Chironomus*, o que mostra a presença de contaminantes causando um efeito sub-letal. No entanto, não foram observados valores de efeito para os compostos analisados nos Pontos 3 a 6. Portanto, como foi verificada toxicidade e alteração na comunidade bentônica nesses pontos, deve estar ocorrendo possíveis contribuições de outros contaminantes de origem doméstica (Ponto 3), industrial e/ou agrícola (Ponto 4 a Ponto 6), não analisados nesse estudo (Tabela 5.26).






Tabela 5.26. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no reservatório Itapararanga em julho e agosto de 2000 (CETESB, em elaboração a) e no Rio Sorocaba (KUHLMANN et al., em elaboração), em agosto de 2002, segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química ^a | Toxicidade <i>H. azteca</i> ^b | Deformidade <i>Chironomus</i> | Bentos ICB |
|-------|----------------------|--|----------------------|--|-------------------------------|------------|
| 1 | Reserv. Itapararanga | próximo da barragem (SOIT 02900 ^c) | Cr | | | |
| | | | DDT | | | |
| 2 | Rio Sorocaba | a jusante da barragem da Votorantim | Cu, Cr e Ni | | | |
| 3 | Rio Sorocaba | ponte do Pinga-Pinga, na Av. Marginal (SORO 02100 ^c) | | | | |
| 4 | Rio Sorocaba | bairro Vitória Régia | | | | |
| 5 | Rio Sorocaba | a motante do rio Sarapuí, município de Iperó | | | | |
| 6 | Rio Sorocaba | na captação do município de Cerquilha (SORO 02700 ^c) | | | | |

a = Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

b= efeitos observados: mortalidade e crescimento

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade da Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

| | |
|---------------|--|
| Não realizado |  |
| Bom |  <TEL, não tóxico, ausência de deformidade, ICB =2 |
| Regular |  ≥TEL e ≤PEL , efeito subletal (redução do crescimento) , presença de deformidade, ICB =3 |
| Ruim |  > PEL , efeito agudo na sobrevivência <50%, ICB = 4 |
| Péssimo |  efeito agudo na sobrevivência ≥50% |

A CETESB (2004) possui um ponto de amostragem no rio Sorocaba, na rede de monitoramento de sedimentos, localizado na captação de Cerquilha (Ponto 6) (Tabela 5.27). Neste ponto não foram observadas alterações relevantes na biota bentônica nem atividade mutagênica. Porém, foi observado efeito subletal (crescimento) para *Hyalella azteca*, que pode estar relacionada algum contaminante não identificado, pois as concentrações de metais, organoclorados e PCBs foram inferiores aos de efeito para a biota. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos anteriormente por Kuhlmann et al. (em elaboração), ou seja, apenas o teste de toxicidade com *Hyalella azteca* mostrou a possibilidade de presença de outros contaminantes não analisados neste trecho do rio.

Tabela 5.27. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no Rio Sorocaba, segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas, efeitos observados na comunidade bentônica (agosto de 2003, CETESB, 2004) e nos testes ecotoxicológicos (abril e junho de 1999, COSTA, 2001 e agosto de 2003, CETESB, 2004).


| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade | Química ^a | Toxicidade | | Bentos ICB |
|-------|---------------|--|----------------|----------------------|-----------------------------------|-------------------------------|---------------|
| | | | Teste de AMES | | <i>C. silvestrii</i> ^b | <i>H. azteca</i> ^c | |
| | | | CETESB (2004) | CETESB (2004) | Costa (2001) | CETESB (2004) | CETESB (2004) |
| 6 | Rio Sorocaba | na captação do município de Cerquilha (SORO 02700 ^d) | | | | | |
| 7 | Rio Sorocaba | antes da confluência com rio Tietê, próx. à Laranjal Paulista | | | | | |


a = Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

b= efeitos observados: reprodução

c= efeito observado: mortalidade e crescimento

d = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade da Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Bom  ausência de compostos mutagênicos, <TEL, ICB =2,

Regular  ≥TEL e ≤PEL , efeito sub-letal (redução do crescimento ou da fecundidade) , ICB =3

Costa (2001) avaliou a qualidade do sedimento do rio Sorocaba em um ponto próximo a Laranjal Paulista (Ponto 7) (Tabela 5.27). Neste local foi observada toxicidade crônica para *Ceriodaphnia silvestrii* (proporção sedimento e água 1:3). Quanto à granulometria, verificou-se que o sedimento foi predominantemente arenoso e inorgânico, mostrando a pouca capacidade destes sedimentos de reter contaminantes.

É interessante ressaltar que, neste trecho final do rio Sorocaba, foi observado efeito subletal para *Hyalella azteca* e crônico para *Ceriodaphnia silvestrii*, indicando que neste trecho do rio deveriam ser melhor investigadas as possíveis causas destes efeitos observados nos testes de toxicidade.

Quanto à bacia do rio Tietê médio-superior, que compreende o trecho entre as cidades de Pirapora do Bom Jesus e Laranjal Paulista, a degradação da qualidade ambiental é devido aos poluentes recebidos da Região Metropolitana da cidade de São Paulo (RMSP). Apesar de existirem instaladas cerca de 1020 indústrias nesta bacia, apenas 10% apresentam potencial significativo de poluição às águas, destacando-se indústrias têxteis, alimentícias, de papelão e papel, abatedouros, usinas de açúcar e álcool (CETESB, 2001). Na área rural da bacia encontram-se plantações de cana

de açúcar, café, citrus, hortaliças e frutas, pastagens cultivadas e naturais. Neste trecho do rio Tietê estão presentes os reservatórios de Rasgão e Barra Bonita. Em Rasgão, no trecho inicial do Médio Tietê, as águas apresentam qualidade ruim, mas verifica-se que ocorre um processo de recuperação, principalmente ao longo do corpo central do reservatório de Barra Bonita, devida à grande capacidade assimilativa deste corpo de água (CETESB, 2002).

A CETESB/SABESP, no período de agosto de 1997 e fevereiro de 1998, realizaram um levantamento dos sistemas Alto e Médio Tietê, com o objetivo de implantar e operacionalizar um programa integrado de dados das águas, sedimentos e comunidades biológicas (peixes). No trecho referente ao médio Tietê foram caracterizados os sedimentos do reservatório de Rasgão, rio Tietê em Itu, reservatório de Barra Bonita (corpo central, braço do Piracicaba e do Tietê) e um ponto a jusante deste corpo de água (CETESB; SABESP, 1998).

Neste estudo foram observadas toxicidade aguda para *Hyalella* sp. no corpo central do reservatório Rasgão (Ponto 8) e no rio Tietê (Ponto 9), em Itu, nas duas coletas realizadas (agosto de 1997 e fevereiro de 1998). O reservatório de Rasgão, entre todos os estudados, foi o que apresentou o maior índice de degradação, avaliado pelo método da tríade da qualidade do sedimento. Além da toxicidade, esse sedimento apresentou valores acima de efeito severo para metais (Cd, Pb, Cu, Cr, Ni, Zn), orgânicos (PCBs, DDT, DDD) e a comunidade bentônica esteve ausente (azóico) (Tabela 5.28).

Quanto ao ponto localizado no rio Tietê (Ponto 9) em Itu, foi verificado níveis de contaminação entre TEL e PEL para cromo, níquel, zinco, DDT (Tabela 5.28). Este sedimento foi classificado como arenoso e inorgânico, portanto com baixa capacidade de reter contaminantes. Com relação à comunidade bentônica, ocorreram as maiores densidades de organismos de todo o sistema, com dominância acentuada para organismos resistentes a poluição, mostrando desta forma um ambiente sob forte influência de esgotos domésticos. O diagnóstico pela tríade mostrou alto índice de degradação na primeira campanha e intermediário na segunda. Esta melhora foi associada à possível lavagem do leito do rio, com conseqüente carreamento dos sedimentos finos, devido aos aumentos na vazão e na velocidade de fluxo (CETESB; SABESP, 1998).

A incidência de deformidade no mento em larvas de *Chironomus*, em uma amostra coletada neste mesmo local, em fevereiro de 1998, foi superior ao encontrado em ambientes naturais (KUHLMANN et al., 2000), mostrando, dessa forma, a presença de contaminantes causando um efeito sub-letal.

Tabela 5.28. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no Rio Tietê e no reservatório de Barra Bonita (março de 1997 e setembro de 1998, CETESB; SABESP, 1998; outubro de 2000 e 2001, Mozeto et al., 2003; outubro de 1999 e fevereiro, maio e julho de 2000, Fracacio, 2001), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química ^a | | Toxicidade ^b | | | | | Bentos | |
|-------|----------------------|---|--|---|-------------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|
| | | | CETESB/SABESP (1998) | Mozeto et al. (2003) | CETESB/SABESP (1998) | Mozeto et al. (2003) | | Rodgher (2001) | Fracacio (2001) | Costa (2001) | Mozeto et al. (2003) |
| | | | | | <i>H. meinerti</i> | <i>H. azteca</i> | <i>C. xanthus</i> | <i>D. similis</i> | <i>D. rerio (larva)</i> | <i>Ceriodaphnia</i> | |
| 8 | Reserv. Rasgão | próximo à barragem ^c | PCBs, DDE Cd, Pb, Cu, Cr, Ni, Zn, DDT, DDD | Cd, Hg, DDE, PCB's, PAHs ^d As, Pb, Cu, Cr, Ni, Zn, PAHs | | | | | | | |
| 9 | Rio Tietê | na ponte da rod. Marechal Rondon (SP 300), em Itú | Cr, Ni, Zn, DDT | | | | | | | | |
| 10 | Rio Tietê | na cidade de Tietê | | | | | | | | | |
| 15.1 | Reserv. Barra Bonita | no braço do rio Tietê, na ponte da rod. SP191, que liga St. Maria da Serra a São Manuel | Cd, Pb, Cu, Cr, Zn DDE, DDD Ni | | | | | | | | |
| 15.2 | Reserv. Barra Bonita | no braço do rio Piracicaba, na ponte da rod. SP191, que liga St. Maria da Serra a S. Manuel | Cd, Pb, Cr, Ni Cr | | | | | | | | |
| 15.4 | Reserv. Barra Bonita | a montante da barragem | Cd, Cu, Cr, Zn, DDE Ni | Cu, Cr, DDE, PAHs ^e As, Ni, Lindano | | | | | | | |

a = CETESB; SABESP, 1998: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Lindano e PCBs

Mozeto et al., 2003: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Ni, Zn, DDE, Dieldrin, Lindano, PCBs e os PAHs: acenafteno, acenaftaleno, antraceno, benzo (a) antraceno, benzo (a) pireno, criseno, dibenzo (a,h) antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, naftaleno, pireno

b = testes realizados com *H. meinerti*, *H. azteca*, *C. xanthus*, *D. similis*, *D. rerio*; efeito observado: mortalidade

testes realizados com *Ceriodaphnia* (*C. dubia* e *C. silvestrii*); efeito observado: redução na fecundidade

c = Ponto 8, TIRG 02900; Ponto 15.1, TIBT 02500; Ponto 15.2, PCBP 02500 (UGRHI 5) da rede de Monitoramento da Qualidade das Águas do Estado de São Paulo, CETESB

d = acenafteno, acenaftaleno, antraceno, benzo (a) antraceno, benzo (a) pireno, criseno, dibenzo (a,h) antraceno, fluoranteno, naftaleno, pireno

e = fluoreno e fenantreno

f = naftaleno, acenaftaleno, fenantreno, pireno, dibenzo (a,h) antraceno

Não realizado Bom não tóxico Regular efeito crônico (fecundidade), >TEL e <PEL
Ruim > PEL, IC = 4 Péssimo efeito agudo na sobrevivência ≥50%, ICB = 5

No reservatório Barra Bonita, os pontos amostrados no braço do rio Piracicaba (UGRHI 5) (Ponto 15.2), no braço do rio Tietê e próximo a barragem (UGRHI 10) (P15.1 a P15.4), não apresentaram toxicidade (Tabela 5.28). Com relação à comunidade bentônica, no braço do Tietê foi observada uma baixa diversidade, menor que no braço do Piracicaba, mostrando que a biota deste local encontra-se sujeita ao estresse promovido principalmente pela hipoxia. O ponto próximo à barragem, foi o de maiores valores de diversidade encontrados para este tipo de ambiente. Estes sedimentos apresentaram granulometria fina, enriquecimento por nutrientes, e concentrações acima de efeito severo para níquel, no braço do rio Tietê e a montante da barragem e, de cromo, no braço do Piracicaba (CETESB; SABESP, 1998).

Dentro do projeto QualiSed foi avaliada o sedimento de cinco reservatórios do rio Tietê, dentre eles o de Rasgão e Barra Bonita (MOZETTO et al., 2003). Em cada reservatório foram realizadas duas campanhas, no mês de outubro de 2000 e de 2001, sendo que as amostras foram coletadas próximas da barragem (1 a 3km).

O sedimento do reservatório de Rasgão (Ponto 8) apresentou toxicidade aguda para *Hyalella azteca* e *Chironomus xanthus*. Não foi encontrado nenhum organismo bentônico, e vários contaminantes (arsênio, cobre, cromo, chumbo, zinco, níquel, fluoreno, fenantreno) apresentaram-se acima do que é esperado efeito para as comunidades bentônicas (PEL) (Tabela 5.28) (MOZETTO et al., 2003). Silvério (2003) verificou, no entanto, que os metais não estariam disponibilizados, estando ligados aos sulfetos voláteis e/ou ao carbono orgânico particulado ou total desses sedimentos.

O estudo de avaliação e identificação da toxicidade (AIT), realizado com amostras de sedimento coletadas nesse reservatório, mostrou que a amônia é um dos principais responsáveis pela sua toxicidade, existindo também grandes indícios sobre o sulfeto de hidrogênio (ARAÚJO et al., 2005). A ausência total de organismos observada foi relacionada com a falta de oxigênio, além da presença de elevadas concentrações de amônia, seguida pelos ácidos voláteis (cianeto e sulfídrico), ou seja, esse ambiente encontra-se em desequilíbrio, devido ao excesso de carga orgânica proveniente da região metropolitana de São Paulo.

Quanto ao reservatório de Barra Bonita (Ponto 15.4), foi observada toxicidade aguda para *Hyalella azteca* e *Chironomus xanthus* (MOZETTO et al., 2003; ALMEIDA, 2002). As análises químicas realizadas mostraram que o arsênio, níquel e o Lindano ultrapassaram a concentração de efeito severo para a biota (PEL) (Tabela 5.28). Os metais presentes nesse sedimento, porém, não estariam disponibilizados e sim complexados e/ou precipitados pelos sulfetos (sulfetos volatilizáveis por

acidificação, SVA) e/ou pelo carbono (carbono orgânico total, COT) presentes nestes sedimentos (MOZETO et al, 2002; SILVÉRIO, 2003). Silvério (2003) verificou que os sedimentos de Barra Bonita apresentam uma variação sazonal na concentração de SVA, sendo que no período de seca foi observado um maior estoque do que no período de chuvas, mas, em todo o período estudado, houve um excesso de SVA em todas as amostras, mostrando que esta fase é uma das que controla a disponibilidade dos metais no sedimento.

O sedimento do reservatório de Barra Bonita foi analisado por Fracacio (2001) e Rodgher (2001), em um ponto a montante da barragem (Ponto 15.4), em quatro campanhas realizadas em outubro de 1999, fevereiro, maio e julho de 2000 (Tabela 5.28). Estas amostras foram utilizadas para testes de toxicidade crônico parcial com larvas *Danio rerio*, tendo sido avaliado, além da mortalidade, o peso e o comprimento dos organismos após o período de exposição de 7 dias (FRACACIO, 2001). Também foram realizados testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis* (48h de exposição) (RODGER, 2001). Os sedimentos coletados a jusante apresentaram, em apenas uma campanha, baixa toxicidade para *Daphnia similis*, porém, para larvas de *D. rerio* foi observada alta mortalidade nas quatro campanhas (Tabela 5.28).

Os sedimentos de Barra Bonita, foram utilizados em um estudo de AIT, realizados por Paschoal (2002). No caso do sedimento do braço do rio Tietê, coletados em setembro de 2000, os resultados obtidos mostraram que, além dos metais, provavelmente compostos voláteis são os principais responsáveis pela toxicidade da amostra.

Os resultados apresentados no Relatório de Qualidade das Águas interiores do Estado de São Paulo (CETESB, 2004), mostram que o sedimento de Barra Bonita, no corpo central, a jusante da confluência dos braços do rio Tietê e Piracicaba (Ponto 15.3), apresenta qualidade ótima, para todas as variáveis analisadas (toxicidade, metais, compostos organoclorados, PCBs, comunidade bentônica e compostos orgânicos mutagênicos), não indicando acúmulo histórico de contaminantes. As águas deste reservatório, no entanto, têm apresentado elevado grau de eutrofização, com problemas de toxicidade por cianobactérias ao longo do ano (Tabela 5.29).

Em abril e junho de 1999, Costa (2001) e Costa e Espíndola (2000) realizaram avaliação da qualidade da água e sedimento, através de testes de toxicidade, em 10 pontos desta bacia de drenagem do rio Tietê Médio-Superior, incluindo os principais rios e ribeirões da bacia além de um ponto a montante e a jusante da barragem do reservatório de Barra Bonita (Tabela 5.28 e 5.30). Nestes testes foi utilizada como água de diluição a coletada no próprio local. Todos os pontos

localizados nesta UGRH apresentaram toxicidade crônica (Pontos 10 a 14) ou aguda (Ponto 15.4) para *Ceriodaphnia dubia* e *C. silvestrii*. É importante ressaltar que a água do rio Capivari apresentou toxicidade crônica. Apesar dos sedimentos testados terem apresentado baixa capacidade de reter contaminantes (arenosos), os resultados obtidos indicam que seria importante avaliar melhor estes pontos, utilizando outras variáveis.

Tabela 5.29. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no Reservatório de Barra Bonita, em maio de 2003, segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica (CETESB, 2004).

| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade Teste de AMES | Química ^a | Toxicidade <i>H. azteca</i> ^b | Bentos ICB |
|-------|----------------------|---|---------------------------------|----------------------|---|---------------|
| 15.3 | Reserv. Barra Bonita | no meio do corpo central, a jusante da confluência dos braços dos rios Tietê e Piracicaba (TIBB02100 ^c) | | | | |

a = Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

b= efeito observado: mortalidade e crescimento

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade da Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Ótimo ICB = 1 Bom <TEL, ausência de mutagênicos, não tóxico

Tabela 5.30. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do Rio Tietê Médio Superior, em abril de 1999, segundo os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos (COSTA; ESPÍNDOLA, 2000; COSTA, 2001).

| Ponto | Corpo de água | Localidade | Costa (2001) | |
|-------|---------------|--|-----------------|----------------------|
| | | | <i>C. dubia</i> | <i>C. silvestrii</i> |
| 11 | Rio do Peixe | em Pirambóia, nas coord. 22° 55' 730"S e 48° 08' 093"W | | |
| 12 | Rio Capivari | nas coord. 22° 45' 576"S e 48° 20' 002"W | | |
| 13 | Rio Lavapés | nas coord. 22° 44' 665"S e 48° 23' 350"W | | |
| 14 | Rio Araquá | nas coord. 22° 39' 585"S e 48° 27' 465"W | | |

Regular efeito crônico (fecundidade)

O ponto mais crítico desta UGRHI foi o sedimento do reservatório de Rasgão. Verifica-se também pelos resultados obtidos, que seria importante avaliar melhor a qualidade dos sedimentos dessa unidade, introduzindo, se possível, pontos no rio Tietê e seus tributários e no reservatório de Barra Bonita, próximo à barragem.

5.3.7. UGRHI 11 - RIBEIRA DE IGUAPE/LITORAL SUL

Os principais constituintes dessa UGRHI são os rios Juquiá e Ribeira de Iguape (Figura 5.8). Predominam nessa região atividades rurais ligadas às culturas de banana e chá, além de significativa extração de areia e turfa.

Na bacia do Ribeira de Iguape, uma das principais fontes potenciais de contaminantes para a região era a presença de mineradoras na região do Vale do Ribeira que, devido a problemas econômicos e restrições ambientais, tiveram suas atividades encerradas em 1995. Apesar da paralisação das atividades mineradoras, o resíduo proveniente da extração de metais permaneceu disposto próximo as minas abandonadas.

A CETESB, desde a década de 80, vem realizando levantamentos na região, tendo sido constatado a presença de metais pesados, em especial o chumbo na água, no sedimento e na biota (peixes e ostras) (EYSINK et al., 2000).

Foi realizado um levantamento em 1998 (novembro), que teve como objetivo mostrar um panorama do comprometimento da água, do sedimento e dos organismos aquáticos, pelos metais pesados. Este incluiu o rio Ribeira de Iguape, desde a região a montante da desembocadura do ribeirão Rocha, até a sua foz na Barra do Ribeira, além dos seus afluentes Furnas, Betari e Rocha.

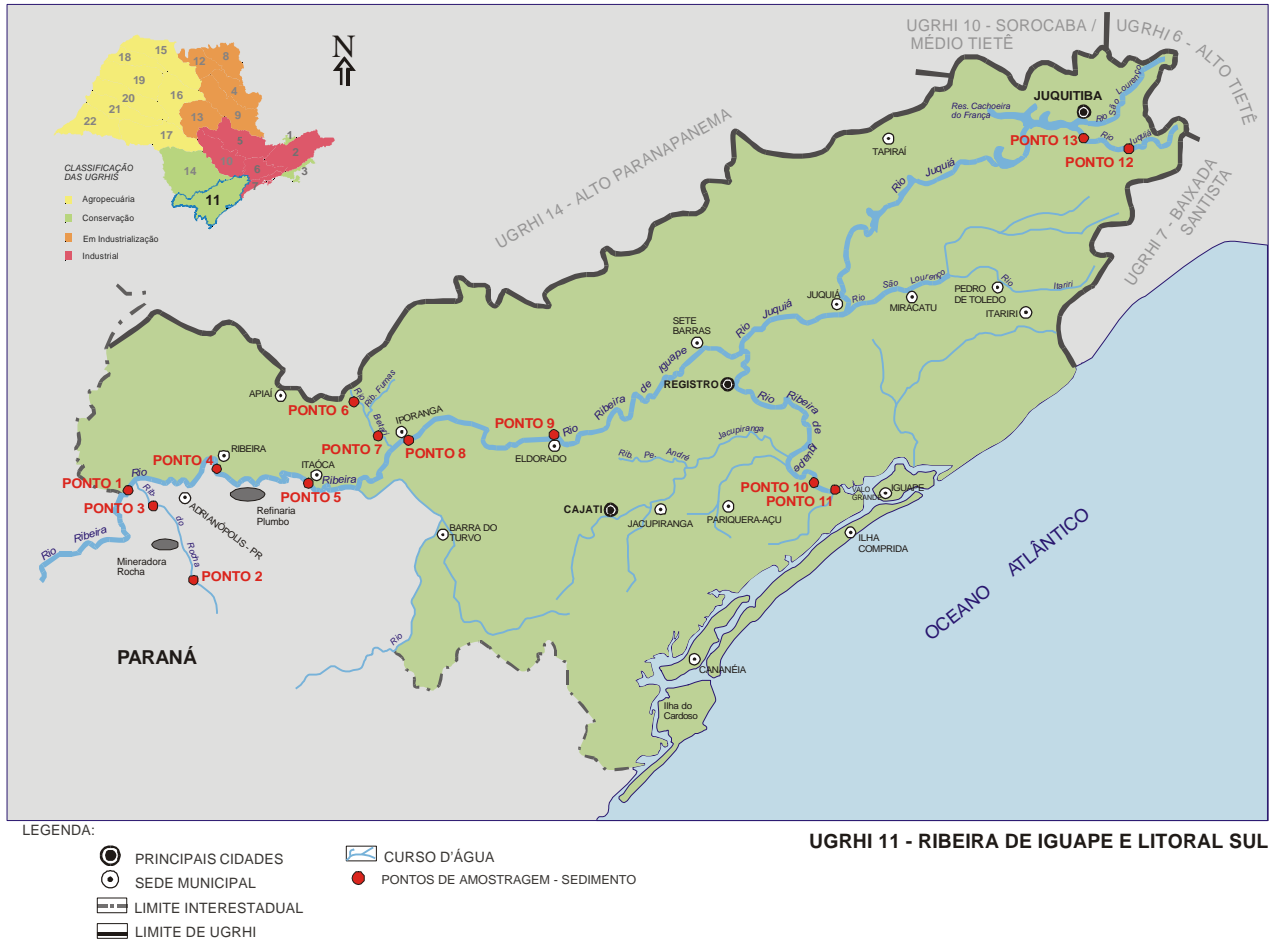


Figura 5.8. UGRHI 11 - Ribeira de Iguape/Litoral Sul , com a localização dos pontos de amostragem.

Os resultados obtidos nas amostras de sedimento analisadas (3 réplicas para a maioria dos pontos) mostraram concentrações acima de efeito para o arsênio e alguns metais, mas principalmente o chumbo, sendo que nos Ribeirões Rocha (Ponto 3) e Betari (Ponto 6), a quantidade de Pb encontrada no sedimento ultrapassou 10 e 4 vezes o valor estabelecido para PEL, respectivamente. No entanto, não foi observada toxicidade aguda para *Hyalella* sp. (EYSINK et al., 2000) (Tabela 5.31).

Tabela 5.31. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do rio Ribeira de Iguape, em novembro de 1998, segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos (EYSINK et al., 2000).

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química ^a | Toxicidade ^b <i>Hyalella</i> sp. |
|-------|-----------------------|--|----------------------|--|
| 1 | Rio Ribeira de Iguape | a montante do Ribeirão Rocha, em Adrianópolis, PR | | |
| 2 | Ribeirão Rocha | a montante da mineradora Rocha, em Adrianópolis, PR | As e Cu | |
| 3 | Ribeirão Rocha | a jusante da mineradora Rocha, em Adrianópolis, PR | As, Cu, Hg, Zn Pb | |
| 4 | Rio Ribeira de Iguape | município de Ribeira, a montante da refinaria Plumbum, PR | Pb | |
| 5 | Rio Ribeira de Iguape | município de Itaoca, a jusante da Refinaria Plumbum, PR (RIBE 02500 ^c) | Hg Pb | |
| 6 | Ribeirão Betari | montante do Ribeirão Furnas, em Iporanga | Cu e Hg | |
| 7 | Ribeirão Betari | jusante do Ribeirão Furnas, em Iporanga | Cu As, Pb, Zn | |
| 8 | Rio Ribeira de Iguape | município de Iporanga, a jusante do Ribeirão Betari | Pb | |
| 9 | Rio Ribeira de Iguape | ponte da cidade de Eldorado | Hg Pb | |
| 11 | Rio Ribeira de Iguape | cerca de 500m a montante do canal do Valo Grande | Pb e Hg | |

a = As, Cd, Pb, Cu, Hg e Zn

b = efeito observado: mortalidade

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade da Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Bom  <TEL, não tóxico Regular  ≥TEL e ≤PEL Ruim  > PEL

A CETESB possui um ponto na rede de monitoramento de sedimento, localizado no rio Ribeira de Iguape, a montante da ponte do Valo Grande (Ponto 10) (CETESB, 2004). Nesse ponto, os metais que superaram o limite de início de efeito foram o chumbo e cromo, porém, não foram observados efeitos tóxicos para *Hyalella azteca*, presença de compostos mutagênicos e a comunidade betônica foi considerada ótima. (Tabela 5.32)




Tabela 5.32. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do rio Ribeira de Iguape, em junho de 2003, segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos (CETESB, 2004).

| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade Teste de AMES | Química ^a | Toxicidade ^b <i>H. meinerti</i> | Bentos ICB |
|-------|-----------------------|--|---------------------------------|----------------------|---|---------------|
| 10 | Rio Ribeira de Iguape | cerca de 1.500m a montante do canal do Valo Grande (RIIG 02890) ^c | | Pb, Cr | | |

a = Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Dieldrin, Endrin, Heptahloro epóxido, Lindano e PCBs

b= efeito observado: mortalidade e crescimento

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade da Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Ótimo  ICB = 1 Bom  ausência de mutagênicos, não tóxico Regular  \geq TEL e \leq PEL

Na bacia do rio Juquiá, a CETESB realizou um estudo para caracterizar a qualidade da água e dos sedimentos, no período de cheia (fevereiro/março de 1998) e seca (julho e agosto de 1998), visando avaliar a possibilidade de reversão das águas da bacia do Rio Juquiá para a bacia do Guarapiranga (CETESB, 2000). Nos 2 pontos amostrados nessa UGRHI (Pontos 12 e 13, Tabela 5.33), foi observado ausência de compostos mutagênicos e toxicidade. No ponto 12 foi encontrado cromo na faixa de concentrações em que é esperado ocasionalmente efeito para a biota e a qualidade da comunidade bentônica foi considerada regular. No ponto 13 a qualidade da comunidade foi boa. Na análise integrada desses dados, pela tríade da qualidade do sedimento, adotando o ponto 13 como referência, verificou-se que as alterações observadas na comunidade bentônica no ponto 12 podem ter sido causadas pela presença de contaminantes no sedimento.

Como foram encontrados níveis elevados de chumbo na bacia do rio Ribeira de Iguape, os sedimentos deste corpo de água devem ser monitorados, utilizando-se testes que sejam capazes de detectar efeitos sub-letais e crônicos para a comunidade bentônica assim como a bioacumulação.

Tabela 5.33. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do rio Juquiá, em fevereiro/março e julho/agosto de 1998, segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica (CETESB, 2000).

| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade Teste de AMES | Química ^a | Toxicidade ^b <i>Hyalella</i> sp. | Bentos ICB |
|-------|---------------|--|---------------------------------|----------------------|--|---------------|
| 12 | Rio Juquiá | a jusante do ribeirão dos Carmos, no município de Juitiba | | Cr | | |
| 13 | Rio Juquiá | a montante da SP-57, no município de Juitiba | | | | |

a = As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDE, DDT, Lindano, PCBs

b = efeito observado: mortalidade

Bom



ausência de mutagênicos, < TEL, não tóxico

Regular



≥ TEL e ≤ PEL, ICB= 3

5.3.8. UGRHI 12 - BAIXO PARDO/GRANDE

Nesta bacia (Figura 5.9), Brigante e Espíndola (2003) avaliaram a qualidade de um ponto no rio Pardo (Ponto 1), localizado próximo da cidade de Barretos, como parte do projeto de estudo das condições ambientais do rio Mogi-Guaçu.

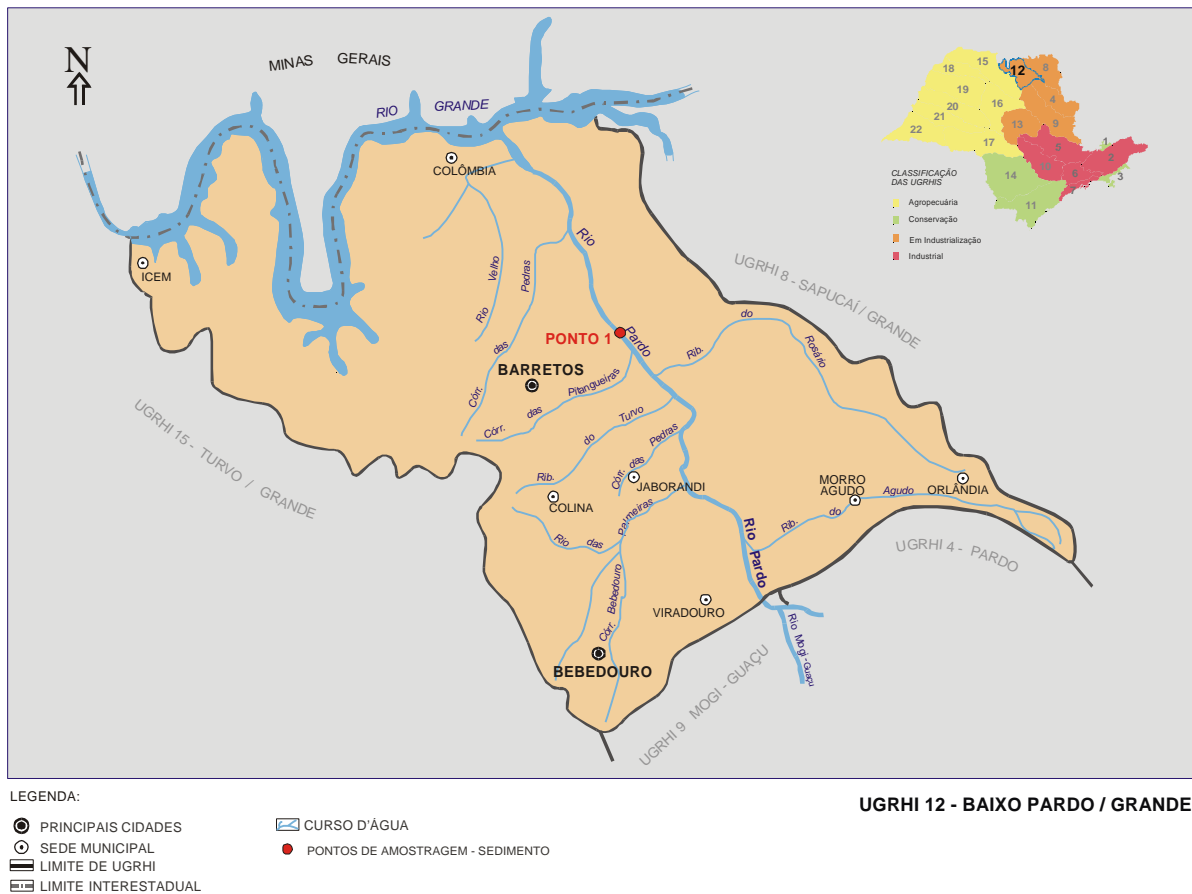


Figura 5.9. UGRHI 12 – Baixo Pardo/Grande, com a localização do ponto de amostragem.

Neste ponto, os resultados dos testes de toxicidade aguda, realizados com três espécies (*Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Chironomus xanthus*) mostraram diferença no diagnóstico desse local (bom a péssimo) (Tabela 5.34). Além disso, foi observada também variação dos resultados nas diferentes campanhas (agosto e novembro de 2000 e março e junho de 2001 para *Chironomus xanthus* e apenas as três últimas campanhas para *D. similis* e *C. dubia*). Para *Ceriodaphnia dubia* foi verificado um maior número de resultados tóxicos em novembro e junho, e, para *Chironomus xanthus* isso ocorreu na campanha de março. Com relação à contaminação química, não foram observadas concentrações elevadas de metais (Cu, Cd, Cr, Pb, Ni, Zn), porém é importante ressaltar que, dentre os 16 compostos organoclorados analisados, foi detectado a presença dos agrotóxicos Aldrin e trans-heptacloro. Desta forma, como foi observada toxicidade e presença de compostos organoclorados, seria interessante monitorar este ponto, para que se possa estabelecer melhor a qualidade desse ambiente.

Tabela 5.34. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no rio Pardo em agosto e novembro de 2000 e março e junho de 2001, segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas (BRIGANTE et al., 2003b, c) e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos (ESPÍNDOLA et al, 2003).

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química ^a | Toxicidade ^b | | |
|-------|---------------|--|-------------------------------|-------------------------|-----------------|-------------------|
| | | | Brigante et al. (2003b, c) | Espindola et al. (2003) | | |
| | | | | <i>D. similis</i> | <i>C. dubia</i> | <i>C. xanthus</i> |
| 1 | Rio Pardo | na rodovia SP 425, nas proximidades de Barretos ^c | Cd, Cr, Pb, Ni | | | |

a= Cu, Cd, Cr, Pb, Ni, Zn, Lindano, DDT, DDE, DDD, Endrin

b= efeito observado: mortalidade

c = ponto PARD 02800 da Rede de Monitoramento da Qualidade da Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

Bom não tóxico

Regular \geq TEL e \leq PEL

Ruim efeito agudo na sobrevivência <50%,

Péssimo efeito agudo na sobrevivência \geq 50%

5.3.9. UGRHI 13 – TIETÊ/JACARÉ

Fazem parte desta UGRHI o trecho do rio Tietê da barragem de Barra Bonita até a barragem de Ibitinga e os principais afluentes, os rios Jacaré Guaçu e Jacaré Pepira (Figura 5.10). Nessa região predominam atividades agropecuárias e agroindustriais.

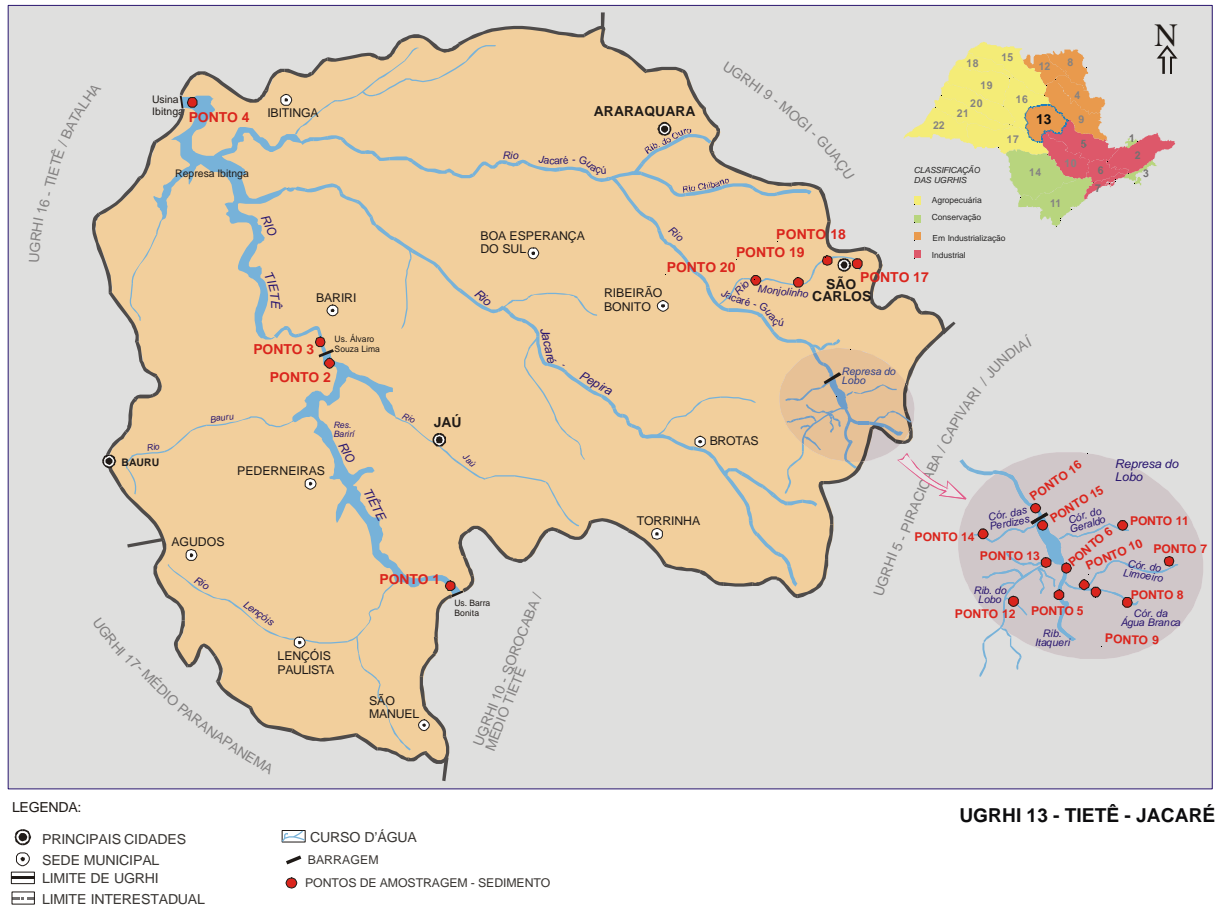


Figura 5.10. UGRHI 13 – Tietê/ Jacaré, com a localização dos pontos de amostragem.

Dos corpos de água desta UGRHI, o reservatório de Bariri foi o mais estudado. Para este reservatório, existem dados químicos, ecotoxicológicos e da comunidade bentônica. Os resultados apresentados na tabela 5.35 mostram que, apesar de não ter sido detectado efeito tóxico agudo para *H. azteca* e *C. xanthus*, foram encontradas concentrações acima de PEL para o níquel e arsênio e a comunidade bentônica foi classificada como regular. Apenas Fracacio (2001) observou efeito para larvas de *D. rerio*. Esse efeito também foi detectado nas amostras coletadas a jusante da barragem e no reservatório de Ibitinga.

Verifica-se, na tabela 5.35 que no ponto coletado a jusante as barragem de Barra Bonita não foram observados contaminantes em concentrações elevadas, no levantamento realizado em 1998 pela CETESB/SABESP e não foi observado toxicidade para *Hyaella* sp. (CETESB; SABESP, 1998) e para *C. dubia* (RODGHER, 2001), porém, verificou-se toxicidade aguda para larvas de *D. rerio* (FRACÁCIO, 2001).

A caracterização ecotoxicológica da represa do Lobo (Broa) e de seus tributários foi realizada por Dornfeld et al. (2002). Foram analisados doze pontos, sendo oito nos tributários e três no corpo da represa (Figura 5.10). Destes, foi verificada toxicidade para as duas espécies, *Daphnia similis* e *Chironomus xanthus*, nos sedimentos coletados nos dois pontos do córrego Itaqueri e no córrego do Geraldo, somente para *Chironomus xanthus* (Tabela 5.36).

O córrego Monjolinho, que integra a bacia hidrográfica do rio Jacaré-Guaçú, foi avaliado por Mendes (1998). Este córrego recebe parte do esgoto da cidade de São Carlos, além de despejos industriais de curtumes, fábricas de papel, tintas, alimentos, dentre outros. Nos quatro pontos estudados, ou seja, próximo da cabeceira até quase a sua desembocadura no rio Jacaré-Guaçú (Figura 5.10), foi detectada toxicidade crônica para *Ceriodaphnia dubia*, nas amostras de sedimento, em pelo menos uma das três campanhas realizadas, entre julho e agosto de 1998 (Tabela 5.37). A toxicidade obtida não foi relacionada aos metais analisados, uma vez que todos apresentaram valores abaixo de TEL. Portanto, a toxicidade nesses pontos deveria ser melhor investigada, pois esse efeito também foi verificado nas amostras de água, exceto no Ponto 20, em pelo menos uma das campanhas realizadas no período de chuvas e seca.

Tabela 5.35. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na bacia do rio Tietê/Jacararé, em agosto e fevereiro de 1998 (CETESB; SABESP, 1999), outubro de 2000 (MOZETO et al., 2003), e em outubro de 1999, fevereiro, maio e julho de 2000 (FRACACIO, 2001; RODGHER, 2001), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química ^a | | Toxicidade ^b | | | | | Bentos |
|-------|------------------|--|----------------------|---|-------------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|----------------------|
| | | | CETESB/SABESP (1999) | Mozeto et al. (2003) | CETESB/SABESP (1999) | Mozeto et al. (2003) | | Rodgher (2001) | Fracacio (2001) | Mozeto et al. (2003) |
| | | | | | <i>Hyalella</i> sp. | <i>H. azteca</i> | <i>C. xanthus</i> | <i>D. similis</i> | <i>D. rerio</i> (larva) | |
| 1 | Rio Tietê | a jusante da barragem do reserv. Barra Bonita ^c | | | | | | | | |
| 2 | reserv. Bariri | a montante da barragem | | Cu, Cr, Pb e PAHs ^d As e Ni | | | | | | |
| 3 | Rio Tietê | a jusante da barragem do reserv. Bariri | | | | | | | | |
| 4 | reserv. Ibitinga | a montante da barragem | | | | | | | | |

a = CETESB; SABESP, 1999: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Lindano e PCBs

Mozeto et al., 2003: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Ni, Zn, DDE, Dieldrin, Lindano, PCBs e os PAHs: acenafteno, acenaftaleno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo (a,h)antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, naftaleno, pireno

b = efeito observado: mortalidade

c = ponto TIET 02500 da Rede de Monitoramento da Qualidade da Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

d = acenaftaleno, dibenzo (a,h)antraceno, fenantreno, naftaleno, pireno

| | | | | | |
|------|---|------------|---------|---|------------------------------------|
| Bom |  | não tóxico | Regular |  | ≥TEL e ≤PEL, ICB =3 |
| Ruim |  | >PEL | Péssimo |  | efeito agudo na sobrevivência ≥50% |

Tabela 5.36. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados na represa do Lobo (Broa) e em seus tributários, em outubro de 2000, segundo os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos (DORNFELD et al., 2002).

| Ponto | Corpo de água | Localização | Toxicidade ^a | |
|-------|-----------------------|------------------------|-------------------------|-------------------|
| | | | <i>D. similis</i> | <i>C. xanthus</i> |
| 5 | Córrego Itaquerí 1 | não mencionada | | |
| 6 | Córrego Itaquerí 2 | não mencionada | | |
| 7 | Córrego do Limoeiro | não mencionada | | |
| 8 | Córrego Água Branca 1 | não mencionada | | |
| 9 | Córrego Água Branca 2 | não mencionada | | |
| 10 | Limoeiro Água Branca | não mencionada | | |
| 11 | Córrego do Geraldo | não mencionada | | |
| 12 | Ribeirão do Lobo 1 | não mencionada | | |
| 13 | Ribeirão do Lobo 2 | não mencionada | | |
| 14 | Córrego das Perdizes | não mencionada | | |
| 15 | Represa do Lobo | a montante da barragem | | |
| 16 | Represa do Lobo | a jusante da barragem | | |

a = efeito observado: mortalidade






| | | |
|---------|---|------------------------------------|
| Bom |  | não tóxico |
| Ruim |  | efeito agudo na sobrevivência <50% |
| Péssimo |  | efeito agudo na sobrevivência ≥50% |

Tabela 5.37. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no córrego Monjolinho, em julho, agosto de 1997, segundo os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos (MENDES, 1998).

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química ^a | Toxicidade ^b <i>C. dubia</i> |
|-------|----------------|---|----------------------|--|
| 17 | Rio Monjolinho | na fazenda St. Terezinha, bairro da Babilônia | | |
| 18 | Rio Monjolinho | junto ao SAAE, na estrada Municipal Scatena próximo à entrada da represa da UFSCar | | |
| 19 | Rio Monjolinho | jusante da cidade de São Carlos, após a queda de água da usina da CPFL e do córrego Água Fria | | |
| 20 | Rio Monjolinho | a montante do córrego do Can-Can | | |

a = Cu, Cr e Zn

b= efeito observado: sobrevivência e fecundidade

Bom  <TEL Regular  efeito crônico (fecundidade)

5.3.10. UGRHI 15 - TURVO/GRANDE

Nesta UGRHI encontram-se as bacias do rio Turvo, Grande e Preto e os reservatórios Água Vermelha e parte do reservatório Ilha Solteira (Figura 5.11).

A CETESB, em 2003, avaliou a qualidade do sedimento do reservatório Água Vermelha, no braço do ribeirão Tomazinho (Tabela 5.38). Não foram observados efeitos tóxicos para *Hyalella azteca* e atividade mutagênica, mas foi detectado Cr e DDE acima de PEL, e a comunidade apresentou alteração, provavelmente relacionada com a baixa concentração de oxigênio dissolvido na água do fundo. Seria importante, portanto, realizar uma investigação para confirmar a presença desses contaminantes no sedimento deste reservatório, analisando amostras no corpo central e próximo da barragem.

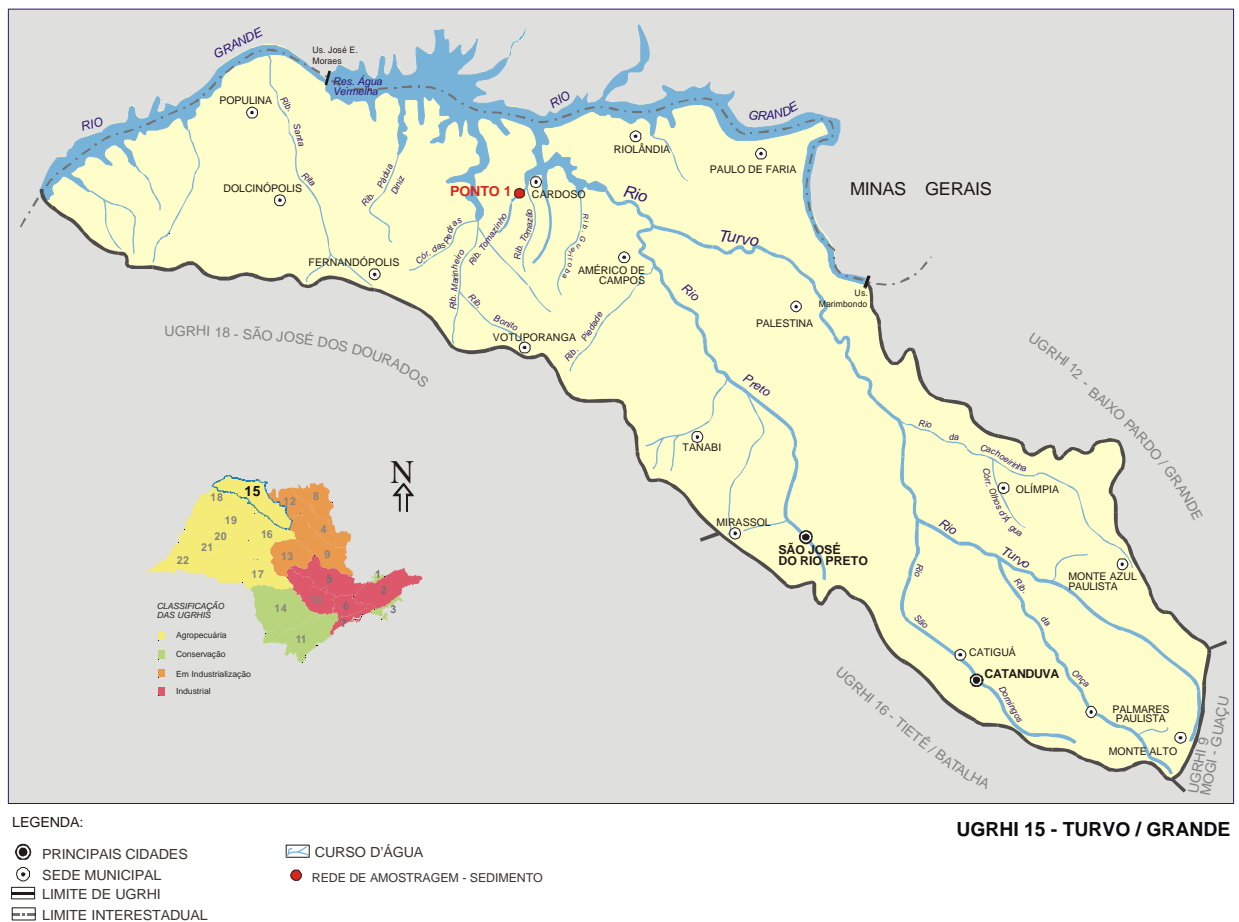


Figura 5.11. UGRHI 15 – Turvo/Grande, com a localização dos pontos de amostragem.




Tabela 5.38. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no reservatório Água Vermelha, em maio de 2003, segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica (CETESB, 2004).

| Ponto | Corpo de água | Localização | Mutagenicidade Teste de AMES | Química ^a | Toxicidade ^b <i>H. azteca</i> | Bentos ICB |
|-------|-----------------------|---|---------------------------------|----------------------|---|---------------|
| 1 | reserv. Água Vermelha | braço do rib. Tomazinho TOMZ02990 ^c | | Cu Cr e DDE | | |

a = Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni, Zn, DDT, DDE, DDD, Dieldrin, Endrin, Heptacloro epóxido, Lindano e PCBs

b= efeito observado: mortalidade e crescimento

c = denominação do ponto na Rede de Monitoramento da Qualidade da Águas Interiores do Estado de São Paulo, CETESB

| | | |
|---------|---|-------------------------------------|
| Bom |  | ausência de mutagênicos, não tóxico |
| Regular |  | ≥TEL e ≤PEL , ICB =3 |
| Ruim |  | >PEL |

5.3.11. UGRHI 16 - TIETÊ/BATALHA

O constituinte principal desta UGRHI é o rio Tietê, da barragem de Ibitinga até a barragem de Promissão (Figura 5.12). Dos usos do solo nesta região destacam-se pastagens e culturas de café, cana de açúcar e milho.

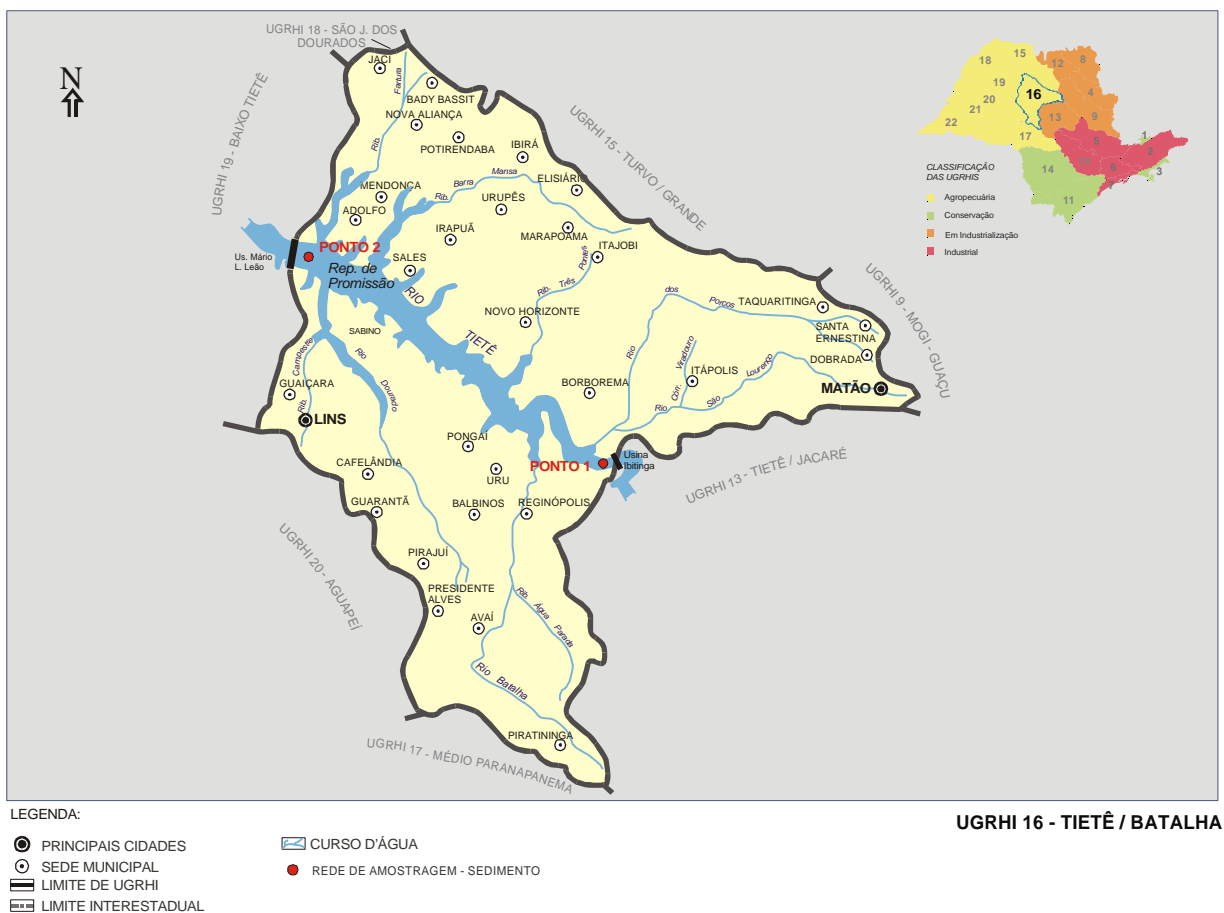


Figura 5.12. UGRHI 16 – Tietê/Batalha, com a localização dos pontos de amostragem.

No estudo ecotoxicológico realizado nos reservatórios do Médio e Baixo Tietê, Rodgher (2001) e Fracacio (2001) Rodgher et al. (2002) utilizaram *Daphnia similis* e *Danio rerio* (larva), respectivamente, para avaliar a qualidade dos sedimentos (Tabela 5.39). Foram realizadas quatro campanhas no período de outubro de 1999 até julho de 2000. O ponto coletado a jusante da barragem de Ibitinga mostrou qualidade péssima para as duas espécies, enquanto o de Promissão, a

montante da barragem, apresentou qualidade boa para *Hyalella azteca* e *Chironomus xanthus* e ruim e péssima, para *Daphnia similis* e *Danio rerio*, respectivamente. Com relação ao reservatório de Promissão (a montante da barragem), em termos químicos, apesar de ter sido observado concentrações acima de efeito para arsênio, cromo, níquel e Lindano, a comunidade bentônica mostrou qualidade ótima. Assim, estes pontos deveriam ser monitorados, para se elucidar melhor a toxicidade observada.

Tabela 5.39. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no rio Tietê e no reservatório Promissão, em outubro de 2000 (MOZETO et al., 2003); outubro de 1999, fevereiro, maio e julho de 2000 (FRACACIO, 2001; RODGHER, 2001), segundo as concentrações das substâncias químicas encontradas e os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos e na comunidade bentônica .

| Ponto | Corpo de água | Localização | Química ^a | Toxicidade ^b | | | | Bentos |
|-------|-------------------|---|--------------------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|----------------------|
| | | | Mozeto et al. (2003) | Mozeto et al. (2003) | | Rodgher (2001) | Fracaccio (2001) | Mozeto et al. (2003) |
| | | | | <i>H. azteca</i> | <i>C. xanthus</i> | <i>D. similis</i> | <i>D. rerio</i> (larva) | |
| 1 | rio Tietê | a jusante da barragem do reserv. Ibitinga | | | | | | |
| 2 | reserv. Promissão | a montante da barragem | Cu, DDE, PAHs As, Cr, Ni, Lindano | | | | | |


a= Mozeto et al., 2003: As, Cd, Pb, Cu, Cr, Ni, Zn, DDE, Dieldrin, Lindano, PCBs e os PAHs: acenafteno, acenaftaleno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo (a,h)antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, naftaleno, pireno

b = efeito observado: mortalidade

c = acenafteno, acenaftaleno, dibenzo (a,h)antraceno, fenantreno, fluoreno, naftaleno

Ótimo 

Regular  ≥TEL e ≤PEL

Péssimo  efeito agudo na sobrevivência ≥50%

Bom  não tóxico

Ruim  > PEL, efeito agudo na sobrevivência <50%,

5.3.12. UGRHI - 19 BAIXO TIETÊ

O principal constituinte desta unidade é o rio Tietê, desde a barragem de UHE de Promissão, até a sua foz, no rio Paraná, e o rio Paraná, desde a barragem de Ilha Solteira até a ilha denominada Ilha Comprida (Figura 5.13).

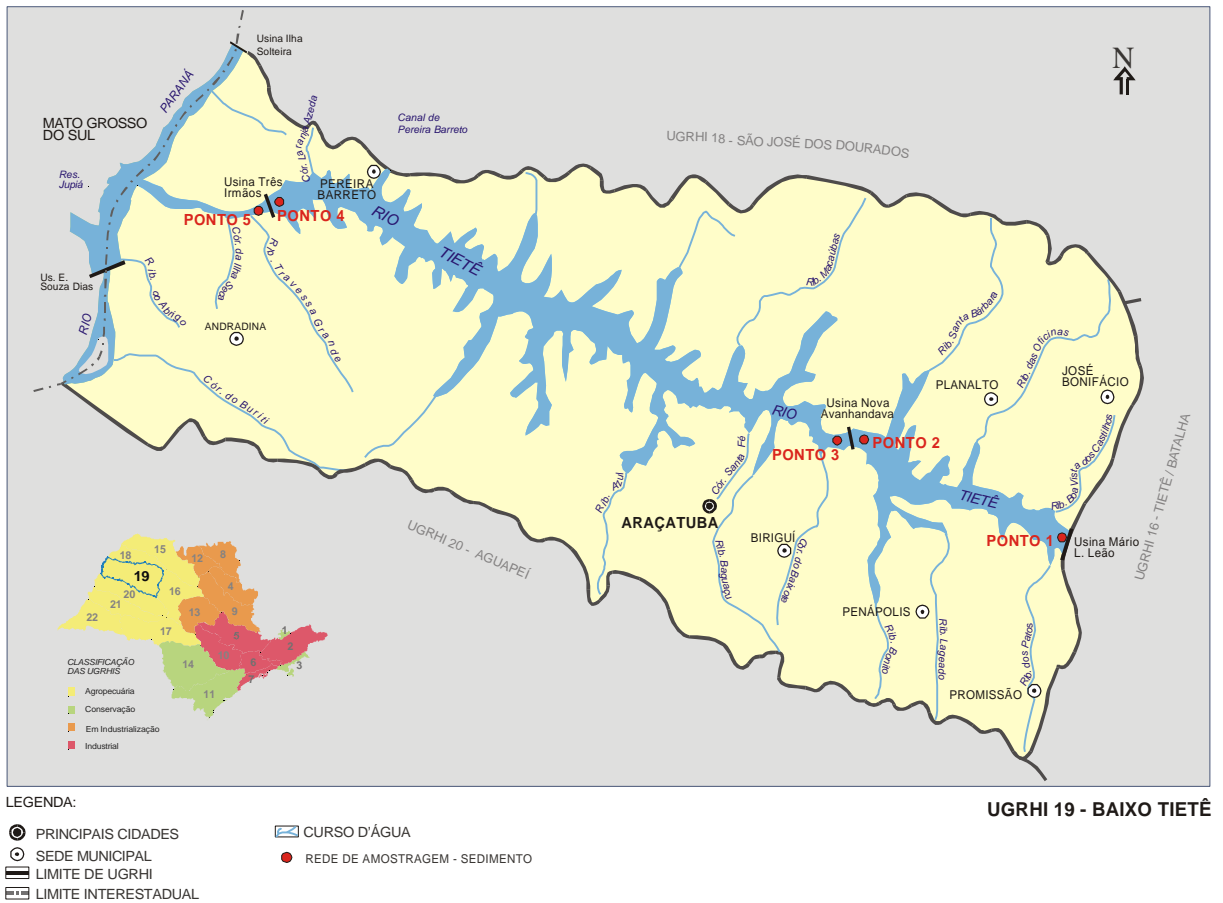












Figura 5.13. UGRHI 19 – Baixo Tietê, com a localização dos pontos de amostragem.

Rodgher (2001) e Fracácio (2001) avaliaram a toxicidade nos reservatórios ao longo do sistema Tietê, adotando como organismo teste *Daphnia similis* e *Danio rerio* (larva), com duração de 48 h e 7 dias, respectivamente. Os resultados obtidos (Tabela 5.40) mostraram, ao longo do ano, apenas um evento tóxico para cada um dos pontos amostrados, em diferentes meses. Para *D. similis*, os pontos a montante da barragem de Nova Avanhandava e Três Irmãos apresentaram alta toxicidade, conferindo assim ao sedimento qualidade péssima. Com relação a *Danio rerio*, foi




observado efeito tóxico agudo a jusante da barragem de Promissão e a montante e jusante do reservatório de Nova Avanhandava.

Esses pontos deveriam ser melhor investigados, sendo indicada a realização de análises de metais e compostos clorados, comunidade bentônica, além dos testes de toxicidade.

Tabela 5.40. Diagnóstico da qualidade dos sedimentos coletados no rio Tietê e nos reservatórios Nova Avanhandava e Três Irmãos, em outubro de 1999, fevereiro, maio e julho de 2000 (FRACACIO, 2001; RODGHER, 2001), segundo os efeitos observados nos testes ecotoxicológicos.

| Ponto | Corpo de água | Localização | Toxicidade ^a | |
|-------|--------------------------|---|--|---|
| | | | Rodgher (2001) | Fracaccio (2001) |
| | | | <i>D. similis</i> | <i>D. rerio (larva)</i> |
| 1 | rio Tietê | a jusante da barragem do reserv. Promissão |  |  |
| 2 | reserv. Nova Avanhandava | a montante da barragem |  |  |
| 3 | rio Tietê | a jusante da barragem do reserv. Nova Avanhandava |  |  |
| 4 | reserv. Três Irmãos | a montante da barragem |  |  |
| 5 | rio Tietê | a jusante da barragem do reserv. Três Irmãos |  |  |

a= efeito observado: mortalidade

- Bom  não tóxico
- Ruim  efeito agudo na sobrevivência <50%
- Péssimo  efeito agudo na sobrevivência ≥50%

5.4. Conclusões

Os testes de toxicidade se mostraram úteis e necessários no levantamento inicial de dados de um corpo de água, na sua caracterização e em estudos para avaliar e identificar a qualidade de sedimentos, e devem ser adotados no monitoramento, junto com outras variáveis.

A adoção da classificação da qualidade dos sedimentos baseada nos resultados dos testes de toxicidade, apesar de não ser sido possível diferenciar a condição ótima da boa, foi considerada adequada para expressar os níveis de contaminação que podem estar presentes no sedimento em ambientes aquáticos.

Das 22 UGRHIs existentes no Estado, foram analisados dados para 12 delas, tendo sido amostrados 138 pontos, sendo que destes, 15 fazem parte da rede de monitoramento da CETESB. As UGRHIs mais estudadas são as do rio Piracicaba, Capivarí e Jundiá (UGRHI 5), Alto-Tietê (UGRHI 6), Tietê/Jacaré (UGRHI 13) e Sorocaba (UGRHI 10) (Tabela 5.41).

Dentre as unidades industrializadas ou em fase de industrialização, não foram encontrados dados para os rios Paraíba do Sul (UGRHI 2), Jundiá (UGHI 5), e muito pouca informação para os rios Pardo (UGRHI 12) (Tabela 5.41). As unidades cuja atividade principal é a agropecuária, deveriam ser também estudadas, visando detectar principalmente a presença de agrotóxicos e seus derivados.

Observou-se, como era esperado, que a qualidade dos sedimentos não foi constante, em muitos pontos, ao longo das campanhas realizadas nas diferentes estações (chuvas e seca). Porém, em termos de monitoramento, a caracterização do ponto na estação seca, permite a análise do material que foi sedimentando ao longo do tempo, o que representaria melhor os possíveis contaminantes presentes no corpo de água. Além disto, os dados obtidos mostraram que é importante coletar amostras no mesmo local e na mesma época e fazer mais do que uma amostragem ao longo dos anos, para que se possa estabelecer um diagnóstico da qualidade do sedimento.

Verificou-se também que muitos dos locais considerados críticos, com sedimentos de qualidade péssima e ruim, refletiram principalmente a presença do excesso de carga orgânica nestes ambientes. Nesta classe, pode-se citar os sedimentos coletados nos reservatórios de Rasgão, Pirapora, Barra Bonita, Salto Grande e rio Sorocaba (Ponto 2), sendo que todos associados a regiões

de alta densidade demográfica e intensa atividade industrial. Em outros locais, foi evidenciado que os efeitos obtidos podem estar sendo causados pela contaminação por metal como o cobre, aplicado como algicida em muitos dos reservatórios para controlar a presença de cianofíceas/cianobactérias. É o caso dos reservatórios Guarapiranga e do Rio Grande (braço do Ribeirão Pires), e o zinco, no reservatório de Taiapuêba, uma vez que foram encontradas concentrações destes metais muito acima do valor de PEL (até cinco vezes maior). Em outros locais, como por exemplo no rio Mogi-Guaçu, rio Atibaia e na parte final do rio Sorocaba, outros contaminantes podem estar presentes uma vez que foram observados efeitos para a biota, sendo necessário estudos mais específicos nesses locais.

A integração dos resultados dos testes de toxicidade, das análises químicas, físicas e da comunidade bentônica permitiu uma melhor avaliação da qualidade dos sedimentos analisados. Além disso, verificou-se a importância de se agregar outras análises, como deformidade do mento em larvas de *Chironomus* e testes de mutagenicidade, para se confirmar a presença e estabelecer possíveis grupos de compostos que poderiam estar causando efeitos para a comunidade de organismos que vivem no sedimento. Outras análises que complementaram o diagnóstico foram os dados de granulometria e das frações que controlam a disponibilidade dos contaminantes no sedimento (matéria orgânica e sulfetos). Portanto, estes ensaios auxiliaram tanto no estabelecimento do diagnóstico do local em estudo como nas linhas de trabalho a serem adotadas em estudos posteriores.

Ensaio *in situ*, para avaliação e identificação da toxicidade (AIT), análise da bioacumulação de metais e compostos orgânicos em organismo bentônicos, estudos para avaliar a biodisponibilidade de contaminantes em determinadas situações, foram considerados extremamente importantes para complementar os estudos da qualidade dos sedimentos.

Os testes agudos com peixes jovens foram pouco sensíveis, enquanto os crônicos com as larvas, foram muito sensíveis. Baseado nesses resultados não foi possível identificar uma graduação na qualidade dos ambientes estudados. Desta forma, esses testes não foram considerados adequados tendo em vista a pouca capacidade discriminatória dos mesmos.

Espera-se que, à medida que forem sendo gerados um número maior de dados, os critérios acima citados, estabelecidos em alguns casos com base na literatura, como os valores guias para

contaminantes químicos, possam ser aperfeiçoados e implementados, gerando, um índice de qualidade do sedimento mais específico para o Estado de São Paulo.

5.5. Recomendações

Na ausência de dados sobre um corpo de água, os testes de toxicidade podem ser utilizados numa etapa preliminar, para selecionar os pontos que deverão ser amostrados. Nas etapas posteriores, devem ser utilizados em conjunto com outras linhas de evidência, como análises químicas, dados da comunidade bentônicas, teste de mutagenicidade, deformidade no mento de *Chironomus*.

Em cada uma das UGRHIs seria importante obter dados de pelo menos um ponto e em outras estudos específicos, como por exemplo, na UGRHI 5 (Rio Atibaia), UGRHI-9 (Rio Mogi-Guaçú) e UGRHI-10 (Rio Sorocaba), uma vez que os dados obtidos, mostraram que medidas de controle podem ser necessárias, para minimizar os impactos para as comunidades bentônicas, em alguns trechos destes rios.

As amostras deveriam ser coletadas no mesmo local e período (estação seca), por pelo três anos consecutivos, para se chegar a um melhor diagnóstico da qualidade do sedimento.

As amostras de sedimento para as análises químicas e de toxicidade deveriam ser provenientes da mesma amostra e coletadas na margem deposicional em rios e na zona profunda nos reservatórios.

Quanto à descrição dos pontos de coleta, seria interessante adotar, sempre que possível, o georeferenciamento utilizando GPS, além de um melhor detalhamento das referências do local.

Nos estudos complementares, a caracterização bioquímica e até mesmo histopatológica, seriam interessantes de serem avaliadas para organismos bentônicos.

Seria importante integrar informações obtidas na análise da qualidade do sedimento, com resultados da qualidade da água, e dados da bacia hidrográfica relativos, para se obter um diagnóstico mais completo do corpo de água em estudo.

Quanto as classes estabelecidas para avaliar a contaminação química, verificou-se que estas poderiam considerar também tanto o número de parâmetros ultrapassados como o número de vezes que este foi superior ao limite estabelecido para a categoria superior, ou seja PEL. Assim, seria possível estabelecer um maior número de classes, ou seja de ótima a péssima, como adotado para as comunidades bentônicas. Neste caso, poderia ser considerado ótimo um sedimento que apresentasse todas as variáveis química abaixo de TEL, boa, até duas variáveis entre TEL e PEL, regular acima de duas entre TEL e PEL, ruim até duas acima de PEL e péssima quando duas ou mais variáveis ultrapassaram PEL ou um composto apresentasse concentrações 5 vezes acima de PEL. Seria importante também considerar nestas categorias substâncias que se bioacumulam e o tipo de sedimento.

Deveria ser implantado um banco de dados para servir de rede de informações entre os pesquisadores, Comitês de Bacia e a comunidade.

Tabela 5.41. Resumo das informações compiladas e das principais conclusões das diferentes UGRHI do Estado de São Paulo.

| UGRHI | Classificação | Denominação | N. pontos estudados | N de pontos/corpo de água | N. pontos monitorados pela CETESB | Referências | Conclusões/ Recomendações |
|-------|---------------|-------------------------------|---------------------|---|---|--|--|
| 2 | Industrial | Paraíba do Sul | 3 | Reser. Paraibuna (1) Reser. Santa Branca (1) Reserv. Jaguarí (1) | Nenhum | CETESB (em elaboração a) | Não foram encontrados dados do Rio Paraíba do Sul e seus tributários |
| 5 | Industrial | Piracicaba, Capivari e Jundiá | 30 | Rio Atibaia e seus afluentes (12) Rio Piracicaba (6) e seus afluentes, rio Corumbataí (2), Represa do Tatú (1) Rio Capivari (1) Reser. Salto Grande (7) Jaguarí e afluentes (1) | Rio Atibaia (1) Rio Piracicaba (1) Rio Corumbataí (1) | Shimizu et al. (2002) CETESB (em elaboração b) Araújo (1998) Fonseca (1997) Meletti (1997) Marroquim (2000) CETESB (2003,2004) Espíndola et al. (1998) Pamplin (1999) Tonissi e Espíndola (2000) Dornfeld (2002) Fonseca (1997) Meletti (1997) Marroquim (2000) Costa e Espíndola (2000) CETESB (2003,2004) Costa e Espíndola (2000) Espíndola et al. (1998) Pamplin (1999) Tonissi e Espíndola (2000) Dornfeld (2002) Fonseca (1997) Meletti (1997) Marroquim (2000) | Não foram encontrados dados do rio Jundiá Estudadar melhor: rio Atibaia, próximo captação de Sumaré rio Piracicaba, próximo à captação de Santa Bárbara reser. Salto Grande |

Tabela 5.41. Resumo das informações compiladas e das principais conclusões das diferentes UGRHI do Estado de São Paulo (continuação).

| UGRHI | Classificação | Denominação | N. pontos estudados | N. pontos/corpo de água | N. pontos monitorados pela CETESB | Referências | Conclusões/Recomendações |
|-------|---------------|-------------|---------------------|---|--|---|--|
| 6 | Industrial | Alto Tietê | 30 | Rio Tietê (4) | Rio Tietê (1) (referência em Biritiba-Mirim) | Araújo, (1998) CETESB (2000,2003, 2004) CETESB; SABESP (1998) | Estudar melhor ou continuar o monitoramento: Rio Tietê entre Suzano e São Miguel Paulista reser. Taiapuê reser. Billings (corpo central e braços, destacando-se o do Rio Grande) reser. Guarapiranga Pontos críticos: reser. Pirapora. |
| | | | | Reser. Ponte Nova (2) | Reser. Ponte Nova (1) (referência) | Coelho-Botelho et al. (em elaboração) CETESB (2003, 2004) Mozeto et al. (2003) | |
| | | | | Reser. Taiapuê (1) | Não | CETESB (2004) | |
| | | | | Reser. Billings (11) | Reser. Billings (3) | Araújo (1998) CETESB; SABESP (1998, 1999) Coelho-Botelho et al. (em elaboração) Mozetto et al. (2003) CETESB (2004) | |
| | | | | Reser. Guarapiranga (5) | Reser. Guarapiranga (1) | Araújo (1998) CETESB; SABESP (1998, 1999) CETESB (2000, 2004) | |
| | | | | Rio Embú-Guaçu e afluentes (Rio Santa Rita) (2) | Não | CETESB (2000) | |
| | | | | Reser. Pedro Beicht (1) | Não | Araújo (1998) CETESB; SABESP (1999) Mozetto et al. (2003) CETESB (2000) | |
| | | | | Ribeirão dos Cristais (3) | Ribeirão dos Cristais (1) | CETESB (2004) Kuhlmann et al. (2005) | |
| | | | | Reser. Pirapora (1) | Não | Coelho-Botelho et al. (em elaboração) | |

Tabela 5.41. Resumo das informações compiladas e das principais conclusões das diferentes UGRHI do Estado de São Paulo (continuação).

| UGRHI | Classificação | Denominação | N. pontos estudados | N. pontos/Corpo de água | N. pontos monitorados pela CETESB | Referências | Conclusões/Recomendações |
|-------|---------------------|-------------------------------|---------------------|--|-----------------------------------|---|--|
| 7 | Industrial | Baixada Santista | 1 | Rio Cubatão (1) | Não | Araújo (1998) | Os sedimentos apresentam salinidade |
| 9 | Em Industrialização | Mogi-Guaçu | 14 | Rio Mogi-Guaçu (12) e afluentes (2) (rio do Peixe e Jaguarí Mirim) | Rio Mogi-Guaçu (1) | Espíndola et al. (2003) Brigante et al. (2003b, c) Meletti et al. (2003) | Estudar melhor: rio Mogi no trecho munic. Descalvado até Luiz Antônio |
| 10 | Industrial | Sorocaba/Médio Tietê | 22 | Sorocaba (7) | Rio Sorocaba (1) | CETESB (2004) Kuhlmann et al. (em elaboração) | Estudar melhor: rio Sorocaba, no trecho entre Cerquilha e Laranjal Paulista, rio Tietê (em Itú) e seus tributários, reserv. Barra Bonita |
| | | | | Reser. Rasgão (1) Rio Tietê (2) e afluentes (4) | | CETESB; SABESP (1998) Mozeto et al. (2003) | |
| | | | | Reser. Barra Bonita (4) e tributários (4) | Barra Bonita (1) | CETESB; SABESP (1998) Fracaccio (2001) Costa (2001) Rodgher (2001) Mozeto et al. (2003) | Pontos críticos: Reserv. Rasgão |
| 11 | Conservação | Ribeira do Iguape/Litoral Sul | 13 | Rio Juquiá (2) Ribeira de Iguape e tributários (11) | Rio Ribeira de Iguape (1) | CETESB (2000) Eysink et al (2000) CETESB (2004) | Efeitos da contaminação de Pb devem ser monitorados por outros variáveis que detectem efeitos sub-letais e crônicos |

Tabela 5.41. Resumo das informações compiladas e das principais conclusões das diferentes UGRHI do Estado de São Paulo (continuação).

| UGRHI | Classificação | Denominação | N. pontos estudados | N./Corpo de água | N. pontos monitorados pela CETESB | Referências | Conclusões/Recomendações |
|-------|---------------------|--------------------|---------------------|--|-----------------------------------|--|--|
| 12 | Em Industrialização | Baixo Pardo/Grande | 1 | Rio Pardo (1) | Não | Brigante et al. (2003b, c) Espídola et al. (2003) | Este ponto deveria ser melhor estudado |
| 13 | Em Industrialização | Tietê/Jacaré | 20 | Rio Tietê (2) Reser. Bariri (1) Reser. Ibitinga (1) Represa Lobo e tributários (12) Córrego Monjolinho (4) | Não | CETESB; SABESP (1998) Mozeto et al. (2003) Rodgher (2001) Fracaccio (2001) Dornfeld et al. (2002) Mendes (1998) | Estudar melhor: reser. Bariri córrego Mojolinho córrego Itaqueri |
| 15 | Agropecuária | Turvo/Grande | 1 | Reser. Água Vermelha (1) | Reser. Água Vermelha (1) | CETESB, 2004 | Este ponto deveria ser melhor estudado |
| 16 | Agropecuária | Tietê/Batalha | 2 | Rio Tietê (1) Reser. Promissão (1) | Não | Mozeto et al (2003) Rodgher (2001) Fracaccio (2001) | Estes pontos deveriam ser melhor estudados |
| 19 | Agropecuária | Baixo Tietê | 5 | Rio Tietê (3) Reserv. Avanhandava (1) Reserv. Três Irmãos (1) | Não | Rodgher (2001) Fracaccio (2001) | Estes pontos deveriam ser melhor estudados |

5.6. Referências Bibliográficas:

ALMEIDA, C. A. **Estudo ecotoxicológico do sedimento de represas do rio Tietê com o organismo-teste bentônico *Chironomus xanthus* Rempel (Insecta: Diptera)**. 2002. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2002.

ARAÚJO, R. P. A. **Avaliação da toxicidade de sedimentos ao anfípodo de água doce *Hyalella meinerti* Stebbing, 1899 (Crustacea, Amphipoda)**. São Paulo, 1998. 184 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Geral). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1998.

ARAÚJO, R. P. A.; NASCIMENTO, A. P. C.; ALMEIDA, C. A.; RODRIGUES, P. F. Metodologia de avaliação da toxicidade de sedimento com amostras coletadas em represas do rio Tietê. In: MOZETO, A. A.; JARDIM, W. F.; UMBUZEIRO, G. A. (Ed.). **Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos**: experimentos de campo e laboratório. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2001. p. 47-51.

ARAÚJO, R. P. A.; BOTTA-PASCHOAL, C. M. R.; SILVÉRIO, P. F.; ALMEIDA, F. V.; RODRIGUES, P.F., UMBUZEIRO, G. A.; JARDIM, W. F., MOZETO, A. A. Application of a sediment toxicity identification evaluation to a highly contaminated water reservoir in SE-Brazil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 2005. Enviado para publicação.

BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. O Estudo no rio Mogi-Guaçu: a abordagem metodológica. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed.). **Limnologia fluvial** : um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: RiMa, 2003. cap. 2, p. 15-22.

BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; POVINELLI, J.; SILVA, M. R. C.; NOGUEIRA, A. M.; ANTONIO FILHO, V. Caracterização física e química do sedimento do Rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed.). **Limnologia fluvial** : um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: RiMa, 2003a. cap. 5, p. 77-84.

BRIGANTE, J.; SILVA, M. R. C.; QUEIROZ, L. A.; COPPI, E. Quantificação de metais na água e sedimento do rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed.). **Limnologia fluvial** : um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: RiMa, 2003b. cap. 6, p. 85-120.

BRIGANTE, J.; MERENGO, M. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; VIEIRA, E. M. Praguicidas nos sedimentos do rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed.). **Limnologia fluvial** : um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: RiMa, 2003c. cap. 7, p. 121-128.

BURTON JR, G. A. Sediment quality criteria in use around the world. **Limnology**, v. 3, p. 65-76, 2002.

BURTON JR, G.A.; ROWLAND, C. D.; GREEBERG, M. S.; LAVOIE, D. R.; NORDSTROM, J. F.; EGGERT, L. M. A tiered, weight-of-evidence approach for evaluating aquatic ecosystem. In: MUNAWAR, M. **Sediment quality assessment and management and progress**. Aquatic Ecosystem Health & Management Society, 2003. p. 1-19. (Ecovision World Monograph Series)

CCME. Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: summary tables. In: Canadian Council of Ministers of the Environment. **Canadian environmental quality guidelines**. Winnipeg: CCME, 2001. Disponível em: <http://www.ec.gc.ca/cegg-rcqe/English/Pdf/sediment-summary-table.htm>. Acesso em: 15/01/2002.

CARVALHO, P. S. M.; ZANARDI, E. Sediment heavy-metal contamination at Billings reservoir, São Paulo, Brazil. **Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie**, v. 26, part 2, p. 684-688, 1997.

CETESB (São Paulo). **Serviços de coleta de amostras, análises e estudos de avaliação das características biológicas, físico-químicas e microbiológicas das águas e sedimentos do rio Jujuá – Relatório Final**. São Paulo: CETESB, 2000. 144 p. Contrato Sabesp 010/97.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 2001**. São Paulo: CETESB, 2002. 227 p.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 2002**. Disponível em :(http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rel_aguas_int_2002/index.htm). Acesso em: out. 2003.

CETESB (São Paulo). **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 2003**. São , Paulo: CETESB, 2004. 268 p.

CETESB (São Paulo). **Desenvolvimento de índices biológicos para o biomonitoramento em reservatórios do Estado de São Paulo**. Fase II. São Paulo: CETESB. Em fase de elaboração a.

CETESB (São Paulo). **Estudos preliminares para o uso de índices biológicos no monitoramento de ambientes aquáticos continentais – riachos e corredeiras na bacia hidrográfica do rio Atibaia**. Fase II. São Paulo: CETESB. Em fase de elaboração b.

CETESB (São Paulo); SABESP (São Paulo). **Monitoramento integrado bacias do Alto e Médio Tietê - relatório final - revisão zero**. São Paulo: CETESB, 1998. 312 p.

CETESB (São Paulo); SABESP (São Paulo). **Monitoramento integrado bacias do Alto e Médio Tietê: avaliação da qualidade água, sedimento e peixes** - relatório final. São Paulo: CETESB, 1999. 138 p. (Contrato 020/97)

CHAPMAN, P. M.; DEXTER, R. N.; LONG, E. R. Synoptic measures of sediment contamination and infaunal community composition (the Sediment Quality Triad) in San Francisco Bay. **Marine Ecology-Progress Series**, v. 37, p. 75-96, 1987.

CHAPMAN, P. M. The sediment quality triad approach to determining pollution-induced degradation. **The Science of the Total Environment**, v. 97/98, p. 815-825, 1990.

CHAPMAN, P. M.; WANG, F.; ADAMS, W. J.; GREEN, A. Appropriate applications of sediment quality values for metals and metalloids. **Environmental Science & Technology**, v. 33, n. 22, p. 3937-3941, 1999.

COELHO-BOTELHO, M. J. C.; CARVALHO, M. C.; KUHLMANN, M. L.; SALVADOR, M. E. P.; SOUZA, R. C. R.; WATANABE, H. M.; ARAÚJO, R. P. A.; BRESSAN, JR, H.; BRANDIMARTE, A. L.; ANAYA, M.; GUERESCHI, R. M. **Desenvolvimento de índices biológicos para o biomonitoramento em reservatórios do Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB. Em elaboração.

COSTA, J. B. **Avaliação ecotoxicológica da água e sedimento de tributários do reservatório de Barra Bonita (Médio Tietê Superior)**. 2001. 281 f. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

COSTA, J. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Avaliação ecotoxicológica da água e sedimento de tributários do reservatório de Barra Bonita (Médio Tietê Superior). In: ESPÍNDOLA, E. L. G. ; PASCHOAL, C. M. R. B.; ROCHA, O.; BOHER, M. B. C.; NETO, A. L. O. **Ecotoxicologia: perspectivas para o século XXI**. São Carlos: RiMa, 2000. p. 75 - 93.

DORNFELD, C. B. **Utilização de análises limnológicas, bioensaio de toxicidade e macroinvertebrados bentônicos para o diagnóstico de reservatório de Salto Grande Americana, SP**. 2002. 196 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

DORNFELD, C. B.; MAZUTTI, M. B.; SILVÉRIO, P. F.; ANDRADE, C. A.; ALMEIDA, C. A. Caracterização ecotoxicológica do sedimento da represa do Lobo (Itirapina, Brotas, SP) e seus tributários. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; MAUAD, F. F.; SCHALCH, V.; ROCHA, O.; FELICIDADE, N.; RIETZLER, A. C. (Ed.). **Recursos hidroenergéticos: usos, impactos e planejamento integrado**. São Carlos: RIMA, 2002. v.1, p. 75 - 89. (Série - Ciências da Engenharia Ambiental. Programa de Pós Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental. CRHEA- SHS -USP).

DORNFELD, C. B.; PAMPLIN, P. A. Z.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; ALVES, R. G.; ROCHA, O. Composição, distribuição da fauna de invertebrados bentônicos do do reservatório de Salto Grande, (Americana, SP). In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; LEITE, M. A.; DORNFELD, C. B. **Reservatório de Salto Grande (Americana, SP):** caracterização, impactos e propostas de manejo. São Carlos: RiMa, 2004. cap. 6, p. 91-105.

ESPÍNDOLA, E. L. G.; BOTTA-PASCHOAL, C. M. R.; TONISSI, F. B.; MAGALHÃES, R. Avaliação ecotoxicológica de sedimento como instrumento de controle de qualidade da água do reservatório de Salto Grande (Americana, SP). In: SIMPÓSIO DE ECOSSISTEMAS BRASILEIROS. 1998, Águas de Lindóia. **Resumos...** São Paulo: ACIESP, v. 4.p. 99-111. 1998.

ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C. B. Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed.). **Limnologia fluvial** : um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: RiMa, 2003. cap. 8, p. 129-148.

ESPÍNDOLA, E. L. G.; FARIA, O. B.; LEITE, M. A. Reservatório de Salto Grande: uma caracterização geral do sistema. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; LEITE, M. A.; DORNFELD, C. B. **Reservatório de Salto Grande (Americana, SP):** caracterização, impactos e propostas de manejo. São Carlos: RiMa, 2004. cap. 1, p. 1-17.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia.** Rio de Janeiro: Interciência/Finep, 1988. cap. 19, p. 291-306.

EYSINK, G. G. J.; TOLEDO JR, A .P. ; MENEGON JR, N. ; ARAÚJO, R. P. A.; ISHIHARA, M. **Qualidade ambiental do rio Ribeira de Iguape com relação à presença de metais pesados e arsênio.** São Paulo: CETESB, 2000. 70 p. Relatório Técnico.

FONSECA, A. L. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade com invertebrados.** 1997. 210 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

FORSTNER, U. Inorganic sediment chemistry and elemental speciation. In: BAUDO, R.; GIESY, J. P.; MUNTAU, H. (Ed.). **Sediments:** chemistry and toxicity of in-place pollutants. Boca Raton: Lewis Publishers, 1990. p. 61-105.

FRACÁCIO, R. **Utilização de bioensaios ecotoxicológicos com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae) e análises limnológicas para avaliação ambiental dos reservatórios do Médio a Baixo Tietê (SP).** 2001. 233 f. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

KUHLMANN, M. L.; HAYASHIDA, C.Y.; ARAÚJO, R. P. A. Using *Chironomus* (Chironomidae:Diptera) mentum deformities in environmental assessment. **Acta Limnologica Brasiliense**, n.12, p. 55-61, 2000.

KUHLMANN, M. L.; KRAHENBUHL, J. L.; SALVADOR, M. E. P.; BOTELHO, M. J. C.; LAMPARELLI, M. C.; WATANABE, H. M.; POLI, R. F.; ARAÚJO, R. P. A.; OLIVEIRA, D.; SOUZA, R. C. R. **Diagnóstico ecológico da bacia do Ribeirão dos Cristais**. São Paulo: CETESB, 2005. 31 p.

KUHLMANN, M. L.; WATANABE, H. M.; ARAÚJO, R. P. A. **Aplicação da tríade na avaliação da qualidade de sedimentos em redes de monitoramento**. São Paulo: CETESB. Em fase de elaboração.

LAMPARELLI, M. C.; KUHLMANN, M. L.; CARVALHO, M. C; SALVADOR, M. E. P.; SOUZA, R. C.; BOTELHO, M. J. C; COSTA, M. P.; MARTINS, M. C.; CARVALHO, P. M.; ARAÚJO, R. P. A.; HACHICH, E. M.; BARI, M.; CURSIO, R. L. S.; TOLEDO, JR, A. P.; LORENZETTI, M. D. L.; TRUZZI, A. C.; NAVAS-PEREIRA, D.; VARGAS-BOLDRINI, C. **Avaliação do complexo Billings: comunidades aquáticas, água, sedimento - out/92 a out/93**. São Paulo: CETESB, 1996. 53 p.

MACDONALD, D. D.; INGERSOLL, C. G.; BERGER, T. A. Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, n. 1, p. 20-31, 2000.

MARROQUIM, A. C. G. **Ciclo de vida de *Hyalella meinerti* Stebbing, 1899 (Crustacea, Amphipoda) e avaliação de sua sensibilidade em testes ecotoxicológicos**. 2000. 90 f. Dissertação (Mestrado Ecologia e Recursos Naturais) - Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2000.

MELETTI, P. C. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade aguda com peixes**. 1997. 148 f. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

MELETTI, P. C.; ROCHA, O.; MARTINEZ, C. B. R. Avaliação de degradação ambiental na bacia do rio Mogi-Guaçu por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed.). **Limnologia fluvial : um estudo no rio Mogi-Guaçu**. São Carlos, RIMA, 2003. cap. 9, p.149-180.

MENDES, A. J. S. **Avaliação dos impactos sobre a comunidade macrobentônica, no córrego do Monjolinho (São Carlos, S.P.)** 1998. 106 f. Anexos. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1998.

MOZETO, A. A.; JARDIM, W. F.; ARAGÃO, G. U. **Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos (CQS):** experimentos de campo e laboratório – relatório final. São Carlos: UFSCAR. 2003. 465 p. Projeto QualiSed proc. n. 98/12177-0.

PAMPLIN, P. A .Z. P. **Avaliação da qualidade ambiental da represa de Americana (SP - Brasil) com ênfase no estudo da comunidade bentônica e parâmetros ecotoxicológicos.** 1999. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.

PASCHOAL, C. M. R. B. **Avaliação ecotoxicológica de sedimentos em reservatórios da bacia do rio Tietê, SP, com ênfase na aplicação do estudo de AIT:** avaliação e identificação da toxicidade. 2002. 146 f. Anexos. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2002.

PASCHOAL, C. M. B.; ROCHA, O.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Avaliação e identificação da toxicidade do sedimento no reservatório de Salto Grande, SP. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed.). **Limnologia fluvial : um estudo no rio Mogi-Guaçu.** São Carlos: RiMa, 2003. cap. 18, p. 339-357.

RODGHER, S. **Estudo ecotoxicológico e limnológico nos reservatórios em cascata do médio e baixo Tietê:** uma análise espacial e temporal. 2001. 159 f. Anexos. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

RODGHER, S.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; FRACÁCIO, R.; RODRIGUES, M. H.; PEREIRA, R. H. G.; ROCHA, O. Estudos ecotoxicológicos nos reservatórios em cascata do médio e baixo Tietê: uma avaliação dos impactos ambientais. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; MAUAD, F. F.; SCHALCH, V.; ROCHA, O.; FELICIDADE, N.; RIETZLER, A. C. (Ed.). **Recursos hidroenergéticos:** usos, impactos e planejamento integrado. São Carlos: RiMa, 2002, v. 1. p. 131 - 144. (Série - Ciências da Engenharia Ambiental. Programa de Pós Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental. CRHEA- SHS -USP)

SHIMIZU, G. Y.; LAMPARELLI, M. C.; JOHNSCHER-FORNASARO, G.; WATANABE, H. M.; SALVADOR, M. E. P.; COSTA, M. P.; CARVALHO, M. C; KUHLMANN, M. L.; SOUZA, R. C. R.; BERTOLETTI, E.; ARAÚJO, R. P. A.; BURATINI, S. V.; AGUJARO, L. F.; PRADELLA, D. Z. A.; FIALHO, R. C.; SOUZA, J. B.; BEVILACQUA, J. E.; MENEGON JR, N.; TRUZZI, A. C.; AVELINO, E. L.; BRANDIMARTE, A. L.; CARVALHO, M. A. J.; SENDACZ, S. **Estudos preliminares para o uso de índices biológicos no monitoramento de ambientes aquáticos continentais:** riachos e corredeiras na bacia hidrográfica do rio Atibaia. São Paulo: CETESB, 2002. 85 p.

SILVÉRIO, P. F. **Partição, disponibilidade e toxicidade de metais pesados a organismos bentônicos em sedimentos.** 1999. 78 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1999.

SILVÉRIO, P. F. **Bases técnico-científicas para a derivação de valores-guias de qualidade de sedimentos para metais: experimentos de campo e laboratório.** 2003. 132p. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

TONISSI, F. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Utilização de bioensaios agudo, crônico-parcial e *in situ* com *Danio rerio* para avaliação ecotoxicológica do reservatório de Salto Grande (Americana, SP). In: ESPÍNDOLA, E. L. G. ; PASCHOAL, C. M. R. B.; ROCHA, O.; BOHER, M. B. C.; NETO, A. L. O. (Ed). **Ecotoxicologia: perspectivas para o século XXI.** São Carlos:RiMa, 2000, p. 483 - 498.

TONISSI, F. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; DORNFELD, C. B.; PAMPLIN; P. A. Z., FONSECA, A. L.; MELETTI, P.C.; BOTTA-PASCHOAL, C. M. R.; ROCHA, O. Estudos ecotoxicológicos no reservatório de Salto Grande (Americana, SP), utilizando organismos bentônicos, zooplancctônicos e peixes. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; LEITE, M. A.; DORNFELD, C. B. (Ed). **Reservatório de Salto grande (Americana, SP): caracterização , impactos e propostas de manejo.** São Carlos:RiMa, 2004, cap. 17, p. 315-337.

ZAGATTO, P. A.; ARAGÃO, M. A. **Avaliação ecotoxicológica do reservatório do Guarapiranga, SP, com ênfase ao problema de algas tóxicas.** São Paulo: CETESB, 1995. 78 p.

Considerações Finais

Considerando que o controle da poluição visa a proteção da saúde humana, a garantia do meio ambiente ecologicamente equilibrado e a melhoria da qualidade de vida, e levando em conta os usos prioritários e classes de qualidade ambiental exigidos para um determinado corpo de água, torna-se necessário desenvolver instrumentos adequados para o monitoramento e a caracterização da qualidade dos ecossistemas aquáticos. Desta forma, os testes de toxicidade passaram a ser exigidos pelas legislações federal e estadual, pois permitem a verificação do enquadramento de diferentes grupos de substâncias aos padrões exigidos, bem como a influência de interações potenciais entre elas e presença de outras não analisadas sobre a qualidade da água.

Para tanto, é preciso estabelecer espécies-teste, procedimentos de cultivo e padronizar métodos de ensaio. Além disso, recomenda-se que os resultados obtidos em condições padronizadas em laboratório, expressem de alguma forma a situação real do ambiente. Portanto, a partir dos resultados destes ensaios, deve-se chegar a critérios ou classes que expressem a qualidade do ambiente, os quais poderão ser utilizados pelos órgãos gestores para tomada de decisões.

Como atualmente é amplamente reconhecido a necessidade de se considerar o sedimento na análise da qualidade de corpos de água, o presente estudo foi desenvolvido visando contribuir para o estabelecimento de protocolos de testes e critérios para a avaliação da toxicidade de sedimentos de água doce.

Quanto ao organismo teste, os ensaios realizados com as duas espécies do gênero *Hyalella* (*H. azteca* e *Hyalella* sp.), mostraram que *H. azteca* foi a espécie mais adequada, apresentando maior fecundidade e sensibilidade a diferentes contaminantes.

A partir desta definição, procurou-se aprimorar os procedimentos de cultivo e estabelecer a quantidade e qualidade do alimento adequada para esta espécie. Os resultados obtidos mostraram que é possível manter as culturas de *H. azteca* com baixa taxa de mortalidade dos adultos e boa reprodução por mais de 14 semanas consecutivas, utilizando água natural ou água reconstituída, a planta aquática Elódea como substrato e os alimentos ração para coelho granulada mais a solução de ração de peixe digerida, com adição de levedura e óleo de prímula. Nestas condições, obteve-se um número médio de 9,2 jovens/fêmea com um desvio padrão de 2,7, por um período de cerca de três meses.

Quanto aos procedimentos do ensaio, os dados até aqui obtidos, analisados em conjunto com dados químicos do sedimento e da comunidade bentônica, evidenciaram que os testes de toxicidade de sedimento com *H. azteca* devem ser realizados utilizando a proporção de sedimento e água de 1:2, em sistema semi-estático, com troca de 2/3 de água a cada três dias.

Com relação aos testes para avaliar a precisão analítica entre laboratórios, esses podem ser realizados com período de exposição de 48h, com cloreto de potássio ou com dicromato de potássio, adotando meio MS ou água natural como água de diluição.

Com base nessas informações, foi possível elaborar um manual com orientações para o estabelecimento de culturas e realização de testes de toxicidade com *Hyalella azteca* (Anexo D), bem como uma proposta de norma apresentada à Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

Portanto, a exemplo dos testes com outros organismos da coluna de água (*Ceriodaphnia*, *Daphnia*, alga e peixes) pretende-se, futuramente, após discussão por várias entidades e pesquisadores de diferentes órgãos, a aprovação de normas brasileiras para a realização de testes de toxicidade com amostras de sedimentos.

Por outro lado, procurou-se também testar e estabelecer critérios para avaliação da qualidade dos sedimentos. Assim, considerando o tipo e a intensidade dos efeitos observados, verificou-se, a partir dos resultados obtidos, após análise estatística para verificar a significância da diferença com o controle, que é possível estabelecer quatro classes para expressar a qualidade dos sedimentos, ou seja bom, quando o sedimento não apresentou toxicidade; regular, efeito subletal (redução do crescimento); ruim, mortalidade <50% e péssimo, mortalidade ≥50%. Essa classificação mostrou-se bastante adequada tendo, em muitos casos, confirmado os resultados obtidos por outras linhas de evidências, ou seja, análises químicas e dados de comunidade bentônica.

O inventário dos dados existentes permitiu avaliar a qualidade dos trabalhos não só com relação aos testes de toxicidade, mas também quanto aos dados químicos do sedimento e da comunidade bentônica. Quanto aos testes de toxicidade, verificou-se que foram estabelecidos métodos de ensaio com *Chironomus*, *Hyalella*, *Daphnia*, *Ceriodaphnia* e peixes, sendo que para esse último grupo foram desenvolvidos também testes *in situ*.

Para que os dados existentes pudessem ser comparados, inicialmente foram estabelecidos critérios para a aceitação dos testes e classes que expressassem a da qualidade dos sedimentos. Desta forma, foi possível reunir informações de cerca de 140 pontos de amostragem que deverão posteriormente ser disponibilizadas num banco de dados.

É importante ressaltar que os dados obtidos com *Ceriodaphnia*, *Daphnia* e peixes podem não expressar os efeitos que poderiam ser esperados na comunidade bentônica, uma vez que estes organismos não são diretamente expostos ao sedimento. Portanto, quando o objetivo do estudo é preservação da comunidade bentônica, devem-se utilizar, preferencialmente, espécies bentônicas para avaliar os possíveis efeitos tóxicos para estes organismos.

Verificou-se, também, que foram realizados estudos para Avaliar e Identificar a Toxicidade (AIT), para avaliar a disponibilidade de contaminantes em condições controladas em laboratório e de fortificação para determinar a concentração e os possíveis efeitos para organismos aquáticos. É preciso, no entanto, aprimorar os procedimentos para a realização desses ensaios.

A análise da qualidade do sedimento utilizando linhas de evidências e em etapas, ou seja, avaliação integrada e hierárquica, mostrou ser uma abordagem adequada, necessitando apenas de aprimoramento. O modelo de avaliação integrada e hierárquica se mostrou eficiente para estabelecer o diagnóstico da qualidade de sedimentos ou evidenciar e direcionar quais locais necessitam de ações de controle ou estudos posteriores mais detalhados.

ANEXO A

Tabela A1. Dados de sobrevivência e reprodução do experimento I

| Data | Idade Cultura | <i>Hyalella azteca</i> | | | | | | | | <i>Hyalella sp.</i> | | | | | | | |
|------------|------------------|--------------------------------------|-----------|------------------------|-------------|--|-----------|------------------------|-------------|--------------------------------------|-----------|------------------------|-------------|--|-----------|------------------------|-------------|
| | | Ração de coelho + RL ração de coelho | | | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | | Ração de coelho + RL ração de coelho | | | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | |
| | | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F |
| 05/10/1999 | 5 a 6 | 92 | 1 | 41,4 | 0,0 | 98 | 76 | 44,1 | 1,7 | 92 | 14 | 41,4 | 0,3 | 97 | 0 | - | 0,0 |
| 13/10/1999 | 6 a 7 | 91 | 197 | 41 | 4,8 | 95 | 225 | 43,7 | 5,1 | 87 | 100 | 40,1 | 2,5 | 92 | 83 | 43,2 | 1,9 |
| 19/10/1999 | 7 a 8 | 85 | 207 | 40,1 | 5,2 | 97 | 91 | 43,7 | 2,1 | 89 | 123 | 40,1 | 3,1 | 96 | 90 | 43,2 | 2,1 |
| 26/10/1999 | 8 a 9 | 85 | 297 | 40,1 | 7,4 | 91 | 174 | 41,9 | 4,2 | 89 | 123 | 40,1 | 3,1 | 96 | 215 | 43,2 | 5,0 |
| 03/11/1999 | 9 a 10 | 83 | 354 | 40,1 | 8,8 | 91 | 175 | 41,9 | 4,2 | 89 | 192 | 40,1 | 4,8 | 94 | 239 | 43,2 | 5,5 |
| 09/11/1999 | 10 a 11 | 89 | 317 | 40,1 | 7,9 | 93 | 148 | 41,9 | 3,5 | 88 | 215 | 39,6 | 5,4 | 96 | 158 | 43,2 | 3,7 |
| 16/11/1999 | 11 a 12 | 87 | 342 | 39,2 | 8,7 | 92 | 187 | 41,4 | 4,5 | 83 | 88 | 38,7 | 2,3 | 87 | 183 | 41,9 | 4,4 |
| 23/11/1999 | 12 a 13 | 80 | 236 | 38,3 | 6,2 | 84 | 276 | 40,1 | 6,9 | 86 | 108 | 38,7 | 2,8 | 91 | 87 | 41,9 | 2,1 |
| 30/11/1999 | 13 a 14 | 84 | 411 | 38,3 | 10,7 | 89 | 308 | 40,1 | 7,7 | 85 | 194 | 38,3 | 5,1 | 93 | 86 | 41,9 | 2,1 |
| 07/12/1999 | 14 a 15 | 83 | 453 | 38,3 | 11,8 | 89 | 509 | 40,1 | 12,7 | 81 | 193 | 37,8 | 5,1 | 79 | 217 | 40,5 | 5,4 |
| 14/12/1999 | 15 a 16 | 85 | 369 | 38,3 | 9,6 | 88 | 428 | 39,6 | 10,8 | 80 | 145 | 37,8 | 3,8 | 88 | 287 | 40,5 | 7,1 |
| 21/12/1999 | 16 a 17 | 83 | 536 | 37,8 | 14,2 | 86 | 616 | 38,7 | 15,9 | 84 | 238 | 37,8 | 6,3 | 90 | 261 | 40,5 | 6,4 |
| 28/11/1999 | 17 a 18 | 81 | 548 | 36,5 | 15,0 | 84 | 611 | 37,8 | 16,2 | 83 | 212 | 37,4 | 5,7 | 89 | 207 | 40,1 | 5,2 |
| Média (DP) | | | | | 9,2 (3,1) | | | | 7,8 (4,7) | | | | 4,2 (1,4) | | | | 4,2 (1,8) |

a = considerando a razão de machos e fêmeas de 1,2

- = medida não realizada ou não se aplica

DP = desvio padrão

Tabela A2. Dados de sobrevivência e reprodução do experimento II

| Data | Idade cultura | <i>Hyalella azteca</i> | | | | <i>Hyalella sp.</i> | | | |
|------------|---------------|--|-----------|------------------------|-------------|--|-----------|------------------------|-------------|
| | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | |
| | | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F |
| 08/03/2000 | 10 a 11 | 100 | 354 | 45 | 7,9 | 100 | 291 | 45,0 | 6,5 |
| 14/03/2000 | 11 a 12 | 100 | 313 | 45 | 7,0 | 100 | 204 | 45,0 | 4,5 |
| 21/03/2000 | 12 a 13 | 100 | 401 | 45 | 8,9 | 100 | 154 | 45,0 | 3,4 |
| 28/03/2000 | 13 a 14 | 100 | 456 | 45 | 10,1 | 100 | 175 | 45,0 | 3,9 |
| 04/04/2000 | 14 a 15 | 100 | 467 | 45 | 10,4 | 100 | 326 | 45,0 | 7,2 |
| 11/04/2000 | 15 a 16 | 100 | 425 | 45 | 9,4 | 100 | 246 | 45,0 | 5,5 |
| 18/04/2000 | 16 a 17 | 100 | 502 | 45 | 11,2 | 100 | 170 | 45,0 | 3,8 |
| 25/04/2000 | 17 a 18 | 100 | 422 | 45 | 9,4 | 100 | 166 | 45,0 | 3,7 |
| 02/05/2000 | 18 a 19 | 97 | 496 | 43,7 | 11,4 | 100 | 192 | 45,0 | 4,3 |
| 09/05/2000 | 19 a 20 | 97 | 432 | 43,7 | 9,9 | 100 | 273 | 45,0 | 6,1 |
| 16/05/2000 | 20 a 21 | 94 | 462 | 42,3 | 10,9 | - | - | - | - |
| 23/05/2000 | 21 a 22 | 91 | 501 | 41 | 12,2 | - | - | - | - |
| 30/05/2000 | 22 a 23 | 90 | 476 | 40,5 | 11,8 | - | - | - | - |
| Media (DP) | | | | | 10,0 (1,5) | | | | 4,9 (1,3) |

a = considerando a razão de machos e fêmeas de 1,2

- = medida não realizada ou não se aplica

DP = desvio padrão

Tabela A3. Dados de sobrevivência e reprodução do experimento III

| Data | Idade cultura | <i>Hyalella azteca</i> | | | | <i>Hyalella sp.</i> | | | |
|------------|---------------|--|-----------|------------------------|-------------|--|-----------|------------------------|-------------|
| | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | |
| | | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F |
| 30/05/2000 | 5 a 6 | 100 | 2 | 45 | 0,0 | 99 | 1 | 44,6 | 0,0 |
| 06/06/2000 | 6 a 7 | 100 | 184 | 45 | 4,1 | 99 | 33 | 44,6 | 0,7 |
| 13/06/2000 | 7 a 8 | 100 | 252 | 45 | 5,6 | 99 | 101 | 44,6 | 2,3 |
| 20/06/2000 | 8 a 9 | 97 | 339 | 43,7 | 7,8 | 99 | - | 44,6 | - |
| 27/06/2000 | 9 a 10 | 97 | 380 | 43,7 | 8,7 | 99 | 35 | 44,6 | 0,8 |
| 04/07/2000 | 10 a 11 | 97 | 463 | 43,7 | 10,6 | 95 | 102 | 42,8 | 2,4 |
| 11/07/2000 | 11 a 12 | 97 | 571 | 43,7 | 13,1 | 88 | 22 | 39,6 | 0,6 |
| 18/07/2000 | 12 a 13 | 92 | 614 | 41,4 | 14,8 | 87 | 39 | 39,2 | 1,0 |
| 25/07/2000 | 13 a 14 | 87 | 212 | 39,2 | 5,4 | 87 | 85 | 39,2 | 2,2 |
| 01/08/2000 | 14 a 15 | 69 | 209 | 31,1 | 6,7 | 87 | 90 | 39,2 | 2,3 |
| 08/08/2000 | 15 a 16 | 63 | 250 | 28,4 | 8,8 | 87 | 96 | 39,2 | 2,4 |
| 15/08/2000 | 16 a 17 | 58 | 252 | 26,1 | 9,7 | 87 | 114 | 39,2 | 2,9 |
| 22/08/2000 | 17 a 18 | 58 | 324 | 26,1 | 12,4 | 87 | 195 | 39,2 | 5,0 |
| 29/08/2000 | 18 a 19 | 58 | 118 | 26,1 | 4,5 | 87 | 141 | 39,2 | 3,6 |
| 04/09/2000 | 19 a 20 | 56 | 200 | 25,2 | 7,9 | 87 | 62 | 39,2 | 1,6 |
| Média (DP) | | | | | 8,6 (3,8) | | | | 2,1 (1,3) |

a = considerando a razão de machos e fêmeas de 1,2

- = medida não realizada ou não se aplica

DP = desvio padrão

Tabela A4. Dados de sobrevivência e reprodução do experimento IV

| Data | Idade Cultura | <i>Hyalella azteca</i> | | | | <i>Hyalella sp.</i> | | | |
|------------|---------------|--|-----------|------------------------|-------------|--|-----------|------------------------|-------------|
| | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | |
| | | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F |
| 17/10/2000 | 7 a 8 | 100 | 273 | 45 | 6,1 | 104 | 112 | 46,8 | 2,4 |
| 24/10/2000 | 8 a 9 | 100 | 250 | 45 | 5,6 | 104 | 165 | 46,8 | 3,5 |
| 31/10/2000 | 9 a 10 | 100 | 160 | 45 | 3,6 | 104 | 28 | 46,8 | 0,6 |
| 07/11/2000 | 10 a 11 | 100 | 395 | 45 | 8,8 | 104 | 86 | 46,8 | 1,8 |
| 14/11/2000 | 11 a 12 | 99 | 9 | 44,6 | 0,2 | 99 | 116 | 44,6 | 2,6 |
| 21/11/2000 | 12 a 13 | 99 | 400 | 44,6 | 9,0 | 99 | 45 | 44,6 | 1,0 |
| 28/11/2000 | 13 a 14 | 99 | 396 | 44,6 | 8,9 | 98 | 56 | 44,1 | 1,3 |
| 05/12/2000 | 14 a 15 | 99 | 329 | 44,6 | 7,4 | 98 | 55 | 44,1 | 1,2 |
| 12/12/2000 | 15 a 16 | 97 | 404 | 43,7 | 9,2 | 98 | - | 44,1 | - |
| 19/12/2000 | 16 a 17 | 91 | 351 | 41 | 8,6 | 98 | 39 | 44,1 | 0,9 |
| 26/12/2000 | 17 a 18 | 89 | 167 | 40,1 | 4,2 | 96 | 9 | 43,2 | 0,2 |
| 02/01/2001 | 18 a 19 | 86 | 483 | 38,7 | 12,5 | 95 | 79 | 42,8 | 1,8 |
| Média (DP) | | | | | 7,0 (3,3) | | | | 1,6 (1,0) |

a = considerando a razão de machos e fêmeas de 1,2

- = medida não realizada ou não se aplica

DP = desvio padrão

Tabela A5. Dados de sobrevivência e reprodução do experimento V.

| Data | Idade cultura | <i>Hyalella azteca</i> | | | | <i>Hyalella sp.</i> | | | |
|------------|---------------|--|-----------|------------------------|-------------|--|-----------|------------------------|-------------|
| | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | |
| | | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F |
| 05/02/2001 | 6 a 7 | 98 | 36 | 44,1 | 0,8 | 90 | 73 | 40,5 | 1,8 |
| 13/02/2001 | 7 a 8 | 98 | 99 | 44,1 | 2,2 | 90 | 114 | 40,5 | 2,8 |
| 20/02/2001 | 8 a 9 | 98 | 249 | 44,1 | 5,6 | 89 | 124 | 40,1 | 3,1 |
| 01/03/2001 | 9 a 10 | 98 | 199 | 44,1 | 4,5 | 86 | 217 | 38,3 | 5,7 |
| 08/03/2001 | 10 a 11 | 98 | 177 | 44,1 | 4,0 | 86 | 225 | 38,7 | 5,8 |
| 15/03/2001 | 11 a 12 | 95 | 123 | 42,8 | 2,9 | 83 | 129 | 37,8 | 3,4 |
| 22/03/2001 | 12 a 13 | 90 | 249 | 40,5 | 6,1 | 84 | 93 | 37,8 | 2,5 |
| 29/03/2001 | 13 a 14 | 87 | 212 | 38,7 | 5,5 | 82 | 227 | 36,9 | 6,2 |
| 05/04/2001 | 14 a 15 | 87 | 219 | 39,2 | 5,6 | 82 | 153 | 36,9 | 4,1 |
| 12/04/2001 | 15 a 16 | 86 | 323 | 38,7 | 8,3 | 82 | 164 | 36,9 | 4,4 |
| 19/04/2001 | 16 a 17 | 86 | 200 | 38,7 | 5,2 | 82 | 116 | 36,5 | 3,2 |
| 26/04/2001 | 17 a 18 | 81 | 191 | 36,5 | 5,2 | 82 | 47 | 36,9 | 1,3 |
| 03/05/2001 | 18 a 19 | 0 | 0 | | | 80 | 69 | 36 | 1,9 |
| Média (DP) | | | | | 4,7 (2,0) | | | | 3,6 (1,6) |
| M/F | | | | | | 40/39 | | | |

a = considerando a razão de machos e fêmeas de 1,2

- = medida não realizada ou não se aplica

DP = desvio padrão

M/F = razão macho e fêmea

Tabela A6. Dados de sobrevivência e reprodução do experimento VI .

| Data | Idade cultura | <i>Hyalella azteca</i> | | | | <i>Hyalella sp.</i> | | | |
|------------|---------------|--|-----------|------------------------|-------------|--|-----------|------------------------|-------------|
| | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | | Ração de coelho + RL ração de peixe Purina | | | |
| | | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F | N. adultos | N. jovens | N. fêmeas ^a | N. jovens/F |
| 08/03/2001 | 8 a 9 | 85 | 426 | 38,3 | 11,1 | 87 | 85 | 39,2 | 2,2 |
| 15/03/2001 | 9 a 10 | 85 | - | - | - | 84 | - | - | - |
| 22/03/2001 | 10 a 11 | 85 | 272 | 38,3 | 7,1 | 83 | 110 | 37,8 | 2,9 |
| 29/03/2001 | 11 a 12 | 79 | 310 | 35,6 | 8,7 | 81 | 190 | 36,5 | 5,2 |
| 05/04/2001 | 12 a 13 | 76 | 282 | 34,2 | 8,2 | 81 | 113 | 36,5 | 3,1 |
| 12/04/2001 | 13 a 14 | 70 | 433 | 31,5 | 13,7 | 81 | 97 | 36,5 | 2,7 |
| 19/04/2001 | 14 a 15 | 70 | 283 | 31,5 | 9,0 | 81 | 91 | 36,5 | 2,5 |
| 26/04/2001 | 15 a 16 | 70 | 341 | 31,5 | 10,8 | 81 | 79 | 36,5 | 2,2 |
| 03/05/2001 | 16 a 17 | 69 | 329 | 30,6 | 10,8 | 77 | 70 | 34,7 | 2,0 |
| Média (DP) | | | | | 9,9 (2,1) | | | | 2,8 (1,0) |
| M/F | | | | | | 33/36 | | | |

a = considerando a razão de machos e fêmeas de 1,2

- = medida não realizada ou não se aplica

DP = desvio padrão

M/F = razão macho e fêmea

ANEXO B

Tabela B1. Determinação da razão entre machos e fêmeas nas culturas de *Hyalella azteca*.

| Cultura | Data início da cultura | Data da determinação do sexo dos adultos | Machos/Fêmeas |
|-----------------------|------------------------|--|----------------------|
| 1 | 03/07/2001 | 28/08/2001 25/09/2001 | 1,10 1,19 |
| 2 | 14/08/2001 | 25/09/2001 | 1,21 |
| 3 | 11/09/2001 | 14/12/2001 | 1,00 |
| 4 | 30/10/2001 | 18/12/2001 | 1,09 |
| 5 | 20/11/2001 | 18/12/2001 | 0,87 |
| 6 | 03/01/2002 | 26/03/2002 | 1,13 |
| 7 | 05/02/2002 | 26/03/2002 30/04/2002 17/05/2002 | 0,89 0,95 1,20 |
| 8 | 05/03/2002 | 26/03/2002 30/04/2002 17/05/2002 | 1,28 1,31 1,39 |
| 9 | 02/04/2002 | 08/05/2002 07/06/2002 | 1,25 1,44 |
| 10 | 30/04/2002 | 07/06/2002 26/07/2002 30/07/2002 | 1,47 2,00 1,92 |
| 11 | 07/05/2002 | 30/07/2002 20/08/2002 | 1,21 1,03 |
| 12 | 04/06/2002 | 04/07/2002 26/07/2002 01/10/2002 | 1,04 0,98 0,87 |
| 13 | 02/07/2002 | 26/07/2002 20/08/2002 29/10/2002 | 1,02 0,96 1,00 |
| 14 | 06/08/2002 | 10/09/2002 05/11/2002 10/12/2002 | 0,85 0,84 0,81 |
| 15 | 24/09/2002 | 05/11/2002 10/12/2002 24/12/2002 | 1,46 1,40 1,24 |
| 16 | 08/10/2002 | 19/11/2002 | 0,94 |
| 17 | 05/11/2002 | 07/01/2003 04/02/2003 18/02/2003 | 1,33 1,56 1,33 |
| 18 | 03/12/2003 | 07/01/2003 04/02/2003 | 1,23 1,45 |
| Média (Desvio Padrão) | | | 1,19(0,28) |

Tabela B2. Dados de sobrevivência e reprodução da cultura 1A (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula).

| Data | Idade (semanas) | Número de adultos | Mortalidade dos adultos (%) | Dados da água | | Número de jovens | | Mortalidade dos jovens (%) | Dados da água | |
|------------|-----------------|-------------------|-----------------------------|---------------|-----------|-------------------|-------------|----------------------------|---------------|-----------|
| | | | | pH (unidades) | OD (mg/L) | 0 a 7 dias | 7 a 14 dias | | pH (unidades) | OD (mg/L) |
| 03/05/2001 | 0 a 1 | 65 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10/05/2001 | 1 a 2 | 58 | 10,8 | - | - | - | - | - | - | - |
| 17/05/2001 | 2 a 3 | 50 | 0 | 7,2 | 6,5 | - | - | - | - | - |
| 22/05/2001 | 3 a 4 | 50 | 0 | 7,0 | 6,3 | - | - | - | - | - |
| 29/05/2001 | 4 a 5 | 51 | 0 | 7,1 | 6,5 | 16 | 12 | 25,0 | 7,4 | 5,7 |
| 05/06/2001 | 5 a 6 | 49 | 3,9 | 7,4 | 4,5 | 50 | 45 | 10,0 | 7,5 | 6,7 |
| 12/06/2001 | 6 a 7 | 48 | 5,9 | 7,5 | 6,8 | 171 | 162 | 5,0 | 7,6 | 6,6 |
| 19/06/2001 | 7 a 8 | 48 | 5,9 | 7,3 | 4,8 | 204 | 194 | 5,0 | 7,4 | 4,3 |
| 26/06/2001 | 8 a 9 | 48 | 5,9 | 7,4 | 3,7 | 202 | 192 | 5,0 | 7,8 | 6,6 |
| 03/07/2001 | 9 a 10 | 49 | 3,9 | 7,4 | 5,1 | 212 | 195 | 8,0 | 7,3 | 6,4 |
| 10/07/2001 | 10 a 11 | 47 | 7,8 | 7,5 | 6,3 | 388 | 365 | 6,0 | 7,3 | 6,4 |
| 18/07/2001 | 11 a 12 | 45 | 8,2 | 7,4 | 6,0 | 272 | 266 | 3,0 | 7,5 | 6,7 |
| 23/07/2001 | 12 a 13 | 45 | 11,8 | - | - | 166 | 152 | 8,5 | 7,6 | 6,0 |
| 31/07/2001 | 13 a 14 | 42 | 17,7 | 7,3 | 6,0 | 141 | 126 | 10,6 | 7,7 | 6,9 |
| 07/08/2001 | 14 a 15 | 41 | 17,6 | 7,4 | 6,1 | 208 | 208 | 0,0 | 7,4 | 6,0 |
| 14/08/2001 | 15 a 16 | 41 | 17,6 | 7,5 | 6,0 | 92 | 87 | 5,4 | 7,6 | 6,2 |
| 21/08/2001 | 16 a 17 | 40 | 21,5 | 7,6 | 6,2 | 185 | 191 | 0,0 | 7,7 | 6,9 |
| 28/08/2001 | 17 a 18 | 38 | 25,5 | 7,6 | 6,7 | 127 | 125 | 3,1 | 7,5 | 6,3 |
| 04/09/2001 | 18 a 19 | 28 | 45,1 | 7,35 | 5,1 | 118 | 110 | 6,8 | - | - |
| Média(DP) | | | | 7,4(0,2) | 5,8(0,9) | 2552 ^a | | | 7,5(0,2) | 6,3(0,7) |

RL = ração para peixe Tetramin ® digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®) preparado segundo descrito em CETESB (1991)

- = dado inexistente

DP = desvio padrão

a = total de jovens

Tabela B3. Dados de sobrevivência e reprodução da cultura 1B (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,2mL de óleo de prímula).

| Data | Idade (semanas) | Número de adultos | Mortalidade dos adultos (%) | Dados da água | | Número de jovens | | Mortalidade dos jovens (%) | Dados da água | |
|------------|-----------------|-------------------|-----------------------------|---------------|-----------|-------------------|-------------|----------------------------|---------------|-----------|
| | | | | pH (unidades) | OD (mg/L) | 0 a 7 dias | 7 a 14 dias | | pH (unidades) | OD (mg/L) |
| 03/05/2001 | 0 a 1 | 65 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10/05/2001 | 1 a 2 | 62 | 4,6 | - | - | - | - | - | - | - |
| 17/05/2001 | 2 a 3 | 47 | 6 | 7,1 | 5,7 | - | - | - | - | - |
| 22/05/2001 | 3 a 4 | 48 | 4 | 7,0 | 5,1 | - | - | - | - | - |
| 29/05/2001 | 4 a 5 | 46 | 8 | 7,2 | 6,0 | 12 | 11 | 9,0 | 7,5 | 5,3 |
| 05/06/2001 | 5 a 6 | 42 | 6 | 7,5 | 4,9 | 60 | 70 | 0,0 | 7,6 | 6,5 |
| 12/06/2001 | 6 a 7 | 46 | 8 | 7,5 | 6,4 | 169 | 161 | 4,7 | 7,5 | 6,2 |
| 19/06/2001 | 7 a 8 | 45 | 10 | 7,6 | 6,1 | 211 | 176 | 16,6 | 7,6 | 5,9 |
| 26/06/2001 | 8 a 9 | 44 | 12 | 7,5 | 4,8 | 117 | 108 | 7,7 | 7,8 | 6,7 |
| 03/07/2001 | 9 a 10 | 42 | 16 | 7,5 | 5,5 | 195 | 183 | 6,2 | 7,3 | 6,5 |
| 10/07/2001 | 10 a 11 | 43 | 16 | 7,2 | 4,8 | 249 | 230 | 7,6 | 7,2 | 5,8 |
| 18/07/2001 | 11 a 12 | 41 | 18 | 7,3 | 5,0 | 327 | 302 | 7,7 | 7,3 | 6,5 |
| 23/07/2001 | 12 a 13 | 40 | 20 | - | - | 306 | 328 | 0,0 | 7,4 | 6,4 |
| 31/07/2001 | 13 a 14 | 40 | 20 | 7,5 | 6,0 | 326 | 314 | 3,7 | 7,5 | 6,5 |
| 07/08/2001 | 14 a 15 | 37 | 26 | 7,5 | 6,1 | 150 | 103 | 31,3 | 7,6 | 6,1 |
| 14/08/2001 | 15 a 16 | 33 | 34 | 7,6 | 6,2 | 105 | 97 | 7,6 | 7,5 | 5,5 |
| 21/08/2001 | 16 a 17 | 24 | 52 | 7,4 | 4,6 | 96 | 89 | 7,3 | 7,5 | 6,3 |
| Média (DP) | | | | 7,4 (0,2) | 5,5 (0,6) | 2323 ^a | | | 7,5 (0,2) | 6,2 (0,4) |

RL= ração para peixe Tetramin ® digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®) preparado segundo descrito em CETESB (1991)

- = dado inexistente

DP = desvio padrão

a = total de jovens

Tabela B4. Dados de sobrevivência e reprodução da cultura 1C (50 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula e 5,0 mL de *Selenastrum capricornutum*).

| Data | Número de adultos | Idade (semanas) | Mortalidade adultos (%) | Dados da água | | Número de jovens | | Mortalidade dos jovens (%) | Dados da água | |
|------------|-------------------|-----------------|-------------------------|---------------|-----------|------------------|-------------|----------------------------|---------------|-----------|
| | | | | pH (unidades) | OD (mg/L) | 0 a 7 dias | 7 a 14 dias | | pH (unidades) | OD (mg/L) |
| 03/05/2001 | 65 | 0 a 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10/05/2001 | 63 | 1 a 2 | 3,1 | - | - | - | - | - | - | - |
| 17/05/2001 | 44 | 2 a 3 | 12 | 7,2 | 6,3 | - | - | - | - | - |
| 22/05/2001 | 44 | 3 a 4 | 12 | 7,0 | 3,5 | - | - | - | - | - |
| 29/05/2001 | 44 | 4 a 5 | 12 | 7,3 | 5,9 | 12 | 7 | 41,7 | 7,3 | 3,5 |
| 05/06/2001 | 43 | 5 a 6 | 14 | 7,5 | 5,4 | 82 | 80 | 9,0 | 7,5 | 6,6 |
| 12/06/2001 | 42 | 6 a 7 | 14 | 7,4 | 6,6 | 143 | 99 | 30,8 | 7,7 | 6,7 |
| 19/06/2001 | 36 | 7 a 8 | 28 | 7,1 | 4,4 | 34 | 21 | 38,2 | 7,3 | 4,8 |
| 26/06/2001 | 27 | 8 a 9 | 46 | 7,4 | 4,7 | 11 | 3 | 27,3 | 7,7 | 6,1 |
| Média (DP) | | | | 7,3 (0,2) | 5,3 (1,1) | 282 ^a | | | 7,5 (0,2) | 5,5 (1,4) |

RL = ração para peixe Tetramin® digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®) preparado segundo descrito em CETESB (1991)

- = dado inexistente

DP = desvio padrão

a = total de jovens

Tabela B5. Dados de sobrevivência e reprodução da cultura 1D (100 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula).

| Data | Número de adultos | Idade (semanas) | Mortalidade adultos (%) | Dados da água | | Número de jovens | | Mortalidade dos jovens (%) | Dados da água | |
|------------|-------------------|-----------------|-------------------------|---------------|-----------|-------------------|-------------|----------------------------|---------------|-----------|
| | | | | pH (unidades) | OD (mg/L) | 0 a 7 dias | 7 a 14 dias | | pH (unidades) | OD (mg/L) |
| 03/05/2001 | 130 | 0 a 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10/05/2001 | 100 | 1 a 2 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 17/05/2001 | 100 | 2 a 3 | 0 | - | - | - | - | - | - | - |
| 22/05/2001 | 99 | 3 a 4 | 1 | 7,1 | 6,3 | - | - | - | - | - |
| 29/05/2001 | 100 | 4 a 5 | 0 | 7,5 | 6,8 | 24 | 14 | 41,7 | 7,3 | 4,3 |
| 05/06/2001 | 100 | 5 a 6 | 0 | 7,4 | 4,2 | 148 | 132 | 10,8 | 7,4 | 6,6 |
| 12/06/2001 | 97 | 6 a 7 | 3 | 7,5 | 6,6 | 354 | 338 | 4,5 | 7,6 | 6,2 |
| 19/06/2001 | 99 | 7 a 8 | 1 | 7,2 | 4,9 | 401 | 368 | 8,2 | 7,5 | 4,7 |
| 26/06/2001 | 97 | 8 a 9 | 3 | 7,2 | 2,3 | 500 | 460 | 8 | 7,5 | 5,5 |
| 03/07/2001 | 95 | 9 a 10 | 5 | 7,5 | 4,9 | 447 | 442 | 1,2 | 7,6 | 6,3 |
| 10/07/2001 | 94 | 10 a 11 | 6 | 7,5 | 5,7 | 425 | 398 | 6,4 | 7,1 | 5,3 |
| 18/07/2001 | 90 | 11 a 12 | 10 | 7,4 | 6,1 | 396 | 366 | 7,6 | 7 | 4 |
| 23/07/2001 | 87 | 12 a 13 | 13 | - | - | 53 | 66 | 0 | 7,5 | 6,6 |
| 31/07/2001 | 85 | 13 a 14 | 15 | 7,4 | 6,0 | 275 | 240 | 12,7 | 7,5 | 5,4 |
| 07/08/2001 | 78 | 14 a 15 | 22 | 7,3 | 4,5 | 395 | 373 | 5,6 | 7,6 | 6 |
| 14/08/2001 | 76 | 15 a 16 | 24 | 7,5 | 5,5 | 132 | 128 | 3 | 7,5 | 5,8 |
| 21/08/2001 | 65 | 16 a 17 | 35 | 7,5 | 5,6 | 294 | 245 | 16,7 | 7,7 | 6,6 |
| 28/08/2001 | 58 | 17 a 18 | 42 | 7,7 | 7,0 | 146 | 129 | 11,6 | 7,6 | 6,6 |
| 04/09/2001 | 47 | 18 a 19 | 53 | 7,5 | 6,1 | 114 | 114 | 0 | - | - |
| Média (DP) | | | | 7,4 (0,2) | 5,5 (0,6) | 4105 ^a | | | 7,5 (0,2) | 6,2 (0,4) |

RL = ração para peixe Tetramin ® digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®) preparado segundo descrito em CETESB (1991)

- = dado inexistente

DP = desvio padrão

a = total de jovens

Tabela B6. Razão entre machos e fêmeas nas culturas 1A (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula), 1B (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,2mL de óleo de prímula), 1C (50 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula e 5,0 mL de *Selenastrum capricornutum*) e 1D (100 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula).

| Cultura | Data da Observação | N. Machos | N. Fêmeas | Razão Machos/Fêmeas |
|---------|--------------------|-----------|-----------|---------------------|
| 1A | 28/08/01 | 25 | 13,0 | 1,9 |
| | 04/09/01 | 15 | 13,0 | 1,2 |
| 1B | 22/08/01 | 13 | 12,0 | 1,1 |
| 1D | 22/08/01 | 38 | 27 | 1,4 |
| | 28/08/01 | 34 | 24 | 1,4 |
| | 04/09/01 | 31 | 16 | 1,9 |

Tabela B7. Produção de jovens nas culturas 1A (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula), 1B (50 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,2mL de óleo de prímula), 1C (50 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula e 5,0 mL de *Selenastrum capricornutum*) e 1D (100 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula), considerando a razão entre machos e fêmeas de 1,2.

| Data | Idade das Culturas | Número de jovens/fêmea | | | |
|------------|--------------------|------------------------|------------|------------|------------|
| | | Cultura 1A | Cultura 1B | Cultura 1C | Cultura 1D |
| 29/05/2001 | 4 a 5 | 0,7 | 0,6 | 0,6 | 0,5 |
| 05/06/2001 | 5 a 6 | 2,3 | 2,9 | 4,2 | 3,3 |
| 12/06/2001 | 6 a 7 | 7,7 | 8,2 | 7,6 | 7,9 |
| 19/06/2001 | 7 a 8 | 9,2 | 10,4 | 2,1 | 9,0 |
| 26/06/2001 | 8 a 9 | 9,1 | 5,9 | 0,9 | 11,4 |
| 03/07/2001 | 9 a 10 | 9,6 | 10,3 | - | 10,4 |
| 10/07/2001 | 10 a 11 | 18,3 | 12,8 | - | 10,0 |
| 18/07/2001 | 11 a 12 | 13,4 | 17,7 | - | 9,8 |
| 23/07/2001 | 12 a 13 | 8,2 | 17,0 | - | 1,4 |
| 31/07/2001 | 13 a 14 | 7,5 | 18,1 | - | 7,1 |
| 07/08/2001 | 14 a 15 | 11,2 | 9,0 | - | 11,3 |
| 14/08/2001 | 15 a 16 | 5,0 | 7,0 | - | 3,9 |
| 21/08/2001 | 16 a 17 | 10,3 | 8,9 | - | 10,0 |
| 28/08/2001 | 17 a 18 | 7,4 | - | - | 5,6 |
| 04/09/2001 | 18 a 19 | 9,4 | - | - | 5,4 |
| Média (DP) | | 9,2 (3,7) | 10,7 (4,8) | 3,7 (2,9) | 7,6 (3,2) |

 Porcentagem de mortalidade dos adultos superior a 20%

= Dado inexistente

DP = Desvio padrão

Tabela B8. Dados de sobrevivência e reprodução da cultura 2A (100 organismos, 2,5 mL RL com sem adição de óleo de primula).

| Data | Número de adultos | Idade (semanas) | Mortalidade adultos (%) | Dados da água | | Número de jovens (0 a 7 dias) | Razão Macho/Fêmea |
|--------------|-------------------|-----------------|-------------------------|---------------|---------|-------------------------------|-------------------|
| | | | | pH unidades | OD mg/L | | |
| 20/08/2002 | 150 | 0 a 1 | - | - | - | - | - |
| 27/08/2002 | 147 | 1 a 2 | 2 | - | - | - | - |
| 03/09/2002 | 145 | 2 a 3 | 3,3 | - | - | - | - |
| 10/09/2002 | 146 | 3 a 4 | 2,7 | - | - | - | - |
| 18/09/2002 | 138 ^a | 4 a 5 | 8 | - | - | - | 50:50 (1,0) |
| 24/09/2002 | 98 | 5 a 6 | 2 | - | - | 162 | - |
| 01/10/2002 | 98 | 6 a 7 | 2 | - | - | 218 | - |
| 08/10/2002 | 95 | 7 a 8 | 5 | 7,4 | 5,2 | 310 | - |
| 15/10/2002 | 93 | 8 a 9 | 7 | 7,2 | 3,8 | 365 | - |
| 22/10/2002 | 90 | 9 a 10 | 10 | 7,4 | 5,3 | 377 | 48:42 (1,1) |
| 29/10/2002 | 91 | 10 a 11 | 9 | 7,4 | 6,3 | 414 | - |
| 05/11/2002 | 90 | 11 a 12 | 10 | 7,3 | 4,5 | 367 | - |
| 12/11/2002 | 83 | 12 a 13 | 17 | 7,4 | 5,8 | 337 | - |
| 19/11/2002 | 77 | 13 a 14 | 33 | 7,3 | 4,8 | 263 | - |
| 26/11/2002 | 74 | 14 a 15 | 36 | 7,3 | 4,8 | 276 | 39:35(1,1) |
| Total jovens | | | | | | 3089 | |

RL = ração para peixe Tetramin[®] digerida mais levedura (Oetker[®] ou Fermix[®]) preparado segundo descrito em CETESB (1991)

a = Nesta data o número de organismos na cultura foi reduzido para 100 (50 machos e 50 fêmeas)

- = dado inexistente

Tabela B9. Dados de sobrevivência e reprodução da cultura 2B (100 organismos, 2,5 mL RL com adição de 0,1 mL de óleo de prímula).

| Data | Número de adultos | Idade (semanas) | Mortalidade adultos (%) | Dados da água | | Número de jovens (0 a 7 dias) | Razão Macho/Fêmea |
|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------------|---------------|---------|-------------------------------|-------------------|
| | | | | pH unidades | OD mg/L | | |
| 20/08/2002 | 150 | 0 a 1 | - | - | - | - | - |
| 27/08/2002 | 152 | 1 a 2 | 0 | - | - | - | - |
| 03/09/2002 | 153 | 2 a 3 | 0 | - | - | - | - |
| 10/09/2002 | 153 | 3 a 4 | 0 | - | - | - | - |
| 18/09/2002 | 145 ^a | 4 a 5 | 5,2 | - | - | - | 50:50 (1,0) |
| 24/09/2002 | 98 | 5 a 6 | 2 | - | - | 185 | - |
| 01/10/2002 | 97 | 6 a 7 | 3 | - | - | 254 | - |
| 08/10/2002 | 97 | 7 a 8 | 3 | 7,5 | 4,9 | 373 | - |
| 15/10/2002 | 94 | 8 a 9 | 6 | 7,3 | 4,1 | 501 | - |
| 22/10/2002 | 94 | 9 a 10 | 6 | 7,4 | 5,5 | 466 | 47:47 (1,0) |
| 29/10/2002 | 92 | 10 a 11 | 8 | 7,5 | 6,8 | 588 | - |
| 05/11/2002 | 92 | 11 a 12 | 8 | 7,5 | 5,8 | 436 | - |
| 12/11/2002 | 90 | 12 a 13 | 10 | 7,5 | 6,3 | 407 | - |
| 19/11/2002 | 88 | 13 a 14 | 12 | 7,5 | 6,1 | 446 | - |
| 26/11/2002 | 82 | 14 a 15 | 18 | 7,4 | 5,8 | 393 | - |
| 31/12/2002 | 77 | 15 a 16 | 23 | 7,6 | 6,2 | 241 | - |
| 10/01/2003 | 68 | 16 a 17 | 32 | 7,3 | 5,6 | 288 | 34:32 (1,1) |
| Total de jovens | | | | | | 4578 | |

RL = ração para peixe Tetramin[®] digerida mais levedura (Oetker[®] ou Fermix[®]) preparado segundo descrito em CETESB (1991)

a = Nesta data o número de organismos na cultura foi reduzido para 100(50 machos e 50 fêmeas)

- = dado inexistente

Tabela B10. Dados de sobrevivência e reprodução da cultura 2C (100 organismos, 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula).

| Data | Número De adultos | Idade (semanas) | Mortalidade adultos (%) | Dados da água | | Número de jovens (0 a 7 dias) | Razão Macho/Fêmea |
|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------------|---------------|---------|-------------------------------|--------------------------|
| | | | | pH unidades | OD mg/L | | |
| 20/08/2002 | 150 | 0 a 1 | - | - | - | | |
| 27/08/2002 | 145 | 1 a 2 | 3,3 | - | - | - | |
| 03/09/2002 | 142 | 2 a 3 | 5,3 | - | - | - | |
| 10/09/2002 | 137 | 3 a 4 | 8,7 | - | - | - | |
| 18/09/2002 | 130 | 4 a 5 | 13,3 | - | - | - | 50:50 (1,0) |
| 24/09/2002 | 99 ^a | 5 a 6 | 1 | - | - | 211 | - |
| 01/10/2002 | 95 | 6 a 7 | 5 | - | - | 382 | - |
| 08/10/2002 | 89 | 7 a 8 | 11 | 7,3 | 4,1 | 393 | - |
| 15/10/2002 | 91 | 8 a 9 | 9 | 7,1 | 3,2 | 439 | - |
| 22/10/2002 | 90 | 9 a 10 | 10 | 7,1 | 4,2 | 387 | 46:44 (1,0) |
| 29/10/2002 | 82 | 10 a 11 | 18 | 7,4 | 6,5 | 389 | - |
| 05/11/2002 | 59 | 11 a 12 | 41 | 7,3 | 5,2 | 118 | 22:31 (0,7) ^b |
| Total de jovens | | | | | | 2319 | |

RL = ração para peixe Tetramin ® digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®) preparado segundo descrito em CETESB (1991)

a = Nesta data o número de organismos na cultura foi reduzido para 100 (50 machos e 50 fêmeas).

b = A identificação dos machos e fêmeas foi realizada no dia 6/11/ 02. Nesse dia foram observados adultos mortos, tendo sido contados apenas 53 adultos vivos.

- = dado inexistente

Tabela B11. Número de jovens por fêmea nos tratamentos 2A (100 organismos, 2,5 mL de RL sem a adição de óleo de prímula), 2B (100 organismos, 2,5 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula) e 2C (100 organismos, 5,0 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula), considerando a razão entre machos e fêmeas de 1,1.

| Data | Idade (semanas) | Cultura | | |
|-----------------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|
| | | 2A | 2B | 2C |
| 24/09/2002 | 4 a 5 | 3,5 | 4,0 | 4,5 |
| 01/10/2002 | 5 a 6 | 4,7 | 5,5 | 8,5 |
| 08/10/2002 | 6 a 7 | 6,9 | 8,1 | 9,3 |
| 15/10/2002 | 7 a 8 | 8,3 | 11,2 | 10,2 |
| 22/10/2002 | 8 a 9 | 8,8 | 10,4 | 9,0 |
| 29/10/2002 | 9 a 10 | 9,6 | 13,5 | 10,0 |
| 5/11/2002 | 10 a 11 | 8,6 | 10,0 | 4,2 |
| 12/11/2002 | 11 a 12 | 8,6 | 9,5 | - |
| 19/11/2002 | 12 a 13 | 7,2 | 10,7 | - |
| 26/11/2002 | 13 a 14 | 7,8 | 10,1 | - |
| 31/11/2002 | 14 a 15 | - | 6,6 | - |
| 10/12/2002 | 15 a 16 | - | 8,9 | - |
| Média (desvio padrão) | | 7,4 (1,9) | 9,0 (2,6) | 8,0 (2,5) |

■ Porcentagem de mortalidade dos adultos superior a 20%
 - = Dado inexistente

Tabela B12. Dados de sobrevivência e reprodução da cultura 3A (100 organismos, 2,5 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula), data de início 16/1/01.

| Data | Idade (semanas) | Número de adultos | Número de jovens | Número de fêmeas | Número de jovens/fêmea |
|-----------------------|-----------------|-------------------|------------------|------------------|------------------------|
| 08/03/2001 | 8 a 9 | 85 | 426 | 38,3 | 11,1 |
| 15/03/2001 | 9 a 10 | 85 | - | 38,3 | - |
| 22/03/2001 | 10 a 11 | 85 | 272 | 38,3 | 7,1 |
| 29/03/2001 | 11 a 12 | 79 | 310 | 35,6 | 8,7 |
| 05/04/2001 | 12 a 13 | 76 | 282 | 34,2 | 8,2 |
| 12/04/2001 | 13 a 14 | 70 | 433 | 31,5 | 13,7 |
| 19/04/2001 | 14 a 15 | 69 | 283 | 31,5 | 9,0 |
| 26/04/2001 | 15 a 16 | 70 | 341 | 31,5 | 10,8 |
| 03/05/2001 | 16 a 17 | 68 | 329 | 30,6 | 10,8 |
| Média (desvio padrão) | | | | | 9,9 (2,1) |

RL = ração para peixe Tetramin® digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®) preparado segundo descrito em CETESB (1991)

Tabela B13. Dados de sobrevivência e reprodução da cultura 3B (100 organismos, 2,5 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula), data de início 4/9/01.

| Data | Idade (semanas) | Número de adultos | Número de jovens | Número de fêmeas | Número de jovens/fêmea |
|-----------------------|-----------------|-------------------|------------------|------------------|------------------------|
| 02/10/2001 | 4 a 5 | 95 | 255 | 43,2 | 5,9 |
| 08/10/2001 | 5 a 6 | 96 | 339 | 43,2 | 7,8 |
| 16/10/2001 | 6 a 7 | 95 | 367 | 43,2 | 8,5 |
| 23/10/2001 | 7 a 8 | 92 | 279 | 41,9 | 6,7 |
| 30/10/2001 | 8 a 9 | 93 | 368 | 41,9 | 8,8 |
| 06/11/2001 | 9 a 10 | 93 | 530 | 41,9 | 12,6 |
| 13/11/01 | 10 a 11 | 89 | 504 | 40,1 | 12,6 |
| 20/11/2001 | 11 a 12 | 80 | 420 | 36 | 11,7 |
| 27/11/2001 | 12 a 13 | 69 | 305 | 31,1 | 9,8 |
| Média (desvio padrão) | | | | | 9,8 (2,3) |

RL = ração para peixe Tetramin[®] digerida mais levedura (Oetker[®] ou Fermix[®]) preparado segundo descrito em CETESB (1991)

Tabela B14. Dados de sobrevivência e reprodução da cultura 3C (100 organismos, 2,5 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula), data de início 2/7/02.

| Data | Idade (semanas) | Número de adultos | Número de jovens | Número de fêmeas | Número de jovens/fêmea |
|-----------------------|-----------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------------|
| 30/07/2002 | 4 a 5 | 100 | 31 | 45 | 0,7 |
| 06/08/2002 | 5 a 6 | 97 | 306 | 43,7 | 7,0 |
| 13/08/2002 | 6 a 7 | 98 | 446 | 44,1 | 10,1 |
| 20/08/2002 | 7 a 8 | 98 | 668 | 44,1 | 15,1 |
| 27/08/2002 | 8 a 9 | 95 | 385 | 42,8 | 9,0 |
| 03/09/2002 | 9 a 10 | 92 | 406 | 41,4 | 9,8 |
| 10/09/2002 | 10 a 11 | 87 | 331 | 39,2 | 8,4 |
| 17/09/2002 | 11 a 12 | 86 | 432 | 38,7 | 11,2 |
| 24/09/2002 | 12 a 13 | 83 | 356 | 37,4 | 9,5 |
| 01/10/2002 | 13 a 14 | 81 | - | - | - |
| 08/10/2002 | 14 a 15 | 81 | 610 | 36,5 | 16,7 |
| 15/10/2002 | 15 a 16 | 80 | 531 | 36 | 14,8 |
| 22/10/2002 | 16 a 17 | 77 | 382 | 34,7 | 11,0 |
| 29/10/2002 | 17 a 18 | 73 | 359 | 32,9 | 10,9 |
| Média (desvio padrão) | | | | | 11,1 (2,9) ^a |

RL = ação para peixe Tetramin[®] digerida mais levedura (Oetker[®] ou Fermix[®]) preparado segundo descrito em CETESB (1991)

a = desconsiderando a 4^a e 5^a semana

Tabela B15. Dados de sobrevivência e reprodução da cultura 3D (100 organismos, 2,5 mL de RL com a adição de 0,1 mL de óleo de prímula), data de início 2/4/02.

| Data | Idade (semanas) | Número de adultos | Número de jovens | Número de fêmeas | Número de jovens/fêmea |
|-----------------------|-----------------|-------------------|------------------|------------------|------------------------|
| 30/04/2002 | 4 a 5 | 98 | 208 | 44,1 | 4,7 |
| 07/05/2002 | 5 a 6 | 99 | 318 | 44,6 | 7,1 |
| 14/05/2002 | 6 a 7 | 98 | 467 | 44,1 | 10,6 |
| 21/05/2002 | 7 a 8 | 96 | 366 | 43,2 | 8,5 |
| 27/05/2002 | 8 a 9 | 90 | 448 | 40,5 | 11,1 |
| 04/06/2002 | 9 a 10 | 87 | 218 | 39,2 | 5,6 |
| 11/06/2002 | 10 a 11 | 81 | 169 | 36,5 | 4,6 |
| 18/06/2002 | 11 a 12 | 71 | 402 | 32,9 | 12,2 |
| 26/06/2002 | 12 a 13 | 73 | 253 | 32,9 | 7,7 |
| 02/07/2002 | 13 a 14 | 73 | 431 | 32,9 | 13,1 |
| 10/07/2002 | 14 a 15 | 70 | - | - | - |
| 16/07/2002 | 15 a 16 | 71 | 315 | 32 | 9,8 |
| 23/07/2002 | 16 a 17 | 71 | 467 | 32 | 14,6 |
| Média (desvio padrão) | | | | | 9,1 (3,3) |

RL = ração para peixe Tetramin® digerida mais levedura (Oetker® ou Fermix®) preparado segundo descrito em CETESB (1991)

Tabela B16. Resumo dos resultados do experimento 1.

| Variáveis | Cultura 1A | Cultura 1B | Cultura 1C | Cultura 1D |
|---|-----------------------------|-----------------------------|--|-----------------------------|
| Tipo de alimento/dia ^a | 2,5mL RL+0,1mL óleo prímula | 2,5mL RL+0,2mL óleo prímula | 5,0mL RL+0,1mL óleo prímula e 5,0mL <i>Selenastrum</i> | 2,5mL RL+0,1mL óleo prímula |
| Início de reprodução (idade da cultura expressa em semanas) | 4 a 5 | 4 a 5 | 4 a 5 | 4 a 5 |
| Ocorrência >20% de mortalidade dos adultos (idade da cultura expressa em semanas) | 16 a 17 | 14 a 15 | 6 a 7 | 14 a 15 |
| Número médio de jovens/fêmea/semana ^b (desvio padrão) | 9,2 (3,7) | 10,7 (4,8) | 3,7 (2,9) | 7,6 (3,2) |
| > Número médio de jovens/fêmea (idade da cultura expressa em semanas) | 18 (10 a 11) | 18 (13 a 14) | 7,8 (6 a 7) | 11,4 (8 e 9) |
| Período de maior reprodução (idade da cultura expressa em semanas) | 7 a 12 | 7 a 15 | 6 a 7 | 7 a 12 |

a = acrescido de ração para coelho granulada/ 3x/semana

b = considerando a razão entre machos e fêmeas de 1,2:1.

Tabela B17. Resumo dos resultados do experimento 2.

| Variáveis | Cultura 2A | Cultura 2B | Cultura 2C |
|--|-----------------------------|--|--|
| Tipo de alimento/dia ^a | 2,5mL RL sem adição de óleo | 2,5 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula | 5,0 mL RL com adição de 0,1mL de óleo de prímula |
| Início da reprodução (idade da cultura expressa em semanas) | 4 a 5 | 5 a 6 | 4 a 5 |
| Ocorrência >20% mortalidade dos adultos (idade da cultura expressa em semanas) | 13 a 14 | 15 a 16 | 11 a 12 |
| Número médio de jovens/fêmea/semana (desvio padrão) | 7,4 (1,9) | 9,0 (2,6) | 8,0 (2,5) |
| > Número médio de jovens/fêmea /semana ^b (idade da cultura expressa em semanas) | 9,6 (9 a 10) | 13,5 (9 a 10) | 10,0 (7 a 8 a 10 a 11) |
| Período de maior reprodução (idade da cultura expressa em semanas) | 6 a 14 | 6 a 14 | 5 a 10 |

a = acrescido de ração para coelho granulada/ 3x/semana

b = considerando a razão entre machos e fêmeas de 1,2.

Tabela B18. Resumo dos resultados do experimento 3.

| Variáveis | Cultura | | | | | | |
|---|-------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| | 3A | 1A | 1D | 3B | 3D | 3C | 2B |
| Mês de início e término da cultura | jan. a maio/2001 | maio a set./2001 | maio a set./2001 | set. a nov./2001 | abril a set./2002 | julho a out./2002 | ago. a dez./2002 |
| Número inicial de organismos/cultura | 100 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 | 150 ^a |
| Início da reprodução (idade da cultura expressa em semanas) | 4 a 5 | 4 a 5 | 4 a 5 | 4 a 5 | 4 a 5 | 4 a 5 | 5 a 6 |
| Ocorrência de >20% mortalidade (idade da cultura expressa em semanas) | 11 a 12 | 16 a 17 | 14 a 15 | 12 a 13 | 11 a 12 | 17 a 18 | 15 a 16 |
| Número médio jovens/fêmea/semana ^b (Desvio padrão) | 9,9(2,1) | 9,2 (3,7) | 7,6 (3,2) | 9,8 (2,3) | 9,1(3,3) | 11,1 (2,9) | 9,0 (2,6) |
| > Taxa de reprodução (idade da cultura expressa em semanas) | 13,7 (13 a 14) | 18,3 (10 a 11) | 11,3 (8 a 9) | 12,6 (9 a 11) | 13,1 (13 a 14) | 16,7 (14 a 15) | 13,5 (9 a 10) |
| Período de maior reprodução (idade da cultura expressa em semanas) | 8 a 17 | 7 a 12 | 7 a 12 | 5 a 13 | 6 a 9 | 7 a 19 | 6 a 14 |

a = o número de organismos foi reduzido para 100 na 4 e 5 semana

b = considerando a razão entre machos e fêmeas de 1,2.

ANEXO C

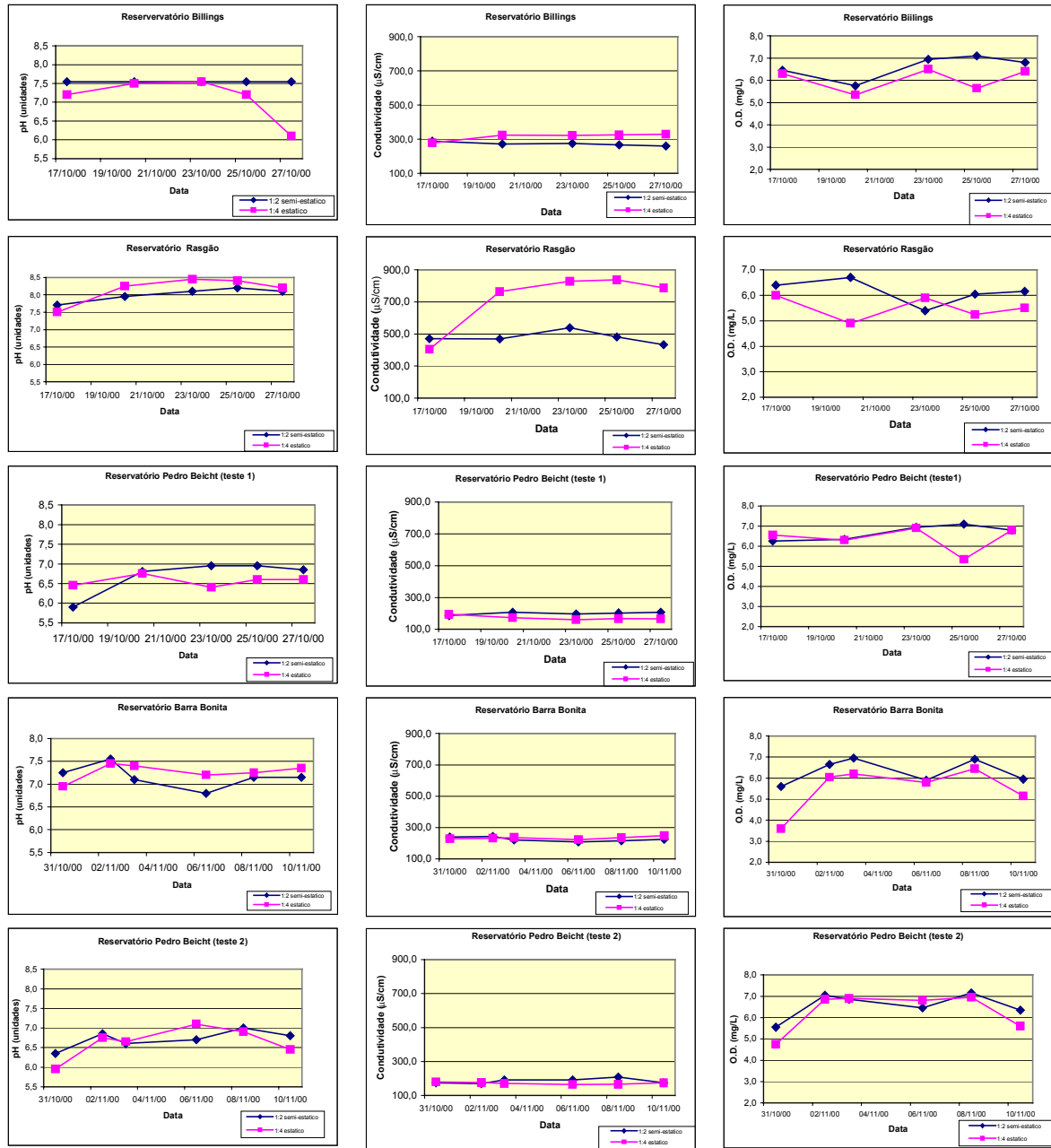


Figura C1. Dados de pH (unidades), condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e oxigênio dissolvido (mg/L) da água dos testes de toxicidade de sedimento coletados nos reservatórios Billings, Rasgão, Barra Bonita e Pedro Beicht (controle), experimento 1.

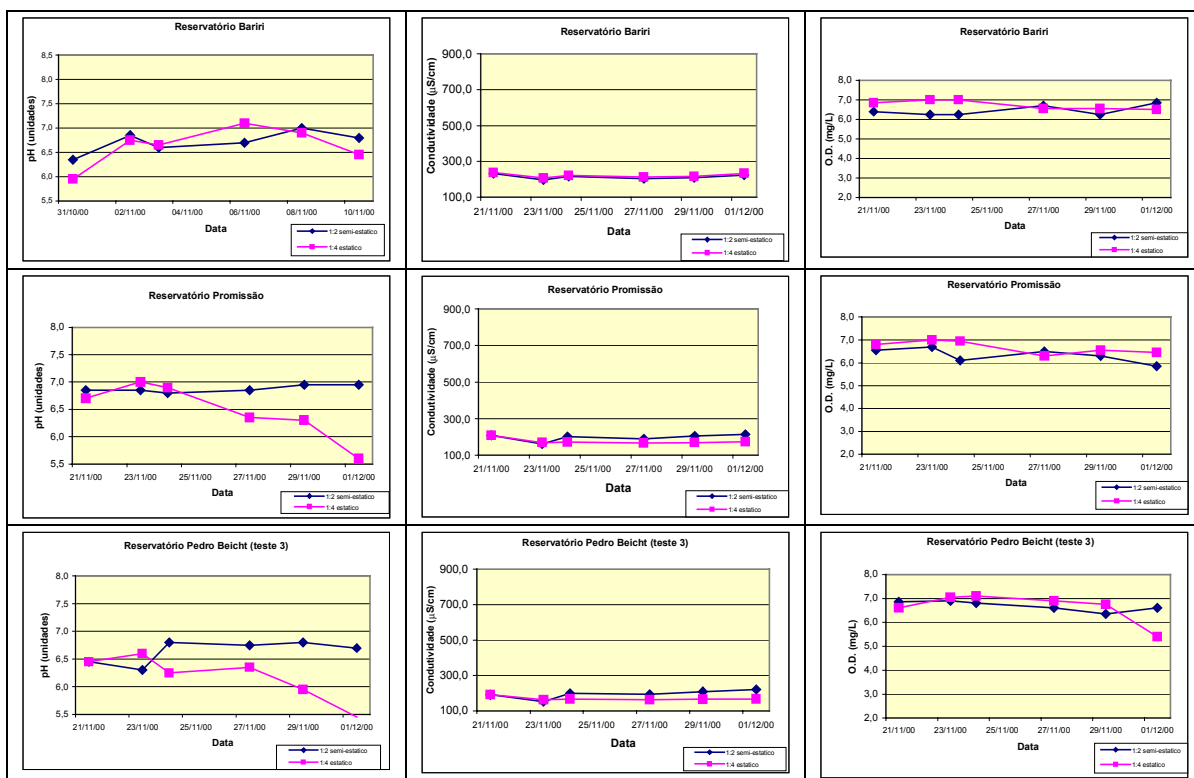


Figura C2. Dados de pH (unidades), condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e oxigênio dissolvido (mg/L) da água dos testes de toxicidade de sedimentos coletados nos reservatórios Bariri e Promissão e Pedro Beicht (controle), experimento 1.

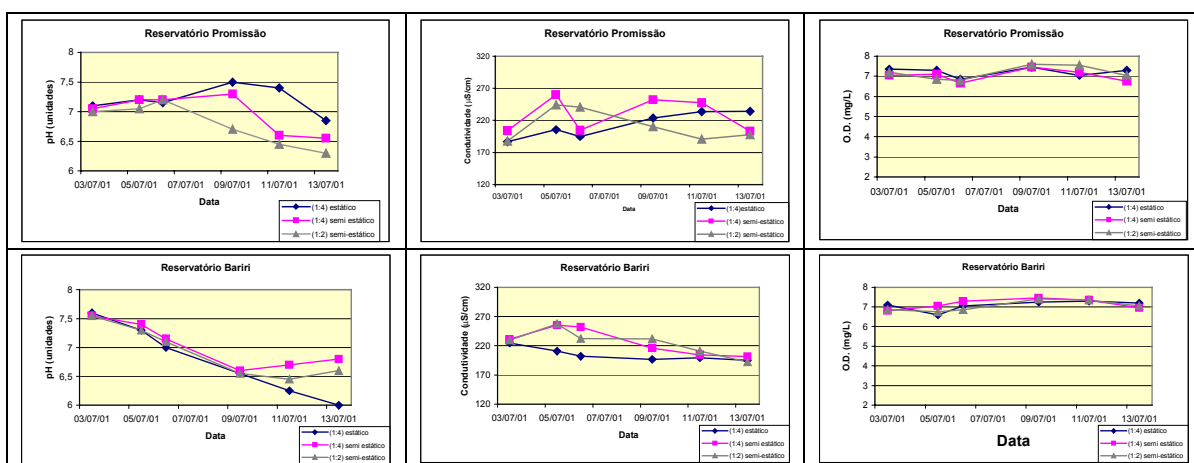


Figura C3. Dados de pH (unidades), condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e oxigênio dissolvido (mg/L) da água dos testes de toxicidade de sedimentos coletados nos reservatórios Bariri e Promissão e Pedro Beicht (controle), experimento 2.



Figura C4. Dados de pH (unidades), condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e oxigênio dissolvido (mg/L) da água dos testes de toxicidade de sedimentos coletados nos rios Atibainha, Cachoeira e Atibaia, experimento 3.

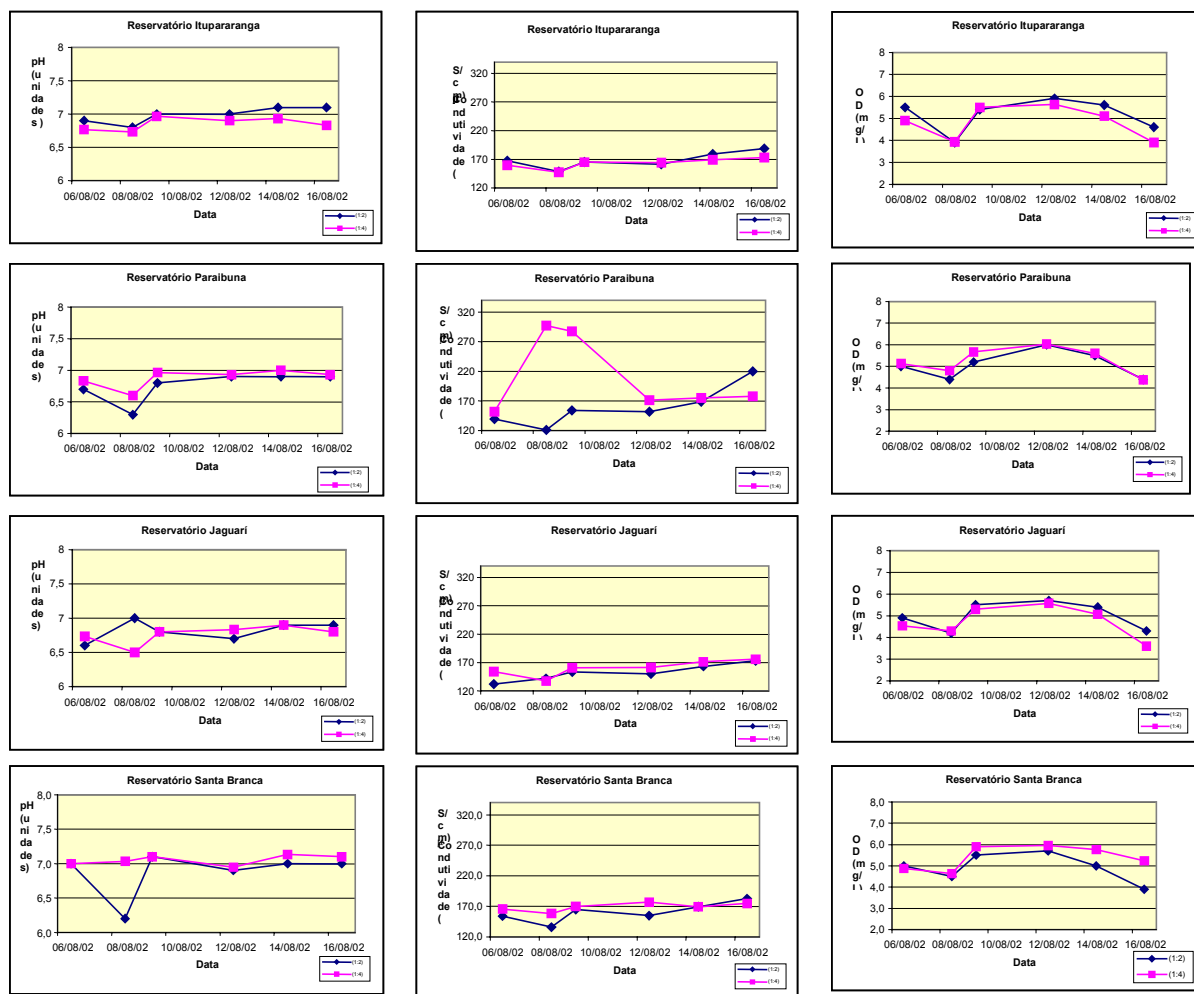


Figura 5C. Dados de pH (unidades), condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e oxigênio dissolvido (mg/L) da água dos testes de toxicidade de sedimentos coletados nos reservatórios Itaparanga, Paraibuna, Jaguarí e Santa Branca, experimento 3.

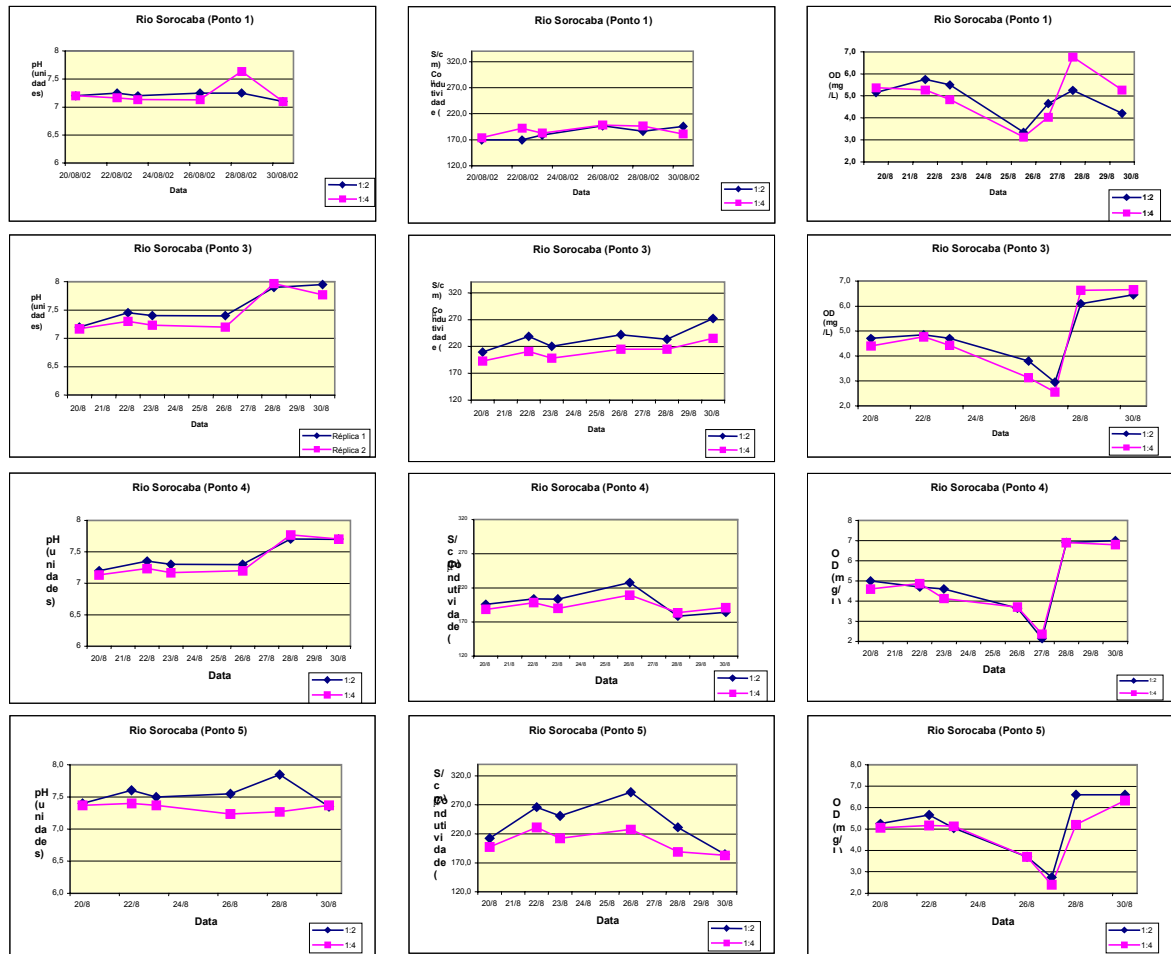


Figura C6. Dados de pH (unidades), condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e oxigênio dissolvido (mg/L) da água dos testes de toxicidade de sedimentos coletados no rio Sorocaba, experimento 3.

Tabela C1. Valores da mínima diferença significativa (MDS) para o efeito sobre a mortalidade, obtidos em testes de toxicidade com *Hyalella azteca*, realizados em sistema semi-estático.

| Descrição do ponto | Data da coleta | Número da amostra | Data do teste | Sedimento referência/controle | Espécie | MDS % do controle | MDS % do controle ordenada <i>H. azteca</i> |
|---|----------------|-------------------|---------------|--|------------------|-------------------|---|
| Rio Atibainha, jusante reservatório município de Nazaré Paulista | set/02 | 32139 | 17/09/2002 | Rio Cachoeira, ponto 4 | <i>H. azteca</i> | 7,2 | 2,4 |
| Rio Cachoeira, município de Piracaia no bairro dos Caneados | set/02 | 32146 | 17/09/2002 | Rio Cachoeira, ponto 4 | <i>H. azteca</i> | 7,9 | 2,4 |
| Rio Atibaia, a jusante do ponto 7, junto à captação do município de Itatiba | set/02 | 32160 | 17/09/2002 | Rio Cachoeira, ponto 4 | <i>H. azteca</i> | 9,3 | 2,7 |
| Reservatório Itapararanga, corpo central a 2km da barragem | jul/02 | 28509 | 06/08/2002 | Reservatório Paraibuna | <i>H. azteca</i> | 11,4 | 3,4 |
| Reservatório Jaguari, corpo central a 2km da barragem | jul/02 | 28536 | 06/08/2002 | Reservatório Paraibuna | <i>H. azteca</i> | 10,5 | 4,5 |
| Reservatório Santa Branca, corpo central a 2km da barragem | ago/02 | 28552 | 06/08/2002 | Reservatório Paraibuna | <i>H. azteca</i> | 10,5 | 4,7 |
| Rio Sorocaba, bairro Vitória Régia | ago/02 | 29111 | 20/08/2002 | Rio Sorocaba, jusante barragem da Votorantim | <i>H. azteca</i> | 5,9 | 5,9 |
| Rio Sorocaba, a montante do rio Sarapuí, município de Iperó | ago/02 | 29118 | 20/08/2002 | Rio Sorocaba, jusante barragem da Votorantim | <i>H. azteca</i> | 5,9 | 5,9 |
| Reservatório Billings; corpo central; em frente ao braço do Bororé | out/00 | 70694 | 17/10/2000 | Reservatório Pedro Beicht | <i>H. azteca</i> | 21,1 | 5,9 |
| Reservatório Billings; corpo central; em frente ao braço do Bororé | out/01 | | 20/11/2001 | Reservatório Promissão | <i>H. azteca</i> | 11,5 | 7,2 |
| Reservatório Billings; corpo central; em frente ao braço do Bororé | out/01 | | 20/11/2001 | Reservatório Promissão | <i>H. azteca</i> | 8,1 | 7,3 |
| Reservatório Rasgão; corpo central, próximo à barragem | out/00 | 70689 | 17/10/2000 | Reservatório Pedro Beicht | <i>H. azteca</i> | 4,7 | 7,7 |
| Reservatório Barra Bonita; corpo central; próximo à barragem | out/00 | 70701 | 31/10/2000 | Reservatório Pedro Beicht | <i>H. azteca</i> | 14,8 | 7,9 |
| Reservatório Barra Bonita; corpo central; próximo à barragem | out/01 | | 30/10/2001 | Reservatório Promissão | <i>H. azteca</i> | 11,5 | 8,1 |
| Reservatório Barra Bonita; corpo central; ponto B | out/01 | | 30/10/2001 | Reservatório Promissão | <i>H. azteca</i> | 10,3 | 8,1 |
| Reservatório Bariri; corpo central; próximo à barragem | out/00 | 72535 | 21/11/2000 | Reservatório Pedro Beicht | <i>H. azteca</i> | 10,9 | 8,7 |
| Reservatório Bariri; corpo central; próximo à barragem | jun/01 | | 03/07/2001 | Reservatório Promissão | <i>H. azteca</i> | 14,5 | 9,3 |
| Rio Atibaia, a jusante da Shell (ponto 1) | jun/02 | 24808 | 02/07/2002 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 9,5 | 9,3 |
| Rio Atibaia, a jusante da Shell (ponto 2) | jun/02 | 24811 | 02/07/2002 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 3,4 | 9,5 |
| Rio Atibaia, a jusante da Shell (ponto3) | jun/02 | 24812 | 02/07/2002 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 5,9 | 10 |
| Rio Piracicaba, a jusante de Limeira | jun/02 | 23673 | 25/06/2002 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 11,1 | 10,3 |
| Ri Atibaia, a jusante do lançamento da SocietalS/A antiga Shell | jun/02 | 23680 | 25/06/2002 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 8,7 | 10,5 |
| Rio Ribeira de Iguape | jun/02 | 23569 | 25/06/2002 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 2,7 | 10,5 |
| Rio Mogi-Guaçú | jun/02 | 23580 | 25/06/2002 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 4,5 | 10,9 |
| Reservatório Rio Grande, braço do Ribeirão Pires | set/03 | 63754 | 07/10/2003 | Reservatório Ponte Nova | <i>H. azteca</i> | 2,4 | 11,1 |
| Rio Corumbataí, a jusante do Ribeirão Claro | ago/03 | 59308 | 26/08/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 9,3 | 11,4 |
| Rio Piracicaba, a jusante da foz do Ribeirão do Tatú | ago/03 | 59301 | 26/08/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 13,6 | 11,4 |
| Rio Atibaia, na captação de água (jusante) empresa Societal | ago/03 | 59266 | 19/08/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 8,1 | 11,5 |
| Rio Sorocaba, na captação de água de Cerquilha | ago/03 | 59280 | 19/08/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 12,5 | 11,5 |
| Reservatório Guarapiranga, corpo central a cerca de 2km da barragem | jun/03 | 55543 | 10/06/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 10 | 12,5 |
| Reservatório Taiaçupeba, cerca de 1,5km da barragem | jun/03 | 55553 | 10/06/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 7,3 | 13,6 |

Tabela C1. Valores da mínima diferença significativa (MDS) para o efeito sobre a mortalidade, obtidos em testes de toxicidade com *Hyalella azteca*, realizados em sistema semi-estático (continuação).

| Descrição do ponto | Data da coleta | Número da amostra | Data do teste | Sedimento referência/controle | Espécie | MDS % do controle | MDS % do controle Ordenada <i>H. azteca</i> |
|---|----------------|-------------------|---------------|-------------------------------|------------------|-------------------|---|
| Reservatório Rio Grande em frente ao clube Banespa | jun/03 | 56984 | 24/06/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 18,7 | 14,5 |
| Reservatório Barra Bonita, no meio do corpo central | mai/03 | 54822 | 20/05/2003 | Reservatório Ponte Nova, | <i>H. azteca</i> | 2,4 | 14,8 |
| Rio Atibaia, a jusante do lançamento da Societal (antiga Shell) | jun/04 | 88878 | 15/06/2004 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 11,4 | 16,4 |
| Rio Piracicaba, a jusante da foz do Ribeirão do Tatú | jun/04 | 88863 | 15/06/2004 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 16,4 | 18,7 |
| Ribeirão dos Cristais | jun/04 | 89029 | 22/06/2004 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 7,7 | 21,1 |

valor correspondente ao 75º percentil

Tabela C2. Valores da mínima diferença significativa (MDS) para o efeito sobre o crescimento, obtidos em testes de toxicidade com *Hyalella azteca*, realizados em sistema semi-estático.

| Descrição do ponto | Data da coleta | Número da amostra | Data do teste | Sedimento referência/controle | Espécie | MDS % do controle | MDS % do controle ordenada <i>H. azteca</i> |
|---|----------------|-------------------|---------------|---|------------------|-------------------|--|
| Rio Atibainha, a jusante reservatório, município Nazaré Paulista | set/02 | 32139 | 17/09/2002 | Rio Cachoeira, ponto 4 | <i>H. azteca</i> | 15,1 | 8,2 |
| Rio Cachoeira, a montante reservatório, município Joanópolis | set/02 | 31864 | 17/09/2002 | Rio Cachoeira, ponto 4 | <i>H. azteca</i> | 17,6 | 9,2 |
| Rio Cachoeira, município de Piracaia no bairro dos Caneados | set/02 | 32146 | 17/09/2002 | Rio Cachoeira, ponto 4 | <i>H. azteca</i> | 20,3 | 9,6 |
| Rio Atibaia, município Atibaia, junto à captação Atibaia | set/02 | 32160 | 17/09/2002 | Rio Cachoeira, ponto 4 | <i>H. azteca</i> | 20 | 9,7 |
| Rio Atibaia, a jusante do ponto 7, junto à captação do município de Itatiba | set/02 | 32160 | 17/09/2002 | Rio Cachoeira, ponto 4 | <i>H. azteca</i> | 17,6 | 10,4 |
| Reservatório Itapararanga, corpo central a 2km da barragem | jul/02 | 28509 | 06/08/2002 | Reservatório Paraibuna | <i>H. azteca</i> | 10,4 | 11,5 |
| Reservatório Jaguari, corpo central a 2km da barragem | jul/02 | 28536 | 06/08/2002 | Reservatório Paraibuna | <i>H. azteca</i> | 13,6 | 12,2 |
| Reservatório Santa Branca, corpo central a 2km da barragem | ago/02 | 28552 | 06/08/2002 | Reservatório Paraibuna | <i>H. azteca</i> | 9,7 | 12,8 |
| Rio Sorocaba, bairro Vitória Régia | ago/02 | 29111 | 20/08/2002 | Rio Sorocaba, jusante barragem da Votorantim | <i>H. azteca</i> | 11,5 | 13,4 |
| Rio Sorocaba, a montante do rio Sarapuí, município de Iperó | ago/02 | 29118 | 20/08/2002 | Rio Sorocaba, jusante da barragem da Votorantim | <i>H. azteca</i> | 12,2 | 13,6 |
| Rio Sorocaba, captação de Cerquilha | ago/02 | 29125 | 20/08/2002 | Rio Sorocaba, jusante da barragem da Votorantim | <i>H. azteca</i> | 13,4 | 13,8 |
| Reserv. Rio Grande, braço do Ribeirão Pires | set/03 | 63754 | 07/10/2003 | Reservatório Ponte Nova | <i>H. azteca</i> | 24,3 | 14,3 |
| Rio Corumbataí, a jusante do Ribeirão Claro | ago/03 | 59308 | 26/08/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 13,8 | 15,1 |
| Rio Piracicaba, a jusante da foz do Ribeirão do Tatú | ago/03 | 59301 | 26/08/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 8,2 | 15,4 |
| Rio Mogi Guaçu, a jusante do lançamento Inter. Paper, antiga Champion | ago/03 | 59294 | 26/08/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 17,9 | 17,1 |
| Ribeirão dos Cristais, ETA Cajamar | ago/03 | 59273 | 19/08/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 18,7 | 17,6 |
| Rio Sorocaba, na captação de água de Cerquilha | ago/03 | 59280 | 19/08/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 18,1 | 17,6 |
| Reservatório Guarapiranga, corpo central a cerca de 2km da barragem | jun/03 | 55543 | 10/06/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 9,2 | 17,9 |
| Reservatório Billings, corpo central na direção do braço do Bororé | jun/03 | 56974 | 10/06/2003 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 9,6 | 18,1 |
| Reservatório Água Vermelha, braço do Tomazinho, em frente à SABESP | mai/03 | 54829 | 20/05/2003 | Reservatório Ponte Nova | <i>H. azteca</i> | 15,4 | 18,7 |
| Rio Mogi Guaçu, cerca 2km a montante barragem cachoeira das Emas | jun/04 | 88878 | 15/06/2004 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 12,8 | 20 |
| Rio Piracicaba, a jusante da foz do Ribeirão do Tatú | jun/04 | 88863 | 15/06/2004 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 14,3 | 20,3 |
| Rio Paraíba do Sul, próxima a futura régua do DAEE | jun/04 | 89036 | 22/06/2004 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 21,1 | 21,1 |
| Ribeirão dos Cristais | jun/04 | 89029 | 22/06/2004 | Rio Tietê, em Biritiba Mirim | <i>H. azteca</i> | 17,1 | 24,3 |

valor correspondente ao 75º percentil

Tabela C3. Resultados das análises químicas, biológicas e ecotoxicológicas realizadas com sedimentos coletados nos reservatórios do Alto e Médio Tietê, em outubro de 2000, dentro do projeto QualiSed (MOZETO et al., 2003).

| Variáveis | Diretrizes ^a | | Reservatórios | | | | | |
|---|-------------------------|-------|---------------|----------|--------------|--------|-----------|--------------|
| | TEL | PEL | Rasgão | Billings | Barra Bonita | Bariri | Promissão | Pedro Beicht |
| As (mg/kg) | 5,9 | 17 | 122 | 104 | 16 | 20 | 19 | 13 |
| Cd (mg/kg) | 0,6 | 3,5 | 2,6 | 2,4 | 0,22 | 0,22 | 0,16 | 0,27 |
| Pb (mg/kg) | 35 | 91,3 | 129 | 102 | 28 | 37 | 31 | 64 |
| Cu (mg/kg) | 35,7 | 197 | 257 | 239 | 74 | 95 | 60 | 40 |
| Cr (mg/kg) | 37,3 | 90 | 179 | 179 | 57 | 75 | 106 | 54 |
| Hg (mg/kg) | 0,17 | 0,486 | 0,22 | 0,39 | 0,074 | 0,12 | 0,06 | 0,15 |
| Ni (mg/kg) | 18 | 36 | 99 | 72 | 62 | 60 | 55 | 35 |
| Zn (mg/kg) | 123 | 315 | 963 | 380 | 108 | 112 | 74 | 100 |
| SVA (mg/kg) | | | 3722 | 840 | 222 | 373 | 26 | 16 |
| MSE/SVA | | | 1,1 | 0,3 | 0,2 | 5,9 | 0,9 | 1,8 |
| PCBs (ng/g) | 34,1 | 277 | 162,14 | 3729,74 | 0,38 | 17,59 | < LD | < LD |
| PAHs Totais (ng/g) | | | 3344,2 | 18457,5 | 306 | 506,1 | 656,8 | 1843,8 |
| Naftaleno (ng/g) | 34,6 | 391 | 120,4 | 49 | 0,1 | 87,1 | 72,0 | 0,8 |
| Acenaftaleno (ng/g) | 5,87 | 128 | 3,9 | 6 | 2,8 | 24,2 | 42 | 0,2 |
| Acenafteno (ng/g) | 6,71 | 88,9 | 52,9 | 1318 | 1,2 | 0,7 | 20 | 0,2 |
| Fluoreno (ng/g) | 21,2 | 144 | 167,5 | 1767 | 3,2 | 6,4 | 66,8 | 2,8 |
| Fenantreno (ng/g) | 41,9 | 515 | 1187,1 | 7417 | 29,3 | 71,4 | 80,6 | 126,6 |
| Antraceno (ng/g) | 46,9 | 245 | 76,4 | 775 | 18 | 2,1 | 28,8 | 118,8 |
| Fluoranteno (ng/g) | 111 | 2355 | 385,5 | 3386,5 | 37,9 | 73,1 | 49,4 | 297,4 |
| Pireno (ng/g) | 53 | 875 | 564,6 | 2629 | 37,9 | 86,6 | 45,3 | 191,2 |
| Benzo(a)antraceno (ng/g) | 31,7 | 385 | 48,5 | <LD | 7,9 | 15,3 | 25,1 | 59 |
| Criseno (ng/g) | 57,1 | 862 | 324 | 647 | 9,8 | 22,1 | 46,2 | 242 |
| Benzo(a)pireno (ng/g) | 31,9 | 782 | 103,2 | 145,5 | 0,5 | 22,4 | 43 | 71,4 |
| Dibenzo(a,h)antraceno (ng/g) | 6,22 | 135 | 7 | 1 | 0,7 | 8,7 | 0,6 | 16,4 |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> ^b | | | T | NT | T | NT | NT | NT |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> ^c | | | T | NT | NT | NT | NT | NT |
| Bentos - Índice multimétrico ^d | | | 5 | 4 | 4 | 3 | 1 | 3 |

a = segundo Canadian Council of Ministers of the Environment (1999)

b = teste estático

c = teste semi-estático

d = qualidade ambiental: 5 = péssima; 4 = ruim; 3 = regular; 2 = boa; 1 = ótima

■ \geq TEL e \leq PEL

■ >PEL

< LD = abaixo do limite de detecção

NT = não tóxico

□ não se aplica

< LQ = abaixo do limite de quantificação

T = tóxico

Tabela C4. Resultados das análises químicas, biológicas e ecotoxicológicas realizadas com amostras coletadas em rios da Bacia do Atibaia (CETESB, em elaboração a).

| Variáveis | Diretrizes ^a | | Pontos de coleta na bacia do rio Atibaia ^b | | | | | |
|---|-------------------------|-------|---|-------|-------|--------|-------|-------|
| | TEL | PEL | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 |
| Cádmio (mg/g) | 0,6 | 3,5 | <0,35 | <0,70 | <0,35 | <0,70 | <0,35 | <0,35 |
| Chumbo (mg/g) | 35 | 91,3 | <25,0 | <50,0 | <25,0 | <50,0 | 25,2 | 33,6 |
| Cobre (mg/g) | 35,7 | 197 | 10,80 | 11,5 | 8,09 | 8,00 | 19,30 | 8,51 |
| Cromo (mg/g) | 37,3 | 90 | 30,5 | <30,0 | 20,8 | <30,00 | 51,20 | 23,4 |
| Mercúrio (mg/g) | 0,17 | 0,486 | <0,10 | <0,10 | <0,10 | <0,10 | <0,10 | <0,10 |
| Níquel (mg/g) | 18 | 36 | <7,00 | <7,00 | <7,00 | <7,00 | 12,30 | <7,00 |
| Zinco (mg/g) | 123 | 315 | 36,7 | 34,0 | 22,3 | 36,6 | 79,9 | 34,5 |
| Aldrin (mg/kg) | | | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Chlordane (mg/kg) | 4,5 | 8,87 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| DDE (mg/kg) | 1,42 | 6,75 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| DDT (mg/kg) | 1,19 | 4,77 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Dieldrin (mg/kg) | 2,85 | 6,67 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Endrin (mg/kg) | 2,67 | 62,4 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Heptachlor (mg/kg) | | | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Heptacloro epóxido (mg/kg) | 0,6 | 2,74 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Lindane (mg/kg) | 0,94 | 1,38 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| TDE (mg/kg) | | | ND | ND | ND | NR | ND | ND |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:4 (mortalidade) | | | NT | NT | NT | NT | NT | NT |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:4 (crescimento) | | | NT | NT | NT | NT | NT | T |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:2 (mortalidade) | | | NT | NT | NT | NT | NT | NT |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:2 (crescimento) | | | T | NT | NT | NT | T | T |
| Bentos - Índice multimétrico ^c | | | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 3 |

a = segundo Canadian Council of Ministers of the Environment (1999)

b = locais de coleta na bacia do rio Atibaia

P1 = Rio Atibainha, jusante do reservatório, município de Nazaré Paulista, no Hotel Estância Atibainha

P2 = Rio Cachoeira, montante do reservatório, município de Joanópolis, á montante da Cachoeira dos Pretos

P3 = Rio Cachoeira, à montante reser., munic. Joanópolis, ponte sobre rio, estrada Joanópolis-Cachoeira dos Pretos

P4 = Rio Cachoeira, a jusante do reser., município de Piracaia, bairro dos Caneados, estrada Batatuba-Caneados

P5 = Rio Atibaia, município de Atibaia, junto a captação de Atibaia

P6 = Rio Atibaia, à jusante do ponto 7, junto à captação de Itatiba

c = qualidade ambiental: 5 = péssima; 4 = ruim; 3 = regular; 2 = boa; 1 = ótima

■ ≥TEL e ≤PEL

■ >PEL

T = tóxico

ND = não detectado

□ não se aplica

NR = não realizado

NT = não tóxico

Tabela C5. Resultados das análises químicas, biológicas e ecotoxicológicas realizadas com amostras coletadas em reservatórios do estado de São Paulo em julho e agosto de 2002 (CETESB, em elaboração b).

| | TEL | PEL | Itupararanga | Jaguari | Paraibuna | Santa Branca |
|---|------|-------|--------------|---------|-----------|--------------|
| Arsênio(mg/g) | 5,9 | 17 | 2,64 | - | 1,66 | 0,98 |
| Cádmio (mg/g) | 0,6 | 3,5 | <0,35 | < 0,35 | < 0,35 | <0,35 |
| Chumbo (mg/g) | 35 | 91,3 | <25 | 37,1 | 45 | <25 |
| Cobre (mg/g) | 35,7 | 197 | 28,8 | - | 20,5 | 22,8 |
| Cromo (mg/g) | 37,3 | 90 | 49,5 | 62,4 | 63,4 | 44,3 |
| Mercurio (mg/g) | 0,17 | 0,486 | <0,10 | NR | <0,1 | <0,10 |
| Níquel (mg/g) | 18 | 36 | <7 | NR | <7,0 | 12 |
| Zinco (mg/g) | 123 | 315 | 26,2 | NR | 30,6 | 69 |
| PCBs (mg/kg) | 34,1 | 277 | <20 | < 20 | <20 | <20 |
| Aldrin (mg/kg) | | | ND | ND | ND | ND |
| Chlordane (mg/kg) | 4,5 | 8,87 | ND | ND | ND | ND |
| DDE (mg/kg) | 1,42 | 6,75 | 8,81 | <2,50 | <2,50 | ND |
| DDT (mg/kg) | 1,19 | 4,77 | <2,50 | ND | ND | ND |
| Dieldrin (mg/kg) | 2,85 | 6,67 | ND | ND | ND | ND |
| Endrin (mg/kg) | 2,67 | 62,4 | ND | ND | ND | ND |
| Heptachlor (mg/kg) | | | ND | ND | ND | ND |
| Heptacloro epóxido (mg/kg) | 0,6 | 2,74 | ND | ND | ND | ND |
| Lindane (mg/kg) | 0,94 | 1,38 | ND | ND | ND | ND |
| TDE (mg/kg) | | | ND | <2,50 | NR | ND |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:4 (mortalidade) | | | NT | NT | NT | NT |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:4 (crescimento) | | | NT | NT | NT | NT |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:2 (mortalidade) | | | NT | NT | NT | NT |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:2 (crescimento) | | | NT | NT | NT | NT |
| Bentos - Índice multimétrico ^b | | | 2 | 2 | 2 | 1 |

a = segundo Canadian Council of Ministers of the Environment (1999)

b = qualidade ambiental: 5 = péssima; 4 = ruim; 3 = regular; 2 = boa; 1 = ótima

■ ≥TEL e ≤PEL

■ >PEL

T = tóxico

ND = não detectado

□ não se aplica

NR = não realizada

NT = não tóxico

Tabela C6. Resultados das análises químicas, biológicas e ecotoxicológicas realizadas com sedimentos coletados no rio Sorocaba, em agosto de 2002 (Kuhlmann et al., em elaboração).

| Variáveis | Diretrizes ^a | | Rio Sorocaba | | | | |
|---|-------------------------|-------|--------------|-------|-------|-------|-------|
| | TEL | PEL | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 |
| Arsênio(mg/g) | 5,9 | 17 | 4,75 | 0,76 | 1,05 | 0,95 | 1,78 |
| Cádmio (mg/g) | 0,6 | 3,5 | <0,35 | <0,35 | <0,35 | <0,35 | <0,35 |
| Chumbo (mg/g) | 35 | 91,3 | <25 | <25 | <25 | <25 | <25 |
| Cobre (mg/g) | 35,7 | 197 | 57,3 | 17,7 | 17,1 | 12,5 | 13,5 |
| Cromo (mg/g) | 37,3 | 90 | 38,5 | 16 | 16,6 | 21,9 | 16,6 |
| Mercúrio (mg/g) | 0,17 | 0,486 | <0,10 | <0,10 | <0,10 | <0,10 | <0,10 |
| Níquel (mg/g) | 18 | 36 | 16 | 7,46 | 8,2 | <7 | <7 |
| Zinco (mg/g) | 123 | 315 | 49,3 | 68,9 | 81,3 | 28,4 | 26,8 |
| PCBs (mg/kg) | 34,1 | 277 | <20 | <20,0 | <20 | <20 | <20 |
| Aldrin (mg/kg) | | | ND | ND | ND | ND | ND |
| Chlordane (mg/kg) | 4,5 | 8,87 | ND | ND | ND | ND | ND |
| DDE (mg/kg) | 1,42 | 6,75 | <2,50 | <2,50 | <2,50 | <2,5 | <2,5 |
| DDT (mg/kg) | 1,19 | 4,77 | ND | <2,50 | ND | ND | ND |
| Dieldrin (mg/kg) | 2,85 | 6,67 | ND | ND | ND | ND | ND |
| Endrin (mg/kg) | 2,67 | 62,4 | ND | ND | ND | ND | ND |
| Heptachlor (mg/kg) | | | ND | ND | ND | ND | ND |
| Heptacloro epóxido (mg/kg) | 0,6 | 2,74 | ND | ND | ND | ND | ND |
| Lindane (mg/kg) | 0,94 | 1,38 | ND | ND | ND | ND | ND |
| TDE (mg/kg) | | | ND | ND | nr | ND | ND |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:4 (mortalidade) | | | NT | T | NT | NT | NT |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:4(crescimento) | | | NT | - | T | T | T |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:2 (mortalidade) | | | NT | T | T | NT | NT |
| Toxicidade <i>H. azteca</i> 1:2 (crescimento) | | | NT | - | T | T | T |
| Bentos - Índice multimétrico ^b | | | 3 | 4 | 4 | 4 | 2 |

a = segundo Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999

b = qualidade ambiental: 5 = péssima; 4 = ruim; 3 = regular; 2 = boa; 1 = ótima

Ponto 1 = rio Sorocaba, a jusante da barragem da Votorantim, no município de Votorantim

Ponto 2 = rio Sorocaba, ponte do Pinga Pinga, na Avenida Marginal do município de Sorocaba

Ponto 3 = rio sorocaba, bairro Vitória Régia

Ponto 4 = a montante do rio Sarapuí, município de Iperó

Ponto 5 = rio sorocaba, na captação do município de Cerquilha

■ ≥TEL e ≤PEL

■ >PEL

T = tóxico

ND = não detectado

□ não se aplica

- = amostra não realizada

NT = não tóxico

Tabela C7. Valores guias estabelecidos pelo Canadá, para avaliação da qualidade de sedimentos de água doce (CCME, 2001).

| Parâmetros | Unidade | ISQG | PEL |
|----------------------------------|---------|-------|-------|
| <i>Metais e metalóides</i> | | | |
| Arsênio | µg/g | 5,9 | 17,0 |
| Cádmio | µg/g | 0,6 | 3,5 |
| Chumbo | µg/g | 35,0 | 91,3 |
| Cobre | µg/g | 35,7 | 197 |
| Cromo | µg/g | 37,3 | 90,0 |
| Mercúrio | µg/g | 0,17 | 0,486 |
| Níquel | µg/g | 18,0* | 35,9* |
| Zinco | µg/g | 123 | 315 |
| <i>Pesticidas Organoclorados</i> | | | |
| BHC, gamma (Lindane) | µg/kg | 0,94 | 1,38 |
| Chlordane | µg/kg | 4,50 | 8,9 |
| DDD soma | µg/kg | 3,54 | 8,51 |
| DDE soma | µg/kg | 1,42 | 6,75 |
| DDT soma | µg/kg | 1,19 | 4,77 |
| DDT (total) | µg/kg | 6,98* | 4450* |
| Dieldrin | µg/kg | 2,85 | 6,67 |
| Endrin | µg/kg | 2,67 | 62,4 |
| Heptacloro epóxido | µg/kg | 0,60 | 2,74 |
| <i>PAHs</i> | | | |
| Acenafteno | µg/kg | 6,71 | 88,9 |
| Acenaftileno | µg/kg | 5,87 | 128 |
| Antraceno | µg/kg | 46,9 | 245 |
| Benzo(a)antraceno | µg/kg | 31,7 | 385 |
| Benzo(a)pireno | µg/kg | 31,9 | 782 |
| Criseno | µg/kg | 57,1 | 862 |
| Dibenzo(a,h)antraceno | µg/kg | 6,22 | 135 |
| Fenantreno | µg/kg | 41,9 | 515 |
| Fluoranteno | µg/kg | 111 | 2355 |
| Fluoreno | µg/kg | 21,2 | 144 |
| 2-Metil naftaleno | µg/kg | 20,2 | 201 |
| Naftaleno | µg/kg | 34,6 | 391 |
| Pireno | µg/kg | 53,0 | 875 |
| PAHs totais | µg/kg | | |
| <i>PCBs</i> | | | |
| PCBs totais | ng/kg | 34,1 | 277,0 |

* = segundo Smith et al., 1996.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CCME. Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: summary tables. In: Canadian Council of Ministers of the Environment. **Canadian environmental quality guidelines**. Winnipeg, CCME, 2001. Disponível em: <http://www.ec.gc.ca/cegg-rcqe/English/Pdf/sediment-summary-table.htm>. Acesso em: 15/01/2002.

CETESB (São Paulo). **Desenvolvimento de índices biológicos para o biomonitoramento em reservatórios do Estado de São Paulo - fase II**. São Paulo: CETESB. Em elaboração a.

CETESB (São Paulo). **Estudos preliminares para o uso de índices biológicos no monitoramento de ambientes aquáticos continentais: riachos e corredeiras na bacia hidrográfica do rio Atibaia - fase II**. São Paulo: CETESB. Em elaboração b.

KUHLMANN, M. L.; WATANABE, H. M.; ARAÚJO, R. P. A . **Aplicação da tríade na avaliação da qualidade de sedimentos em redes de monitoramento**. São Paulo: CETESB. Em elaboração.

MOZETO, A. A., JARDIM, W.F.; ARAGÃO, G.U. (Coord.). **Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos (CQS): experimentos de campo e laboratório – relatório final**. São Carlos: UFSCar, 2003. 465 p. Projeto QualiSed proc. n. 98/12177-0.

SMITH, S. L.; MacDONALD, D. D.; KEENLEYSIDE, K. A.; INGERSOLL, C.G.; FIELD, L. J. A preliminary evaluation of sediment quality assessment values for freshwater ecosystems. **Journal Lakes Research**, v. 22, n. 3, p. 624-638, 1996.

ANEXO D

1. INTRODUÇÃO

Uma variedade de métodos têm sido propostos para serem adotados na avaliação da toxicidade de sedimentos de água doce. Os critérios adotados são mortalidade, crescimento, comportamento ou reprodução, sendo que o mais adotado é a sobrevivência avaliada após curto período de exposição (7 a 10 dias).

Atualmente, existem procedimentos de testes já bem estabelecidos para diferentes organismos, incluindo bactérias, protozoários, nemátodos, oligoquetas, insetos, anfípodas, cladoceros (BURTON, 1992; BURTON et al., 1992; GIESY; HOKE, 1989).

As primeiras propostas de normas para se realizar testes de toxicidade com amostras de sedimento foram estabelecidas pelo órgão de padronização dos Estados Unidos ASTM (American Society for Testing and Materials). Este órgão estabeleceu, em 1987, um sub-comitê para estudos da toxicologia de sedimento (BURTON et al., 1992; INGERSOLL; NELSON, 1990), que resultou no estabelecimento de procedimentos (ASTM, 1987, 1988) que foram posteriormente aprovados como um método padronizado, em 1990 (ASTM, 1990), para *Hyalella azteca*, *Chironomus tentans* ou *Chironomus riparius*. Nas versões publicadas posteriormente, a ASTM acrescenta os testes de toxicidade de sedimentos com *Daphnia* sp., *Ceriodaphnia* sp., *Hexagenis* spp. (ASTM, 1993), *Tubifex tubifex* e *Diporeia* spp. (ASTM, 1995), uma vez que esses têm sido considerados os organismos mais sensíveis e discriminatórios entre as várias espécies já testadas (ASTM, 2000). Em 2000, além destes testes, são acrescentados os de longa duração com *Hyalella azteca* e *Chironomus tentans* medindo a sobrevivência, o crescimento e a reprodução, além da emergência no caso de *C. tentans* (ASTM, 2000).

O órgão de controle ambiental dos Estados Unidos (USEPA), no início década de 90, publicou o primeiro manual para a realização de testes de toxicidade com sedimentos de água doce, adotando sistema de renovação de água contínua ou intermitente (2 volumes por dia) com os organismos teste *Hyalella azteca*, *Chironomus tentans* ou *Chironomus riparius* e, para avaliar a bioacumulação, utilizando a espécie *Lumbriculus variegatus* (USEPA, 1994). Em 2000, foi publicada uma nova versão desse documento, com uma modificação importante que é a introdução dos testes de longa duração, porém, ainda como uma recomendação (USEPA, 2000).

O Environment Canada, em 1987, publicou procedimentos de teste com *Hyalella* e *Chironomus* baseados nos da USEPA (1994), com algumas modificações. A ASTM também, nas versões mais recentes (ASTM, 1995, 2000), baseia-se nos métodos estabelecidos pela EPA (USEPA, 1994, 2000).

No método estabelecido pelo Environment Canadá, existem algumas diferenças significativas quanto ao tempo de exposição (14 ao invés de 10 dias) e à idade inicial dos organismos (2 a 9 dias ao invés de 7 a 14 dias). É incluído também duas opções de teste; estático com aeração contínua e com renovação intermitente de água (dois volumes por dia). É recomendada a realização de teste com substância de referência.

Neste capítulo serão apresentados os procedimentos de teste de toxicidade com *Hyalella azteca*. Serão abordados dados sobre a biologia dessa espécie, os procedimentos para o cultivo e a realização de testes de toxicidade com a duração de 10 dias. Estes métodos podem ser aplicados a outras espécies do gênero *Hyalella*, desde que as condições básicas de cultivo em laboratório sejam conhecidas, bem como sua sensibilidade à substância de referência.

A *Hyalella azteca* apresenta boa sensibilidade, além de boa tolerância a diferentes tipos de sedimentos. Além disto, este organismo possui uma série de características adequadas para o seu uso em testes de toxicidade, como: curto tempo de geração, fácil de ser coletado no ambiente natural e cultivado em laboratório. Dados sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução podem ser obtidos de testes de toxicidade aguda e crônica (ASTM, 2000; BURTON *et al.*, 1992; USEPA, 2000).

2. GLOSSÁRIO

ÁGUA DE CULTIVO: Água utilizada para a manutenção das culturas do organismo-teste.

ÁGUA DE DILUIÇÃO: Água de boa qualidade utilizada para a realização de testes de toxicidade.

CARTA CONTROLE: Representação gráfica da avaliação periódica dos resultados do ensaio com uma determinada substância de referência.

CONCENTRAÇÃO LETAL INICIAL MEDIANA - CL(I)50: Concentração nominal da substância testada, no início do teste, que causa efeito agudo (morte) a 50% dos organismos, determinada após um dado tempo de exposição, nas condições de teste.

ORGANISMO-TESTE: Organismo utilizado no teste de toxicidade.

SEDIMENTO: Material particulado, de ocorrência natural, que tenha sido transportado e depositado na superfície do fundo de um corpo de água.

SEDIMENTO CONTROLE: Sedimento utilizado para estabelecer a validade do teste e comparação de dados. Este sedimento deve ser proveniente de um local isento de contaminação.

SEDIMENTO REFERÊNCIA: Sedimento coletado próximo ao local da área de estudo e utilizado como indicador das condições do sedimento desse local.

SUBSTÂNCIA DE REFERÊNCIA: Substância química utilizada para avaliar a sensibilidade dos organismos-teste.

TESTE DE TOXICIDADE: É o meio pela qual a toxicidade de uma substância química ou outro material teste é determinado. O teste de toxicidade é utilizado para medir o grau de resposta produzida pela exposição a um nível específico de estímulo (ou concentração química).

3. TESTE DE TOXICIDADE COM *Hyalella azteca*

3.1. ORGANISMO-TESTE

Os anfípodos desempenham um papel importante nas comunidades das quais fazem parte. Devido aos seus hábitos herbívoros e detritívoros, constituem um elo importante nas cadeias alimentares dos corpos de água onde ocorrem, possibilitando a transferência de energia produzida pelas algas e vegetais superiores para consumidores de nível trófico mais elevado (MOORE, 1975; MINSHALL, 1967 apud SAMPAIO, 1988).

Anfípodos são amplamente distribuídos e comuns em águas claras e não poluídas, incluindo nascentes, córregos, poças, lagoas e lagos sendo na sua totalidade epígeas (PENNAK, 1989). *Hyalella* ocorre também em águas de diferentes salinidades, como em estuários e lagos salgados (GALAT *et al.*, 1988; THOMAS, 1976 apud BURTON *et al.*, 1992).

O gênero *Hyalella* acha-se distribuído amplamente nas Américas e até a presente data são conhecidas 29 espécies, presentes tanto em águas frias como em águas quentes, de regiões temperadas e tropicais (PEREIRA, 1983).

A ocorrência das espécies de *Hyalella* no Brasil ainda não está totalmente esclarecida. De acordo com o inventário feito por Wakabara e Serejo (1998), existe o registro da *H. azteca* (RJ e RS), *H. caeca* (SP), *H. longistila* (RJ), *H. meinerti* (AM e SP), *H. pernix* (GO, RJ, PR, RS) e *H. warmingi* (SP e MG). Além destas, Bousfield (1996) encontrou uma espécie nova no Paraná, denominada *H. brasiliensis*. Grosso e Peralta (1999), em sua revisão do gênero na América do Sul, não alteram os

registros da espécie *H. azteca* efetuados por outros autores no Brasil (OLIVEIRA, 1953; HOLSINGER, 1981 e PEREIRA, 1982 apud GROSSO; PERALTA, 1999). No entanto, González e Watling (2003) citam que oito são as espécies conhecidas de *Hyalella* no Brasil: *H. brasiliensis*, *H. graciliformes*, *H. curvispina*, *H. longistila*, *H. meinerti*, *H. caeca*, *H. montenegrinae*, *H. warmingi*. Portanto, não confirmam os registros de *H. azteca*. Esses autores descrevem nesse trabalho uma nova espécie, *H. pseudoazteca* que é morfologicamente similar a *H. azteca* Saussure, 1858.

No Brasil, os testes de toxicidade com *Hyalella* foram introduzidos na década de 90, utilizando a espécie *Hyalella* sp. (citada nos trabalhos como *H. meinerti*) (ARAÚJO, 1998). No entanto, um estudo de avaliação das espécies *H. azteca* e *Hyalella* sp. com os compostos sulfato de cobre, dicromato de potássio, sulfato de zinco e cloreto de sódio mostrou que *H. azteca* foi mais sensível (ver Parte 1, Capítulo 1). *H. azteca* apresenta também uma taxa de reprodução maior que *Hyalella* sp., que resulta numa vantagem com relação ao número de culturas necessárias para a obtenção de jovens para teste.

Além disso, atualmente não existe no Brasil uma espécie conhecida de *Hyalella* com ampla distribuição que possa ser utilizada em testes de toxicidade. Dessa forma, *H. azteca*, apesar de ser uma espécie exótica, pode ser adotada em todos os estados brasileiros, até que se estabeleça uma autóctone adequada .

3.2. DESCRIÇÃO E CICLO DE VIDA

O gênero *Hyalella* (Figura 1) apresenta o corpo de contorno abaulado, sendo comprimido lateralmente e a região posterior arredondada. A cutícula que recobre o corpo é fina, podendo ser parcialmente transparente, mesmo no adulto. O corpo pode ser dividido nas regiões: cabeça, formada por cinco segmentos mais um do tórax; tórax ou pereon, formado por oito segmentos dos quais o primeiro é fundido à cabeça; abdómen ou pleon, formado por seis segmentos dos quais os três últimos apresentam os urópodos; télson, de comprimento médio em relação às outras espécies (NARCHI, 1973).

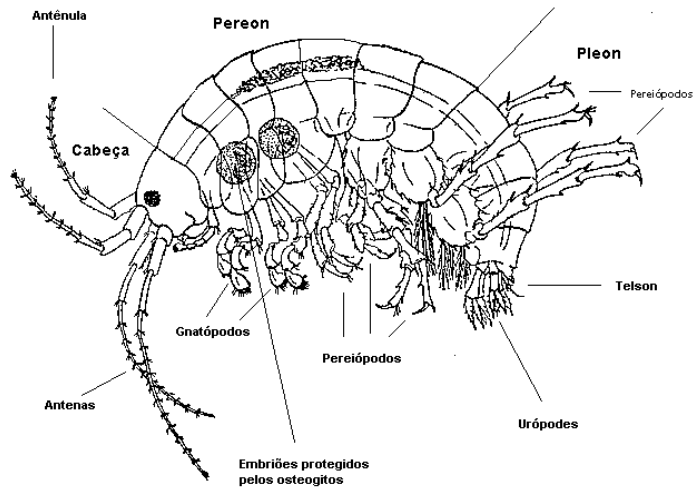


Figura 1. Vista lateral de *Hyalella*, segundo Narchi (1973).

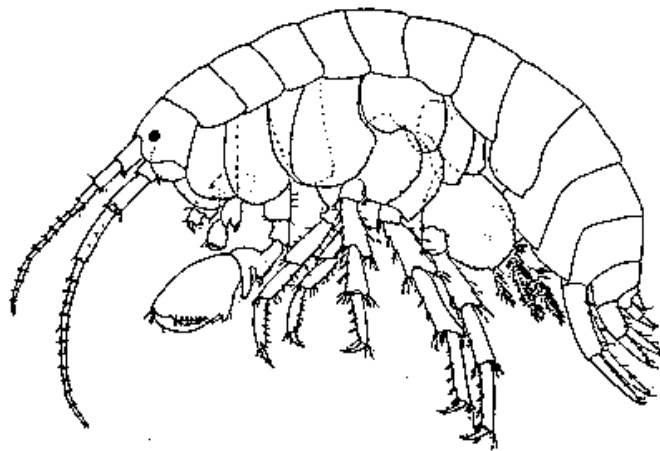


Figura 2. *Hyalella azteca*, x14, macho, segundo Cole e Watkins (1977, apud PENNAK, 1989).

O ciclo de vida da *Hyalella* pode ser dividido em três fases: imaturo, isto é, os primeiros cinco estágios; jovem, consistindo nos estágios 6 e 7; e adulto, a partir do oitavo estágio. A duração de alguns estágios representativos do ciclo de vida da *Hyalella* depende da temperatura. Assim, a 15°C, o crescimento e a maturação ocorrem muito mais lentamente que a 20 e 25°C (COOPER, 1965).

Nos primeiros cinco estágios, o sexo não pode ser distinguido. No sexto e sétimo estágios, os sexos podem ser diferenciados; as fêmeas apresentam, na superfície mediana da coxa das pernas dois, três, quatro e cinco, lamelas finas terminando por longas cerdas e situadas internamente às brânquias. Essas lamelas, denominadas de oostegitos, formam uma larga bolsa contendo os ovos em desenvolvimento. No macho, o segundo par de pereiópodos, ou seja, o segundo par de gnatópodos, apresenta-se muito mais desenvolvido do que nas fêmeas (Figura 2). O acasalamento ocorre pela primeira vez geralmente no oitavo estágio e nos estágios subsequentes (GEISLER, 1944; NARCHI, 1973).

O acasalamento consiste no macho carregar a fêmea pela parte posterior, sendo que o macho mantém a fêmea com o auxílio do segundo par de gnatópodos. Os indivíduos assim pareados permanecem por um a sete dias, ou até que a fêmea esteja pronta para passar para o primeiro estágio adulto. Os dois animais separam-se nesse período, por alguns minutos ou algumas horas, enquanto a fêmea está em processo de muda. O macho retorna, os dois indivíduos tornam a se acasalar novamente e a copulação geralmente ocorre nas vinte quatro horas subsequentes.

A cópula e transferência do esperma ocorrem em menos de um minuto sendo que o processo de transferência do esperma pode se repetir várias vezes, em intervalos de poucos minutos (PENNAK, 1989).

Os animais finalmente se separam, e a fêmea libera seus ovos do oviducto para o marsúpio, onde serão fertilizados. O número de ovos liberados pela fêmea depende do seu tamanho e idade assim como da espécie (COOPER, 1965; PENNAK, 1989). Strong (1972), estudando o ciclo de vida de três grupos de populações de *Hyalella azteca* provenientes de diferentes habitats verificou diferenças significativas no tamanho dos ovos, jovens e adultos.

3.3. CULTIVO

Existem diferentes procedimentos para o cultivo de *Hyalella* em laboratório, adotando sistema estático, semi-estático ou fluxo contínuo. Com relação à água, pode-se utilizar água sintética ou natural, além de diferentes tipos de alimentos e substratos. É importante ressaltar que o que funciona num laboratório pode não funcionar no outro, portanto, adaptações se fazem sempre necessárias.

Neste item serão apresentada as condições adequadas para o cultivo de *Hyalella azteca* com relação à água, aos substratos e alimentos, intensidade luminosa, fotoperíodo, temperatura, cuidados

necessários para a manutenção das culturas e a forma de obtenção dos organismos jovens para a realização dos testes de toxicidade.

3.3.1. CONDIÇÕES DE CULTIVO

3.3.1.1. ÁGUA DE CULTIVO

O critério para se considerar uma água para manutenção, cultivo e execução de testes de toxicidade, é de que os organismos possam sobreviver, crescer e se reproduzir satisfatoriamente quando em condições adequadas de temperatura, luminosidade e alimento (ASTM, 1980).

A *H. azteca* deve se cultivada em água natural de boa qualidade e constante ou reconstituída. Este organismo tem sido cultivado com sucesso em água com salinidade de 15‰. A água natural é considerada de qualidade constante quando mensalmente a variação de dureza, alcalinidade e condutividade são inferiores a 10% de suas respectivas médias e se a variação do pH for menor que 0,4 unidades.

Para se considerar uma água adequada para o cultivo, deve-se avaliar a reprodução e sobrevivência de *Hyalella* ao longo do tempo, se possível ao longo de várias gerações, nas condições de cultivo estabelecidas por cada laboratório. Dados de literatura mostram que é possível se obter uma fecundidade média de $9,2 \pm 2,8$ jovens por semana por fêmea, por um período de cerca de três meses, com uma taxa de sobrevivência >80% (ver Parte 1, Capítulo 2).

Para cada lote novo de água, o critério mínimo de aceitabilidade é de que o teste de viabilidade com *Daphnia*, organismo bastante sensível, realizado de acordo com o descrito na norma CETESB L5.018 (CETESB, 1994), seja considerado aceitável, isto é, a imobilidade dos organismos deve ser igual ou inferior a 10%. Na impossibilidade de se realizar o teste de viabilidade com *Daphnia* deve-se realizar com *Hyalella*, adotando os mesmos princípios.

A água natural deve ser coletada em recipientes limpos, e mantidos sob refrigeração (4°C), por no máximo 30 dias. Esta deve ser filtrada, com rede de malha de 75 µm, antes de ser utilizada, para evitar a presença de outros organismos. A água deve ser mantida com aeração adequada, o que proporcionará a estabilização do pH, manutenção do oxigênio dissolvido, e a minimização da demanda de oxigênio e concentração de voláteis. A aeração excessiva reduzirá a dureza e alcalinidade da água.

Com relação à qualidade da água, recomenda-se que a faixa de dureza seja estabelecida levando-se em consideração o valor médio encontrado nos rios e reservatórios da região, em que o laboratório encontra-se localizado. No estado de São Paulo, por exemplo, a faixa de dureza adotada

tem sido 40 a 48mg/L CaCO₃, (CETESB, 1991 e 1994), enquanto que a EPA (USEPA, 2000) recomenda 90 a 100mg/L CaCO₃.

Quando a água coletada no ambiente natural ou preparada no laboratório apresentar baixo valor de dureza, esta pode ser ajustada utilizando as soluções preparadas conforme indicado em CETESB (1991, 1994) ou ABNT (2004).

Quanto ao pH, este deve ser ajustado após a correção da dureza, adicionando-se ácido clorídrico (1 N) ou hidróxido de sódio (1 N). Na faixa de 6 a 8 é observado o ótimo de sobrevivência (De MARCH, 1981).

H.azteca pode ser cultivada também em água reconstituída preparada segundo KEATING (1985). Essa água, denominada meio MS, consiste em uma solução de vários traços de metais e de nutrientes e vitaminas.

Uma avaliação das características físicas e químicas das águas naturais e reconstituídas deve ser realizada periodicamente, analisando-se principalmente a possível contaminação dessas águas por metais pesados, organoclorados e fosforados. No caso de água natural, recomenda-se que esta caracterização seja feita inicialmente também. A cada lote de água deve-se medir o pH, a condutividade, dureza e o oxigênio dissolvido.

3.3.1.2. ALIMENTOS E SUBSTRATOS

H. azteca pode ser cultivada com uma variedade de alimentos e substratos como: folhas de bordo, amieiro, bétula ou de álamo, deixadas de molho na água por vários dias, com trocas periódicas de água. Como substrato pode-se utilizar também gaze cirúrgica, tela de náilon e, como alimento plantas aquáticas, ração para coelho e peixe, levedura, diferentes espécies de alga e diatomáceas, folhas de cereais, jovens de *Artemia* e *Daphnia* mortos pelo calor, espinafre, entre outros (ASTM, 1995; COOPER, 1965; DENNY; COLLYARD, 1991; DENNY et al., 1992; HARGRAVE, 1970a, b; SAMPAIO, 1988).

H. azteca pode ser cultivada adotando como substrato e alimento a planta aquática Elódea, o alimento composto RL (ração de peixe mais levedura, óleo de prímula) preparado segundo descrito no Anexo A, mais ração para peixe (Tetramin® ou Spirulina) ou ração para coelho Purina® granulada (ARAÚJO, 1998).

A adição de óleo de prímula ao alimento RL tem como base a necessidade de adição de ácido linolênico, presente em óleos vegetais como o de prímula, na dieta de organismos de água doce (LÉGER et al.; 1989), uma vez que estes são incapazes de sintetizar ácidos graxos insaturados (VIEGAS, s.d.).

3.3.1.3. INTENSIDADE LUMINOSA E FOTOPERÍODO

Com relação à luz, o fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro ou períodos de iluminação superior a 16 horas acarretam reprodução contínua com sucesso (De MARCH, 1981).

A EPA e a ASTM recomendam uma intensidade luminosa de aproximadamente 100 a 1.000 lux, com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro (ASTM, 2000; USEPA, 2000).

3.3.1.4. RECIPIENTE PARA CULTIVO

Pode-se utilizar recipientes de vidro claro com tampa, para evitar a presença de pó ou sujeira nas culturas e minimizar a evaporação. O vidro deve ser de borossilicato (pirex) ou outro tipo de vidro neutro. Na figura 3 é apresentado culturas de *Hyalella azteca* em cristalizadores de vidro neutro com capacidade para 4 L.

3.3.1.5. TEMPERATURA

A faixa temperatura de cultivo recomendada é de $24\pm 1^{\circ}\text{C}$.



Figura 3. Cultura de *Hyalella azteca*, evidenciando o recipiente de cultivo (cristalizadores de vidro com tampa do mesmo material).

3.3.2. MANUTENÇÃO DAS CULTURAS

Deve-se fornecer diariamente alimento, ou seja, RL com óleo e três vezes por semana ração para peixe ou coelho. No caso da manutenção de 100 organismos por cultura com cerca de 2,5L de água, pode-se adicionar 2,5mL do alimento RL com óleo e cerca de 15 a 20 mg de ração para coelho ou peixe (Tetramin® ou Spirulina) em cada uma das culturas três vezes por semana. Para manter o oxigênio dissolvido, em concentrações adequadas (>4,0mg/L de OD), acrescentar aeração branda em cada recipiente de cultivo.

As culturas devem ser observadas diariamente, atentando-se principalmente para o estado dos organismos, a temperatura e a aeração. A temperatura da água e da sala, máxima e mínima, devem ser registradas diariamente.

Semanalmente, deve-se transferir, com o auxílio de uma pipeta Pasteur de ponta arredondada, os organismos adultos ou jovens e, manualmente, as plantas aquáticas, para cristalizadores limpos contendo água de manutenção. Para avaliar as culturas, deve-se observar a presença de jovens, fêmeas ovígeras, pares em acasalamento, coloração dos organismos adultos e sobrevivência. Esses dados devem constar em uma ficha de controle das culturas.

Deve-se tomar o cuidado de adicionar água com temperaturas semelhantes a que os organismos estavam sendo mantidos, isto é, essa diferença não deve ser superior a 1°C. Verificar também a condutividade, pH, dureza e oxigênio dissolvido da água.

Quando da troca total de água, os organismos devem ser transferidos cuidadosamente com auxílio de uma pipeta Pasteur de ponta arredondada, para cristalizadores limpos contendo água de manutenção.

Sempre que possível, deve-se medir o pH e o OD na água das culturas, em pelo menos um recipiente, no dia da renovação da mesma. Nessa ocasião, é importante observar as condições da cultura, isto é, a coloração dos organismos adultos (esverdeado), e se os mesmos estão em acasalamento (isto é, se o macho está carregando a fêmea pelo seu dorso).

As culturas devem ser descartadas sempre que for observada mortalidade dos adultos (acima de 20% entre uma troca e outra) e diminuição da produção de jovens. A renovação das culturas deve ser feita a cada 4 meses ou quando for observado mortalidade superior a 20% dos organismos adultos. A nova cultura pode ser iniciada com cerca de 100 organismos de 0 a 7 dias, separados das culturas no dia da manutenção, com o auxílio de uma pipeta Pasteur de ponta arredondada, em recipientes (cristalizadores de vidro) contendo cerca de 4L de água.

Os dados de controle de temperatura e fornecimento de alimento para as culturas, assim como informações sobre a manutenção e observações do estado das culturas, devem ser registrados em fichas de registro de dados de manutenção e cultivo e de controle diário da temperatura e fornecimento de alimento.

3.3.3. OBTENÇÃO DE JOVENS PARA TESTE

Jovens para a realização de testes podem ser obtidos semanalmente, no dia da manutenção das culturas, através do uso de peneira de 145 μm de malha. Os jovens assim separados terão de 0 a 7 dias de idade, desde que a manutenção dos organismos esteja sendo realizada semanalmente. No caso de se adotar jovens de 7 a 14 dias para a realização de testes, estes devem ser mantidos nas mesmas condições das culturas por um período de uma semana antes da realização dos mesmos. A produção média de uma cultura com 100 adultos é de cerca de 450 organismos jovens por semana (ver Parte 1, Capítulo 2).

Organismos jovens de idade conhecida podem ser obtidos também colocando-se uma rede de 710 μm de malha (no recipiente de cultivo). Esta rede reterá os adultos e deixará passar os organismos jovens que deverão ser retirados após 24 horas (USEPA, 2000). O isolamento de 750 pares de adultos, ou seja, em amplexo ou 4000 adultos fornecerá cerca de 800 jovens em 24 horas.

É recomendado que seja feito o controle da sobrevivência de cada lote de organismos teste, sendo aceitável ocorrer até 20% de mortalidade. Este controle pode ser realizado com uma amostra de organismos considerada representativa do lote inicial como, por exemplo, 50 organismos. Esses dados devem ser registrados em um ficha apropriada.

Os organismos assim separados devem ser mantidos por uma semana nas mesmas condições das culturas. Ao final desse período, os mesmos terão de 7 a 14 dias e poderão ser utilizados nos testes de toxicidade se o lote tiver apresentado sobrevivência adequada.

3.4. COLETA, TRANSPORTE, ESTOCAGEM E VALIDADE DAS AMOSTRAS DE SEDIMENTO

A amostragem de sedimentos pode ser realizada utilizando-se pegadores ou "corers". A escolha do equipamento mais apropriado para coleta depende das características do sedimento, volume e eficiência necessária e dos objetivos do estudo (CETESB, em elaboração).

Um dos amostradores mais utilizados em reservatórios é o pegador de Ekman, tanto pela facilidade de operação do equipamento quanto por sua eficiência. Esse tipo de pegador é adequado para a coleta de sedimentos finos, que são objetos de estudo na avaliação do grau de contaminação de ecossistemas aquáticos. Como se trata de um equipamento muito leve, não é indicado para locais com correnteza moderada ou forte e em substrato duro. Em sedimentos mais resistentes e com correnteza, deve-se utilizar as dragas de Petersen ou vanVeen modificado e Ponar, pois são equipamentos mais pesados e que necessitam do uso de guincho. Os pegadores coletam amostras

de sedimento com profundidade de 20 a 50cm, dependendo do tipo de equipamento (CETESB, op. cit.).

Todos os procedimentos de coleta causam um certo grau de distúrbio na integridade da coluna de sedimento. Os amostradores do tipo "corer" permitem a obtenção de amostras mais íntegras.

O volume coletado com "corer" em geral é pequeno, sendo necessárias várias coletas para a obtenção do volume requerido. Já com os pegadores, o volume obtido é maior, podendo-se inclusive sub-amostrá-lo. A sub-amostragem é realizada com tubos, que são inseridos no material coletado para dividi-lo em frações menores para análise química, toxicológica e de bentos (CETESB, op.cit.).

Em amostragens de depósitos recentes (camada superficial de sedimento - de 2 a 6 cm) devem ser usados pegadores que possibilitam o fracionamento da amostra (Ekman-Birge modificada por Lenz) e "corer". Nesses casos, muitas vezes não se consegue volume suficiente em uma só pegada, sendo necessário compor várias pegadas numa mesma réplica antes de distribuir o material nos recipientes de amostragem. Do mesmo volume, devem ser retiradas amostras para análises químicas e ensaios ecotoxicológicos.

O volume de coleta para a realização de testes de toxicidade com sedimento depende do tipo e número de testes que serão realizados por amostra. Deve-se acondicionar em um recipiente para cada tipo de teste.

Na coleta da amostra, cuidados devem ser tomados para que as condições de oxi-redução do sedimento amostrado sejam mantidas, já que os sedimentos oxidam-se rapidamente quando em contato com o ar, alterando a disponibilidade de contaminantes. Para tanto, a amostra deve ser minimamente exposta ao ar e o recipiente de coleta preenchido até a boca.

Para fazer amostras compostas, é necessário que exatamente o mesmo volume seja tomado de cada réplica e que a homogeneização seja bem executada. Para evitar a oxidação os volumes das réplicas a serem misturados, devem ser mantidos, até o momento da homogeneização, em saco plástico ou qualquer outro recipiente que possibilite a retirada de ar.

As amostras devem ser colocadas em frascos de boca larga, identificados adequadamente (data, local, número da amostra, laboratório ou responsável). Recomenda-se também o uso de fichas de coleta para que se possa registrar as informações em campo, como a descrição do ponto de coleta, coletores, data e análises que serão feitas nas amostras.

As amostras devem ser transportadas em caixas térmicas com gelo e guardadas em geladeira a 4°C, no escuro, até a realização dos testes. Recomenda-se que amostras devam ser testadas o

mais rápido possível, sendo que o prazo de validade da amostra geralmente aceito é de duas semanas até oito semanas após a coleta (USEPA,2000).

3.5. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO SEDIMENTO

A caracterização química do sedimento depende do objetivo e do tipo de contaminação presente ou esperada no ambiente. No entanto, um mínimo de parâmetros devem ser incluídos: composição granulométrica, pH, Eh, carbono orgânico e inorgânico e sulfetos volatilizáveis em ácidos.

Dependendo do tipo de estudo, devem ser incluídas análises como: nutrientes, amônia, compostos orgânicos sintéticos, hidrocarbonetos de petróleo, metais, metalóides e análises químicas da água intersticial, entre outras.

3.6. TESTES DE TOXICIDADE

Testes de toxicidade de sedimentos permitem avaliar o efeito interativo de misturas complexas presentes no sedimento para organismos aquáticos. Estes testes medem, portanto, os efeitos tóxicos das frações disponíveis presentes nos sedimentos, em condições controladas em laboratório ou através de testes em campo.

Neste item serão apresentados os controles e as condições para a realização de teste de toxicidade com *H. azteca* com a duração de 10 dias. Os procedimentos aqui descritos foram baseados nos estabelecidos pela EPA (USEPA, 2000) e são os adotados pela ASTM (2000).

3.6.1. SEDIMENTO CONTROLE E REFERÊNCIA

É necessário testar um sedimento, denominado controle, ou seja, um sedimento coletado em local livre de contaminação. Esse sedimento deve ser utilizado rotineiramente para estabelecer a aceitabilidade do teste, evidenciar a saúde dos organismos teste e servir como base para a interpretação dos dados obtidos através dos testes de toxicidade. Deve-se testar também um sedimento de referência, coletado próximo ao local de estudo reconhecidamente não contaminado. Este sedimento é utilizado para avaliar as condições específicas do local.

As características geomorfológicas, físicas e químicas, assim como a textura do sedimento, podem influenciar na resposta dos organismos. Portanto, as características do sedimento devem estar dentro dos limites de tolerância do organismo teste. No caso da *Hyalella azteca*, esta espécie tolera sedimentos com uma grande variedade de tamanho de partículas, desde 100% areia até mais de 90% de silte e argila, e matéria orgânica sem detrimento tanto na sobrevivência como no

crescimento em testes de toxicidade com 10 e 42 dias de duração (INGERSOLL et al., 1996, 1998 apud USEPA, 2000; SUEDEL; RODGERS, 1994).

Experimentos realizados com este organismo utilizando sedimentos formulados e naturais com partículas de diferentes tamanhos (0 a 100% de areia, 0 a 100% de silte, 0 a 60% de argila) e conteúdo de matéria orgânica (0,12 a 7,8%), mostraram que a *H.azteca* é tolerante a uma ampla variação de faixa de tamanhos de partículas e conteúdo de matéria orgânica, uma vez que sobreviveu em todos os sedimentos testados (SUEDEL & RODGERS, 1994).

3.6.2. AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DOS ORGANISMOS

De uma forma geral, é necessário avaliar periodicamente a sensibilidade das culturas mantidas em laboratório através de testes de toxicidade com uma substância de referência, como sulfato de cobre, dicromato de potássio ou cloreto de potássio, cloreto de sódio. Estes testes devem ser realizados mensalmente, atendendo, desta forma, às diretrizes de qualidade estabelecidas para controlar e conhecer a sensibilidade das culturas nos diferentes laboratórios.

No caso de *Hyalella azteca*, o teste pode ser realizado com um ou com 10 organismos por recipiente-teste. A duração recomendada pela EPA (2000) e ASTM (2000) é de 96 horas, sendo necessário adicionar um substrato (tela plástica) e fornecer alimento RL aos organismos-teste (dias 0 e 2).

No entanto, trabalhos recentes mostram que o teste com a substância de referência com *Hyalella azteca* pode ser não efetivo para identificar populações estressadas de organismos teste, uma vez que foi demonstrado a pouca utilidade destes testes de detectar mudança nas condições do organismo teste (McNULTY et al., 1999).

Assim, o teste com a substância de referência deve ser realizado periodicamente para estabelecer a sensibilidade dos organismos teste e para comparar o desempenho entre laboratórios.

A CL 50 da substância teste adotada deve estar em um intervalo de mais ou menos dois desvios padrão em relação aos valores médios anteriormente obtidos.

Dentre as substâncias de referência, o cloreto de potássio apresenta a vantagem de de interferir pouco ou não interferir na qualidade da água, ser menos tóxico para os técnicos (ENVIRONMENT CANADA, 1990) e também para o ambiente, quando descartado na rede de esgoto.

Utilizando-se a substância de referência cloreto de potássio, verificou-se que não existe diferença significativa entre os resultados obtidos com 48h e 96h de duração tanto em água natural

como em água reconstituída (ver Parte 1, Capítulo 3), conforme também observado por Smith et al. (1997). Portanto, o tempo de exposição de 48h é suficiente para avaliar o efeito agudo de cloreto de potássio para *H. azteca*, uma vez que após este período não é observada porcentagem expressiva de mortalidade dos organismos. Além disso, nos testes realizados com 48 horas de duração, mesmo sem ter sido adicionado substrato, a sobrevivência dos organismos no controle foi sempre $\geq 90\%$, portanto, dentro da faixa aceitável (ver Parte 1, Capítulo 3).

No quadro 1 é apresentado um resumo das condições sugeridas para a realização do teste de toxicidade com uma substância de referência.

Quadro 1. Condições para a realização do teste de toxicidade com *Hyalella azteca* com uma substância de referência.

| Parâmetros | Condições teste |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de teste | Estático |
| Duração | 48 horas ou 96h |
| Temperatura | 23 \pm 1°C |
| Qualidade de luz | Luz fria ou ambiente de laboratório |
| Intensidade luminosa | 100 a 1000 Lux |
| Fotoperíodo | 16 horas; 8 horas escuro |
| Tamanho do frasco-teste | Béquer de 250 ou 300 ml |
| Volume da água de diluição | Mínimo de 100mL |
| Renovação da solução-teste | Não |
| Nº de organismos/réplica | 10 |
| Idade do organismos | 7 a 14 dias |
| Nº réplica/concentração | Mínimo de 4 |
| Nº de concentrações | Controle mais cinco concentrações, fator de diluição 1,3 (48h) / 0,5 (96h) |
| Aeração da solução-teste | Não |
| Alimentação durante o teste | Sim, 0,5mL RL no dia 1 (48h) / dias 0 e 2 (96h) |
| Qualidade da água | Dureza, condutividade, OD, pH (água de diluição) e pH e OD no final do teste nas concentrações próximas da CL50 |
| Critério de avaliação de efeito | Sobrevivência |
| Expressão dos resultados | CL50, em mg/L |
| Critério de aceitabilidade do testes | > 90% de sobrevivência no controle |

Cada laboratório deve preparar uma carta controle, conforme recomendado pela ASTM (2000), EPA (2000) e ABNT (2004), ou seja, um gráfico com os resultados (CL50) dos ensaios realizados. Com estes dados, calcula-se a faixa aceitável para esta espécie e substância. Para tanto, deve-se obter no mínimo 5 resultados, o que possibilita a determinação da média provisória até que se completem 20 resultados, quando será possível, então, calcular a média definitiva. Deve-se determinar a faixa aceitável de sensibilidade calculando-se dois desvios padrão abaixo e acima da média obtida. É recomendado também o cálculo do coeficiente de variação dos dados. Os resultados

de ensaio que ultrapassem os limites de controle (± 2 desvios padrão) não devem ser utilizados. A cada 20 resultados de ensaio deve-se recalcular o valor médio e o desvio padrão e o coeficiente de variação para elaboração de uma nova carta controle.

3.6.3. PROCEDIMENTO DE TESTE COM *Hyalella azteca* COM A DURAÇÃO DE 10 DIAS.

O teste descrito neste item consiste na exposição de jovens de *Hyalella azteca*, com 7 a 14 dias de vida, adotando o sistema semi estático, a um ou mais sedimentos coletados na mesma ou em diferentes áreas, por um período de exposição de 10 dias, sendo que, após este período, avalia-se a sobrevivência (teste agudo) e o crescimento (efeito subletal). Os testes devem ser realizados em recipientes de vidro (béqueres). A proporção de sedimento e água é de 2 partes de sedimento para 1 parte de água (Quadro 2).

Os sedimentos devem ser previamente homogeneizados e colocados no recipiente-teste um dia antes da adição dos organismos (Dia -1). Após a adição do sedimento nos frascos, deve-se verter cuidadosamente água de diluição, tentando-se evitar ao máximo a ressuspensão. Os frascos devem ser cobertos com tampas ou filme transparente de PVC.

Quanto ao número de réplicas, o número mínimo para que os dados obtidos possam ser submetidos a uma análise do tipo teste de hipótese, para se verificar se há diferença significativa entre o efeito obtido em alguma amostra e o controle, é o de quatro por tratamento. Não é recomendado um número menor pois, se for necessária a aplicação de um teste não paramétrico, não será possível aplicá-lo. Aumentando-se o número de réplicas, aumenta-se o poder de se detectar uma pequena redução na resposta das amostras em relação ao controle. Por isso, preferencialmente, deve-se adotar seis ou mais réplicas.

Em paralelo, é necessário testar um sedimento não tóxico e as características físicas e químicas devem estar dentro dos limites de tolerância do organismo teste. Esse sedimento é denominado controle, devendo ser coletado em área não contaminada e ter, de preferência, características semelhantes às do sedimento em teste, isto é, granulometria, pH e teor de carbono orgânico total. Deve-se também, se possível, testar um sedimento referência, ou seja, um sedimento coletado próximo ao local de coleta que representará as condições do local.

Cerca de duas horas antes do início do teste (Dia 0) deve-se medir o oxigênio dissolvido (OD). Caso este esteja abaixo de 2,5 mg/L, deve-se adicionar aeração branda, por duas horas e fazer nova leitura do OD. Deve-se adicionar 10 organismos-teste (Dia 0), obtidos conforme citado no item 3.3.3, quando os níveis de OD estiverem adequados ($>2,5$ mg/L). Os dados devem ser registrados numa ficha de registro dos dados do teste.

Quadro 2. Condições para a realização do teste de toxicidade com *Hyalella azteca* com uma amostra de sedimento.

| Parâmetros | Condições de teste |
|--------------------------------------|---|
| Tipo de teste | Semi-estático |
| Duração | 10 dias |
| Temperatura | 23 ± 2°C |
| Qualidade de luz | Luz fria ou ambiente de laboratório |
| Fotoperíodo | 16 horas; 8 horas escuro |
| Tamanho do frasco-teste | Béquer de 300 ml |
| Volume da água de diluição | 200 ml |
| Volume do sedimento-teste | 100g |
| Renovação da solução-teste | A cada dois dias, exceto nos fins de semana |
| Nº de organismos/réplica | 10 |
| Nº réplicas/concentração | 4 a 8 |
| Troca dos frascos-teste | Não |
| Aeração da solução-teste | Sim, se OD for < 2,5 mg/l |
| Água de diluição | Reconstituída ou natural Dureza de 40-48 mg CaCO ₃ /l |
| Alimentação durante o teste | Sim, 1,5 ml de RL, nos dias da troca de água |
| Critério de avaliação de efeito | Mortalidade |
| Expressão dos resultados | % de mortalidade |
| Critério de aceitabilidade do testes | > 80% de sobrevivência no controle |

A cada dois dias (Dia 2, 3, 6, 8), com exceção dos fins de semana, deve-se trocar 2/3 da água em cada recipiente teste. Durante o procedimento de retirada e adição da água, deve-se tomar o cuidado de evitar o revolvimento do sedimento. Para tanto sugere-se sifonar a água lentamente. Verificar sempre se não foi transferido algum organismo neste processo. No dia da troca de água os organismos devem ser alimentados com 1,5 mL do alimento composto RL mais óleo. Os dados referentes a troca de água e fornecimento de alimento devem ser registrados na ficha do teste.

A temperatura do local do teste deve ser mantida a 23 ± 1 °C, fotoperíodo de 16 h de luz e 8 h de escuro, com uma intensidade luminosa de 100 a 1000 lux .

No início, nos dias das trocas de água e no final do período de exposição, devem ser retiradas alíquotas de água para a determinação do pH, condutividade, oxigênio dissolvido, dureza e outras análises que se fizerem necessárias. A temperatura da água e do ambiente deve ser medida todos os dias, além de se observar a aeração e OD.

No final do teste, ou seja, no 10º dia (Dia 10), o sedimento deve ser passado por peneira de malha 145 µm, e lavado com água corrente. O material retido na peneira deve ser transferido, com o auxílio de água corrente, para um recipiente de plástico (caixa ou bandeja), onde se procede a

contagem do número de organismos vivos e mortos. Os organismos desaparecidos devem ser considerados como mortos. Esses dados devem ser registrados na ficha do teste.

O critério de avaliação nos testes de toxicidade aguda é a sobrevivência, sendo recomendada também a determinação do crescimento. O comprimento pode ser medido da base da primeira antena até a ponta do terceiro urópode ao longo da superfície curva do dorso dos organismos. Outro procedimento adotado é a medida do peso seco para estimar o crescimento (USEPA, 2000, ASTM,2000).

O peso seco pode ser determinado pela diferença de peso entre recipientes vazios (formas de papel de alumínio) e recipientes com os organismos, retirados vivos de cada uma das replicatas, por 24h na estufa, na faixa de temperatura de 60 a 90°C. Após a retirada da estufa as formas devem ser colocadas em um dessecador, lembrando que estas devem ser sempre manuseadas com o auxílio de uma pinça. Deixar por pelo menos três horas, ou até que seja obtido peso constante. Para se pesar os organismos deve-se utilizar uma balança analítica com precisão 0,01g.

Para avaliar se as condições do teste foram adequadas para proporcionar crescimento significativo dos organismos, deve-se determinar o peso seco ou o tamanho de lote de organismos-teste com 7 a 14 dias de idade. Adotar o mesmo número de replicatas e organismos adotado no teste com as amostras de sedimento.

No quadro 3 é apresentado um cronograma das atividades envolvidas para na montagem do teste com *H. azteca* com a duração de 10 dias, em sistema semi-estático com troca de água a cada dois dias. Sugere-se que o teste, por ter a duração de dez dias, tenha início às terças-feiras para evitar que as diferentes atividades do ensaio incidam no final de semana.

Quadro 3. Cronograma de atividades para a realização de teste de toxicidade de 10 dias com *Hyalella azteca* avaliando a sobrevivência e crescimento pelo peso seco.

| Dia | Atividades |
|------------|---|
| -7 | Separar os organismos jovens da cultura. Separar um grupo destes organismos (50) como controle para avaliar a sobrevivência. |
| -6 a -2 | Preparar a água de diluição e o alimento, verificar material necessário para a montagem do teste. |
| -1 | Iniciar a montagem do teste adicionando o sedimento e água em cada béquer. Colocar na estufa as forminhas de papel de alumínio para determinação do peso seco. |
| 0 | Avaliar o sobrevivência do lote de organismos teste, se superior a 20% não utilizar o lote. Alimentar os organismos teste. Retirar uma amostra de cada tratamento e determinar o OD, pH, condutividade, amônia. Se OD < 2,5mg/L adicionar aeração. Nesta caso após 2h, fazer nova leitura. Separar e adicionar os organismos nos recipientes teste. Separar um lote para medir o peso seco. Pesar as forminhas. Colocar os organismos separados para medir o peso seco nas forminhas. Colocar na estufa por 24h. |
| 1 | Pesar as forminhas com os organismos (peso seco inicial). Medir a temperatura do teste. |
| 4, 5, 7, 9 | Medir a temperatura do teste Colocar forminhas de alumínio por 24 h na estufa e pesar (qualquer dia da semana) e deixar no dessecador. |
| 2, 3, 6, 8 | Medir a temperatura do teste. Fazer a troca de água (2/3) com o auxílio de um sifão. Fazer as medidas físicas e químicas. Alimentar os organismos. |
| 10 | Retirar amostra de cada recipiente teste e fazer as medidas físicas e químicas. Passar o conteúdo de cada béquer em peneira para reter os organismos. Contar o sobreviventes e preparar os organismos para medir o peso seco. Colocar as forminhas com os organismos na estufa por 24h. |
| 11 | Retirar e deixar num dessecador as forminhas |
| 13 | Pesar as forminhas |

3.7. PROCEDIMENTO DE CÁLCULO

O objetivo do teste de toxicidade de sedimento com *H.azteca* é o de determinar se a resposta biológica da amostra em estudo difere da do controle. Para tanto, deve-se aplicar nos dados uma análise estatística do tipo teste de hipótese, isto é, se existe ou não diferença significativa entre o controle e as amostras sob um determinado nível de erro fixado. Inicialmente, é aplicado aos dados um teste de normalidade, como o do χ^2 , Shapiro-Wilk, para avaliar se existem diferenças entre observações individuais e o valor médio dos tratamentos. Posteriormente, é necessário testar a homogeneidade de variâncias, isto é, a homocedasticidade, podendo ser aplicados os testes de Bartlett e Hartley. Se os dados tiverem uma distribuição normal e forem homocedásticos pode-se aplicar os teste t-Student e a análise de variância (ANOVA). Quando os dados não seguirem uma distribuição normal ou não forem homocedásticos, pode-se aplicar os testes não paramétricos Steel many-one rank e Wilcoxon rank-sum.

Quando o número de réplicas for superior a cinco, pode-se utilizar qualquer um dos testes acima mencionados. No caso do número de réplicas ser igual a quatro, podemos utilizar os testes não paramétricos de Steel, desde que o número de amostras excluindo-se o controle seja menor que sete. O teste de Wilcoxon deve ser aplicado quando este número for menor que quatro. Entretanto, não é recomendada a realização do teste com menos que quatro réplicas pois, se for necessária a aplicação de um teste não paramétrico, não será possível utilizá-lo.

Na figura 4 é apresentada a árvore de decisões que devem ser tomadas para submeter os dados ao teste de hipótese.

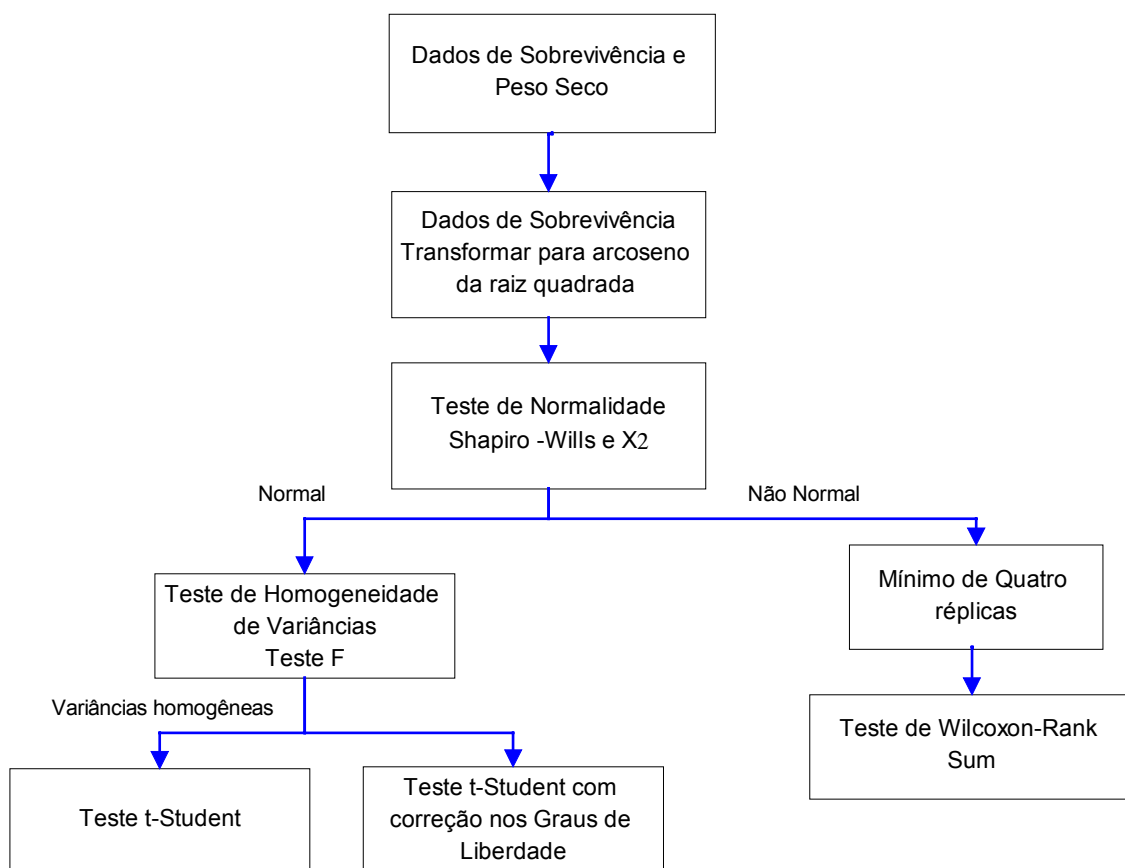


Figura 4. Fluxograma para análise da sobrevivência de dados de uma amostra submetida ao teste de hipótese.

O teste de hipótese permite, portanto, avaliar se o efeito observado na amostra é significativo em relação ao controle, sendo que a mínima diferença significativa (MDS) em relação ao controle depende do tipo de teste, do número de réplicas e da variabilidade do efeito entre as mesmas.

Por isso, tem sido recomendada a aplicação do teste de hipóteses por bioequivalência, uma vez que este permite detectar, para uma determinada variável considerada (por exemplo, reprodução e crescimento), se as médias de efeito obtidas no controle, representadas por uma constante (r), diferem significativamente da obtida na amostra. Esta abordagem, portanto, não leva em consideração apenas a diferença mínima observada no teste, mas também a média histórica obtida para aquele organismo, utilizando uma determinada metodologia. Dessa forma, é possível definir o percentual de efeito, que é considerado não só estatística, mas também biologicamente significativo.

Para tanto, é necessário definir a constante de proporcionalidade (r), ou seja, o levantamento da diferença mínima significativa do conjunto de dados até então realizados com *H. azteca* com amostras de sedimento coletadas em diferentes locais. Um dos métodos para se determinar essa constante (r) é o recomendado por Denton e Norberg- King (1996) para avaliar o impacto do lançamento de efluentes no meio ambiente aquático e, que segundo THURSBY et al. (1997), constitui uma abordagem que pode ser aplicada à grande maioria dos procedimentos estatísticos, visando verificar se existe diferença entre a amostra e o controle.

O valor da constante de proporcionalidade (r) determinado para *H. azteca* foi de 0,89 e 0,82 para as variáveis mortalidade e crescimento, respectivamente (ver Parte 1, Capítulo 3). Esses valores foram semelhantes aos obtidos para o peixe *Danio rerio* e para o ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*, para testes que avaliam o efeito desenvolvimento embrionário, e, um pouco superior ao de *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* para os efeitos sobrevivência e reprodução, respectivamente de amostras de água (BURATINI et al., 2005).

3.8. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

Quando a porcentagem de mortalidade na amostra for significativamente maior do que a observada no controle, o resultado deve ser expresso como “Efeito tóxico agudo”. No caso do crescimento, expresso pelo peso seco, quando este for significativamente inferior ao observado no controle, o resultado deve ser expresso como “Efeito tóxico subletal”. Caso contrário, o resultado deve ser expresso como “não apresentou efeito tóxico agudo” (N.T.) ou “não apresentou efeito tóxico subletal” (N.T.).

3.9. VALIDADE DO RESULTADO

São considerados válidos os resultados dos testes quando no término do período de exposição no sedimento controle ou de referência a sobrevivência dos organismos-teste tenha sido superior a 80% e o crescimento tenha sido mensurável no controle ao final do teste. Com relação à qualidade da água de diluição, expressa por pH e condutividade, os mesmos não devem ter variado mais que 50% em relação ao início do teste e o oxigênio dissolvido, no decorrer do teste, deve ter se mantido acima de 2,5mg/L. Além disso, a temperatura deve ter permanecido na faixa de 23,0 a 25,0°C.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. **NBR 12.713**: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda - método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro: ABNT, 2004, 21 p.

ARAÚJO, R. P. A. **Avaliação da toxicidade de sedimentos ao anfípoda de água doce *Hyaella meinerti* Stebbing, 1899 (Crustacea, Amphipoda)**. São Paulo: 1998, 184 f. (Mestrado – Instituto de Biociências, USP).

ASTM. **Proposed new guide for conducting tests on aqueous effluent with fishes, macroinvertebrates, and amphibians**. Philadelphia: ASTM, 1980. 25 p. Draft 7.

ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1987. 40 p. Draft 1, 10/15/87.

ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1989. p.i. Draft 2, 1/19/89.

ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1990. 19 p.

ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1993. 27 p.

ASTM. **Standard guide for conducting sediment toxicity test with freshwater invertebrates**. Philadelphia: ASTM, 1995. 81 p.

ASTM. **E 1706-00**: test method for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. Philadelphia, ASTM, 2000. 117 p.

BOUSFIELD, E. L. A contribution to the reclassification of neotropical freshwater Hyalellid Amphipods (Crustacea: Gammaridea, Talitroidea). **Bolletino del Museo Civico di Storia Naturale di Verona**, v. 20, n. 1993, p. 175-224, 1996.

BURATINI, S. V.; PRÓSPERI, V. A.; BERTOLETTI, E.; ARAÚJO, R. P. A.; WERNER, L. I. Minimum significant difference applied to “bioequivalence t-test”. **Bulletin Environmental Contamination and Toxicology**. 2005. No prelo.

BURTON JR, G. A. Plankton, macrophyte, fish and amphibian toxicity testing of freshwater sediments. In: BURTON JR, A. G. (Ed.). **Sediment toxicity assessment**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992. cap. 8, p. 167-182.

BURTON, A. G.; NELSON, M. K.; INGERSOLL, C. G. Freshwater benthic toxicity tests. In: BURTON, JR, A. G. (Ed.). **Sediment toxicity assessment**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992. cap. 10, p. 213-240.

CETESB (São Paulo). **Água: avaliação de toxicidade crônica, utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard 1894 (Cladocera, Crustacea) - método de ensaio**. São Paulo: CETESB, 1991. 25 p. Norma CETESB L5.022.

CETESB (São Paulo). **Água: teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea) - método de ensaio**. São Paulo: CETESB, 1994. 25 p. Norma CETESB L5.018.

CETESB. **Guia de coleta de amostras**. 2.ed. São Paulo: CETESB. Em elaboração.

COOPER, W. E. Dynamics and production of a natural population of a freshwater amphipod, *Hyaella azteca*. **Ecological Monographs**, v. 35, n. 4, p. 377-394, 1965.

De MARCH, B. G. E. *Hyaella azteca* (Saussure). In: LAWRENCE, S. G. (Ed.). **A manual for the culture of selected freshwater invertebrates**. Department of Fisheries and Oceans, Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Science, n. 54, p. 61-77, 1981.

DENTON, D. L.; NORBERG-KING, T. J. Whole effluent toxicity statistics: a regulatory perspective. . In: Grothe, D. R.; Dickson, K. L.; Reed-Judkins, D. K. (Ed.). **Whole Effluent Toxicity Testing: an evaluation of methods and prediction of receiving system impacts**. Pensacola. FL, USA.: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1996. p. 83-103

DENNY, J. S.; COLLYARD, S. **Standard operating procedure for the culture of *Hyaella azteca***. Duluth: USEPA, 1991. 19p. Draft 10/25/91.

DENNY, J. S.; HOKE, R. A.; MEAD, K. E.; COLLYARD, S. A.; JUENEMANN, J. L.; YOSSUFF, S. C. **Standard operating procedure for the culture of *Hyaella azteca*, *Chironomus tentans* and *Lumbriculus variegatus***. Duluth: USEPA, 1992. 29p.

ENVIRONMENT CANADA. **Guidance document on control of toxicity test precision using reference toxicants**. Environmet Canada, 1990. 85 p. (EPS 1/RM/12).

ENVIRONMENT CANADA. **Biological test method: test for survival and growth in sediment using the freshwater amphipod *Hyaella azteca***. Ottawa, 1997. 123 p. (EPS 1/RM/33).

GEISLER, F. S. Studies on the postembryonic development of *Hyaella azteca* (Saussure). **The Biological Bulletin**, v. 86, p. 6-22, 1944.

GIESY, J. P.; HOKE, R. A. Freshwater sediment toxicity bioassessment: rationale for species selection and test design. **Journal of Great Lakes Research**, v. 15, n. 4, p. 539-569, 1989.

GONZALEZ, E. R.; WATLING, L. A new species of *Hyalella* from Brazil (Crustacea: Amphipoda: Hyalellidae), with redescrptions of other species in the genus. **Journal of Natural History**, v. 37, n.17, p. 2045-2076, 2003 a.

GROSSO, L. E.; PERALTA, M. Anfípodos de água dulce sudamericanos. Revisión del género *Hyalella* Smith. I. **Acta Zoológica Lilloana**, v. 45, n. 1, p. 79-98, 1999.

HARDGRAVE, B. Distribution, growth and seasonal abundance of *Hyalella azteca* (Amphipoda) in relation to the sediment microflora. **Journal of the Fisheries Resarch Board of Canada**, v.27, n. 4, p. 685-699,1970a.

HARDGRAVE, B. The utilization of benthic microflora by *Hyalella azteca* (Amphipoda). **The Journal of Animal Ecology**, v.39, n.2, p.427-437, 1970b.

INGERSOLL, C. G.; NELSON, M. K. Testing sediment toxicity with *Hyalella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (Diptera). In: LANDIS, W. G.; SCHALIE, W. H. (Eds.) **Aquatic Toxicology and Risk Assessment**: thirteenth volume. Philadelphia: ASTM, 1990. p. 93-109.

KEATING, K. I. A system of defined (*sensu stricto*) media for *Daphnia* (Cladocera) culture. **Water Research**, v. 19, n. 1, p. 73-78, 1985.

LÉGER, P.; BENTSON, D. A.; SORGELOOS, P. Analytical variation in the determination of the fatty acid composition of standard preparations of the brine shrimp *Artemia*; an interlaboratory exercise. In: COWGILL, U. M.; WILLIAMS, L. R. (Ed.). **Aquatic Toxicology and Hazard Assessment**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1989. p. 413-423.

McNULTY, ELLEN, DWYER, F.J., ELLERSIECK, M. R., GREER, E. I., INGERSOOL, C. G., RABENI, C. F. Evaluation of ability of reference toxicity test to identify stress in laboratory populations of the amphipod *Hyalella azteca*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.18, n. 3, p. 544-548, 1999.

NARCHI, W. **Crustáceos**: estudos práticos 1. São Paulo: Polígno, 1973. 116 p.

PENNAK, R. W. **Freshwater invertebrates of United States**. 3. ed. New York: Jonh Wiley & Sons, 1989. 628 p.

PEREIRA, F. G. C. **Espécies brasileiras do gênero *Hyaella*** (Crustacea, Amphipoda). 1983. 93 f. (Dissertação de mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro). Rio de Janeiro, 1983.

SAMPAIO, A. V. **Dinâmica populacional e produtividade de uma população de Amphipoda de água doce**. 1988. 24 p. Anexos. (Relatório de Estágio) - Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 1988.

SMITH, M. E.; LAZORCHAK, J. M.; HERRIN, L. E.; BREWER-SWARTZ, S.; THOENY, W. T. A formulated, reconstituted water for testing the freshwater amphipod, *Hyaella azteca*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, n. 6, p. 1229-1233, 1997.

STRONG JR, D. R. Life history variation among population of an amphipod (*Hyaella azteca*). **Ecology**, v. 53, n. 6, p. 1.103-1.111, 1972.

SUEDEL, B. C.; RODGERS JR, J. H. Development of formulated reference sediments for freshwater and estuarine sediment testing. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 13, n. 7, p. 1.163-1.175, 1994.

THURSBY, G. B.; HELTSHE, J.; SCOTT, K. J. Revised approach to toxicity test acceptability criteria using a statistical performance assessment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.16, n. 6, p. 1322-1329, 1997.

USEPA (Estados Unidos). **Methods for measuring toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates**. Washington, D. C.: United States Environmental Protection Agency, 1994. 133 p. (EPA/600/R-94/024).

USEPA (Estados Unidos). **Methods for measuring toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates**. Washington, D. C.: United States Environmental Protection Agency, 2000. 192 p. (EPA/600/R-94/064).

VIEGAS, E. M. M. **Lipídios na nutrição de animais aquáticos**. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP. s.d. Mineografado.

WAKABARA, Y.; SEREJO, C. S. Malacostraca – Peracarida. Amphipoda. Gammaridae and Caprellidea. In: YOUNG, P.S. (Ed.). **Catalogue of Crustacea of Brazil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 1998. p. 561-594. (Série Livros n. 6).

Anexo A

ALIMENTO COMPOSTO (RL)

O alimento composto RL mais óleo é preparado com três ingredientes:

Ração para peixe: colocar 0,5 g de ração de peixe para cada 100 mL de água destilada ou desionizada, agitar por cerca de uma hora. No final desse período, deixar decantar por uma hora e filtrar em rede de plâncton de aproximadamente 45 µm. A solução assim obtida pode ser congelada, em pequenas porções, para armazenamento e uso posterior.

Levedura: colocar 0,5 g de fermento biológico seco para cada em 100 mL de água destilada ou deionizada. Deixar em agitação até a dissolução total.

Para o preparo do alimento composto (RL) misturam-se partes iguais das soluções obtidas da forma descrita acima e 0,1mL de óleo de prímula para cada 100mL de solução de alimento composto.

O alimento assim preparado poderá ser utilizado pelo período aproximado de uma semana, se conservado em geladeira.

OBSERVAÇÃO: Deve ser observado o prazo de validade dos alimentos. Os alimentos da ração de peixe ou de coelho devem ser guardados em recipientes bem vedados, e no caso da levedura é indicado adicionar em embalagens plásticas a quantidade exata a ser utilizada no preparo do alimento, sendo que estas devem ser devidamente fechadas e guardadas em recipientes bem vedados.