

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS**

**Estudos limnológicos e ecotoxicológicos da bacia do Alto Jacaré-  
Guaçu com ênfase no desenvolvimento de sedimentos artificiais  
para avaliação da toxicidade do cromo.**

**Aline Fernanda Campagna**

**SÃO CARLOS**

**2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS**

**Estudos limnológicos e ecotoxicológicos da bacia do Alto Jacaré-  
Guaçu com ênfase no desenvolvimento de sedimentos artificiais  
para avaliação da toxicidade do cromo.**

**Aline Fernanda Campagna**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas, área de concentração Ecologia e Recursos Naturais.**

**Orientadora:**

**Dra. Nelsy Fenerich Verani**

**Co- orientador:**

**Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola**

**São Carlos**

**2010**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

C186el

Campagna, Aline Fernanda.

Estudos limnológicos e ecotoxicológicos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu com ênfase no desenvolvimento de sedimentos artificiais para avaliação da toxicidade do cromo / Aline Fernanda Campagna. -- São Carlos : UFSCar, 2010. 175 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Limnologia. 2. Ecotoxicologia. 3. Toxicidade - testes. 4. Jacaré-Guaçu, Rio (SP). 5. Sedimentos artificiais. 6. Cromo. I. Título.

CDD: 574.52632 (20<sup>a</sup>)



**Aline Fernanda Campagna**

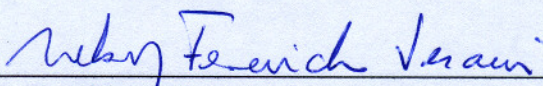
**Estudos limnológicos e ecotoxicológicos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, com ênfase no desenvolvimento de sedimentos artificiais para avaliação da toxicidade do cromo**

Tese apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

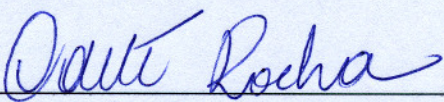
**Aprovada** em 01 de junho de 2010

**BANCA EXAMINADORA**

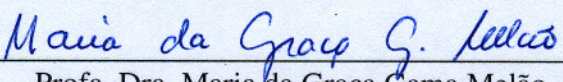
Presidente

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Nelsy Fenerich Verani  
(Orientadora)

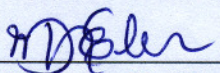
1º Examinador

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Odete Rocha  
PPGERN/UFSCar

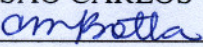
2º Examinador

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Maria da Graça Gama Melão  
PPGERN/UFSCar

3º Examinador

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Márcia Noélia Eler  
USP/SÃO CARLOS-SP

4º Examinador

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Clarice Maria Rispoli Blotta Paschoal  
USP/SÃO CARLOS-SP



*“Cada dia que amanhece assemelha-se a uma página em branco, na qual gravamos nossos pensamentos, ações e atitudes. Na essência, cada dia é a preparação de nosso próprio amanhã.”*

*Francisco Cândido Xavier*

*Para meu "lindo" Peterson;  
Para o Paulo  
e  
Para nossos pais  
Maria Elizabeth e  
Wilson Roberto*

# Agradecimentos

---

*Aos meus pais que fornecem todos os alicerces para minha vida.*

*Especialmente, à professora Dra. **Nelsy Fenerich Verani**, pela orientação, pelos ensinamentos, pela amizade, respeito, carinho, incentivo, confiança e pelo grande esforço para a realização desse trabalho.*

*Ao professor Dr. **Evaldo Luiz Gaeta Espíndola** pela co-orientação e incansável apoio.*

*Ao **CNPq**, pela bolsa concedida e pelo auxílio para a pesquisa.*

*Ao professor Dr. **Luiz Alleoni** e à Mestre **Roberta Nogueirol** da ESALQ/USP, pela realização da análise de extração seqüencial.*

*À professora Dra. **Odete Rocha**, pela contribuição científica e constante disposição em cooperar.*

*Ao professor Dr. **Irineu Bianchini Junior**, pelo auxílio na coleta e na experimentação com macrófitas.*

*Ao técnico **Marcelo Nogueira** do Núcleo de Estudos em Ecossistemas Aquáticos, pela realização das coletas, análises e sincera amizade.*

*Aos técnicos do Laboratório de Dinâmica de Populações, do Departamento de Hidrobiologia da UFSCar, **D. Amábile** e **Claudinei**, pela amizade e auxílio na histologia.*

*Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais (PPG-ERN).*

*Aos amigos que compartilharam o laboratório de Dinâmica de Populações: **Meme, Tati, Lia, Jussara, Elisa, Dani, Monica e Alexandre**, pelos momentos de descontração e de alegria.*

*Ao Mestre **Jorge Luiz Rodrigues**, pelo auxílio nas análises estatísticas e pela amizade.*

*Aos amigos **Andréa Novelli, Domingos Barbosa e Maria Edna**, pelo auxílio no trabalho e pela amizade sincera.*

*Aos “pequenos” grandes amores de minha vida: **Paola e Allan**, simplesmente por existirem.*

*À minha “avó-mãe” querida **Maria Duzolina**, pelo grande respeito, ensinamentos e exemplo de vida.*

*Ao **Peterson Fernandes**, pelo amor, carinho, atenção, paciência, incentivo e incansável apoio durante a realização do trabalho.*

*Em especial à amiga **Beatriz Kawamura Rodrigues**, pelo constante apoio no desenvolvimento do trabalho e, principalmente, pelo carinho, compreensão, paciência, amizade e muitos momentos de alegria e descobertas que compartilhamos. OBRIGADA!!!*

*A todos que contribuíram com a minha formação pessoal e profissional e que de alguma maneira colaboraram para a realização deste trabalho.*

# Resumo

**Campagna, A. F. Estudos limnológicos e ecotoxicológicos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu com ênfase no desenvolvimento de sedimentos artificiais para avaliação da toxicidade do cromo. 175p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.**

O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade dos rios da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu por meio de análises físicas, químicas, biológicas e ecotoxicológicas. Para tanto foram realizadas quatro amostragens (abril/07; julho/07; outubro/07 e janeiro/08) nos quais foram amostrados água e sedimento em quatorze pontos distribuídos na bacia. A sobrevivência/crescimento e a morfologia das brânquias foram variáveis consideradas nos testes de toxicidade, utilizando-se as espécies *Danio rerio* e *Poecilia reticulata* como organismos-teste. Os resultados limnológicos revelaram que, em geral, os períodos de outubro/07 e janeiro/08 foram encontradas as concentrações mais elevadas das diferentes variáveis analisadas, incluindo-se os metais em concentrações acima dos limites recomendados para a proteção da vida aquática. Na água, todos os metais avaliados estiveram acima do valor estabelecido pelo CONAMA 357/05 para proteção da vida aquática, com destaque para os valores de cádmio e cromo. No sedimento, apenas o cádmio e zinco apresentaram valores acima da TEL, no entanto, a influência dos valores elevados de cromo nos pontos de coleta foi discriminada pela análise multivariada. Nos testes de toxicidade crônica parcial com sedimentos, ao menos uma das espécies e variáveis analisadas indicaram a toxicidade dos rios da bacia. Efeitos subletais na sobrevivência/crescimento e na morfologia das brânquias foram detectados nos organismos-teste em períodos de amostragem diferentes para cada espécie. As amostras de sedimento de abril/07 e julho/07 foram mais tóxicas para *P. reticulata* e as amostras de janeiro/08 foram mais tóxicas para *D. rerio*. Foi escolhido o cromo para a avaliação da toxicidade em laboratório, por meio da fortificação (“spiking”) em sedimentos artificiais com formulação simples. Os resultados demonstraram a adequabilidade dos sedimentos artificiais como substrato para testes de toxicidade e auxiliaram na interpretação da toxicidade do cromo. A  $CL_{50;96h}$  de cromo adicionado a sedimentos sem MO e com MO para *C. xanthus*; *D. rerio* e *P. reticulata* foi de 340,56 e <1440,0 mg/Kg; 1731,04 e 2263,54 mg/Kg e 1377,55 e 2244,48 mg/Kg, respectivamente. Os efeitos subletais foram detectados em concentrações muito baixas de cromo biodisponível nos sedimentos (0,8 a 1,425 mg/Kg) e dissolvido na água (0,0275 a 1,138 mg/L). Esses resultados permitiram considerar que as concentrações de cromo detectadas na bacia do Alto Jacaré-Guaçu podem apresentar riscos para a vida aquática.

**Palavras-chave:** Testes de toxicidade, rio Jacaré-Guaçu, limnologia, sedimentos artificiais, “spiking”, cromo.



# Abstract

**Limnological and ecotoxicological studies in the Alto Jacaré-Guaçu basin emphasizing the development of artificial sediments to evaluate the chromium toxicity. 175p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.**

This work aimed to evaluate the Alto Jacaré-Guaçu rivers basin quality through physical, chemical and biological and ecotoxicological analysis. Samples of water and sediment were collected in April/07; July/07; October/07 and January/08 in fourteen locations. Moreover, studies about survey/growth and gills morphology were performed in *Danio rerio* and *Poecilia reticulata* fishes exposed in the toxicity tests. The limnological data revealed the higher concentrations of metals and other variables in the October/07 and January/08 seasons, being over the limits established for aquatic organism's protection. In the water samples, all metals were above the CONAMA 357/05, highlighting the values of cadmium and chromium. In the sediment, only cadmium and zinc values were above the TEL; however, the influence of high values of chromium in the collection sites was discriminated by multivariate analysis. The partial chronic toxicity tests performed using samples obtained from the natural environment revealed significant toxicity for at least one fish species and one parameter. Sublethal effects in the survey/growth and gills morphology were detected in the test organisms on the different seasons for each one species. The sediment samples from July/07 and April/07 were more toxic to *P. reticulata* species; however, January/08 samples were more toxic to *D. rerio*. Chromium was chosen for the evaluation of toxicity in laboratory by spiking in artificial sediments. The results presented the suitability of the artificial sediments as a substrate for toxicity tests and assisted in the interpretation of the chromium toxicity. The  $LC_{50;96h}$  of chromium spiked in inorganic and organic sediments was 340,56 and <1440,0  $mg.Kg^{-1}$  (*C. xanthus*); 1731,04 and 2263,54  $mg.Kg^{-1}$  (*D. rerio*); 2263,54  $mg/Kg$  and 1377,55  $mg.Kg^{-1}$  (*P. reticulata*), respectively. The sublethal effects were detected at very low concentrations of bioavailable chromium in sediments (0,8 to 1,425  $mg/Kg$ ) and dissolved in water (0,0275 to 1,138  $mg/L$ ). The results suggest that the chromium concentrations detected in the Alto Jacaré-Guaçu basin may present a risk to aquatic life.

**Key-words:** Toxicity tests, Jacaré-Guaçu river, limnology, artificial sediments, "spiking", chromium.

# Sumário

## **CAPÍTULO 1: A POLUIÇÃO DOS ECOSISTEMAS LÓTICOS E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO.....1**

1. Revisão Bibliográfica.....	1
1.1. A poluição dos ecossistemas lóticos.....	1
1.2. Metais.....	3
2. Objetivo geral.....	4
2.2. Objetivos específicos.....	4
3. Caracterização da área de estudo.....	5
4. Períodos de amostragem e estações de coleta.....	10
5. Referências bibliográficas.....	13

## **CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO LIMNOLÓGICA DA BACIA HIDROGRÁFICA DO ALTO JACARÉ-GUAÇU.....16**

1. Introdução.....	16
2. Objetivo .....	18
3. Materiais e métodos .....	18
3.1. Vazão.....	18
3.2. Análise física, química e biológica da água.....	18
3.2.1. Metais totais.....	18
3.3. Análise física e química do sedimento.....	19
3.3.1. Metais biodisponíveis.....	19
3.4. Análise estatística.....	19
4. Resultados .....	20
4.1. Variáveis hidrológicas.....	20
4.1.1. Vazão.....	20
4.2. Variáveis limnológicas.....	20
4.2.1. Condutividade elétrica e pH.....	20
4.2.2. Sólidos totais dissolvidos e potencial de óxido-redução.....	21
4.2.3. Temperatura e oxigênio dissolvido.....	22
4.2.4. Material em suspensão.....	24
4.2.5. Clorofila <i>a</i> total.....	25
4.2.6. Compostos nitrogenados .....	25
4.2.7. Compostos fosfatados.....	26
4.2.8. Silicato reativo.....	28
4.2.9. Coliformes fecais.....	28
4.2.10. Sulfetos.....	29
4.2.11. Metais.....	29
4.3. Análise física e química do sedimento.....	33
4.3.1. Matéria orgânica.....	33
4.3.2. Granulometria.....	34
4.3.3. Fósforo total.....	34
4.3.4. Nitrogênio orgânico total.....	35
4.3.5. Metais biodisponíveis.....	36
4.4. Análise estatística.....	39
5. Discussão.....	43
5.1. Variáveis físicas, químicas e biológicas da água.....	43
5.2. Variáveis físicas e químicas do sedimento.....	50
6. Conclusões.....	54
7. Referências bibliográficas.....	55

**CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DOS SEDIMENTOS DA BACIA  
HIDROGRÁFICA DO ALTO JACARÉ-GUAÇU.....59**

1. Introdução.....	59
2. Objetivo.....	60
3. Materiais e métodos.....	61
3.1. Organismos-teste.....	61
3.2. Obtenção e manutenção dos organismos-teste.....	61
3.3. Testes de sensibilidade.....	61
3.4. Homogeneidade dos organismos-teste.....	62
3.5. Bioensaios de toxicidade.....	62
3.6. Avaliação dos resultados de toxicidade.....	62
3.7. Estudos histológicos.....	63
4. Resultados.....	64
4.1. Homogeneidade dos lotes de peixes.....	64
4.2. Sensibilidade dos lotes de peixes.....	65
4.3. Bioensaios de toxicidade com sedimento.....	67
4.3.1. Sobrevivência.....	67
4.3.2. Crescimento.....	69
4.3.3. Análise histológica das brânquias.....	71
5. Discussão.....	78
6. Conclusões.....	85
7. Referências bibliográficas.....	86

**CAPÍTULO 4: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE UMA FORMULAÇÃO SIMPLES DE  
SEDIMENTO UTILIZANDO O METAL CROMO COMO SUBSTÂNCIA DE  
REFERÊNCIA.....90**

1. Introdução.....	90
1.1. Sedimentos naturais x sedimentos artificiais.....	90
1.2. Avaliação da Qualidade de Sedimentos para a proteção da vida aquática.....	91
1.3. Cromo.....	92
1.4. Experimentos com fortificação de sedimentos (“spiking”).....	93
2. Objetivo geral.....	94
2.1. Objetivos específicos.....	94
2.1.1. Sedimentos artificiais sem fortificação.....	94
2.1.2. Sedimentos artificiais com fortificação de cromo.....	94
3. Materiais e métodos.....	95
3.1. Sedimentos artificiais.....	95
3.2. Obtenção e manutenção dos organismos-teste.....	96
3.3. Testes de toxicidade aguda.....	97
3.4. Testes de toxicidade crônica.....	98
3.4.1. Análises físicas e químicas.....	100
3.4.2. Deformidade de mento de <i>C. xanthus</i> .....	100
3.4.3. Estudos histológicos com <i>D. rerio</i> e <i>P. reticulata</i> .....	100
3.4.4. Análise de metais em tecidos.....	100
3.4.5. Extração seqüencial do sedimento.....	101
3.4.6. Avaliação dos resultados.....	102
4. Resultados.....	102
4.1. Sedimentos sem fortificação.....	102
4.1.1. Análises físicas e químicas em amostras de água.....	102
4.1.2. Análises físicas e químicas em amostras de sedimento.....	105
4.1.3. Testes de toxicidade crônica e crônica parcial.....	107
4.1.3.1. <i>Chironomus xanthus</i> .....	107
4.1.3.2. <i>Danio rerio</i> .....	109

4.1.3.3. <i>Poecilia reticulata</i> .....	113
4.2. Sedimentos com fortificação de cromo.....	116
4.2.1. Testes de toxicidade aguda.....	116
4.2.1.1. <i>C. xanthus</i> .....	116
4.2.1.2. <i>D. rerio</i> .....	120
4.2.1.3. <i>P. reticulata</i> .....	122
4.2.2. Testes de toxicidade crônica.....	126
4.2.2.1. <i>C. xanthus</i> .....	126
4.2.2.2. <i>D. rerio</i> .....	130
4.2.2.3. <i>P. reticulata</i> .....	134
4.3. Extração seqüencial do sedimento.....	139
5. Discussão.....	140
5.1. Características físicas e químicas dos sedimentos artificiais.....	140
5.2. Adequabilidade dos sedimentos artificiais para sobrevivência e crescimento dos organismos ( <i>C. xanthus</i> , <i>D. rerio</i> e <i>P. reticulata</i> ).....	145
5.3. Adequabilidade dos sedimentos artificiais para testes de toxicidade.....	149
6. Conclusões.....	158
7. Referências bibliográficas.....	160
<b>CAPÍTULO 5: CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES.....</b>	<b>167</b>
1. Considerações finais e recomendações.....	167
2. Referências bibliográficas.....	169
<b>ANEXO 1 (Média e desvio padrão do CP e Pt de <i>D. rerio</i> – CAPÍTULO 3).....</b>	<b>171</b>
<b>ANEXO 2 (Média e desvio padrão do CP e Pt de <i>P. reticulata</i> – CAPÍTULO 3).....</b>	<b>172</b>
<b>ANEXO 3 (CERTIFICADO DE ANÁLISE DA AREIA - CAPÍTULO 4).....</b>	<b>173</b>
<b>ANEXO 4 (CERTIFICADO DE ANÁLISE DA ARGILA - CAPÍTULO 4).....</b>	<b>174</b>
<b>ANEXO 5 (CONTROLE DE QUALIDADE DA ARGILA - CAPÍTULO 4).....</b>	<b>175</b>

# Lista de abreviaturas e definições

---

- AAS** – Atomic Absorption Spectrophotometry
- ABNT** – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- AG** – ácido gálico
- AT** – ácido tânico
- CCME** – Canadian Council of Ministers of the Environment
- CETESB** – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
- CL<sub>50</sub>** – concentração letal que causa mortalidade em 50% dos indivíduos expostos.
- CO** – carbono orgânico
- COD** – carbono orgânico dissolvido
- CONAMA 357/05** – Conselho Nacional do Meio Ambiente nº357 de 2005.
- COT** – carbono orgânico total
- Cp** – comprimento padrão
- DBO** – demanda bioquímica de oxigênio
- IBAMA** – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
- MO** – matéria orgânica
- MSI** – material em suspensão inorgânico
- MSO** - material em suspensão orgânico
- MST** - material em suspensão total
- NT** – nitrogênio orgânico total
- OD** – oxigênio dissolvido
- OECD** – Organization for Co-Operation and Development
- ORP** – potencial de óxido-redução
- PEL** – probable effect level (concentração acima da qual são freqüentemente esperados os efeitos biológicos adversos).
- Pt** – peso total
- PT** – fósforo total
- SEMA** – Secretaria Estadual do Meio Ambiente
- SH** - substâncias húmicas
- SF** – substâncias fúlvicas
- t<sub>0</sub>** – tempo zero de experimentação.
- t<sub>7</sub>** – tempo de experimentação de sete dias
- TDS** – sólidos totais dissolvidos
- TEL** – threshold effect level (concentração abaixo da qual são raramente observados efeitos biológicos adversos)
- USEPA** – United States Environment Protection Agency



# Capítulo 1

## *A poluição dos ecossistemas lóticos e caracterização da área de estudo.*

---

### **1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **1.1. A poluição dos ecossistemas lóticos.**

Os rios são os canais de drenagem de uma bacia hidrográfica e sofrem influências da topografia, clima, hidrologia, vegetação, morfometria, além das atividades antrópicas (REBOUÇAS, 1999). Assim, o uso inadequado do solo e as atividades instaladas nas bacias hidrográficas podem comprometer a qualidade dos recursos hídricos (TUNDISI, 1986).

O fluxo unidirecional é o que difere o rio dos demais ecossistemas aquáticos. Na extensão da nascente até sua confluência com outro corpo de água, muitos processos ecológicos são explicados a partir dos fenômenos de transporte (de matéria e de energia) e da interação entre as paisagens que compõem a bacia hidrográfica.

Segundo Ward (1989), os sistemas lóticos são tetradimensionais, isto é, possuem componentes laterais, verticais, longitudinais que se modificam ao longo do tempo. Em seguida, uma quinta variável de controle no sistema de um rio foi incorporada, que é a intervenção humana (BOON, 1992).

O homem sempre interferiu nas atividades naturais utilizando os recursos e, descartando pelo menos parte dele no ambiente. A partir da revolução industrial, esta situação agravou-se, uma vez que muitas substâncias químicas começaram ser lançadas nos ecossistemas aquáticos, terrestres e na atmosfera (OCHIAI, 1995). Como resultado do crescimento exponencial das atividades humanas, a maioria dos rios do mundo vem sofrendo degradação (KENYA, 1995).

Neste contexto, os principais fatores desencadeadores de poluição hídrica são: i) os despejos de efluentes domésticos e industriais, que são considerados fontes de poluição pontual, e ii) as fontes mais difíceis de visualizar e quantificar, como o escoamento urbano, agrícola, além da precipitação atmosférica (poluição difusa) (BILLEN et al., 1994; RAND; PETROCELLI, 1985; REBOUÇAS, 1999; TUNDISI, 1986). Dentre essas fontes de degradação, os despejos industriais e o escoamento agrícola são considerados os mais prejudiciais, uma vez que introduzem substâncias químicas sintéticas estranhas aos ecossistemas aquáticos, as quais, posteriormente, serão dificilmente assimiladas interferindo na estrutura e funcionamento do sistema (STRASKRABA, 1994; TUNDISI, 1996). Esta contaminação tem ocorrido de forma intencional ou acidental (GUTHRIE; PERRY, 1980).

Os contaminantes chegam ao ambiente aquático em solução ou ligado a algum material suspenso proveniente do continente. Durante este transporte, permanente ou temporário, ocorre um armazenamento dos poluentes no sedimento de rios, lagos, estuários, águas costeiras e oceanos (SALOMONS, 1987). Desta forma, os sedimentos representam um importante papel, pois funcionam como um depósito de poluentes que, mediante processos naturais e interferência humana, podem ser disponibilizados para a coluna de água por meio de ressuspensão, atingindo além dos organismos bentônicos também os nectônicos (GIESY; HOKE, 1989; JURACEK; MAU, 2003; LIU et al., 1999; SALOMONS, 1987; SOARES et al., 1999). Assim, o compartimento sedimento pode ser considerado uma fonte potencial de poluição difusa dentro do ambiente aquático (ADAMS, 1995; BAUDO; MUNTAU, 1990; SOARES et al., 1999).

Diante do exposto, é evidente a necessidade da avaliação da qualidade da água e sedimentos dos rios, uma vez que a presença de agentes químicos no ambiente sempre representa riscos aos seres vivos em qualquer ecossistema, não existindo, portanto, o que poderia ser chamado de “risco zero” à exposição dessas substâncias (CAIRNS, 1980).

Ao longo do tempo padrões desejáveis de qualidade de água têm sido estabelecidos para vários usos. Naturalmente, em função da preocupação humana em preservar sua espécie, o uso destinado ao consumo humano tem merecido maior atenção. Em decorrência disto, muitas são as interpretações errôneas a respeito da qualidade da água, pois muitas vezes a água considerada apropriada para o consumo humano é, também, considerada adequada para a proteção de comunidades aquáticas (BERTOLETTI, 2000).

A Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (2005) utiliza diferentes índices de qualidade das águas para cada uso do recurso hídrico. Neste sentido, é possível citar (1) Índice de Qualidade das Águas (IQA), com vistas a servir de informação básica da qualidade da água para o público em geral, bem como para o gerenciamento ambiental das 22 Unidades de Gerenciamento de recursos Hídricos do Estado de São Paulo (UGRH); (2) Índice de Qualidade das Águas Brutas para Fins de Abastecimento Público (IAP); (3) Índice de Preservação da Vida Aquática (IVA) e (4) Índice de Balneabilidade (IB), sendo o IB utilizado para avaliar as condições da água para fins de recreação de contato primário.

Atualmente, a resolução CONAMA nº 357 (BRASIL, 2005) dispõe sobre o uso da água para a proteção das comunidades aquáticas. Entre os parâmetros de qualidade de água que se tornam clássicos e de uso generalizado em todo o mundo, podem ser citados os números mais prováveis de coliformes, a demanda bioquímica de oxigênio, e de uso mais recente, os bioensaios para avaliar a toxicidade (BRANCO, 1999).

Considerando-se a crescente demanda de água para diferentes fins, é preciso administrar sua disponibilidade e uso, além de rever o quadro de degradação e desperdício dos recursos hídricos, por meio de um processo que os gerencie. Esse gerenciamento deve

incluir uma visão inter e multidisciplinar do problema, articulando tecnologias, aspectos sócio-econômicos e ambientais das bacias hidrográficas, saúde pública e bases científicas, de forma interativa e integrada (RAND; PETROCELLI, 1985).

## **1.2. Metais**

Os metais apresentam uma longa e remota intimidade com a história da humanidade. Presentes nas ferramentas que permitiram os grandes saltos evolutivos, em processos de magia, nas artes e na ciência, eles são parceiros na grande escalada humana. Entretanto, apesar de tão extensa convivência, nem todos os registros são positivos, ou seja, muitos dos metais, ao lado de seus indiscutíveis benefícios, também se mostram associados a um legado de injúrias e dores no plano coletivo e individual. Esses fatos negativos não derivam de malignidades inerentes aos metais, porém, dos usos inadequados que, por várias vezes, deles foram feitos (SILVA; PEDROZO, 2001).

Existem cerca de vinte elementos considerados tóxicos para a saúde humana, incluindo Hg, Cd, Pb, As, Mn, Ti, Cr, Ni, Se, Te, Sb, Be, Co, Mo, Sn, W e V. Entre eles, os dez primeiros são os mais utilizados na indústria e, por esta razão são os mais estudados do ponto de vista toxicológico. Estes elementos reagem com ligantes difusores, com macromoléculas e com ligantes de membranas celulares, conferindo-lhes propriedades de bioacumulação, biomagnificação na cadeia alimentar, persistência no ambiente e distúrbios nos processos metabólicos dos seres vivos. Os efeitos bioacumulativos e de biomagnificação se encarregam de transformar concentrações consideradas normais em concentrações tóxicas para diferentes espécies da biota e para o homem. A persistência garante os efeitos ao longo do tempo ou de longo prazo, mesmo depois de interrompidas as emissões (TAVARES; CARVALHO, 1992).

Os metais atingem os corpos de águas por meio de processos físicos e químicos naturais como o intemperismo ou a infiltração em solos e rochas, garantindo uma concentração adequada nas águas doces (JACKSON, 2002). No entanto, podem ser despejados em quantidades significativas por atividades industriais, agrícolas e de mineração, acarretando um potencial tóxico à biota aquática e a saúde humana (SUNDA; HUNSTMAN, 1998).

O crescente desenvolvimento industrial e urbano tem provocado um aumento significativo nestas concentrações nos ecossistemas aquáticos. Uma vez inseridos no ambiente, os metais podem ser transportados e transformados por meio de diversos processos, em função de sua origem, de suas propriedades físicas e químicas e das quantidades introduzidas (SUNDA; HUNSTMAN, 1998).

Vários estudos sugerem que a maior fração de metais é imobilizada nos sedimentos sob formas não biodisponíveis, levando a um decréscimo na concentração disponível para a

biota (CALMANO et al., 1993; LACERDA, 1998; TAM; WONG, 1995). Dependendo do ambiente em que se encontram, os sedimentos podem ser uma fonte ou um sumidouro para os metais provenientes das águas superficiais, uma vez que os metais não permanecem fixos nos sedimentos, mas podem ser reciclados através de agentes químicos e biológicos (LACERDA, 1998).

Um dos objetivos de se estudar a dinâmica dos processos que ocorrem com sedimentos está na precisão do destino dos contaminantes que são transportados por ele. Após a deposição dos constituintes sedimentáveis da coluna d'água, podem ocorrer mudanças nas formas químicas metálicas através de uma grande quantidade de espectro de mecanismos e interações (abióticas e bióticas), alterando o equilíbrio entre sólidos e suas espécies dissolvidas (BURTON, 1991).

A condição de potencial redox, concentração de matéria orgânica, concentração de compostos de enxofre, são alguns exemplos de fatores que podem alterar a biodisponibilidade e a toxicidade de metais em sedimentos (SALOMONS; FORSTNER, 1984).

## **2. OBJETIVO GERAL**

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar as características físicas, químicas, biológicas e ecotoxicológicas do compartimento sedimento da bacia hidrográfica do alto Jacaré-Guaçu, com ênfase nas concentrações de metais e seus potenciais efeitos, por meio de testes de toxicidade aguda e crônica parcial com as espécies ictíicas juvenis de *Danio rerio* e *Poecilia reticulata*.

### **2.1. Objetivos específicos**

✓ Desenvolver sedimentos artificiais com formulações simples, com base nas características granulométricas dos sedimentos naturais da bacia do Alto Jacaré Guaçu, com vistas a auxiliar na interpretação dos resultados obtidos nos ensaios de toxicidade com sedimentos naturais em relação ao metal cromo.

✓ Avaliar a sensibilidade dos organismos-teste *Chironomus xanthus*; *Danio rerio* e *Poecilia reticulata* em relação ao cromo, por meio de testes de toxicidade aguda, crônica e crônica parcial.

✓ Estabelecer subsídios para a elaboração de um critério de qualidade de sedimentos nacional, iniciando um banco de dados relacionando a concentração de cromo e as respostas tóxicas em sedimentos artificiais e comparar estes resultados com os valores-guia canadenses criados para a proteção da vida aquática.

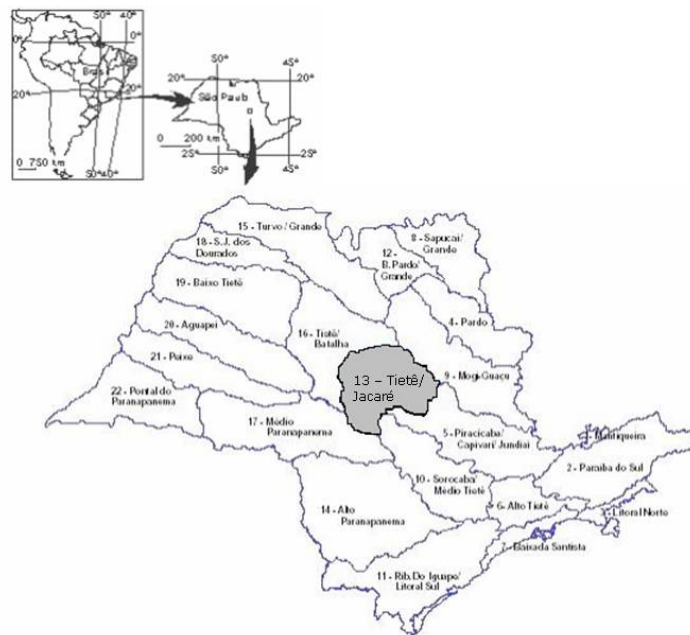
### 3. CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

A bacia do rio Jacaré-Guaçu possui 4.108 Km<sup>2</sup>, compreendendo total ou parcialmente os municípios de Araraquara, Analândia, Boa Esperança do Sul, Brotas, Dourado, Gavião Peixoto, Ibaté, Ibitinga, Itirapina, Matão, Nova Europa, Ribeirão Bonito, São Carlos e Tabatinga.

É uma das bacias mais importantes do estado de São Paulo, uma vez que além de cortar terras de extraordinário valor econômico, também é utilizada para fins hidrelétricos (represa do Lobo - Itirapina; represa Santana - Brotas; Usina Alois Partel - São Carlos e Usina de Gavião Peixoto) (BRASIL, 1980).

Com 133 km de extensão, o rio Jacaré-Guaçu tem como afluentes em sua margem direita os rios Monjolinho, Chibarro, Itaquerê, ribeirões do Ouro, das Cruzes, São João e córregos Tanque e Mulada. Já na margem esquerda recebe o ribeirão do Lobo, ribeirão da Onça, córrego Aterrado, ribeirão Bonito, ribeirão São João e ribeirão Boa Esperança. Estes afluentes contribuem para a entrada de efluentes domésticos no rio Jacaré-Guaçu (principalmente nas localidades de São Carlos e Araraquara, em decorrência da densidade populacional) e também industriais (tratados em sua maioria).

A parte alta da bacia do rio Jacaré-Guaçu localiza-se na região Centro-Oriental do Estado de São Paulo, sendo o rio Jacaré-Guaçu um importante afluente da margem direita do rio Tietê, pertencendo ambas as bacias à 13ª Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI Tietê-Jacaré), segundo a Lei Estadual Nº. 7.663 de dezembro de 1991 (SÃO PAULO, 1991) (Figura 1).



**Figura 1:** Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídrico (UGRHs) do estado de São Paulo, detalhando a 13ª UGRH, onde está localizada a área de estudo (fonte: adaptado de [www.sgrh.sp.gov.br](http://www.sgrh.sp.gov.br)).



Limita-se ao norte e nordeste com a bacia do rio Mogi-Guaçu, ao sul e oeste com as bacias do rio Jacaré-Pepira e do médio Jacaré-Guaçu e a leste e sudeste com a bacia do rio Corumbataí, apresentando uma extensão aproximada de 1.100 Km<sup>2</sup>, definida pelas coordenadas 21° 57' 30" e 22° 22' 30" de latitude sul e 47° 42' 30" e 48° 05' 30" de latitude oeste. A área abrange os municípios de São Carlos, Analândia, Itirapina e Brotas.

O rio Jacaré-Guaçu é formado pela junção do Ribeirão do Lobo (principal formador da represa do Lobo-Broa) e do Ribeirão do Feijão (principal fonte de abastecimento de água da cidade de São Carlos) que nasce no alto da Serra do Cuscuzeiro. De acordo com o Decreto Estadual nº 20.960 de 8 de junho de 1983, tanto o Ribeirão do Lobo quanto o Ribeirão do Feijão estão inseridos na Área de Proteção Ambiental (APA) de Corumbataí-Botucatu-Tejupá. Além das cuestas basálticas, outros atributos, como os "morros testemunhos", os recursos hídricos superficiais e o aquífero Guarani, a vegetação nativa e o patrimônio arqueológico motivaram a criação desta APA.

Na área abrangida pelo Perímetro Corumbataí, as cuestas basálticas compõem um cenário paisagístico de grande beleza, onde se destacam a Serra de São Pedro e Itaqueri. Nos paredões que formam os degraus das cuestas, ainda restam trechos de mata original (cerrados e cerradões) e são comuns os testemunhos, morros isolados que a erosão esculpiu, formando um cenário peculiar na região. Ao pé das cuestas, estendem-se vales amplos e suaves, com presença das várzeas ao longo do curso dos rios. Ao sul faz divisa com a Represa de Barra Bonita. A região é conhecida por suas inúmeras cachoeiras, resultantes dos desníveis abruptos de seu relevo, e se transforma paulatinamente em um centro do ecoturismo no Estado, principalmente nos municípios de Brotas e São Pedro, onde se destacam a navegação do rio Jacaré-Pepira e os hotéis-fazendas espalhados pela área rural. Os dados morfométricos da bacia estão resumidos na tabela 1.

**Tabela 1:** Dados morfométricos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu (PELAÉZ-RODRIGUES, 2001)

Área da bacia	4108,4 Km <sup>2</sup>
Maior comprimento da bacia	130,5 Km
Número de cursos de água afluentes	98
Cota altimétrica máxima da bacia	1000 m
Cota altimétrica mínima da bacia	440 m
Cota altimétrica máxima do curso principal	700m
Relação de alongação	0,554
Relação de relevo	4,3 x 10 <sup>-5</sup> m/m linear
Gradiente da área	560 m
Gradiente do canal principal	260 m
Densidade de drenagem	2,4 x 10 <sup>-2</sup>

Segundo Ferrante (1989), inicialmente o solo era predominantemente ocupado pela vegetação nativa de cerrado, panorama este que foi se modificando em decorrência da

interferência do homem. A expansão de monoculturas, principalmente de cana-de-açúcar e citros desencadeou uma ocupação desordenada da terra, resultando em desmatamento de vegetação ciliar e áreas marginais aos cursos de água, comprometendo assim os recursos hídricos da região.

O uso de agrotóxicos em grandes quantidades nas culturas, os processos erosivos acentuados em decorrência do uso inadequado do solo; a ausência de fiscalização e monitoramento adequado do lançamento de efluentes das indústrias nos corpos de água, a destruição da vegetação nativa para a formação de pastos e plantio de monoculturas, foram os principais fatores responsáveis pela degradação ambiental na região em estudo (SANTOS, 1993).

Atualmente, as principais atividades de uso do entorno da bacia são as pastagens, destinadas às técnicas de criação semi-intensiva e extensiva de gado bovino, e a agricultura, destacando-se as culturas de cana-de-açúcar e milho, a cafeicultura e a citricultura, com o predomínio de pequenos e médios agricultores. Também são encontradas algumas áreas com monoculturas das espécies *Pinus* e *Eucaliptus*, bem como áreas cobertas por vegetação natural (campo e cerrado) (SÃO PAULO, 2005).

Quanto ao clima, a região é classificada, segundo KOPPEN, como Cwb, ou seja, com duas estações bem definidas: uma seca no inverno (de abril a setembro) outra chuvosa no verão (de outubro a março). A temperatura do ar é mais elevada no verão e mais amena no inverno, acompanhado as variações das duas estações descritas.

Em relação aos municípios de Analândia e Itirapina, estes apresentam um panorama estagnado com relação ao crescimento da área urbana, onde as alterações nas paisagens destes municípios são mínimas. Porém, em Itirapina, ocorrem indícios de uma urbanização desorganizada e caracterizada pela falta de diretrizes urbanísticas. Ambos os municípios estão entre os maiores produtores de leite e de ovos da região, apresentando importantes agroindústrias responsáveis pela produção avícola (SANTOS, 1993), e conseqüentemente, os impactos provenientes destas atividades.

Na parte alta do rio Jacaré-Guaçu, o principal afluente é o rio Monjolinho, o qual nasce no planalto de São Carlos, a leste do município, na cota de 900 m, percorrendo 43,25 Km no sentido leste-oeste, originando, segundo Mendes (1998), uma planície de inundação onde deposita a maior parte do material em suspensão. Na área urbana este rio foi canalizado recebendo contribuições de diversos tributários como os córregos Santa Maria, Tijuco Preto, Mineirinho e do Gregório. Recebe também águas residuárias da região norte de São Carlos e despejos provenientes de aproximadamente 600 indústrias (curtumes, papel, tintas, alimentos, metalúrgicas, etc.). Após o trecho urbano, o rio percorre áreas agropastoris (predomínio de cultura de cana-de-açúcar) e finalmente desemboca no rio Jacaré-Guaçu.

Segundo SILVA et al. (2000), a sub-bacia do rio Monjolinho apresenta-se com 26,3% do remanescente vegetal, sendo que deste total apenas 17,5% são fragmentos de vegetação natural e 8,8% são fragmentos de capoeira. A vegetação remanescente é caracterizada por Floresta Estacional Semidecidual Submontana (Mata); Floresta Estacional Semidecidual Aluvial (Mata ciliar); Savana Florestada (Cerradão); Savana Arborizada (Cerrado). No entanto, a maioria da área vegetal (73,7%) consiste basicamente de áreas de cultivo de cana-de-açúcar (35,7%) e pasto cultivado (20,0%).

Criscuolo et al. (2000), comparando o percentual de área alterada em relação à agricultura, verificaram que de 1965 para 1998, ocorreu um aumento de 10,8% na área cultivada com cana-de-açúcar, chegando a totalizar 35,7% de toda a área, sendo esta a única cultura a ter um aumento significativo. Em relação à área urbana, São Carlos ocupava 6,4% em 1965, atingindo 15,0% em 1998.

Dados divulgados pelo Sistema Estadual de Análise de Dados (1998) demonstram que São Carlos tem uma economia de base industrial, sendo a maior parte representada pela metalurgia, transformação de minerais não metálicos, siderurgia e por atividades tradicionais como calçados e vestuários, couros e peles. De uma forma geral, a estas atividades estão associados os processos de produção geradores de efluentes líquidos responsáveis por impactos ambientais significativos como metais pesados, óleos, solventes, etc (CÔRTEZ et al., 2000).

Em relação aos efluentes gerados, há um sistema coletor de quase 100% do esgoto doméstico, o qual atualmente é tratado. Quanto aos efluentes industriais, 45% representam resíduo inorgânico e 17% os resíduos orgânicos, contribuindo para a poluição do rio Monjolinho. Em consequência disto, trabalhos mostraram a contaminação em toda extensão do rio Monjolinho por metais pesados em concentrações acima do CONAMA 357/05 para rios de classe dois (BARRETO, 1999; CAMPAGNA, 2005; PELATTI, 2004).

O Ribeirão do Feijão é formado pelos córregos na Fazenda Arizona no município de Analândia, pela união de dois córregos sem denominação própria, percorrendo 22 Km até o encontro com o Ribeirão do Lobo. Seus principais afluentes são os córregos das Antas, Laranja Azeda, Quebra Canela, Visconde do Rio Claro, das Cobras e do Lajeadozinho.

A sub-bacia é predominantemente rural, e em decorrência disto, parte da vegetação natural foi substituída por pastagens (intensiva e semi-intensiva) e agricultura de médio e pequeno porte. Seu uso preponderante é o abastecimento público, contribuindo diariamente com cerca de 21.700 m<sup>3</sup> de água para a cidade de São Carlos, o que representa aproximadamente 62% do valor médio tratado da Estação de Tratamento de água de São Carlos, além de outros usos significativos (dessedentação de animais e pesca) (SERVIÇO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO DE SÃO CARLOS, comunicação pessoal).

Análises realizadas na água do Ribeirão do Feijão pelo SAAE – São Carlos (dados não publicados) demonstraram a presença elevada dos metais cobre, prata, ferro, manganês e zinco na água e nos sedimentos coletados em cinco pontos amostrados, sendo estes pontos considerados impróprios para o abastecimento humano. Ainda, Pelaéz-Rodrigues (2001) constatou a presença de pesticidas organoclorados, HCBs e PCBs no Ribeirão do Feijão, bem como nos rios Monjolinho e Jacaré-Guaçu.

Há 10 anos havia um lixão próximo à área de nascente do Ribeirão Feijão. Neste contexto, Santos (1993) considerou a qualidade de água como aceitável a imprópria para o abastecimento humano, dependendo da época do ano, sendo que os fatores determinantes para estas conclusões foram: a baixa concentração de oxigênio dissolvido, a elevada concentração de coliformes fecais, de fosfato total e da turbidez. Recentemente, com o lixão já desativado há aproximadamente 10 anos, análises de água realizadas pela pesquisadora Isabela Pelatti (comunicação pessoal) comprovaram que a condição trófica do rio ainda está em desacordo com os critérios aceitáveis para esta finalidade.

É importante mencionar que existe quantidade considerável de áreas naturais de recarga do Aquífero Guarani, na bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu. Ressalta-se ainda que, nas bacias do conjunto Jacaré (Jacaré-Guaçu e Jacaré-Pepira) o Aquífero Guarani aflora em aproximadamente 4.300 Km<sup>2</sup>, o que corresponde a 2,21 % de toda a área de recarga direta do Aquífero na América do Sul (10% de 1.942.000 Km<sup>2</sup>) ao longo da totalidade do Paraná e de Chaco-Paraná (VIVES et al., 2001). Por ser a região de estudo uma área onde o aquífero é principalmente aflorante, sua importância aumenta sobretudo pela maior facilidade de exploração e pela maior vulnerabilidade natural de seu manancial subterrâneo.

Vários trabalhos já foram realizados tendo como objeto de estudo a bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu, no entanto, em sua maioria, contemplam apenas as sub-bacias de forma isolada. Abaixo estão listados os trabalhos enfatizando limnologia e ecotoxicologia, os quais datam de cerca de 40 anos:

- ★ Limnológico na represa do rio Monjolinho, na UFSCar (GUERESCHI, 1995).
- ★ Limnológico na bacia do rio Monjolinho (BARRETO, 1999; DAMASCENO et al., 1971; GARCIA, 1988; GOMES, 1981; PELLATI, 2004; POVINELLI, 1972; SANTOS, 1993).
- ★ Limnológico, Educação e Sócio-Econômico (SÉ, 1992).
- ★ Limnológicos e ecotoxicológicos na bacia (CAMPAGNA, 2005; CARVALHO, 1996; CARVALHO et al., (2000); DORNFELD, 2006; FRACÁCIO et al, 2000; FRACÁCIO, 2006; FISCHER, 1995; MENDES, 1998; NOVELLI, 2005; RIOS, 1993; SALAMI, 1996; SANTOS, 1993; SILVA, 2000; TEIXEIRA, 1993; VIANA, 2005).

#### **4. PERÍODOS DE AMOSTRAGEM E ESTAÇÕES DE COLETA**

As coletas foram realizadas trimestralmente durante 12 meses (abril/2007; julho/2007; outubro/2007 e janeiro/2008), englobando os períodos seco e chuvoso em quatorze pontos representativos nas principais sub-bacias do alto Jacaré-Guaçu, sendo três pontos localizados no Rio Monjolinho, quatro pontos localizados no Ribeirão do Feijão (e afluentes); cinco pontos localizados no Rio Jacaré-Guaçu (e afluentes); um ponto localizado no Ribeirão do Lobo e um ponto localizado no Rio Itaqueri (Figura 2), descritos na tabela 2.

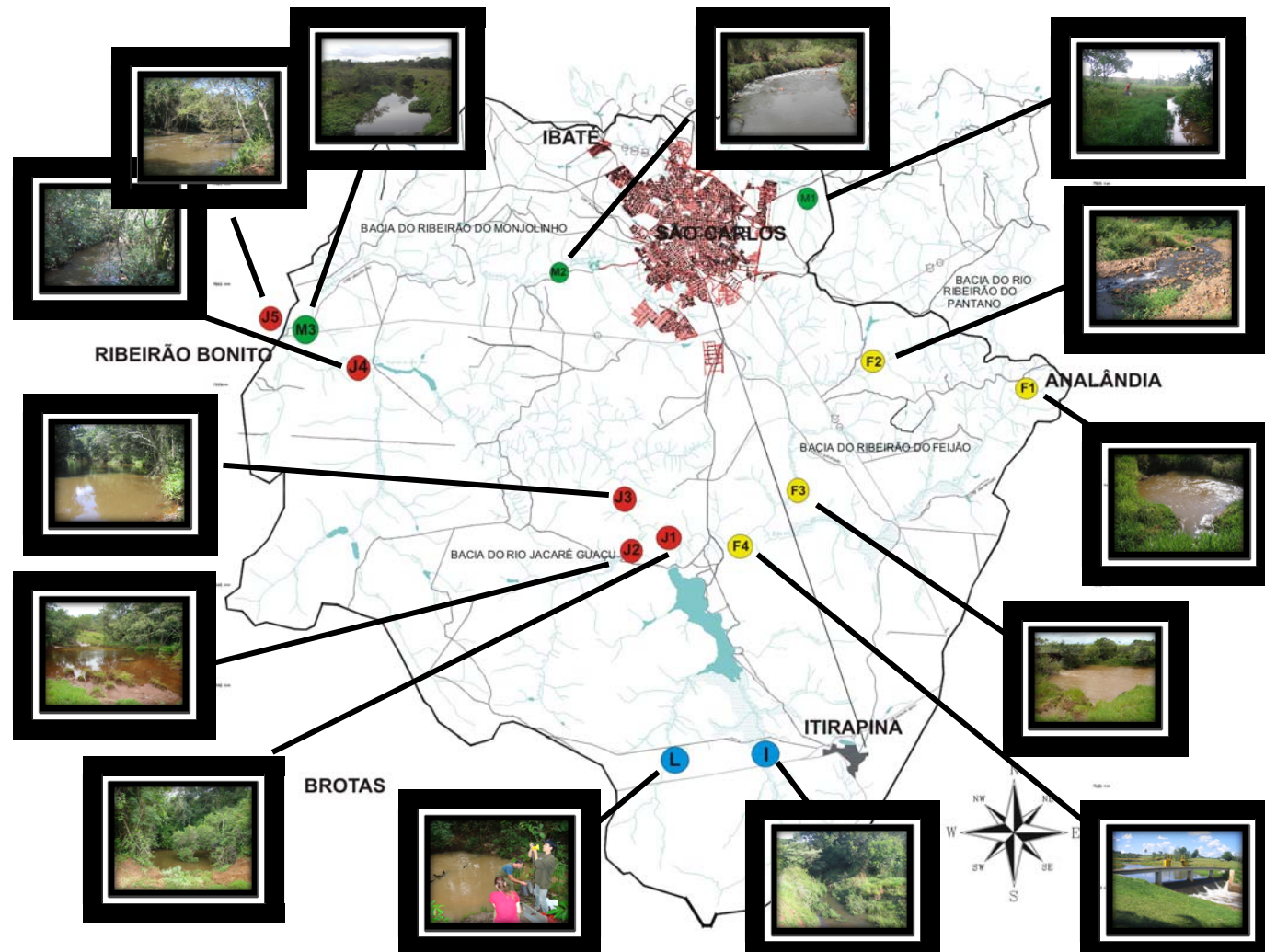
Estas estações de coleta foram escolhidas baseando-se em trabalhos anteriormente realizados em rios da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, quanto aos aspectos de qualidade de água e sedimento (BARRETO, 1999; CAMPAGNA, 2005; GUERESCHI, 1995; MARINELLI, et al. 2000; MENDES, 1998; PELÁEZ-RODRIGUES, 2000; SÉ, 1992), bem como em saída de campo preliminar. Segundo o Decreto 10.755 de 1977 (SÃO PAULO, 1977), os pontos de coleta do presente estudo podem ser enquadrados em três diferentes tipos de classes, segundo os usos preponderantes. Os pontos M2 e M3 estão enquadrados como rios de classe quatro, o ponto J5 é considerado de classe três e os demais são rios de classe dois.

Segundo o CONAMA 357/05 (BRASIL, 2005), os rios de classe dois são destinados ao abastecimento humano após tratamento convencional; proteção das comunidades; aquáticas; recreação de contato primário; irrigação de hortaliças; plantas frutíferas e de campos os quais o público possa ter contato direto, aqüicultura e atividades de pesca. Os usos dos rios de classe três são destinados ao abastecimento humano após tratamento convencional e avançado; irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; à pesca amadora; à recreação de contato secundário e à dessedentação de animais. Já os rios de classe 4 se destinam apenas à navegação e à harmonia paisagística.



**Tabela 2:** Características dos pontos de amostragem na bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu.

Pontos de amostragem	Características principais
<b>M1</b>	Trecho de cabeceira do rio Monjolinho, em uma área de mananciais e, aproximadamente, 3 Km de sua nascente principal. Localizado na Fazenda Santa Terezinha, caracterizado pelo predomínio de pastagens no entorno e pela ausência de vegetação nativa, com acelerado processo de erosão. Há um sistema de captação de água para cultivo de hortaliças a 200 m desta estação de amostragem. Presença de depósitos de entulhos e início do cultivo de cana-de-açúcar no entorno. Coordenadas geográficas: 22°00'32.7" S; 47°50'10.0" WO; Altitude: 850 m
<b>M2</b>	Trecho do rio Monjolinho, depois de receber os córregos Água Fria e Água Quente. Situa-se em área rural, apresentando cultivo de cana-de-açúcar no entorno (Usina da Serra). Recebeu até o final o estudo contribuição acentuada de esgotos da cidade de São Carlos, por meio, principalmente do córrego Água Quente. Em 2008 foi construída uma ETE, que entrou em operação em 2008. Coordenadas geográficas: 22°02'06" S; 47°57'23" WO; Altitude: 541 m
<b>M3</b>	Trecho final do rio Monjolinho antes da confluência com o rio Jacaré-Guaçu. Situado dentro da Fazenda Santana, com predomínio de pastagens. Coordenadas geográficas: 22° 03'32.7" S; 48°05'25.7" WO; Altitude: 540 m
<b>F1</b>	Trecho de cabeceira do Ribeirão do Feijão, aproximadamente 2km das nascentes, situado em área rural na cidade de Analândia, próximo às formações do Morro do Camelo, Pedra Vermelha e Cuscuzeiro. O entorno é caracterizado por pastagens e cultivo de cana-de-açúcar. Próximo ao antigo lixão. Coordenadas geográficas: 22°07'57.9" S; 47°41'52.1" WO; Altitude: 672 m
<b>F2</b>	Córrego São José (formador do Córrego laranja Azeda, afluente do Ribeirão do Feijão), na estrada dentro da Fazenda Itaguaçu, a montante do antigo lixão de São Carlos. Nas margens há abundante mata ciliar, com assentamento humano a aproximadamente 100 m do ponto de coleta. Coordenadas geográficas: 22°04'42.5" S; 47°47'59.4" WO; Altitude: 788 m
<b>F3</b>	Córrego Laranja Azeda, na Fazenda Yolanda. Caracterizado pelo predomínio de pastagens e cultivo de culturas temporárias. Coordenadas geográficas: 22°08'55.3" S; 47°51'29.5" WO; Altitude: 688m
<b>F4</b>	Ribeirão do Feijão, a montante da captação do SAAE. Entorno caracterizado por pastagens e recente cultivo de cana-de-açúcar. Coordenadas geográficas: 22°09'07.2" S; 47°53'09.6" WO; Altitude: 669m
<b>L</b>	Ribeirão do Lobo, principal formador da represa do Lobo (Broa) e do rio Jacaré-Guaçu, ao lado da rodovia liga Analândia a Itirapina e Brotas. Apresenta mata ciliar característica, sendo o entorno predominado por pastagens e cultivo de laranja. Coordenadas geográficas: 22°15'54.9" S; 47°54'45.1" WO; Altitude: 743m
<b>I</b>	Rio Itaqueri, formador da represa do Lobo (Broa), ao lado da rodovia que liga Analândia a Itirapina e Brotas, a montante do lançamento de esgotos do residio de Itirapina. Trecho próximo ao ponto amostrado no Ribeirão do Lobo, com as mesmas características de entorno. Coordenadas geográficas: 22°15'29.9" S; 47°51'53.5" WO; Altitude: 716m
<b>J1</b>	Rio Jacaré-Guaçu, dentro da Fazenda Bela Vista do Salto, logo após o Ribeirão do Lobo receber o Ribeirão do Feijão (onde já passa a ter o nome de Rio Jacaré-Guaçu). Apresenta mata ciliar bastante preservada, com pastagens no entorno e assentamento humano. Coordenadas geográficas: 22°09'06.4" S; 47°54'36.3" WO; Altitude: 632m
<b>J2</b>	Ribeirão do Onça, afluente do Rio Jacaré-Guaçu, dentro da Fazenda Bela Vista do Salto. Predomínio de pastagens e assentamento humano. Coordenadas geográficas: 22°09'12.3" S; 47°55'10.4" WO; Altitude: 627m
<b>J3</b>	Rio Jacaré-Guaçu, após receber o Ribeirão do Onça, dentro da Usina Santa Maria. Mata ciliar preservada e predomínio do cultivo de cana-de-açúcar. Coordenadas geográficas: 22°08'24.5" S; 47°55'42.2" WO; Altitude: 656m
<b>J4</b>	Rio Jacaré-Guaçu, dentro da Usina Santana, a montante da captação de água para uso da Usina. Trecho apresentando mata ciliar abundante, e cultivo de cana-de-açúcar no entorno. Coordenadas geográficas: 22°05'06.6" S; 48°02'41.7" WO; Altitude: 662m
<b>J5</b>	Rio Jacaré-Guaçu aproximadamente 300 m depois de receber o Rio Monjolinho, dentro da fazenda Santana. Presença de pastagens e assentamento humano. Coordenadas geográficas: 22°03'28.1" S; 48°05'45.9" WO; Altitude: 527m



**Figura 2:** Localização dos pontos de coleta na bacia hidrográfica do alto Jacaré-Guaçu. Fonte: modificado do SAAE (São Carlos-SP).

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, W. J. Aquatic Toxicology Testing Methods. In: HOFFMAN, D. J. et. al. *Handbook of ecotoxicology*. Boca Raton, Lewis Publishers, 1995. p. 25-46.
- BARRETO, A.S. Estudo da distribuição de metais em ambiente lótico, com ênfase na assimilação da das comunidades biológicas e a sua quantificação no sedimento e água. 1999. 274 p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.
- BATALHA, B.H.L. Ameaça na Água. *Ciência Hoje*, v.25, n. 145. p. 28-34, 1998.
- BAUDO, R., MUNTAU, H. Lesser Know in-place pollutants and diffuse source problems. In: BAUDO, R., GIESY, J.P., MUNTAU, H. *Sediments: chemistry and toxicity of in-place pollutants*. Boca Raton, Lewis Publishers, INC, 1990. p.1-14.
- BERTOLETTI, E. Estimativa de efeitos tóxicos crônicos com *Danio rerio* (Pisces, Cyprinidae). 2000. 118p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 118 p.
- BILLEN, G.; GARNIER, J.; HANSET, P. Modelling phytoplankton development in whole drainage networks: the Riverstrahler Model applied to the Siene river system. *Hydrobiol.*, v. 289, p. 119-137, 1994.
- BOON, P. J. Essential elements in the case for the river conservation. In: BOON, P.; CALOW, J.; PETTS, G. E. *River conservation and management*. John Wiley & Sons, 1992. p. 11-36.
- BRANCO, S.M. Água, meio ambiente e saúde. IN: REBOUÇAS, A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. *Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação*. São Paulo, Editora Escrituras, 1999. p. 227-247.
- BRASIL. Departamento Nacional de Águas e Energia/ Escola de Engenharia de São Carlos (DNAEE/EESC). Bacia experimental do rio Jacaré-Guaçu. Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada CRHEA/ EESC/USP. 1980, 113p.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. 2005, 23p.
- CAIRNS Jr, J. Estimazing hazard. *Bioscience*, v. 30, n.2, p. 101-107, 1980.
- CAMPAGNA, A.F. (2005). Toxicidade dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho (São Carlos – SP): ênfase nas substâncias cobre, aldrin e heptacloro. 2005. 268p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.
- CHAPMAN, D. Water quality assessments: a guide to use of biota, sediments and water in environment monitoring. 2.ed. London: Chapman and Hall, 1992. 609p.
- CÔRTEZ, M.R. et al. Uso e ocupação da terra na área urbana. In: ESPÍNDOLA, E.L.G; SILVA, J.S.V; MARINELLI, C.E; ABDON, M.M. *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*, São Carlos, Editora Rima, 2000. p 114-132.
- CRISCUOLO, C; VASCONCELOS, C.H; SILVA, J.S.V. Uso e Ocupação da terra em 1965 e 1968. In: ESPÍNDOLA, E.L.G; SILVA, J.S.V; MARINELLI, C.E; ABDON, M.M. *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*, São Carlos, Editora Rima, 2000. p 104-113.
- FERRANTE, J.T.E. (1989). Mapeamento geotécnico regional da bacia do Alto jacaré-Guaçu - São Paulo, com base nas aplicações de técnicas de sensoriamento remoto e sistema geográfico de informação. Proposta metodológica. 1989. 183p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1989.

FISCHER, E.G. (1995). Determinação do grau de contaminação do Ribeirão do Feijão através de levantamento de dados e modelo matemático de qualidade da água, SP. 1995. 136p. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.

GIESY, J.P.; HOKE, R.A. Freshwater sediment toxicity bioassessment: rationale for species selection and test design. *J. Great. Lakes Res.*, v.15, n.4, p. 539-569,1989.

GUERESCHI, R.M., (1995). Monitoramento biológico da bacia hidrográfica do rio Monjolinho pelo uso de invertebrados bentônicos. 1995. 43p. Monografia (Graduação) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos,1995.

GUTHRIE, F.F.; PERRY, J.J. Introduction to environmental toxicology. North Holland: Elsevier, Blackwell, Oxford.1980.

JACKSON, J. Metais pesados e outras substâncias tóxicas inorgânicas. In: MATSUI, S.; BARRETT, B.F.D.; BANERJEE, J. *Diretrizes para o gerenciamento de lagos vol.4: gerenciamento de substâncias tóxicas em lagos e reservatórios*. São Carlos, Instituto Internacional de Ecologia, 2002. p. 71-88.

JURACEK, E.K.; MAU, D.P. Metals, trace elements, and organochlorine compounds in bottom sediment of Tuttle creek Lake, Kansas, USA. *Hydrobiol.*, v. 494, p. 277-282, 2003.

LACERDA, L.D. Trace metals biogeochemistry and diffuse pollution in mangrove ecosystems. *ISME Mangrove Ecosystems Occasional papers n°2*. 65p.1998.

LIU, W. et al. The application of preliminary sediment quality criteria to metal contamination in the Le An River. *Environ. Pollut.*, v.105, p. 335-366, 1999.

MARINELLI, C.E. et al. Limnologia. In: ESPÍNDOLA, E.L.G; SILVA, J.S.V; MARINELLI, C.E; ABDON, M.M. *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*, São Carlos, Editora Rima, 2000. p. 133-149.

MENDES, A.J.S. Avaliação dos impactos sobre a comunidade macrozoobentônica, no córrego do Monjolinho (São Carlos, SP). 1998. 106p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.

OCHIAI, E. I. Toxicity of heavy metals and biological defense. Principles and Applications in bioinorganic chemistry – VII. *Journal of Chemical Education*, v.72, n.6, p. 479-483, 1995.

PELAÉZ-RODRIGUES, M. Avaliação da qualidade da água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu / SP (Ribeirão do Feijão e Rio do Monjolinho) através de variáveis físicas, químicas e biológicas. 2001. 145p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

PELATTI, I. Impacto do desenvolvimento urbano da cidade de São Carlos (SP) sobre o Rio Monjolinho e avaliação de sua condição desde as nascentes até a captação do Espriado. 2004. 212p.. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 212 p. 2004.

RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. (1985). Fundamentals of aquatic toxicology: methods and application. 1.ed. London, Hemisphere Publishing Corporation, 1985. 666p.

REBOUÇAS, A.C. Água Doce no Mundo e no Brasil. In: REBOUÇAS, A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. *Águas Doces no Brasil: Capital Ecológico, Uso e Conservação*. São Paulo, Ed. Escrituras, 1999. p. 12-21.

SALOMONS, W. ROOIJ, N.M. de, KERDIJK, H., BRIL, J. Sediments as a source for contaminants? *Hydrobiol.*, v.149, p. 13-30. 1987.

SANTOS, M.F. dos. Subsídios para o planejamento conservacionista a bacia hidrográfica do Ribeirão do Feijão (São Carlos, Itirapina e Analândia, SP). 1993. 222p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.

SÃO PAULO. Decreto n.10755, de 22 de novembro de 1977. Dispõe sobre o enquadramento dos corpos d'água na classificação prevista no Decreto n. 8468, de 8 de setembro de 1976, e dá providência correlatas. Sistema estadual de análise de dados, São Paulo, 1998.

SÃO PAULO. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB). Relatório de águas interiores no Estado de São Paulo. São Paulo, 2005. 488p.

SÉ, J.A. S. O rio Monjolinho e sua bacia hidrográfica como integradores de sistemas ecológicos: um conjunto de informações para o início de um processo de pesquisas ecológicas, de educação e gerenciamento ambientais a longo prazo. 1992. 381p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1992.

SILVA, A.C; BATTISTELLE, R.A.G; CABRAL, N.R.A.J. Clima. In: ESPÍNDOLA, E.L.G; SILVA, J.S.V; MARINELLI, C.E; ABDON, M.M. *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*, São Carlos, Editora Rima, 2000. p. 60-76.

SILVA, C.A.; PEDROZO, M.F.M. Ecotoxicologia do cromo e seus compostos. Caderno de referência ambiental, v.5., Salvador, Bahia, 2001, 99p.

SOARES, H.M.V.M. et al. Sediments as monitors of heavy metal contamination in the Ave River Basin (Portugal): Multivariate analysis of data. *Environ. Pollut.*, v.105, p. 311-323, 1999.

STRAKSRABA, M. Vltava cascade as teaching grounds for reservoir limnology. *Wat. Sci. Tech.*, v.30, n.10, p. 289-297, 1994.

SUNDA, W.G.; HUNTSMAN, S.A. Process regulating cellular metal accumulation and physiological effects: Phytoplankton as model systems. *The Science of the total Environment*, v.219, p.165-181, 1998.

TAM, N.F.Y.; WONG, Y.S. Spatial and temporal variations of heavy metal contamination in mangrove swamp in Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin.*, v.31, n.4/12, p. 154-261, 1995.

TAVARES, T.M.; CARVALHO, F.M. Avaliação da exposição de populações humanas e metais pesados no ambiente: exemplos do recôncavo baiano. *Química Nova*, v.15, n.2, p. 147-155, 1992.

TUNDISI, J.G. Limnologia de represas artificiais. *Boletim de hidráulica e saneamento*. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, v.11, 46p, 1986.

TUNDISI, J.G. Reservoir as complex systems. *Ciênc. Cult.*, v.48, n.5/6, p. 383-387, 1996.

KENYA. United Nations Environment Programme (UNEP). *Water quality of world river basins*. Nairobi, Earthwatch Environment Library, 1995.

VIVES, L., CAMPOS, H., CANDELA, L., GUARRACINO, L. Modelación del acuífero Guarani. *Bol. Geológico y Mineroi*, v. 112, p. 51 – 64, 2001.

WARD, J.V. The four dimensional nature of lotic ecosystems. *J.N. Am. Benthol. Soc.*, v.8, n.1, p. 2-8, 1989.

# Capítulo 2

## *Caracterização limnológica da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu.*

---

### 1. INTRODUÇÃO

Os rios são os canais de drenagem de uma bacia hidrográfica e, como consequência disto, sofrem influências da topografia, clima, hidrologia, vegetação, morfometria, além das atividades antrópicas instaladas no seu entorno (REBOUÇAS, 1999). Neste sentido, os rios são sempre receptores de descartes de substâncias químicas em seu curso normal, e algumas destas substâncias são de uso doméstico (como surfactantes), introduzidas nos ecossistemas aquáticos pelos próprios sistemas públicos de coleta ou tratamento de esgotos (GILLESPIE et al., 1998). Além disto, os recursos hídricos recebem os despejos de esgotos industriais que podem possuir grande quantidade de metais pesados e compostos orgânicos sintéticos dos efluentes agrícolas que podem atingir os corpos de água de superfície (carreamento de solo tratado com fertilizantes e agrotóxicos) ou subterrâneo (percolação da substância química para o lençol freático) (BILLEN et al., 1994).

No Brasil existe grande disponibilidade hídrica, porém distribuída desigualmente em relação à densidade populacional. Sob o aspecto de qualidade de água, o Brasil não possui um quadro muito favorável, apresentando nas regiões mais densamente povoadas e industrializadas, sérios panoramas de degradação e comprometimento da qualidade, decorrentes da expansão urbana e industrial acelerada e desordenada iniciadas na década de 50 (REBOUÇAS, 1999).

Os padrões de qualidade referem-se a certo número de parâmetros capazes de refletir, direta ou indiretamente, a presença efetiva ou potencial de algumas substâncias ou microrganismos que possam comprometer essa qualidade para determinados usos. Naturalmente, em função da preocupação humana em preservar sua espécie, o uso destinado ao consumo humano tem merecido maior atenção. Em decorrência disto, muitas são as interpretações errôneas a respeito da qualidade da água, pois muitas vezes a água considerada apropriada para o consumo humano é, também, considerada adequada para a proteção de comunidades aquáticas (BERTOLETTI, 2000).

Avaliar a qualidade da água de sistemas lóticos não é um trabalho fácil, uma vez que os rios apresentam alto grau de variabilidade espacial e temporal de suas características. Deste modo, caracterizar ecologicamente um rio requer considerar as variações espaciais e temporais de suas comunidades bióticas, direcionadas especialmente pelo fluxo direcional de água e pelos processos climatológicos, geológicos, morfométricos, geomorfológicos, hidráulicos, químicos, físicos e biológicos em geral, que ocorrem em escalas de tempo e

espaço bastante diferenciadas, podendo ainda, variar entre diferentes bacias e regiões, conforme o grau de interferência antrópica (SÉ, 1992).

Estudos têm sido conduzidos a fim de identificar os elementos impactantes na qualidade da água, bem como a sua quantificação. Neste sentido, avaliações físicas, químicas, biológicas e ecotoxicológicas em campo e em laboratório têm sido realizadas e, mesmo que estas avaliações ainda apresentem certo grau de restrição, é a partir destes resultados que alguns elementos impactantes são diagnosticados de forma isolada ou conjunta em sistemas experimentais (DORNFELD, 2006).

Dentre as substâncias químicas estressantes que podem contaminar um ecossistema aquático podemos citar os metais, que por apresentarem elevada persistência no ambiente, bioacumulação e biomagnificação na cadeia trófica (BAIRD, 2002), podem atuar provocando alterações nas interações entre os parâmetros físicos, químicos e biológicos de um determinado ecossistema e causar sérios efeitos tóxicos para a biota.

Alguns metais são elementos naturais fundamentais em pequenas quantidades aos organismos vivos (elementos-traço), mas quando em excesso apresentam toxicidade (SORENSEN, 1991). Eles atingem os corpos de águas por meio de processos físicos e químicos naturais como o intemperismo ou a lixiviação de solos e rochas, responsáveis por uma concentração natural nas águas doces (JACKSON, 2002) ou pelos despejos industriais, agrícolas e de mineração, acarretando um potencial tóxico à biota aquática e a saúde humana (SUNDA; HUNTSMAN, 1998).

Segundo Sorensen (1991), os metais apresentam cargas iônicas, o que lhes propicia uma capacidade de se ligar com os sistemas biológicos de forma complexa, prejudicando a capacidade de funcionamento dos mesmos. Dependendo da concentração do íon metálico e do tempo de exposição aos organismos, os efeitos podem ser: agudos, expressos pela letalidade ou crônicos como alterações morfológicas, bioquímicas e histológicas, comprometendo a reprodução, funcionamento de órgãos vitais e conseqüentemente a viabilidade de espécies. Além disso, em decorrência da propriedade de bioacumulação dos metais, os animais de topo de cadeia alimentar, como os peixes, podem acumular estes compostos que, em última análise irão refletir na saúde humana (HEATH, 1995).

Na água, os metais podem não interagir diretamente com a biota, mas ligar-se ao material particulado que irá precipitar e depositar no compartimento sedimento, prejudicando a fauna local, os animais omnívoros e iliófagos. Sob condições ambientais específicas, podem novamente se disponibilizarem para a coluna d'água, atingindo diretamente os organismos planctônicos e nectônicos. Assim, os sedimentos podem agir tanto como fonte quanto como depósito de contaminação dentro dos corpos d'água (FORSTNER, 1990).

## 2. OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo avaliar as características físicas, químicas, biológicas e bacteriológicas de amostras de água e sedimentos coletadas em pontos distribuídos na bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu com ênfase na concentração de metais (Fe, Mn, Cu, Zn, Cd, Cr).

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1. Vazão

A velocidade de corrente foi medida com um molinete, em sua maioria, em 20 e 80% da profundidade de cada estação de coleta.

### 3.2. Análise física, química e biológica da água.

As amostras de água foram coletadas com auxílio de garrafa de Van Dorn, sendo posteriormente acondicionadas e preservadas até o momento da análise, seguindo as metodologias específicas para cada procedimento (Tabela 1).

**Tabela 1:** Variáveis utilizadas na avaliação da qualidade água, metodologia e referências.

Variáveis	Símbolo	Unidade	Metodologia	Referência
Temperatura	T	° C	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
pH	pH	-	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Condutividade elétrica	Cond	µS/cm	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Oxigênio dissolvido	OD	mg/L	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Sólidos totais dissolvidos	TDS	g/L	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Potencial de óxido-redução	ORP	mV	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Turbidez	Turb.	FTU	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Material em suspensão	MST	mg/L	Gravimetria em filtros GF/C Millipore (45 µm)	Teixeira et al. (1965)
Nitrito e nitrato	NO <sub>2</sub> -N NO <sub>3</sub> -N	µg/L	Espectrofotometria	Machereth et al.(1978)
Íon amônio	NH <sub>4</sub> -N	µg/L	Espectrofotometria	Koroleff (1976)
Nitrogênio orgânico total	NT	mg/L	Espectrofotometria	APHA (1995)
Fósforo total e dissolvido; fosfato inorgânico	PT PTD PID	µg/L	Espectrofotometria	APHA (1995)
Silicato	SiO <sub>2</sub>	mg/L	Espectrofotometria	Golterman (1978)
Clorofila a	Chl	µg/L	Espectrofotometria	Nush (1980)
Coliformes	Colif.	NMP	Colorimétrico (Collilert)	APHA (1995)
Sulfeto, sulfato e cloreto	-	mg/L	Espectrofotometria (Kit-Hach)	APHA (1995)

#### 3.2.1. Metais

As amostras de água coletadas para análise de metais foram acondicionadas em garrafas plásticas com capacidade para um litro e preservadas em campo com 1,5 mL de



ácido nítrico concentrado. A quantificação dos metais totais presentes na água foi realizada segundo metodologia descrita em AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA (1995).

Em laboratório, durante o processo de concentração foi adicionado um volume de 5,0 mL de ácido nítrico concentrado para cada 100 mL amostra. Este material foi digerido em placa aquecedora (cerca de 80°C), até o volume ser reduzido para 50 mL. O material concentrado foi transferido para balões volumétricos e o volume foi completado para 100 mL com água ultrapura. A leitura dos metais totais foi realizada em Espectrofotômetro de Absorção Atômica por chama e forno de grafite (modelo SpectrAA 220, Varian), sendo os resultados expressos em mg/L de metais na água.

### 3.3. Análise física e química do sedimento.

As amostras de sedimento para as análises físicas e químicas foram obtidas com o auxílio de uma draga do tipo Eckman-Birge, com três dragagens por ponto, sendo imediatamente homogeneizadas. Uma alíquota permaneceu em temperatura ambiente para secagem e posterior análises conforme apresentado na tabela 2. A segunda alíquota foi preservada a 4°C para a realização dos bioensaios de toxicidade.

**Tabela 2:** Metodologia de análise dos principais parâmetros de qualidade de sedimento a serem considerados no presente estudo.

Variável (unidade)	Metodologia	Referência
Matéria orgânica (%)	Incineração	Trindade (1980)
Granulometria (%)	Peneiramento e densímetro	ABNT (1968)
Fósforo total (µg/g)	Espectrofotometria	Andersen (1976)
Nitrogênio orgânico total (%)	KJELDHAL	APHA (1995)
Metais (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn e Zn)	Espectrofotometria (Absorção Atômica por Chama)	Descrita em Silvério (1995)

#### 3.3.1.. Metais biodisponíveis

Para a quantificação dos metais potencialmente biodisponíveis no sedimento foi utilizada a metodologia descrita em Silvério (1999). O volume de 1,0 g de sedimento finamente pulverizado em almofariz foi transferido para um erlenmeyer, adicionando-se 25 mL de ácido clorídrico 0,1 N. Esta mistura foi mentida em mesa agitadora a 200 rpm por 2 horas. Posteriormente, a suspensão foi filtrada e a amostra foi lida em Espectrofotômetro de Absorção Atômica por chama e forno de grafite (modelo SpectrAA 220, Varian). Os resultados obtidos foram expressos em mg/Kg de metais em sedimento seco.

### 3.4. Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se os dados dos quatro períodos de amostragem (abril/07; julho/07; outubro/07; janeiro/08). Esta análise permitiu verificar a

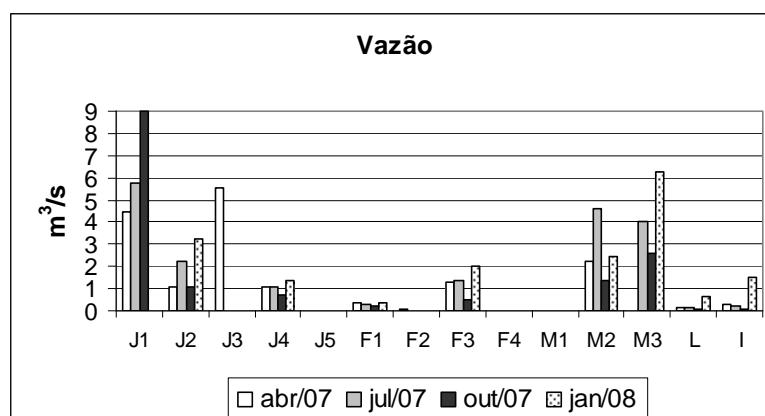
influência das variáveis ambientais sobre determinados pontos ou grupos de pontos de coleta, por meio da análise de discriminantes. A análise foi baseada na matriz de covariância das variáveis transformadas em distância de Mahalanobis, possibilitando a observação gráfica da distância entre os grupos e entre os indivíduos dentro dos respectivos grupos. Para tanto, foi utilizado o software Xistat Addin, versão 5.2 (LEGENDRE; LEGENDRE, 1983).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Variáveis hidrológicas

#### 4.1.1. Vazão

Na maioria dos pontos da bacia, a vazão na época chuvosa (janeiro/2008) foi maior que nas demais campanhas. Em determinados pontos a vazão não pode ser realizada em decorrência de alguns imprevistos, como: i) o aumento da vazão em determinadas épocas (J1 em janeiro/2008) e ii) dificuldade de acesso (M1, J3 e J5) (Figura 1).

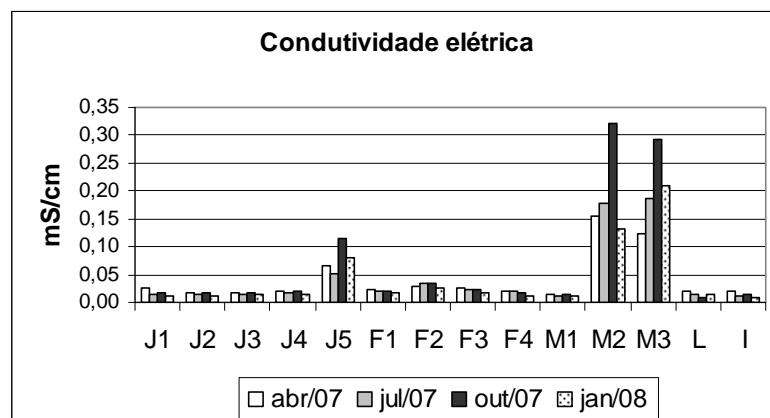


**Figura 1:** Variação da vazão ( $m^3/s$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### 4.2. Variáveis Limnológicas

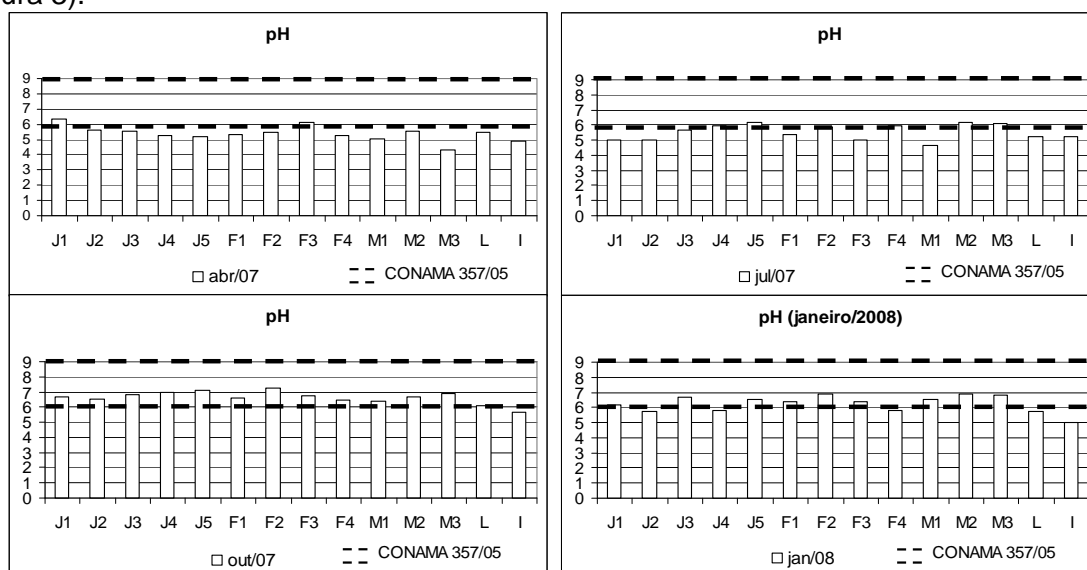
#### 4.2.1. Condutividade elétrica e pH

Os pontos que apresentaram os maiores valores de condutividade no sistema foram J5 (de 0,051 a 0,116 mS/cm), M2 (0,132 a 0,321 mS/cm) e M3 (0,124 a 0,293 mS/cm) (Figura 2). Os valores detectados em outubro de 2007 foram mais elevados.



**Figura 2:** Variação da condutividade elétrica (mS/cm) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

Os valores de pH não apresentaram grandes variações sazonal e espacial, estando os valores mais baixos em abril/2007 e julho/2007, e mais elevados em outubro/2007 e janeiro/2008. Os valores mais baixos estiveram, em sua maioria, abaixo da faixa estabelecida pelo CONAMA 357/05 para rios de classe dois, três e quatro (entre 6 e 9) (Figura 3).

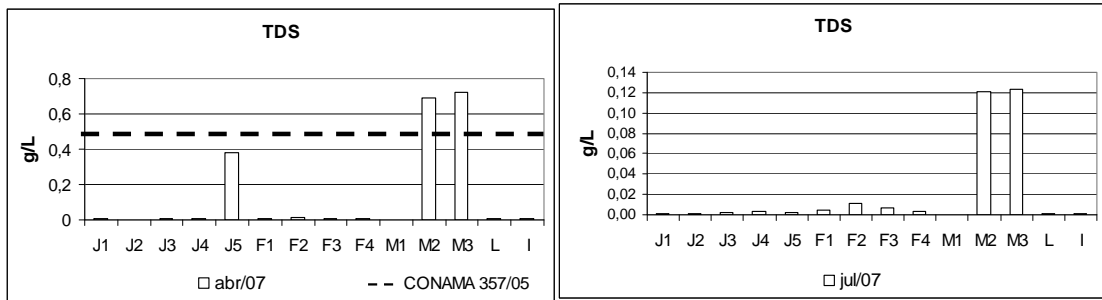


**Figura 3:** Variação do pH nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.2.2. Sólidos totais dissolvidos e potencial de oxido-redução.

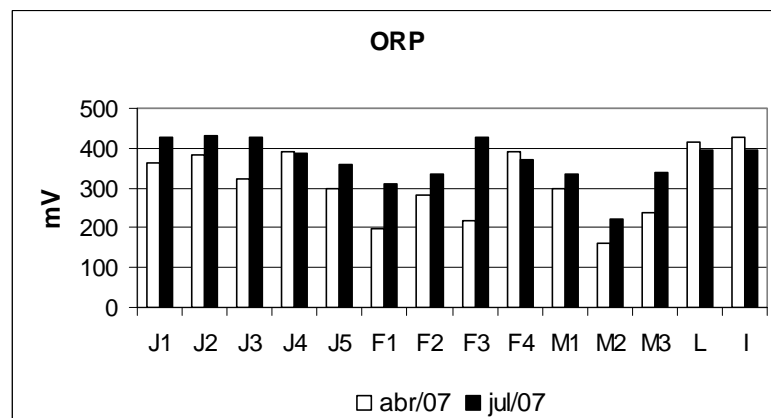
As concentrações de sólidos totais dissolvidos (TDS) e o potencial de óxido-redução foram determinados apenas nas duas primeiras coletas (abril e julho/2007). Nas campanhas seguintes houve a troca do aparelho utilizado em campo, o que não permitiu a determinação da concentração destas variáveis. Os valores de TDS estiveram mais elevados em abril de 2007 em J5 (0,380 g/L), M2 (0,693 g/L) e M3 (0,720 g/L), estando todos os valores abaixo

de 0,5 g/L, valor estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe dois e três (Figura 4).



**Figura 4:** Variação da concentração de sólidos totais dissolvidos (TDS) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em abril e julho de 2007.

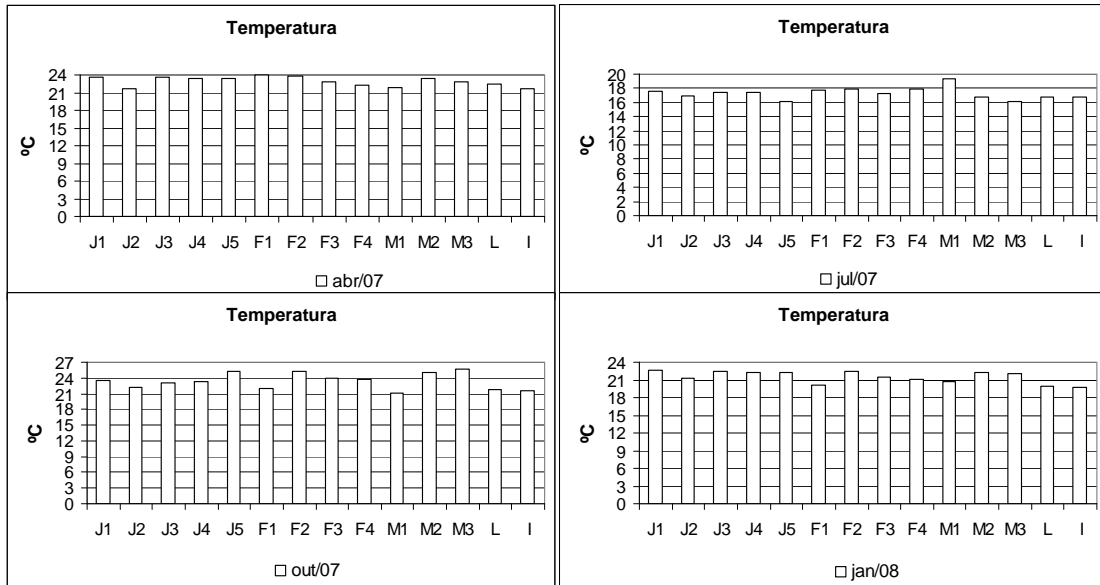
Os menores valores de potencial de óxido-redução (ORP) foram encontrados em M2, (160 e 223 mV em abril e julho de 2007, respectivamente) enquanto os maiores valores foram registrados em J2 (382 e 430 mV em abril e julho de 2007, respectivamente). Foi verificada uma tendência à diminuição nos valores de J1 em direção ao J5 (Figura 5).



**Figura 5:** Variação do potencial e óxido-redução (ORP) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em abril e julho de 2007.

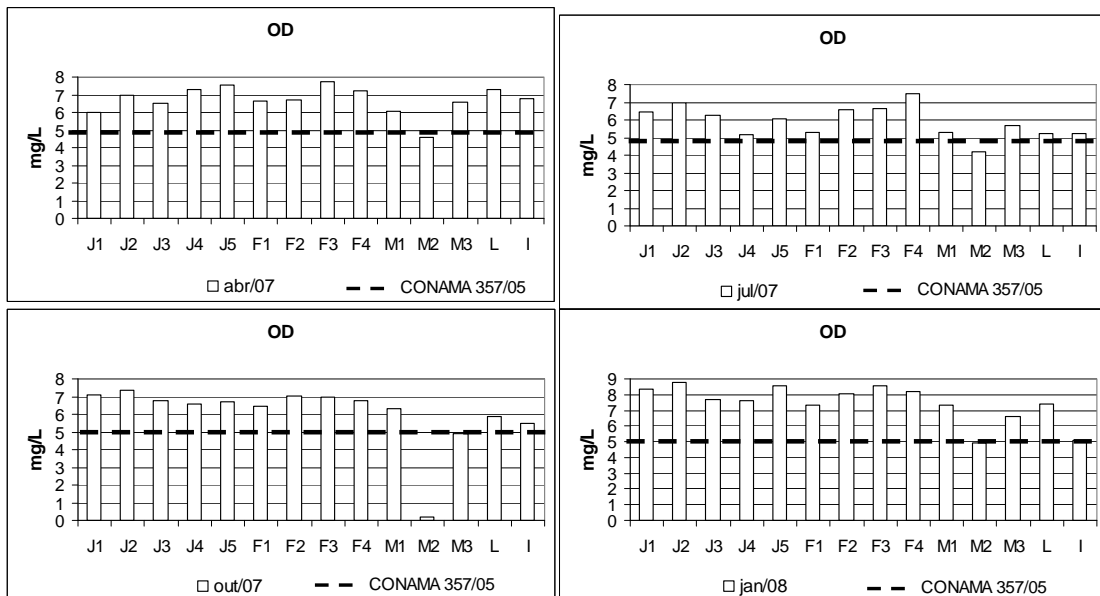
#### 4.2.3. Temperatura e oxigênio dissolvido

Os valores de temperaturas não apresentaram variação espacial definida, no entanto, sazonalmente foram verificadas grandes diferenças. Os valores mais baixos de temperatura foram encontrados em julho/2007, sendo a mínima de 16,1°C em J5 e a maior temperatura dessa época 19,4°C, e em abril/2007 e outubro/2007 foram verificadas as temperaturas mais elevadas, variando de 21,1°C em M1 a 25,6°C em M3. (Figura 6).



**Figura 6:** Variação da temperatura (°C) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

A concentração de OD apresentou variações espaciais e sazonais, com valores mais elevados em janeiro/2008 e valores mais baixos em abril/2007 e julho/2007. Os menores valores de concentração de OD foram encontrados em M2 em todas as campanhas, sendo verificado em outubro/07, 0,19 mg/L, abaixo de 2,0 mg/L, valor estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe quatro (Figura 7).



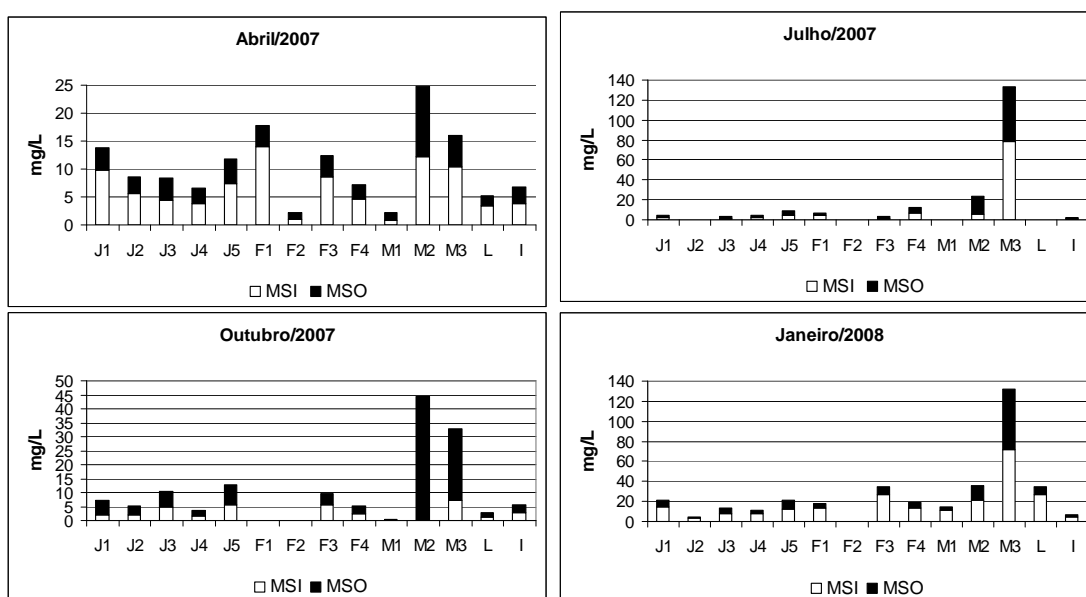
**Figura 7:** Variação da concentração de OD nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.2.4. Material em suspensão

As concentrações de MST, MSO e MSI mais elevadas foram verificadas nos pontos M2 e M3 durante todo o período de estudo. As épocas em que estes pontos apresentaram os maiores valores, em relação ao MST, foram em M3 em julho/2007 (133,27 mg/L) e janeiro/2008 (132,10 mg/L) e M2 em outubro de 2007 (44,40 mg/L) e janeiro de 2008 (36,10 mg/L). Os valores mais baixos foram detectados em F2, variando de 0 a 2,20 mg/L. De maneira geral, os valores estiveram mais elevados em janeiro de 2008 (Figura 8)

Quanto ao MSI foram verificadas concentrações maiores em janeiro/2008, principalmente em F3 (26,65 mg/L), M2 (21,47 mg/L), M3 (71,15 mg/L) e L (26,80 mg/L). Em M3, esta concentração atingiu 77,97 mg/L em julho/2007. Os valores mais baixos foram verificados em F2 (0 a 0,92 mg/L). (Figura 8).

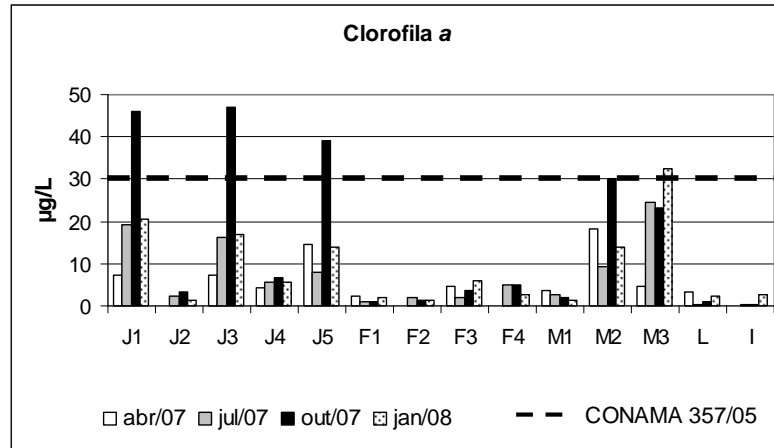
Em relação ao MSO, os valores mais elevados foram verificados em M3 em julho/2007 (55,30 mg/L) e janeiro/2008 (60,0 mg/L). Em outubro/2007, esta concentração foi muito elevada em M2 em relação aos demais pontos (48,30 mg/L). Os menores valores foram detectados em F2 em todas as épocas (0 a 1,29 mg/L) (Figura 8).



**Figura 8:** Variação espacial e sazonal da concentração de MST (MSO e MSI) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu.

#### 4.2.5. Clorofila a total

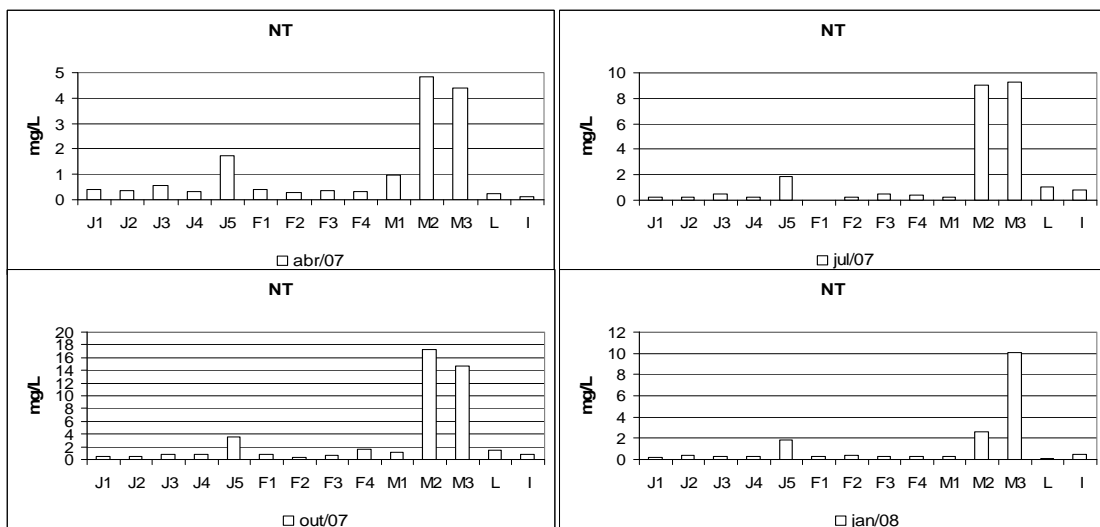
As maiores concentrações de clorofila a foram detectadas em outubro/2007 nos pontos J1 (46,04 µg/L), J3 (46,97 µg/L), J5 (39,06 µg/L) e M2 (29,99 µg/L). Em janeiro/2008 o ponto M3 apresentou a maior concentração de clorofila a, 32,55 µg/L. Os valores observados em J1 e J3 estiveram acima do limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe dois (30,0 µg/L), no entanto, em J5 este valor esteve abaixo da concentração estabelecida para rios de classe três (60,0 µg/L) (Figura 9).



**Figura 9:** Variação na concentração de clorofila a (µg/L) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

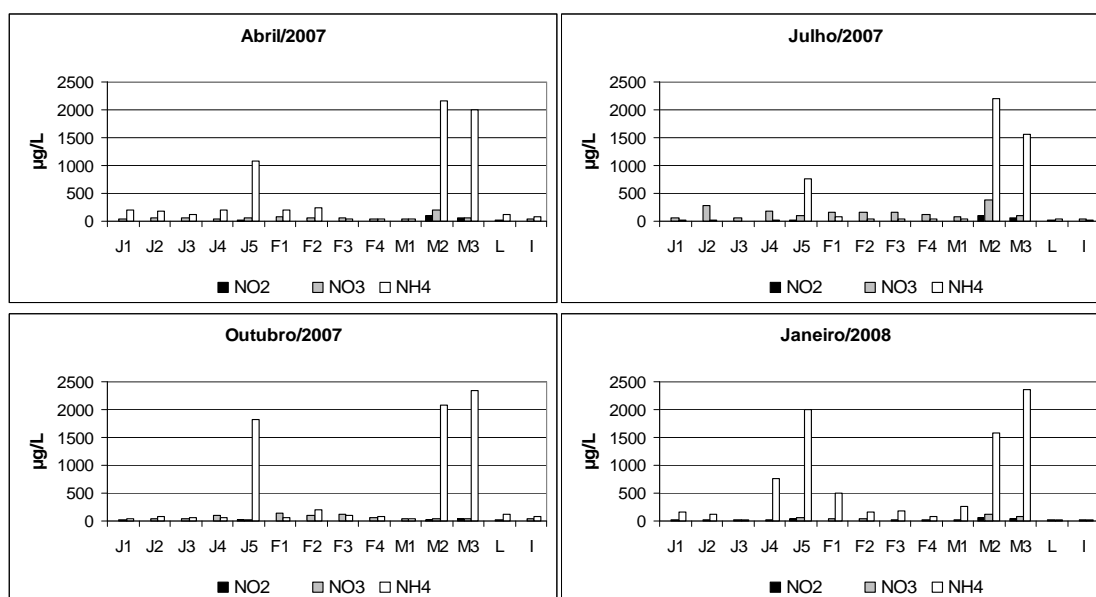
#### 4.2.6. Compostos Nitrogenados

As concentrações mais elevadas de NT foram verificadas em outubro/2007 nos pontos J5 (3,50 mg/L), F4 (1,68 mg/L), M2 (17,22 mg/L) e M3 (14,70 mg/L). Durante todo o período de estudo, os pontos que apresentaram as maiores concentrações foram J5 (1,73 a 3,50 mg/L), M2 (2,61 a 17,22 mg/L) e M3 (4,39 a 14,70 mg/L) (Figura 10).



**Figura 10:** Variação na concentração de NT nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

Assim como o NT, as maiores concentrações de íon amônio foram registradas em J5 (767,9 a 2007,20  $\mu\text{g/L}$ ), M2 (1577,30 a 2204,40  $\mu\text{g/L}$ ) e M3 (1551,00 a 2365,90  $\mu\text{g/L}$ ). Esta situação também pode ser verificada para o nitrito (J5 -18,96 a 43,09  $\mu\text{g/L}$ ; M2 -11,03 a 19,37  $\mu\text{g/L}$ ; M3 - 36,97 a 67,77  $\mu\text{g/L}$ ). Todos os valores de nitrito estiveram abaixo de 1,0 mg/L, estabelecido para rios de classe dois pelo CONAMA 357/05. Quanto ao íon amônio, os valores mais elevados foram detectados em abril/2007 e janeiro/2008. Já para o nitrato, os valores foram mais elevados em julho/2007 (Figura 11).

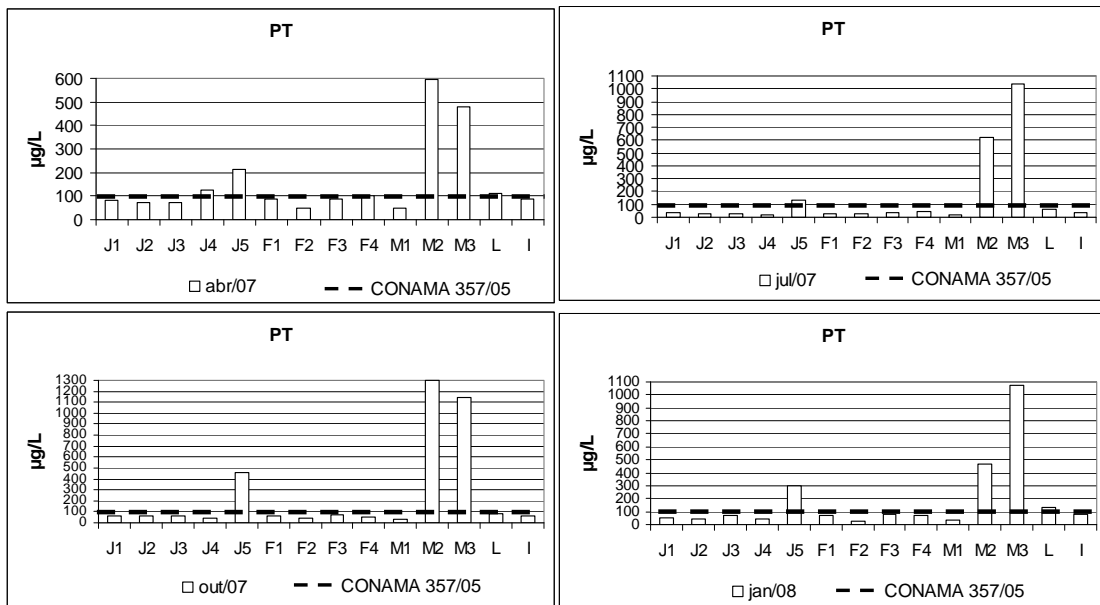


**Figura 11:** Variação na concentração de nitrito, nitrato e íon amônio ( $\mu\text{g/L}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.2.7. Compostos Fosfatados

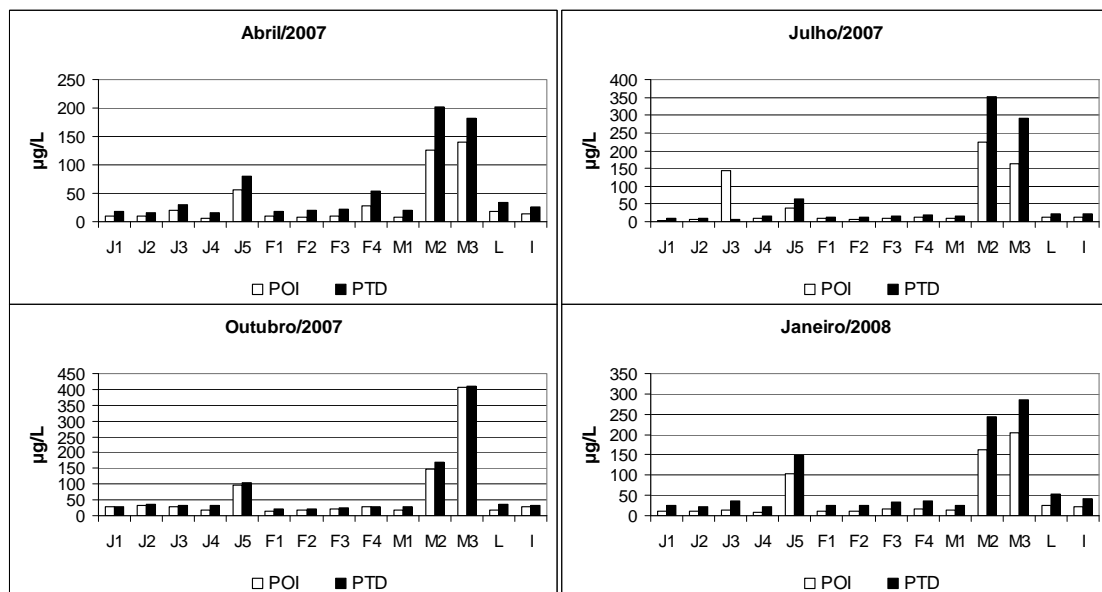
As concentrações de PT na apresentaram um padrão regular sazonal. Os pontos de coleta que apresentaram as maiores concentrações foram J5, M2 e M3 em todos os períodos amostrados, com valores mais elevados em outubro/2007 (460,11  $\mu\text{g/L}$ , 1295,80  $\mu\text{g/L}$  e 1139,10  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente). Os pontos J4 e F4 em abril/2007 estiveram acima de 100  $\mu\text{g/L}$  estabelecido pelo CONAMA 357/05, com 127,69 e 102,41  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente. Em J5 foram verificados valores acima do estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe três (150  $\mu\text{g/L}$ ) em quase todas as épocas de coleta (Figura 12).





**Figura 12:** Variação na concentração de fósforo total (PT) durante o período de estudo.

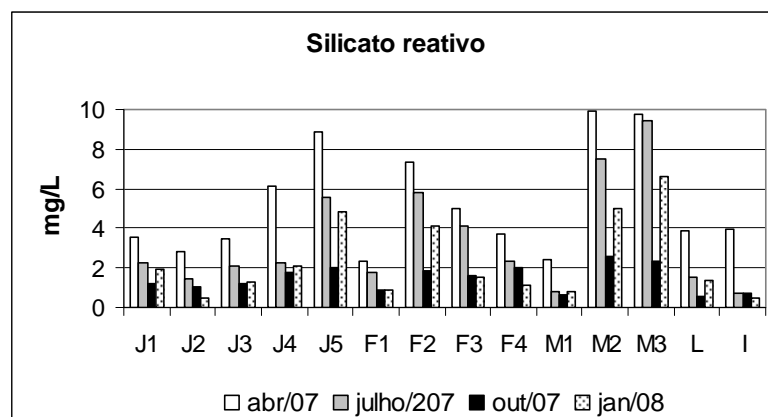
Em relação ao fosfato total dissolvido (PTD), nos pontos J5, M2 e M3 foram encontrados os maiores valores em todos os períodos amostrados (64,59 a 147,69 µg/L, 170,84 a 352,12 µg/L e 181,19 a 410,35 µg/L, respectivamente) (Figura 13). Assim como as demais formas fosfatadas, o fosfato inorgânico (POI) apresentou valores elevados nos pontos J5 (37,30 a 104,84 µg/L), M2 (148,87 a 225,05 µg/L) e M3 (139,93 a 407,34 µg/L), sendo este os valores mais elevados em outubro/2007. (Figura 13).



**Figura 13:** Variação concentração de fosfato inorgânico (POI) e fosfato total dissolvido (PTD) (µg/L) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.2.8. Silicato Reativo

Em abril de 2007 foram verificadas as maiores concentrações de silicato reativo, variando de 2,37 mg/L em F1 a 9,95 mg/L em M2. Os maiores valores foram encontrados em J5 (2,03 a 8,87 mg/L), M2 (2,58 a 9,95 mg/L) e M3 (2,34 a 9,74 mg/L) (Figura 14).



**Figura 14:** Variação concentração de silicato reativo nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.2.9. Coliformes Fecais

Os coliformes totais atingiram valores muito elevados nos pontos F1 ( $24 \times 10^6$  NMP/100 mL); F3 ( $24 \times 10^6$  NMP/100 mL); M3 ( $24 \times 10^6$  NMP/100 mL), em abril/07 e M2 ( $43 \times 10^6$  NMP/100 mL) em outubro/07. Os números mais elevados de coliformes fecais foram observados em J5 ( $14 \times 10^4$  NMP/100 mL) em outubro/07, M2 ( $12 \times 10^5$  NMP/100mL) em outubro/07 e M3 ( $10 \times 10^5$  NMP/100mL) em janeiro/08. (Tabela 3).

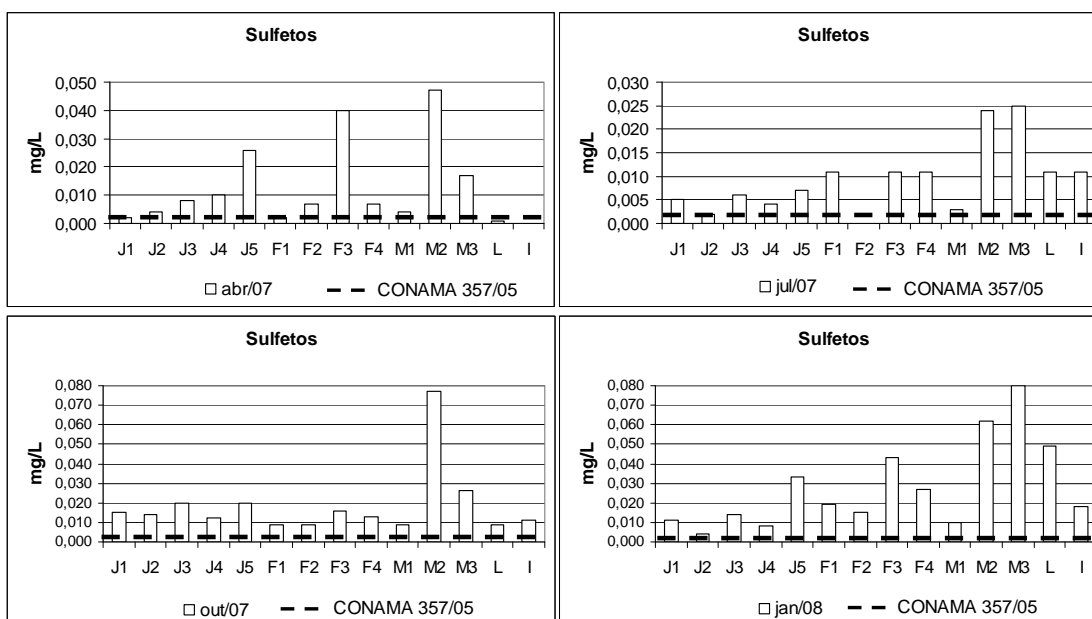
**Tabela 3:** Números mais prováveis de coliformes totais e fecais nos pontos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo

Pontos de coleta	COLIFORMES TOTAIS E FECAIS (NMP/100 mL)							
	Abril/07		Julho/07		Outubro/07		Janeiro/08	
	Fecais	Totais	Fecais	Totais	Fecais	Totais	Fecais	Totais
J1	144	45690	148	17329	754	>2419.6	496	17329
J2	410	26030	613	12033	4106	>2419.6	420	>2419.6
J3	630	82970	265	7270	1670	>2419.6	670	24196
J4	2660	23820	4100	8840	410	>2419.6	298	24196
J5	2000	727000	10900	1046200	145000	6131000	139100	1553100
F1	107,1	24191960	31	6488	1580	9804	181	24196
F2	52	7701	30	10462	10	9208	63	14136
F3	545	24191960	216	19863	292	>24196	3441	24196
F4	75	2143	221	10462	2613	>24197	3873	24196
M1	139,6	>2419.6	71	24196	798	24196	247	1872
M2	35	>2419.6	110000	7270000	1200000	43520000	645000	6488000
M3	5920	24191960	8010	241960	121000	9208000	1008000	14136000
L	410,6	>2419.6	201	8164	228	>24197	1576	>2419.6
I	107	9208	135	8164	262	>24197	2489	>2419.6

\*Valores em azul: *mínimo*; Valores em vermelho: *máximo*

#### 4.2.10. Sulfetos

A concentração de sulfetos foi mais elevada em outubro/2007 e janeiro/2008. Entre os pontos de coleta, em J5 (0,007 a 0,033 mg/L), F3 (0,011 a 0,043 mg/L), M2 (0,024 a 0,077 mg/L) e M3 (0,017 a 0,080 mg/L) foram observados os maiores valores (Figura 15). A maioria dos pontos apresentou valores acima do permitido pelo CONAMA 357/05 (0,002 mg/L) em todos os períodos de coleta, exceto J5, uma vez que a concentração estabelecida pelo CONAMA 357/05 para rios de classe três é de 0,3 mg/L, e M2 e M3 são rios enquadrados como classe quatro.

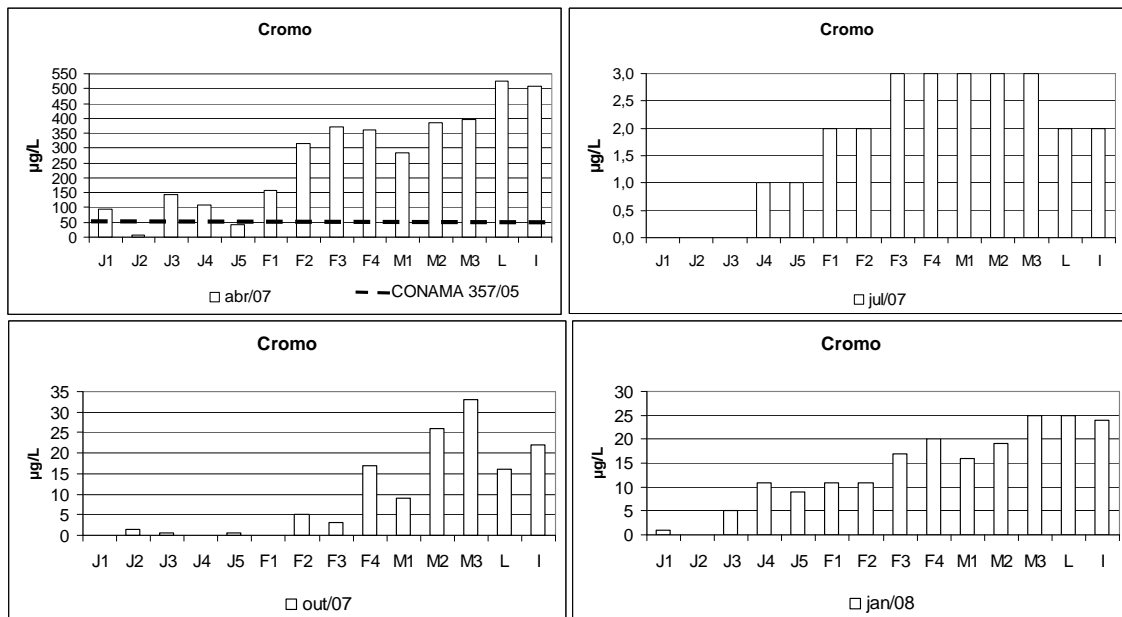


**Figura 15:** Variação na concentração de sulfetos (mg/L) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.2.11. Metais

##### Cromo

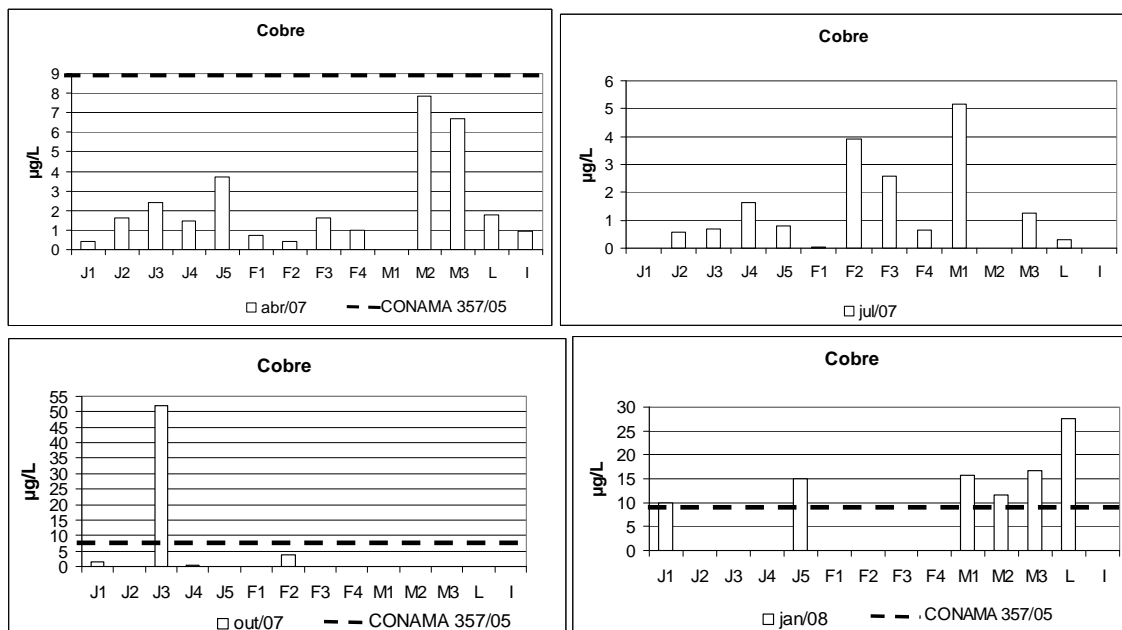
As concentrações de cromo na água estiveram acima do permitido pelo CONAMA 357/05 (50 µg/L), para rios de classe dois e três, em todos os pontos de coleta em abril/2007, com exceção de J2. Os pontos M2 e M3, apesar de elevada concentração de cromo, não podem ser considerados excedentes ao limite estabelecido pelo CONAMA 357/05, pois são rios de classe quatro. Os maiores valores foram detectados em L (526 µg/L) e I (507 µg/L) em abril/2007 (Figura 16).



**Figura 16:** Variação concentração de cromo ( $\mu\text{g/L}$ ) nos diferentes pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### Cobre

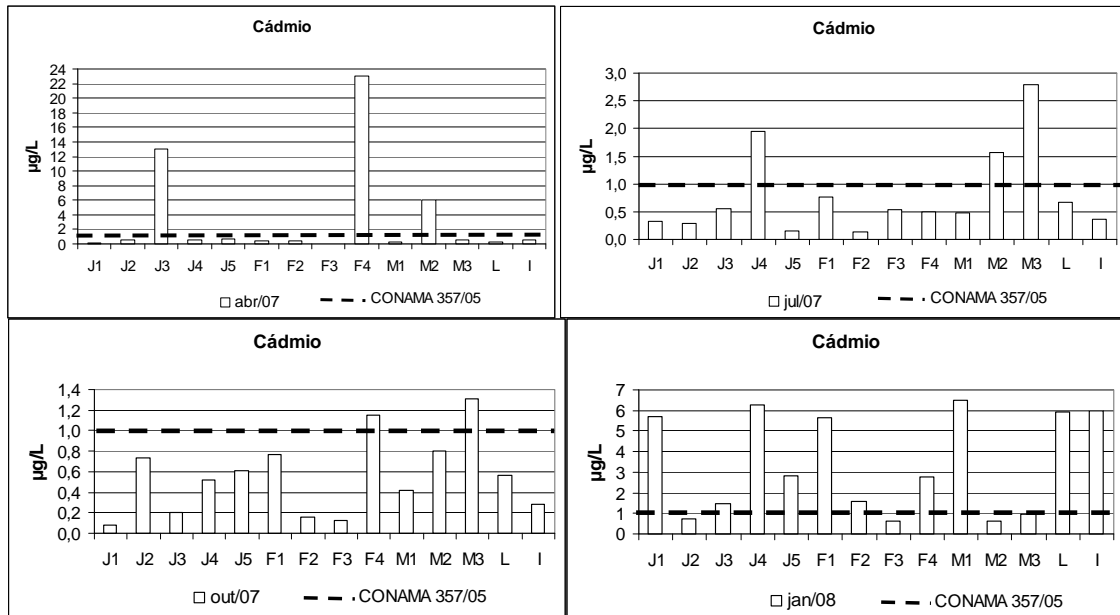
De maneira geral, os maiores valores de cobre foram detectados em janeiro/2008. Os pontos J1, J3, M1 e J5 apresentaram concentrações acima do estabelecido pelo CONAMA 357/05 ( $9,0 \mu\text{g/L}$  e  $13,3 \mu\text{g/L}$ ) para rios de classe dois e três, sendo possível verificar concentrações cerca de cinco vezes acima no ponto J3 em outubro/2007 ( $51,88 \mu\text{g/L}$ ). Assim como o cromo, as menores concentrações de cobre foram verificadas em julho/2007 (Figura 17).



**Figura 17:** Concentrações de cobre ( $\mu\text{g/L}$ ) detectadas nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### Cádmio

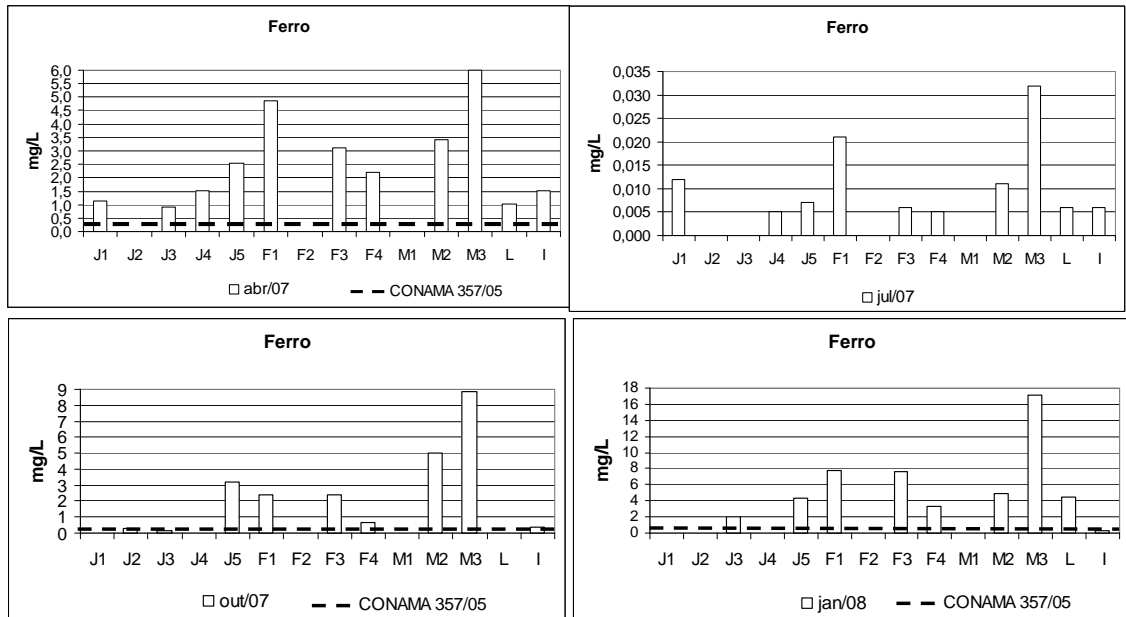
Com exceção dos pontos J2, F3 e J5 todas as concentrações de cádmio detectadas estiveram acima dos valores estabelecidos pelo CONAMA 357/05 (1,0 e 10 µg/L) para rios de classe dois e três. De maneira geral, os valores mais elevados foram determinados em janeiro/2008 e abril/2007, sendo que neste último foi detectada a maior concentração encontrada durante o estudo (F4 - 23,0 µg/L), cerca de 20 vezes acima do limite estabelecido (Figura 18).



**Figura 18:** Concentrações de cádmio (µg/L) detectadas nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### Ferro

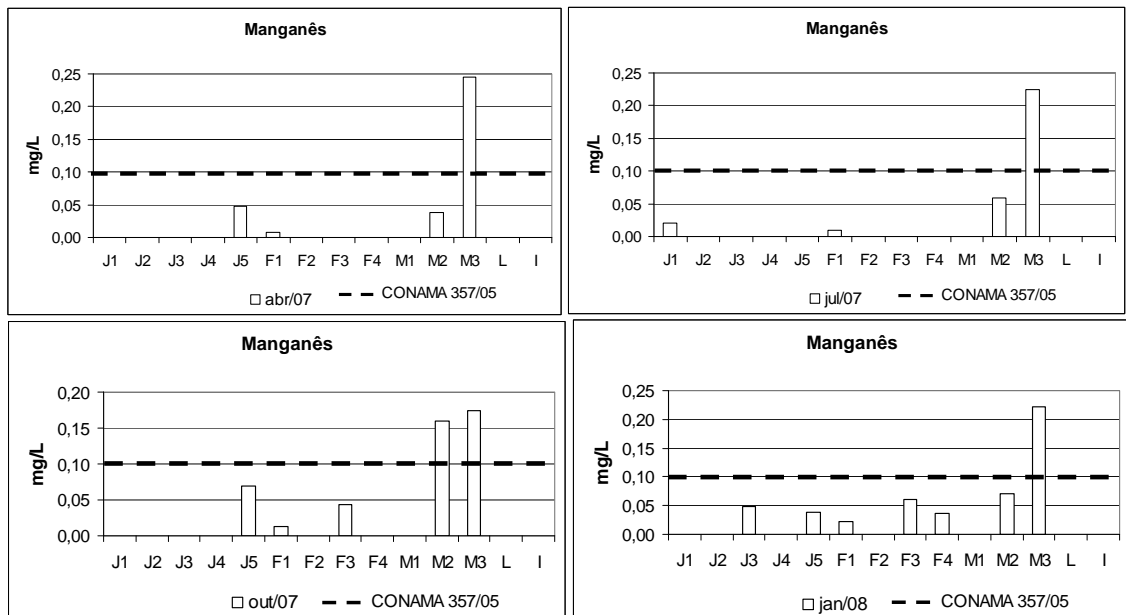
As maiores concentrações de ferro foram observadas em janeiro/2008, apresentando o valor máximo no ponto M3 (17,077 mg/L). Com exceção de F2, M1 e J5, todos os pontos de coleta apresentaram valores acima do estabelecido pelo CONAMA 357/05 (0,3 mg/L). Para J5, o limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 é de 5,0 mg/L. As menores concentrações foram observadas em julho/2007, período em que nenhum ponto apresentou valores acima do limite estabelecido pela legislação mencionada (Figura 19).



**Figura 19:** Concentrações de ferro (mg/L) detectadas nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### Manganês

Não foi possível observar um padrão sazonal regular nas amostras, no entanto, em M2 e M3 os valores foram mais elevados durante todo o estudo (Figura 20).

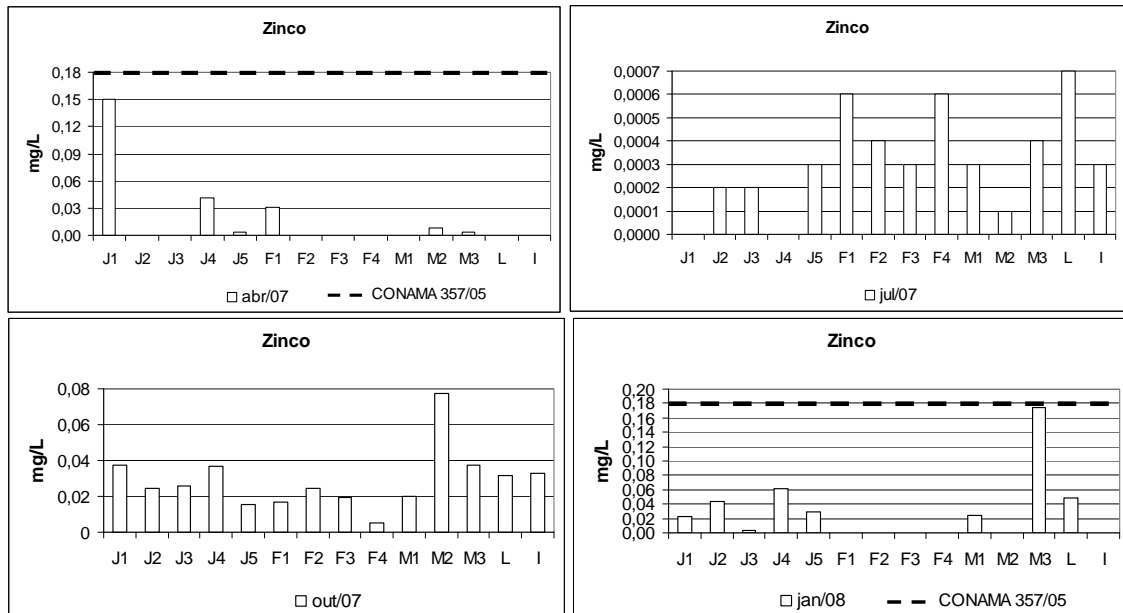


**Figura 20:** Concentrações de manganês (mg/L) detectadas nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### Zinco

Assim como com o manganês, não foi possível observar um padrão sazonal regular nas concentrações de zinco durante o estudo. Nenhum valor este acima do estabelecido

pelo CONAMA 357/05 (0,18 mg/L para rios de classe dois e 5,0 mg/L para rios de classe três), entretanto, valores limiares foram observados em J1 (0,15 mg/L) em abril/2007 e em M3 (0,17 mg/L) em janeiro/2008 (Figura 21).

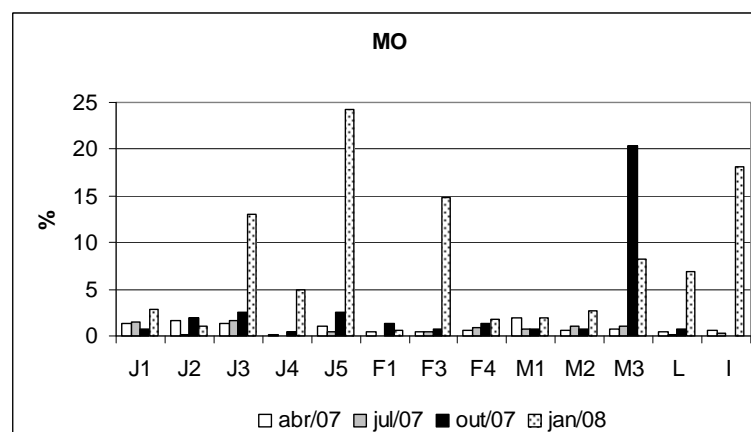


**Figura 21:** Concentrações de zinco (mg/L) detectadas nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### 4.3. Análise física e química do sedimento

#### 4.3.1. Matéria Orgânica

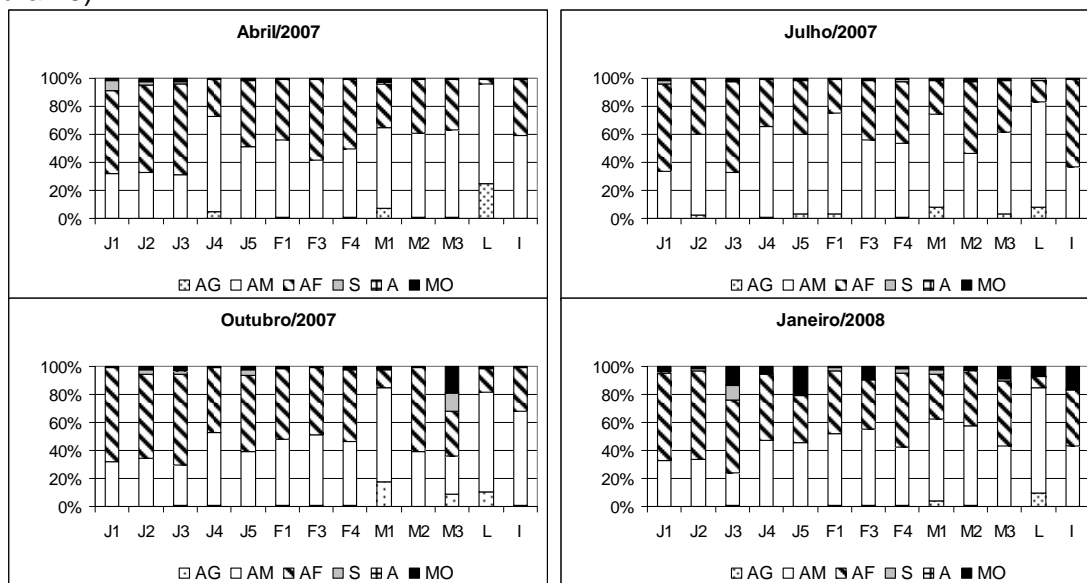
De maneira geral, as porcentagens de matéria orgânica nos sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu estiveram mais elevadas em janeiro/2008, exceto em J2, F1 e M3, os quais apresentaram esta situação em outubro/2007. Ao longo do período de estudo, os sedimentos foram apresentaram característica inorgânica (abaixo de 10% e matéria orgânica), com exceção de M3 em outubro/2007 (20,36%) e de J3 (13,09%), J5 (24,24%), F3 (14,80%) e I (18,18%) em janeiro/2008 (Figura 22).



**Figura 22:** Porcentagem de matéria orgânica (MO) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### 4.3.2. Granulometria

De modo geral, os sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu são formados predominantemente por frações arenosas (areias grossa, média e fina). Em abril/2007 e julho/2007 foi possível verificar a predominância de areia média e fina nos pontos de coleta (Figura 23).



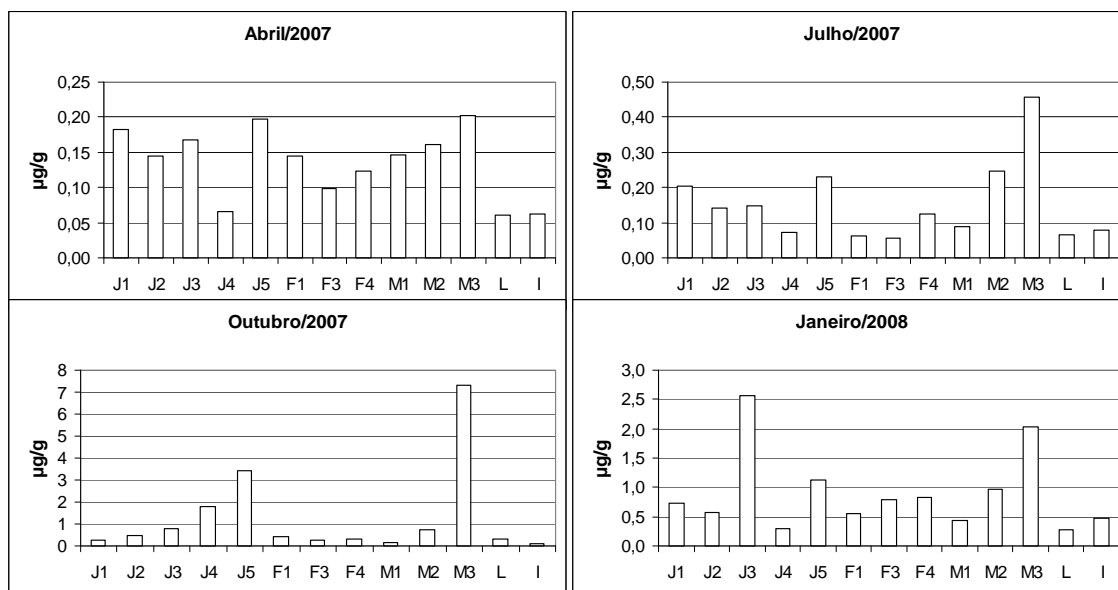
**Figura 23:** Variação espacial da composição granulométrica da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em durante o período de estudo. AG: areia grossa; AM: areia média; AF: areia fina; S: silte; A: argila; MO: matéria orgânica.

Já em outubro/2007 ocorreu uma pequena mudança na composição granulométrica em M3, onde silte e matéria orgânica compõem 13 e 18% do sedimento, respectivamente. Em janeiro/2008 a matéria orgânica aumenta a contribuição na formação dos sedimentos da maioria dos pontos amostrados da bacia, chegando a 20% em J5 (Figura 23).

### 4.3.3. Fósforo total

A maioria dos pontos de coleta apresentou tendência ao aumento das concentrações de PT ao longo do período de estudo, com valores mais acentuados em janeiro/2008. Esta situação não foi verificada nos pontos J4, J5 e M3, que apresentaram valores mais elevados em outubro/2007. De maneira geral, foi observada uma tendência ao aumento nas concentrações de PT em direção de F1 a F4 e de M1 a M3, e uma diminuição em direção de J1 a J5. Em outubro/2007, as tendências foram opostas às aquelas verificadas nos demais períodos de coleta. Os pontos M3, M2, J1, J3 e J5 apresentaram os maiores valores em quase todos os períodos amostrados, atingindo os valores máximos de 7,32  $\mu\text{g/g}$ , 0,976  $\mu\text{g/g}$ , 0,73  $\mu\text{g/g}$ , 2,57  $\mu\text{g/g}$  e 3,43  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente (Figura 24).

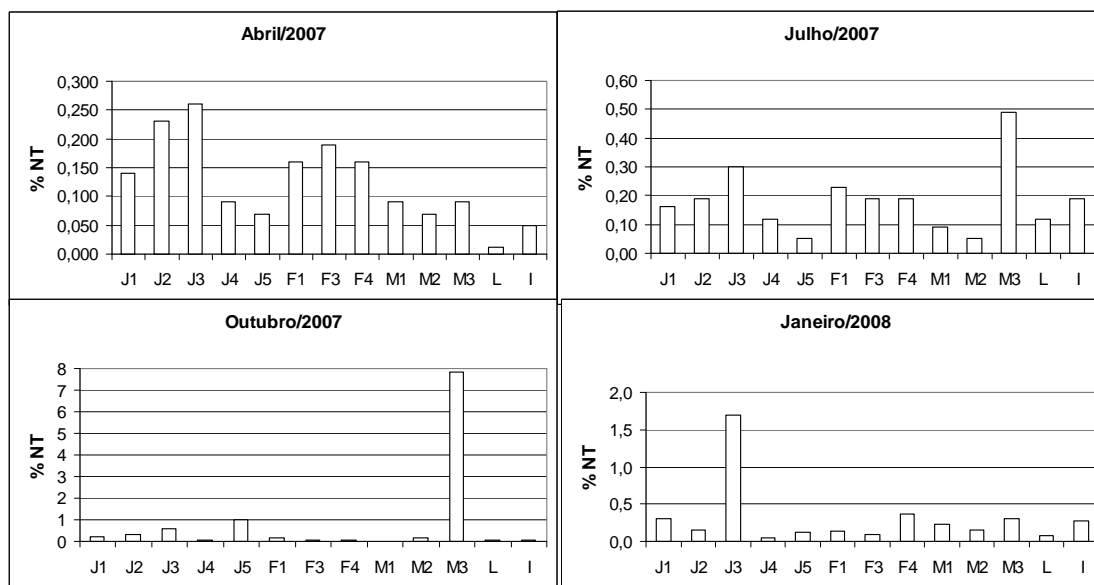




**Figura 24:** Concentração de PT ( $\mu\text{g/g}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.3.4. Nitrogênio orgânico total

Os maiores valores de NT no sedimento foram observados em abril/2007, com exceção de alguns pontos, como J5 (0,98%) e M3 (7,84%) que apresentaram valores mais elevados em outubro/2007. Durante todo o estudo, as concentrações mais elevadas foram verificadas em J3, J5 e M3, e os pontos L e J4 apresentaram as concentrações mais baixas, com valores máximos de 0,012 % e 0,09% em abril/2007, respectivamente (Figura 25).

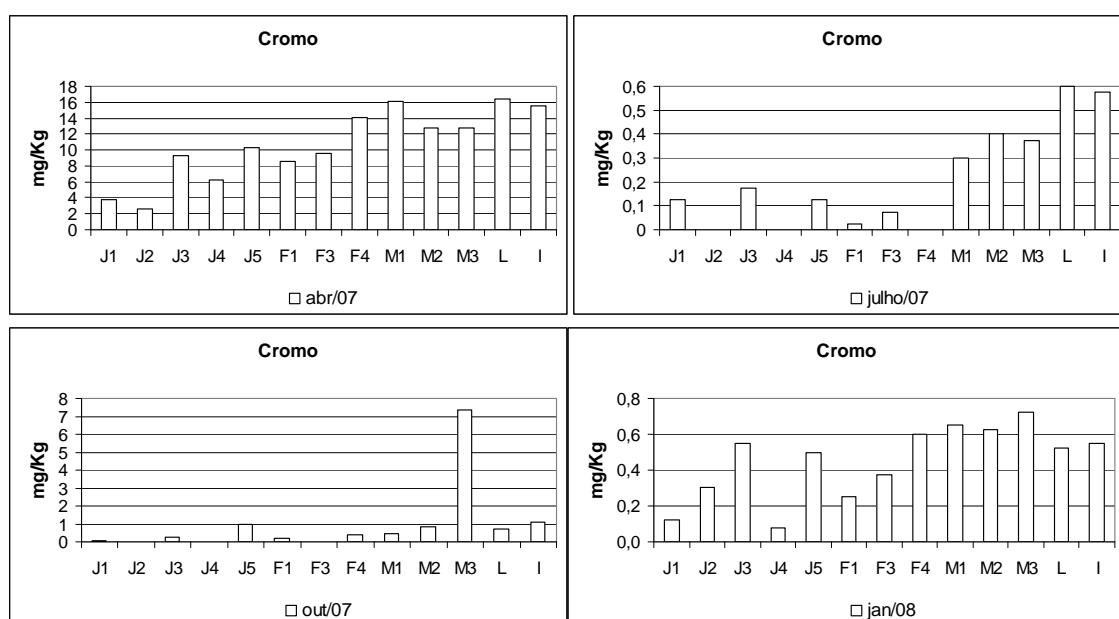


**Figura 25:** Porcentagem de NT no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### 4.3.5. Metais Biodisponíveis

#### Cromo

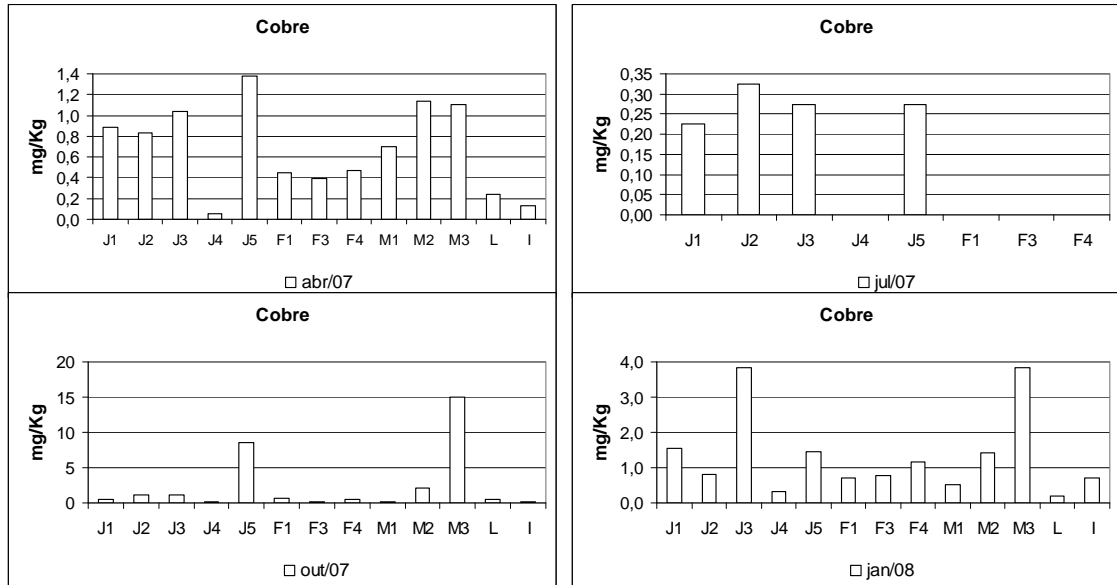
As concentrações de cromo foram mais elevadas em abril/2007. De modo geral, os menores valores foram encontrados em J1, J2 e J4, em todas as épocas de coleta, com valores máximos de 3,8 mg/Kg, 2,55 mg/Kg e 6,25 mg/Kg em abril/2007, respectivamente. Os pontos M1, M2, M3, J5, L e I apresentaram os valores mais elevados em quase todos os períodos de amostragem, atingindo cerca de 20,0 mg/Kg em abril/2007 (Figura 26). Os teores encontrados estiveram abaixo da TEL, 37,3 mg/Kg (CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT - CCME, 2003).



**Figura 26:** Variação na concentração de cromo (mg/Kg) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### Cobre

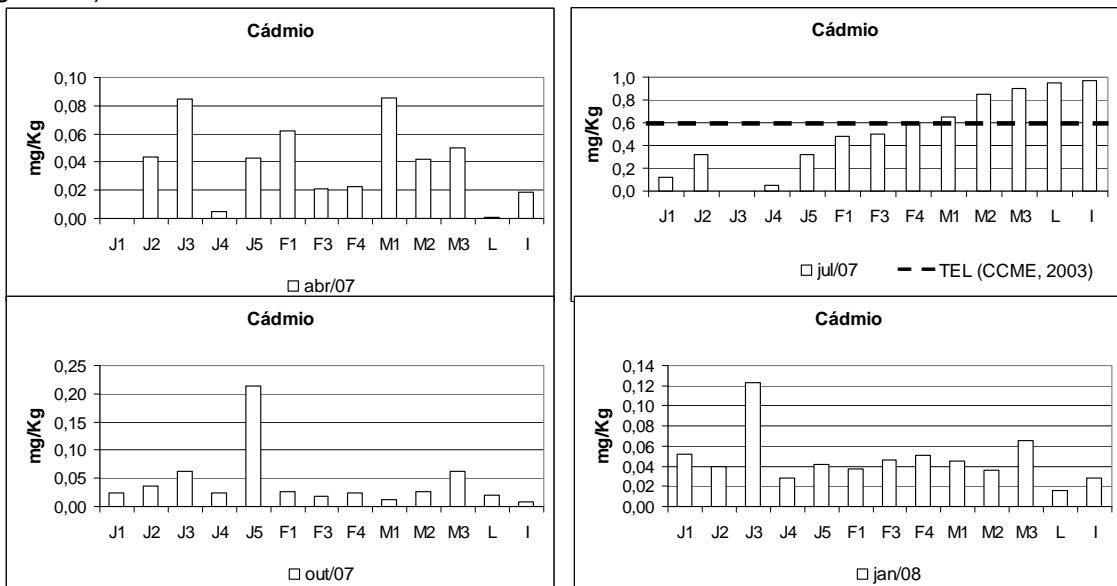
Os valores mais elevados de cobre foram detectados em outubro/2007 e janeiro/2008, com destaque para J5 (8,58 mg/Kg) e M3 (15,04 mg/Kg) em outubro/2007 e J3 (3,84 mg/Kg) em janeiro/2008. Os pontos J4, L e I apresentaram os valores mais baixos durante o estudo, com picos de concentração de 0,33 mg/Kg (janeiro/2008), 0,44 mg/Kg (Outubro/2007) e 0,69 mg/Kg (janeiro/2008), respectivamente (Figura 27). As concentrações observadas estiveram abaixo do limite da TEL (37,3 mg/Kg).



**Figura 27:** Variação na concentração de cobre (mg/Kg) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### Cádmio

Em julho/2007 foram verificadas as maiores concentrações de cádmio no sedimento. (Figura 28).



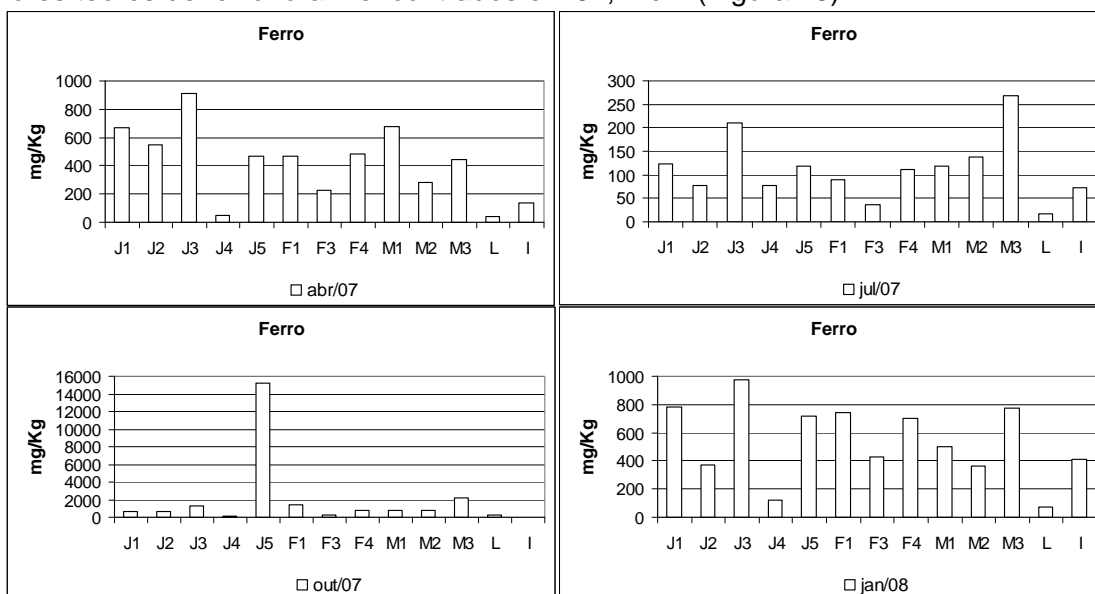
**Figura 28:** Variação na concentração de cádmio (mg/Kg) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

Nesta época, os valores observados em F4 (0,6 mg/Kg), M1(0,65 mg/Kg), M2 (0,85 mg/Kg), M3 (0,9 mg/Kg), L (0,95 mg/Kg) e I (0,975 mg/Kg) estiveram acima da TEL (0,60 mg/Kg) (CCME, 2003). De maneira geral, os pontos que apresentaram os valores mais elevados durante o período de estudo foram M1, M3, J3, I e L, enquanto que os pontos que

apresentaram os menores valores foram J4 e J1, sendo que estes últimos apresentaram valores máximos de 0,02 mg/Kg (outubro/2008) e 0,0 mg/Kg (abril/2007), respectivamente.

### **Ferro**

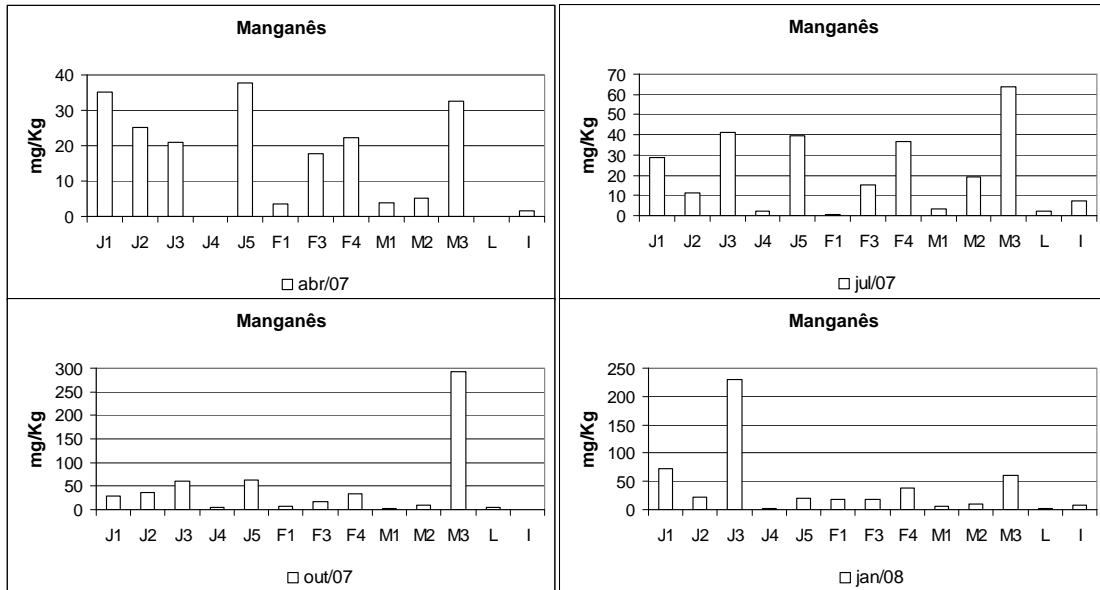
Os valores mais elevados foram observados em outubro/2007 e janeiro/2008, com destaque para o ponto J5 (15186,8 mg/Kg) em outubro/2007. Durante o período de estudo, os pontos que apresentaram os maiores valores foram M3, J3, J1, J5 e M1, enquanto os menores teores de ferro foram encontrados em J4, L e I. (Figura 29).



**Figura 29:** Variação na concentração de ferro (mg/Kg) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### **Manganês**

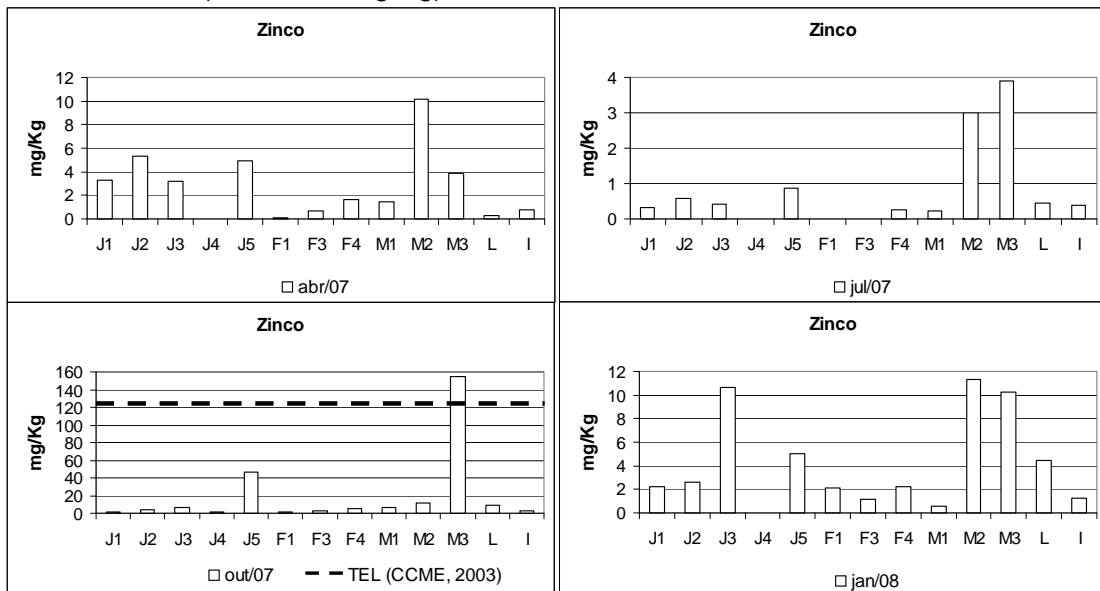
Os maiores teores de manganês foram verificados em outubro/2007 e janeiro/2008, sendo o maior valor detectado em M3 (292,50 mg/Kg) em outubro/2007. Durante o estudo, os pontos que apresentaram os valores mais elevados foram M3 (32,50 a 292,50 mg/Kg); J3 (20,90 a 229,19 mg/Kg), J1 (28,54 a 72,57 mg/Kg) e J5 (20,75 a 63,975 mg/Kg). Já os menores valores foram detectados em J4 (0,0 a 5,67 mg/Kg), M1 (1,375 a 5,67 mg/Kg), L (0,0 a 6,0 mg/Kg) e I (0,40 a 8,77 mg/Kg) (Figura 30).



**Figura 30:** Variação na concentração de manganês (mg/Kg) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### Zinco

Em outubro/2007 foram verificados os maiores valores de zinco, com destaque para J5 (46,55 mg/Kg) e M3 (154,63 mg/Kg) (Figura 31). O ponto M3 nesta época apresentou concentração acima da TEL (123,0 mg/Kg). As menores concentrações de zinco foram observadas em J4 (0,0 a 1,25 mg/Kg).



**Figura 31:** Variação na concentração de zinco (mg/Kg) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### 4.4. Análise estatística

A análise de discriminantes permitiu verificar que ocorre variabilidade sazonal na influência das variáveis em amostras de água dos pontos da bacia do alto Jacaré-Guaçu.

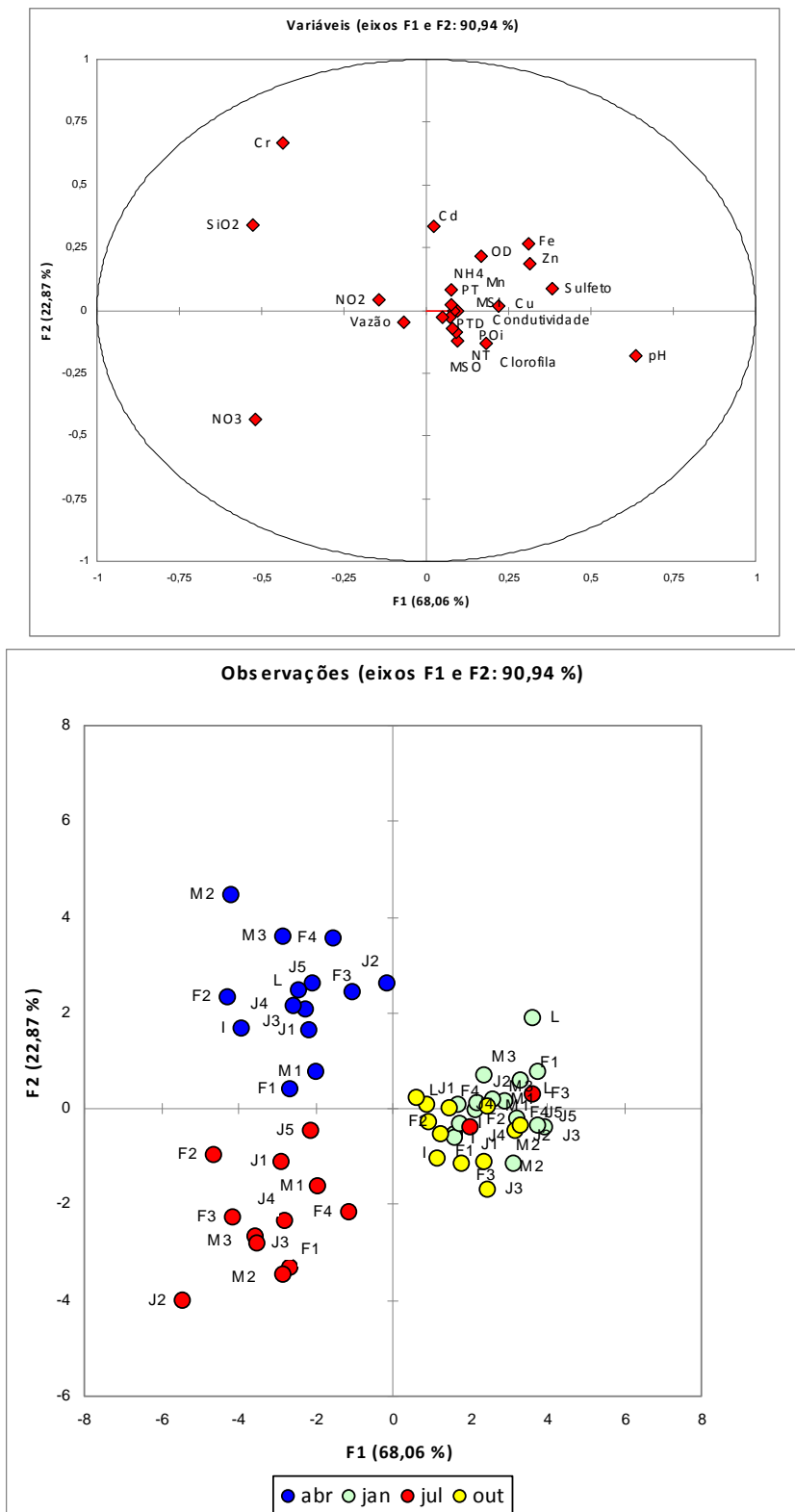
Os pontos correspondentes a outubro/07 e janeiro/08 foram mais semelhantes, com a influência das variáveis Fe, Zn, Cu, Mn, fósforo total, fósforo total dissolvido, fosfato inorgânico, íon amônio, nitrogênio orgânico total, condutividade, material em suspensão, clorofila e sulfeto. Esta situação foi observada para todos os pontos da bacia nos períodos mencionados, sendo ainda possível observar, a influência das mesmas variáveis nos pontos L e I no período de julho/07 (Figura 32).

Em abril/07, as concentrações de Cr, silicato reativo e nitrito foram as variáveis que mais influenciaram os pontos no período, auxiliada pelos baixos valores de vazão. Apesar da situação observada para todos os pontos, merece destaque os pontos M2, M3, F4, F2, que foram os mais influenciados pelo Cr (Figura 32).

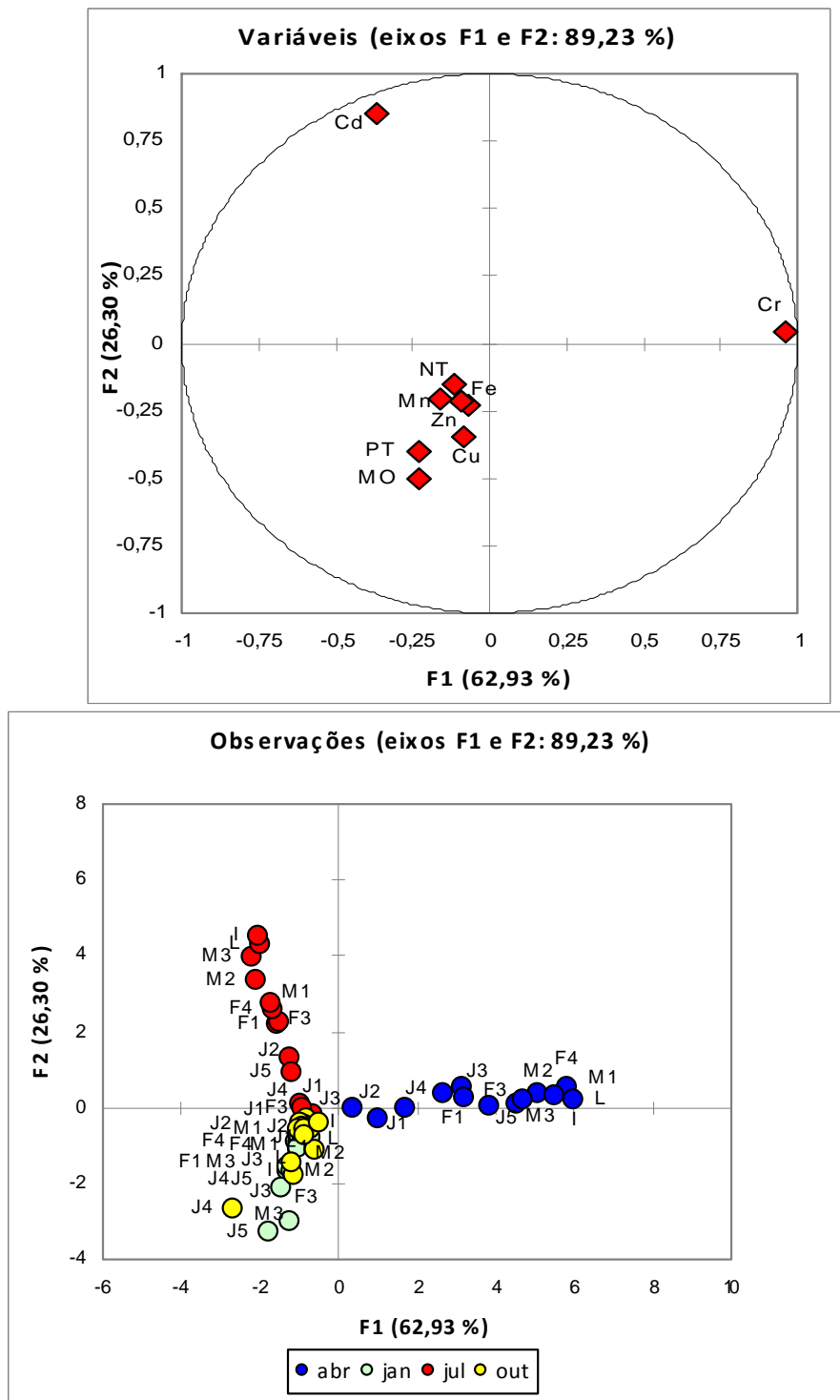
Neste estudo, em julho/07, os pontos de coleta foram influenciados pela variável nitrato, principalmente os pontos J2, M2, M3, também aliados aos baixos valores de vazão no período (Figura 32).

Quanto às amostras de sedimento foi possível verificar a mesma tendência das amostras de água, ou seja, os períodos outubro/07 e janeiro/08 foram influenciados pelas mesmas variáveis: Fe, Mn, Zn, Cu, nitrogênio total, fósforo total e matéria orgânica. Todos os pontos foram influenciados por estas variáveis (Figura 33).

Em abril/07, o metal cromo foi responsável pela discriminação dos pontos de todos os pontos, com influência principalmente em L, I, F4, M2, M3, J5 e F3. Já em julho/07, as concentrações de cádmio foram responsáveis pela discriminação dos pontos no período, com forte influência em todos os pontos, principalmente em L, I, M3, M2, M1, F4, F1, F3. A maioria dos pontos influenciados por Cd foi influenciada por Cr em diferentes períodos. (Figura 33).



**Figura 32:** Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de água da bacia hidrográfica do alto Jacaré-Guaçu, nos quatro períodos de amostragem.



**Figura 33:** Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de sedimento da bacia hidrográfica do alto Jacaré-Guaçu, nos quatro períodos de amostragem.



## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Variáveis físicas, químicas e biológicas da água.

No presente estudo foram analisados pontos de amostragem distribuídos na bacia do alto Jacaré-Guaçu em locais com diferentes formas de ocupação. No rio Monjolinho, por exemplo, foram avaliados três pontos: um localizado próximo a regiões de nascentes (M1); o segundo localizado logo após a área urbana de S. Carlos – SP (M2) e o terceiro (M3), inserido em área rural. Os pontos M2 e M3 apresentaram, durante o estudo, as condições mais degradadas do sistema, com elevadas concentrações de material em suspensão, coliformes fecais, clorofila, nutrientes, baixas concentrações de oxigênio dissolvido, além de níveis elevados de metais, inclusive na nascente.

Os trabalhos mais recentes realizados em rios pertencentes à bacia hidrográfica do alto Jacaré-Guaçu, com enfoque limnológico e ecotoxicológico, são representados por Campagna (2005); Cappellini (2008); Coelho (2008); Delello (2008); Dornfeld (2006); Fracácio (2006); Ferreira Neto (2008); Novelli (2005); Reis Filho (2008) e Viana (2005), sendo a maioria realizada na sub-bacia do rio Monjolinho. Estes trabalhos descrevem, de maneira geral, condições muito preocupantes de degradação do sistema, limitando os diversos usos múltiplos, como por exemplo, a proteção da vida aquática, balneabilidade e abastecimento público.

Marinelli et al., (2000); detectaram no rio Monjolinho um gradiente longitudinal de degradação, desde a nascente até a confluência com o rio Jacaré-Guaçu, com concentrações elevadas de metais e pesticidas organoclorados em vários pontos do sistema. Estes resultados, assim como o presente estudo, corroboram os trabalhos realizados anteriormente (CAMPAGNA, 2005; DORNFELD, 2006; PELAÉZ-RODRIGUES, 2001; NOVELLI, 2005) e, demonstram a necessidade de um melhor gerenciamento da bacia hidrográfica, com planejamento das atividades no entorno da bacia, bem como ações que visem à recuperação do sistema. Vale ressaltar que a cidade de S. Carlos adotou o tratamento de esgotos, em 2008, uma importante medida de recuperação e conservação do sistema Monjolinho. No entanto, esta medida foi realizada após as campanhas de amostragem do presente trabalho, não sendo possível avaliar a qualidade da água após o tratamento de esgotos.

Várias fontes de poluição foram detectadas ao longo do sistema Monjolinho durante o estudo, entre elas, podem ser citadas i) intensa atividade industrial na cidade de S. Carlos, gerando efluentes industriais com complexas misturas de substâncias químicas que são despejados em pontos do rio Monjolinho (dados listados na literatura); ii) despejos de esgotos domésticos (a ETE ainda não estava em funcionamento no período de estudo); iii) poluição difusa, representada pela utilização de agrotóxicos no cultivo de cana-de-açúcar na área rural da bacia. No presente trabalho não foi realizada a análise de pesticidas em

amostras de água e sedimento, no entanto, estudos recentes têm demonstrado a presença de compostos organoclorados e outros (aproximadamente 21) em grandes concentrações no sistema (CAMPAGNA, 2005; CORBI et al., 2006; PELAÉZ-RODRIGUES, 2001).

No rio Jacaré-Guaçu (J1 ao J5) e no ribeirão do Feijão (F1 ao F4) os pontos estiveram localizados apenas na área rural da bacia, sendo influenciados principalmente pelo impacto da poluição difusa (decorrente da utilização de agrotóxicos nas monoculturas de cana-de-açúcar e laranja) e das pastagens da região. Ao analisar os resultados limnológicos destes sistemas, também foi observada, de maneira geral, uma variação sazonal e espacial da qualidade da água, com gradiente longitudinal de degradação ao longo dos rios.

Todas as atividades acima descritas contribuem para alterar a qualidade da água, que pode ser refletida nas concentrações de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo, coliformes fecais e totais, condutividade, material em suspensão, íons cloreto, sulfeto e sulfato, DBO e oxigênio dissolvido. Além disto, estas atividades são responsáveis pela entrada de metais e pesticidas nos ecossistemas aquáticos.

A vazão é uma medida indispensável na avaliação da qualidade dos ecossistemas lóticos, uma vez que são responsáveis pelo tempo de permanência das partículas, pelo transporte de materiais, pela diluição de componentes dissolvidos (SÉ, 1992) e, por sua vez, está diretamente relacionada com o regime de chuvas e relevo (MAYBACH, 1989).

As medidas de vazão durante o estudo mostraram, de maneira geral, valores mais elevados em janeiro/08, o que já era esperado em decorrência da característica do período (chuvoso). Este período foi caracterizado pelo aumento na entrada de poluentes no sistema, advindos da bacia de drenagem em decorrência da maior pluviosidade. Também foi possível observar um comportamento longitudinal desta variável, com valores mais elevados de vazão no sentido montante-jusante para os rios Monjolinho e ribeirão do Feijão. Os valores foram mais elevados nos pontos localizados no rio Jacaré-Guaçu, principalmente em J1 (5,74 a 8,97 m<sup>3</sup>/s) e no rio Monjolinho, principalmente em M3 (4,01 a 6,24 m<sup>3</sup>/s). Os valores elevados encontrados em J1 são decorrentes do elevado volume de água constituído pela junção do ribeirão do Lobo e do ribeirão do Feijão.

O aumento na vazão dos rios em seu curso foi acompanhado pela entrada crescente de cargas de esgotos domésticos juntamente com as fontes difusas de poluição, resultando num quadro de degradação crescente ao longo dos rios. Esta situação pode ser observada para as variáveis condutividade e formas fosfatadas resultantes da degradação da matéria orgânica nos diferentes pontos de coleta, com maiores valores nos pontos M2 (0,132 a 0,321 mS/cm), M3 (0,124 a 0,293 mS/cm) e J5 (0,05 a 0,116 mS/cm). Segundo a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (2005), valores acima de 0,1 mS/cm já caracterizam ambientes impactados.

Além disto, no presente estudo foram avaliadas as condições sanitárias da bacia, determinando-se o número de coliformes totais e fecais. As bactérias do grupo coliformes são consideradas os principais indicadores da poluição ambiental, uma vez que a determinação da concentração dos coliformes assume importância no sentido de indicar a possibilidade da presença de microrganismos patógenos, responsáveis pela transmissão de doenças e veiculação hídrica, tais como a febre tifóide, febre paratífóide, cólera e disenteria bacilar (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 2005).

Na bacia hidrográfica do alto Jacaré-Guaçu foram encontradas situações preocupantes em relação ao número de coliformes fecais e totais. Estes valores estiveram elevados ora em um período ora em outro, no entanto, todos os pontos amostrados apresentaram valores elevados em ao menos um período de coleta, exceto M1.

Em abril/07, F1, F3 e M3 apresentaram os valores máximos para coliformes totais (24191960 NMP/ 100 mL), enquanto que o M3 também apresentou os valores mais elevados de coliformes fecais (5920 NMP/ 100 mL). Já em julho/07, o valor mais elevado de coliformes (totais e fecais) foi verificado em M2 (7270000 NMP/100 mL e 110000 NMP/100 mL, respectivamente). Em julho/07, de maneira geral, foram encontrados os valores mais baixos de coliformes fecais e totais durante todo o estudo, situação possivelmente decorrente da menor pluviosidade e, conseqüentemente, menor carreamento de material da bacia para o rio. No mesmo ponto M2, em outubro/07, foram detectados os valores mais elevados de coliformes totais e fecais (43520000 NMP/100 mL e 1200000 NMP/100 mL, respectivamente), no entanto, em janeiro/08, esta situação foi verificada para M3 (14136000 NMP/100 mL e 1008000 NMP/100 mL, respectivamente).

Esses resultados demonstram a contribuição de esgotos domésticos na degradação da qualidade da água, principalmente nos pontos M2 e M3, que na época das coletas, quando a estação de tratamento de esgotos não estava em funcionamento, recebiam estes poluentes, principalmente por meio do córrego Água quente. A degradação de um trecho do rio implica em possíveis efeitos em cadeia e, este quadro foi verificado no presente estudo, onde as condições físicas e químicas em J5 (confluência com o rio Monjolinho) apresentaram menor qualidade em relação aos pontos localizados no início do rio Jacaré-Guaçu. Ressalta-se que no entorno deste ponto, existe um assentamento de moradores que trabalham na Usina Santana e, certamente, utilizam da água do rio neste trecho para diversas atividades. Quanto aos pontos F1 e F3, no momento da coleta, foi possível observar intensa pastagem de animais, o que pode ter provocado o número elevado de coliformes fecais.

As concentrações de oxigênio dissolvido estiveram mais elevadas em janeiro/08 e mais baixas em julho/07 e abril/07, o que pode ser explicado em função da menor agitação das águas nos períodos mais secos. Durante todo o estudo, foram encontrados valores

acima do estabelecido pelo CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA 357 (2005) para rios de classe dois (5,0 mg/L) e de classe três (4,0 mg/L), no entanto, os valores foram preocupantes em J4, M1, F1, L e I no período seco e intermediário (julho/07 e outubro/7). Estes valores atingiram limiares àqueles estabelecidos pelo CONAMA 357/05 (2005) (5,0 mg/L) para rios de classe dois.

Concentrações mais baixas ainda foram detectadas em M2 durante todo o estudo, atingindo o valor mínimo de 0,19 mg/L, abaixo do limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe quatro (2,0 mg/L). Estas concentrações muito baixas de oxigênio podem ter ocorrido em função da degradação aeróbica da matéria orgânica introduzida diariamente. Os valores elevados de condutividade observados nestes pontos, especialmente em M2, são concordantes com a entrada de esgotos neste trecho do rio. Além disto, o entorno da bacia neste local é composto de áreas de pastagens e cultivo de cana-de-açúcar, o que sugere também a entrada de fertilizantes e matéria orgânica (por meio das fezes dos animais) no corpo de água.

Os pontos J4, M1, F1, L e I também estão inseridos em área rural, com intensa atividade agrícola e de pastagem, sugerindo que os valores baixos de oxigênio dissolvido possam também estar sendo influenciados pelos mesmos fatores.

As baixas concentrações de oxigênio verificadas no presente estudo também podem estar relacionadas às elevadas concentrações de material em suspensão nos pontos mencionados. Segundo Chapman (1992), os sólidos possuem um importante papel em estudos de ecossistemas aquáticos, sendo, em alguns casos, responsáveis pela regulação e penetração de luz, o que pode também interferir na produção de oxigênio dissolvido e na condutividade elétrica e pelo aporte de nutrientes e poluentes.

Quanto ao material em suspensão não foi possível identificar um padrão espacial regular de concentração, no entanto, em 50% dos pontos, o material inorgânico predominou sobre o orgânico na maioria dos períodos coletados, demonstrando contribuições naturais (intemperismos físicos e químicos das rochas) e antrópicas (carreamento dos solos da bacia de drenagem) da área de entorno para o corpo de água.

Exceção foi verificada em outubro/2007, quando todos os pontos apresentaram valores de material orgânico superiores aos inorgânicos, exceto em F3. Neste sentido, destacam-se os pontos M2 e M3, onde foram detectadas 100 % e 80% de material orgânico, respectivamente, constituindo os pontos que apresentaram maiores valores de material em suspensão total (tanto orgânico quanto inorgânico) durante todo o estudo. Em abril/07 os pontos F2 e M1 e, em julho/07, os pontos J1, J3, J4, F3, M2 e I, apresentaram valores de material orgânico mais elevado que inorgânico. Nos pontos J3 (abril/07); M2 (abril/07); J5 (julho/07) e M3 (janeiro/08) estes valores foram semelhantes (50% inorgânico e 50% orgânico).

Os valores muito elevados de material em suspensão orgânico, especialmente em M2 e M3 podem ser decorrentes da entrada de esgotos domésticos despejados diretamente nos trechos, bem como recebidos por contribuição de afluentes do rio Monjolinho (córrego Água quente) (CAMPAGNA, 2005). Os valores encontrados em J5 certamente foram influenciados pelas elevadas concentrações verificadas em M3. Na confluência do rio Monjolinho (M3) com Jacaré-Guaçu (J5) estas concentrações são diluídas, apresentando valores mais baixos, entretanto, ainda elevados quando comparados com os demais pontos de coleta.

Em janeiro/08, em decorrência da maior pluviosidade, o material inorgânico predominou em todos os pontos de coleta. No ribeirão do Feijão, os pontos F1 e F3 apresentaram as maiores concentrações de material em suspensão orgânico, o que pode ter ocorrido principalmente em função da ausência de mata ciliar, característica nestes pontos de amostragem. Resultados semelhantes foram encontrados por Campagna (2005); Pelaéz-Rodrigues (2001) e Peres (2002).

As concentrações de clorofila *a* ultrapassaram o limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 (30,0 µg/L) apenas em outubro/07 (J1 = 46,04 e J3 = 46,97 µg/L), período também que foram observados os valores mais elevados para a maioria dos pontos amostrados. Durante todo o estudo, os pontos J1, J3, J5, M2 e M3 apresentaram os maiores valores de clorofila, atingindo concentrações máximas de 46,04 µg/L; 46,97 µg/L; 39,06 µg/L; 29,99 µg/L e 32,55 µg/L, respectivamente. Durante o período de outubro/07 foi possível observar uma atividade fotossintética mais intensa que pode ter ocorrido em função da maior disponibilidade de nutrientes (concentrações de nitrogênio e fósforo, principalmente fosfato inorgânico dissolvido foram mais elevadas neste período). De fato, os valores mais elevados de pH, verificados também em outubro/07 mostram a atividade fotossintética em maior intensidade, uma vez que, os seres autotróficos utilizam gás carbônico do meio para a produção primária, aumentando, conseqüentemente, esses valores. Além disto, a montante dos pontos J1 e J3 há represamentos (represa do Lobo e represa Santana, respectivamente), o que pode ter favorecido a produção de clorofila *a*.

Quanto ao nitrito, a concentração máxima verificada foi de 109,37 µg/L (M2 em julho/07); nitrato de 384,28 µg/L (M2 em julho/07); íon amônio de 2365,90 µg/L (M3 em janeiro/08); nitrogênio orgânico total de 17,22 mg/L (M2 em outubro/07); fósforo total de 1295,80 µg/L (M2 em outubro/07); fosfato inorgânico de 407,34 µg/L (M3 em outubro/07) e de fosfato total dissolvido de 410,35 µg/L (M3 em outubro/07).

Todos os pontos que apresentaram valores muito elevados de nitrogênio e fósforo e, conseqüentemente de clorofila *a*, estão inseridos na área rural da bacia hidrográfica, onde há o predomínio de cultivo de cana-de-açúcar, laranja, milho hortaliças, pastagens. A ocupação do solo do entorno sugere que uma das formas de entrada dos nutrientes neste

sistema seja por meio do escoamento superficial ou lixiviação de compostos químicos e fertilizantes utilizados nas monoculturas, bem como originárias das fezes dos animais.

Dentre os vários compostos poluidores dos ecossistemas aquáticos, os metais levados por despejos de efluentes, transportados pela chuva e através da atmosfera, merecem atenção especial, uma vez que são potencialmente residuais e cumulativos na cadeia trófica (TAM; WONG, 1995).

As concentrações de metais do presente estudo apresentaram variação sazonal em função de cada metal avaliado. Em janeiro/08, os metais Cu, Cd e Fe apresentaram concentrações mais elevadas para a maioria dos pontos quanto comparados com os demais períodos de amostragem.

Quanto ao cobre, os valores detectados ultrapassaram o limite estabelecido pela resolução CONAMA 357/05 (9,0µg/L), nos pontos J3 em outubro/07 (51,88 µg/L), L (27,59 µg/L), M1 (15,76 µg/L) e J1 (9,8 µg/L) em janeiro/08. Os pontos M2 (11,7 µg/L), J5 (15,09 µg/L) e M3 (16,81µg/L), em janeiro/08, apresentaram valores elevados do metal em relação aos demais pontos. As concentrações mais baixas foram detectadas no ponto M1.

Pelaéz-Rodrigues (2001) também encontrou valores de cobre em maiores concentrações no período das chuvas na mesma bacia hidrográfica do presente trabalho, com amplitude de valores semelhantes ao presente estudo (33,0 a 44,0 µg/l).

Para o cádmio foi verificado um quadro preocupante, uma vez que em todos os períodos de coleta foi observado ao menos um ponto de amostragem com concentração acima do limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 (1,0 µg/L). Concentrações mais elevadas foram encontradas em F4 (23,0 µg/L – abril/07); J3 (13,0 µg/L – abril/07); M1 (6,49 µg/L – janeiro/08); J4 (6,25 µg/L – janeiro/08); L (5,95 - janeiro/08); I (5,92 µg/L – janeiro/08) e F1 (5,62 µg/L – janeiro/08). Os valores mais baixos foram encontrados em J2 e F3.

Quanto ao Fe, todos os pontos apresentaram concentrações elevadas em pelo menos um período de coleta, com valores acima do limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 (0,3 mg/L). Foi possível observar uma tendência ao aumento nas concentrações em direção montante-jusante dos rios Jacaré-Guaçu e Monjolinho, com valores bastante elevados no ponto M3 (17,077 mg/L) influenciando os valores encontrados no ponto J5 (4,332 mg/L). Os valores elevados de ferro possivelmente se devem à composição do solo da bacia (BARRETO, 1999) e aos efluentes industriais, já que foram os pontos após a área urbana que apresentaram as maiores concentrações deste metal.

Os valores mais elevados de cromo foram verificados em abril/07, apresentando-se todos os pontos acima do CONAMA 357/05 (50 µg/L), exceto J2 e J5. Os valores mais elevados foram verificados em L (526,0 µg/L) e I (507,00 µg/L), entretanto, todos os pontos apresentaram concentrações muito elevadas neste período. Foi possível verificar uma tendência ao aumento nas concentrações de cromo no sentido montante-jusante dos rios

Jacaré-Guaçu, Monjolinho e ribeirão do Feijão. Já o Zn e Mn não apresentaram um padrão sazonal regular nas concentrações e também não apresentaram valores acima do CONAMA 357/05 (0,18 e 0,1 mg/L). Os valores mais elevados de Zn e Mn foram encontrados em M3 (0,1745 mg/L – janeiro/08 e 0,245 mg/L – abril/07, respectivamente).

A tabela 4 faz uma análise comparativa das concentrações dos metais Cu, Cd, Cr, Zn, Mn e Fe em amostras de água de diferentes sistemas lóticos com o presente estudo. Os estudos em outros sistemas lóticos brasileiros possibilitam observar que as concentrações de metais são variáveis e estão relacionadas a uma série de fatores como: variações sazonais na vazão, intensidade e periodicidade nas descargas de efluentes, pH e condições de potencial redox, salinidade e temperatura (FORSTNER; WITTMANN, 1983).

**Tabela 4:** Análise comparativa das concentrações de metais ( $\mu\text{g/L}$ ) em amostras de água de diferentes sistemas lóticos. Valores destacados indicam concentrações acima do CONAMA 357/05.

Rios/Referência	Metais ( $\mu\text{g/L}$ )					
	Cu	Cd	Cr	Zn	Mn	Fe
CONAMA 357 (BRASIL, 2005)	9,0	1,0	50,0	180	100	300
Rio Monjolinho – (BARRETO .1999)	<b>80</b>	<b>20,0</b>	<b>90,0</b>	<b>1920</b>	<b>270</b>	<b>51260</b>
Rio Piracicaba – (MELETTI, 1997)	*	<b>51,0</b>	*	<b>2520</b>	*	*
Rio Mogi-Guaçu – (BRIGANTE et al.,2003).	<b>40,0</b>	<b>57,0</b>	170	<b>200</b>	<b>802</b>	<b>21650</b>
Rio Monjolinho (CAMPAGNA, 2005)	<b>32,0</b>	<b>4,24</b>	8,4	97,8	<b>339</b>	<b>13814</b>
Alto Jacaré-Guaçu (PELAÉZ-RODRIGUES, 2001)	<b>44,0</b>	na	na	<b>260</b>	<b>230</b>	<b>5319</b>
Rio Atibaia (DORNFELD, 2002)	<b>32,0</b>	<b>4,0</b>	43,0	51,0	<b>230</b>	-
Alto Jacaré-Guaçu (presente estudo)	<b>51,88</b>	<b>23,0</b>	<b>526,0</b>	<b>1745</b>	<b>245</b>	<b>17077</b>

\*na: não analisado

Como é possível verificar, os valores encontrados para metais dissolvidos no presente estudo estiveram dentro de uma faixa de concentração entre os valores mais baixos e mais elevados dos estudos utilizados para comparação. Exceção foi verificada para o cromo, onde foram encontrados valores muito elevados (526,0  $\mu\text{g/L}$ ) quando comparados com os demais trabalhos descritos.

A presença dos metais neste estudo se deve a diferentes fontes de poluição advindas da bacia hidrográfica, como os despejos industriais e domésticos nas áreas urbanas e a lixiviação e o carreamento dos efluentes agrícolas utilizadas nas culturas da bacia. Foram detectados os metais analisados em todo sistema, sendo possível observar gradiente crescente da nascente dos rios estudados em direção a confluência dos mesmos (rio Monjolinho, ribeirão do Feijão e rio Jacaré-Guaçu). É necessário ressaltar as concentrações elevadas de metais detectadas nos rios Itaqueri (i) e ribeirão do Lobo (L) durante todo o estudo.

Estudos realizados anteriormente em rios pertencentes à bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu (BARRETO, 1999; CAMPAGNA, 2005; PELAÉZ-RODRIGUES, 2001; SALAMI, 1996; SANTOS, 1993) registraram as mesmas tendências e gradientes

longitudinais e sazonais, o que releva a continuidade dos impactos no sistema analisado no decorrer dos anos, bem como a necessidade de um melhor planejamento e gerenciamento da bacia hidrográfica em questão.

## **5.2. Variáveis físicas e químicas do sedimento.**

A análise granulométrica possibilitou observar que os sedimentos da bacia são predominantemente constituídos de areia média e fina, com pequenas porcentagens de argila e silte. Além disso, durante todo o período de estudo, os sedimentos apresentaram-se inorgânicos, uma vez que as porcentagens de matéria orgânica estiveram abaixo de 10% (ESTEVES, 1988). Sedimentos com estas características representam um potencial de liberação de poluente para a coluna de água, uma vez que substâncias químicas, principalmente os metais, apresentam elevada afinidade por partículas finas, ligando-se às mesmas por adsorção e, tornando-se indisponível para a água (SOARES, 1999).

Em outubro/07 e janeiro/08, a granulometria tornou-se mais fina e também foi verificado um aumento no conteúdo orgânico dos pontos, principalmente nos pontos, J3; J5; F3 e I; M1 e M3.

Segundo Burton (2002), quanto maior a concentração de matéria orgânica em sedimentos, maior é sua capacidade de adsorver poluentes e nutrientes, tornando-se este compartimento, um potencial depósito de poluentes dentro do ecossistema aquático. Assim, as porcentagens mais elevadas das partículas mais finas em outubro/07 e janeiro/08 explicam as maiores concentrações de nitrogênio e fósforo dos sedimentos deste período.

Tanto o nitrogênio orgânico total quanto o fósforo total, foram encontrados em concentrações mais elevadas em outubro/07 e janeiro/08, para a maioria dos pontos coletados. Os valores máximos de nitrogênio orgânico total e fósforo total foram observados nos pontos M3, J5 e J3. Nos pontos localizados no rio Jacaré-Guaçu foi possível localizar um incremento de nitrogênio e fósforo nos sedimentos no sentido montante-jusante, com picos de concentração em J3 em janeiro/08. Todos estes pontos que apresentaram as concentrações mais elevadas de nitrogênio e fósforo durante o estudo estão localizados em áreas de cultivo de cana-de-açúcar, laranja e milho, com ampla utilização de fertilizantes. Além disso, em M3 e J5 existem assentamentos humanos que podem estar contribuindo com a carga de nutrientes por meio dos despejos de esgotos domésticos e de detergentes, que podem conter fósforo em sua formulação.

A composição granulométrica predominantemente inorgânica em todo o sistema pode explicar as baixas concentrações de nitrogênio e fósforo em escala temporal e longitudinal. Neste sentido, ressalta-se a influência da dinâmica de vazões que, em ecossistemas lóticos, representam uma interferência nos processos de sedimentação e remobilização das partículas mais finas.



No presente estudo, as concentrações de nitrogênio orgânico total foram inferiores àqueles encontrados por Dornfeld (2006) e Campagna (2005) encontraram para o rio Monjolino, cujas concentrações de fósforo total foram de até 794,60 µg/g, em sedimento com predominância de frações granulométricas mais finas e maiores porcentagens de matéria orgânica.

Um estudo realizado no rio Mogi-Guaçu por Lemes (2001) apresentou concentrações máximas de fósforo no sedimento em torno de 65 µg/g no período seco, com valores de matéria orgânica variando entre 0,11 e 26,5 %. Posteriormente, Brigante et al. (2003), encontraram porcentagens de nitrogênio orgânico total e fósforo total variando entre 0,01 e 0,39%; e 100 e 610 µg/g, respectivamente. A concentração máxima de matéria orgânica detectada pelos autores foi de 48%, duas vezes mais elevada que a concentração máxima encontrada no presente estudo (25%).

Andrade (2003), ao avaliar a qualidade do sedimento no trecho médio da bacia do Rio Doce, verificou concentrações de fósforo que variavam entre 0,04 e 0,53 µg/g e de nitrogênio entre 0,05 e 0,197%. O autor considerou que as baixas concentrações dos nutrientes poderiam ser explicadas pela característica arenosa dos sedimentos aliada às baixas concentrações de matéria orgânica.

Os pontos que apresentaram maiores concentrações de matéria orgânica e maiores porcentagens de partículas granulométricas mais finas (J3, J5, F3, I, M1, M3) foram os mesmos que apresentaram maiores concentrações de nutrientes e de metais biodisponíveis, corroborando a tendência que outros autores têm encontrado durante anos de estudo com metais em ecossistemas aquáticos (ANDRADE, 2003; BARRETO, 1999; CAMPAGNA, 2005; MARIANI, 2006; MARINELLI et al., 2000; MOREIRA, 2001; SILVA, 2002).

A matéria orgânica possui sítios coordenados que podem complexar metais-traço, em especial os cátions divalentes  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  (LOMBARDI et al., 2005). Soares et al. (1999) postularam que a capacidade dos metais se ligarem a matéria orgânica tende a diminuir na seqüência Cu, Zn, Pb, Cr, Ni e Cd. Além disto, microrganismos podem afetar a especiação e a biodisponibilidade de metais, uma vez que produzem matéria orgânica dissolvida (LOMBARDI et al., 2005), além deles próprios possuírem sítios de ligação em suas membranas plasmáticas.

Neste sentido, Salomons et al. (1987) descreve que a interface sedimento-água é marcada por um gradiente de oxidação-redução e, como conseqüência da degradação da matéria orgânica por bactérias, estas zonas redox podem migrar acima ou abaixo das camadas superiores do sedimento, promovendo o fluxo de metais entre os compartimentos.

Desta forma, as concentrações de metais e sua biodisponibilidade em sedimentos podem ser influenciadas por fatores físicos (temperatura, fase de associação, adsorção, regime deposicional), químicos (equilíbrio termodinâmico, cinética de complexação,

solubilidade em lipídios) e biológicos (interações tróficas, adaptações fisiológicas ou bioquímicas, microhabitats, tamanho e idade dos organismos, características da espécie) (NEWMAN; JAGOE, 1994).

De fato, os metais biodisponíveis no sedimento apresentaram concentrações mais elevadas, de maneira geral, em outubro/07 e janeiro/08 e nos pontos J3, J5, M3 corroborando as concentrações obtidas de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo total, constituindo mais um indicativo da importância da composição granulométrica na retenção de poluentes.

As concentrações de Cu, Cd e Cr variaram sazonalmente e espacialmente, sendo possível observar uma tendência a concentrações mais elevadas no sentido montante-jusante dos rios Jacaré-Guaçu, ribeirão do Feijão e rio Monjolinho, o que demonstra a influência do entorno da bacia na qualidade da água.

As concentrações de cobre estiveram mais elevadas em outubro/07 e janeiro/08, com valores mais elevados em M3 (15,04 mg/Kg – outubro/07); J5 (8,58 mg/Kg – outubro/07) e J3 (3,84 mg/Kg – janeiro/08). Pelaéz-Rodrigues (2001) encontrou valores mais elevados de cobre no ponto correspondente ao M3 do presente estudo, no entanto, no período seco. Este valor foi de 10,48 µg/g sendo, portanto, semelhante à concentração encontrada neste trabalho. O autor relacionou as elevadas concentrações de cobre às atividades agrícolas, corroborando os valores e possíveis causas detectadas no presente estudo.

Quanto ao Cd, a mesma tendência montante-jusante foi observada, no entanto, os valores estiveram mais elevados, de maneira geral, em julho/07. Os pontos F4, M1, M2, M3, L e I, apresentaram concentrações acima da TEL (threshold effect level) - concentração máxima limiar para a proteção da vida aquática (0,6 mg/Kg) estabelecida pelo CCME (2003). Considerando-se a menor afinidade de Cd pela matéria orgânica diante dos outros metais, é possível sugerir que as maiores concentrações verificadas no período seco podem ser decorrentes da menor diluição das águas (menor vazão e pluviosidade), bem como das propícias condições para deposição de partículas. Estas concentrações podem estar relacionadas a despejos pontuais de atividades industriais e agrícolas, uma vez que o metais está presente na formulação de pesticidas. É necessário mencionar as elevadas concentrações em pontos como na nascente do rio Monjolinho (M1) e na captação de água para abastecimento do SAAE São Carlos (F4).

O mesmo verificado para os metais Cu e Cd em relação ao gradiente de concentrações no sentido montante-jusante também foi verificado para Cr. O valores de cromo não estiveram acima da TEL (37,3 mg/Kg), no entanto, estes foram elevados em abril/07 em relação aos demais períodos. As concentrações mais elevadas foram detectadas em L (16,45 mg/Kg); M1 (16,12 mg/Kg); I (15,50 mg/Kg); F4 (14,025 mg/Kg) M2

e M3 (12,80 mg/Kg) em abril/07. Ressalta-se a elevada concentração de cromo verificada na nascente do rio Monjolinho (M1), como verificado por Campagna (2005) para o mesmo ponto de coleta.

Quanto ao Fe, Zn e Mn não foram verificadas tendências no sentido espacial, entretanto, as concentrações estiveram mais elevadas em outubro/07 e janeiro/08. A concentração mais elevada de Fe foi detectada em J5 (15186,80 mg/Kg – outubro/07); de Zn foi verificada em M3 (154,63 mg/Kg) e J5 (46,55 mg/Kg), ambas em outubro/07. A concentração de Zn detectada em M3 esteve acima da TEL (120,0 mg/Kg). Quanto ao Mn, os pontos M3 e J3 apresentaram as concentrações mais elevadas, sendo elas 292,50 (outubro/07) e 229,19 mg/Kg (janeiro/08), respectivamente.

No Brasil, não existe uma legislação que estabelece critérios para metais e outros poluentes em sedimentos. Desta forma, na tentativa de comparar e avaliar os valores verificados em diferentes ecossistemas aquáticos os resultados foram comparados com os valores-guia de qualidade de sedimentos (VGQS) elaborados pelo CCME “Canadian Council of Ministers of the Environment” em 2003. Este guia estabelece concentrações limiares que poderão (PEL) ou não (TEL) causar efeitos tóxicos aos organismos bentônicos. A elaboração deste guia foi baseada nos resultados de testes de toxicidade com sedimento e água intersticial, estrutura da comunidade bentônica, tríade da qualidade de sedimentos, análise de resíduos em tecidos e as normas de qualidade de água (CCME, 1995). Assim, este guia é bastante completo, uma vez que se baseia em critérios químicos, toxicológicos e biológicos para uma avaliação integrada dos sedimentos. O VGQS apresenta concentrações-limite para metais totais e, no presente estudo foram analisados apenas os metais biodisponíveis.

A tabela 5 compara os valores de metais em sedimentos de diferentes rios brasileiros com os obtidos no presente estudo. Como é possível observar, as concentrações de Cu e Cr foram menores que os valores de TEL e semelhantes ou mais baixas que aquelas obtidas para outros rios. Já para o Cd, os valores ultrapassaram o TEL em todos os rios avaliados no presente estudo, exceto no Jacaré-Guaçu, no entanto, estiveram abaixo do PEL.

Quanto ao Zn, foram encontrados valores acima do TEL no rio Monjolinho, no entanto, os valores foram semelhantes aos demais estudos. Ressalta-se que, em estudo anterior (CAMPAGNA, 2005), foram encontradas concentrações de zinco cerca de 10 vezes mais elevadas. Apesar dos valores observados no rio Jacaré-Guaçu não terem ultrapassado o TEL, foi possível verificar que em estudo anterior nos mesmos pontos do rio (PELAÉZ-RODRIGUES, 2001), as concentrações de Cu e Zn estiveram cerca de duas vezes e 15 vezes menores que no presente estudo, respectivamente. Além disto, não foram detectados os metais Cd e Cr.

Este quadro demonstra a contínua degradação do rio durante os anos, indicando a interferência antropogênica no sistema. Ressalta-se que as concentrações analisadas foram de metais biodisponíveis e, o TEL considera os valores de metais totais. Assim, estas concentrações demonstram os impactos instalados na bacia hidrográfica, principalmente no sentido confluência dos rios Monjolinho, Jacaré-Guaçu e Ribeirão do Feijão.

**Tabela 5:** Valores máximos de metais biodisponíveis em rios brasileiros com destaque para os valores acima da TEL (CCME, 2003).

Metais (mg/Kg) →	Cu	Cd	Cr	Zn	
<b>CCME (2003)</b>	<b>TEL<sup>1</sup></b>	35,7	0,60	37,3	123
	<b>PEL<sup>2</sup></b>	90,0	3,53	197	315
Rio Jacaré-Guaçu – presente estudo	8,58	0,32	10,37	46,55	
Rio Monjolinho – presente estudo	15,04	<b>0,90</b>	16,12	<b>154,63</b>	
Ribeirão do Feijão – presente estudo	1,16	<b>0,60</b>	14,02	4,73	
Rio Itaqueri – presente estudo	0,70	<b>0,97</b>	15,50	2,33	
Ribeirão do Lobo – presente estudo	0,44	<b>0,95</b>	16,45	9,38	
Rio Jacaré-Guaçu – (PELAÉZ-RODRIGUES, 2001)	2,00	-	-	3,49	
Rio Monjolinho – (CAMPAGNA, 2005)	27,71	0,08	4,50	<b>1328,0</b>	
Rio Mogi-Guaçu e Rio Pardo – (LEMES, 2001)	14,53	<b>8,2</b>	3,57	82,60	
Rio Atibaia – (DORNFELD, 2002)	14,20	0,35	<b>44,30</b>	46,70	
Rio Tietê – (FRACÁCIO, 2001)	<b>60,00</b>	<b>1,67</b>	<b>43,33</b>	<b>223,33</b>	
Rio Piracicaba – (RODGER et al, 2005)	33,90	<b>1,83</b>	8,86	101,15	

<sup>1</sup> TEL - threshold effect level (concentração abaixo da qual são raramente observados efeitos biológicos adversos).; <sup>2</sup> PEL - probable effect level (concentração acima da qual são freqüentemente esperados os efeitos biológicos adversos).

## 6. CONCLUSÕES

A bacia do Alto Jacaré-Guaçu apresenta um processo de degradação geral decorrente das diferentes formas de poluição originárias do uso e ocupação do solo.

Os rios Jacaré-Guaçu, Monjolinho e ribeirão do Feijão apresentaram gradiente longitudinal crescente de degradação no sentido da nascente-confluência, com destaque para a contribuição indireta dos rios Itaqueri e ribeirão do Lobo, por meio da represa do Lobo (Itirapina-SP) no ponto J1.

As elevadas concentrações de nitrogênio, fósforo e metais (especialmente cádmio e cromo), evidenciam a contaminação da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu, decorrente das diferentes formas de poluição (pontual: caracterizada por lançamento de efluentes domésticos e industriais não tratados e, difusa: constituída principalmente pelo escoamento superficial e lixiviação de agrotóxicos e fertilizantes utilizados nas monoculturas de cana-de-açúcar e laranja do entorno).

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. American Water Work Association; Water Control Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19 ed. New York, 1995. 1268p.
- ANDERSEN, J.M. Na ignition method for determination of total phosphorous in lake sediments. *Water Res.*, v.10, p. 329-331, 1976.
- ANDRADE, C. A. Estudo ecotoxicológico no trecho médio da bacia do rio Doce – MG. 2003, 195p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS- ABNT. Análise granulométrica de solos. 32p, 1968.
- BAIRD, C. Química ambiental. Artmed Editora, Porto Alegre-RS, 2002, 622p.
- BARRETO, A.S. Estudo da distribuição de metais em ambiente lótico, com ênfase na assimilação das comunidades biológicas e a sua quantificação no sedimento e água. 1999. 274 p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.
- BERTOLETTI, E. Estimativa de efeitos tóxicos crônicos com *Danio rerio* (Pisces, Cyprinidae). 2000. 118p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.
- BILLEN, G.; GARNIER, J.; HANSET, P. Modelling phytoplankton development in whole drainage networks: the Riverstrahler Model applied to the Siene river system. *Hydrobiol.*, v. 289, p. 119-137, 1994.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. 2005, 23p.
- BRIGANTE, J. et al. Praguicidas nos sedimentos do rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. *Limnologia Fluvial. Um estudo no Rio Mogi-Guaçu*. São Carlos, Rima, 2003, p.121-128.
- BURTON Jr., G.A. Sediment quality criteria in use around the world. *Limnology*, v.3, p. 65-75, 2002.
- CAMPAGNA, A.F. (2005). Toxicidade dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho (São Carlos – SP): ênfase nas substâncias cobre, aldrin e heptacloro. 2005. 268p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.
- CANADA. Canadian Council Of Ministers of the Environment – CCME. 2003. *Summary of existing Canadian Environmental Quality Guidelines – Summary Table*. Disponível em: [http://www.ccme.ca/assets/pdf/e1\\_062.pdf](http://www.ccme.ca/assets/pdf/e1_062.pdf), acesso em 12 nov. 2004.
- CAPPELINI, L.T.D. Análise dos pesticidas ametrina, atrazina, diuron e fipronil em amostras de água do Ribeirão do Feijão – São Carlos – SP. 2008. 83p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.
- CHAPMAN, D. Water quality assessments: a guide to use of biota, sediments and water in environment monitoring. 2.ed. London: Chapman and Hall, 1992. 609p.
- COELHO, K. S. da. Estudos Ecotoxicológicos com ênfase na avaliação da toxicidade em surfactantes aniônicos nos cladóceros *Daphnia similis*; *Ceriodaphnia dubia* e *Ceriodaphnia. Silvestrii*. 2008. 166p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.
- CORBI, J.J.; STRIXINO, S.T.; SANTOS, A.; DEL GRANDE, M. Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de cana-de-açúcar (Estado de São Paulo, Brasil). *Química Nova*, v.29, n.1, p.61-65, 2006.

DELELLO, D. Composição e distribuição (espacial e temporal) de macrófitas aquáticas no reservatório do Lobo (Broa), Itirapina/Brotas, SP. 2008. 160p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

DORNFELD, C. B. Utilização de análises limnológicas e bioensaios ecotoxicológicos em macroinvertebrados bentônicos para o diagnóstico ambiental do reservatório de Salto Grande (Americana – SP). 2002. 196p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

DORNFELD, C. B. Utilização de *Chironomus* sp (Diptera, Chironomidae) para a avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais. 2006. 239p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

ESTEVES, F.A. Fundamentos de limnologia. Rio de Janeiro, Interciência: FINEP, Rio de Janeiro, 1988.

FERREIRA NETO, M. Análise citogenética em algumas espécies de peixes em uma região de divisor de águas entre riachos de bacias hidrográficas distintas. 2008. 115p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, 2008.

FRACÁCIO, R. Estudos limnológicos e ecotoxicológicos (laboratoriais e *in situ*), com ênfase na avaliação de metais e de pesticidas organoclorados em peixes (*Danio rerio* e *Poecilia reticulata*) – Sub-bacia do Rio Monjolinho. 2006. 219p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, 2006.

GILLESPIE, W.B.; RODGHERS, J.H.; DORN, P.B. Response of aquatic invertebrates to a linear alcohol ethoxylate surfactant in stream mesocosms. *Ecotoxycol. Environm. Saf.* v. 41; p.215-221, 1998.

GOLTERMAN, H.L.; CLYMO, R.S.; OHNSTAD, M.A.M. Methods of physical and chemical analysis of freshwater. 2.ed., Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1978. 213p.

HEATH, A.G. Water Pollution and Fish Physiology. 2a. ed. Lewis Publishers, Boca Raton, 1995. 359 p.

FORSTNER, U. Inorganic sediment chemistry and elemental speciation. In: BAUDO, R.; GIESY, J.P.; MUNTAU, H. *Sediments: Chemistry and toxicity of In-Place Pollutants*. Lewis Publishers, Boston, 1990. p. 61-97.

FÖRSTNER, U.; WITTMANN, G.T.W. Metal pollution in the aquatic environment. 2. ed., Berlin, Springer-Verlag, 1983.

FRACÁCIO, R. Utilização de bioensaios ecotoxicológicos com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae) e análises limnológicas para a avaliação ambiental dos reservatórios do médio e baixo Tietê (SP). 2001, 233p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

JACKSON, J. Metais pesados e outras substâncias tóxicas inorgânicas. In: MATSUI, S.; BARRETT, B.F.D.; BANERJEE, J. *Diretrizes para o gerenciamento de lagos vol.4: gerenciamento de substâncias tóxicas em lagos e reservatórios*. São Carlos, Instituto Internacional de Ecologia, 2002. p. 71-88.

KOLOREFF, K. Determination of nutrients. In: GRASSOHOF, K. *Methods of seawater analysis*. Verlag. Chemie. Weinheim. 1976. p.117-181.

LEGENDRE, L.; LEGENDRE, P. Numerical Ecology. Elsevier Scientific Publishing Company, New York, 1973.

LEMES, M.J.L. Avaliação de metais e elementos-traço em águas e sedimentos das bacias hidrográficas dos rios Mogi-Guaçu e Pardo, São Paulo., 2001, 215p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, 2001.

- LOMBARDI, A.T.; HIDALGO, M.R.; VIEIRA, A.H. Copper complexing properties of dissolved organic materials exuded by the freshwater microalgae *Scenedesmus acuminatus* (Chlorophyceae). *Chemosphere*, v.60, n.4, p.453-459, 2005.
- MACKERETH, S.J.H.; HERON, J.; TALLING, H.S. Water analysis some revised methods for limnology. *Kendal Freshwater Biol. Assoc. Sci. Publ.* 36, Wilson and Sons, 1978, 117p.
- MARIANI, C. F. Reservatório Rio Grande: caracterização limnológica da água e biodisponibilidade de metais-traço no sedimento. 2006. 138p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- MARINELLI, C.E. et al. Limnologia. In: ESPÍNDOLA, E.L.G; SILVA, J.S.V; MARINELLI, C.E; ABDON, M.M. *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*, São Carlos, Editora Rima, 2000. p. 133-149.
- MELETTI, P.C. Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade aguda com peixes. 1997. 148p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.
- MOREIRA, A. S. Avaliação da influência da agricultura na presença de metais pesados nas águas do Baixo Rio Pardo – SP. 2001. 134p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.
- NEWMAN, M.C.; JAGOE, C.H. 1994. Ligand and the bioavailability of metals in aquatic environments. In: HAMELINK, J.L.; LANDRUN, P.F.; BERGMAN, H.L.; BENSON, W.H.. *Bioavailability, physical, chemical, and biological interactions*. Seção 3, 1994. p.39-62.
- NOVELLI, A. Estudo limnológico e ecotoxicológico da água e sedimento do rio Monjolinho – São Carlos (SP), com ênfase nas substâncias de referência cádmio e cobre. 2005, 211p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2005.
- NUSH, E.A. Comparison of different methods of chlorophyll and phaeopigments determination. *Arch. Fur. Hidrobiol.*, v.4, p. 14-36, 1980.
- PELAÉZ-RODRIGUES, M. Avaliação da qualidade da água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu / SP (Ribeirão do Feijão e Rio do Monjolinho) através de variáveis físicas, químicas e biológicas. 2001. 145p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.
- PERES, A.C. Uso de macroalgas e variáveis físicas, químicas e biológicas para a avaliação da qualidade da água do rio Monjolinho, São Carlos, Estado de São Paulo. 2002. 116p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.
- REBOUÇAS, A.C. Água Doce no Mundo e no Brasil. In: REBOUÇAS, A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. *Águas Doces no Brasil: Capital Ecológico, Uso e Conservação*. São Paulo, Ed. Escrituras, 1999. p. 12-21.
- REIS FILHO, R.W. Hormônios estrógenos no rio do Monjolinho, São Carlos – SP: uma avaliação da problemática dos desreguladores endócrinos ambientais. 2008. 162p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2008.
- RODGHER, S. et al. Limnological and Ecotoxicological studies in the cascade of reservoirs of the Tietê river (São Paulo, Brazil). *Brazilian Journal of Biology*, v65, n.4, p.697-710, 2005.
- SÃO PAULO. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB). Relatório de águas interiores no Estado de São Paulo. São Paulo, 2005. 488p.
- SALAMI, L.N.B.P. Estudo das influencias climáticas e antropogênicas nas características físico-químicas no rio Monjolinho. 1996. 136p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1996.

SALOMONS, W. ROOIJ, N.M. de, KERDIJK, H., BRIL, J. Sediments as a source for contaminants? *Hydrobiol.*, v.149, p. 13-30. 1987.

SANTOS, M.F. dos. Subsídios para o planejamento conservacionista a bacia hidrográfica do Ribeirão do Feijão (São Carlos, Itirapina e Analândia, SP). 1993. 222p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.

SÉ, J.A. S. O rio Monjolinho e sua bacia hidrográfica como integradores de sistemas ecológicos: um conjunto de informações para o início de um processo de pesquisas ecológicas, de educação e gerenciamento ambientais em longo prazo. 1992. 381p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1992.

SILVA, M.R.C. (2002). Estudos de sedimentos da bacia hidrográfica do rio Moji-Guaçu com ênfase na determinação de metais. 2002. 98p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

SILVÉRIO, P.F. Partição, biodisponibilidade e toxicidade de metais pesados a organismos bentônicos em sedimentos. 1999. 78p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1999.

SOARES, H.M.V.M. et al. Sediments as monitors of heavy metal contamination in the Ave River Basin (Portugal): Multivariate analysis of data. *Environ. Pollut.*, v.105, p. 311-323, 1999.

SORENSEN, E.M.B. Metal poisoning in fish. Boca Raton, Press. 2001. 322p.

SUNDA, W.G.; HUNTSMAN, S.A. Processes regulation cellular metal accumulation and physiological effects: Phytoplankton as model system. *The science of the total environment*, v.219, p. 165-181, 1998.

TAM, N.F.Y.; WONG, Y.S. Spatial and temporal variations of heavy metal contamination in mangrove swamp in Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin.*, v.31, n.4/12, p. 154-261, 1995.

TEIXEIRA, C.; TUNDISI, J.G.; KUTNER, M.B. Plankton studies in mangrove environmental – the standing stock and some ecological factors. *Boletim do Instituto de Oceanografia da USP*. V. 24. p. 23-41, 1965.

TRINDADE, M. Nutrientes em sedimentos da represa do Lobo (Brotas - Itirapina). 1980. 129p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1980.

VIANA, S.M. Riqueza e distribuição de macrófitas aquáticas no rio Monjolinho e tributários (São Carlos, SP) e análise de sua relação com variáveis físicas e químicas. 2005, 130p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.



## Capítulo 3

### *Avaliação ecotoxicológica dos sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu.*

---

#### 1. INTRODUÇÃO

A ecotoxicologia e toxicologia ambiental são termos utilizados para descrever a ciência que estuda os efeitos adversos de substâncias químicas liberadas no ambiente e na biota (FERNICOLA et al., 2003). Neste contexto, a ecotoxicologia aquática pode ser definida como o estudo dos efeitos dos agentes tóxicos nos organismos aquáticos a níveis celular, individual, populacional e nas comunidades (ADAMS, 1995).

Os testes de toxicidade devem ser considerados como ferramenta indispensável na avaliação da qualidade da água e sedimento, uma vez que as análises físicas e químicas dos poluentes no ambiente fornecem apenas informações a respeito do tipo e quantidade das substâncias, não refletindo os reais efeitos destas detecções nos organismos (ZAGATTO, 1999). Neste sentido, ao menos cinco propósitos distintos podem ser dados para qualquer teste de toxicidade: predição, diagnóstico, classificação, regulação e o mapeamento da contaminação (CAIRNS et al., 1998).

De acordo com Adams (1995), existem os testes de toxicidade aguda, que medem os efeitos severos sofridos pelos organismos em curto período de exposição, os testes de toxicidade crônica que se caracterizam pela longa duração e utilizam todo ciclo de vida do organismo. Neste último, são avaliados os efeitos indiretos do agente tóxico como alterações no crescimento, na reprodução e os efeitos subletais, nos quais estão incluídos as mudanças no comportamento (dificuldade de movimentação; aumento na frequência da abertura do opérculo), alterações fisiológicas, bioquímicas e histológicas.

Há também os testes de toxicidade crônica parcial que se caracterizam pela duração intermediária entre os testes de toxicidade aguda e crônica. Neste teste é utilizada parte do ciclo de vida do organismo-teste, de preferência a mais sensível, sendo feitas as mesmas avaliações dos testes crônicos (BURTON; MACPHERSON, 1995). Com estas adequações, estes testes apresentam menor custo e maior rapidez na obtenção dos resultados (ROEX et al., 2002).

A escolha um organismo deve ser realizada com base em critérios, como: ampla faixa de sensibilidade a substâncias tóxicas; abundância e disponibilidade; se possível, a espécie deve ser endógena para melhor representar os ecossistemas; importância comercial, recreacional ou ecológica; facilidade de cultivo em laboratório; grande quantidade

de informações literárias a respeito da biologia da espécie e ciclo de vida relativamente curto (RAND; PETROCELLI, 1985).

Kristensen (1994) e Woltering (1984) demonstraram, desde 1967, que estudos com peixes nos primeiros estágios de vida (embriões, larvas e juvenis) são os mais sensíveis aos impactos ambientais, uma vez que os testes de toxicidade com estes estágios demonstram um possível comprometimento das fases de crescimento, reprodução e sobrevivência dos organismos em ambientes poluídos, constituindo uma ferramenta importante para um adequado monitoramento ambiental. Além disso, testes realizados com as fases iniciais de vida fornecem melhores informações para decisões de proteção ambiental, ao contrário de testes com indivíduos adultos que apenas comprovam os problemas previamente existentes (KRISTENSEN, 1994; ZAGATTO, 1999).

Os peixes em estágios de ovos, embriões, larvas e juvenis estão sendo amplamente utilizados em testes de toxicidade de curta e longa duração (BANERJEE; BHATTACHARYA, 1995; CAMPAGNA et al., 2006; 2007; 2008; 2008b; FRACÁCIO et al., 2008; 2009; MANDEL; KULSHESTHA, 1980). A sobrevivência e o crescimento das larvas e juvenis são as variáveis afetadas primeiramente, seguidas das alterações no tempo e na habilidade de eclosão, aumento da fragilidade do córion, alterações fisiológicas, bioquímicas e histológicas, além de más formações (KRISTENSEN, 1994).

As alterações histológicas decorrentes de efeitos crônicos e crônicos parciais geralmente são precedidas por danos fisiológicos e bioquímicos e, quando são detectados, os efeitos adversos são inquestionáveis (EWALD, 1995). Neste sentido, é possível avaliar os efeitos crônicos dos poluentes em nível individual, bem como estabelecer previsões sobre estes efeitos em comunidades de peixes (POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDIZC, 1994). Além disto, conforme a severidade da lesão encontrada nas brânquias é possível conhecer a qualidade do ambiente, atribuindo graus perturbação e poluição no sistema (CAMARGO; MARINEZ, 2007).

Diante da dificuldade em encontrar uma única espécie que apresente todas as características acima, muitas espécies com normas já padronizadas para utilização em testes de toxicidade em laboratório são utilizadas paralelamente a espécies representativas do ambiente, as quais responderão melhor às condições encontradas nos ambientes naturais onde vivem (CAMPAGNA, 2005; FRACÁCIO, 2006).

## **2. OBJETIVO**

O objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade de amostras de sedimento da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu por meio de testes de toxicidade crônica parcial utilizando peixes (*Danio rerio* e *Poecilia reticulata*) como organismos-tese.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Organismos-teste**

A espécie *Danio rerio* foi escolhida como organismo-teste porque atende aos critérios mencionados anteriormente (BARRIONUEVO, 1995). Além disso, é considerada como uma espécie sensível, sendo recomendada pelas normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2004; 2007) em bioensaios.

A espécie *Poecilia reticulata*, além de atender a todos os critérios necessários para ser utilizada em testes de toxicidade, é uma espécie adaptada aos ecossistemas tropicais e recomendada pelas normas da CETESB (1990).

Para haver possibilidade de comparação dos resultados dos bioensaios entre ambas as espécies a fase juvenil foi escolhida para a realização dos testes, uma vez que a espécie *Poecilia reticulata* é vivípara e não apresenta o estágio larval de desenvolvimento (MEFFE; SNELSON JR, 1989).

#### **3.2. Obtenção e manutenção dos organismos-teste**

Os indivíduos juvenis de *Danio rerio* e de *Poecilia reticulata* foram obtidos comercialmente e mantidos em laboratório por um período de 15 dias para aclimação antes de serem expostos em testes de toxicidade. Os organismos foram aclimatados em água reconstituída, substituindo cerca de 1/3 diariamente a água de cultivo.

A aeração foi constante, a temperatura controlada ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ ), a dureza dentro da faixa de 40 a 48mg/L de  $\text{CaCO}_3$ , o pH entre 7,0 e 7,6 e a condutividade elétrica próxima a  $160\mu\text{S/cm}$ . Três vezes ao dia era ministrada a alimentação, obtida comercialmente (Tetrafin<sup>®</sup>) e provida com cerca de 45% de proteína (ABNT, 2004). Esta alimentação foi suspensa 24h antes da realização dos bioensaios.

#### **3.3. Testes de sensibilidade**

Cada lote de organismos adquiridos teve sua sensibilidade avaliada empregando-se a substância de referência  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (dicromato de potássio) (ABNT, 2004). A finalidade desse procedimento é assegurar que a resposta obtida nos bioensaios de toxicidade seja atribuída somente às substâncias tóxicas presentes, e não a problemas relativos à saúde dos organismos-teste.

O procedimento consistiu na exposição dos peixes a diferentes concentrações da substância de referência por 96 horas, tendo sido avaliada a mortalidade (ABNT, 2004). Depois do período de exposição, a  $\text{CL}_{50}$  (96h) em regime estático, determinada nos experimentos deveria estar dentro da faixa de sensibilidade pré-estabelecida por Campagna (2005), para que os organismos fossem expostos aos testes de toxicidade com as amostras ambientais.

### 3.4. Homogeneidade dos organismos-teste

Antes de iniciar os bioensaios, os organismos juvenis de *Danio rerio* e *P. reticulata* foram avaliados biometricamente, com a finalidade de assegurar a homogeneidade dos lotes adquiridos. As medidas foram realizadas em 10% dos organismos utilizados nos bioensaios, sendo estes posteriormente descartados, evitando-se assim, que indivíduos estressados por este procedimento fossem expostos em testes de toxicidade.

O comprimento padrão foi obtido através de um paquímetro profissional, marca Mitutoyo, e o peso total de cada indivíduo foi obtido com auxílio de balança analítica de quatro casas decimais da marca Scientech, modelo AS 210.

### 3.5. Bioensaios de toxicidade com sedimento

Foram realizados bioensaios com amostras de sedimento com base na metodologia descrita em Burton e MacPherson (1995) e a norma da Secretaria Estadual do Meio Ambiente (SEMA, 1988) para testes de toxicidade crônica de curta duração para organismos embriolarvais.

Quanto à preparação das amostras para os testes, os sedimentos foram dispostos em recipientes plásticos descartáveis com capacidade para 2L e água reconstituída foi adicionada na proporção 1:4 sedimento/água. Os controles foram constituídos de água reconstituída (ABNT, 2004) com as mesmas condições descritas no item 3.2. Os experimentos foram conduzidos sob condições de temperatura ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) e fotoperíodo (12h12) controladas para cada espécie, além de aeração constante. As variáveis pH, condutividade, dureza, oxigênio dissolvido e mortalidade foram acompanhados a cada 48hs.

Os testes foram realizados em regime estático, com duração de sete dias, onde 30 organismos foram expostos em três réplicas para cada amostra ambiental. As variáveis biológicas avaliadas nos bioensaios foram sobrevivência, crescimento e morfologia das brânquias.

A fase juvenil foi identificada de acordo com o tamanho dos organismos, seguindo-se a correlação comprimento com a maturação gonadal estabelecida por Maack e Segner (2003). Os organismos-teste utilizados apresentaram o comprimento médio de  $1,41 \pm 0,2383$  cm (*D. rerio*) e  $1,40 \pm 0,2978$  cm (*P. reticulata*).

### 3.6. Avaliação dos resultados de toxicidade

Durante os bioensaios, os peixes mortos foram retirados e contados. Para a avaliação dos resultados de sobrevivência dos diferentes pontos amostrados no sistema, foi aplicada a análise estatística de Fisher, por meio do *software* Bio Estat. Esta análise consistiu em comparar valores de sobrevivência (obtidos no final do experimento) dos

organismos entre duas amostras, que neste caso, foram sempre comparadas com o lote controle.

Quanto ao crescimento, os organismos sobreviventes nos bioensaios foram avaliados biometricamente quanto ao peso e comprimento total. Estas variáveis foram comparadas estatisticamente em relação ao lote controle para a avaliação de efeitos crônicos no desenvolvimento dos organismos. O teste estatístico utilizado foi o Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis (não paramétricos) seguido, quando necessário, do pós-teste de Dunn. A toxicidade crônica foi considerada presente quando os efeitos significativos foram constatados na sobrevivência ou no crescimento dos organismos.

### **3.7. Estudos histológicos**

Os organismos que sobreviveram nos testes de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento foram encaminhados para análise histológica das brânquias. Os estudos histológicos foram conduzidos segundo prática rotineira utilizada em no Laboratório de Dinâmica de Populações de Peixes, no Departamento de Hidrobiologia da UFSCar, onde os organismos foram fixados em *bouin* por 18 horas e lavados em água corrente por 24h. Depois da lavagem, as amostras foram submetidas a uma prévia desidratação (antes do procedimento de desidratação propriamente dito), onde uma série de alcoóis 30%, 40%, 50%, 60% e 70% foram substituídos a cada 24h. A partir do álcool 70%, foi realizada a desidratação para a inclusão em parafina.

A trimagem para a obtenção dos cortes seriados (4,0 – 6,0 micrômetros) foi efetuada em micrótomo MICRON HM 340E com navalha de aço. Depois de cortados, os materiais foram corados com hematoxilina-eosina (HE), sendo posteriormente analisados sob microscópio óptico.

Foram analisados tecidos branquiais, uma vez que estes representam um alvo primário de contato com o meio externo. O tipo e grau das alterações foram baseados em Poleksic e Mitrovic-Tutundisic (1994) (Tabela 1).

**Tabela 1** – Principais alterações branquiais e estágio de cada lesão correspondente, segundo Poleksic e Mitrovic-Tutundisic (1994).

Lesões branquiais	Estágio
Hipertrofia do epitélio respiratório	I
Desprendimento das células do epitélio	I
Infiltração de leucócitos no epitélio branquial	I
Adelgamento do epitélio	I
Hiperplasia das células epiteliais	I
Hiperplasia na base das lamelas secundárias	I
Hiperplasias irregulares nas células epiteliais	I
Fusão no ápice das lamelas secundárias	I
Diminuição no tamanho das lamelas secundárias	I
Hiperplasia e hipertrofia das células mucosas	I
Esvaziamento com desprendimento das células mucosas	I
Hiperplasia e hipertrofia das células cloreto	I
Presença de células cloreto nas lamelas secundárias	I
Espessamento dos vasos sanguíneos	I
Parasitas nas brânquias	I
Ruptura e desprendimento do epitélio branquial	II
Adensamento tecidual em decorrência da proliferação celular	II
Fusão completa de todas as lamelas secundárias	II
Hemorragias com a ruptura dos tecidos	II
Aneurismas	II
Fibrose	III
Necrose	III

Fonte: modificado de Fracácio et al., 2008.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Homogeneidade dos lotes de peixes.

Os lotes de *D. rerio* e *P. reticulata* adquiridos comercialmente para os testes com sedimento, durante todo o período de estudo, apresentaram correlação peso-comprimento significativa, com coeficiente de correlação acima de 0,7120 e 0,7961, respectivamente. Todos os lotes apresentaram  $p < 0,05$ , indicando a homogeneidade dos organismos-teste (Tabelas 2 e 3).

**Tabela 2:** Valores médios de peso e comprimento de *D. rerio* na fase juvenil, e os respectivos coeficientes de correlação de Spearman (rs), para os diferentes lotes adquiridos comercialmente.

Variáveis	<i>D. rerio</i> juvenis			
	Abril/07	Julho/07	Outubro/07	Janeiro/08
P (g)	0,035 ± 0,013	0,063 ± 0,026	0,057 ± 0,020	0,013 ± 0,010
CP (cm)	1,48 ± 0,15	1,61 ± 0,21	1,56 ± 0,16	1,01 ± 0,14
rs	0,7120	0,9641	0,9250	0,9179
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0002

\* P: peso médio; CP: comprimento padrão.

**Tabela 3:** Valores médios de peso e comprimento de *P. reticulata* na fase juvenil, e os respectivos coeficientes de correlação de Spearman (rs), para os diferentes lotes adquiridos comercialmente.

Variáveis	<i>P. reticulata</i> juvenis			
	Abril/07	Julho/07	Outubro/07	Janeiro/08
P (g)	0,061± 0,025	0,086 ± 0,025	0,017± 0,016	0,095 ± 0,048
CP (cm)	1,46 ± 0,18	1,62 ± 0,14	0,90 ± 0,24	1,63 ± 0,27
rs	0,9675	0,7961	0,9679	0,9741
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

\* P: peso médio; CP: comprimento padrão.

#### 4.2. Sensibilidade dos lotes de peixes

Os lotes de *D. rerio* e *P. reticulata* utilizados nos testes com amostras de sedimento, apresentaram a sensibilidade ao dicromato de potássio dentro da faixa estabelecida por Campagna (2005) que é de 61,68 a 140,91 mg/L para *D. rerio* e de 37,39 a 121,48 mg/L para *P. reticulata* (Tabelas 4 e 5).

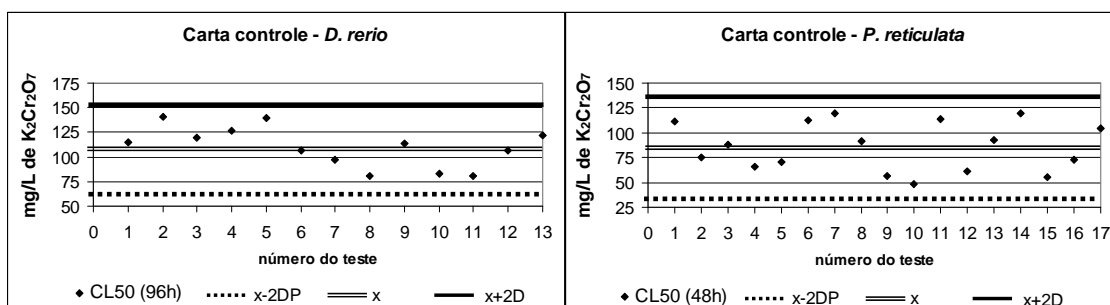
**Tabela 4:** Valores de CL<sub>50;96h</sub> e intervalo de confiança 95% obtidos nos testes de sensibilidade com *D. rerio* ao dicromato de potássio e faixa de sensibilidade.

Data do teste	CL <sub>50;96h</sub> (mg/L)	Intervalo de confiança (95%)
25/04/07	115,11	(100,8 - 131,44)
23/07/07	140,26	(124,45 - 158,08)
22/11/07	119,41	(102,58 - 139,00)
01/02/08	126,79	(118,72 - 135,41)
01/02/09	140,09	(84,81 - 127,74)
08/05/09	106,81	(87,34 - 130,60)
22/05/09	97,59	(77,85 - 122,34)
04/06/09	81,12	(68,56 - 95,98)
15/06/09	113,6	(97,41 - 132,48)
03/12/09	83,03	(63,79 - 108,07)
10/12/09	81,12	(63,95 - 102,90)
17/12/09	106,81	(87,34 - 130,6)
10/02/10	122,47	(118,72 - 135,41)
CL <sub>50</sub> : 96h média ( $\chi$ )	110,32 mg/L	
Desvio padrão (DP)	20,31	
Coeficiente de variação (CV)	18,42 %	
Limite inferior ( $\chi$ -2DP)	69,96 mg/L	
Limite superior ( $\chi$ +2DP)	150,96 mg/L	

**Tabela 5:** Valores de  $CL_{50;48h}$  e intervalo de confiança 95% obtidos nos testes de sensibilidade com *P. reticulata* ao dicromato de potássio e faixa de sensibilidade.

Data do teste	$CL_{50;48h}$ (mg/L)	Intervalo de confiança (95%)
25/04/07	110,94	(94,78 - 129,86)
10/05/07	75,21	(49,28 – 114,8)
23/07/07	88,54	(73,98 – 105,97)
13/08/07	66,25	(51,87 – 84,62)
22/11/07	70,56	(54,32 – 91,66)
30/01/08	113,02	(96,40 – 132,51)
11/02/08	120,00	(94,78 – 129,86)
09/03/09	91,33	(74,89 – 111,38)
01/04/09	57,10	(21,56 – 144,62)
23/05/09	48,76	(15,67 – 151,73)
08/06/09	113,6	(97,41 – 132,48)
15/06/09	61,31	(33,49 – 112,25)
25/06/09	93,30	(74,89 – 111,38)
02/12/09	120,00	(94,78 – 129,86)
25/11/09	55,84	(21,56 – 144,62)
09/12/09	73,05	(61,54 – 86,72)
10/02/10	103,92	(58,46 – 184,75)
$CL_{50}$ : 96h média ( $\chi$ )		86,04 mg/L
Desvio padrão (DP)		24,35
Coeficiente de variação (CV)		28,30 %
Limite inferior ( $\chi$ - 2DP)		37,33 mg/L
Limite superior ( $\chi$ + 2DP)		134,74 mg/L

De acordo com a carta controle, elaborada segundo a United States Environment Protection Agency (USEPA, 1995) e ABNT (2004), foi possível verificar que todos os lotes de peixes adquiridos apresentaram sensibilidade satisfatória (dentro da faixa estabelecida neste estudo) para posterior utilização nos bioensaios com amostras de sedimento (Figura 1).



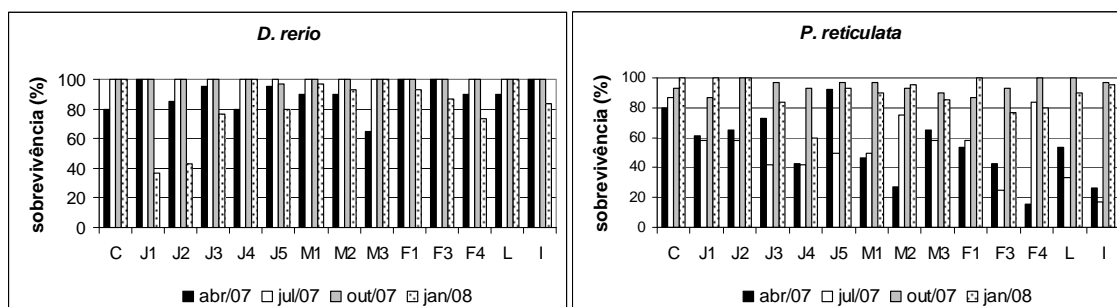
**Figura 1:** Carta controle da sensibilidade de *D. rerio* e *P. reticulata* juvenis ao dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ).



### 4.3. Bioensaios de toxicidade com sedimento

#### 4.3.1. Sobrevivência

Os resultados dos testes de toxicidade com sedimento demonstraram, de forma geral que, em janeiro/2008 foram mais tóxicos para *D. rerio* e em abril/07 e julho/2007 foram mais tóxicos para *P. reticulata* (Figura 2).



**Figura 2:** Sobrevivência de *D. rerio* e *P. reticulata* nos bioensaios de toxicidade com amostras de sedimento da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

Os sedimentos apresentaram toxicidade à *P. reticulata* na maioria dos períodos e pontos de coleta, exceto em outubro/2008, já para *D. rerio* a toxicidade com diferenças estatísticas significativas em relação ao controle foi verificada apenas em janeiro/2008 (Tabelas 6 e 7; Figura 3). Em abril/2007, os pontos F4, I, M2, F3, J4, M1 e F1 apresentaram toxicidade para *P. reticulata* com diferenças significativas na sobrevivência quanto comparada com o controle. Em ordem decrescente de toxicidade, temos: F4 > I > M2 > F3 e J4 > M1 e F1. Quanto a *D. rerio*, todos os pontos permitiram sobrevivência acima de 80%, sendo em M3 verificada a menor porcentagem de sobrevivência (65%), no entanto, essa diferença não foi significativa em relação ao controle (Tabela 6; Figura 3). Em julho/2007, não ocorreu toxicidade para *D. rerio* em nenhum ponto amostrado, no entanto, para *P. reticulata* foi o período em que foi verificada a maior toxicidade. Os pontos I (16,7%), F3 (25%), L (33,4%), J3 e J4 (41,7%), J5 e M1 (50%) apresentaram as menores porcentagens de sobrevivência sendo todos estatisticamente significativos em relação ao controle (Tabela 6, Figura 3).

Outubro/2007 foi o período que apresentou menor toxicidade para ambas as espécies, sendo possível observar porcentagens de sobrevivência acima de 80% em todos os pontos de amostragem. Não foram verificadas diferenças estatísticas significativas (Tabela 7, Figura 3).

Diferenças estatísticas significativas na sobrevivência dos organismos foram verificadas em janeiro/2008 nas amostras que apresentaram mortalidade acima de 20%. Neste período de estudo, foi possível verificar que os sedimentos que apresentaram maior toxicidade à *D. rerio*, com valores estatisticamente significativos, foram dos pontos J1

(36,67%), J2 (43,34%), F4 (73,34%) e J3 (76,67%), enquanto que para *P. reticulata*, os sedimentos dos pontos J4 (60%), F3 (76,67%) e F4 (80%) apresentaram maior toxicidade, com valores estatisticamente significativos em relação ao controle (Tabela 7, Figura 3).

**Tabela 6:** Sobrevivência dos organismos-teste em bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em abril/2007 e julho/2007, bem como valores de p da análise estatística de Fisher.

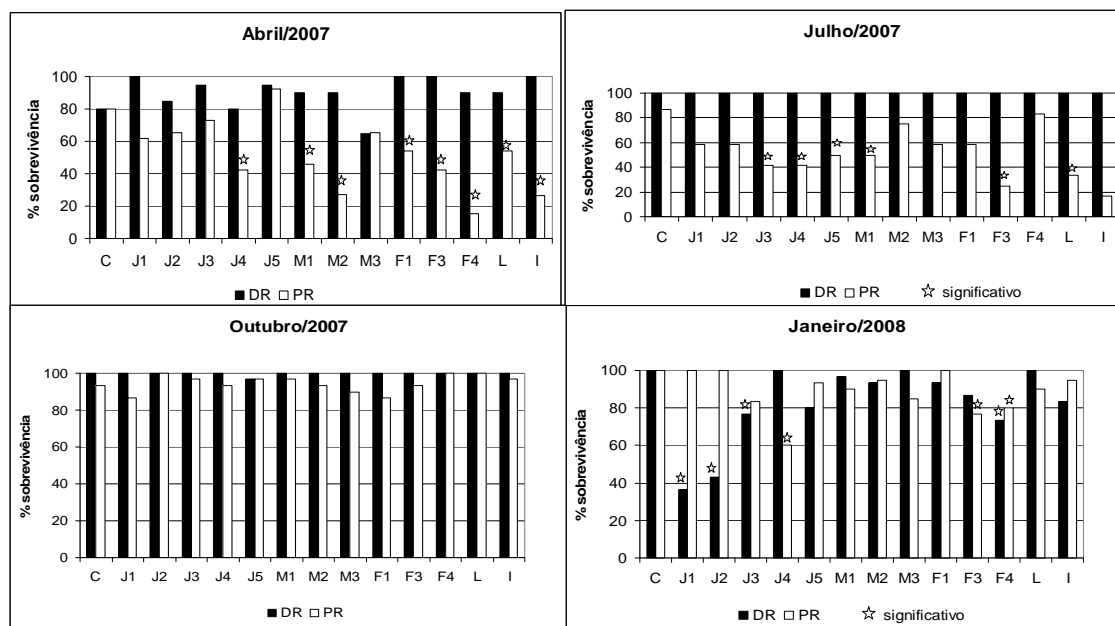
Período de amostragem →	Abril/2007				Julho/2007				
	Pontos de coleta ↓	DR	p	PR	p	DR	p	PR	p
C	80		80		100		86,7		
J1	100	<0,05	61,54	0,1494	100	1,0000	58,4	0,0900	
J2	85	0,7244	65,38	0,2432	100	1,0000	58,4	0,0900	
J3	95	0,2192	73,08	0,7520	100	1,0000	41,7	0,0056*	
J4	80	0,9995	42,31	0,0055*	100	1,0000	41,7	0,0056*	
J5	95	0,2192	92,31	0,2627	100	1,0000	50,0	0,0195*	
M1	90	0,4501	46,15	0,0121*	100	1,0000	50,0	0,0195*	
M2	90	0,4501	26,92	0,0001*	100	1,0000	75,0	0,3872	
M3	65	0,3266	65,38	0,2432	100	1,0000	58,4	0,0900	
F1	100	<0,05	53,85	0,0478*	100	1,0000	58,4	0,0900	
F3	100	<0,05	42,31	0,0055*	100	1,0000	25,0	0,0002*	
F4	90	0,4501	15,38	>0,0001*	100	1,0000	83,4	0,9953	
L	90	0,4501	53,85	0,0478*	100	1,0000	33,4	0,0013*	
I	100	<0,05	26,67	0,0001*	100	1,0000	16,7	>0,00001*	

DR: *D. rerio*; PR: *P. reticulata*; \* significativo em relação ao controle.

**Tabela 7:** Sobrevivência dos organismos-teste em bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em outubro/2007 e janeiro/2008, bem como valores de p da análise estatística de Fisher.

Período de amostragem →	Outubro/2007				Janeiro/2008				
	Pontos de coleta ↓	DR	p	PR	p	DR	p	PR	p
C	100		93,34		100		100		
J1	100	1,0000	86,67	0,6707	36,67	>0,00001*	100	1,0000	
J2	100	1,0000	100	1,0000	43,34	>0,00001*	100	1,0000	
J3	100	1,0000	96,67	1,0000	76,67	0,0105*	83,3	0,0522	
J4	100	1,0000	93,34	1,0000	100	1,0000	60	0,0001*	
J5	96,67	1,0000	96,67	1,0000	80	0,0237	93,3	0,4915	
M1	100	1,0000	96,67	1,0000	96,67	1,0000	90	0,4915	
M2	100	1,0000	93,34	1,0000	93,34	0,4915	95	1,0000	
M3	100	1,0000	90	1,0000	100	1,0000	85	0,2373	
F1	100	1,0000	86,67	0,6707	93,34	0,4915	100	1,0000	
F3	100	1,0000	93,34	1,0000	86,67	0,1124	76,7	0,0105*	
F4	100	1,0000	100	1,0000	73,34	0,0046*	80	0,0237*	
L	100	1,0000	100	1,0000	100	1,0000	90	0,4915	
I	100	1,0000	96,67	1,0000	83,34	0,0522	95	1,0000	

DR: *D. rerio*; PR: *P. reticulata*; \* significativo em relação ao controle.



**Figura 3:** Sobrevivência de *D. rerio* (DR) e *P. reticulata* (PR) nos bioensaios de toxicidade com amostras de sedimento da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu em cada período de amostragem (\* significativo).

#### 4.3.2. Crescimento

Apesar de não terem sido verificados efeitos estatisticamente significativos na sobrevivência de *D. rerio* expostos aos sedimentos do sistema em abril/2007, a análise estatística de Mann-Whitney revelou diferenças significativas no peso dos indivíduos submetidos a amostras de J2 ( $p=0,0355$ ) e I ( $p=0,0468$ ), em relação ao lote controle. Quanto ao crescimento, não foram observadas diferenças significativas. Em *P. reticulata* também não foi detectado efeito estatisticamente significativo no comprimento e peso dos organismos em relação aos resultados dos organismos expostos no controle (Tabelas 8 e 9; ANEXOS 1 e 2).

Considerando todos os períodos de amostragem, foi possível verificar que em julho/2007 cinco dos treze pontos de coleta causaram efeitos no crescimento dos organismos da espécie *D. rerio*, com diferenças significativas em relação ao controle em J1 ( $p<0,0001$ ;  $p=0,0005$ ), J4 ( $p=0,0135$ ;  $p=0,0059$ ), J5 ( $p=0,0003$ ;  $p=0,0036$ ), M1 ( $p=0,0049$ ;  $p=0,0247$ ) e F3 ( $p=0,0006$ ;  $p=0,0008$ ), respectivamente. Em relação à *P. reticulata*, não foi verificado efeito tóxico estatisticamente significativo no crescimento dos organismos (Tabelas 8 e 9; ANEXOS 1 e 2).

Em outubro/2007 não foram verificadas alterações significativas no peso e comprimento dos organismos de *D. rerio*. No entanto, os indivíduos da espécie *P. reticulata* apresentaram peso médio significativamente menor nos pontos J5 ( $p=0,0180$ ), F4 ( $p=0,0158$ ) e I ( $p=0,0185$ ) em relação ao controle de laboratório. Quanto ao comprimento, as alterações significativas foram detectadas apenas em J5 ( $p=0,0392$ ) (Tabelas 8 e 9;

ANEXOS 1 e 2). Alterações significativas de comprimento e peso foram verificadas em *D. rerio* em janeiro/2008 nos pontos J5 ( $p=0,0463$ ) e F1 ( $p=0,0500$ ), respectivamente. Os organismos de *P. reticulata* expostos no ponto F4 apresentaram peso e comprimento médios maiores que no lote controle, caracterizando a mesma situação detectada em abril e julho de 2007 (Tabelas 8 e 9; ANEXOS 1 e 2).

**Tabela 8:** Resultados da análise estatística de Mann-Whitney comparando o crescimento (comprimento e peso) dos indivíduos de *D. rerio* expostos entre amostras de sedimento da bacia do Alto Jacaré-Guaçu e o controle de laboratório. As células destacadas são os resultados que apresentam diferenças significativas em relação ao controle.

Espécie →		<i>Danio rerio</i>							
Período →		Abr/07		Jul/07		Out/07		Jan/08	
Variável analisada → Pontos de coleta ↓		CP	P	CP	P	CP	P	CP	P
Valores de probabilidade (p) do teste de Mann-Whitney comparando os pontos de coleta com o controle.	J1	0,6849	0,3507	<0,0001	0,0005	0,3751	0,5059	0,9276	0,6912
	J2	0,0824	0,0355	0,2251	0,0678	0,4902	0,7117	>0,9999	0,8948
	J3	0,6088	0,6296	0,0920	0,0786	0,3828	0,3907	0,5310	0,1317
	J4	0,4836	0,6217	0,0135	0,0059	0,3670	0,5012	0,9215	0,9705
	J5	0,1883	0,3726	0,0003	0,0036	0,3796	0,5194	0,0463	0,1390
	M1	0,5728	0,3606	0,0049	0,0247	0,1435	0,1104	0,0750	0,2587
	M2	0,5037	0,7502	0,1064	0,2955	0,6492	0,5494	0,9682	0,7263
	M3	0,4533	0,7139	0,1948	0,4887	0,5237	0,6990	0,5095	0,8073
	F1	0,0326	0,0051	0,0934	0,2010	0,1016	0,3112	0,1335	0,0500
	F3	0,9514	0,1239	0,0006	0,0008	0,6326	0,6559	0,1943	0,2337
	F4	0,9392	0,8430	0,0690	0,0993	0,3670	0,3077	0,1650	0,1409
	L	0,8668	0,7956	0,1715	0,5202	0,5095	0,7788	0,1700	0,6574
	I	0,1676	0,0468	0,9352	0,9059	0,7559	0,5946	0,8418	0,7353

CP: comprimento padrão; P: peso fresco.

**Tabela 9:** Resultados da análise estatística de Mann-Whitney comparando o crescimento (comprimento e peso) dos indivíduos de *P. reticulata* expostos entre amostras de sedimento da bacia do Alto Jacaré-Guaçu e o controle de laboratório. As células destacadas são os resultados significativos.

Espécie →		<i>Poecilia reticulata</i>							
Período →		Abr/07		Jul/07		Out/07		Jan/08	
Variável analisada → Pontos de coleta ↓		CP	P	CP	P	CP	P	CP	P
Valores de probabilidade (p) do teste de Mann-Whitney comparando os pontos de coleta com o controle.	J1	0,3468	0,6453	0,3429	0,7531	0,1062	0,0659	0,7618	0,7062
	J2	0,2195	0,1794	0,1804	0,0687	0,3689	0,4549	0,6204	0,6204
	J3	0,6452	0,7186	0,0220	0,0220	0,4675	0,4999	0,2197	0,2767
	J4	0,2020	0,5826	0,3429	0,7531	0,3811	0,4136	0,6018	0,9660
	J5	0,4010	0,6927	0,1804	0,0687	0,0392	0,0180	0,9318	0,9442
	M1	0,6495	0,6495	0,3429	0,7531	0,7616	0,3672	0,6243	0,2052
	M2	0,2839	0,2316	0,0121	0,0068	0,5727	0,5061	0,2634	0,3001
	M3	0,4512	0,3795	0,6605	0,8836	0,2906	0,1312	0,1266	0,1410
	F1	0,1883	0,1958	0,5908	0,7325	0,1312	0,1196	0,2581	0,5202
	F3	0,2642	0,6885	NA	NA	0,5455	0,498	0,3106	0,2621
	F4	0,0358	0,0769	0,0023	0,0097	0,5759	0,0158	0,0156	0,0188
	L	0,1214	0,0656	0,3681	>0,9999	0,5168	0,1256	0,2331	0,1056
	I	0,3874	0,5250	NA	NA	0,2419	0,0185	0,7739	0,5726

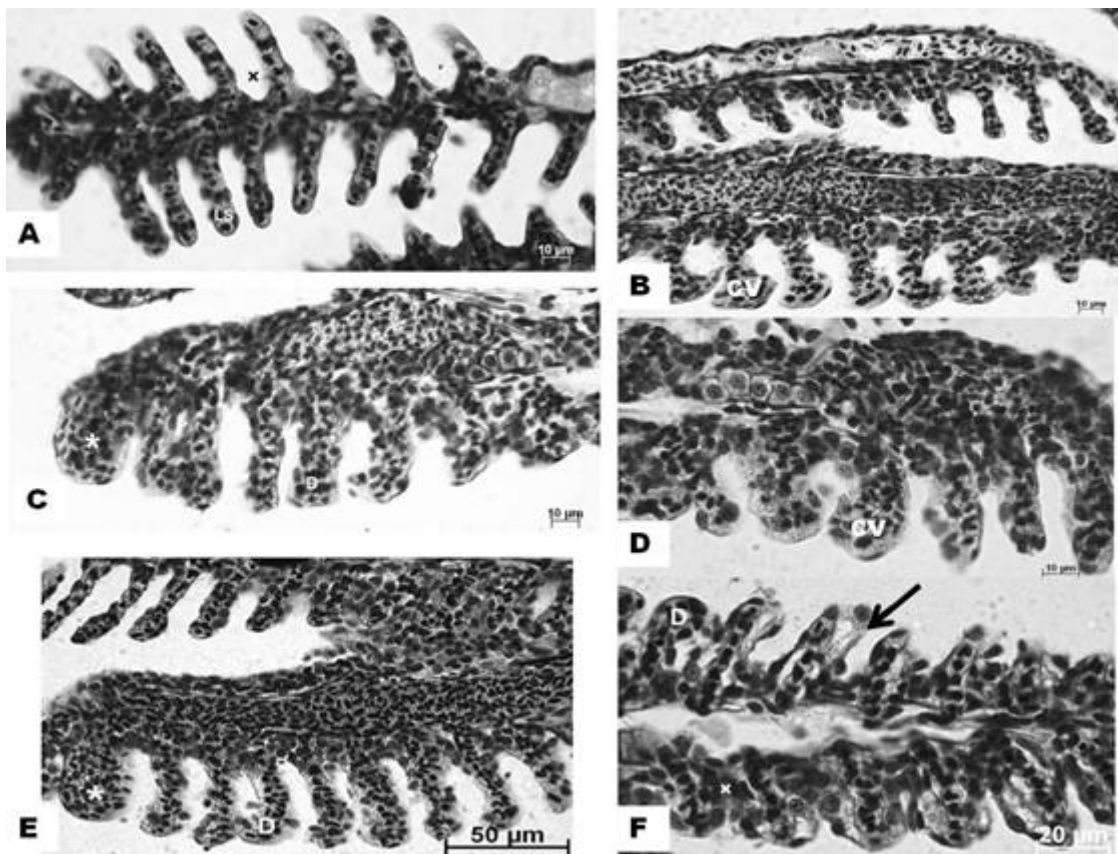
CP: comprimento padrão; P: peso fresco; NA não analisados em decorrência de elevada mortalidade.

### 4.3.3. Análise histológica das brânquias

Os indivíduos da espécie *D. rerio* expostos no controle dos testes com sedimento em abril/2007, apresentaram desenvolvimento normal do tecido branquial, podendo ser notadas as lamelas secundárias desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos, epitélio estratificado do filamento primário, cartilagem e seio venoso central (Figura 4A).

Os organismos expostos em amostras de sedimento neste mesmo período de coleta apresentaram alterações de primeiro estágio, caracterizadas por hiperplasia, deslocamento do epitélio que reveste as lamelas secundárias, dilatação de capilares sanguíneos nas lamelas secundárias seguido de congestão sanguínea (J1, J3, F4 e I).

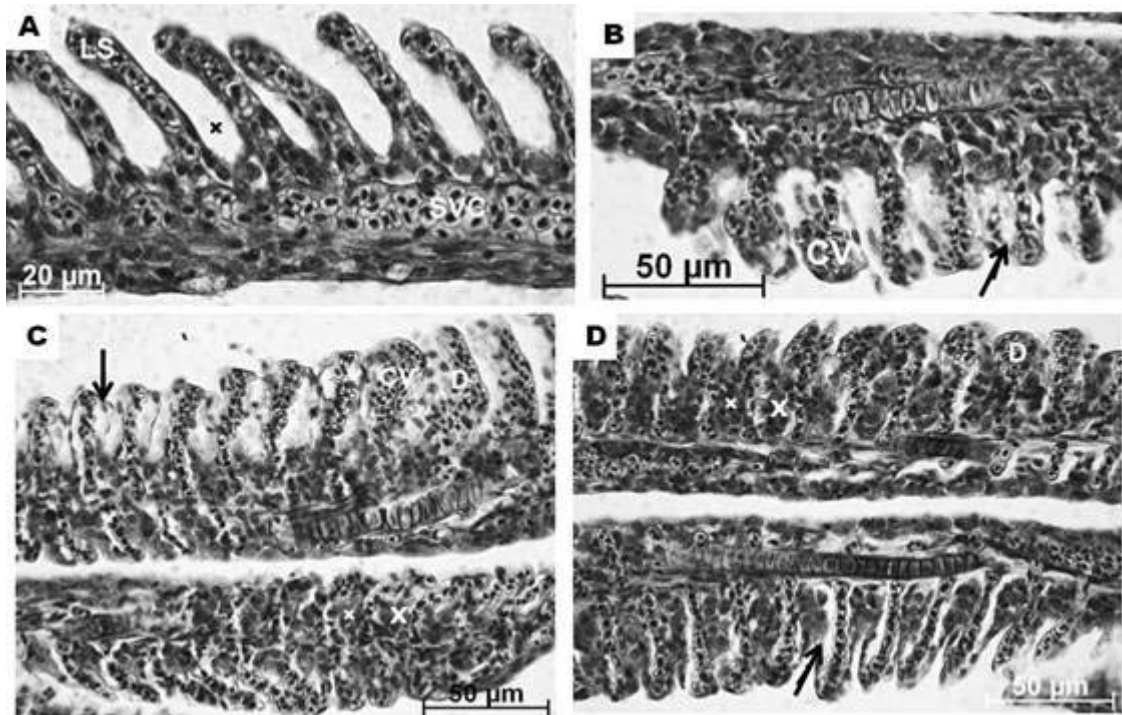
As alterações foram menos intensas em F1, enquanto que nos pontos J3 e L, foram detectadas as alterações mais severas (aneurismas), classificadas como lesões de segundo estágio (Figura 4).



**Figura 4:** Brânquias de organismos-teste da espécie *D. rerio* expostos em amostras de sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu em abril/2007. **A.** Controle. Observar as lamelas secundárias desenvolvidas (LS) e espaços interlamelares bem definidos (X). **B.** J1. **C.** J3. **D.** F4. **E.** L. **F.** I. Verificar a proliferação de células entre as lamelas secundárias (X), deslocamento de epitélio que reveste as lamelas (→); dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D); congestão vascular (CV) e aneurismas (\*). Coloração: HE.

Assim como nos organismos da espécie *D. rerio*, os indivíduos de *P. reticulata* expostos no controle de laboratório em abril/2007 apresentaram morfologia normal das

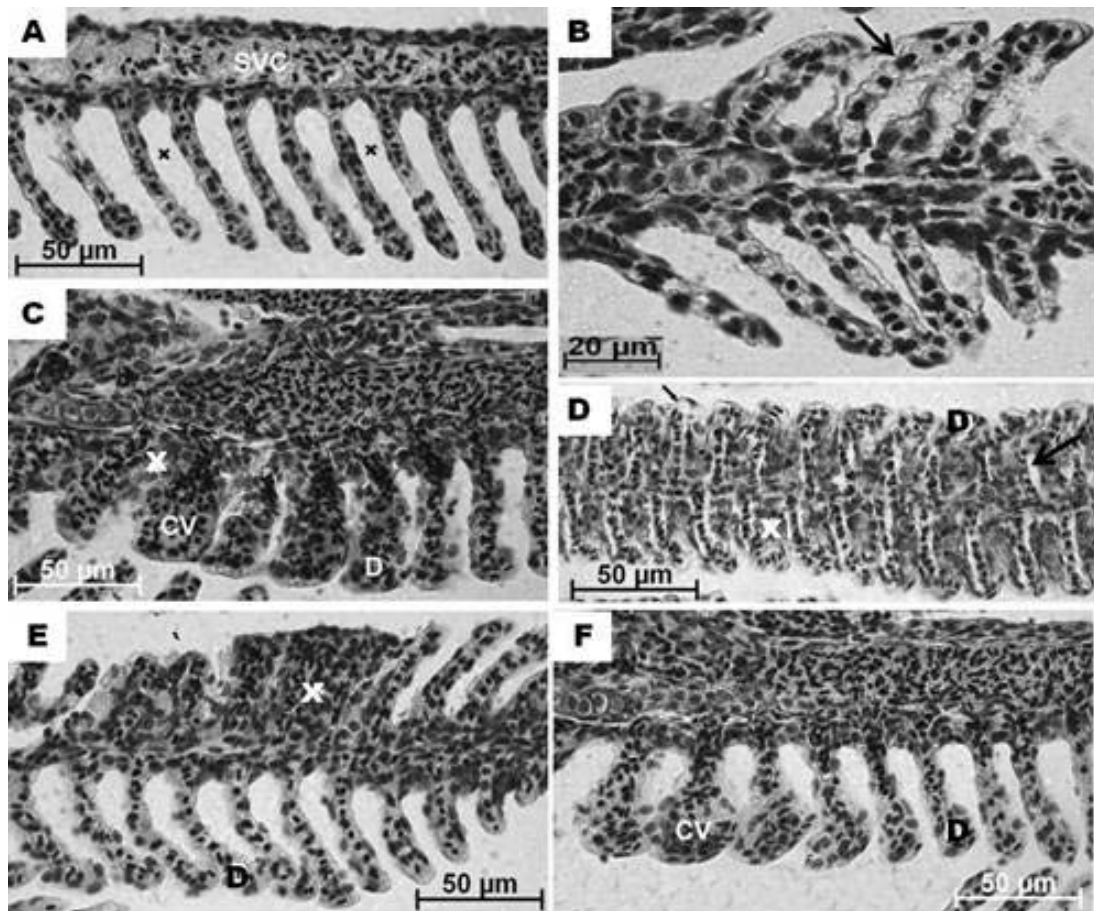
brânquias, com lamelas secundárias bem desenvolvidas e espaços interlamelares bem definidos (Figura 5A). Aqueles submetidos aos testes com sedimento, em todos os pontos de coleta, apresentaram hiperplasia, produção de muco, dilatação de capilares sanguíneos e deslocamento do epitélio que reveste as lamelas secundárias. Além destas, nos pontos F3, F4, M1 e M2 foram observadas congestões vasculares (Figura 5).



**Figura 5:** Brânquias de organismos-teste da espécie *P. reticulata* expostos em amostras de sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu em abril/2007. **A.** Controle. Notar as lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS), espaços interlamelares bem definidos (X) e seio venoso central (SVC). **B.** F3. **C.** F4. **D.** M1. Observar a hiperplasia (X), deslocamento de células do epitélio (→); dilatação de capilares (D) e além de congestão vascular (CV). Coloração: HE.

Em julho/2007, os organismos de *D. rerio* apresentaram as mesmas alterações de primeiro estágio mencionadas acima em abril/2007, sendo estas mais intensas em J4 (Figura 6C) e F4 (Figura 6D) e menos severas em J3 (Figura 6B). Ainda, foi possível observar que os organismos expostos em M2 apresentaram alterações de segundo estágio (aneurismas), caracterizando o ponto mais tóxico durante o período de amostragem para esta espécie.

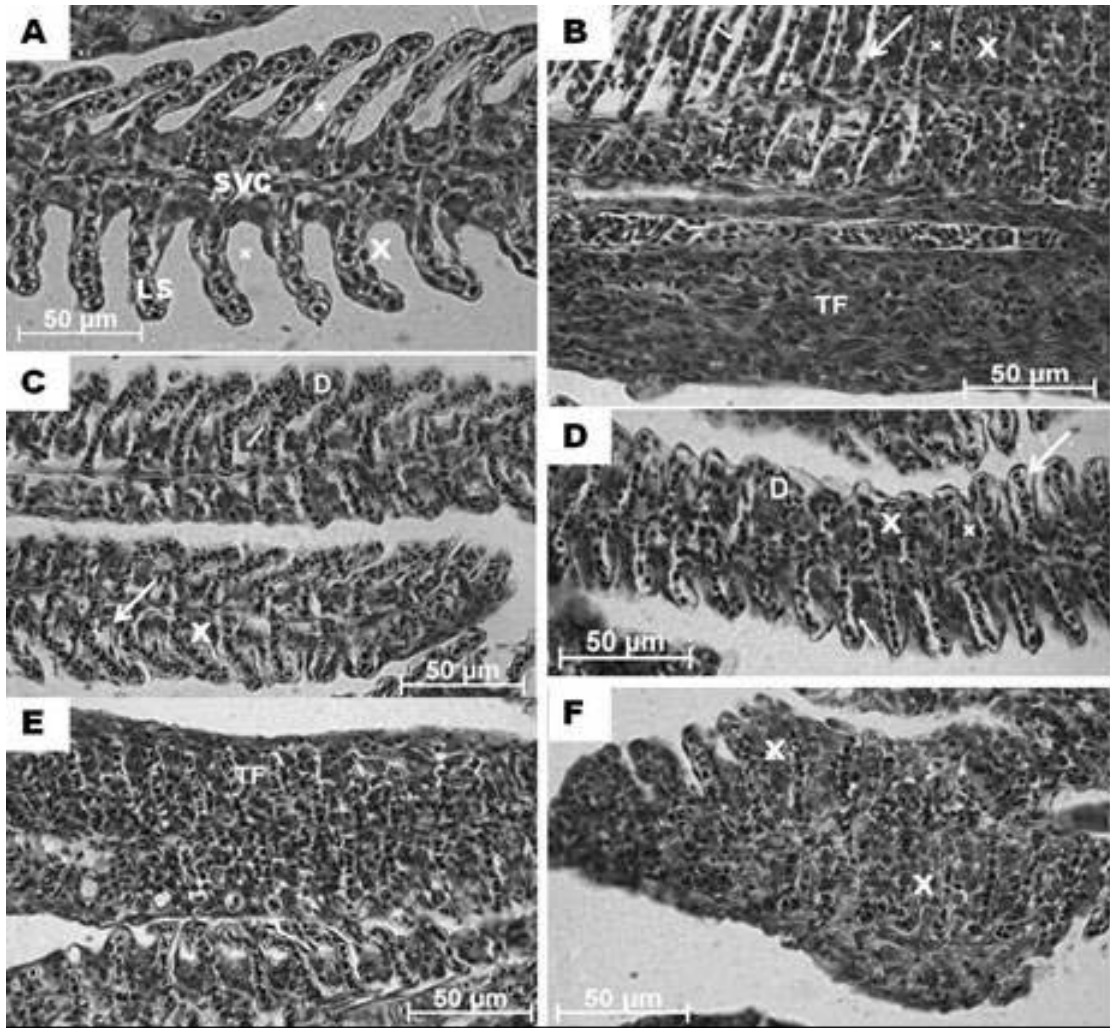
Já em *P. reticulata*, foram encontradas as mesmas alterações de primeiro estágio em todos os pontos amostrados, no entanto, as alterações de segundo estágio (fusão total de lamelas secundárias), foram verificadas em J1 (Figura 7B) e F4 (Figura 7E). Também foram observados pontos de necrose em J4, J5 e F1, produção de muco em J5 e parasitas nas brânquias de organismos expostos em F1 (Figura 7).



**Figura 6:** Brânquias de organismos-teste da espécie *D. rerio* expostos em amostras de sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu em julho/2007. **A.** Controle. Observar as lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS), espaços interlamelares bem definidos (X) e seio venoso central (SVC). **B.** J3. **C.** J4. **D.** F4. **E.** I. **F.**F3 Verificar a hiperplasia (X), deslocamento do epitélio que reveste as lamelas secundárias (→); dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D); congestão vascular (CV). Coloração: HE.

Os organismos-teste da espécie *D. rerio* sobreviventes em bioensaios realizados em outubro/2007 apresentaram lesões de primeiro estágio, como hiperplasia, dilatação de capilares sanguíneos, deslocamento do epitélio que reveste as lamelas secundárias e congestão vascular (J5 e F4). No ponto F3 (Figura 8F) estas alterações foram mais discretas. Pontos como J3 (Figura 8B), M3 e L apresentaram maior toxicidade, uma vez que foram detectados aneurismas nos organismos, ou seja, alterações de segundo estágio (Figura 8).

Em *P. reticulata*, também foram verificadas as mesmas alterações de primeiro estágio em todos os pontos de coleta, no entanto, as alterações mais severas (segundo estágio) foram encontradas em organismos expostos em J2 (aneurismas) (Figura 9C) e I (fusão total de lamelas secundárias) (Figura 9E), caracterizando resultados diferentes daqueles encontrados para *D. rerio* (Figura 9). Também foi possível observar produção de muco em organismos expostos em J1, J5, F1, F4, M1, M2 e L.

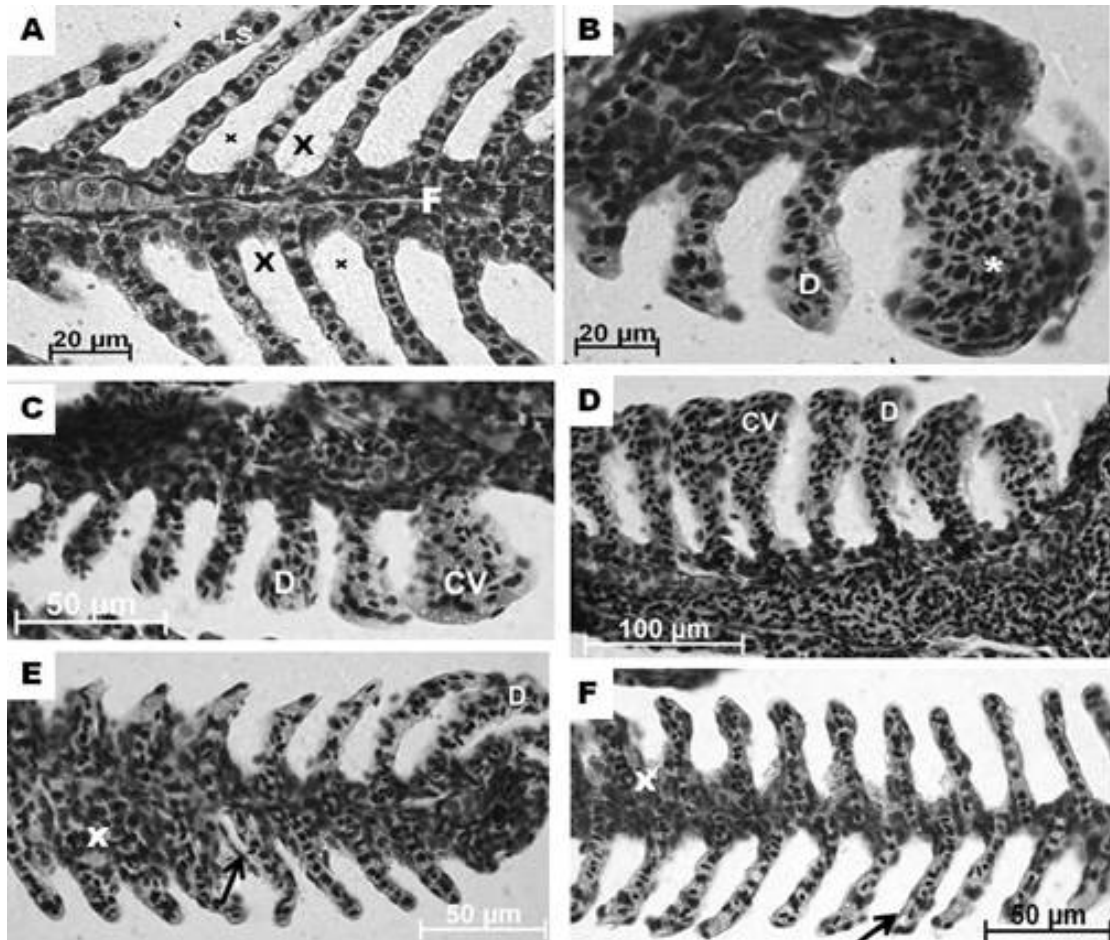


**Figura 7:** Brânquias de organismos-teste da espécie *P. reticulata* expostos em amostras de sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu em julho/2007. **A.** Controle. Notar as lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS), espaços interlamelares bem definidos (X) e seio venoso central (SVC). **B.** J1. **C.** J3. **D.** J4. **E.** F4. **F.** J5. Verificar a hiperplasia (X), deslocamento do epitélio que reveste as lamelas secundárias (→); dilatação de capilares (D) e a fusão total de lamelas secundárias (TF). Coloração: HE.

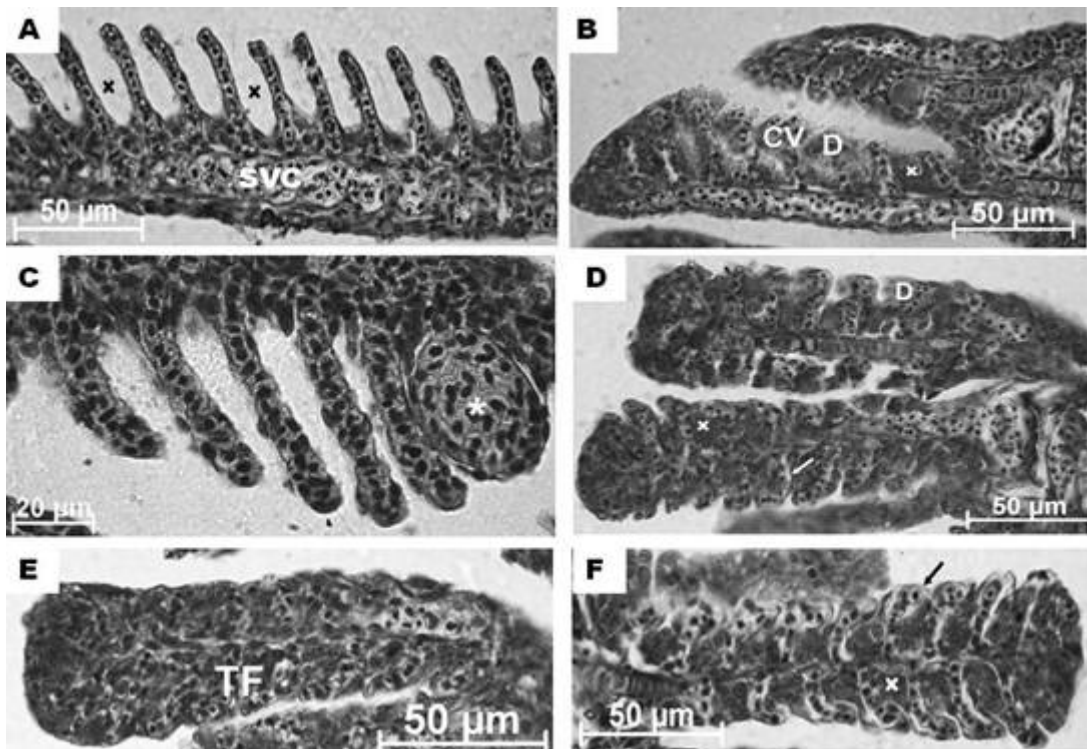
Em janeiro de 2008, assim como nos demais períodos de coleta, as lesões encontradas foram, principalmente, de primeiro estágio, como hiperplasia, deslocamento de epitélio; dilatação de capilares e congestão vascular (Figuras 10 e 11). Comparando-se as lesões encontradas nas diferentes espécies, foi possível verificar que os indivíduos de *D. rerio* apresentaram lesões menos severas neste período quando comparadas com as alterações encontradas nos organismos-teste de *P. reticulata*, uma vez que a segunda espécie apresentou lesões de segundo estágio como fusão total de lamelas secundárias em F4 (Figura 11D) e I (Figura 11E).

Quanto a *D. rerio*, as lesões foram mais severas em M3 (Figura 10C), onde foram encontradas congestões vasculares além das alterações de primeiro estágio já mencionadas (Figura 10).

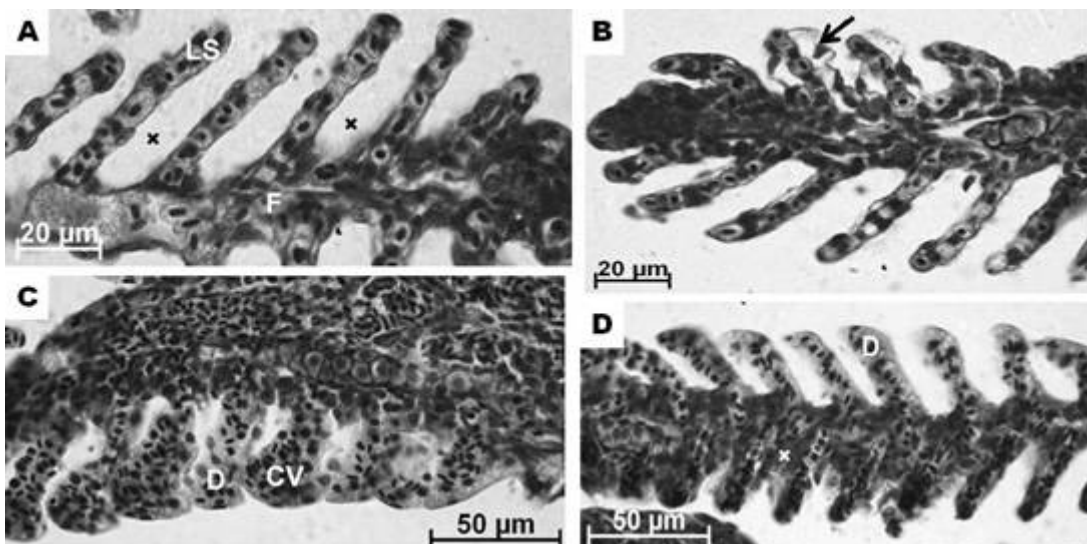




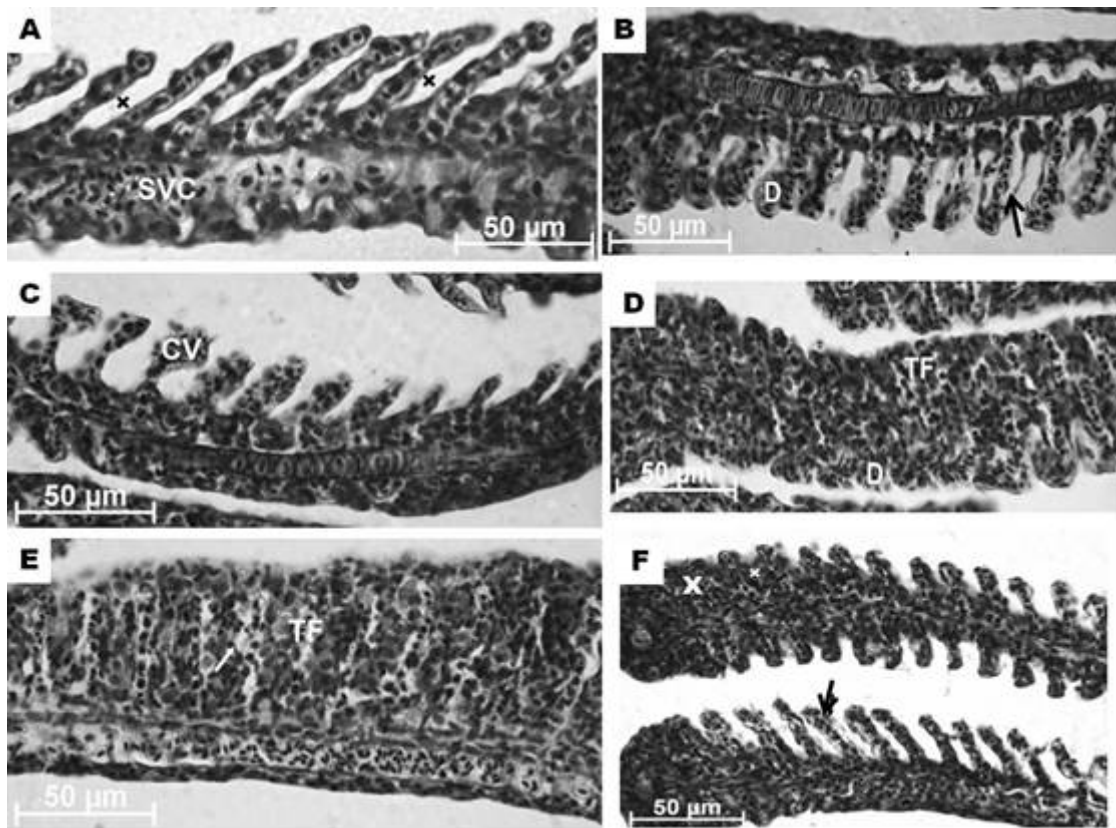
**Figura 8:** Brânquias de organismos-teste da espécie *D. rerio* expostos em amostras de sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu em outubro/2007. **A.** Controle. Observar filamento primário (F) e lamelas secundárias desenvolvidas (LS), bem como espaços interlamelares bem definidos (X). **B.** J3. **C.** J5. **D.** F4. **E.** M1. **F.** F3 Observar a hiperplasia (X), deslocamento de epitélio (→); dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D); congestão vascular (CV) e aneurisma (\*). Coloração: HE.



**Figura 9:** Brânquias de organismos-teste da espécie *P. reticulata* expostos em amostras de sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu em outubro/2007. **A.** Controle. Observar seio venoso central no filamento primário (SVC) e lamelas secundárias desenvolvidas (LS), bem como espaços interlamelares bem definidos (X). **B.** J1. **C.** J2. **D.** M2. **E.** I. **F.** M3. Observar a hiperplasia (X), deslocamento de epitélio (→); dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D); congestão vascular (CV); aneurisma (\*) e fusão total de lamelas secundárias (TF). Coloração: HE.



**Figura 10:** Brânquias de organismos-teste da espécie *D. rerio* expostos em amostras de sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu em janeiro/2008. **A.** Controle. Observar filamento primário (F) e lamelas secundárias desenvolvidas (LS), bem como espaços interlamelares bem definidos (X). **B.** M2. **C.** M3. **D.** I. Notar a hiperplasia (X), deslocamento do epitélio que reveste as lamelas secundárias (→); dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) e congestão vascular (CV). Coloração: HE.



**Figura 11:** Brânquias de organismos-teste da espécie *P. reticulata* expostos em amostras de sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu em janeiro/2008. **A.** Controle. Observar seio venoso central no filamento primário (SVC) e lamelas secundárias desenvolvidas (LS), bem como espaços interlamelares bem definidos (X). **B.** J4. **C.** J5. **D.** F4. **E.** I. **F.** F3. Notar a hiperplasia (X), deslocamento do epitélio que reveste as lamelas secundárias (→); dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D); congestão vascular (CV) e fusão total de lamelas secundárias (TF). Coloração: HE.

A tabela 10 resume os efeitos estatisticamente significativos na sobrevivência e crescimento de *D. rerio* e *P. reticulata*, bem como das alterações nas brânquias dos organismos expostos em sedimentos da bacia nos quatro períodos de amostragem.

Considerando os quatro períodos de coleta, foi possível verificar que os sedimentos de todos os pontos apresentaram toxicidade crônica (sobrevivência ou crescimento), em ao menos uma espécie de peixe, exceto dos pontos M2 e M3. A análise histológica confirmou a toxicidade dos sedimentos de todos os pontos amostrados, inclusive em M2 e M3, onde os organismos apresentaram alterações severas de segundo estágio.

**Tabela 10:** Resultados estatisticamente significativos na sobrevivência e crescimento de *D. rerio* e *P. reticulata*, bem como das alterações nas brânquias dos organismos expostos em sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu nos quatro períodos de amostragem.

Período → Pontos ↓	Abril/07	Julho/07	Outubro/07	Janeiro/08
J1	H <sub>1a/b</sub>	C <sub>b</sub> P <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>2a</sub>	H <sub>1a/b</sub>	S <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub>
J2	P <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>2a</sub>	S <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub>
J3	H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>2b</sub>	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>2b</sub>	S <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub>
J4	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>	S <sub>a</sub> / C <sub>b</sub> P <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>3a</sub>	H <sub>1a/b</sub>	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>
J5	H <sub>1a/b</sub>	S <sub>a</sub> / C <sub>b</sub> P <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>3a</sub>	C <sub>a</sub> P <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>	C <sub>b</sub> P <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub>
M1	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>	S <sub>a</sub> / C <sub>b</sub> P <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub>
M2	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>2b</sub>	H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub>
M3	H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>2b</sub>	H <sub>1a/b</sub>
F1	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>3a</sub>	H <sub>1a/b</sub>	C <sub>b</sub> P <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub>
F3	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>	S <sub>a</sub> / C <sub>b</sub> P <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub>	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>
F4	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>2a</sub>	P <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>	S <sub>a</sub> /b/H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>2a</sub>
L	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub> /H <sub>2b</sub>	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>	H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>2b</sub>	H <sub>1a/b</sub>
I	S <sub>a</sub> /P <sub>b</sub> /H <sub>1a/b</sub>	S <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub>	P <sub>a</sub> /H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>2a</sub>	H <sub>1a/b</sub> ; H <sub>2a</sub>

\***a** – *Poecilia reticulata*; **b** – *Danio rerio*; **S** – sobrevivência; **C** - comprimento; **P** – peso; **H**<sub>1</sub> – alterações histológicas nas brânquias de primeiro estágio; **H**<sub>2</sub> – alterações histológicas nas brânquias de segundo estágio; **H**<sub>3</sub> – alterações histológicas nas brânquias de terceiro estágio.

## 5. DISCUSSÃO

A espécie *Danio rerio* é intensamente utilizada em bioensaios ecotoxicológicos (ABNT, 2004; ABNT, 2007). No entanto, no presente estudo também foi utilizada a espécie *Poecilia reticulata*, visto que, além de ser considerada em trabalhos anteriores uma espécie mais sensível que *D. rerio* (CAMPAGNA 2005; FRACÁCIO, 2006), trata-se também de uma espécie introduzida em grande parte do mundo (ENDLER, 1980) e adaptada à sub-bacia do Monjolinho (BARRETO, 1999), inserida na bacia do Alto Jacaré-Guaçu. Neste sentido, *P. reticulata* foi considerada uma espécie que melhor responderia às condições ambientais encontradas na área de estudo.

Os resultados de sobrevivência nos bioensaios de toxicidade crônica parcial com as amostras de sedimento da bacia mostraram, de maneira geral, que a espécie *P. reticulata* foi mais sensível que *D. rerio* nos períodos de abril/07 e julho/07. Em janeiro/2008, as amostras de sedimento apresentaram toxicidade para *D. rerio*.

De acordo com as porcentagens de sobrevivência, com exceção dos pontos J1, F1, M2 e M3, os demais pontos apresentaram toxicidade para *P. reticulata*. Os pontos que apresentaram toxicidade para *D. rerio* foram J1, J2, J3 e F4.

Os resultados de sobrevivência dos organismos não apresentaram relação direta com os resultados das análises de metais e nutrientes nos sedimentos, ou seja, os pontos que causaram menor sobrevivência não foram aqueles que apresentaram os maiores valores de metais nos sedimentos.

As concentrações de metais nas amostras de sedimento da bacia não apresentaram um padrão sazonal definido, ou seja, para cada metal os valores observados foram mais

elevados em determinado período de amostragem. Em abril/2007, um dos períodos que apresentou maior toxicidade para *P. reticulata*, as concentrações de cromo estiveram mais elevadas no sedimento em relação aos demais períodos de amostragem. Nas amostras de água da bacia, foram detectadas concentrações do metal cerca de 10 vezes acima do CONAMA 357/05 (50 µg/L), sendo que em todos os pontos de amostragem foram verificados valores acima do limite estabelecido, com concentrações variando entre 6,0 e 526,0 µg/L. A CL<sub>50;48h</sub> média de cromo para *P. reticulata* (86,04 mg/L), determinada no presente estudo é cerca de 100 vezes mais elevada que os valores detectados nas amostras de água no ambiente. Entretanto, estes valores foram determinados em testes de toxicidade aguda, onde a mortalidade dos organismos é avaliada em curto período e exposição e concentrações elevadas de cromo.

Em julho/07 as concentrações de cádmio nos sedimentos da bacia foram elevadas, ultrapassando a TEL (0,6 mg/Kg) em 50% dos pontos amostrados. No ponto em que a concentração de cádmio atingiu o valor máximo (I - 0,975 mg/Kg), a sobrevivência de *P. reticulata* apresentou o valor mínimo (abaixo de 20%). Entretanto, para a espécie *D. rerio*, este período não causou efeito na sobrevivência.

As concentrações de Cu, Zn, Fe e Mn estiveram mais elevadas em outubro/07 e janeiro/08. No período chuvoso, os valores de vazão foram mais elevados, o que pode caracterizar um ambiente com maior mobilização dos sedimentos e, possivelmente, maior tendência à disponibilização de metais na água. De fato, as concentrações de metais nas amostras de água estiveram mais elevadas neste período em relação aos demais. Estas condições podem ter favorecido a toxicidade observada para *D. rerio* em janeiro/08.

Apesar das variações sazonais dos metais nos sedimentos, em todos os pontos de coleta foram detectados os metais analisados, com tendência a maiores concentrações no sentido longitudinal dos rios (da nascente em direção à confluência).

A coleta, o manuseio e a estocagem de amostras de sedimento podem alterar a biodisponibilidade e a concentração dos contaminantes devido à mudança nas características físicas, químicas e biológicas. Estes processos levam ao aumento da disponibilidade de compostos orgânicos por romperem o equilíbrio com o carbono orgânico da água intersticial. Além disso, a oxidação de sedimentos anaeróbios aumenta a disponibilidade de determinados metais (USEPA, 1994 apud MELETTI, 1997).

De fato, Espíndola et al. (2003), analisando a toxicidade dos sedimentos do rio Mogi-Guaçu, verificaram uma fraca correlação entre a concentração de metais biodisponíveis e as respostas dos organismos testados (*Ceriodaphnia dubia*; *Daphnia similis* e *Chironomus xanthus*), enfatizando que em amostras ambientais onde ocorrem misturas de elementos, a relação entre a concentração e o efeito tóxico não é direta.

A mesma tendência foi verificada por Campagna (2005) que, ao avaliar a toxicidade dos sedimentos da bacia hidrográfica do rio Monjolinho verificou que os efeitos mais severos em *P. reticulata* e *D. rerio* (sobrevivência, crescimento e morfologia de brânquias) foram verificados no período chuvoso (janeiro/2004) enquanto que as concentrações mais elevadas de metais foram detectadas no período seco (julho/03).

Ressalta-se que no presente estudo não foram quantificados outros metais e os agrotóxicos nas amostras de sedimentos, compostos que estiveram presentes na bacia em elevadas concentrações detectadas em estudos anteriores (CAMPAGNA, 2005; CORBI et al., 2006; PELAÉZ-RODRIGUES, 2001).

Na bacia hidrográfica do alto Jacaré-Guaçu, diferentes tipos de poluentes são inseridos nos corpos de água, os quais podem desencadear efeitos tóxicos ou não frente às variações nas condições físicas, químicas e biológicas. A mistura dos diferentes compostos pode apresentar toxicidade diferente à esperada para cada composto individualmente, provocando efeitos sinérgicos (efeitos tóxicos da mistura maior que de cada poluente individualmente) ou antagônicos (efeitos tóxicos menores que aquele esperado para cada poluente individualmente) (ZAGATTO, 1999). A complexidade desta mistura e da dinâmica das variáveis citadas dificulta a interpretação dos resultados de toxicidade, bem como e o estabelecimento de uma relação entre os efeitos tóxicos e um agente estressor específico.

O efeito tóxico dos metais biodisponíveis depende, entre outros fatores, da especiação dos íons metálicos (que não foi determinada no presente trabalho), uma vez que diferentes espécies químicas de um mesmo elemento apresentam diferentes efeitos biológicos (MORRISON et al., 1989).

Analisando as variações espaciais durante todo o estudo, foi possível observar que as porcentagens de sobrevivência para *D. rerio* foram mais baixas nos pontos localizados no rio Jacaré-Guaçu, enquanto que para *P. reticulata*, estas porcentagens foram baixas em todos os pontos de coleta em ao menos um período de amostragem. Em relação à *D. rerio*, só foi possível analisar janeiro/08, uma vez que nos demais períodos de amostragem não houve efeitos na sobrevivência. Assim, foi possível verificar efeito tóxico decrescente ao longo do rio Jacaré-Guaçu, e crescente ao longo do Ribeirão do Feijão. Já para *P. reticulata* em abril/07, os resultados dos bioensaios demonstraram uma tendência a maiores porcentagens de sobrevivência de J1 a J5, e menores de F1 a F4 e de M1 a M3. Em julho/07 e janeiro/08, foi possível verificar uma tendência a menores porcentagens de sobrevivência de J1 a J5 e de F1 a F4, enquanto que de M1 a M3 as porcentagens de sobrevivência aumentaram.

Diante dos resultados apresentados é possível verificar uma variabilidade na resposta das espécies estudadas. Apesar de não ser possível atribuir poluentes específicos que expliquem as mortalidades observadas nos testes de toxicidade, foi possível constatar

efeitos tóxicos em ambas as espécies nos diferentes períodos. Neste sentido, é evidente a importância da utilização de diferentes espécies como organismos-teste em avaliações ecotoxicológicas, uma vez que nenhuma espécie apresenta sensibilidade a todos os compostos químicos (BURTON, 1992).

Estes resultados mostram que as espécies respondem de formas diferentes aos contaminantes do sedimento, podendo esta sensibilidade ser atribuída a fatores genéticos, fisiológicos e bioquímicos. Outro fator importante é a capacidade de metabolização e eliminação dos compostos químicos, os quais são variáveis de acordo com a espécie. Assim, este resultado já era esperado, uma vez que os sedimentos, principalmente aqueles de locais poluídos, apresentam uma gama de compostos tóxicos dissolvidos, sendo que alguns deles podem ser nocivos a uma determinada espécie de peixe e outros, a outras.

Neste sentido, Vitozzi e De Angelis (1991) avaliando a sensibilidade de cerca de 200 compostos químicos considerados tóxicos a diferentes espécies de peixes (*Lepomis macrochirus*, *Cyprinus carpio*, *Salmo gairdneri*, *Poecilia reticulata*, *Pimephales promelas*, *Brachydanio rerio*, *Oryzias latipes* e *Leuciscus idus*) verificaram que entre espécies de peixes pode acontecer o que se chama de “toxicidade aguda e espécie seletiva”, ou seja, que cada espécie apresenta uma sensibilidade à determinada substância.

Campagna et al. (2008) avaliaram a toxicidade dos sedimentos do rio Monjolinho (São Carlos - SP) utilizando as mesmas espécies de peixes do presente estudo. Os autores verificaram que *P. reticulata* apresentou maior sensibilidade que *D. rerio* em todos os períodos amostrados. O mesmo também foi verificado por Fracácio et al. (2009), onde os autores avaliaram a toxicidade do Rio Monjolinho em testes de toxicidade com amostras de água em laboratório e *in situ* e verificaram que *P. reticulata* foi mais sensível que *D. rerio* em ambas as situações nas duas campanhas de amostragem (seca e chuvosa).

Meletti (1997) também verificou que a sensibilidade das espécies *Poecilia reticulata*, *Hyphessobrycon bifasciatus*, *Cheirodon atenodon* e *Prochilodus scrofa* variava nas diferentes amostras de sedimento da bacia do rio Piracicaba.

As diferenças nas respostas dos organismos também foram verificadas no crescimento e na morfologia das brânquias das diferentes espécies expostas aos sedimentos do presente estudo.

Embora as porcentagens de sobrevivência de *D. rerio* não tenham demonstrado toxicidade das amostras em abril/07 e julho/07, foi possível observar efeito significativo no crescimento dos organismos expostos em sedimentos destes períodos. Os pontos do rio Jacaré-Guaçu (J1, J2, J4 e J5), do ribeirão do Feijão (F1 e F3), da nascente do rio Monjolinho (M1) e I desencadearam efeitos tóxicos para o crescimento dos organismos ao menos em um dos períodos acima mencionados. Em janeiro/08, também foi verificada toxicidade das amostras F1 e J5.

Quanto à *P. reticulata*, também foi observada toxicidade crônica em relação ao crescimento dos organismos. Apesar de não ser detectada toxicidade em outubro/07, considerando-se a sobrevivência, este período foi o único em que se detectou toxicidade crônica em relação ao crescimento de organismos, sendo estes constatados em J5, F4 e I.

Esses resultados permitem considerar que, com exceção de M3, todos os pontos apresentaram toxicidade crônica para as espécies *D. rerio* ou *P. reticulata* durante o período de estudo, considerando-se os efeitos na sobrevivência ou no crescimento (peso ou comprimento). Os efeitos tóxicos no crescimento dos organismos foram verificados inclusive em pontos de coleta que não foram observadas diferenças significativas na sobrevivência, como por exemplo, nos pontos J4, J5, F1, F3, M1 e I para *D. rerio*.

Alguns trabalhos recentes corroboram os resultados apresentados no presente estudo, entre eles, pode ser citado Campagna et al. (2008), onde os autores encontraram efeitos significativos no crescimento de *P. reticulata* expostos em amostras de sedimento do rio Monjolinho (2003 e 2004) mas não na sobrevivência. No mesmo estudo, os indivíduos da espécie *D. rerio* não apresentaram diferenças significativas para o crescimento.

Outro trabalho com resultados semelhantes é o de Fracácio (2006) que, por meio de bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de água do rio Monjolinho, utilizando juvenis de *D. rerio* e *P. reticulata* observou efeitos crônicos nos parâmetros peso e comprimento dos organismos-teste. A autora verificou que nos períodos de amostragem em que não foi detectado efeito na sobrevivência, foram registradas alterações significativas nos parâmetros peso e comprimento dos indivíduos expostos às amostras de sedimento em relação ao lote controle.

Neste sentido, pode ser citado o trabalho clássico de Woltering (1984), onde o autor realizou uma extensa revisão dos resultados de efeitos crônicos no crescimento de inúmeras espécies de peixes marinhos e de água doce expostos em bioensaios de toxicidade com várias classes de compostos químicos (pesticidas, metais, efluentes complexos, e outros). Como resultado, o autor verificou um alto grau de variabilidade nas respostas dos organismos atribuindo estas respostas à biologia das espécies, às diferenças nos procedimentos laboratoriais e à toxicidade específica para cada espécie.

A análise histológica das brânquias atua como uma ferramenta complementar na avaliação da toxicidade de amostras ambientais e de outras substâncias.

Considerando-se a morfologia das brânquias, em abril/07, foi possível encontrar alterações de primeiro estágio em organismos de ambas as espécies expostos em todos os pontos amostrados. Em J3 e L, os organismos da espécie *D. rerio* apresentaram os aneurismas, ou seja, alterações mais severas (segundo estágio). Quanto a *P. reticulata*, apesar de não terem sido encontradas alterações de segundo estágio, a intensidade das lesões de primeiro estágio foram maiores quando comparadas com *D. rerio*.



Em julho/07, apesar os sedimentos não desencadearem toxicidade na sobrevivência de *D. rerio*, foram encontradas as mesmas alterações de primeiro estágio, mais intensas nos pontos J4 e F4. Os organismos expostos em M2 apresentaram aneurismas. Em relação a *P. reticulata*, as alterações foram mais severas neste período, uma vez que foi verificada fusão de todas as lamelas secundárias do filamento primário em J1 e F4, além de pontos de necrose (J4, J5 e F1). Além das alterações morfológicas também foram identificados parasitas nas brânquias dos organismos expostos aos sedimentos do ponto F1. Nos pontos que apresentaram as alterações mais severas (J1 e F4) não foram encontrados efeitos tóxicos quanto às variáveis sobrevivência e crescimento.

Para ambas as espécies, em outubro/2008 não foi detectada toxicidade na sobrevivência dos organismos, e para *D. rerio*, também não foi observado efeito subletal no crescimento dos organismos. No entanto, as alterações histológicas de segundo estágio foram observadas nos organismos de ambas as espécies expostos em sedimentos do período. Em *D. rerio*, as alterações mais severas foram observadas em J3, M3 e L (aneurisma) e em *P. reticulata*, os aneurismas foram detectados em organismos expostos em J2, além de fusão completa de todas as lamelas secundárias em I (também observado efeito tóxico no peso fresco dos organismos).

Em janeiro/08, as alterações foram de primeiro estágio para *D. rerio* e de segundo estágio (fusão completa de lamelas) para *P. reticulata* em I e F4 (também observado efeito tóxico no peso fresco dos organismos e na sobrevivência).

Os resultados da análise histológica das brânquias mostraram alterações importantes resultante da toxicidade de amostras que não causaram efeitos adversos na sobrevivência e crescimento dos organismos-teste. Desta forma, é evidente importância de utilizá-la como ferramenta complementar na avaliação da qualidade da água e sedimentos em estudos ecotoxicológicos, bem como em planos de monitoramento de ecossistemas aquáticos.

As brânquias representam os alvos primários de contato com os poluentes do meio aquático e, as alterações teciduais nestes órgãos são precedidas por alterações bioquímicas e fisiológicas. Neste sentido, detectar danos histológicos é uma evidência incontestável de efeitos adversos do meio (EWALD, 1995). Além disto, os biomarcadores teciduais são considerados ferramentas potenciais para avaliar a qualidade do ambiente aquático, uma vez que em baixas concentrações de poluente já provocam modificações primárias estruturais nas brânquias (PAWERT et al., 1998).

Em ambientes degradados, onde os poluentes ocorrem em concentrações crônicas e subletais, as modificações na estrutura e função dos organismos aquáticos ocorrem mais freqüentemente do que a mortalidade em massa. Alterações como hiperplasia, deslocamento de epitélio e produção de muco são mecanismos de defesa dos organismos

para aumentar a barreira água-sangue, dificultando-se assim, a entrada do poluente do meio externo (POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994).

Sobre a hiperplasia de lamelas secundárias, PAWERT et al. (1998) considera que esta geralmente ocorre em animais expostos em ambientes altamente poluídos, sendo que estes sintomas, conseqüentemente, levam à fusão de lamelas vizinhas. Os mesmos autores desenvolveram uma classificação que relaciona o grau de alteração em tecidos branquiais de acordo com o grau de poluição do sistema aquático. Neste contexto, dentre outras lesões, os autores consideraram que um epitélio hiperplásico com a fusão total de duas lamelas secundárias já pode ser considerado tecido exposto em ambiente altamente poluído. Desta forma, os pontos J1, F4 e I podem ser considerados altamente poluídos, uma vez que para a espécie *P. reticulata* foram detectadas fusão de todas as lamelas secundárias.

As numerosas elevações de epitélio verificadas nos indivíduos de *P. reticulata* expostos na maioria dos pontos no presente estudo podem estar relacionadas a uma resposta inicial da brânquia ao agente externo, induzidas por baixas concentrações destas substâncias (ROBERTS, 1989). Posteriormente, ocorre a hiperplasia e fusão de lamelas secundárias (TEMMINK et al., 1989), geralmente induzida por elevadas concentrações de poluentes.

Nos pontos J4 (abril/07); J5 (julho/07), J1, J5, F1, F4, M1, M2 e L (outubro/07) foram encontradas brânquias com presença de muco nos indivíduos da espécie *P. reticulata*. Segundo Heath (1987), metais como cádmio, chumbo, zinco e cobre estimulam a secreção de muco pelas células mucosas, os quais são consideradas importantes barreiras contra agentes patogênicos, na regulação e difusão iônica (HANDY et al., 1989).

Campagna et al. (2008) avaliando os tecidos branquiais de juvenis de *D. rerio* e *P. reticulata* expostos por um período de sete dias a sedimentos da bacia do rio Monjolinho, detectou alterações de primeiro estágio (hiperplasia) em ambientes com baixas concentrações de metais biodisponíveis. A junção de lamelas foi observada no ponto UFSCar, localizado na área urbana de São Carlos – SP, que apresentou as maiores concentrações de poluentes no sedimento. Os autores relacionaram as alterações histológicas com os metais biodisponíveis e as características granulométricas dos sedimentos estudados.

Fracácio (2006), utilizando juvenis de *D. rerio* e *P. reticulata* para avaliar a toxicidade de amostras de água da bacia do rio Monjolinho verificou alterações de primeiro estágio, como hiperplasia, elevação do epitélio braquial e junção de lamelas secundárias, apesar de não ter encontrado efeitos na sobrevivência dos organismos expostos aos testes de toxicidade crônica. A autora relacionou as alterações verificadas com as condições desfavoráveis do ambiente estudado.

Meletti (2003), expondo larvas de *D. rerio* a sedimentos do rio Piracicaba, não observou mortalidade em 96h de exposição, mas verificou alterações histológicas significativas, como a proliferação de células epiteliais e, conseqüente, a junção de algumas lamelas secundárias.

Assim, as amostras de sedimento da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, apresentaram toxicidade crônica com efeitos deletérios na sobrevivência, no peso e comprimento e nos tecidos branquiais dos organismos. Esses efeitos detectados não estiveram relacionados com as concentrações de metais verificadas nas amostras de sedimentos, no entanto, a toxicidade e a resposta integrada nem sempre é associada a um só composto químico, principalmente em amostras ambientais.

## 6. CONCLUSÕES

Não foi possível exibir um padrão sazonal e espacial regular da toxicidade, no entanto, todos os pontos de amostragem apresentaram toxicidade crônica (sobrevivência ou crescimento) a *D. rerio* e *P. reticulata* em ao menos um período de coleta, demonstrando a degradação geral do sistema.

A análise dos dados permitiu concluir que as amostras de sedimentos da bacia hidrográfica do alto Jacaré-Guaçu referentes à coleta de julho/07 apresentaram maior toxicidade para *P. reticulata*, e de janeiro/08 para *D. rerio*, considerando-se a sobrevivência, mostrando uma variabilidade nas respostas dos organismos.

A sobrevivência e crescimento, utilizadas para avaliar a toxicidade das amostras de sedimento da bacia, demonstraram-se satisfatórias, uma vez que a toxicidade crônica foi detectada nas duas espécies estudadas.

A histologia foi adequada para avaliar a toxicidade, uma vez que detectou efeitos severos em ambas as espécies, inclusive em organismos expostos em amostras onde não tinham sido verificados efeitos significativos na sobrevivência e crescimento.

A análise histológica deve ser utilizada como ferramenta complementar aos *endpoints* sobrevivência e crescimento em estudos ecotoxicológicos com peixes.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, W. J. Aquatic Toxicology Testing Methods. In: HOFFMAN, D. J. et. al. *Handbook of ecotoxicology*. Boca Raton, Lewis Publishers, 1995. p. 25-46.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – método de ensaio com peixes. NBR 15088, São Paulo, 19 p. 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com peixes. NBR 15499, São Paulo, 21 p. 2007.
- BANERJEE, S.; BHATTACHARYA, S. Histological changes induced by chronic nonlethal levels of elsan, mercury and ammonia in the small intestine of *Channa punctatus* (Bloch). *Ecotoxicol. Environm. Saf.*, v. 31, p. 62-68, 1995.
- BARRETO, A.S. Estudo da distribuição de metais em ambiente lótico, com ênfase na assimilação das comunidades biológicas e a sua quantificação no sedimento e água. 1999. 274 p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.
- BARRIONUEVO, W.R. Resposta cardio-respiratória do paulistinha (teleosteo, ciprinidae) a diferentes temperaturas e tensões de oxigênio, durante diferentes fases de desenvolvimento. 1995. 98p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1995.
- BERTOLETTI, E. (2000). *Estimativa de efeitos tóxicos crônicos com Danio rerio* (Pisces, Cyprinidae). Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 118 p.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. 2005, 23p.
- BRODERIUS, S.; KAHL, M. Acute toxicity of organic mixtures to the fathead minnow. *Aquatic Toxicology*, v.6, p.307-322, 1985.
- BURTON Jr, G.A. Sediment toxicity assessment. Chelsea: Lewis Publishers, 1992, 376p.
- BURTON, G.L., MACPHERSON, C. Sediment toxicity testing issue and methods. In: HOFFMAN, D.J., et. al. *Handbook of ecotoxicology*. Boca Raton, Lewis Publishers, 1995. p.70-103.
- CAIRNS JR, J.; NIEDERLEHNER, B. R.; BIDWELL, J. R. Ecological toxicity testing. In: *Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation*. MEYERS, R.A. (ed). New York, John Wiley & Sons, Inc, 1998. 455p.
- CAMARGO, M.P.; MARTINEZ, C.B.R. Histopathology of gills, kidney and liver of a neotropical fish caged in a urban stream. *Neotropical Ichthyology*, v. 5, n.3, p. 327-336, 2007.
- CAMPAGNA, A.F. (2005). Toxicidade dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho (São Carlos – SP): ênfase nas substâncias cobre, aldrin e heptacloro. 2005. 268p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.
- CAMPAGNA, A.F. et al. Dimethoate 40% organophosphorous pesticide toxicity in *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae, Characiformes) eggs and larvae. *Braz. J. Biol.*, v.66, n.2B, p. 633-640, 2006.
- CAMPAGNA, A.F. et al. The toxic potential of aldrin and heptachlor on *Danio rerio* juveniles (Cypriniformes, Cyprinidae). *Ecotoxicology*, v.16, p. 289-298, 2007.
- CAMPAGNA, A.F. et al. Analyses of the sediment toxicity on Monjolinho river, São Carlos, São Paulo State, Brazil, using survey, growth and gill morphology of two fish species (*Danio rerio* and *Poecilia reticulata*). *Braz. Arch. Biol. Technol.*, v.51, n.1, p. 193-201, 2008.

- CAMPAGNA, A.F. et al. Effects of the copper in the survival, growth and gill morphology of *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae). *Acta Limnol. Bras.*, v. 20, n.3, p.253-259, 2008b.
- CORBI, J.J.; STRIXINO, S.T.; SANTOS, A.; DEL GRANDE, M. Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de cana-de-açúcar (Estado de São Paulo, Brasil). *Química Nova*, v.29, n.1, p.61-65, 2006.
- ENDLER, J.A. Natural selection on color patterns in *Poecilia reticulata*. *Evolution*, v.34, p.76-91, 1980.
- ENSEBACH, U.; NAGEL, R. Toxicity of complex chemical mixtures: acute and long-term effects on different life stages of zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental safety*, v.30, p.151-157, 1995.
- ESPÍNDOLA, E.L.G.; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C.B. Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. *Limnologia Fluvial: Um estudo no rio Mogi-Guaçu*, 2003. p.129-180.
- ESTADOS UNIDOS. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Quality criteria for water. Washington, DC, 1995.
- EWALD, G. Chronic measures of toxicant - induced effects on fish. *Ann Zool. Fenici*, v.32, p.311-316, 1995.
- FERNICOLA, N.A.G.G.; BOHRER-MOREL, M.B.B.; BAINY, A.C.D. Ecotoxicologia. In: AZEVEDO, S.A.; CHASIN, A.M.M. *As bases ecotoxicológicas da ecotoxicologia*, São Carlos, Rima editora. InterTox, 2003. p. 221-243.
- FRACÁCIO, R. Utilização de bioensaios ecotoxicológicos com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae) e análises limnológicas para a avaliação ambiental dos reservatórios do médio e baixo Tietê (SP). 2001. 233p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.
- FRACÁCIO, R. Estudos limnológicos e ecotoxicológicos (laboratoriais e *in situ*), com ênfase na avaliação de metais e de pesticidas organoclorados em peixes (*Danio rerio* e *Poecilia reticulata*) – Sub-bacia do Rio Monjolinho. 2006. 219p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, 2006.
- FRACÁCIO, R. et al. Avaliação da toxicidade do endossulfan sulfato sobre juvenis de *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae). *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v.3, n.1, p. 15-21, 2008.
- FRACÁCIO, R. et al. In situ and laboratory evaluation of toxicity with *Danio rerio* Buchanan (1822) and *Poecilia reticulata* Peters (1859). *Acta Limnol. Bras.*, v. 21, n.1, p. 111-122, 2009.
- HANDY, R.D.; EDDY, F.B.; ROMAIN, G. In vitro evidence for the ionoregulatory role of rainbow trout mucus in acid, acid/aluminum and zinc toxicity. *J. Fish Biol.*, v.35, p.373, 1989.
- KRISTENSEN, P. Sensitivity of embryos and larvae in relation to other stages in the life cycle of fish: a literature review. IN: MÜLLER, R.; LLOYD, R. (Eds). *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. United Nation, fishing News Books. 1994. p. 155-174.
- KRUIJF, H.A.M. (1988). What is a ecotoxicology? IN: KRUIJF, H.A.M.. ZWART, D. (eds). *Manual on aquatic ecotoxicology*. Kluwer Academic Publishers, London, Cap. 4, 332p.
- LAURÉN, D.J.; McDONALD, D.G. Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri* : Physiology. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v.4, p. 99 – 104, 1987.
- MAAK, G.; SEGNER, H. Morphological development of the gonads in zebrafish. *Journal of Fish Biology*, v. 62, p.895-906, 2003.

MANDEL, P.K.; KULSHRESTHA, A.K. (1980). Histopathological changes induced by sublethal sumithion in *Claris batrachus* (1ln). *Indian J. Exp. Biol.*, v. 18, p. 547-552, 1980.

MAYER et al. Physicochemical factors affecting toxicity in freshwater: hardness, ph, and temperature. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., EPA/600/A-94/199 (NTIS PB95122990), 1994.

McKIM, J.M. (1977). Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long-term toxicity. *J. Fish Board. Can.*, v.34, p. 1148-1154.

MEFFE, G.K.; SNELSON JUNIOR, F.F. Ecology and Evolution of livebearing fishes (Poeciliidae). New Jersey, Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1989, 452p.

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

MELETTI, P.C. Avaliação da degradação ambiental por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes. 2003. 209p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

MORRISON, G.M.P.; BATLEY, G.E.; FLORENCE, T.M. Metal speciation and toxicity. *Chemistry in Britan*, p. 792 – 795, 1989.

NEWMAN, M.C.; JAGOE, C.H. 1994. Ligands and the bioavailability of metals in aquatic environments. In: HAMELINK, J.L.; LANDRUN, P.F.; BERGMAN, H.L.; BENSON, W.H.. Bioavailability, physical, chemical, and biological interactions. Seção 3, 1994. Cap. 1. p.39-62.

NEWSTEAD, J.D. Fine structure the respiratory lamellae of Teleostean gills. *Zeitschrift für Zellforschung*, v.70, p. 420-445, 1987.

PAWERT, M; MÜLLER, E; TRIEBSKORN, R. Ultrastructural changes in fish gills as biomarker to assess small stream pollution. *Tissue and Cell.*, v.30, n.6, p. 617-626, 1998.

PELAÉZ-RODRIGUES, M. Avaliação da qualidade da água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu / SP (Ribeirão do Feijão e Rio do Monjolinho) através de variáveis físicas, químicas e biológicas. 2001. 145p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

POLEKSIC, V., MITROVIC-TUTUNDIZIC, V. Fish gills as monitor of sublethal and chronic effects of pollution. IN: MULLER, R., LLOYD, R. *Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish*. United Nation, Fishing News Books, 1994. p.339 - 352.

RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. (1985). Fundamentals of aquatic toxicology: methods and application. 1.ed. London, Hemisphere Publishing Corporation, 1985. 666p.

ROEX, E.W.M., VRIES, E.; VAN GESTEL, C.A.M. Sensitivity of the zebrafish (*Danio rerio*) early life stage test for compounds with different models of action. *Environ. Pollution*, v.120, p. 355-362, 2002.

ROBERTS, R.J. Fish pathology. 2.ed. London: Bailliere Tindall, 1989. 103p.

SÃO PAULO. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB). Água – Teste de toxicidade aguda com peixes – parte II – sistema semi-estático. L5.019-II. Outubro/1990. São Paulo, 1990. 29p.

SÃO PAULO. Secretaria Estadual do Meio Ambiente (SEMA). Avaliação da toxicidade para peixes (D.3). In: *Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos*. Brasília, 1988. 10 p.

SPRAGUE, J.B. Factors that modify toxicity. In: RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. (Eds.). Fundamentals of aquatic toxicology: methods and application. London, Hemisphere Publishing Corporation, 1985. p. 124-163.

STEPHAN, C.E. et al. Guidelines for deriving numerical national water quality criteria for protection of aquatic life and its uses. Draft (july, 5). U.S.EPA., 1983.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. (Eds) An Atlas of Fish Histology: Normal and pathological features. Kodansha Ltd., Tóquio, 1995.

TEMMINK, J.H.M. et al. Acute and subacute toxicity of bark tannins in carp (*Cyprinus carpio*). Water Research, v.23, n.3, p. 341-344, 1989.

VITTOZZI, I; DE ANGELIS, G. A critical review of comparative acute toxicity data on freshwater fish. Aquatic Toxicology, v.19, n.2, p.167-204, 1991.

WOLTERING, D.M. The growth response in fish chronic and early life stages toxicity tests: a critical review. Aquat. Toxicol., v.5, p. 1-21, 1984.

ZAGATTO, P. A. (1999). "Mini-curso: ecotoxicologia aquática". In: VII Congresso Brasileiro de Limnologia, Florianópolis, 124 p.

# Capítulo 4

## *Avaliação do potencial de uma formulação simples de sedimento utilizando o metal cromo como substância de referência.*

### **1. INTRODUÇÃO**

#### **1.1. Sedimentos naturais x sedimentos artificiais.**

Os sedimentos têm valores agregados, ecológico, social e econômico. Esse compartimento é um dos principais componentes do sistema aquático e suporta uma variedade de habitats e ambientes, funcionando inclusive, como a principal fonte de nutrientes para a biota residente e indiretamente para os organismos de níveis tróficos mais elevados na cadeia alimentar.

Além disto, os sedimentos são também um benefício sócio-econômico, pois são um recurso natural. Há séculos, o homem tem se beneficiado na agricultura, com o enriquecimento dos solos com a deposição de sedimentos enriquecidos com nutrientes em áreas alagáveis marginais a rios e como fonte de minerais e outros materiais (SEDNET, 2003).

O desenvolvimento acelerado e descontrolado, a industrialização e o crescimento da urbanização não planejada, exercem influência significativa na degradação da qualidade dos corpos de água. Atualmente, a demanda por água tratada é muito elevada e, em contradição a isso, o que se devolve aos mananciais é uma carga de efluentes industriais e domésticos sem prévio tratamento.

A carga poluidora despejada nos corpos de água se concentra principalmente nos sedimentos desses ambientes aquáticos e esta característica se torna ainda mais preocupante quando os corpos de água estão inseridos em proximidades de descargas de metais, podendo resultar em efeitos severos na biota bentônica associada (DOIG; LIBER, 2006).

Os metais associados aos materiais das diversas fontes naturais (lixiviação de solos, intemperização de rochas) e antropogênicas (efluentes e resíduos domésticos e industriais) ao serem descarregados nos ambientes aquáticos sofrem uma partição entre a água e os particulados suspensos, sendo que parte desta carga é metabolizada pela biota e parte terá como destino final dos sedimentos de fundo desses ambientes. O processo de partição é também ativo no compartimento sedimento entre a fase sólida (partículas orgânicas e inorgânicas) e a fase solúvel (água intersticial), onde se encontram os íons metálicos, nutrientes e outras substâncias dissolvidas (SILVÉRIO, 2003).



Desta forma, o compartimento sedimento pode desempenhar duas funções, como: a) depósito de poluentes, onde estes compostos podem permanecer por tempo indeterminado influenciando diretamente a fauna bentônica, e b) fonte potencial de poluição dentro do ambiente aquático, uma vez que, processos físicos, químicos e biológicos, podem favorecer a liberação de metais do sedimento para a coluna de água, oferecendo assim, riscos potenciais também para a comunidade planctônica e nectônica, bem como desencadeando efeitos tóxicos na cadeia alimentar associada.

Há grande dificuldade em avaliar e quantificar o potencial tóxico de metais em sedimento naturais, uma vez que este é amplamente variável em suas características físicas e químicas e, as rotas de absorção de eliminação dos poluentes por organismos aquáticos são as mais diversificadas possíveis (EDWARDS; SIMKISS, 2005). Neste sentido, a quantidade de experimentos com sedimentos artificiais em laboratório tem aumentado nos últimos anos (CLÉMENT; CADIER, 1998; FEILER et al., 2004; KEMBLE et al., 1999; NAYLOR; RODRIGUES, 1995; RIBEIRO et al., 1999; ROMAN et al., 2007; VERRHIEST et al., 2002), permitindo avaliar efeitos de diversos tipos de poluentes em organismos aquáticos diante de condições pré-estabelecidas.

As vantagens em se utilizar o sedimento artificial são (1) a possibilidade de ter uma situação rigorosamente controlada, com características e propriedades bem conhecidas (tamanho e proporção de partículas, superfícies quimicamente específicas) para avaliar e prever como os sedimentos naturais reagiriam em contato com vários tipos de poluentes; (2) são desprovidos de macrofauna nativa, contaminantes e apresentam considerável reprodutibilidade; (3) suportam a sobrevivência e crescimento de diversos organismos (animais e plantas); (4) podem ser comparados entre laboratórios; (5) podem ser estocados sem maiores problemas (SUEDEL; RODGERS, 1994), além de fornecer informações a respeito do comportamento de diversas substâncias individualmente ou em misturas complexas em função da composição do substrato.

## **1.2. Avaliação da Qualidade de Sedimentos para proteção da vida aquática.**

Em decorrência da importância do compartimento sedimento no ambiente aquático, uma avaliação da qualidade da água requer a avaliação da qualidade dos sedimentos, uma vez que os contaminantes presentes nesse compartimento podem apresentar riscos tanto à fauna residente (bentônica) quanto aos organismos da coluna d'água. Para tanto, é necessário um entendimento das relações entre os contaminantes dos sedimentos e os efeitos adversos à biota. Neste sentido, os valores-guia de qualidade de sedimentos têm sido utilizados para avaliar os riscos de contaminação dos sedimentos.

Valores-guia são ferramentas científicas que deveriam sintetizar os efeitos adversos em diferentes organismos-teste frente às concentrações de poluentes em sedimentos e, têm

sido derivados por várias agências federais, estaduais e provinciais na América do Norte para água doce, ecossistemas marinhos e costeiros. Esses valores podem ser gerados a partir de concentrações basais nos sedimentos, testes de toxicidade com adição de poluentes (*spiking tests*), critérios de qualidade para outras matrizes (água, tecido, solo) e avaliação da estrutura da comunidade bentônica (ENVIRONMENT CANADA, 1999). De maneira geral, são baseados em extensos bancos de dados gerados em laboratório e campo.

Um exemplo disso são os valores-guias canadenses, que foram gerados a partir de informações químicas e toxicológicas disponíveis na América do Norte, de acordo com o Conselho Canadense de Ministérios do Meio Ambiente (CCME, 2003) e são amplamente utilizados para prever efeitos tóxicos de sedimentos em trabalhos realizados no Brasil (por meio de valores limiares de toxicidade à biota – TEL e PEL), uma vez que ainda não existe uma legislação nacional que estabelece critérios para qualidade de sedimentos.

Assim, é evidente a necessidade em gerar um banco de dados nacional a respeito da toxicidade de poluentes adicionados a sedimentos naturais e artificiais em organismos aquáticos, buscando-se compreender os efeitos tóxicos adversos frente a diferentes composições e características desses substratos. Diante disto, sedimentos artificiais com formulação simples podem auxiliar no levantamento e obtenção destes dados nos seguintes âmbitos (1) interpretação da toxicidade de substâncias a organismos aquáticos, testadas individualmente ou em misturas complexas; (2) redução dos custos com coleta e condicionamento de sedimentos naturais; (3) rapidez e facilidade na preparação dos sedimentos e, conseqüentemente, maior facilidade na realização dos testes; (4) facilidade na obtenção das frações e (5) possibilidade de comparação de resultados com outros laboratórios, bem como com sedimentos naturais.

### 1.3. Cromo

O cromo é um metal amplamente utilizado na indústria metalúrgica, na fabricação de produtos químicos destinados ao uso em curtumes (pigmentos), na indústria têxtil, na preservação de madeiras, e na agricultura, onde está presente em níveis apreciáveis em fertilizantes e agrotóxicos (HSDB, 2000 *apud* SILVA; PEDROZO, 2001).

Em sistemas naturais, o cromo apresenta dois estados oxidativos,  $\text{Cr}^{3+}$  (trivalente) e  $\text{Cr}^{6+}$  (hexavalente), cada um com diferentes propriedades geoquímicas e toxicológicas. O  $\text{Cr}^{6+}$  é altamente oxidável e instável em ambientes reduzidos e sedimento anóxicos e, conseqüentemente, amplamente solúvel e tóxico (DELAUNE et al., 1998). Já o  $\text{Cr}^{3+}$  tem baixa solubilidade e apresenta menor toxicidade (WANG et al., 1997).

Nakayama et al (1981) reportaram que em águas naturais cerca de 25 a 40% do cromo está na forma inorgânica  $\text{Cr}^{6+}$ , 10 a 20% sob a forma inorgânica  $\text{Cr}^{3+}$  e, 45 a 60% do

$\text{Cr}^{3+}$  está complexado com carbono orgânico dissolvido e substâncias húmicas. Assim, o  $\text{Cr}^{6+}$  é facilmente reduzido a  $\text{Cr}^{3+}$  na presença destas substâncias (produtos da degradação da matéria orgânica dissolvida).

Sua toxicidade para a vida aquática tem sido amplamente há décadas (CEURDASSIER et al., 2000; CHOI; ROCHE, 2004; DAVE et al., 1987; ESTEVENS; CHAPMAN, 1984; JOP et al., 1987; SVECEVICIUS et al., 2006; VEDAMANIKAM; SHAZILLI, 2008; VILLAESCUSA et al., 1997), sendo observados efeitos na sobrevivência, crescimento, reprodução, teratogênicos, carcinogênicos, além de alterações fisiológicas, bioquímicas, histológicas, estes comumente detectados diante da exposição ao cromo solúvel na água.

A escolha do metal cromo no presente estudo é decorrente (1) da sua ampla utilização e presença nos corpos de água; (2) da elevada toxicidade comprovada nos diversos estudos anteriores, acima citados; (3) das elevadas concentrações detectadas em amostras de água e sedimento da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu (capítulo 2); (4) dos resultados da análise de discriminantes enfatizando a forte influência do metal nos pontos de coleta durante o período de abril/07.

#### **1.4. Experimentos com fortificação de sedimentos (“*spiking*”).**

O processo chamado de fortificação de sedimentos (ou do inglês *spiking*) consiste na adição de um ou mais compostos químicos a uma amostra de sedimento. Depois desta manipulação, os sedimentos são utilizados em testes de toxicidade para determinar os efeitos tóxicos dos compostos individuais ou das misturas nos organismos-teste.

No planejamento e na interpretação dos resultados dos experimentos de fortificação, a capacidade dos sedimentos de “seqüestrar” contaminantes deve ser sempre considerada, reconhecendo que este processo é controlado por um grande número de processos químicos e biológicos (NORTHCOTT; JONES, 2000). Além disso, os metais nesses experimentos de fortificação se encontram em formas muito mais reativas do que os metais nos sedimentos de ambientes naturais, pois segundo os protocolos de fortificação, os sedimentos manipulados com adição de metais devem ser deixados em equilíbrio com a água do teste por um período entre uma e duas semanas. Embora este intervalo de tempo pareça longo, ele não é suficiente para garantir uma mimetização realística do equilíbrio natural entre contaminantes e as partículas dos sedimentos que ocorrem na natureza.

O tempo de equilíbrio tem sido variável nos diferentes estudos com fortificação de sedimentos, sendo observados períodos de 24 horas até duas semanas (CASTRO et al., 2003; DOIG; LIBER, 2006; EDWARD; SIMKISS, 2005; EGELER et al., 2001; NAYLOR; RODRIGUES, 1995; RIBEIRO, et al., 1999; ROMAN et al., 2007).

No presente estudo, os principais objetivos da realização de experimentos com fortificação de sedimentos artificiais simples foram (1) verificar a adequabilidade de um

sedimento artificial simples como substrato para testes de toxicidade; (2) auxiliar na interpretação da toxicidade dos sedimentos naturais da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu; (2) estabelecer valores de toxicidade para o cromo como subsídio para a formação de um banco de dados nacional (3) comparar estes resultados com o limite estabelecido para cromo pelo critério canadense para qualidade de sedimentos (CCME, 2003).

## **2. OBJETIVO GERAL**

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar o potencial de uma formulação simples de sedimento (areia, argila e matéria orgânica) em testes de toxicidade aguda, crônica e crônica parcial com cromo utilizando organismos-teste de diferentes níveis tróficos (*Chironomus xanthus*; *Danio rerio* e *Poecilia reticulata*).

### **2. 1. Objetivos específicos**

#### **2.1.1. Sedimentos artificiais sem fortificação:**

- ✓ Verificar a adequabilidade dos sedimentos artificiais para a sobrevivência e desenvolvimento de organismos bentônicos (*C. xanthus*) e nectônicos (*D. rerio* e *P. reticulata*);
- ✓ Avaliar a adequabilidade dos sedimentos artificiais como substrato para teste de toxicidade realizando a fortificação com o metal cromo.

#### **2.1.2. Sedimentos artificiais com fortificação de cromo:**

- ✓ Avaliar a toxicidade aguda e crônica do cromo adicionado em sedimentos artificiais para as espécies *Chironomus xanthus*, *Danio rerio* e *Poecilia reticulata* com base em concentrações determinadas em testes preliminares e definitivos, bem como nas concentrações detectadas no ambiente natural (capítulo 2) e recomendadas pela legislação canadense (CCME, 2003);
- ✓ Comparar a sensibilidade de *C. xanthus*, *D. rerio* e *P. reticulata* nos testes de toxicidade aguda, crônica e crônica parcial com cromo por meio das variáveis: sobrevivência, crescimento, morfologia de brânquias e mentos, bem como acúmulo de cromo nos tecidos;
- ✓ Avaliar a influência de pequenas variações das porcentagens de matéria orgânica detrital biodegradável (MO) adicionada sedimentos artificiais na sobrevivência e crescimento dos organismos-teste, bem como disponibilidade do cromo, por meio de testes de toxicidade crônica;
- ✓ Verificar a influência da MO adicionada aos sedimentos artificiais sobre a toxicidade do cromo aos organismos-teste por meio de testes de toxicidade aguda;

- ✓ Comparar e discutir os resultados obtidos em laboratório com as concentrações de cromo verificadas em campo;
- ✓ Avaliar e discutir as concentrações biodisponíveis de cromo nos sedimentos artificiais e na água dos testes levando em consideração as concentrações-limite estabelecidas pelo CONAMA 357 (2005) (50µg/L na água) e CCME (2003) (37,3 mg/Kg no sedimento).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Sedimentos artificiais**

Os sedimentos artificiais foram formulados contendo as frações de areia grossa (cerca de 90%); argila caulinita (10%) e matéria orgânica (0,0; 0,25; 0,5 e 1,0 %), caracterizando os tratamentos S0, SI, SII e SIII, respectivamente. As porcentagens de matéria orgânica foram determinadas inicialmente com base na concentração média de matéria orgânica verificada nas amostras de sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu (capítulo 2). Durante o período de estudo, estas concentrações no ambiente foram em média 3% ( $\pm$  3,3), sendo em primeiro momento, testados sedimentos com concentrações de matéria orgânica que estivessem coerentes com as encontradas no ambiente (0; 1; 2 e 4%). No entanto, os testes preliminares demonstraram que os sedimentos com teores acima de 1% degradavam a qualidade da coluna de água e, assim, foram formulados sedimentos com teores de MO abaixo de 1%.

A areia foi adquirida em comércio especializado de materiais para filtragem de água (Mineração Jundu LTDA), apresentando granulometria conhecida (0,4 – 1 mm), isenta de matéria orgânica e de contaminantes, segundo certificado de expedição (ANEXO 3). A argila caulinita também foi obtida comercialmente (LABSYNTH), com características especiais para utilização em cosméticos e produtos farmacológicos e, portanto, isenta de contaminantes (ANEXOS 4 e 5). Antes da preparação dos sedimentos, a areia foi lavada com solução ácida e posteriormente, tanto a areia quanto a argila caulinita foram calcinadas em forno tipo mufla a 550°C por 1h para eliminar possíveis concentrações de material orgânico.

O conteúdo orgânico foi obtido a partir da espécie de macrófita aquática *Scirpus cubensis*, a qual foi coletada na Lagoa do Óleo, por sua vez localizada na Estação Ecológica de Jataí, em Luiz Antônio - São Paulo, Brasil, sob as coordenadas -21° 35' 14" de latitude sul e -47° 50' 34" de longitude oeste. Esta lagoa é considerada um ambiente com baixo grau de interferências humanas (Irineu Bianchini e Odete Rocha, comunicação pessoal). Depois de coletada, a espécie foi seca em temperatura ambiente e, posteriormente em estufa (40°C), triturada e finamente pulverizada para que as partículas obtidas

apresentassem tamanho menor que 1,0 mm (OECD, 2004). Foi realizada análise de metais nos extratos de acordo com metodologia descrita em Silvério (1999).

As frações secas foram misturadas manualmente e receberam a água destilada (experimento sem fortificação) ou soluções de cromo (experimento fortificado) em volumes previamente estabelecidos em experimentos de capacidade de retenção dos sedimentos (60%). Depois de umedecidos, os sedimentos foram mantidos em sala escura com temperatura ambiente ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) por um período de 24 horas, procedimento necessário para a estabilização do substrato. Posteriormente, foi adicionada cuidadosamente água reconstituída na proporção 1:4 (sedimento/água), e durante mais 24 horas os tratamentos foram mantidos sob condições acima descritas.

O preparo das soluções de cromo foi realizado a partir do dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ). Nos testes de toxicidade aguda (preliminares e definitivos) foram utilizados apenas os sedimentos S0 e SIII, enquanto que nos testes crônicos e crônicos parciais, foram utilizados todos os tratamentos (S0, SI, SII, SIII).

As concentrações de cromo utilizadas nos testes de toxicidade aguda definitivos com *C. xanthus* (90 mg/kg; 180 mg/kg; 360 mg/kg; 720 mg/kg e 1440 mg/kg) e com os peixes (375 mg/kg; 750 mg/kg; 1500 mg/kg e 3000 mg/kg) foram obtidas por meio de testes preliminares, enquanto que, no testes crônicos, uma única concentração de cromo (37,3 mg/Kg) foi utilizada para fortificar todos os tratamentos. Esta concentração foi escolhida com base na TEL estabelecida pelo CCME (2003). Neste sentido, foi possível verificar a influência de baixas variações na concentração de matéria orgânica na disponibilidade do cromo para os organismos-teste.

### **3.2. Obtenção e manutenção dos organismos-teste**

Os exemplares da espécie *C. xanthus* foram obtidos de culturas mantidas no Laboratório de Ecotoxicologia, do Departamento Ecologia e Biologia Evolutiva (DEBE), da Universidade Federal de São Carlos. O cultivo foi realizado em bandejas cobertas por gaiolas de nylon para a retenção dos organismos adultos. Nessas bandejas foi colocado sedimento, com as mesmas características daquele utilizado nos testes de toxicidade, (esterilizado em mufla a  $550^{\circ}\text{C}$  por 2 horas) e água de manutenção. O cultivo dos organismos foi mantido sob constante aeração, em sala com temperatura controlada ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) e fotoperíodo de 12h claro e 12h escuro. As larvas foram alimentadas com uma concentração de  $10^5$  células/mL de algas (clorofíceas *Pseudokirchneriella subcapitata*), apenas no primeiro dia, e ração para peixes Tetrafin na proporção de 0,04 mg/mL de água nos demais dias (FONSECA, 1997; PAMPLIM, 1999). Foram realizados testes de sensibilidade com *C. xanthus* ao cloreto de potássio (KCl) para avaliar a sensibilidade das culturas, seguindo as recomendações apresentadas por Fonseca (1997) e Dornfeld (2002).

Os lotes de juvenis de *D. rerio* e de *P. reticulata* foram obtidos comercialmente e mantidos em laboratório por um período de 15 dias para aclimação antes de serem expostos em testes de toxicidade. Os organismos foram aclimatados em água reconstituída, com aeração constante, temperatura controlada ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ ), dureza (40 a 48mg/L de  $\text{CaCO}_3$ ), pH (7,0 e 7,6) e condutividade elétrica (160  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) pré-estabelecidos. A alimentação dos peixes foi ministrada três vezes ao dia, de forma alternada (ração comercial Tetrafin<sup>®</sup>). Cada lote de organismos adquiridos teve sua sensibilidade avaliada empregando-se a substância de referência  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (dicromato de potássio) (ABNT, 2004).

### 3.3. Testes de toxicidade aguda

Para a realização dos testes de toxicidade aguda foram utilizados os sedimentos artificiais contaminados com cromo em concentrações determinadas em testes preliminares. Os sedimentos utilizados nestes experimentos foram apenas o sedimento isento de matéria orgânica (S0 = areia (90%) + argila (10%)) e o sedimento com maior teor de matéria orgânica (SIII = areia (89%) + argila (10%) + matéria orgânica (1%)). Estes tratamentos foram escolhidos com base em testes de toxicidade realizados previamente, variando-se os teores de matéria orgânica nos sedimentos. Assim, foram escolhidos os sedimentos mais discrepantes em relação à porcentagem de matéria orgânica.

Os testes com *C. xanthus* foram realizados com base na metodologia descrita por Fonseca (1997), onde foram expostos seis organismos no 4<sup>o</sup> instar de desenvolvimento em amostras de sedimento/água na proporção de 1:4. Cada réplica foi disposta em recipientes plásticos descartáveis com capacidade para 250 mL onde foram adicionados 60g de sedimento e 240 mL de água. Para cada tratamento foram realizadas três réplicas, totalizando 18 organismos-tese. A duração dos testes foi de 96 horas.

As concentrações de cromo foram obtidas a partir do dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) sendo estas adicionadas aos sedimentos nas seguintes concentrações: 0; 90; 180; 360; 720 e 1440 mg/Kg. Assim, foram realizados dois tipos de experimentos: 1) concentrações de cromo adicionadas ao sedimento controle e; 2) as mesmas concentrações de cromo adicionadas ao sedimento III. Cada tipo de experimento foi repetido três vezes. Um branco (B) apenas constituído de areia de cultivo foi adicionado aos testes.

As medidas de pH, dureza e condutividade foram realizadas ao início e final dos experimentos. Durante os testes, foram controladas as condições de temperatura ( $25^{\circ} \pm 2$ ) e fotoperíodo (12h:12h; claro:escuro) e, ao final de 96 horas, foi avaliada a mortalidade dos organismos, sendo estes contados e retirados com auxílio de peneira e lupa. As características da água reconstituída utilizada para montar os tratamentos no início dos testes estiveram entre 6,8 e 7,6 para o pH; entre 10 e 16 mg/L de  $\text{CaCO}_3$  para a dureza e,

em torno de 60  $\mu\text{S}/\text{cm}$  para a condutividade. Os organismos foram alimentados apenas no primeiro dia do teste seguindo as proporções utilizadas no cultivo.

Em relação à *D. rerio* e *P. reticulata*, os testes foram realizados de acordo com as normas da ABNT (2004), onde cinco organismos foram expostos em amostras de sedimento/água na proporção de 1:4 (BURTON; MACPHERSON, 1994). Cada réplica foi disposta em recipientes plásticos descartáveis com capacidade para 1000 mL onde 100g de sedimento e 400 mL de água foram adicionados. Para cada tratamento foram adicionadas duas réplicas, totalizando 10 organismos-tese. A duração dos testes foi de 48 horas.

As concentrações de cromo foram obtidas a partir de dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) e foram adicionadas aos sedimentos nas seguintes concentrações: 0; 375; 750; 1500 e 3000 mg/Kg. Os tipos de experimento e repetições foram os mesmo descritos para *C. xanthus*.

As medidas de pH, dureza e condutividade foram realizadas ao início e final dos experimentos. Durante os testes, foram controladas as condições de temperatura ( $25^\circ \pm 2$ ) e fotoperíodo (12h:12h; claro:escuro) e, ao final de 48 horas, foi avaliada a mortalidade dos organismos contando-se os mortos. As características da água reconstituída utilizada para montar os tratamentos no início dos testes estiveram entre 7,0 e 7,6 para o pH; entre 40 e 48 mg/L de  $\text{CaCO}_3$  para a dureza e, em torno de 160  $\mu\text{S}/\text{cm}$  para a condutividade. Os organismos não foram alimentados durante os testes. Um branco (B) apenas constituído de água reconstituída foi adicionado aos testes.

Em todos os testes foram analisadas as concentrações de cromo total na água e biodisponível nos sedimentos em amostras retiradas no início e final dos testes. Para tanto, foram adicionadas réplicas aos experimentos, onde a amostragem foi realizada cuidadosamente com seringas descartáveis de 20 mL, de modo a evitar a ressuspensão do sedimento. Os resultados de mortalidade foram apresentados como CL(I)50 (96 horas para *C. xanthus* e 48 horas para peixes), obtidos por meio do programa computacional Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977).

### **3.4. Testes de toxicidade crônica**

Os testes de toxicidade crônica (*C. xanthus*) e crônica parcial (*D. rerio* e *P. reticulata*) foram realizados com todos os tratamentos descritos no início deste capítulo (S0, S1, SII e SIII), variando-se as concentrações de matéria orgânica e mantendo-se fixa a concentração de cromo a ser adicionada aos sedimentos (37,3 mg/Kg). Dois tipos de experimentos foram realizados: 1) experimentos sem fortificação (sedimentos adicionados apenas com água destilada) e 2) experimentos com fortificação de cromo.

Os testes de toxicidade crônica com *C. xanthus* foram realizados com base nas normas do protocolo 218 da OECD (2004). A água reconstituída utilizada nos testes



apresentou pH entre 6,8 e 7,6; dureza entre 10 e 16 mg CaCO<sub>3</sub>/L, e condutividade em torno de 60 µS/cm. Cada tratamento foi avaliado com seis réplicas, onde foram expostos 10 organismos-teste/réplica no 1º ínstar de desenvolvimento, durante 7 dias. Três réplicas sem organismos foram adicionadas para análises físicas e químicas do sedimento. Um tratamento com areia de cultivo foi utilizado como branco (B).

A alimentação foi a mesma utilizada no cultivo, ministrada a cada dois dias na proporção de 0,04 mg/mL. No final do experimento, os organismos sobreviventes foram contados (com auxílio de peneira e lupa) e fixados em álcool 70% para posteriores análises. Dos sobreviventes, 50% foram avaliados biometricamente com auxílio de paquímetro e, posteriormente foram encaminhados para análise de cromo nos tecidos, sendo os 50% restantes avaliados quanto à deformidade de mento, por meio da preparação de lâminas semi-permanentes.

Quanto aos peixes, os testes de toxicidade crônica parcial foram realizados com base nas normas da Secretaria Estadual do Meio Ambiente (SEMA, 1988). Apesar da existência de uma norma mais recente para testes de toxicidade crônica com peixes (ABNT, 2007), a norma mais antiga foi utilizada porque os testes de toxicidade com amostras ambientais (ocorrido em 2007 e 2008) foram realizados com base na mesma, uma vez que a norma mais recente foi elaborada apenas no período referente à última amostragem em campo. Assim, como o objetivo do trabalho é comparar os resultados do presente capítulo com os resultados do capítulo 3, optou-se por utilizar a mesma norma durante o estudo.

Desta forma, a água reconstituída teve as mesmas características daquela utilizada no cultivo. Cada tratamento foi avaliado com três réplicas, onde foram expostos 30 organismos-teste juvenis, durante sete dias. Três réplicas sem peixes foram adicionadas para análises físicas e químicas do sedimento. O branco (B) foi composto somente de água, sendo que nos testes com peixes, foi mantido também o tratamento composto com 100% de areia (considerado como branco nos testes com *C. xanthus*).

No final dos experimentos, foram contados os organismos sobreviventes, dos quais 50% foram avaliados biometricamente com auxílio de paquímetro e balança analítica e, posteriormente encaminhados para análise de morfologia das brânquias. Os 50% restantes foram avaliados quanto à concentração de cromo nos tecidos.

A alimentação durante os testes foi ministrada diariamente, e os organismos mortos foram retirados imediatamente quando notados. Para todas as espécies (*C. xanthus*, *D. rerio* e *P. reticulata*) amostras de água e sedimento foram retiradas no início (t0) e final (t7) do experimento para posteriores análises físicas e químicas. Durante o teste, foram acompanhadas as variáveis pH, condutividade e dureza na água. Os testes receberam aeração constante (gentilmente aerados), e foram mantidos sob fotoperíodo de 12:12h

(claro/escuro), em temperatura constante ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ ). Para todas as espécies, os experimentos sem fortificação e com fortificação de cromo foram repetidos três vezes.

#### **3.4.1. Análises físicas e químicas**

Nos experimentos sem fortificação, foram realizadas na água as análises de nitrito e nitrato (MACHERETH et al., 1978); íon amônio (KOROLEFF, 1976); nitrogênio orgânico total (APHA, 1995); fósforo total, fósforo total dissolvido e fosfato inorgânico (APHA, 1995), silicato reativo (GOLTERMAN, 1978), carbono orgânico total e dissolvido e cromo total (APHA, 1995). Nas amostras de sedimento, foram realizadas as análises de matéria orgânica (TRINDADE, 1980); fósforo total (ANDERSEN, 1976), nitrogênio orgânico total (APHA, 1995) e cromo biodisponível (SILVÉRIO, 1999). Nos experimentos com fortificação de cromo foram realizadas as análises de cromo total em amostras de água e cromo biodisponível em amostras de sedimento, coletadas no início e final dos testes.

#### **3.4.2. Deformidade de mento de *C. xanthus***

A montagem de lâminas semi-permanentes foi realizada com o meio Hoyer, sendo retirada a cápsula cefálica dos organismos sobreviventes para a avaliação do mento de cada indivíduo. Foi considerada deformidade do mento a ausência ou adição de dentes, “gap” (fendas) e bifurcação em dente trífido (KUHLMANN et al., 2000).

#### **3.4.3. Estudos histológicos com *D. rerio* e *P. reticulata***

Os estudos histológicos foram realizados nos organismos que sobreviveram nos testes. Após o término dos testes, os organismos foram fixados em *Bouin* e posteriormente desidratados para a inclusão em parafina. A trimagem para a obtenção dos cortes seriados de 4,0 – 6,0 micrômetros foi efetuada em micrótomo MICRON HM 340E, com navalha de aço, corados com hematoxilina-eosina (HE), sendo posteriormente analisados sob microscópio óptico. Foram analisados tecidos branquiais, uma vez que este representa um alvo primário de contato com o meio. O tipo e grau das alterações foram baseados em Poleksic e Mitrovic-Tutundisic (1994).

#### **3.4.4. Análise de metais em tecidos**

Os indivíduos foram secos a  $50^{\circ}\text{C}$  em estufa até peso constante. Depois de secas, as amostras de *C. xanthus* receberam 5,0 mL de ácido nítrico concentrado, e permaneceram durante 1 hora em placa aquecedora ( $76^{\circ}\text{C}$ ). Após a digestão, este volume foi completado para 50 mL com água ultrapura, sendo posteriormente realizada a leitura em Espectrofotometria de Absorção Atômica por chama e forno de grafite (modelo SpectrAA 220, Varian) (MEYER et al., 2002). As amostras de peixes receberam 10 mL de ácido nítrico

concentrado e permaneceram na placa aquecedora (50°C) até se apresentarem transparentes. Quando isto não era possível, foi adicionada água oxigenada pura, no volume máximo de 1,0mL por amostra. Depois de digeridas, as amostras tiveram o volume completado para 50 mL com água ultrapura Mili-Q e foram realizadas as leituras (TONISSI, 1999).

### 3.4.5. Extração seqüencial do sedimento

A extração seqüencial foi realizada em amostras empregando-se algumas frações do método adaptado por Silveira et al. (2006) para solos tropicais, pois não há fracionamento dos óxidos como descrito por estes autores. As frações foram: (i) trocável (F1); (ii) ligada a carbonatos (F2) (devido ao pH elevado das amostras); (iii) ligada à matéria orgânica (F3); (iv) ligada a óxidos de Fe, Al e de Mn (F4) e (v) residual (F5). Para realizar-se a extração seqüencial, pesou-se o equivalente a 1,0 g do material seco (sedimento artificial) peneirado a 100 mesh e adicionou-se em tubos de centrífuga de policarbonato. Em seguida, procederam-se as extrações descritas a seguir:

1) Trocável (F1): as amostras foram equilibradas por 2h com 15 mL de  $\text{CaCl}_2$  0,1 mol/L. Posteriormente, foram agitadas por 2h em agitador horizontal, à temperatura ambiente. Esta fração foi adaptada por Silveira et al. (2006), substituindo o  $\text{MgCl}_2$  1,0 mol/L do método de Tessier et al. (1979) e o  $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$  0,1 mol/L do método de Ahstrom e Parker (1999), por ser o cálcio um elemento mais abundante e comum no solo.

2) Carbonatos (F2): extraída com 30 mL de NaOAC 1,0 mol/L (pH 5), com agitação de 5h em agitador horizontal, em temperatura ambiente.

3) Matéria orgânica (F3): extraída com 5mL de NaOCl 5% com pH ajustado a 8,5. Os tubos da centrífuga foram colocados em banho-maria a 90°C por 30 minutos. As amostras foram centrifugadas, filtradas e foi recolhido o sobrenadante. Esse procedimento foi repetido por quatro vezes.

4) Óxidos de Al, Fe e de Mn (F4): nessa fração não houve fracionamento dos óxidos e foi obtida com o uso do oxalato de amônio 0,2 mol/L+ ácido oxálico 0,2 mol/L+ ácido ascórbico 0,1 mol/L ajustado a pH 3 (SHWERTMANN, 1964). As amostras foram agitadas com 40 mL de solução extratora em banho-maria a 90° por 30 minutos. O procedimento de extração foi realizado na ausência de luz para que não houvesse degradação do oxalato.

5) Residual (F5): após F4, o material foi seco em estufa com circulação forçada a 60°C, moído, homogeneizado e pesado. Essa fração foi obtida após digestão total com  $\text{HNO}_3$  + HF + água ultrapura em forno de microondas, de acordo com o método da Environment Protection Agency 3052 (EPA, 1996).

Entre cada extração sucessiva a amostra foi suspensa com 5,0 mL de NaCl 0,1mol/L, para deslocar a solução anterior que possa ter permanecido no tubo e para limitar

a readsorção do metal (AHNSTROM & PARKER, 1999). Todas as suspensões foram centrifugadas a 1225 x g por 10 minutos e filtradas. Os extratos das frações F1, F2 e F3 foram acidificados a 1% com HNO<sub>3</sub> e, nos extratos de F4 foi adicionada uma gota de tolueno, para evitar o crescimento de microrganismos. Os metais foram determinados em cada fração por Espectrofotometria de Absorção Atômica por forno de grafite (modelo SpectrAA 220, Varian) e, foi calculado o índice de recobrimento utilizado como critério de controle dos resultados obtidos o limite máximo de erro tolerável igual a  $\pm 20\%$ , sendo: Recuperação (%) =  $(\Sigma \text{ teores metal nas frações} / \text{ teor total}) \times 100$ . O grau de recuperação ( $100 \pm 20 \%$ ) foi utilizado como critério de controle de qualidade as análises (SILVEIRA et al, 2008). Os teores totais foram determinados segundo o método da EPA 3052 com digestão em forno de microondas com HNO<sub>3</sub> + HF + água ultrapura (EPA, 1996).

#### **3.4.6. Avaliação dos resultados**

Para a obtenção dos resultados de sobrevivência foi aplicada a análise estatística de Fisher, por meio do *software* Bio Estat 3.0. Esta análise consiste em comparar valores de sobrevivência dos organismos entre duas amostras, que neste caso, foram sempre comparadas com os tratamentos sem contaminação. Quanto ao crescimento, a biometria dos indivíduos sobreviventes foi comparada por meio do teste estatístico de Mann-Whitney (não paramétrico) seguido do pós-teste de Dunn. Para avaliar a significância da deformidade de mentos foi aplicado um Teste t.

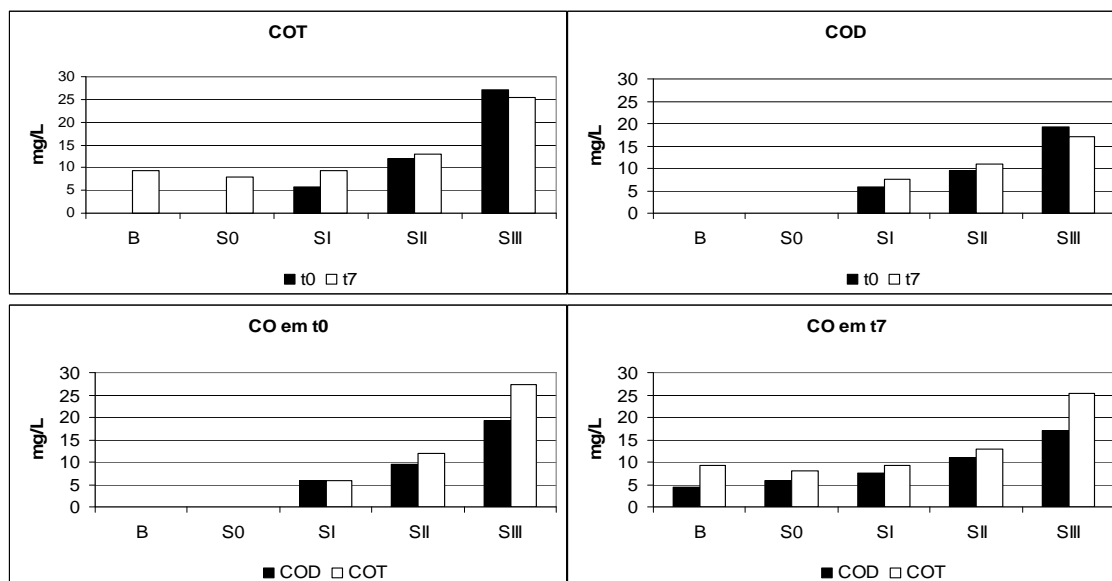
### **4. RESULTADOS**

#### **4.1. Sedimentos sem fortificação**

##### **4.1.1. Análises físicas e químicas em amostras de água**

##### **COT e COD**

As concentrações de COT e COD nas amostras de água do teste foram mais elevadas em sedimentos com maiores porcentagens de matéria orgânica (Figura 1). Durante os experimentos, foi possível verificar uma tendência ao aumento na concentração dos mesmos, exceto para SIII. Os valores mais elevados de COT e COD foram de 27,21 mg/L (S III) e 19,37 mg/L (S III), respectivamente (Figura 1). As concentrações de COT estiveram mais elevadas que COD tanto no início do experimento (t<sub>0</sub>) quanto no final (t<sub>7</sub>) (Figura 1).



**Figura 1:** Concentração de COT e COD em amostras de água dos testes de toxicidade crônica com sedimentos artificiais sem fortificação no início (t0) e no final (t7) do experimento.

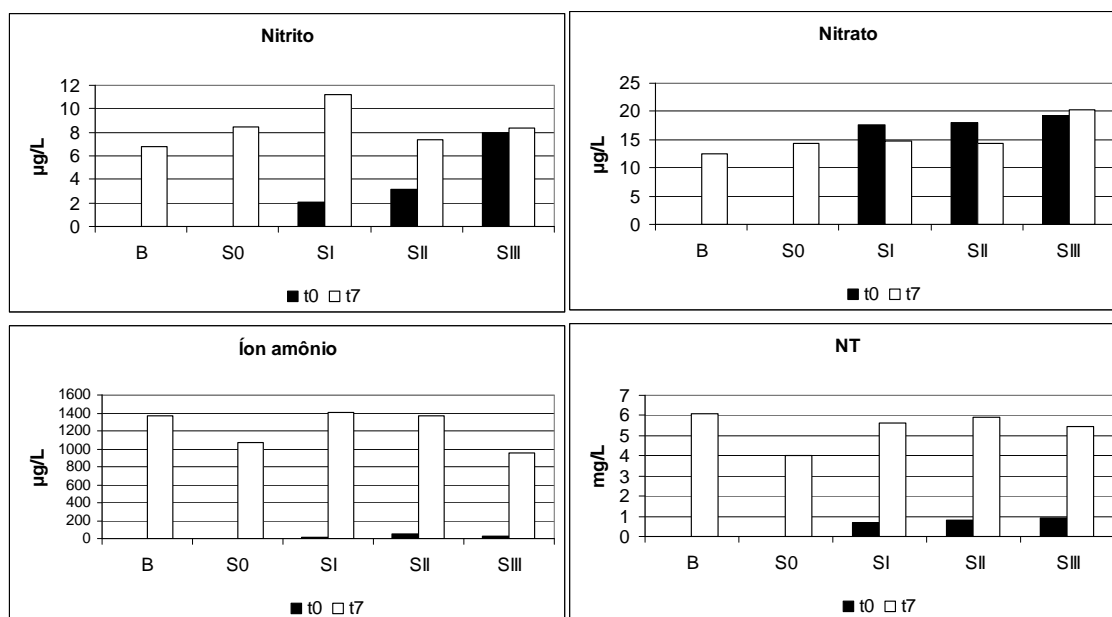
### Compostos nitrogenados

As concentrações de NT estiveram mais elevadas no final do experimento (t7) em todos os tratamentos, atingindo valores de 6,07 mg/L (B). Tanto as concentrações iniciais quanto as finais não apresentaram grande variabilidade (Figura 2).

Em relação ao íon amônio também foi possível verificar concentrações maiores em t7. No início do experimento (t0), as concentrações foram mais elevadas em SII (50,41 µg/L), enquanto que em t7 os valores mais elevados foram encontrados em SI e SII (1408,90 µg/L e 1363,30 µg/L, respectivamente) (Figura 2).

Os valores encontrados para nitrato apresentaram uma leve tendência ao aumento em direção ao SIII, sendo possível detectar valores mais elevados em t0 quando comparados com aqueles em t7. As concentrações estiveram entre 12,48 µg/L e 20,20 µg/L (B e SIII, respectivamente) (Figura 2).

Quanto ao nitrito, os valores estiveram mais elevados em t7. Não foi possível verificar uma tendência em relação ao teor de matéria orgânica em t7, no entanto, em t0 os valores apresentaram uma tendência ao aumento em relação ao conteúdo orgânico. O valor mais elevado foi encontrado em SI (11,23 µg/L), em t7 (Figura 2).



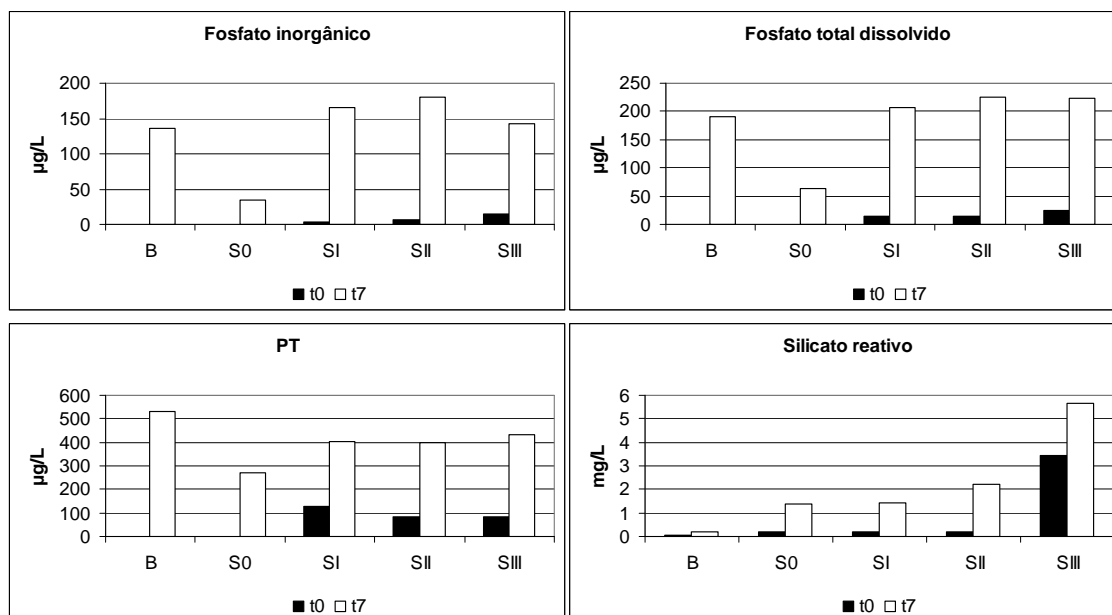
**Figura 2:** Concentração dos compostos nitrogenados em amostras de água dos testes de toxicidade crônica com sedimentos artificiais sem fortificação no início (t0) e no final (t7) do experimento.

### **Compostos fosfatados e silicato reativo**

As concentrações de PT, fosfato inorgânico, fosfato inorgânico dissolvido e silicato reativo estiveram mais elevadas em t7. Além disto, foi verificada uma tendência ao aumento destes valores em direção aos sedimentos com maiores concentrações de matéria orgânica, sendo possível observar valores elevados das formas fosfatadas em B em t7 (Figura 3).

Quanto ao fosfato inorgânico, os valores mais elevados foram encontrados em SII em t7 (180 µg/L) e SIII em t0 (13,99 µg/L) (Figura 3). A concentração mais elevada de fosfato total dissolvido foi encontrada em SII (em torno de 225 µg/L) e em SI e SII em t0 foram detectadas as concentrações mais baixas (13,45µg/L) (Figura 3).

Em relação ao PT, as concentrações mais elevadas estiveram em torno de 533,01 µg/L em t7 (B) (Figura 3). As concentrações de silicato reativo foram mais elevadas em SIII tanto em t0 (3,42 mg/L) quanto em t8 (5,65 mg/L) (Figura 3).



**Figura 3:** Concentração dos compostos fosfatados ( $\mu\text{g/L}$ ) e de silicato reativo ( $\text{mg/L}$ ) em amostras de água dos testes de toxicidade crônica com sedimentos artificiais sem fortificação no início ( $t_0$ ) e no final ( $t_7$ ) do experimento.

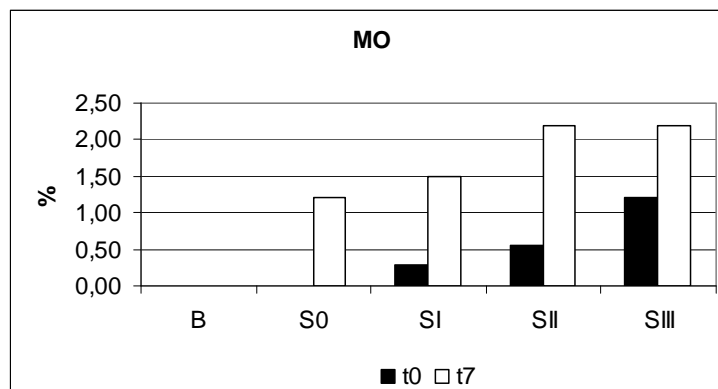
### Cromo

As análises de cromo realizadas em amostras de água, tanto no início quanto no final do experimento, apresentaram resultados satisfatórios, uma vez que não foi detectada a presença do metal.

#### **4.1.2. Análises físicas e químicas em amostras de sedimento**

##### Matéria orgânica

A análise de matéria orgânica no sedimento mostrou que as concentrações iniciais estiveram em torno daquelas adicionadas inicialmente na preparação dos mesmos (0,25; 0,5 e 1%). Em  $t_7$ , as porcentagens de matéria orgânica apresentaram valores mais elevados em SII e SIII (2,2 %). Durante o experimento, foi possível verificar que as porcentagens de matéria orgânica estiveram mais elevadas em  $t_7$  (Figura 4).

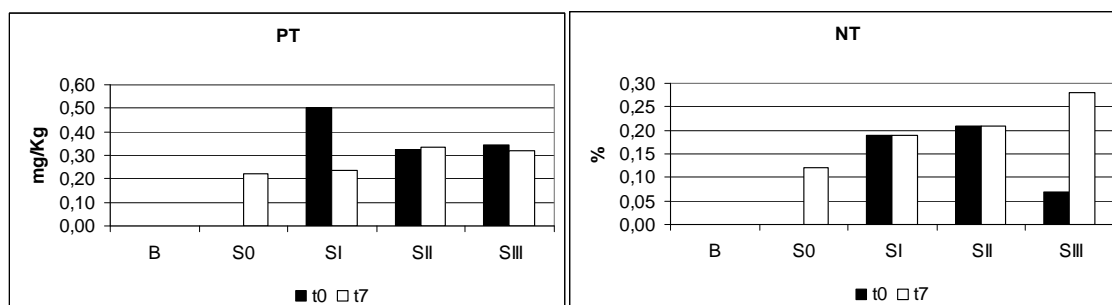


**Figura 4:** Porcentagem de matéria orgânica em amostras de sedimento dos testes de toxicidade crônica com sedimentos artificiais sem fortificação no início (t0) e no final (t7) do experimento.

### Compostos nitrogenados e fosfatados

A análise de NT no sedimento demonstrou tendência ao aumento nas concentrações do controle em direção a SIII. Foi possível verificar que as concentrações em t0 estiveram semelhantes às concentrações em t7, exceto em SIII, onde estes valores foram de 0,07% e 0,28%, respectivamente. (Figura 5).

Em relação ao PT, as concentrações estiveram mais elevadas em t0 quando comparadas com as concentrações em t7, exceto em SII. A tendência ao aumento nas concentrações foi verificada em t7, no entanto, em t0 o valor mais elevado foi detectado em SI (0,50 mg/Kg) (Figura 5).



**Figura 5:** Concentrações de nitrogênio total e fósforo total em amostras de sedimento dos testes de toxicidade crônica com sedimentos artificiais sem fortificação no início (t0) e no final (t7) do experimento.

### Cromo biodisponível

As análises de cromo tanto em t0 quanto em t7 apresentaram resultados satisfatórios, uma vez que não foi detectada a presença do metal. Além disto, nos extratos de *Scirpus cubensis* não foram detectados os metais Cr, Cu, Cd, Fe, Zn e Mn.



### 4.1.3. Testes de toxicidade crônica e crônica parcial.

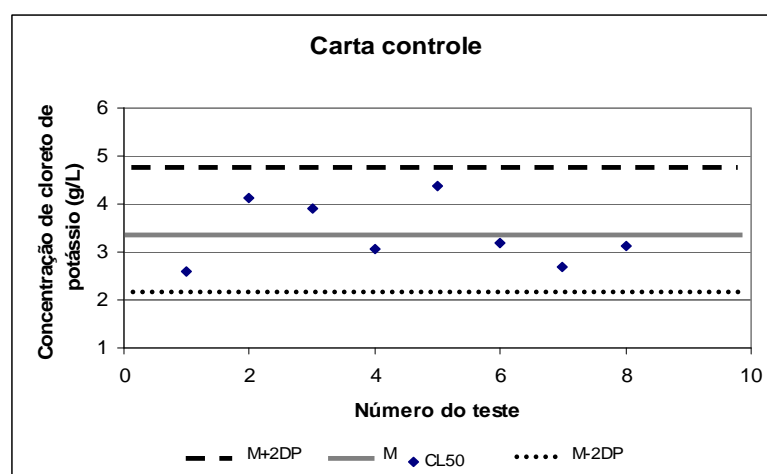
#### 4.1.3.1. *Chironomus xanthus*

##### A) Testes de sensibilidade

Os organismos utilizados em testes de toxicidade aguda e crônica com sedimentos artificiais com e sem fortificação foram submetidos à avaliação da sensibilidade ao cloreto de potássio (KCl). Os testes de sensibilidade foram realizados mensalmente (Tabela 1) sendo possível elaborar uma carta controle com valores e de  $CL_{50;96h}$ . A carta controle USEPA (1995) mostrou que nenhum teste apresentou valores fora da faixa de sensibilidade estabelecida (Figura 6)

**Tabela 1:** Valores de  $CL_{50; 96h}$  obtidos nos testes de sensibilidade com *C. xanthus* ao cloreto de potássio como substância de referência e faixa de sensibilidade.

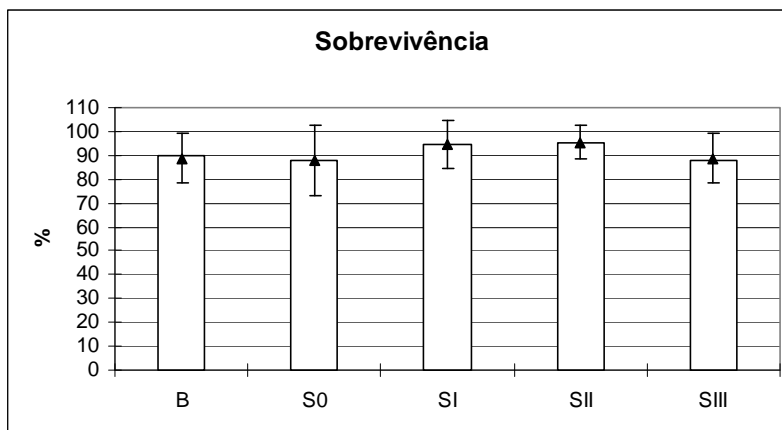
Data	$CL_{50; 96h}$ (g/L)	Intervalo de confiança (95%)
03/12/08	2,59	(2,27 – 2,95)
13/01/09	4,12	(3,55 – 4,78)
26/02/09	3,90	(3,32 – 4,59)
17/04/09	3,05	(2,66 – 3,49)
31/07/09	4,36	(3,82 – 4,96)
12/11/09	3,19	(2,81 – 3,61)
10/12/09	2,70	(2,23 – 3,13)
29/01/10	3,13	(2,68 – 3,64)
$CL_{50; 96h}$ média ( $\chi$ )		3,38 g/L
Desvio padrão (DP)		0,6625
Coeficiente de variação (CV)		19,60%
Limite inferior ( $\chi - 2DP$ )		2,054 g/L
Limite superior ( $\chi + 2DP$ )		4,7050 g/L



**Figura 6:** Carta controle ao cloreto de potássio para a espécie *C. xanthus*.

## B) Sobrevivência

A sobrevivência dos organismos-teste *C. xanthus* foi elevada em todos os tratamentos, demonstrando ausência de toxicidade para esta variável. As porcentagens de sobrevivência estiveram acima de 80%, sendo estas diferenças estatisticamente não significativas em relação ao tratamento B (Figura 7; Tabela 2).



**Figura 7:** Sobrevivência de *C. xanthus* nos testes de toxicidade crônica com sedimentos artificiais sem fortificação. Detalhes: média (▲) e desvio padrão (⊥).

**Tabela 2:** Valores de p referentes à análise estatística de Fisher, comparando a sobrevivência de *C. xanthus* entre os tratamentos S0, SI, SII, SIII e o B.

Amostra	Valores de p	Porcentagem de sobrevivência (média ± desvio padrão)
B	-	90,0 (88,8 ± 10,5)
B x S0	0,8158	87,7 (87,7 ± 14,8)
S x SI	0,2693	94,4 (94,4 ± 10,1)
B x SII	0,0983	95,5 (95,5 ± 7,2)
B x SIII	0,8158	87,7 (88,8 ± 10,5)

## C) Crescimento

Em relação ao crescimento, foram verificadas diferenças significativas entre os sedimentos SI, SII e SII e B, sendo que os organismos apresentaram tamanhos variando entre 0,81 cm (B) a 1,19 cm (SII). Esta diferença significativa foi verificada em decorrência do maior tamanho verificado nos organismos em relação ao tratamento B. Assim, a ausência de toxicidade verificada na sobrevivência também foi verificada quando ao crescimento dos organismos-teste (Tabela 3).

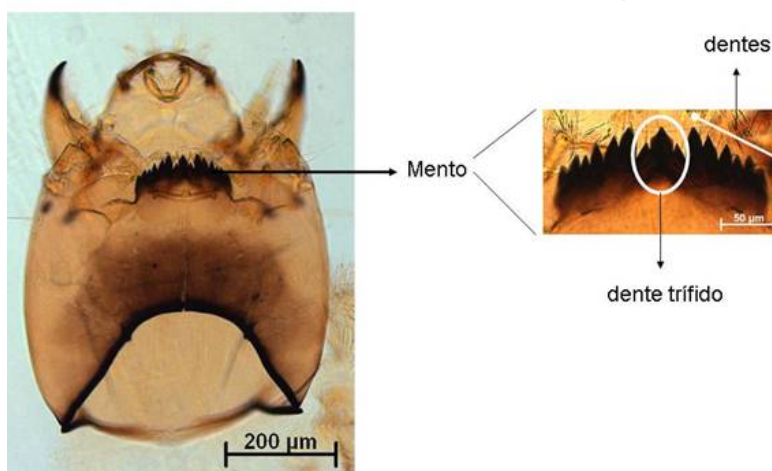
**Tabela 3:** Comprimento médio ( $\pm$  desvio padrão) dos indivíduos de *C. xanthus* expostos em sedimentos artificiais sem fortificação, bem como resultados da análise de Kruskal-Wallis comparando-se os comprimentos dos indivíduos entre tratamentos S0, SI, SII, SIII e o B.

<b>Kruskal-Wallis (KW: 72.351; p&lt;0,0001).</b>		
Tratamentos	Comprimento médio dos organismos (cm) $\pm$ desvio padrão	Valor de p
B	0,80 $\pm$ 0,078	-
S0	1,01 $\pm$ 0,119	>0,05
SI	1,18 $\pm$ 0,137	<0,001*
SII	1,19 $\pm$ 0,125	<0,001*
SIII	1,08 $\pm$ 0,173	<0,01*

\* significativos em relação ao branco.

#### D) Deformidade de mento

O resultado da análise de deformidade do mento dos espécimes de *C. xanthus* revelou desenvolvimento normal dos indivíduos. Abaixo está apresentado um exemplar da cápsula cefálica com detalhe do mento dos organismos expostos em sedimentos artificiais sem fortificação, sendo possível observar um dente trífido central acompanhado de seis dentes laterais (esquerdo e direito). Também é possível observar alguns detalhes do aparato bucal de *C. xanthus* selecionados das lâminas semi-permanentes (Figura 8).



**Figura 8:** Exemplar de um organismo-teste de *C. xanthus* exposto em SIII sem fortificação, indicando o desenvolvimento normal da cápsula cefálica e do mento.

#### E) Análise de cromo nos tecidos

Para a realização da concentração de cromo nos tecidos dos organismos foi coletada amostra com massa média de  $27,54 \pm 0,014$  mg de peso seco dos organismos expostos nos diferentes sedimentos. Não foi detectado cromo em nenhuma das amostras.

#### 4.1.3.2. *Danio rerio*

##### A) Testes de sensibilidade

Resultados da sensibilidade de carta controle estão descritos no item 4.2 no capítulo

### B) Homogeneidade dos lotes de peixes.

Os lotes de peixes utilizados nos testes de toxicidade com sedimentos artificiais sem fortificação (um teste) e com fortificação (três testes) apresentaram resultados satisfatórios, uma vez as variáveis peso e comprimento estiveram fortemente correlacionadas, com coeficientes de correlação de Spearman (rs) acima de 0,6649. Todos os lotes apresentaram  $p < 0,05$ , indicando a homogeneidade dos organismos-teste (Tabela 4).

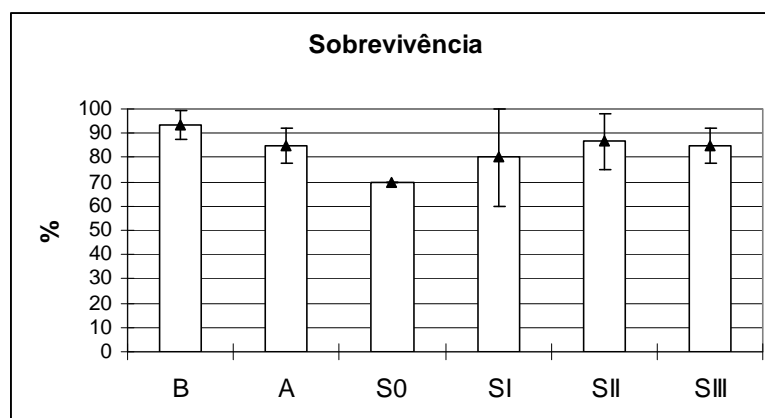
**Tabela 4:** Valores médios de peso e comprimento de *D. rerio* na fase juvenil, e os respectivos coeficientes de correlação de Spearman (rs), para os diferentes lotes adquiridos comercialmente e utilizados em testes de toxicidade crônica parcial em experimentos com sedimentos artificiais sem fortificação (Sf) e com fortificação de cromo (Sc).

Variáveis	<i>D. rerio</i> juvenis			
	Lote 1 (Sf)	Lote 2 (Sc)	Lote 3 (Sc)	Lote 4 (Sc)
P (g)	0,022 ± 0,007	0,024 ± 0,016	0,049 ± 0,008	0,063 ± 0,026
CP (cm)	1,37 ± 0,08	1,11 ± 0,17	1,47 ± 0,07	1,61 ± 0,21
rs	0,6649	0,8054	0,7702	0,9641
p	0,0049	0,0003	0,0008	<0,0001

\*Sf: experimento sem fortificação; Sc: experimento com fortificação de cromo; P: peso médio; CP: comprimento padrão.

### C) Sobrevivência

A sobrevivência dos organismos esteve acima de 70% e não foi detectada diferença significativa em relação ao tratamento B, segundo o teste de Fisher (Tabela 5), demonstrando ausência de toxicidade de todos os sedimentos (Figura 9).



**Figura 9:** Sobrevivência de *D. rerio* em sedimentos artificiais sem fortificação. Detalhes: média (▲) e desvio padrão (⊥). A: areia.

**Tabela 5:** Valores de p referentes à análise estatística de Fisher, comparando a sobrevivência de *D. rerio* entre os tratamentos S0, SI, SII, SIII, A e o B.

Amostra	Valores de p	Porcentagem de sobrevivência (média ± desvio padrão)
B	-	93,33 ± 5,77
B x A*	0,3772	85,00 ± 7,07
B x S0	0,0500	70,00 ± 0,00
B x SI	0,2542	80,00 ± 20,0
B x SII	0,6707	86,66 ± 11,54
B x SIII	0,3772	85,00 ± 7,07

\* A: areia

#### D) Crescimento

Quanto ao crescimento, os organismos-teste da espécie *D. rerio* expostos em S0, SI; SI e SIII não apresentaram diferenças significativas no comprimento ( $p=0,1660$ ; KW:7.827) e peso ( $p=0,4520$ ; KW:4.712 ) em relação ao tratamento B, segundo análise estatística de Kruskal-Wallis. Assim, como verificado para a variável sobrevivência, foi detectada ausência de toxicidade de todos os tratamentos no crescimento dos organismos-teste (Tabela 6).

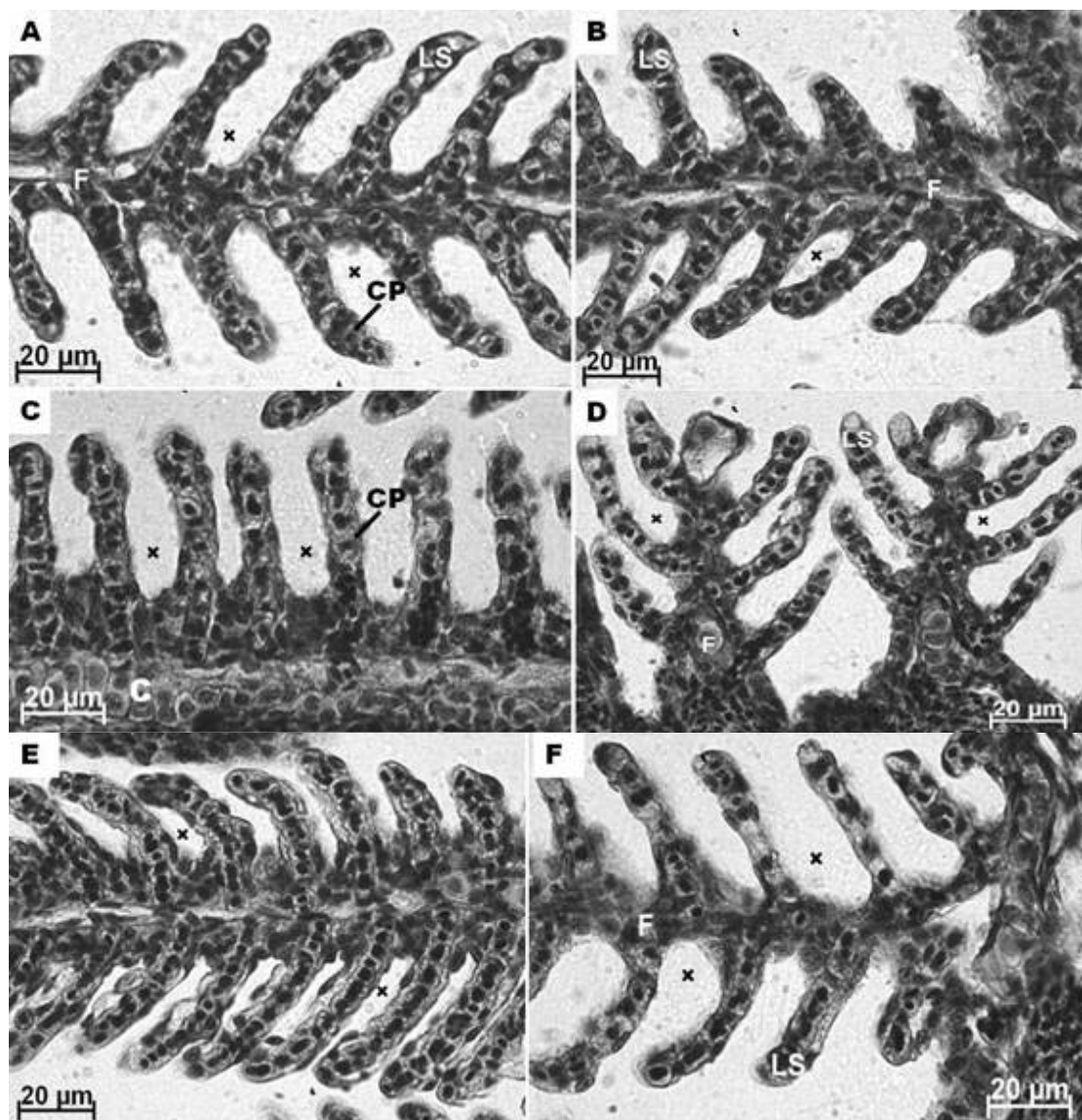
**Tabela 6:** Comprimento padrão médio (CP) ± desvio padrão (DP) e peso fresco médio (PF) ± DP dos indivíduos de *D. rerio* expostos em sedimentos artificiais sem fortificação, bem como resultados da análise de Kruskal-Wallis comparando-se os comprimentos dos indivíduos entre tratamentos S0, SI, SII, SIII, A e o B.

Kruskal-Wallis				
Tratamentos	CP (cm) ± DP	Valor de p (KW:7.827; p=0,1660)	PF (cm) ± DP	Valor de p (KW:4.712; p=0,4520)
B	1,47 ± 0,177	-	0,0477 ± 0,018	-
A*	1,46 ± 0,176	>0,05 (NS)	0,0411 ± 0,014	>0,05 (NS)
S0	1,44 ± 0,150	>0,05 (NS)	0,0420 ± 0,020	>0,05 (NS)
SI	1,38 ± 0,240	>0,05 (NS)	0,0405 ± 0,027	>0,05 (NS)
SII	1,33 ± 0,150	>0,05 (NS)	0,0382 ± 0,020	>0,05 (NS)
SIII	1,33 ± 0,187	>0,05 (NS)	0,0342 ± 0,015	>0,05 (NS)

NS: Não significativo; A: areia.

#### E) Estudos histológicos

A análise das brânquias dos organismos-teste expostos em sedimentos artificiais sem contaminação, demonstrou a ausência de toxicidade de todos os tratamentos, uma vez que as brânquias dos organismos apresentaram desenvolvimento normal, com lamelas secundárias desenvolvidas, espaços interlamelares onde ocorrem as trocas gasosas estando bem definidos, sendo possível observar nitidamente o filamento primário, a cartilagem, o seio venoso central, células pilares e eritrócitos (Figura 10).



**Figura 10:** Brânquias de organismos-teste da espécie *D. rerio* expostos em amostras de sedimentos artificiais sem contaminação. Observar os espaços interlamelares bem definidos (X); filamento primário (F); lamelas secundárias desenvolvidas (LS); cartilagem (C); células pilares (CP). **A.** Areia. **B.** Branco. **C.** S0. **D.** S1. **E.** S2. **F.** S3.

#### **F) Análise de cromo nos tecidos**

Para a análise de cromo nos tecidos dos organismos foi coletada uma amostra média de  $78,50 \pm 0,021$  mg de peso seco dos organismos expostos nos diferentes sedimentos. Os resultados revelaram a presença de  $0,10 \pm 0,05$  µg/g de cromo nos indivíduos (Tabela 7).

**Tabela 7:** Valores de cromo nos tecidos de *D. rerio* expostos em sedimentos artificiais sem fortificação mediante testes de toxicidade crônica parcial.

Tratamentos	Cr ( $\mu\text{g/g}$ )	Peso seco dos organismos após 24h a 60°C (g)	Número de organismos utilizados
B	0,0352	0,1105	14
A*	0,0538	0,0827	12
S0	0,0798	0,0532	9
SI	0,1549	0,0819	12
SII	0,1011	0,0866	13
SIII	0,1820	0,0561	10

\* A: areia

#### 4.1.3.3. *Poecilia reticulata*

##### A) Testes de sensibilidade

Resultados da sensibilidade de carta controle estão descritos no item 4.2 no capítulo 2.

##### B) Homogeneidade dos lotes de peixes.

Os lotes de peixes utilizados nos testes de toxicidade com sedimentos artificiais sem fortificação (um teste) e com fortificação (três testes) apresentaram resultados satisfatórios, uma vez as variáveis peso e comprimento estiveram fortemente correlacionadas, com coeficientes de correlação de Spearman ( $r_s$ ) acima de 0,9615. Todos os lotes apresentaram  $p < 0,05$ , indicando a homogeneidade dos organismos-teste (Tabela 8).

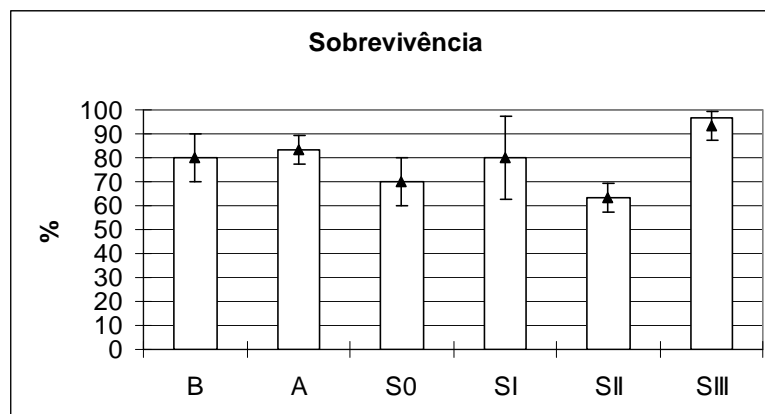
**Tabela 8:** Valores médios de peso e comprimento de *P. reticulata* na fase juvenil, e os respectivos coeficientes de correlação de Spearman ( $r_s$ ), para os diferentes lotes adquiridos comercialmente e utilizados em testes de toxicidade crônica parcial em experimentos com sedimentos artificiais sem fortificação (Sf) e com fortificação de cromo (Sc).

Variáveis	<i>P. reticulata</i> juvenis			
	Lote 1 (Sf)	Lote 2 (Sc)	Lote 3 (Sc)	Lote 4 (Sc)
P (g)	0,055 $\pm$ 0,033	0,034 $\pm$ 0,045	0,095 $\pm$ 0,048	0,016 $\pm$ 0,016
CP (cm)	1,36 $\pm$ 0,27	1,06 $\pm$ 0,41	1,63 $\pm$ 0,27	0,90 $\pm$ 0,24
$r_s$	0,9819	0,9615	0,9741	0,9679
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

\*Sf: experimento sem fortificação; Sc: experimento com fortificação de cromo; P: peso médio; CP: comprimento padrão.

##### C) Sobrevivência

A sobrevivência dos organismos nos testes de toxicidade com sedimentos artificiais sem contaminação foi acima de 60% e não foi encontrada diferença significativa em relação ao branco segundo o teste exato de Fisher (Tabela 9), demonstrando ausência de toxicidade de todos os tratamentos para a espécie *P. reticulata* (Figura 11).



**Figura 11:** Sobrevivência de *P. reticulata* em sedimentos artificiais sem fortificação. Detalhes: média (▲) e desvio padrão (⊥). A: areia.

**Tabela 9:** Valores de p referentes à análise estatística de Fisher, comparando a sobrevivência de *P. reticulata* entre os tratamentos A, S0, SI, SII, SIII e o B.

Amostra	Valores de p	Porcentagem de sobrevivência (média ± desvio padrão)
B	-	80,0 ± 10,0
B x A*	0,7531	83,3 ± 5,77
B x S0	0,3923	70,0 ± 10,0
B x SI	1,0000	80,0 ± 17,3
B x SII	0,2516	63,3 ± 5,77
B x SIII	0,1028	96,6 ± 5,77

\*A: areia

#### D) Crescimento

Os organismos-teste expostos em S0, SI, SII e SIII não apresentaram diferenças significativas no comprimento ( $p=0,0938$ ) e peso ( $p=0,0600$ ) em relação ao B, segundo análise estatística de Kruskal-Wallis. Assim, como para a variável sobrevivência, foi detectada ausência de toxicidade de todos os tratamentos no crescimento dos organismos-teste (Tabela 10).

**Tabela 10:** Comprimento padrão médio (CP) ± desvio padrão (DP) e peso fresco médio (PF) ± DP dos indivíduos de *P. reticulata* expostos em sedimentos artificiais sem fortificação, bem como resultados da análise de Kruskal-Wallis comparando-se os comprimentos dos indivíduos entre tratamentos A, S0, SI, SII, SIII e o B.

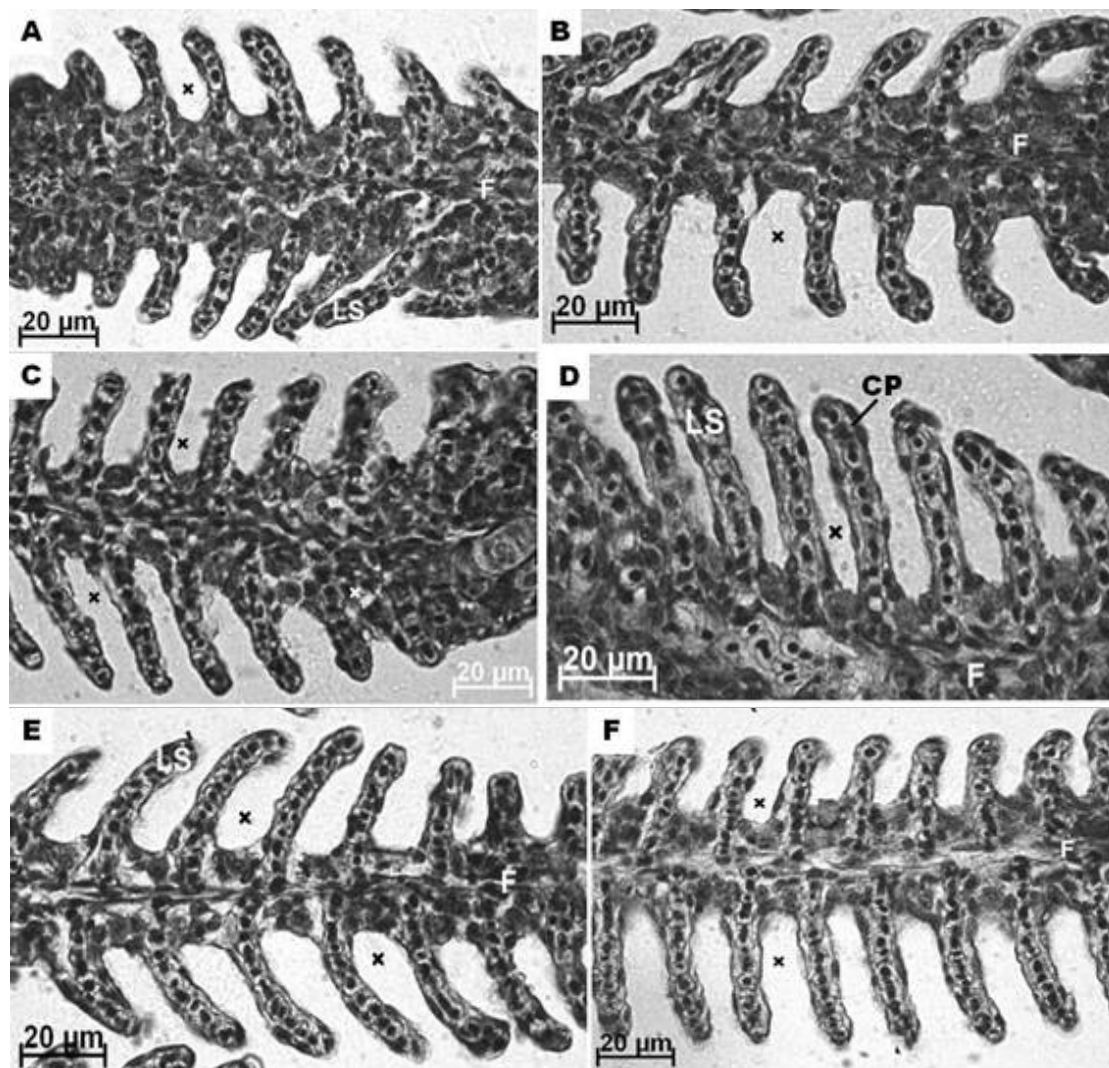
Kruskal-Wallis				
Tratamentos	CP (cm) ± DP	Valor de p (KW:9.409; p=0,0938)	PF (cm) ± DP	Valor de p (KW:10.596; p=0,0600)
B	1,43 ± 0,163	-	0,0615 ± 0,024	-
A*	1,46 ± 0,257	>0,05 (NS)	0,0720 ± 0,036	>0,05 (NS)
S0	1,49 ± 0,160	>0,05 (NS)	0,0678 ± 0,025	>0,05 (NS)
SI	1,55 ± 0,147	>0,05 (NS)	0,0800 ± 0,028	>0,05 (NS)
SII	1,62 ± 0,262	>0,05 (NS)	0,1002 ± 0,051	>0,05 (NS)
SIII	1,59 ± 0,128	>0,05 (NS)	0,0907 ± 0,022	>0,05 (NS)

NS: Não significativo; A: areia.



### E) Estudos histológicos

A análise das brânquias dos organismos-teste expostos em sedimentos artificiais sem contaminação, demonstrou a ausência de toxicidade de todos os tratamentos, uma vez que as brânquias dos organismos apresentaram desenvolvimento normal, com lamelas secundárias desenvolvidas, espaços interlamelares onde ocorrem as trocas gasosas estando bem definidos, sendo possível observar nitidamente o filamento primário, a cartilagem, o seio venoso central, células pilares e eritrócitos (Figura 12).



**Figura 12:** ânquias de organismos-teste da espécie *P. reticulata* expostos em amostras de sedimentos artificiais sem contaminação. Observar os espaços interlamelares bem definidos (X); filamento primário (F); lamelas secundárias desenvolvidas (LS); cartilagem (C); células pilares (CP). A. Areia. B. Branco. C. S0. D. S1. E. SII. F. SIII. (aumento 100X; HE).

### F) Análise de cromo nos tecidos

Para a análise de cromo nos tecidos dos organismos foi coletada uma amostra média de  $146,4 \pm 0,023$  mg de peso seco dos organismos expostos nos diferentes sedimentos. Os resultados revelaram a presença de  $0,15 \pm 0,03$   $\mu\text{g/g}$  de cromo nos indivíduos (Tabela 11).

**Tabela 11:** Valores de cromo nos tecidos de *P. reticulata* expostos em sedimentos artificiais sem fortificação mediante testes de toxicidade crônica parcial.

Tratamentos	Cr ( $\mu\text{g/g}$ )	Peso seco dos organismos após 24h a 60°C (g)	Número de organismos utilizados
B	0,127	0,1505	12
A	0,126	0,1470	12
S0	0,130	0,1268	10
SI	0,183	0,1290	12
SII	0,205	0,1341	8
SIII	0,117	0,1910	14

## 4.2. Sedimentos com fortificação de cromo

### 4.2.1. Testes de toxicidade aguda

#### 4.2.1.1. *C. xanthus*

Para determinação das concentrações a serem utilizadas em testes definitivos de toxicidade aguda foram realizado três testes preliminares, onde, em dois deles, foi possível calcular a  $CL_{50;96}$ ; 96 (350,71 e 438,12 mg/Kg de cromo no sedimento). Quanto aos testes definitivos com S0 foi encontrada uma  $CL_{50;96h}$  média de 340,56 mg/Kg e desvio padrão de 32,7. O coeficiente de variação destes valores foi baixo (9,62%) (Tabela 12).

Nos testes com SIII só foi possível calcular a  $CL_{50;96h}$  no teste definitivo 1, estando em 1234,43 mg/kg de cromo no sedimento, ou seja, cerca de 4 vezes mais elevada quando comparada com a  $CL_{50;96h}$  média com S0. Nos demais testes definitivos, não foi possível calcular a  $CL_{50;96h}$  em decorrência da baixa mortalidade observada na última concentração, o que sugere que os valores de  $CL_{50;96h}$  acima de 1440 mg/Kg de cromo (Tabela 13).

**Tabela 12:** Valores de CL<sub>50;96h</sub> referentes aos testes de toxicidade aguda, preliminares e definitivos, com sedimentos S0 fortificados com cromo, utilizando a espécie *C. xanthus* como organismo-teste.

Tipo do teste	Data do teste		Concentrações (mg/Kg)	Número de organismos		M (%)	CL <sub>50;96h</sub> (intervalo de confiança 95%)
	inicial	final		inicial	final		
Preliminar 1	05/11/09	09/11/09	0	18	18	0	-
			20	18	18	0	
			60	18	18	0	
			180	18	18	0	
Preliminar 2	12/11/09	16/11/09	0	18	18	0	350,71 (269,38 – 456,61)
			180	18	16	11	
			540	18	4	77	
Preliminar 3	20/11/09	24/11/09	0	18	18	0	438,12 (364,54 – 526,55)
			90	18	17	5	
			180	18	16	11	
			360	18	15	16	
			720	18	0	100	
Definitivo 1	26/11/09	30/11/09	1440	18	0	100	302,72 (212,81 – 430,62)
			0	18	18	0	
			90	18	15	16	
			180	18	13	27	
Definitivo 2	03/12/09	07/12/09	360	18	8	55	358,96 (279,59 – 460,86)
			720	18	3	83	
			0	18	18	0	
			90	18	13	27	
			180	18	17	5	
Definitivo 3	11/12/09	15/12/09	360	18	10	44	360,00 (289,31 – 447,96)
			720	18	0	100	
			1440	18	0	100	
			0	18	18	0	
			90	18	18	0	

**M: mortalidade**

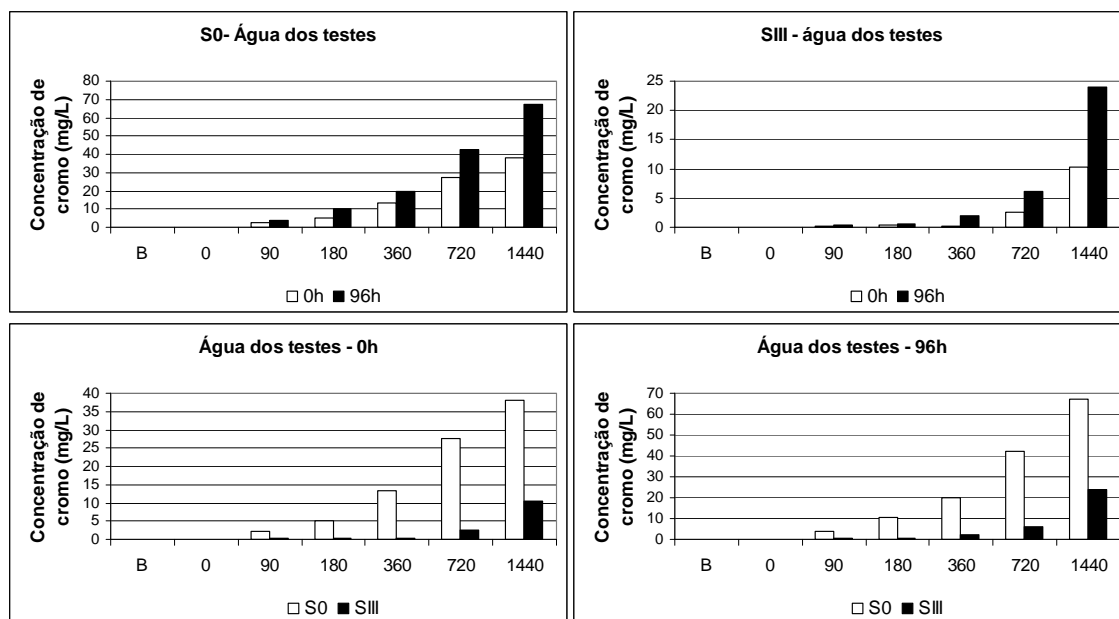
**Tabela 13:** Valores de CL<sub>50;96h</sub> referentes aos testes de toxicidade aguda definitivos com sedimentos SIII fortificados com cromo, utilizando a espécie *C. xanthus* como organismo-teste.

Tipo do teste	Data do teste		Concentrações (mg/Kg)	Número de organismos		M (%)	CL <sub>50;96h</sub> (intervalo de confiança 95%)
	inicial	final		inicial	final		
Definitivo 1	03/12/09	07/12/09	0	18	18	0	1234,43 (959,50–1588,14)
			90	18	18	0	
			180	18	18	0	
			360	18	18	0	
			720	18	16	11	
			1440	18	7	61	
Definitivo 2	11/12/09	15/12/09	0	18	18	0	NC
			90	18	18	0	
			180	18	16	11	
			360	18	12	33	
			720	18	16	11	
			1440	18	13	27	
Definitivo 3	17/12/09	21/12/09	0	18	18	0	NC
			90	18	17	5	
			180	18	18	0	
			360	18	18	0	
			720	18	18	0	
			1440	18	11	38	
Definitivo 4	17/12/09	21/12/09	0	18	18	0	NC
			90	18	18	0	
			180	18	18	0	
			360	18	18	0	
			720	18	18	0	
			1440	18	13	27	
Definitivo 5	24/12/09	28/12/09	0	18	18	0	NC
			90	18	17	5	
			180	18	18	0	
			360	18	18	0	
			720	18	18	0	
			1440	18	16	11	

NC: Não calculável; M: mortalidade.

### **Análise de cromo na água e sedimento dos testes com *C. xanthus***

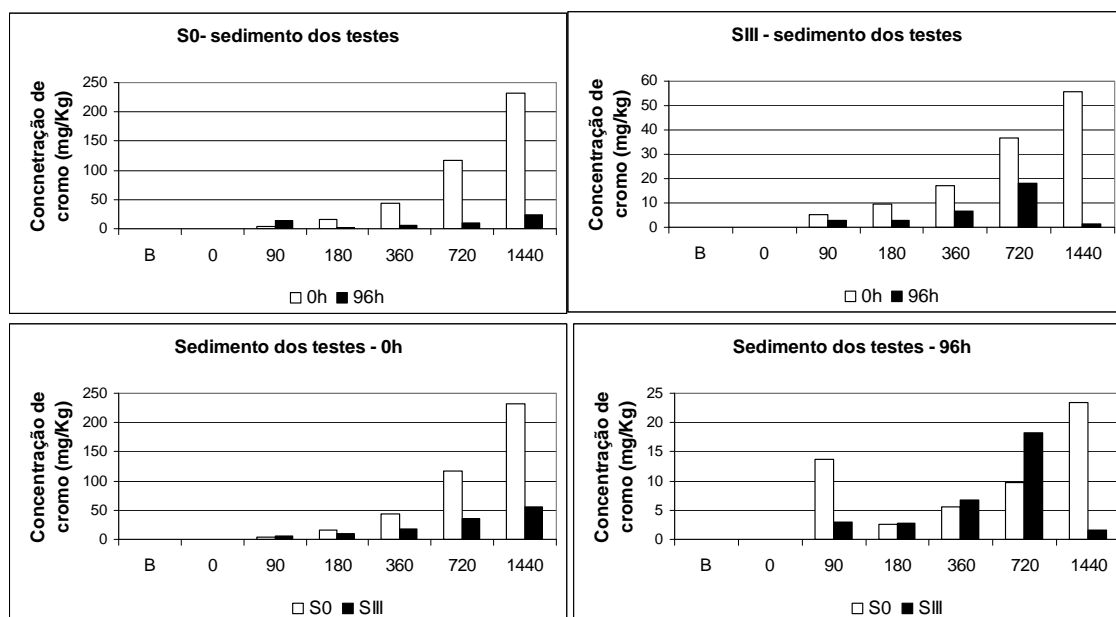
A análise de cromo em amostras de água mostrou valores duas vezes mais elevados do metal em 96h de testes, tanto em S0 (controle) quanto em SIII. As concentrações em S0, durante os testes, variam entre 2,24 mg/L (90 mg/Kg) e 67,44 mg/L (1440 mg/Kg), enquanto que para SIII, os valores foram 0,25 mg/L (90 mg/Kg) e 23,93 mg/L (1440 mg/Kg). Assim, comparando-se os sedimentos, foi possível observar que as concentrações de cromo foram cerca de 5 a 20 vezes menores em amostras de água dos sedimentos S0 quando comparados com os valores verificados para sedimentos SIII (Figura 13).



**Figura 13:** Concentrações de cromo em amostras de água dos testes de toxicidade aguda com sedimentos artificiais (S0 e SIII), utilizando *C. xanthus* como organismo-teste.

Quanto ao sedimento, a análise de cromo no início (0h) e no final dos testes (96h) mostrou valores mais elevados do metal em 0h de testes, tanto em S0 quanto em SIII. As concentrações em S0, durante os testes, variam entre 2,50 mg/Kg (180 mg/Kg) e 233,12 mg/Kg (1440 mg/Kg), enquanto que em SIII, estes valores foram 1,52 mg/Kg (1440 mg/Kg em 96h) e 55,57 mg/Kg (1440 mg/Kg em 0h). Assim, comparando-se os sedimentos, foi possível observar que em 0h as concentrações de cromo foram cerca de cinco vezes mais elevadas em amostras do sedimento S0 quando comparados com os valores verificados para sedimentos SIII (Figura 14).

Já em 96h, de maneira geral, as concentrações de cromo adicionadas em SIII apresentaram valores cerca de duas vezes mais elevados em relação a S0, exceto nas concentrações de 1440 mg/kg e 90 mg/Kg, onde os valores de cromo foram cerca de 15 e 5 vezes mais elevadas em SIII (Figura 14).



**Figura 14:** Concentrações de cromo em amostras de sedimento dos testes de toxicidade aguda com sedimentos artificiais (S0 e SIII), utilizando *C. xanthus* como organismo-teste.

#### 4.2.1.2. *D. rerio*

Para determinação das concentrações a serem utilizadas em testes definitivos de toxicidade aguda foram realizados três testes preliminares, sendo possível calcular a  $CL_{50,48h}$  em todos eles (1253,59; 1691,01 e 1846,42 mg/Kg de cromo no sedimento). Quanto aos testes definitivos com S0, foi possível verificar uma  $CL_{50,48h}$  média de 1731,04 mg/Kg e desvio padrão de 322,02. O coeficiente de variação destes valores foi baixo (18,60%) (Tabela 14).

Nos testes com SIII, só foi possível calcular a  $CL_{50,48h}$  nos testes definitivos 2 (2004,40 mg/Kg) e 3 (2522,69 mg/Kg), estando estes valores cerca de duas vezes mais elevados quando comparados com a  $CL_{50,48h}$  média determinada nos testes com S0 (Tabela 15).

**Tabela 14:** Valores de CL<sub>50</sub>,48h referentes aos testes de toxicidade aguda, preliminares e definitivos, com sedimentos S0 fortificados com cromo, utilizando a espécie *D. rerio* como organismo-teste.

Tipo do teste	Data do teste		Concentrações (mg/Kg)	Número de organismos		M (%)	CL <sub>50</sub> ,48h (intervalo de confiança 95%)
	inicial	final		inicial	final		
Preliminar 1	03/12/09	05/12/09	0	10	10	0	1253,59 (963,66–1630,76)
			180	10	10	0	
			720	10	9	10	
			2880	10	10	100	
Preliminar 2	09/12/09	11/12/09	0	8	7	12	1691,01 (NC)
			100	8	8	0	
			300	8	8	0	
			900	8	8	0	
			2700	8	1	87	
Preliminar 3	13/12/09	15/12/09	0	10	10	0	1846,42 (1549,69–2200,67)
			375	10	10	0	
			750	10	10	0	
			1500	10	8	20	
			3000	10	0	100	
Definitivo 1	17/12/09	19/12/09	0	10	10	0	1846,42 (1549,69–2200,67)
			375	10	10	0	
			750	10	10	0	
			1500	10	8	20	
			3000	10	0	100	
Definitivo 2	24/12/09	26/12/09	0	10	10	0	1979,26 (1735,35–2257,46)
			375	10	10	0	
			750	10	10	0	
			1500	10	9	10	
			3000	10	0	100	
Definitivo 3	03/02/10	05/02/10	0	10	10	0	1718,79 (1367,16–2160,86)
			375	10	9	10	
			750	10	10	0	
			1500	10	7	30	
			3000	10	0	100	

NC: Não calculável

**Tabela 15:** Valores de  $CL_{50;48h}$  referentes aos testes de toxicidade aguda definitivos com sedimentos artificiais SIII fortificados com cromo, utilizando a espécie *D. rerio* como organismo-teste.

Tipo do teste	Data do teste		Concentrações (mg/Kg)	Número de organismos		M (%)	$CL_{50;48h}$ (intervalo de confiança 95%)
	inicial	final		inicial	final		
Definitivo 1	03/02/10	05/02/10	0	8	8	0	NC
			375	8	8	0	
			750	8	8	0	
			1500	8	8	0	
			3000	8	6	22	
Definitivo 2	10/02/10	12/02/10	0	10	10	0	2004,40 (1716,16- 2341,06)
			375	10	9	10	
			750	10	10	0	
			1500	10	9	10	
			3000	10	0	100	
Definitivo 3	10/02/10	12/02/10	0	10	10	0	2522,69 (1661,96- 3829,20)
			375	10	10	0	
			750	10	8	20	
			1500	10	8	20	
			3000	10	4	60	

NC: Não calculável

#### 4.2.1.3. *P. reticulata*

Para determinação das concentrações a serem utilizadas em testes definitivos de toxicidade aguda foram realizado quatro testes preliminares, sendo possível calcular a  $CL_{50;48h}$  em três deles (540,0; 1091,32 e 2131,85 mg/Kg de cromo no sedimento). Quanto aos testes definitivos com S0 foi possível verificar uma  $CL_{50;48h}$  média de 1733,55 mg/Kg e desvio padrão de 710,44. O coeficiente de variação destes valores foi de 46,05% (Tabela 16).

Já com sedimentos SIII a  $CL_{50;48h}$  média foi de 2244,48 mg/Kg e o desvio padrão foi de 453,35, ou seja, cerca de duas vezes mais elevada quando comparada com a  $CL_{50;48h}$  de cromo média determinada em S0 (Tabela 17).



**Tabela 16:** Valores de CL<sub>50</sub>:48h referentes aos testes de toxicidade aguda, preliminares e definitivos, com sedimentos artificiais S0 fortificados com cromo, utilizando a espécie *P. reticulata* como organismo-teste.

Tipo do teste	Data do teste		Concentrações (mg/Kg)	Número de organismos		M (%)	CL <sub>50</sub> :48h (intervalo de confiança)
	inicial	final		inicial	final		
Preliminar 1	25/11/09	27/11/09	0	8	8	0	540,0 (82,16 – 3549,26)
			180	8	5	37	
			540	8	4	50	
			1620	8	3	62	
Preliminar 2	02/12/09	04/12/09	0	10	10	0	1091,32 (768,49 – 1549,75)
			180	10	8	20	
			720	10	8	20	
			2880	10	0	100	
Preliminar 3	09/12/09	11/12/09	0	10	10	0	NC
			100	10	9	10	
			300	10	9	10	
			900	10	7	30	
			2700	10	5	50	
Preliminar 4	17/12/09	19/12/09	0	10	9	10	2131,85 (1694,91–1681,43)
			375	10	8	20	
			750	10	10	0	
			1500	10	7	30	
			3000	10	2	80	
Definitivo 1	21/12/09	23/12/09	0	10	9	10	2131,85 (1694,91–1681,43)
			375	10	8	20	
			750	10	10	0	
			1500	10	7	30	
			3000	10	2	80	
Definitivo 2	24/12/09	26/12/09	0	8	8	0	1279,69 (825,72 – 1983,26)
			375	8	7	12	
			750	8	6	25	
			1500	8	4	50	
			3000	9	0	100	
Definitivo 3	13/01/10	15/01/10	0	10	10	0	721,11 (460,24 – 1129,85)
			375	10	9	10	
			750	10	4	60	
			1500	10	2	80	
			3000	6	1	83	

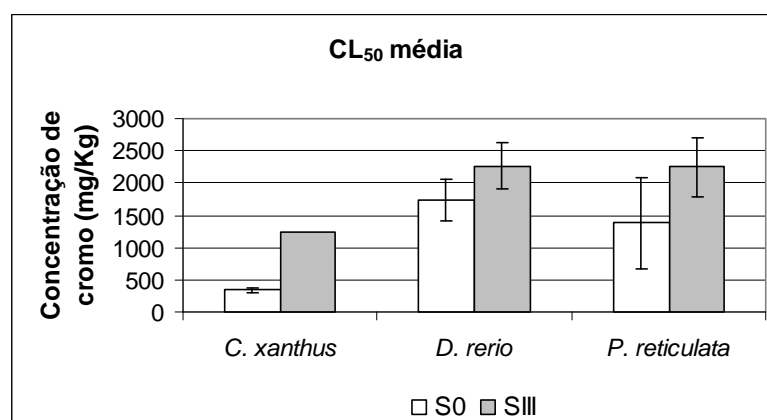
NC: Não calculável

**Tabela 17:** Valores de  $CL_{50}$ :48h referentes aos testes de toxicidade aguda definitivos com sedimentos artificiais SIII fortificados com cromo, utilizando a espécie *P. reticulata* como organismo-teste.

Tipo do teste	Data do teste		Concentrações (mg/Kg)	Número de organismos		M (%)	$CL_{50}$ :48h (intervalo de confiança)
	inicial	final		inicial	final		
Definitivo 1	10/02/10	12/02/10	0	10	10	0	1769,60 (786,28 – 3982,68)
			375	10	9	10	
			750	10	10	0	
			1500	10	5	50	
			3000	10	3	70	
Definitivo 2	10/02/10	12/02/10	0	10	10	0	2672,70 (1884,0 – 3791,0)
			375	10	10	0	
			750	10	10	0	
			1500	10	9	10	
			3000	10	4	60	
Definitivo 3	10/02/10	12/02/10	0	10	10	0	2291,15 (1695,51-3096,04)
			375	10	10	0	
			750	10	7	30	
			1500	10	8	20	
			3000	10	3	70	

NC: Não calculável

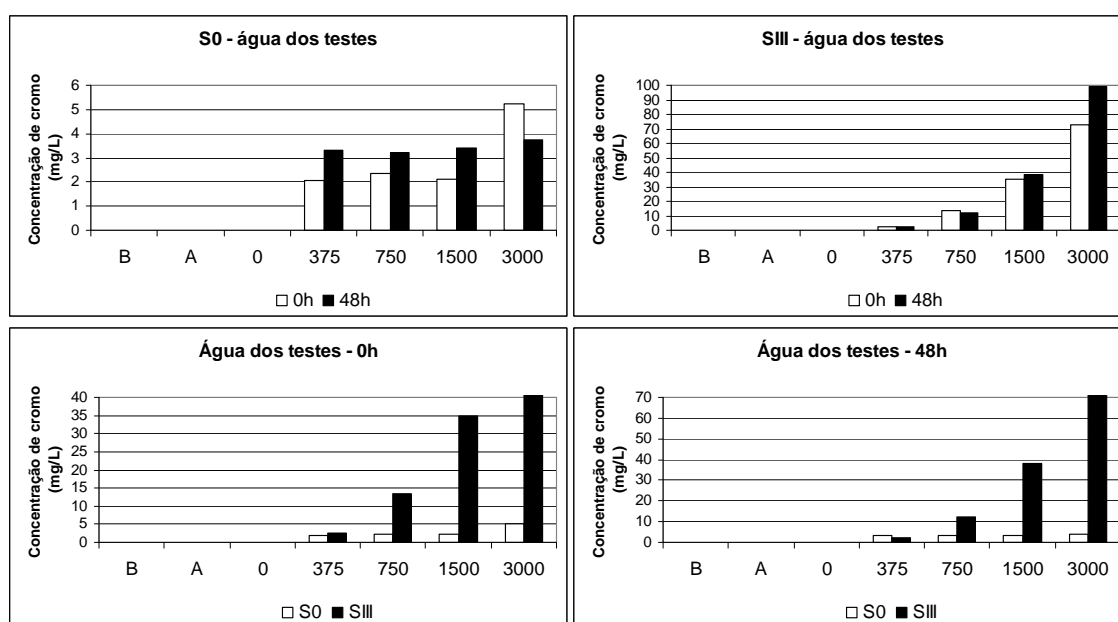
A figura 15 mostra os valores médios de  $CL_{50}$  e o desvio padrão para os três organismos-teste, obtidos em testes de toxicidade aguda com sedimentos artificiais fortificados com cromo. Foi possível observar que para as três espécies que a  $CL_{50}$  média foi mais baixa em testes com sedimentos S0, apresentando valores mais discrepantes entre os testes realizados com *C. xanthus*. A espécie *C. xanthus* apresentou maior sensibilidade, apresentando valores mais baixos de  $CL_{50}$  para ambas as amostras (S0 e SIII), enquanto que *D. rerio* e *P. reticulata* apresentaram valores semelhantes de  $CL_{50}$  e sensibilidade semelhante.



**Figura 15:** Valores médios de  $CL_{50}$  e desvio padrão dos testes de toxicidade aguda com sedimentos artificiais (S0 e SIII), utilizando *C. xanthus*, *D. rerio* e *P. reticulata* como organismos-teste.

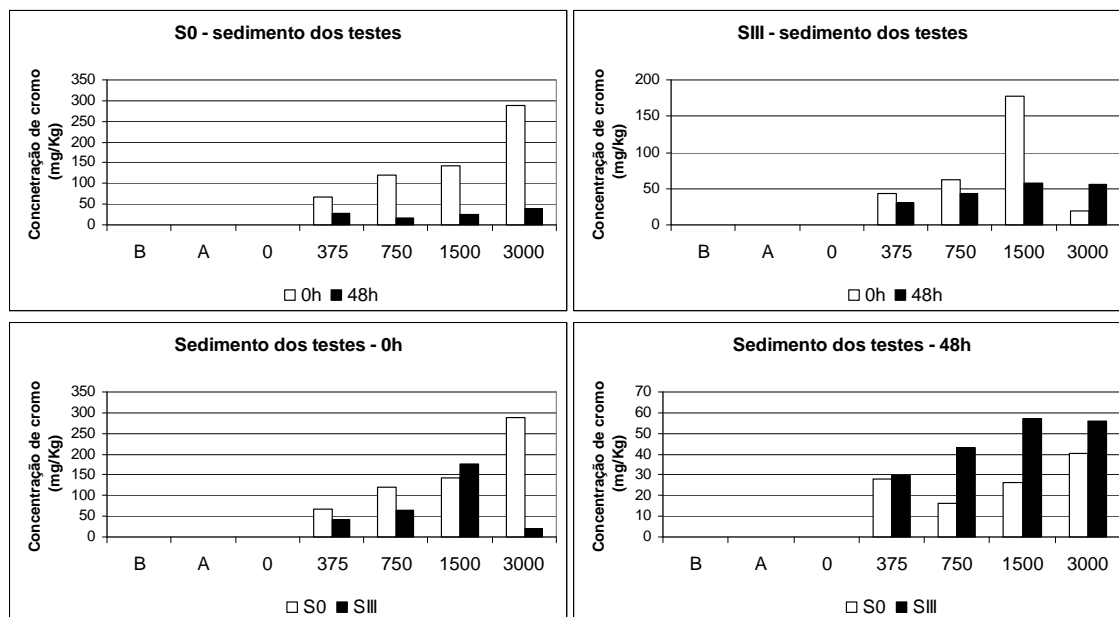
### Análise de cromo na água e sedimento dos testes com *D. rerio* e *P. reticulata*

De maneira geral, as concentrações de cromo em amostras de água foram mais elevadas em 48h, exceto para as concentrações de 3000 mg/Kg (S0) e 375 e 750 mg/Kg (SIII). Nos testes com S0, as concentrações de cromo na água estiveram entre 2,06 mg/L (375 mg/Kg) e 5,25 mg/L (3000 mg/Kg), enquanto que nos testes com SIII, estes valores foram 2,52 mg/L (375 mg/Kg) e 99,08 mg/L (3000 mg/Kg). Comparando-se os sedimentos, foi possível observar que as concentrações de cromo foram cerca de duas a vinte vezes menores em amostras de água de S0 em relação a SIII (Figura 16).



**Figura 16:** Concentrações de cromo em amostras de água dos testes de toxicidade aguda com sedimentos artificiais (S0 e SIII) utilizando *D. rerio* e *P. reticulata* como organismos-teste. A: areia.

Quanto ao sedimento, a análise de cromo no início (0h) e no final dos testes (96h) mostrou valores mais elevados do metal em 0h de testes, tanto nos testes com S0 (três a sete vezes) quanto SIII (cerca de três vezes), exceto para a concentração de 3000 mg/Kg (SIII). As concentrações de cromo nos sedimentos S0, durante os testes, estiveram entre 16,25 mg/Kg (750 mg/Kg) e 289,50 mg/Kg (3000 mg/Kg), enquanto que nos sedimentos SIII, estes valores foram 18,5 mg/Kg (3000 mg/Kg) e 177,25 mg/Kg (1500 mg/Kg) (Figura 17). Comparando-se os sedimentos, foi possível observar que em 0h as concentrações de cromo foram cerca de duas a quinze vezes mais elevadas em amostras de S0 quando comparados com os valores verificados em SIII. Já em 48h, esta situação não foi observada, uma vez que para a maioria das concentrações fortificadas, os sedimentos SIII apresentaram valores de cromo cerca de duas vezes mais elevados em relação a S0 (Figura 17).



**Figura 17:** Concentrações de cromo em amostras de sedimento dos testes de toxicidade aguda com sedimentos artificiais (S0 e SIII), utilizando *D. rerio* e *P. reticulata* como organismo-teste. A: areia.

#### 4.2.2. Testes de toxicidade crônica

##### 4.2.2.1. *C. xanthus*

###### A) Sobrevivência

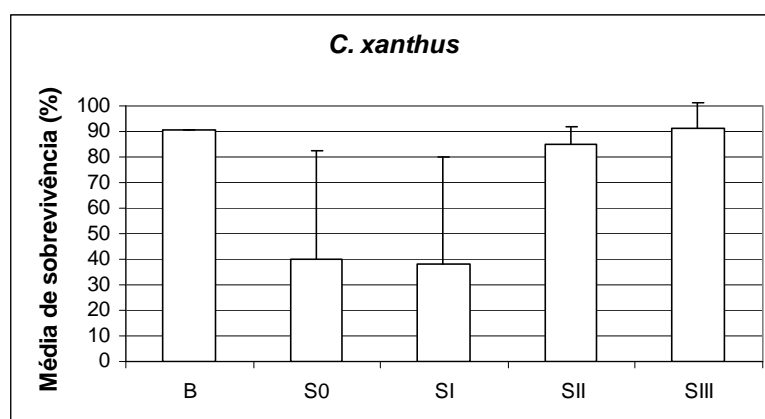
Analisando os três testes realizados com *C. xanthus* foi possível observar que os organismos expostos nos sedimentos S0 e S1 apresentaram menor sobrevivência em relação aos sedimentos SII e SIII, com diferenças significativas em relação ao B nos testes 1 ( $p < 0,00001$  e  $p < 0,00001$ , respectivamente) e 3 ( $p < 0,00001$  e  $p < 0,00001$ , respectivamente) (Tabela 18).

Os testes 1 e 3 apresentaram resultados semelhantes, enquanto que no teste 2 não foram observadas diferenças significativas entre os diferentes sedimentos e o B. De maneira geral, foi possível observar valores de sobrevivência abaixo de 40% dos organismos expostos em S0 e S1 e acima de 80% em SII e SIII (Figura 18).

**Tabela 18:** Valores de p da análise estatística de Fisher comparando a sobrevivência de *C. xanthus* entre os sedimentos artificiais contaminados com cromo (S0, SI, SII e SIII) e o branco (B) nos três testes crônicos realizados, bem como a porcentagem de sobrevivência que foi comparada na análise.

Número do Teste	Comparação entre os tratamentos e o Branco	Valor de p	Porcentagem de sobrevivência comparada
1	B x S0	<0,00001*	90 x 0
	B x SI	<0,00001*	90 x 0
	B x SII	0,0698	90 x 78
	B x SIII	0,0698	90 x 80
2	B x S0	0,2664	90 x 85
	B x SI	0,1756	90 x 83
	B x SII	1,0000	90 x 91
	B x SIII	1,0000	90 x 93
3	B x S0	<0,00001*	91 x 35
	B x SI	<0,00001*	91 x 31
	B x SII	0,2704	91 x 85
	B x SIII	0,0576	91 x 100

\* significativo



**Figura 18:** Sobrevivência média de *C. xanthus* nos três testes de toxicidade crônica com sedimentos artificiais contaminados com 37,3 mg/kg de cromo.

### B) Crescimento (comprimento)

Quanto ao crescimento dos organismos-teste foi possível verificar situações semelhantes às encontradas para a sobrevivência. No teste 1, os organismos-testes apresentaram comprimentos significativamente menores que no B quando expostos em SII ( $p < 0,0001$ ) e SIII ( $p < 0,0001$ ), não sendo possível avaliar esta variável nos demais sedimentos, uma vez que ocorreu 100% de mortalidade (Tabela 19). No teste 2, não foram encontradas diferenças significativas no comprimentos dos organismos-teste expostos em S0 ( $p = 0,2238$ ) e SI ( $p = 0,0946$ ), no entanto, em SII ( $p < 0,0001$ ) e SIII ( $p < 0,0001$ ) os organismos apresentaram-se maiores, com diferenças estatísticas significativas, em relação ao B. No teste 3, foram detectados organismos menores, com diferenças estatísticas significativas, expostos em S0 ( $p < 0,0001$ ); SII ( $p = 0,0123$ ) e significativamente maiores em SIII ( $p < 0,0001$ ) (Tabela 19).

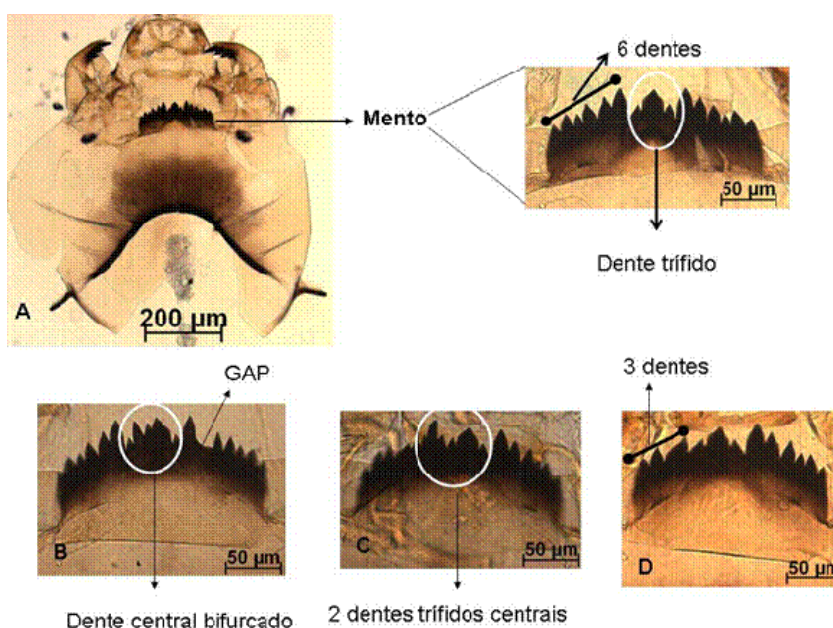
**Tabela 19:** Resultados da análise estatística de Mann-Whitney entre o crescimento dos organismos da espécie *C. xanthus* expostos em sedimentos artificiais contaminados com cromo (S0, SI, SII, SIII) e o branco (B), bem como valores de comprimento médio e desvio padrão dos organismos.

Número do Teste	Comparação entre os tratamentos e o Branco	Valor de p	Mann-Whitney U-Statistic	Comprimento médio e DP dos organismos
1	B	-	-	0,76 ± 0,1101
	S0	NR	NR	NR
	SI	NR	NR	NR
	SII	<0,0001*	181.50	0,58 ± 0,1351
	SIII	<0,0001*	122.50	0,55 ± 0,1312
2	S0	0,2238	580.50	0,80 ± 0,1322
	SI	0,0946	536.00	0,71 ± 0,1029
	SII	<0,0001*	240.00	0,94 ± 0,1214
	SIII	<0,0001*	324.00	0,91 ± 0,1290
3	S0	<0,0001*	30.000	0,43 ± 0,1316
	SI	0,3546	455.50	0,73 ± 0,2470
	SII	0,0123*	1048.0	0,68 ± 0,2419
	SIII	<0,0001*	397.000	1,06 ± 0,1930

NR: não realizado

### C) Deformidade de mento

O resultado da análise de deformidade do mento dos espécimes de *C. xanthus* expostos ao cromo possibilitou encontrar alterações como: bifurcação no dente trífido central e GAP (SI); dois dentes trífidos centrais (SII) e ausência de três dentes (SIII), no entanto, estas alterações estiveram presentes apenas em 4; 3 e 3% dos organismos, respectivamente, não sendo significativas de acordo com o teste t ( $p=0,3333$ ) (Figura 19).



**Figura 19:** Exemplos do mento de *C. xanthus* expostos em sedimentos artificiais contaminados com cromo (A) B; (B) SI; (C) SII e (D) SIII.

#### D) Análise de cromo nos tecidos

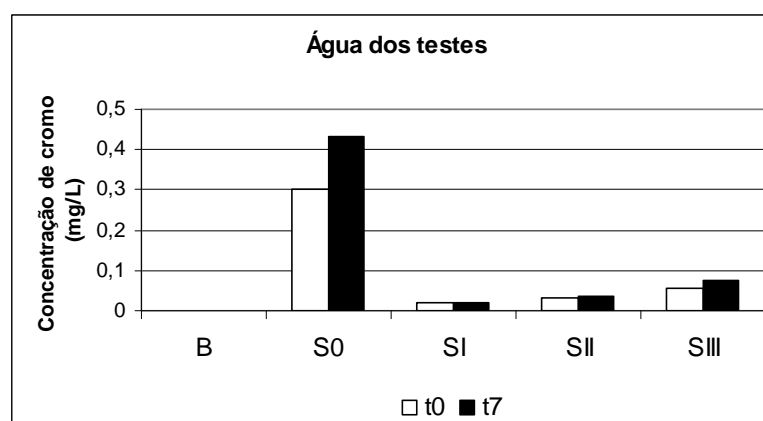
Os organismos-teste expostos apresentaram concentrações de cromo nos tecidos semelhantes com pequenas variações (15,30  $\mu\text{g/g}$  em S0 21,68  $\mu\text{g/g}$  em SII). Em SI foi verificada uma concentração nula de cromo nos tecidos dos organismos expostos (Tabela 20).

**Tabela 20:** Resultados da análise de cromo nos tecidos dos organismos da espécie *C. xanthus* expostos em sedimentos artificiais fortificados com 37,3 mg/kg de cromo.

Tratamentos	Cr ( $\mu\text{g/g}$ )	Peso seco dos organismos após 24h a 60°C (g)	Número de organismos utilizados
B	0,117	0,0064	56
S0	15,30	0,0025	20
SI	0,00	0,0017	19
SII	20,32	0,0085	52
SIII	21,68	0,0273	68

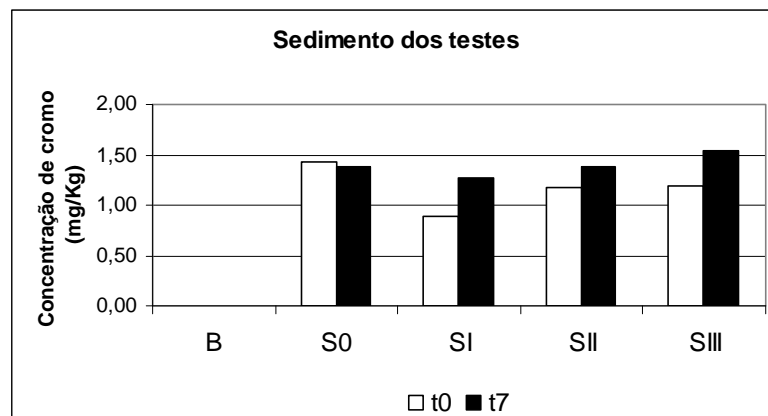
#### E) Análise de cromo na água e no sedimento dos testes

A análise de cromo na água dos testes demonstrou uma tendência a maior presença do metal em S0, atingindo a concentração de 0,4335 mg/L em t7. Quanto aos demais tratamentos, foi possível observar uma tendência ao aumento na concentração de cromo em direção ao conteúdo orgânico, com valores semelhantes em t0 e t7 para todos os sedimentos (Figura 20).



**Figura 20:** Valores de cromo (iniciais e finais) na água dos testes de toxicidade crônica com sedimentos artificiais utilizando *C. xanthus* como organismo-teste.

Quanto ao sedimento, foi possível verificar a mesma tendência, no entanto, as concentrações biodisponíveis mais elevadas foram encontradas em SIII em t7 (1,536 mg/Kg). Os valores de cromo no sedimento foram mais elevados do que os valores encontrados nas amostras de água (Figura 21).



**Figura 21:** Valores de cromo (iniciais e finais) no sedimento dos testes de toxicidade crônica com sedimentos artificiais utilizando *C. xanthus* como organismo-teste.

#### 4.2.2.2. *D. rerio*

##### A) Sobrevivência

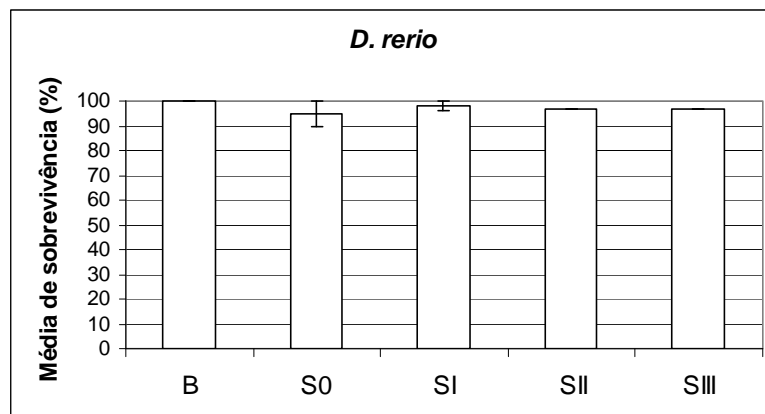
A sobrevivência média dos organismos-teste expostos em sedimentos fortificados com 37,3 mg/Kg de cromo esteve acima de 90%, apresentando valores não significativos em relação ao B (Tabela 21). As porcentagens de sobrevivência nos três testes realizados foram semelhantes, apresentando desvio padrão muito baixo entre esses valores (Figura 22).

**Tabela 21:** Valores de p da análise estatística de Fisher comparando a sobrevivência de *D. rerio* entre os sedimentos artificiais contaminados com cromo (S0, SI, SII, SIII) e o branco (B) nos três testes crônicos realizados, bem como a porcentagem de sobrevivência que foi comparada na análise.

Número do Teste	Comparação entre os tratamentos e o Branco	Valor de p	Porcentagem de sobrevivência comparada
1	B x S0	0,2373	100 x 90
	B x SI	1,0000	100 x 100
	B x SII	1,0000	100 x 96,6
	B x SIII	1,0000	100 x 96,6
2	B x S0	1,0000	100 x 100
	B x SI	1,0000	100 x 96,6
	B x SII	1,0000	100 x 96,6
	B x SIII	1,0000	100 x 96,6
3	B x S0	0,1551	100 x 95
	B x SI	1,0000	100 x 100
	B x SII	1,0000	100 x 96,6
	B x SIII	1,0000	100 x 96,6

\* significativo





**Figura 22:** Sobrevivência média de *D. rerio* em testes de toxicidade crônica parcial com sedimentos artificiais contaminados com 37,3 mg/kg de cromo.

### B) Crescimento

O crescimento dos organismos-teste (peso e comprimento) não diferiu estatisticamente entre os sedimentos fortificados com cromo e o B. No teste 3 não foi realizada a medida biométrica. Em ambos os testes foi possível verificar uma tendência ao menor crescimento dos organismos em relação ao conteúdo orgânico dos sedimentos, exceto em SII. No teste 1, os organismos apresentaram comprimento variando entre 1,15 cm (SIII) e 1,24 cm (SII) e peso variando entre 0,0217 g (SIII) e 0,0328 g (SII). No teste 2, o maior valor de comprimento foi observado nos organismos expostos em B (1,44 cm) e o menor em SI (1,36 cm). Quanto ao peso, estes valores foram 0,0483 g (SIII) e 0,0385 g (SI), respectivamente (Tabela 22).

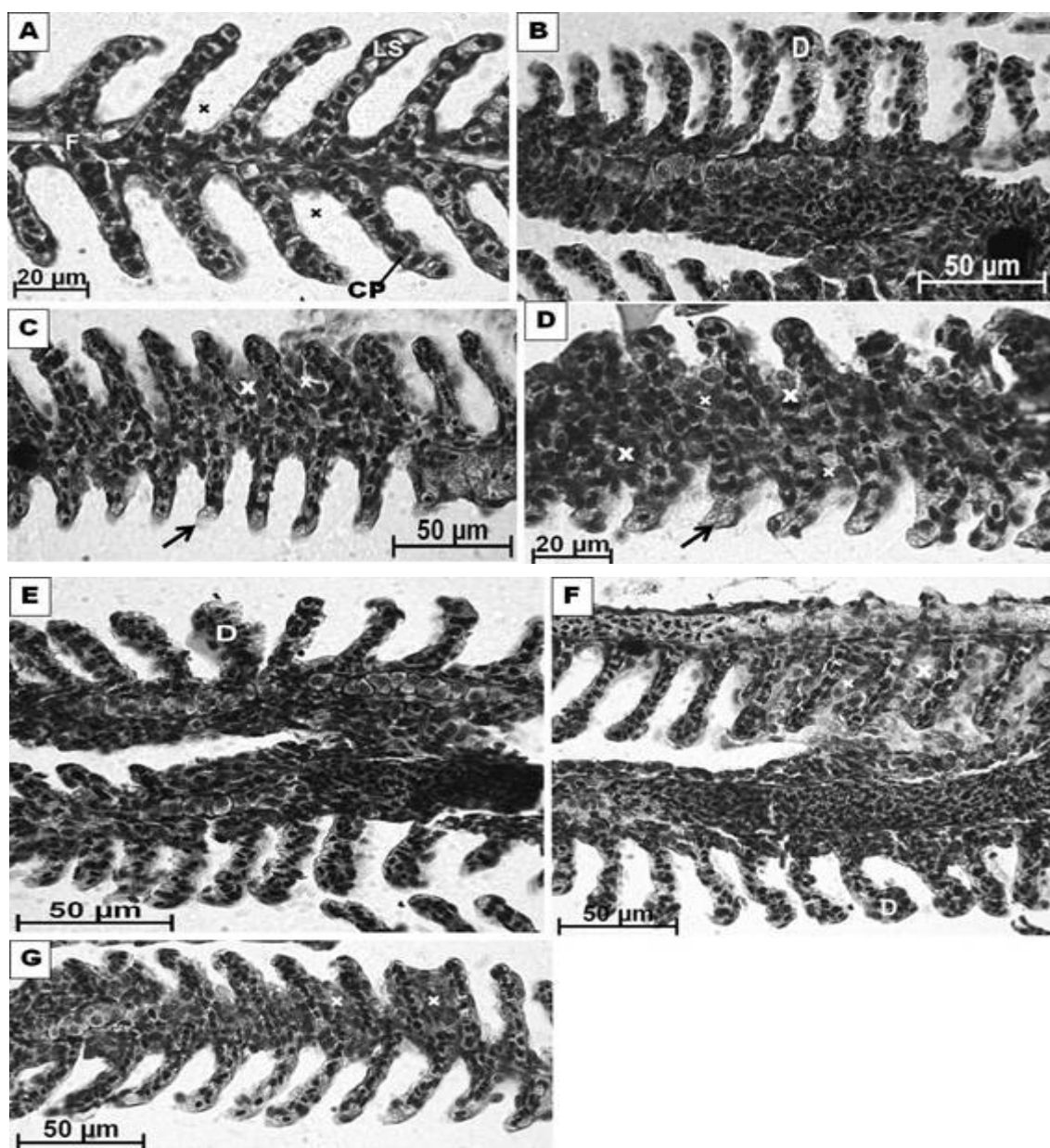
**Tabela 22:** Resultados da análise estatística de Kruskal-Wallis, comparando-se o crescimento de *D. rerio* entre os tratamentos fortificados com cromo (S0, SI, SII, SIII) e o branco (B), bem como os valores médios e desvio padrão do comprimento e peso dos organismos.

Tratamentos	Comprimento médio ± DP (cm)		Peso médio ± DP (g)	
<b>TESTE 1</b>				
B	1,22 ± 0,16	Kruskal-Wallis (1.753) p=0,7811	0,0266 ± 0,015	Kruskal-Wallis (4.063) p=0,3975
S0	1,19 ± 0,12		0,0267 ± 0,014	
SI	1,19 ± 0,12		0,0254 ± 0,009	
SII	1,24 ± 0,26		0,0328 ± 0,017	
SIII	1,15 ± 0,11		0,0217 ± 0,010	
<b>TESTE 2</b>				
B	1,44 ± 0,07	Kruskal-Wallis (6.569) p=0,1605	0,0466 ± 0,009	Kruskal-Wallis (7.237) p=0,1239
S0	1,43 ± 0,13		0,0474 ± 0,017	
SI	1,36 ± 0,08		0,0385 ± 0,009	
SII	1,41 ± 0,12		0,0418 ± 0,017	
SIII	1,40 ± 0,11		0,0483 ± 0,015	

### C) Estudos histológicos

Os organismos expostos em tratamentos brancos apresentaram brânquias com desenvolvimento normal, ou seja, filamento primário e lamelas secundárias desenvolvidos,

presença de cartilagem e seio venoso central, células pilares justapostas e espaços interlamelares, onde ocorrem as trocas gasosas, bem visíveis (Figura 23A). Já as brânquias dos organismos expostos em todos os sedimentos artificiais fortificados com cromo apresentaram alterações de primeiro estágio como: hiperplasia, fusão de lamelas secundárias, deslocamento no epitélio de revestimentos das lamelas secundárias e dilatação em capilares sanguíneos. A hiperplasia foi mais intensa em indivíduos expostos em S0 quando comparada com aquelas encontradas nos organismos expostos nos demais sedimentos (Figura 23 B,C,D,E,F,G).



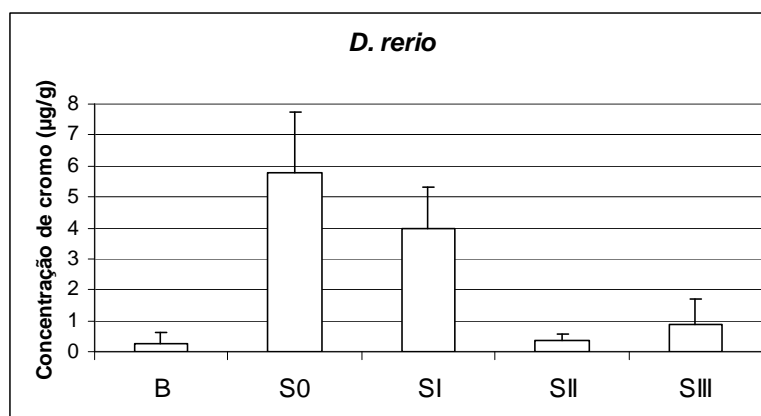
**Figura 23:** Brânquias de organismos-teste da espécie *D. rerio* expostos em amostras de sedimentos artificiais fortificados com cromo em testes de toxicidade crônica parcial. **A.** Branco. Observar os espaços interlamelares bem definidos (X); filamento primário (F); lamelas secundárias (LS); cartilagem (C); células pilares (CP). **B e C.** S0. **D e E.** S1. **F.** SII. **G.** SIII. Nota-se: hiperplasia (X); dilatação em capilares sanguíneos (D); deslocamento do epitélio que reveste as lamelas secundárias (→). (aumentos: 63x e 100x; HE).

#### D) Análise de cromo nos tecidos

A análise de cromo nos tecidos de *D. rerio* permitiu verificar concentrações mais elevadas nos tecidos dos organismos expostos nos sedimentos com menores teores de matéria orgânica (S0 e SI), apresentando os valores médios de 5,77 µg/g e 3,99 µg/g, respectivamente. Em SII e SIII, as concentrações médias de cromo nos tecidos estiveram abaixo de 1,0 µg/g (Tabela 23; Figura 24).

**Tabela 23:** Resultados da análise de cromo nos tecidos dos organismos da espécie *D. rerio* expostos em sedimentos artificiais fortificados com 37,3 mg/kg de cromo.

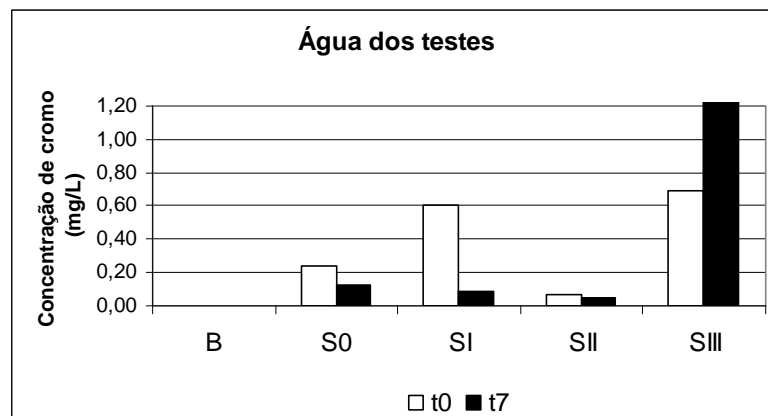
Tratamentos	Cr (µg/g)		Peso seco dos organismos após 24h a 60°C (g)		Número de organismos utilizados	
	1	2	1	2	1	2
B	0,00	0,51	0,0701	0,1250	15	14
S0	7,15	4,39	0,0551	0,1569	14	14
SI	4,93	3,06	0,0608	0,1068	14	13
SII	0,18	0,52	0,0699	0,0875	16	12
SIII	1,46	0,33	0,0757	0,1069	15	15



**Figura 24:** Concentração média de cromo nos tecidos de *D. rerio* expostos em sedimento artificiais fortificados com cromo.

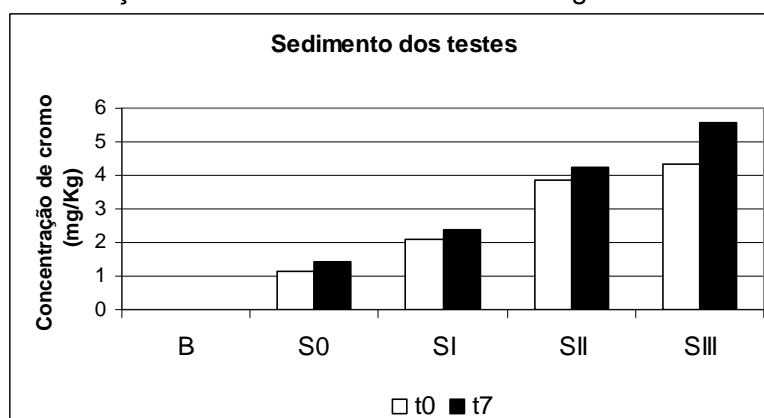
#### E) Análise de cromo na água e no sedimento dos testes

Nas amostras de água, foi possível observar uma tendência a valores mais elevados de cromo em t0, exceto para o SIII, onde estes valores foram mais elevados em t7 (Figura 25). Não foi encontrado um padrão regular evidente, no entanto os valores médios mais elevados foram verificados em SIII tanto em t0 (0,6887 mg/L) quanto em t7 (1,023 mg/L). As amostras de água de SII apresentaram os valores mais baixos, sendo 0,06615 mg/L (t0) e 0,0485 mg/L (t7) (Figura 25).



**Figura 25:** Valores de cromo (iniciais e finais) na água dos testes com sedimentos artificiais utilizando *D. rerio* como organismo-teste.

Quanto ao cromo biodisponível, foi possível verificar valores mais elevados em t7 para todas as amostras, sendo SIII o tratamento que apresentou as concentrações mais elevadas tanto em t0 (4,35 mg/Kg) quanto em t7 (5,59 mg/Kg). Em direção ao conteúdo orgânico as concentrações de cromo foram aumentando gradativamente (Figura 26).



**Figura 26:** Valores de cromo (iniciais e finais) no sedimento dos testes com sedimentos artificiais utilizando *D. rerio* como organismo-teste.

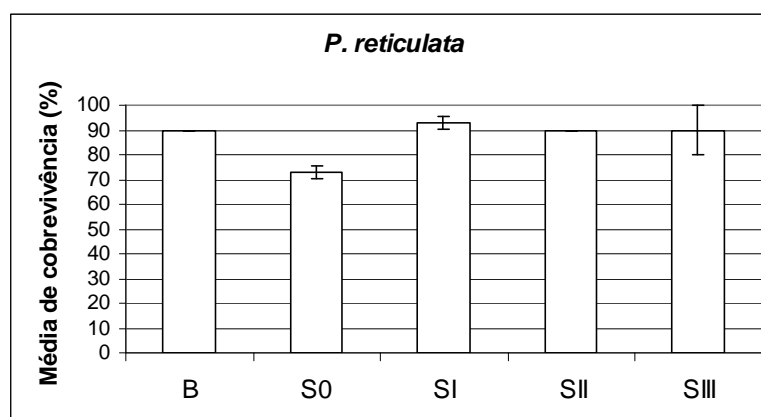
#### 4.2.2.3. *P. reticulata*

##### A) Sobrevivência

A sobrevivência média dos organismos-teste expostos em sedimentos fortificados com 37,3 mg/Kg de cromo esteve acima de 70%, apresentando valores não significativos em relação ao B (Tabela 24). As porcentagens de sobrevivência nos três testes realizados foram semelhantes (Figura 27).

**Tabela 24:** Valores de p da análise estatística de Fisher comparando a sobrevivência de *P. reticulata* entre os sedimentos artificiais contaminados com cromo (S0, SI, SII, SIII) e o branco (B) nos três testes crônicos realizados, bem como a porcentagem de sobrevivência que foi comparada na análise.

Número do Teste	Comparação entre os tratamentos e o Branco	Valor de p	Porcentagem de sobrevivência comparada
1	B x S0	0,1112	90 x 73,3
	B x SI	1,0000	90 x 93,3
	B x SII	1,0000	90 x 90
	B x SIII	1,0000	90 x 90
2	B x S0	0,2400	90 x 75
	B x SI	1,0000	90 x 90
	B x SII	1,0000	90 x 90
	B x SIII	0,2373	90 x 100
3	B x S0	1,0000	90 x 90
	B x SI	0,1042	90 x 70
	B x SII	1,0000	90 x 90
	B x SIII	0,4716	90 x 80



**Figura 27:** Sobrevivência média de *P. reticulata* em testes de toxicidade crônica com sedimentos artificiais contaminados com 37,3 mg/kg de cromo.

## B) Crescimento

O comprimento dos organismos-teste não diferiu significativamente entre os tratamentos fortificados com cromo e o B nos testes crônicos parciais, no entanto, quanto ao peso foi observada diferença estatística significativa entre os organismos expostos em B e em SIII ( $p=0,0449$ ). Foi possível verificar uma tendência ao maior crescimento (peso e comprimento) dos organismos em relação ao conteúdo orgânico dos sedimentos, exceto em SIII. No teste 1 os organismos apresentaram comprimento variando entre 0,99 cm (SIII) e 1,22 cm (SII) e peso variando entre 0,0194 g (SIII) e 0,0393 g (SII) (Tabela 25).

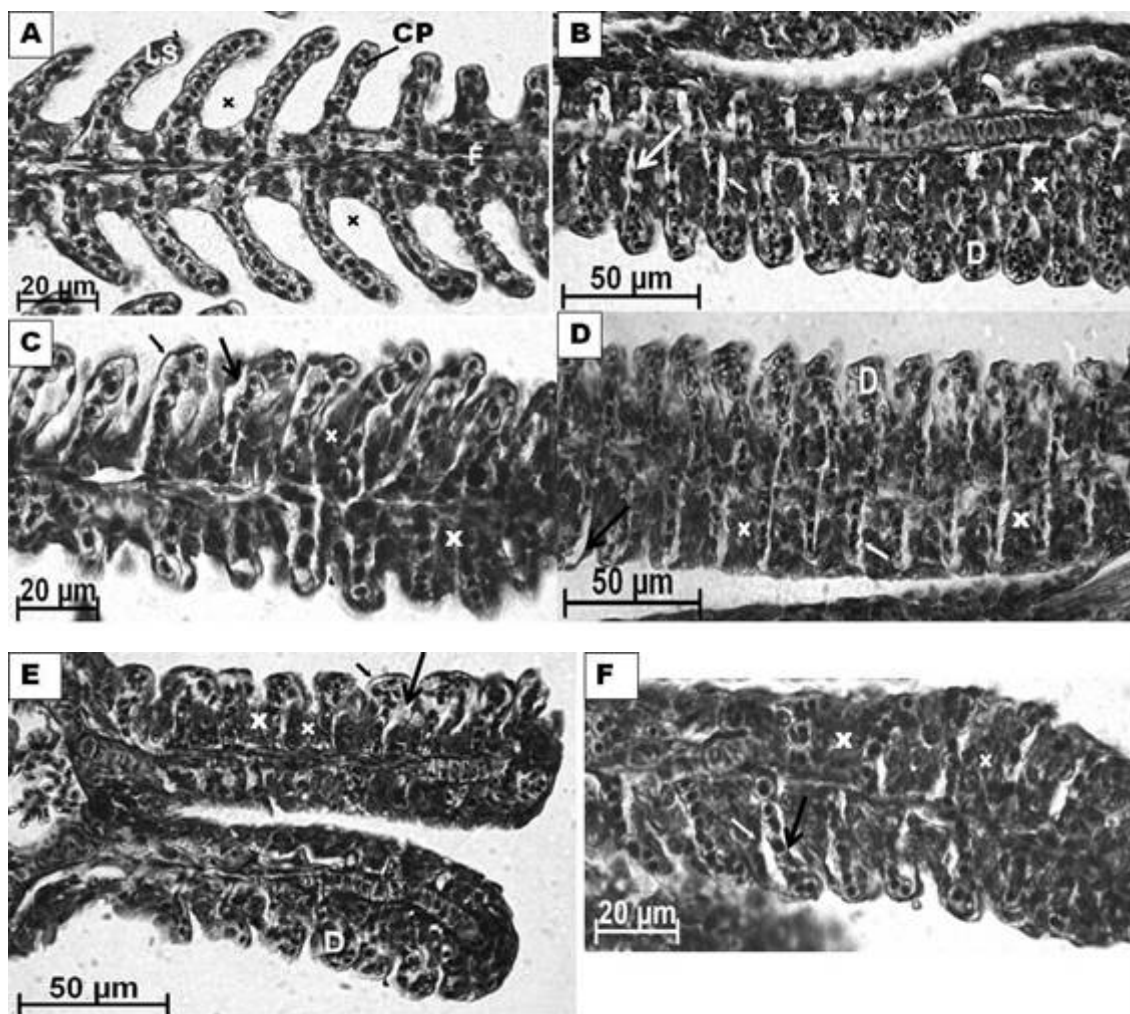
**Tabela 25:** Resultados da análise estatística de Kruskal-Wallis, comparando-se o crescimento de *P. reticulata* entre os tratamentos fortificados com cromo e o branco, bem como os valores médios e desvio padrão do comprimento e peso dos organismos.

Tratamentos	Comprimento			Peso médio		
	média ± DP (cm)	Kruskal-Wallis	p	média ± DP (g)	Mann-Withney	p
<b>TESTE 1</b>						
B	1,18 ± 0,30	-	-	0,0457 ± 0,032	-	-
S0	1,14 ± 0,18	8.523	0,0742	0,0308 ± 0,013	49.000	0,3164
SI	1,20 ± 0,17	8.523	0,0742	0,0382 ± 0,021	71.000	0,7283
SII	1,22 ± 0,20	8.523	0,0742	0,0393 ± 0,022	46.500	0,6016
SIII	0,99 ± 0,18	8.523	0,0742	0,0194 ± 0,010	37.000	<b>0,0449*</b>

\*significativo

### C) Estudos histológicos

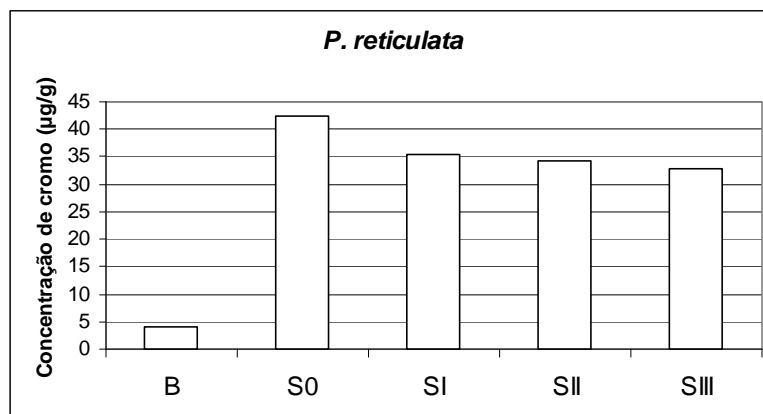
Os organismos expostos em tratamentos brancos apresentaram brânquias com desenvolvimento normal, ou seja, filamento primário e lamelas secundárias desenvolvidos, presença de cartilagem e seio venoso central, células pilares justapostas e espaços interlamelares, onde ocorrem as trocas gasosas, bem visíveis (Figura 28A). Já as brânquias dos organismos expostos em todos os sedimentos artificiais fortificados com cromo apresentaram alterações de primeiro estágio como: hiperplasia, fusão de lamelas secundárias, deslocamento no epitélio de revestimentos das lamelas secundárias e dilatação em capilares sanguíneos. A hiperplasia foi igualmente intensa em todos os tratamentos (Figura 28B,C,D,E,F).



**Figura 28:** Brânquias de organismos-teste da espécie *P. reticulata* expostos em amostras de sedimentos artificiais fortificados com cromo em testes de toxicidade crônica parcial. **A.** Branco. Observar os espaços interlamelares bem definidos (X); filamento primário (F); lamelas secundárias desenvolvidas (LS); cartilagem (C); células pilares (CP). **A.** Branco. **B.** S0. **C.** S1. **D.** SII. **E e F.** SIII. Nota-se: hiperplasia (X); dilatação em capilares sanguíneos (D); deslocamento do epitélio que reveste as lamelas secundárias (→) (aumentos: 63x e 100x; HE).

#### **D) Análise de cromo nos tecidos**

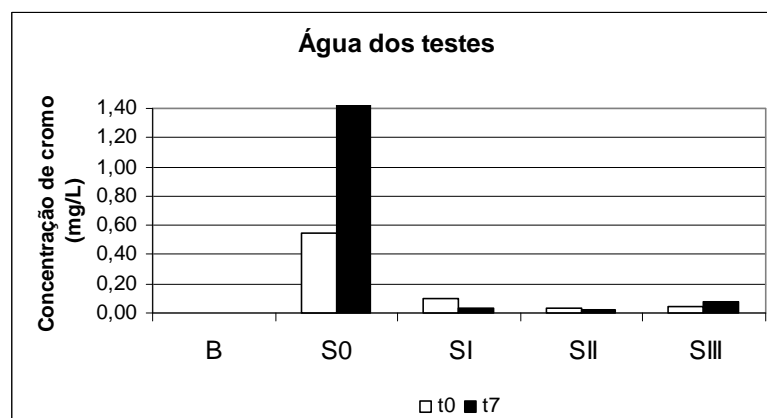
A análise de cromo nos tecidos de *P. reticulata* permitiu verificar concentrações mais elevadas nos tecidos dos organismos expostos em S0 (42,27  $\mu\text{g/g}$ ). Foi possível observar uma tendência a menores concentrações nos tecidos dos organismos expostos em sedimentos com maiores teores de matéria orgânica, exceto em SII. Em SIII, os organismos-teste apresentaram as menores concentrações de cromo (32,68  $\mu\text{g/g}$ ) (Figura 29).



**Figura 29:** Concentração de cromo nos tecidos de *P. reticulata* expostos em sedimento artificiais fortificados com cromo.

### E) Análise de cromo na água e no sedimento dos testes

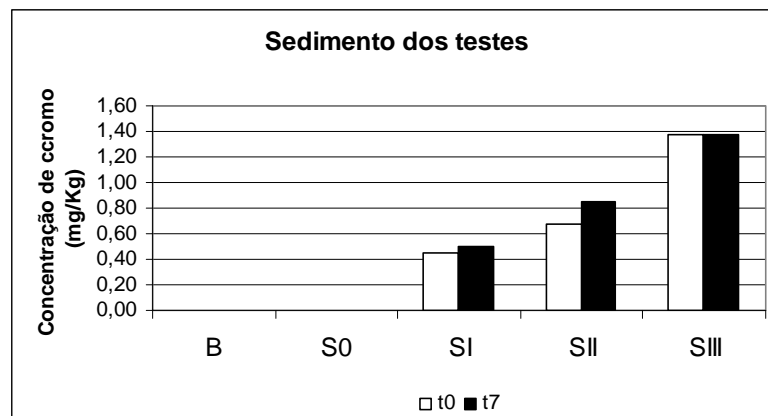
Nas amostras de água, foi possível observar uma tendência a valores mais elevados de cromo nos sedimentos com menores porcentagens de matéria orgânica, atingindo valores elevados em S0 tanto em t0 (0,54 mg/L) quanto em t7 (1,138 mg/L). Estes valores observados em S0 estiveram cerca de duas vezes maiores no final do experimento (t7). A amostras de água de SII apresentaram as menores concentrações de cromo, com valores em t0 de 0,0275 mg/L e em t7 de 0,0235mg/L (Figura 30).



**Figura 30:** Valores de cromo (iniciais e finais) na água dos testes com sedimentos artificiais utilizando *P. reticulata* como organismo-teste.

Quanto ao cromo biodisponível, foi possível verificar valores mais elevados em t7 para todas as amostras, sendo SIII o tratamento que apresentou as concentrações mais elevadas tanto em t0 (1,375 mg/Kg) quanto em t7(1,375 mg/Kg). Em direção ao conteúdo orgânico as concentrações de cromo foram aumentando gradativamente (Figura 31).





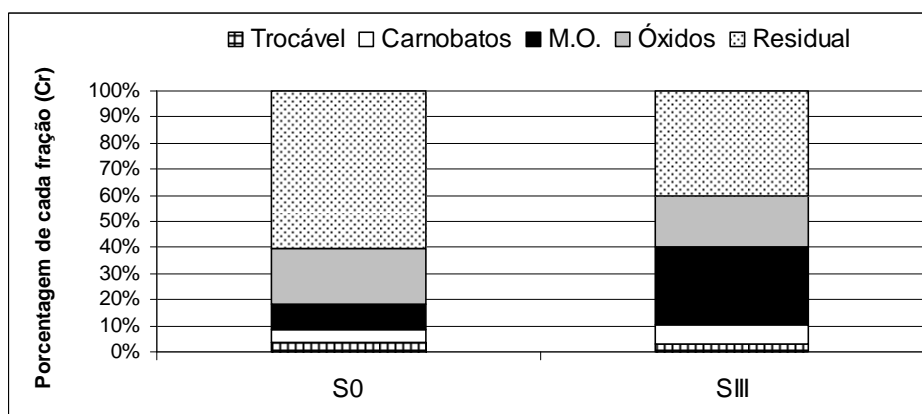
**Figura 31:** Valores de cromo (iniciais e finais) no sedimento dos testes com sedimentos artificiais utilizando *P. reticulata* como organismo-teste.

### 4.3. Extração seqüencial do sedimento

A maior parte do cromo esteve na fração residual em todas as amostras (até 60,06%). Em seguida, em S0, as frações em que o cromo esteve ligado em maiores porcentagens foram: óxidos (21,84%); matéria orgânica (M.O.) (9,78%); carbonatos (4,64%) e trocável (3,66%). Em SIII, foram observadas concentrações de cromo em maiores porcentagens, depois da fração residual, nas frações: M.O (30,2%); óxidos (19,48%); carbonatos (7,65%) e trocável (2,81%) (Tabela 26). Nos sedimentos S0 e SIII a fração menos representativa para a associação com cromo foi a de carbonatos (Figura 32).

**Tabela 26:** Distribuição dos teores de cromo da extração seqüencial nos tratamentos.

Tratamentos	Frações – Cromo (mg/Kg)					Total
	Trocável	Carbonatos	M.O.	Óxidos	Residual	
S0	0,8351	1,294083333	3,2689	3,573	33,312	42,2827
SIII	0,7143	1,946833333	7,6353	4,956	10,185	25,437



**Figura 32:** Porcentagem de cromo distribuído nas frações da extração seqüencial em cada tratamento.

A tabela 27 mostra os efeitos crônicos detectados nas espécies *C. xanthus*, *D. rerio* e *P. reticulata* expostos em testes de toxicidade crônica com sedimentos fortificados com cromo. Os efeitos estatisticamente significativos na sobrevivência ou crescimento dos organismos foram verificados em *C. xanthus* e *P. reticulata*, enquanto que em *D. rerio* foram detectadas apenas as alterações nas brânquias. Estas alterações também foram observadas em *P. reticulata*, com lesões igualmente pronunciadas nos organismos expostos em diferentes sedimentos, no entanto, mais intensas quanto comparadas com *D. rerio*. Não foram detectadas alterações estatisticamente significativas no mento dos indivíduos de *C. xanthus*. O acúmulo de cromo nos tecidos dos organismos foi crescente em *D. rerio* < *C. xanthus* < *P. reticulata* (Tabela 27).

**Tabela 27:** Resumo dos efeitos crônicos significativos detectados em organismos-teste *C. xanthus*, *D. rerio* e *P. reticulata* expostos em sedimentos artificiais (S0, S1, SII e SIII) fortificados com cromo em testes de toxicidade crônica.

Espécies	Sobrevivência	Crescimento	Morfologia de mento ou brânquias	Cromo nos tecidos (µg/g)
<i>C. xanthus</i>	S* (S0 e S1; abaixo de 40%)	S* (S0, SII, SIII)	NS (GAP, ausência ou excesso de dentes, bifurcação de ente trífido).	0 a 21,68
<i>D. rerio</i>	NS (acima de 90%)	NS	Alterações de primeiro estágio em indivíduos expostos em todos os sedimentos, com lesões mais pronunciadas em S0.	1 a 5,77
<i>P. reticulata</i>	NS (acima de 70%)	S* SIII	Alterações de primeiro estágio em indivíduos expostos em todos os sedimentos, com lesões igualmente pronunciadas.	5 a 33,0

S\*: significativos em relação ao branco (B).

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Características físicas e químicas dos sedimentos artificiais.

Os sedimentos artificiais elaborados no presente estudo apresentaram as frações areia grossa (89,0%); argila caulinita (10%) e matéria orgânica detrital biodegradável (0 a 1%) com base nas proporções médias obtidas nos sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu.

De acordo com os resultados apresentados capítulo 2, foi possível observar uma granulometria variável em decorrência dos períodos amostrados, com valores médios da fração areia de 92,5% (variando entre 90 a 96); das frações finas (silte + argila) de 2,5 % (variando entre 0 e 14,2) e de matéria orgânica cerca de 3%, estando os valores entre 0 e 24,24 % (valor muito elevado encontrado em apenas um ponto de coleta). Alguns estudos

mostram a variabilidade na distribuição das frações granulométricas em sistemas lóticos e lânticos brasileiros (Tabela 28).

**Tabela 28** – Composição granulométrica dos sedimentos de sistemas lânticos e lóticos brasileiros em diferentes estudos.

Recurso	Referência	MO (%)	Areia (%)	Silte (%)	Argila (%)
Rio Tietê*	Suriani (2006)	(1,4 – 7,76)	(0 - 98)	(0 - 38)	(0 - 89)
Rio Tietê*	França (2006)	(3 – 5)	(53 – 73)	(7– 15)	(19 – 31)
Ribeirão Inhaumas*	Corbi (2001)	(0 – 40)	(25 – 60)	(15 – 30)	(15 – 30)
Rio Piracicaba**	Marroquim (2000)	(0,2 – 14)	-	-	-
Rio Tietê*	Silvério (1999)	-	~14	~87	~87
Rio Mogi-Guaçu*	Silvério (1999)	-	~18	~82	~82
Rio Mogi-Guaçu**	Brigante <i>et al.</i> , (2003)	(0,9 – 48)	(17 – 95)	(5 – 83)	(5 – 83)
Salto Grande*	Espíndola <i>et al.</i> , (2004)	(1 – 17)	(18 – 97)	(0 – 42)	(3 – 40)
Rio Tietê**	Fracácio (2001)	13,30-13,92	18-26	11-17	60-70
Rio Piracicaba**	Fracácio (2001)	10,92-12,69	19-33	16-21	47-65
Rio Monjolinho**	Campagna (2005)	(0,05 – 5)	(0 – 72)	(0,02 – 30)	(0,02 – 30)
Rio Piracicaba**	Silva (2000)	~1,25	~37,0	~39,5	~23,5
Rio Atibaia**	Silva (2000)	~0,37	~73,0	~16,0	~11,0
Rio Jaguari**	Silva (2000)	~1,40	~44,5	~31,0	~24,5
Rios do PETAR**	Cotta (2003)	<10%	(2,99– 76)	(9 – 64)	(0 – 6)
Rio Corumbataí **	Jardim (2004)	(0,14 – 2,95)	(80 – 97)	(0 – 4,73)	(1,40–16,56)
<b>Rio Jacaré-Guaçu**</b>	<b>presente estudo</b>	<b>~ 3</b>	<b>~ 92,5</b>	<b>~ 1,51</b>	<b>~ 0,16</b>

\* *ecossistemas lânticos*; \*\* *ecossistemas lóticos*; ~ *valor médio*.

Apesar do pequeno número de trabalhos apresentados na tabela acima, é possível verificar que a maioria dos sistemas lóticos apresenta sedimentos predominantemente arenosos e inorgânicos (<10% de matéria orgânica), assim como se pretendeu elaborar os sedimentos artificiais do presente estudo.

A fração areia em sedimentos naturais é dividida em areia grossa (0,5 – 2,0 mm); areia média (0,25 – 0,5mm) e areia fina (0,05 - 0,25 mm). No entanto, no presente estudo, optou-se por utilizar apenas a areia grossa na composição dos sedimentos artificiais visando simplicidade, praticidade e rapidez na elaboração dos mesmos, além da facilidade na obtenção do material não contaminado (areias para filtragem, por exemplo).

O protocolo 218 da OECD (2004) para elaboração de sedimentos artificiais sugere a utilização de areia fina nas formulações, entretanto, diversos trabalhos têm utilizado a areia grossa e a argila caulinita como frações de sedimentos artificiais (CASTRO et al (2003); NAYLOR; RODRIGUES (1995); RIBEIRO et al., (1999)).

Quanto ao grupo das argilas, os sedimentos naturais apresentam diferentes composições mineralógicas, podendo conter minerais dos grupos das caulinitas, ilitas, vermiculitas, cloritas e montmorilonitas. Cada grupo mineralógico apresenta determinada

capacidade de troca catiônica e aniônica, apresentadas na tabela 29 (BRADY, 1989; GRIM, 1953). Como é possível observar, a argila caulinita apresenta uma capacidade de troca catiônica entre 3 e 5 meq/100g e aniônica de 2 meq/100g, representando os menores valores quando comparados com outros grupos minerais.

As variações nas concentrações destes minerais em sedimentos naturais podem influenciar na troca de elementos entre os sedimentos e a coluna de água (LEMES, 2001) e, considerando-se que no presente estudo foi utilizada apenas a argila caulinita nos sedimentos artificiais, ressalta-se a limitação na interação com íons neste substrato quando comparado com os sedimentos naturais. Entretanto, na maioria dos estudos com sedimentos artificiais, inclusive no protocolo 218 da OECD (2004), a fonte de argila é a mesma utilizada no presente estudo (NAYLOR; RODRIGUES, 1995; CLÉMENT; CADIER, 1998; KEMBLE et al., 1999; RIBEIRO et al., 1999; VERRHIEST et al., 2002; FEILER et al., 2004; ROMAN et al., 2007).

**Tabela 29:** Capacidade de troca catiônica e aniônica dos grupos mineralógicos e da matéria orgânica, em miliequivalentes por 100 g (pH=7,0).

<b>Grupo Mineralógico</b>	<b>CTC (meq/100g)</b>	<b>CTA (meq/100g)</b>	<b>Tamanho (µm)</b>
Caulinita	3 – 15	2	0,1 – 5,0
Montmorilonita	80 – 150	1	0,01 – 1,0
Ilita	10 – 40	3	0,1 – 2,0
Vermiculita	100 – 150	0	-
Clorita	10 - 40	-	-
<b>Matéria orgânica</b>	<b>150 - 500</b>	-	-

Fonte: Brady (1989); Grim (1953).

A tabela 29 mostra que a matéria orgânica tem grande influência sobre a capacidade de troca de íons, uma vez que 100 g de matéria orgânica apresentam uma capacidade de 100 a 500 meq/100g. A matéria orgânica em ecossistemas aquáticos sofre mineralização através do processo de decomposição por microrganismos, liberando nutrientes e carbono dissolvidos para o ambiente. Os processos de mineralização da matéria orgânica ocorrem segundo três caminhos distintos. No primeiro, os compostos lábeis (carboidratos, glicosídeos, polifenóis, etc) são rapidamente oxidados e dissolvidos. O segundo caminho inclui os processos de solubilização e consumo das frações dissolvidas de matéria orgânica (COD). Na terceira rota, a oxidação dos detritos particulados (COP) refratários é responsável pela perda de massa (BIANCHINI, 1999).

O COD natural (decorrente do processo de oxidação da matéria orgânica) é composto primariamente de ácidos húmicos e fúlvicos, que são polímeros de alto peso molecular com elevada capacidade de quelar metais, grupos fenólicos e carboxilas e,

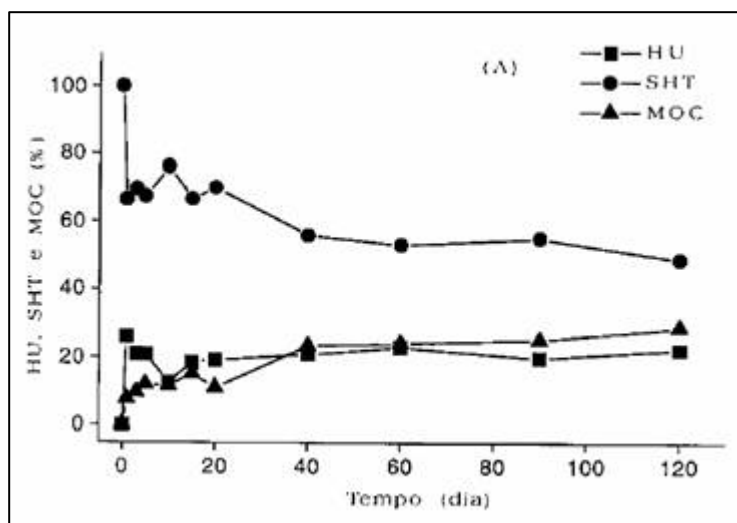
conseqüentemente, reduzir a toxicidade destes compostos a organismos aquáticos (STUMM; MORGAN, 1996).

As concentrações de COD no presente estudo estiveram mais elevadas em sedimentos com maior concentração da matéria orgânica, atingindo cerca de 20,0 mg/L. Estes valores foram também foram mais elevados em t7, demonstrando solubilização de compostos da degradação da MO durante os experimentos. As concentrações de NT e PT, também estiveram mais elevadas no final dos testes, o que também comprova a situação acima descrita.

Os valores médios de NT e PT nas amostras de sedimento da bacia do alto Jacaré-Guaçu foram de  $0,35 \pm 1,09$  % e  $0,61 \pm 1,15$  µg/g , respectivamente. Já nos sedimentos artificiais, estes valores estiveram entre 0,07 e 0,28 % para NT e 0,06 e 0,50 para PT. Considerando as médias encontradas no ambiente e os desvios padrões, as variações entre os sedimentos naturais e artificiais foram pequenas.

A utilização da macrófita aquática *Scirpus cubensis* deveu-se à praticidade na coleta e condicionamento e também pelo fato da espécie apresentar considerável fornecimento de MO e concentração de nutrientes (Bianchini, comunicação pessoal). Experimentos de lixiviação, realizados no presente estudo, demonstraram que cerca de 80% permanece sob a forma particulada nos sedimentos (MOP) e cerca de 20% é solubilizado na água (MOD) nas primeiras 24 horas de experimentos. Estes resultados corroboram os estudos realizados por Nogueira (1989); Lemos (1995); Cunha e Bianchini Junior (1998). Os experimentos de lixiviação também auxiliaram na escolha das diferentes concentrações de MO nos sedimentos artificiais, uma vez que foi possível verificar porcentagens que degradassem a coluna de água e, possivelmente interferissem na sobrevivência dos peixes.

Em estudo realizado por Cunha e Bianchini Junior (2001), sobre a decomposição de *Scirpus cubensis*, foi demonstrado que nos primeiros 20 dias ocorreram intensos decréscimos nas frações de SH das frações solúveis e particuladas (aproximadamente 35%). Na seqüência, estes valores passam a decrescer de modo mais lento e no final do experimento correspondem a 48%. Os autores concluíram que a lenta mineralização da MO provavelmente são decorrentes da natureza refratária e pouco reativa dos compostos remanescentes (Figura 33). Este estudo sugere que, durante o período dos testes de toxicidade no presente estudo (10 dias), o processo de degradação da MO está apenas se iniciando, no entanto, com intensa formação de SH das frações solúveis e particuladas.



**FIGURA 33:** Variáveis temporais dos teores de humina (HU), substâncias húmicas (SHT) e matéria orgânica consumida (MOC), durante a decomposição de *Scirpus cubensis*. Fonte: Cunha e Bianchini Junior (2001).

Considerando-se que a degradação da MO em ambientes aquáticos e seus respectivos produtos (nutrientes, COD e subprodutos) dependem da atividade microbiana e de outros organismos (cada organismo interage de maneira específica com a MO); da temperatura; do conteúdo de MO e detritos do meio; do teor de compostos refratários e detritos do meio; pH e salinidade; oxigênio dissolvido e tamanho de partícula, é possível compreender as variações entre estes conteúdos dos sedimentos naturais e artificiais, uma vez que em laboratório foi realizado um sistema controlado.

Em sedimentos naturais há também uma complexa mistura de poluentes e nutrientes (metais, agrotóxicos, hidrocarbonetos, óleos e graxas, entre outros) que apresentam sua biodisponibilidade influenciada por mecanismos físicos e químicos que variam de ambiente para ambiente (BAUDO et al., 1990). Além disto, a comunidade microbiana e fauna residente também interferem nos ciclos biogeoquímicos, na especiação e mobilização de poluentes em sedimentos (LOMBARDI et al., 2005), sendo esta também variável em diferentes ecossistemas aquáticos.

SALOMONS et al. (1987) descreve que a interface sedimento-água é marcada por um gradiente de oxidação-redução e, como consequência da degradação da MO por bactérias, estas zonas redox podem migrar acima ou abaixo das camadas superiores do sedimento, promovendo o fluxo de metais entre os compartimentos. Deve-se ainda considerar as diferentes formas de interação dos poluentes com os diversos subprodutos da degradação da MO (originária de vegetal ciliar, carreamento de partículas da bacia, esgotos domésticos, fertilizantes, etc), como por exemplo, os SH, SF e seus precursores (AT e AG) (NAKAYASU et al., 1999).

Diante do exposto, a extrapolação dos resultados obtidos em testes de toxicidade com sedimentos artificiais desenvolvidos no presente estudo (S0, SI, SII e SIII) assim como com qualquer sedimento artificial, deve considerar as limitações físicas, químicas e biológicas na interpretação da toxicidade frente à complexidade dos sedimentos naturais.

## **5.2. Adequabilidade dos sedimentos artificiais para a sobrevivência e crescimento dos organismos (*C. xanthus*, *D. rerio* e *P. reticulata*).**

No presente estudo optou-se por utilizar uma formulação simples de sedimento (areia, argila caulinita e matéria orgânica) com vistas à repetibilidade e reprodutibilidade, bem como facilidade e praticidade no preparo e condicionamento dos mesmos. A elaboração de uma formulação simples e representativa de sedimento resulta em facilidade na aquisição das frações; menor custo para aquisição, preparo e condicionamento e no auxílio para a execução de testes de toxicidade em decorrência do menor tempo gasto no preparo do mesmo, possibilitando assim, realizar maior número de experimentos em menor tempo. Estes objetivos têm sido foco de muitos trabalhos com sedimentos artificiais (CLEMENT; CADIER, 1998; FEILER et al., 2004; KEMBLE et al., 1999; NAYLOR; RODRIGUES, 1995; RIBEIRO et al., 1999; ROMAN et al., 2007; VERRHIEST et al., 2002).

Os resultados de sobrevivência e crescimento dos organismos nos testes com sedimentos artificiais sem fortificação, bem como a morfologia normal de mentos e brânquias, demonstraram sua adequabilidade como habitat para a espécie bentônica (*C. xanthus*) e como sedimento controle para testes de toxicidade para as espécies nectônicas (*D. rerio* e *P. reticulata*). Foram verificadas porcentagens de sobrevivência acima de 80% para *C. xanthus*; 70% para *D. rerio* e 60% para *P. reticulata*, sendo que, depois de 48h e 96h de experimento não havia sido constatada mortalidade. Em geral, a sobrevivência dos organismos-teste foi mais elevada em SI, SII e SIII quando comparados com S0.

Quanto a *C. xanthus*, as porcentagens de sobrevivência foram semelhantes entre os sedimentos orgânicos (SI, SII e SIII), com valores ligeiramente menores em SIII em relação aos demais. Esta tendência também pode ser verificada quanto ao crescimento dos organismos, ou seja, o tamanho médio dos indivíduos esteve maior nos sedimentos orgânicos e, ligeiramente menores em SIII. Assim, nos sedimentos onde foram verificadas as maiores porcentagens de sobrevivência também foram verificadas as maiores médias de comprimento dos organismos (SI e SII).

Em parte, estes resultados discordam daqueles reportados por Naylor e Rodrigues (1995) que, ao avaliarem a influência da adição de diferentes concentrações de suplemento alimentar em sedimentos artificiais na sobrevivência e crescimento de larvas de *C. riparius*, verificaram que a maior densidade das larvas nos recipientes-teste (sobrevivência) diminuiu significativamente o tamanho médio do corpo dos indivíduos. No entanto, deve-se

considerar que o trabalho utilizou outra espécie como organismo-teste, e, além disto, um agente contaminante foi adicionado ao sedimento. Por outro lado, o mesmo estudo verificou que o crescimento de organismos-teste em sedimentos artificiais com concentrações variáveis de matéria orgânica não era dependente da concentração da mesma, mas sim estava diretamente relacionado com a variabilidade no tamanho das partículas. Neste sentido, verificaram que a presença ou ausência da argila era o fator que resultava em efeito no crescimento dos organismos, ou seja, na presença da argila, em adição com areia e matéria orgânica, os organismos apresentavam maior crescimento que nos sedimentos compostos apenas por areia e matéria orgânica. Esta situação foi atribuída ao hábito em construir tubos, no qual os indivíduos necessitam de maior variabilidade no tamanho das partículas.

No presente estudo, também foi verificado que o crescimento dos organismos foi maior nos sedimentos com maior quantidade de frações (areia, argila e matéria orgânica) em relação aos sedimentos com menos frações (B e S0). Considerando que *C. xanthus* também apresenta o hábito de construir tubos, nossos resultados corroboram os autores (NAYLOR; RODRIGUES *op. cit.*).

No final dos testes de toxicidade foi possível verificar que os organismos expostos nos sedimentos com MO apresentavam coloração mais escura que os organismos expostos em S0 e B. Esta observação sugere que os indivíduos de *C. xanthus* alimentavam-se da MO adicionada aos sedimentos. Assim, considerando-se esta observação e o hábito alimentar detritívoro da espécie (BIRD, 1995) era esperado que em sedimentos com maiores concentrações de matéria orgânica os organismos apresentassem maior crescimento e sobrevivência.

O crescimento e a porcentagem de sobrevivência dos organismos foram crescentes até 0,5% de MO (SII), sendo que em SIII este incremento não foi detectado. Diante disso, é possível sugerir que concentrações até 0,5% MO são utilizadas como recurso alimentar adicional à ração ministrada nos testes de toxicidade e, acima deste valor, a MO pode não ser utilizada para esta finalidade.

Neste sentido, é possível citar o estudo de Lacey et al. (1999), que avaliaram os efeitos na sobrevivência e crescimento de *C. tentans* expostos em formulações de sedimentos artificiais com diferentes concentrações (0-20%) e fontes de MO ( $\alpha$ -celulose, turfa e folhas de ácer). Neste estudo, os autores verificaram que em sedimentos naturais (ricos em MO) e artificiais, a sobrevivência de *C. tentans* não era significativamente afetada, exceto em sedimentos naturais que as concentrações de MO eram muito baixas (6-7%). No entanto, quanto ao crescimento, ocorreu diferença significativa dos indivíduos, que foi atribuída à grande quantidade de MO refratária na formulação dos sedimentos artificiais.



Suedel e Rodgers (1994), avaliando a toxicidade para *C. riparius* de diferentes formulações de sedimento encontrou que acima de 3,0% de MO (humus) a sobrevivência de *C. tentans* atingia 87%, não apresentando alterações nestes valores até 5,0% de MO. No entanto, abaixo de 2,0 % de MO, a sobrevivência foi significativamente menor. No entanto, os autores não avaliaram o crescimento dos organismos.

Ressalta-se que os trabalhos anteriormente citados utilizaram diferentes fontes de MO que, por sua vez, apresentam diferentes composições químicas e estados de degradação.

Quanto aos peixes, a sobrevivência de *D. rerio* e *P. reticulata* também foi elevada em todos os sedimentos, não apresentando diferenças significativas em relação ao tratamento B. Foi possível observar uma tendência crescente na sobrevivência dos organismos em relação ao conteúdo orgânico dos sedimentos. Apesar dos valores de crescimento não terem sido significativos em relação ao B, as tendências para o crescimento dos peixes foram diferentes para cada espécie.

Em relação à *D. rerio*, os organismos apresentaram menor crescimento em relação ao conteúdo orgânico do sedimento, contrário às porcentagens de sobrevivência. Quanto à *P. reticulata*, esta relação foi direta e foram verificados valores médios de peso e comprimento maiores em organismos expostos em sedimentos com maiores concentrações de MO, concordando com sobrevivência.

As concentrações de COD e nutrientes na água dos testes foram mais elevadas nos sedimentos com maiores concentrações de MO sendo ainda, estes valores, mais elevados no final dos experimentos. Esta situação demonstra a mineralização e solubilização da MO durante os testes. Estes resultados permitem sugerir que as espécies interagem de forma diferente frente aos produtos da degradação da MO, podendo *P. reticulata* utilizá-los como alimento e incorporá-los ao crescimento e, *D. rerio* utilizá-los para outra finalidade. No entanto, nenhum sedimento apresentou efeitos tóxicos significativos no crescimento das espécies.

Visivelmente as espécies estudadas exibiram diferentes comportamentos frente a sedimentos com as mesmas características, sugerindo distintas estratégias fisiológicas e metabólicas adotadas para utilizar e eliminar os produtos e subprodutos dos sedimentos artificiais.

Variações na sensibilidade de *D. rerio* e *P. reticulata* expostas em amostras de sedimento natural foram verificadas por Campagna et al. (2008) e Fracácio et al. (2009). Ainda, no presente estudo também foram verificadas variações nas respostas das mesmas espécies expostas em amostras de sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu.

Em testes de toxicidade com diferentes compostos dissolvidos na água (aldrin, heptacloro, cobre, endossulfan) também foram verificadas variações na sensibilidade das espécies mencionadas (CAMPAGNA et al. 2007; 2009; FRACÁCIO et al., 2008).

Poucos são os trabalhos que avaliam a adequabilidade de sedimentos artificiais para peixes como sedimento controle em testes de toxicidade. Neste sentido, é possível citar o estudo de Suedel e Rodgers Jr (1994) que testaram diferentes formulações de sedimentos artificiais utilizando organismos testes de diferentes níveis tróficos, incluindo a espécie de peixe *Pimephales promelas*. Os autores verificaram que o sedimento considerado ideal como habitat para as outras espécies testadas (*Hyalella azteca*; *Chironomus tentans*, *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia*) também não apresentou toxicidade para o peixe, verificando 94% de sobrevivência. No entanto, os autores não avaliaram efeitos subletais (crescimento, reprodução, alterações morfológicas e fisiológicas).

Muitos estudos com sedimentos artificiais investigam o comportamento de substâncias tóxicas em organismos aquáticos em um sistema controlado. No entanto, apesar da grande quantidade de trabalhos que avaliam o potencial de sedimentos artificiais em testes de toxicidade, raros são aqueles que consideram a morfologia de órgãos e de estruturas na avaliação da adequabilidade dos mesmos.

Anormalidades morfológicas em larvas de *Chironomus* sp têm sido utilizadas como um indicador geral de estresse antropogênico em ecossistemas aquáticos, bem como em avaliações de risco ecológico. Alguns trabalhos foram realizados neste sentido, (JANSSENS de BISTHHOVEN et al., 1998; MADDEN et al., 1995; MARTINEZ et al., 2001; 2002; MEREGALLI et al., 2001.; VERMULEN et al., 2000), sendo possível citar, particularmente, o estudo de Martinez et al. (2003) que avaliaram o tamanho e largura da cápsula cefálica, bem como o tamanho do corpo para avaliar o potencial tóxico de cobre e cádmio, incluindo nestas avaliações, organismos expostos em mais de uma geração no controle. Entretanto, os autores utilizaram apenas a fração areia e adicionaram os contaminantes na água.

O mesmo pode ser mencionado para os estudos histológicos. Não foram encontrados trabalhos que utilizaram a morfologia das brânquias como biomarcadores de toxicidade na avaliação da adequabilidade de sedimentos artificiais como substratos para testes de toxicidade. As alterações nas brânquias são situações que possivelmente antecedem os distúrbios bioquímicos e fisiológicos (EWALD, 1995), e quando são detectados em organismos expostos em bioensaios de toxicidade, os efeitos são inquestionáveis.

Assim, considerando os efeitos positivos na sobrevivência e crescimento de *C. xanthus*, *D. rerio* e *P. reticulata*, a ausência de deformidade nos mentos e o desenvolvimento normal das brânquias, é possível considerar os sedimentos artificiais com

formulação simples são adequados como habitat para a espécie bentônica e adequados como controle nos testes de toxicidade para as espécies nectônicas.

### **5.3. Adequabilidade dos sedimentos artificiais para testes de toxicidade.**

Para a avaliação da adequabilidade dos sedimentos artificiais como substrato em testes de toxicidade, optou-se por realizar a fortificação com o metal cromo, uma vez que esteve em elevadas concentrações na bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu estudada no capítulo 2.

É conhecida a capacidade da MO em influenciar na disponibilidade de metais a organismos aquáticos e, conseqüentemente, na toxicidade (BAUDO et al., 1990). Neste sentido, foi avaliada a toxicidade do cromo frente a concentrações variáveis de matéria orgânica.

Nos testes de toxicidade aguda foram utilizados dois tipos de sedimentos com diferentes valores de conteúdo orgânico: sem MO (S0) e com 1% de MO (SIII). Os resultados dos testes permitiram verificar que a CL<sub>50</sub> média para todos os organismos-teste aumentou de 2x a 4x em SIII. Também foi possível verificar que a espécie bentônica apresentou maior sensibilidade que as espécies nectônicas, com CL<sub>50</sub> média cerca de 5x mais baixa. Entre as espécies nectônicas, a sensibilidade foi semelhante.

Considerando-se a CL<sub>50</sub>;48h média para *D. rerio* (2263,54 mg/Kg; 1731,04 mg/Kg) e *P. reticulata* (2244,48 mg/Kg; 1377,55 mg/Kg) em SIII e S0, respectivamente, foi possível observar, por meio da análise de cromo dissolvido na água dos testes, que esta mortalidade ocorreu em concentrações aproximadamente de 70,0 mg/L e 3,5 mg/L de cromo para ambas as espécies. Desta forma, SIII reduziu cerca de 20 vezes a toxicidade de cromo na água.

Ao analisar os valores de cromo dissolvido na água dos testes, foram verificadas concentrações mais elevadas em SIII, tanto no início quanto no final dos testes. As concentrações de cromo na água estiveram diretamente relacionadas com as concentrações adicionadas aos sedimentos e também com a toxicidade.

Uma possível explicação para a menor toxicidade nas amostras onde foram encontrados os maiores valores de cromo dissolvido na água (SIII) é a instabilidade da espécie química frente ao COD. O cromo Cr<sup>6+</sup> (altamente tóxico e oxidável) é facilmente reduzido a Cr<sup>3+</sup> (menor toxicidade) na presença de COD e SH (SKOGERBOE; WILSON, 1981; WITTBRODT; PALMER, 1995). Além disto, a MO e os subprodutos de sua degradação podem complexar metais e torná-los indisponíveis aos organismos. Considerando a elevada concentração de COD em SIII (18,0 mg/L), o cromo na água poderia estar na forma indisponível (complexada com MO) ou reduzida (menos tóxica),

causando menor toxicidade. No entanto, no presente estudo não foram avaliadas as espécies químicas do cromo nos experimentos.

Vários estudos têm demonstrado a influência do COD na toxicidade de metais. Entre eles, pode ser citado o estudo de Bringolf et al., (2006), que avaliaram o efeito da MO dissolvida na toxicidade aguda do zinco a larvas de *Pimephales promelas*. Neste trabalho, os autores verificaram que uma concentração mínima de 11,0 mg/L de COD era necessária para reduzir a  $CL_{50}$ ; 96h do zinco, estando esta positivamente correlacionada com as concentrações de COD. Estes resultados corroboram o presente estudo.

Brooks et al. (2007) avaliaram a influência da matéria orgânica dissolvida fotodegradada na toxicidade de cobre em larvas de *Pimephales promelas* e observaram que a mortalidade dos organismos era maior em tratamentos com menor densidade de sítios de ligação entre Cu-COD. Os autores verificaram que as mudanças fotoquímicas do COD nas ligações aumentavam de 31 a 85% a concentração de íons cobre livres, em decorrência da redução na densidade de sítios de ligação entre os elementos e, assim, desencadeavam toxicidade.

Nakayasu et al., (1999) realizaram um estudo comparativo do comportamento de redução do  $Cr^{6+}$  frente a SH e seus precursores e encontraram resultados diferenciados a respeito de compostos de elevado peso molecular (SH e SF) e de baixo peso molecular (AG e AT). Os autores verificaram que a cinética de redução do  $Cr^{6+}$  a  $Cr^{3+}$  era duas vezes maior para compostos de baixo peso molecular, estando esta capacidade de redução crescente no sentido SH e SF < AT < AG.

Outra possível explicação para os valores mais elevados de cromo na água dos testes com sedimentos orgânicos é a característica do sedimento, ou seja, além da fração areia estar presente em grande quantidade (~80%), a profundidade do sedimento nos recipientes-teste esteve abaixo de 3,0 cm. Estas condições podem favorecer a partição do cromo dos sedimentos para a água em concentrações baixas de MO (1%) (EIMERS et al., 2002).

As concentrações de cromo na água dos testes com S0 foram mais baixas que nos testes com SIII. Neste caso, a toxicidade verificada em baixas concentrações de cromo pode ter sido desencadeada principalmente pela tendência do metal em permanecer na forma hexavalente (altamente tóxico e oxidável) em S0 (NAKAYASU et al., 1999). Ressalta-se que a capacidade de troca catiônica da argila caulinita (3-15 meq) representa sítios de ligação adicionais, principalmente de óxidos de Fe e Al, podendo ter mediado a partição do cromo em S0 (EIMERS et al., 2002).

É importante mencionar que a biodisponibilidade de metais está relacionada a diversos fatores, como: característica do contaminante, composição e característica química do sedimento, tempo de adsorção com o metal; temperatura, pH, potencial de redox e

comportamento e características fisiológicas dos organismos (hábito alimentar, comportamento; tamanho do organismos; capacidade de metabolização de compostos, entre outros) (BAUDO et al., 1990). Assim, relacionar a biodisponibilidade e toxicidade do cromo apenas ao conteúdo de MO pode ser uma estimativa irreal.

No presente estudo foi verificada uma  $CL_{50;48h}$  média de  $86,04 \pm 48,71$  mg/L de cromo para *P. reticulata*. Para *D. rerio* a  $CL_{50;48h}$  média é de  $42,33 \pm 15,34$  mg/L (NAKAGOME et al., 2007). Estes valores estão próximos aos encontrados para os sedimentos SIII (70,0 mg/L), no entanto, bem diferentes quanto aos sedimentos S0 (3,5 mg/L).

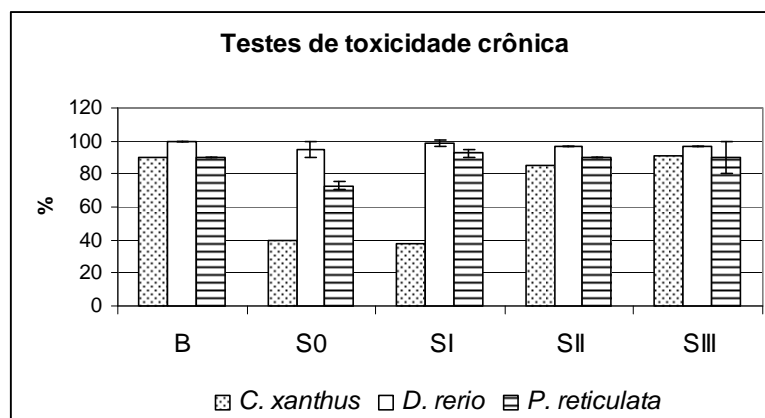
Alguns trabalhos realizaram a padronização da faixa de sensibilidade ao dicromato de potássio para estas espécies, variando-se o tempo de exposição, bem como o estágio de vida dos organismos (BERTOLETTI, 2000; FRACÁCIO, 2001; MELETTI, 1997; TONISSI, 1999). Estes resultados foram variáveis, podendo ser explicados em função de a sensibilidade ser um fator intrínseco a cada organismo, e estar diretamente ligada às características genéticas do indivíduo, resultando em variações na mesma entre laboratórios e até mesmo dentro de uma mesma prole.

Considerando-se a  $CL_{50;96h}$  média para *C. xanthus* (acima de 1440,0 mg/Kg; 340,56 mg/Kg) em SIII e S0, respectivamente, foi possível observar que, em SIII a concentração de cromo na água esteve cerca de 5 a 20 vezes menor. A concentração de cromo biodisponível nos sedimentos esteve cerca de 5 vezes maior em S0, demonstrando a influência de baixas concentrações de MO na biodisponibilidade do cromo, bem como em sua toxicidade. Diante destes resultados, são evidentes as diferenças no comportamento do cromo dentro deste sistema frente às diversas formas de interação dos organismos com o meio (peixes e organismos bentônicos).

Os organismos bentônicos, como as larvas de chironomídeos, apresentam o comportamento de construção de tubos (BIRD, 1995) e, em decorrência de sua alimentação detrital, os metais particulados em sedimentos representam uma rota importante de exposição (MARTINEZ et al. (2003). No trato digestivo dos organismos, estas partículas contendo metais encontram condições físicas e químicas que podem alterar a toxicidade do metal (TESSIER; CAMPBELL, 1998). Além disto, a tomada de metais por organismos bentônicos pode ser resultante da exposição à água intersticial e superficial (LEE et al., 2000).

Já os peixes, interagem com o contaminante diretamente dos compostos dissolvidos na água ou particulados ao alimento, podendo apresentar contato com o sedimento em função do tipo de alimentação. Os peixes da família Poeciliidae e Cyprinidae apresentam alimentação omnívora e, os poecilídeos podendo também se alimentar de detritos (MEFFE; SNELSON JUNIOR, 1989).

As diferenças na sensibilidade dos organismos podem ser um reflexo das diferentes formas de interação com o meio contaminado (BAUDO et al., 1990), sendo esta situação também verificada nos testes de toxicidade crônica. Neste sentido, *C. xanthus* também apresentou maior sensibilidade que os peixes, quando observada a sobrevivência dos organismos. Entre as espécies de peixes, *P. reticulata* foi mais sensível, concordando com os testes de toxicidade aguda (Figura 34).



**Figura 34:** Sobrevivência média e desvio padrão de *C. xanthus*, *D. rerio* e *P. reticulata* nos testes de toxicidade crônica e crônica parcial com sedimentos artificiais contaminados com 37,3 mg/kg de cromo.

A sobrevivência de *C. xanthus* foi mais elevada nos sedimentos com maior conteúdo de MO, com valores significativos em S0 e S1 em relação ao tratamento B. As concentrações de cromo biodisponível e cromo dissolvido na água dos testes nestes sedimentos não apresentaram grandes variações durante os experimentos. Entre os sedimentos com MO, a variação também foi muito pequena, no entanto, S0 apresentou concentrações de cromo dissolvido cerca de 20x mais elevados que nos sedimentos com MO.

Esta observação demonstra a maior mobilização do cromo em S0 e S1, provavelmente decorrentes da menor capacidade de complexação com o metal e maior biodisponibilidade.

Nas repetições dos testes de toxicidade crônica, os resultados das médias de crescimento dos organismos apresentaram diferentes comportamentos. Em S2 e S3, os organismos estiveram maiores em um teste e menores em outro teste, em relação ao B. Quanto a S0, apenas em um teste foram detectados efeitos subletais positivos nos organismos.

Quanto à *D. rerio*, não foi possível verificar efeitos significativos na sobrevivência nem no crescimento dos organismos. No entanto, os estudos histológicos demonstram que foram verificadas alterações nas brânquias dos organismos expostos em todos os

sedimentos, com lesões mais pronunciadas nos organismos expostos em S0 (0,2436 mg/L de cromo na água).

Já para *P. reticulata*, não foi detectado efeito significativo na sobrevivência, no entanto, o peso dos organismos expostos em SIII apresentou diferença significativa em relação ao B.

A análise histológica das brânquias demonstrou efeitos mais severos em *P. reticulata*, uma vez que as lesões foram intensas nos organismos expostos em todos os sedimentos, ou seja, em concentrações de cromo na água que variaram entre 0,0235 e 1,138 mg/L. A análise de cromo permitiu observar concentrações biodisponíveis com um gradiente crescente em direção a SIII e as frações dissolvidas na água apresentaram gradiente decrescente no mesmo sentido, demonstrando a partição do cromo do sedimento para a coluna de água, principalmente em S0.

De fato, a análise de extração seqüencial permitiu confirmar a maior biodisponibilidade de S0. Segundo Alomary e Belhadj (2007) a biodisponibilidade de um elemento diminui com ordem decrescente das fases trocável para residual. Os autores realizaram um estudo com o objetivo de verificar a distribuição de alguns metais nas frações de sedimentos do Mar Mediterrâneo e, verificaram que a maioria dos metais predomina na F5 e as menores porcentagens estão relacionadas à F1 e F2. Quanto ao cromo, foram encontradas porcentagens na seguinte ordem:  $F2 < F1 < F3 < F4 < F5$ , com cerca de 5 % em F1; 5% em F2; 8% em F3; 25% em F4 e 55% em F5. Apesar dos valores serem referentes aos sedimentos marinhos, os resultados são semelhantes aos verificados no presente estudo.

Nossos resultados detectaram a distribuição de cromo na ordem  $F1 < F2 < F3 < F4 < F5$  em S0 e  $F1 < F2 < F4 < F3 < F5$  em SIII. Os valores detectados na F1 (3,66% em S0 e 2,81% em SIII) mostram maior biodisponibilidade em S0. Também foi possível observar que em SIII o cromo ligado a F3 foi de 30,02% enquanto que em S0 este valor foi de 9,78%.

A fração residual é representada pela porção que não é facilmente liberada para o ambiente, uma vez que o metal está ligado a estruturas cristalinas de minerais dos sedimentos (SAVVIDES et al., 1995). Desta forma, as porcentagens de cromo ligadas a esta fração, verificadas no presente estudo (60,06% em S0 e 40,04% em SIII), sugere que na ausência de MO e, portanto, menor quantidade de sítios de ligação para complexação, o cromo se liga aos componentes minerais dos sedimentos em maior proporção. De fato, a fração F3 em SIII foi segunda posição na ordem decrescente acima apresentada, diferente de S0.

Nesse sentido, ressalta-se o estudo de Förstner (1987), que reportou a existência de uma relação tempo-dependência na intensidade de adsorção de compostos e, sugeriu que sítios de adsorção altamente energéticos (menos numerosos) são preenchidos

primeiramente e se tornam limitantes em pouco numerosos, e que toda a energia do sedimento diminui quanto estes sítios menos energéticos forem preenchidos.

De acordo com os resultados acima descritos, é possível verificar que os efeitos subletais no crescimento e na morfologia das brânquias são mais sensíveis para avaliar a toxicidade quando comparados com a sobrevivência. Enquanto os efeitos na sobrevivência foram verificados apenas em *C. xanthus*, os efeitos no crescimento foram verificados em *C. xanthus* e *P. reticulata* e as alterações nas brânquias foram verificadas nas duas espécies de peixes.

A elevada sobrevivência dos peixes pode ser justificada pelas baixas concentrações do metal na água (0,0275 – 1,138 mg/L), uma vez que a CL<sub>50</sub> média (96h; 48h) é de 79,43 e 101,30 mg/L para *D. rerio* e *P. reticulata*, respectivamente (CAMPAGNA, 2005). No entanto, estas mesmas concentrações desencadearam toxicidade quanto ao crescimento e morfologia das brânquias.

Em relação ao crescimento, foram encontradas diferenças significativas apenas em *P. reticulata*. Alguns trabalhos têm demonstrado que o crescimento é mais confiável para avaliar toxicidade de substâncias químicas em concentrações subletais (GORMLEY; TEATHER, 2003; KRISTENSEN, 1994; PICKERING; LAZORCHAC, 1995; NJIWA et al., 2004).

Roling et al. (2006) verificaram que a redução no crescimento de larvas *Fundulus heteroclitus* (peixe estuarino) expostos em concentrações subletais de Cr<sup>6+</sup>, poderia estar relacionada aos efeitos tóxicos verificados em 16 genes envolvidos no metabolismo energético ou crescimento (GLUT-2, L-FABP, sintase ATPase, queratina tipo 8, TBT-ligado a proteína e componente complementar C3-2). Os autores verificaram uma relação dependente da concentração de cromo hexavalente na água.

No presente estudo não foi observada uma relação direta entre os efeitos no crescimento de *P. reticulata* e as concentrações de cromo dissolvido na água, entretanto, não foi avaliada a espécie química do metal. No entanto, os estudos de bioacumulação permitiram verificar esta relação para *P. reticulata*, não sendo identificada para *D. rerio*. Ressalta-se que nos indivíduos de *P. reticulata* foram verificadas concentrações nos tecidos cerca de 200x acima daquelas detectadas em *D. rerio*.

A ausência de relação entre o crescimento dos organismos e as concentrações de cromo na água, bem como as diferenças verificadas na bioacumulação para as espécies de peixes, pode ser explicada pela capacidade dos peixes em excretar altos níveis de metais em relação ao meio contaminado e manter em seu organismo concentrações consideradas normais (LELAND; KUWABARA, 1985).

Apesar das dúvidas quanto à participação do cromo como um elemento essencial, sua capacidade de ligar-se a proteínas de baixo peso molecular é reportada. Além disto, os



peptídeos são utilizados por células para seqüestrar, quelar, bem como eliminar metais tóxicos (STEARNS, 2000). Desta forma, efeitos na sobrevivência, crescimento, morfologia das brânquias, bem como a bioacumulação de metais nos tecidos, irá depender de como os organismos assimilam, metabolizam e excretam estes compostos, bem como das formas de adaptação fenotípica (FLEROV, 1989), variando assim de espécie para espécie.

As alterações nas brânquias de *D. rerio* e *P. reticulata* no presente estudo foram verificadas em diferentes graus, confirmando a toxicidade do cromo em concentrações muito baixas (0,0275 e 1,138 mg/L). O efeito tóxico inicial dos metais em peixes ocorre no bloqueio do transporte do cálcio e sódio nas brânquias (WOOD et al., 1997), o que a caracteriza como órgão de contato primário com poluentes do meio.

O Cr<sup>6+</sup> facilmente penetra em membranas celulares causando danos (IRWIN et al., 1997) nas brânquias, rins, estômago, no plasma e nos hematócritos do sangue (VAN DER PUTTE et al., 1981). Os efeitos podem ser diretos ou indiretos, como foi verificado no estudo de Mishra e Mohanty (2008). Os autores avaliaram a toxicidade do Cr<sup>6+</sup> na reprodução de *Channa punctatus* e verificaram que as alterações nos ovários dos organismos podiam ser decorrentes do efeito citotóxico de forma direta ou sistêmica (fígado) afetando outros órgãos vitais.

Diversos trabalhos verificaram alterações morfológicas nas brânquias causadas por metais (BEGUN et al., 2006, CAMPAGNA et al., 2008; CERQUEIRA; FERNANDES, 2002), sendo estas semelhantes às encontradas no presente estudo.

Svecevicius (2007) avaliou a capacidade *Oncorhynchus mykiss* em evitar águas contaminadas com Cr<sup>6+</sup> e, verificaram que o evitamento ocorria em concentrações seis vezes mais baixas do que aquela permitida pela legislação pertinente na Lituânia (0,01 mg/L).

Neste trabalho, também foram verificadas alterações pronunciadas nas brânquias de organismos expostos em concentrações cerca de duas vezes abaixo da concentração estabelecida pelo CONAMA 357/05 (50,0 µg/L) para proteção da vida aquática. Estes efeitos nas brânquias são mais freqüentes que os efeitos na sobrevivência e crescimento, porque a resposta dos peixes a metais inicia-se por uma irritação sensorial (brânquias) (SVECEVICIUS, 1991) e, posteriormente, alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas aparecem com o aumento do efeito tóxico.

A variabilidade nos resultados observados para o crescimento de *C. xanthus* também podem ser decorrentes das adaptações fisiológicas para eliminar o contaminante, assim como descrito para os peixes. Entretanto, foi possível observar porcentagens de sobrevivência significativas em S0 e S1, onde as concentrações de cromo biodisponível variaram entre 0,88 e 1,425 mg/Kg.

Segundo Bird (1995), os organismos bentônicos, como as larvas de chironomídeos, não necessariamente recebem contribuição significativa de contaminantes solúveis. Para estas espécies com alimentação detrital, os metais particulados em sedimentos representam uma rota mais importante de exposição (MARTINEZ et al., 2003).

No presente estudo, a sobrevivência dos organismos apresentou relação direta com o material orgânico. Por meio da extração seqüencial realizada nos sedimentos, foi possível verificar que em SIII o cromo está ligado a MO cerca de 10x mais que em S0. Assim, é possível considerar que (1) a principal rota de exposição do cromo pode não ter sido alimentar, levando em consideração a afirmação de MARTINEZ et al. (2003); (2) os organismos evitam o “material” contaminado. Também deve ser considerado que, no trato digestivo dos organismos, estas partículas contendo metais encontram condições físicas e químicas que podem alterar a toxicidade do metal (TESSIER; CAMPBELL, 1987).

Haitzer et al (1998), ao avaliarem a influência do tamanho das partículas de matéria orgânica na toxicidade do cobre a *C. elegans*, verificou que em concentrações mais elevadas de MO em sedimentos, a toxicidade do cobre foi reduzida, e o tamanho do corpo dos organismos foi maior, corroborando, em parte, os nossos resultados.

Comparando-se a concentração de cromo nos tecidos de todas as espécies estudadas foi possível verificar que *C. xanthus* e *P. reticulata* apresentaram valores semelhantes e, por sua vez, mais elevados que *D. rerio*. Esta variável salienta as diferenças nas respostas dos organismos frente diferentes formas de exposição e interação com o cromo, bem como as estratégias de metabolização e eliminação do metal, desencadeando diferenças nos resultados de toxicidade crônica. Enquanto *D. rerio* apresentou menor sensibilidade em relação à sobrevivência e crescimento, *P. reticulata* apresentou estratégias menos eficientes para a eliminação do cromo do organismo.

Balasubramanian et al. (1995), ao determinarem as concentrações de cromo, chumbo e zinco em organismos de diferentes níveis tróficos expostos em efluentes de tanques de cultivo de peixes, verificaram que as concentrações de Cr e chumbo eram menores em níveis tróficos mais elevados, sendo estas concentrações não relacionadas com as concentrações dos metais observadas no sedimentos e na água.

No entanto, em estudo realizado por MASUTTI (2004) por meio de mesocosmos contaminados com Cu e Cr em concentrações permitidas pelo CONAMA 20/86, foram detectadas concentrações dos metais nos organismos na seqüência: plâncton  $\approx$  bentos > macrófitas > peixes.

Assim, apesar das baixas concentrações de cromo verificadas nas amostras de água e sedimento dos testes de toxicidade crônica (em relação àquelas permitidas pelo CONAMA 357/05), muitos efeitos puderam ser observados nos organismos bentônicos e nectônicos,

tanto na sobrevivência/crescimento das espécies como na ocorrência de cromo nos tecidos desses organismos.

As concentrações de cromo biodisponível nos sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu estiveram entre 0 e 16,45 mg/Kg durante o período de estudo. A  $CL_{50}$  média de cromo no sedimento para as diferentes espécies esteve acima de 340,56 mg/Kg, ou seja, aparentemente as concentrações encontradas no ambiente não representam riscos à sobrevivência dos organismos. Entretanto, os efeitos subletais em *C. xanthus* (sobrevivência, crescimento) foram detectados entre 0,88 a 1,425 mg/Kg de cromo biodisponível; em *D. rerio* e *P. reticulata* (crescimento e morfologia das brânquias) foram detectados em 0,0275 a 1,138 mg/L de cromo dissolvido na água.

Considerando-se a concentração permitida pelo CCME (2003) de 37,3 mg/Kg de cromo em sedimentos (CCME, 2003) e a permitida resolução CONAMA 357/05 de 50,0 µg/L na água, para a proteção da vida aquática, é possível considerar que os efeitos negativos verificados nos organismos expostos em testes de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimentos naturais da bacia do Alto Jacaré-Guaçu podem ter sido desencadeados pela presença do cromo.

Ressalta-se que a extrapolação dos resultados com sedimentos artificiais em laboratório para os sedimentos naturais apresenta algumas limitações e requer certo cuidado. Os sedimentos artificiais apresentam uma possibilidade de avaliação da toxicidade de poluentes frente a um sistema controlado, buscando-se compreender a partição destes compostos e sua toxicidade aos organismos aquáticos. Neste sistema, apenas os fatores previamente estabelecidos “operam” na toxicidade do poluente que se pretende avaliar. Eles apresentam uma característica simplificada diante dos complexos sedimentos naturais, que por sua vez, apresentam uma gama de ligantes e fatores operando simultaneamente.

Um exemplo é a MO presente nos sedimentos naturais, que pode apresentar diferentes estágios de decomposição (SH, SF, AT e AG) e, conseqüentemente, a formação de sulfetos. Esses diferentes subprodutos interferem na biodisponibilidade de poluentes de forma diversificada. Nos sedimentos artificiais do presente estudo foi utilizada a matéria orgânica detrital biodegradável, ou seja, em estágio inicial de degradação e possivelmente com baixos teores dos subprodutos da do decaimento.

Outros grupos de argila estão presentes nos sedimentos naturais, representando diferentes capacidades de troca catiônica e, portanto, diferentes formas de interação com contaminantes. Fatores físicos, químicos (pH, temperatura, fluxo de água; potencial redox; alcalinidade, salinidade, etc) e biológicos (comportamento e fisiologia dos organismos) atuam simultaneamente nesses sedimentos, tornando-os substratos complexos e dinâmicos quanto à biodisponibilidade de poluentes.

Esses fatores descritos, entre outros, podem ser avaliados por etapas em sedimentos artificiais, no entanto, é impossível reproduzir todas as características em um único substrato. Ressalta-se que nos ecossistemas aquáticos há entradas constantes de substâncias químicas que, dependendo das condições deposicionais, podem atingir os sedimentos em misturas complexas e desencadear efeitos sinérgicos ou antagônicos nos organismos.

Apesar das limitações na extrapolação dos resultados, é possível considerar que os sedimentos artificiais com formulações simples desenvolvidos no presente estudo podem ser considerados adequados e viáveis para serem utilizados em testes de toxicidade, uma vez que (1) as propriedades e características físicas e químicas foram consistentes e bem caracterizadas; (2) adequabilidade como habitat para organismos bentônicos e como sedimento controle para organismos nectônicos; (3) adequabilidade como substrato para testes de toxicidade, uma vez que foram detectados os efeitos letais e subletais do cromo em organismos aquáticos de diferentes níveis tróficos, corroborando outros estudos.

## 6. CONCLUSÕES

Os sedimentos artificiais com formulação simples são adequados para avaliar o comportamento de poluentes, uma vez que apresentaram adequabilidade quanto às características físicas e químicas; quanto ao habitat para organismos bentônicos e sedimento controle para testes de toxicidade para organismos nectônicos e quanto à avaliação da toxicidade do cromo.

A espécie bentônica apresentou maior sensibilidade ao cromo que as espécies nectônicas, sendo estes resultados refletidos na  $CL_{50}$  determinada em testes agudos, e nos efeitos subletais (sobrevivência e crescimento) determinados nos testes de toxicidade crônica.

*P. reticulata* apresentou sensibilidade ao cromo em testes de toxicidade aguda (mortalidade) e crônica (sobrevivência, crescimento e morfologia das brânquias), representando uma espécie que deve ter seu uso intensificado em testes de toxicidade.

A toxicidade aguda do cromo para *C. xanthus*, *D. rerio* e *P. reticulata* é reduzida frente à presença de MO detrital biodegradável, mesmo em baixas concentrações (1%).

Os efeitos subletais do cromo é influenciado por pequenas variações das concentrações de MO (0, 0,25; 0,5 e 1,0%) sendo estes resultados verificados na sobrevivência de *C. xanthus*; no crescimento de *C. xanthus* e *P. reticulata* e na morfologia das brânquias de *D. rerio* e *P. reticulata*.

O acúmulo de cromo nos tecidos dos organismos-teste comprova o potencial de bioacumulação do metal e sugere a adoção de diferentes estratégias para metabolismo e eliminação diante das diferenças genéticas e fenotípicas.

A extração seqüencial foi satisfatória para avaliar a distribuição do cromo nas frações dos sedimentos artificiais e demonstrou que baixa porcentagem de MO (1%) pode influenciar na biodisponibilidade do metal.

Os testes com sedimentos artificiais demonstraram efeitos subletais significativos para *C. xanthus* em concentrações de cromo biodisponíveis que variaram entre 0,8 a 1,425 mg/Kg e para *D. rerio* e *P. reticulata* em concentrações entre 0,0275 e 1,138 mg/L de cromo dissolvido. Comparando-se a TEL estabelecida pelo CCME (2003) (37,3 mg/Kg) e o CONAMA 357/05 (50,0 µg/L) com esses resultados, é possível sugerir que as concentrações estabelecidas podem não ser garantidas para a proteção da vida aquática.

Diante dos efeitos subletais em concentrações muito baixas de cromo (acima descritas) é possível sugerir que os efeitos subletais nos peixes expostos aos sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu podem ser decorrentes das elevadas concentrações de cromo detectadas no ambiente (0 a 16,45 mg/Kg). No entanto, devem-se considerar as limitações implícitas nessa extrapolação.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHNSTROM, Z.S.; PARKER, D.R. Development and assessment of a sequential extraction procedure for fractionation of soil cadmium. *Soil Sci. Soc. Am. Journal*, v. 63, p. 1650-1658, 1999.
- ALOMARY, A.A.; BELHADJ, S. Determination of heavy metals (Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn) by ICP-OES and their speciation in Algerian Mediterranean Sea sediments after a five-stage sequential extraction procedure. *Environm. Monit. Assess.*, v.135, p. 265-280, 2007.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. American Water Work Association; Water Control Federation. *Standad methods for the examination of water and wastewater*. 19 ed. New York, 1995. 1268p.
- ANDERSEN, J.M. Na ignition method for determination of total phosphorous in lake sediments. *Water Res.*, v.10, p. 329-331, 1976.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). *Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – método de ensaio com peixes*. NBR 15088, São Paulo, 19 p. 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). *Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com peixes*. NBR 15499, São Paulo, 21 p. 2007.
- BALASUBRAMANIAN, S., PAPPATHI, R., RAJ, S. P. Bioconcentration of zinc , lead and chromium in serially-connected sewage-feed giff ponds. *Bioresource Technology*, v.51, p.193-197, 1995.
- BAUDO, R., GIESY, J.P.; MUNTAU, H. *Sediments: chemistry and toxicity of in-place pollutants*. Boca Raton, Lewis Publishers, Inc, 1990. 405p.
- BEGUM, G., VENKATESWARA, R.J., SRIKANTH, K. Oxidative stress and changes in locomotor behavior and gill morphology of *Gambusia affinis* exposed to chromium. *Toxicol Environ Chem.*, v.88, p. 355–365, 2006.
- BERTOLETTI, E. (2000). *Estimativa de efeitos tóxicos crônicos com Danio rerio (Pisces, Cyprinidae)*. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 118 p.
- BIRD, G.A., ROSENRETER M.J., SCHWARTZ,W.J. Deformities in the menta of chironomid larvae from the Experimental LakesArea, Ontario. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v.52, p. 2290–2295, 1995.
- BRADY, N.C. *Natureza e propriedades do solo*. 7ed. Livraria Freitas Bastos, São Paulo, 1989, 898p.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. 2005, 23p.
- BROOKS, M.L.; MEYER, J.S.; BOESE, C.J. Toxicity of copper to larval *Pimephales promelas* in the presence of photodegraded natural dissolved organic matter. *Ca. J. Aquat. Sci.*, v.64, p.391-401, 2007.
- BURTON, G.L., MACPHERSON, C. Sediment toxicity testing issue and methods. In: HOFFMAN, D.J., et. al. *Handbook of ecotoxicology*. Boca Raton, Lewis Publishers, 1995. p.70-103.
- CASTRO, B.B.; GUILHERMINO, L. RIBEIRO, R. In situ bioassay chambers and procedures for assessment of sediment toxicity with *Chironomus riparius*. *Environ. Pollution*, v.125, p.325-335, 2003.
- CANADA. Canadian Council Of Ministers of the Environment – CCME. 2003. *Summary of existing Canadian Environmental Quality Guidelines – Summary Table*. Disponível em: [http://www.ccme.ca/assets/pdf/e1\\_062.pdf](http://www.ccme.ca/assets/pdf/e1_062.pdf), acesso em 12 nov. 2004.
- CAMPAGNA, A.F. (2005). *Toxicidade dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho (São Carlos – SP): ênfase nas substâncias cobre, aldrin e heptacloro*. 2005. 268p. Dissertação (Mestrado)

- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

CAMPAGNA, A.F. et al. Analyses of the sediment toxicity os Monjolinho river, São Carlos, São Paulo State, Brazil, using survey, growth and gill morphology of two fish species (*Danio rerio* and *Poecilia reticulata*). Braz. Arch. Biol. Technol., v.51, n.1, p. 193-201, 2008.

CAMPAGNA, A.F. et al. The toxic potential of aldrin and heptachlor on *Danio rerio* juveniles (Cypriniformes, Cyprinidae). Ecotoxicology, v.16, p. 289-298, 2007.

CAMPAGNA, A.F. et al. Effects of the copper in the survival, growth and gill morphology of *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae). Acta Limnol. Bras., v. 20, n.3, p.253-259, 2008b.

CERQUEIRA, C. C.C., FERNANDES, M. N. Gill tissue recovery copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. Ecotixol. Environm. Saf., v.52, p. 83-91, 2002.

CEURDASSIER, M., VAUFLEURY, A. G. DE., BADOT, P. M. Dose-dependent growth inhibition and bioaccumulation of hexavalent chromium in land snail helix *Aspersa aspersa*. Environ. Toxicol. Chem., v.19, p.2571-2578, 2000.

CLÉMENT, B., CADIER, C. Development of a new laboratory/sediment microcosm test. Ecotoxicology, v.7, p.279-280, 1998.

CHOI, J., ROCHE, H. Effect of potassiumdichromate and fenitrothion on hemoglobins of *Chironomus riparius* MG. (Diptera, Chironomidae) larvae: potential biomarker of environmental monitoring. Environ. Monit. Assess., v.92, p.229-239, 2004.

CUNHA, M.B.; BIANCHINI JUNIOR, I. Mineralização aeróbia de *Cabomba piauhyensis* e *Scirpus cubensis*. Acta Limnológica Brasiliensia, v.10, n.1, p. 81-91, 1998.

CUNHA, M.B.; BIANCHINI JUNIOR, I. Formação de compostos húmicos a partir da degradação de *Scirpus cubensis* e *Cabomba piauhyensis*. Acta Limnol. Bras., v. 13, n.2, p. 35-43, 2001.

DAVE, G. et al. Ring test of an embryo-larval toxicity test with zebrafish (*Brachydanio rerio*) using chromium and zinc as toxicants. Environ. Toxicol. Chem., v.6, p.61-71, 1987.

DE LAUNE, R. D., PATRICK, W. H.; GUO, T. The redox-ph chemistry of chromium in water and sediment. In: ALLEN, H. E., GARRISON, A. W., LUTHER, G. W. *Metals in Surface Waters*. Chelsea, Ann Arbor, MI, USA, 1998. p. 241-255.

DOIG, L.E., LIBER, K., 2006. Nickel partitioning in formulated and natural freshwater sediments. Chemosphere, v.62, p.968-979, 2006.

DORNFELD, C. B. Utilização de análises limnológicas e bioensaios ecotoxicológicos em macroinvertebrados bentônicos para o diagnóstico ambiental do reservatório de Salto Grande (Americana – SP). 2002. 196p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

EDWARDS, P. A., SIMKISS, K. Dietary Influences on the Bioaccumulation of Pollutants by the Annelid, *Lumbriculus variegatus*: Experiments Comparing Artificial Particles and Natural Sediments. Bull. Environ. Contam. Toxicol. v.74, p.328-334, 2005.

EGELER, P. et al. *Tubifex tubifex* as a link in food chain transfer of hexachlorobenzene from contaminated sediment to fish. Hydrobiologia, v.463, p.171-184, 2001.

EIMERS, M.C.; EVANS, R.D.; WELBOURN, P.M. Partitioning and bioaccumulation of cadmium in artificial sediment systems: application of a stable isotope tracer technique. Chemosphere, v. 46, p. 543-551, 2002.

ENVIRONMENT CANADA. Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life. Disponível em: [www.ec.gc.ca](http://www.ec.gc.ca). Acessado em janeiro de 2008.

ESTADOS UNIDOS. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Quality criteria for water. Washington, DC, 1995.

ESTADOS UNIDOS. Environment Protection Agency. Method 3052: microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. Washington, 1996. 1 CD-ROM.

STEVENS, D.G.; CHAPMAN, G.A. Toxicity of trivalent chromium to early life stages of steelhead trout. Environm. Toxicol. Chem., v.3, p.125-133, 1984.

EWALD, G. Chronic measures of toxicant - induced effects on fish. Ann Zool. Fenici, v.32, p.311-316, 1995.

FEILER, U., KIRCHESCH, I., HEININGER, P. A new plant-based bioassay for aquatic sediments. J. Soils Sed., v.4, p.261-266, 2004.

FLEROV, B. A. Ecological and physiological aspects of toxicology in fresh-water animals (in Russian). Nauka, Leningrad, 1989.

FONSECA, A.L. Avaliação da qualidade da água do rio Piracicaba/SP através de testes de toxicidade com invertebrados. 1997. 211p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

FÖRSTNER, U. Sediment-associated contaminants – an overview of scientific bases for developing remedial options. Hydrobiologia, v.149, p.221–246, 1987.

FRACÁCIO, R. Utilização de bioensaios ecotoxicológicos com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae) e análises limnológicas para a avaliação ambiental dos reservatórios do médio e baixo Tietê (SP). 2001. 233p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

FRACÁCIO, R. et al. Avaliação da toxicidade do endossulfan sulfato sobre juvenis de *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae). J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v.3, n.1, p. 15-21, 2008.

FRACÁCIO, R. et al. In situ and laboratory evaluation of toxicity with *Danio rerio* Buchanan (1822) and *Poecilia reticulata* Peters (1859). Acta Limnol. Bras., v. 21, n.1, p. 111-122, 2009.

GOLTERMAN, H.L.; CLYMO, R.S.; OHNSTAD, M.A.M. Methods of physical and chemical analysis of freshwater. 2.ed., Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1978. 213p.

GORMLEY, K. L., THEATHER, K. L. Developmental, behavioral and reproductive effects experienced by *Japanese medaka* (*Oryzias latipes*) in response to short-term exposure to endossulfan. Ecotoxicol. Environ. Saf., v.54, p.330-338, 2003.

GRIM, R. E. Clay Mineral. McGraw-Hill Book Company, New York, 1953, 84p.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.U. Trimmed Sperman-Karber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. Environ. Sci. Technol., v.11, n.7, p.714-719, 1977. [Correction, v.12, n.4, p.417, 1978].

HAITZER, M., HÖSS, S., TRAUNSPURGER, W., STEINBERG, C. Effects of dissolved organic matter (dom) on the bioconcentration of organic chemicals in aquatic organisms –A review. Chemosphere, v.37, n.7, p.1335-1362, 1998.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acessada em outubro de 2003.

IRWIN, R. J. et al. Chromium VI (Hexavalent chromium). Environmental contaminants encyclopedia. National Park Service, Water Resources Division, Fort Collins, Colorado, 1997.



- JANSSENS de BISTHOVEN, L. et al. Sub lethal parameters in morphologically deformed hironomus larvae: clue to understanding their bioindicator value. *Freshwater Bio.*, v.39, p. 179–191, 1998.
- JOP, K. M. et al. Comparative toxicity and speciation of two hexavalent chromium salts in acute toxicity tests. *Environ. Toxicol. Chem.*, v.6, p.697-703, 1987.
- KEMBLE, N. E., DWYER, F. J., INGERSOLL, C. G., DAWSON, T. D., NORBERG-KING, T. Tolerance of freshwater test organisms to formulated sediments for use as control materials in whole-sediment toxicity tests. *Environ. Toxicol. Chem.*, v.2, p.222-230, 1999.
- KOLOREFF, K. Determination of nutrients. In: GRASSOHOFF, K. *Methods of seawater analysis*. Verlag. Chemie. Weinheim. 1976. p.117-181.
- KRISTENSEN, P. Sensitivity of embryos and larvae in relation to other stages in the life cycle of fish: a literature review. IN: MÜLLER, R.; LLOYD, R. (Eds). *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. United Nation, fishing News Books. 1994. p. 155-174.
- KUHLMANN, M. L., HAYASHIDA, C. Y., ARAÚJO, R. P. A. Using *Chironomus* (Chironomidae: Diptera) mentum deformities in environmental assessment. *Acta Limnol. Brasil.*, v.12, p.55-61, 2000.
- LACEY R.; WATZIN M. C.; MCINTOSH A. W. Sediment organic matter content as a confounding factor in toxicity tests with *Chironomus tentans*. *Environm. Toxicol. Chem.*, v.18, n.2, p. 231-236, 1999.
- LEE, B.G. et al. Influence of acid volatile sulfide and metal concentrations on metal bioavailability to marine invertebrates in contaminated sediments. *Environ. Sci. Technol.*, v.34, p. 4517–4523, 2000.
- LELAND, H.V., KUWABARA, J.S. Trace metals. In: RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. *Fundamentals of aquatic toxicology*. Hemi- sphere Publishing Corporation, New York, NY, 1985, p 374–415.
- LEMES, M.J.L. Avaliação de metais e elementos-traço em águas e sedimentos das bacias hidrográficas dos rios Mogi-Guaçu e Pardo, São Paulo., 2001, 215p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, 2001.
- LEMOS, R.M.A. Ensaio de decomposição de *Nephrocitium lunatum* e de *Scirpus cubensis* da lagoa Infernã (SP). Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1995.
- LOMBARDI, A.T.; HIDALGO, M.R.; VIEIRA, A.H. Copper complexing properties of dissolved organic materials exuded by the freshwater microalgae *Scenedesmus acuminatus* (Chlorophyceae). *Chemosphere*, v.60, n.4, p.453-459, 2005.
- MACKERETH, S.J.H.; HERON, J.; TALLING, H.S. Water analysis some revised methods for limnology. Kendal Freshwater Biol. Assoc. Sci. Publ. 36, Wilson and Sons, 1978, 117p.
- MADDEN, C.P., AUSTIN, A.D., SUTER, P.J., 1995. Pollution monitoring using chironomid larvae: what is a deformity. In: CRANSTON, P. *Chironomids: from Genes to Ecosystems*. CSIRO Publisher, East Melbourne, Australia, 1995, p.89–100.
- MASUTTI, M.B. Distribuição e efeitos de cromo e cobre em ecossistemas aquáticos: uma análise laboratorial e “*in situ*” (Experimentos em micro e mesocosmos). 2004. 286p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.
- MELETTI, P.C. Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade aguda com peixes. 1997. 148p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997
- MARTINEZ, E.A. et al. Induction of morphological deformities in *Chironomus tentans* exposed to zinc and lead spiked sediments. *Environ. Toxicol. Chem.*, v.20, p. 2475–2481, 2001.

- MARTINEZ, E.A., et al. The potential association between menta deformities and trace elements in Chironomidae (Diptera) taken from a heavy metal contaminated river. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, v.42, p. 286–291, 2002.
- MARTINEZ, E.A. et al. Morphological abnormalities in *Chironomus tentans* exposed to cadmium—and copper-spiked sediments. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.55, p.204-212, 2003.
- MEFFE, G.K.; SNELSON JUNIOR, F.F. Ecology and Evolution of livebearing fishes (Poeciliidae). New Jersey, Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1989, 452p.
- MEREGALLI, G., PLUYMERS, L., OLLEVIER, F., 2001. Induction of mouthpart deformities in *Chironomus riparius* larvae exposed to 4-n-nonylphenol. *Environ. Pollut.*, v.111, p. 241–246, 2001.
- MEYER J.S.; BOESE, C.J., COLLYARD, S.A. Whole-body accumulation of copper predicts acute toxicity to an aquatic oligochaete (*Lumbriculus variegatus*) as pH and calcium are varied. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, v.133, p.99-109, 2002.
- MISHRA, A. K., MOHANTY, B. Histopathological effects of hexavalent chromium in the ovary of a fresh water fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, v.80, p. 507-511, 2008.
- NAKAGOME, F.K.; NOLDIN, J.A.; RESGALLA JUNIOR, C. Toxicidade aguda de alguns herbicidas e inseticidas utilizados em lavouras de arroz irrigado sobre o peixe *Danio rerio*. *Pesticidas: R. Ecologia e Meio Ambiente*, v.17, p. 117-122, 2007.
- NAKAYAMA, E.; KUWAMOTO, T.; FUJINAGA, T. Dissolved state of chromium in seawater. *Nature*, v.290, p.768-770, 1981.
- NAKAYASU, K. et al. Comparative studies of the reduction behavior of chromium by humic substances and their precursors. *Environ. Toxicol. Chem.*, v. 18, n.6, p. 1085-1090, 1999.
- NAYLOR, C., RODRIGUES, C. Development of a test method for *Chironomus riparius* using a formulated sediment. *Chemosphere*, v.31, n.5, p.3291-3303, 1995.
- NIJWA, J. R. K., MÜLLER, P., KLEIN, R. Life cycle stages and length of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to DDT. *J. Health Res.*, v.50, p. 220-225, 2004.
- NOGUEIRA, F.M.B. Importância das macrófitas aquáticas *Eichornia azurea* Kunth e *Scirpus cubensis* Poepp & Kunth na ciclagem de nutrientes e nas principais características limnológicas da Lagora do Infernã (SP). 1989. 147p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1989.
- NORTHCOTT, G.L.; JONES, K.C. Spiking hydrophobic organic compounds into soil and sediment: a review and critique of adopted procedures. *Environm. Toxicol. Chem.*, v.19, p.2418-2430, 2000.
- ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). OECD Guidelines for testing of chemicals (218), 2004, 21p.
- PAMPLIM, P.A.Z. Avaliação da qualidade ambiental da represa de Americana (SP - Barsil) com ênfase no estudo da comunidade de macroinvertebrados bentônicos e parâmetros ecotoxicológicos. 1999. 88p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.
- PICKERING, Q. H., LAZORCHAK, J. M. Evaluation of the robustness of the fathead minnow, *Pimephales promelas*, larval survival and growth test. USEPA Method 1000.0. *Environm. Toxicol. Chem.*, v.14, n.4, p.653-659, 1995.
- POLEKSIC, V., MITROVIC-TUTUNDIZIC, V. Fish gills as monitor of sublethal and chronic effects of pollution. IN: MULLER, R., LLOYD, R. *Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish*. United Nation, Fishing News Books, 1994. p.339 - 352.
- RIBEIRO, R. et al. New artificial sediment for *Chironomus riparius* toxicity testing. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, v.63, p.691-697, 1999.

- ROLING, J. A. et al. Hexavalent chromium reduces larval growth and alters gene expression in mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Environ. Toxicol. Chem.*, v.25, n.10, p. 2725-2733, 2006.
- ROMAN, Y. E. et al. Chronic toxicity of copper to five benthic invertebrates in laboratory-formulated sediment: Sensitivity comparison and preliminary risk assessment. *Sci. of the Total Environm.*, v.387, p.128-140, 2007.
- SALOMONS, W. ROOIJ, N.M. de, KERDIJK, H., BRIL, J. Sediments as a source for contaminants? *Hydrobiol.*, v.149, p. 13-30. 1987.
- SÃO PAULO. Secretaria Estadual do Meio Ambiente (SEMA). Avaliação da toxicidade para peixes (D.3). In: *Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos*. Brasília, 1988. 10 p.
- SAVVIDES, C. et al. Sea sediments contaminated with heavy metals: Metal speciation and removal. *Water Science and Technology*, v. 32, p. 65–73, 1995.
- SEDNET. European Sediment Research Network, Disponível em: [www.sednet.org](http://www.sednet.org). Acessada em dezembro de 2003.
- SHWERTMANN, U. Die Fraktionierte extraction der freien eisenoxyde in boden, ihre mineralogischen formen und ihre entstehungsweisen. *Zeitung Pflanzenernähr Düng*, v.84, p.194-204, 1959.
- SILVA, C. S. DA, PEDROZO, M.F.M., 2001. Ecotoxicologia do cromo e seus compostos, Caderno de referência ambiental v.5, CRA, Bahia, Brasil, 100p.
- SILVEIRA, M.L.A. et al. Heavy metal sequential extraction methods. A modification for tropical soils. *Chemosphere*, Oxford, v. 64, p. 1929-1938, 2006.
- SILVÉRIO, P.F. Partição, biodisponibilidade e toxicidade de metais pesados a organismos bentônicos em sedimentos. 1999. 78p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1999.
- SILVÉRIO, P. Bases técnico-científicas para derivação de valores-guia de qualidade de sedimentos para metais: Experimentos de campo e laboratório. 2003. 145p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
- SKOGERBOE, R.K.; WILSON, S.A. Reduction of ionic species by fulvic acid. *Anal. Chem.*, v.53, p.228-232, 1981.
- STEARNS, D. M. Is chromium a trace essential metal? *BioFactors*, v.11, p.149-162, 2000.
- STUMM, W; MORGAN, J.J. Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters,. 3ed. John Wiley & Sons, Inc, New York, USA, 1996.780p.
- SUEDEL, B.C., RODGERS, J. H. Development of formulated reference sediments for freshwater and estuarine sediment testing. *Environ. Toxicol. Chem.*, v.13, p.1163-1175, 1994.
- SVECEVICIUS, G. The role of olfaction in avoidance reactions to pollutants by vimba *Vimba vimba* (L.). *Ekologija*, v.4, p.3-8, 1991.
- SVECEVICIUS, G. Acute toxicity of hexavalent chromium to european freshwater fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v.77, p.741-747, 2006.
- SVECEVICIUS, G. Avoidance response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to hexavalent chromium solutions. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, v.79, p.596-600, 2007.
- TESSIER, A.; CAMPBELL, P.G.C; BISSON, M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, v.51, p.844-851, 1979.

TONISSI, F.B Avaliação ecotoxicológica do reservatório de Salto Grande, Americana (SP), como subsídio para a análise da qualidade ambiental do sistema. 1999. 130p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.

TRINDADE, M. Nutrientes em sedimentos da represa do Lobo (Brotas - Itirapina). 1980. 129p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1980.

VAN DER PUTTE, I., BRINKHORST, M. A., KOEMAN, J. H. Effect of pH on the acute toxicity of hexavalent chromium to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquat. Toxicol., v.1, p.129-412, 1981.

VEDAMANIKAM, V.J., SHAZILLI, N. A. M., 2008. Comparative toxicity of nine metals to two malaysian aquatic dipterian larvae with reference to temperature variation. Bull. Environ. Contam. Toxicol., v.80, p.516-520, 2008.

VERMULEN, A.C. et al. 2000. Exposure of *Chironomus riparius* larvae (Diptera) to lead, mercury and b-sitosterol: effects on mouthpart deformation and moulting. Chemosphere 41, 1581–1591.

VERRHIEST, G.J. et al. Chemical and bacterial changes during laboratory conditioning of formulated and natural sediments. Chemosphere, v. 46, p.961-974, 2002.

VILLAESCUSA, I. et al. Chromium (VI) toxicity to luminescent bacteria. Environ. Toxicol. Chem., v.16, p.871-874, 1997.

WANG, F., TESSIER, A., HARE, L. Oxygen measurements in the burrows of freshwater insects. Freshw. Biol., v.46, p.317–327, 2001.

WITTBRODT, P.R.; PALMER, C.D. Reduction of Cr (VI) in the presence of excess soil fulvic acid. Environm. Sci. Technol., v.29, p. 255-263, 1995.

WOOD, C. M. et al. 1997. Environmental toxicology of metals. In: BERGMAN, H. L., DOWARD-KING, E. J. *Reassessment of metals criteria for aquatic life protection*. Pensacola (FL) Society for Environmental Toxicology and Conservation, 1997, p. 13–30.

## Capítulo 5

### *Considerações finais e Recomendações*

---

#### **1. CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES**

Os peixes constituem indicadores muito úteis na avaliação da contaminação ambiental, uma vez que refletem os produtos finais de um sistema complexo formado pelas características físicas e químicas do meio aquático, as plantas e os invertebrados (BRANCO, 1983). De acordo com Turing “nenhum rio pode ser considerado em condições satisfatórias se neles não viverem nem proliferarem peixes” (BRANCO, 1983). Nesse sentido, é importante enfatizar que não basta o peixe adulto não ser afetado fisiologicamente pelo agente poluidor, é preciso também que o ambiente aquático tenha condições de alimentá-lo, proteger seus ovos e alimentar suas larvas e alevinos.

Os peixes têm sido amplamente utilizados para avaliar a qualidade de ecossistemas aquáticos, seja por meio de testes de toxicidade com amostras ambientais e efluentes, utilizando-se organismos-teste padronizados por normas nacionais ou internacionais (ABNT, 2004; ABNT, 2007; UNITED STATES ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY, 1993) ou como bioindicadores da presença de contaminantes no ambiente, por meio da análise de compostos tóxicos em tecidos de indivíduos coletados do próprio ambiente que se pretende avaliar.

No entanto, apenas os resultados de testes de toxicidade não são suficientes para uma avaliação de risco ecológico e da qualidade ambiental. Uma análise complementar de diferentes parâmetros, cujos resultados se convergem e complementam-se é de fundamental importância para uma avaliação integrada.

Nesse sentido, os resultados do presente estudo permitiram observar que as análises físicas e químicas da água e do sedimento da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu auxiliaram na interpretação da toxicidade em peixes expostos nos testes em laboratório, contribuindo para uma melhor avaliação da qualidade do sistema. Em determinados momentos não foi possível afirmar que a toxicidade tivesse ocorrido em função de determinada substância, uma vez que uma quantidade muito maior de compostos encontrados em ecossistemas aquáticos não foi avaliada no presente estudo, como: agrotóxicos, hidrocarbonetos aromáticos, outros tipos de metais.

Todavia, utilizando-se dos dados que dispomos no presente estudo, foi possível caracterizar a bacia do Alto Jacaré-Guaçu como impactada pelas diferentes formas de intervenção antrópica, cujo resultado foi verificado nas elevadas concentrações de metais em amostras de água, principalmente de Cr e Cd que estiveram acima das concentrações

estabelecidas pelo CONAMA 357/05 em alguns pontos de coleta em determinados períodos de amostragem.

Quanto ao sedimento, apesar da análise de metais não demonstrar concentrações suficientemente altas para causar efeitos diversos à biota (CCME, 2003), foi observada toxicidade em todos os pontos de coleta em determinados períodos de amostragem. A análise estatística multivariada demonstrou a influência de Cr e Cd nos sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, que podem ter contribuído para toxicidade observada.

Durante o presente estudo foi construída uma Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) em São Carlos que entrou em operação após o término do período de coletas (no segundo semestre de 2008). Esta mudança de cenário possivelmente irá mitigar e reduzir os impactos decorrentes dos despejos de esgotos domésticos, que até o momento eram lançados *in natura* no rio Monjolinho.

Diante da dificuldade em estabelecer uma relação causa-efeito de poluentes nos sedimentos naturais, no presente estudo optou-se por realizar experimentos em laboratório com sedimentos artificiais para avaliar a toxicidade de um dos metais discriminado com grande influência em amostras de sedimentos naturais da bacia em estudo: o CROMO.

Os sedimentos artificiais desenvolvidos para os estudos de fortificação com cromo apresentaram adequabilidade como habitat e como substrato para testes de toxicidade, uma vez que os efeitos agudos e crônicos foram detectados nos organismos-teste de diferentes níveis tróficos: *C. xanthus*, *D. rerio* e *P. reticulata*. Apesar da adequabilidade em relação às características físicas e químicas dos sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, a extrapolação dos resultados para sedimentos naturais é limitada, principalmente, em decorrência da dinâmica e complexidade dos mesmos.

Os testes de toxicidade aguda demonstraram maior sensibilidade de *C. xanthus* em relação aos peixes, com valores de CL<sub>50</sub> (96h) cerca de quatro vezes menor num período de exposição duas vezes mais elevado. Quanto aos peixes, *P. reticulata* demonstrou maior sensibilidade que *D. rerio*, concordando com os resultados verificados em testes de toxicidade com sedimentos naturais. Os valores de CL<sub>50</sub> obtidos em testes de toxicidade aguda para todas as espécies foram mais elevados que as concentrações observadas nos sedimentos da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu e também mais elevados que a TEL (37,3 mg/Kg) estabelecida para proteção da vida aquática pelo CCME (2003). No entanto, os efeitos subletais foram detectados em concentrações muito mais baixas.

Apesar do grau de dificuldade e das limitações em se comparar a toxicidade verificada em laboratório com os sedimentos naturais, bem como com a concentração-limite estabelecida pelo CCME (2003), os resultados da toxicidade do cromo verificados no presente estudo sugerem a intensificação da pesquisa neste sentido, visando obter

informações diante de outros cenários de exposição e, posteriormente, contribuir com a elaboração de valores-guia para um critério de qualidade de sedimentos nacional.

Recomenda-se a realização de testes de toxicidade com os sedimentos artificiais utilizando outras espécies (bentônicas, planctônicas, nectônicas) e avaliando-se outros parâmetros, como: aspectos fisiológicos e bioquímicos; morfologia de outros tecidos em peixes, como fígado, rins, gônadas; emergência e evitamento de organismos bentônicos; bioacumulação em diferentes tecidos, por meio de testes de toxicidade com maior tempo de exposição; cinética de absorção e eliminação, entre outros.

Os sedimentos artificiais desenvolvidos no presente estudo também devem ser fortificados com outros poluentes (metálicos ou orgânicos), em diferentes cenários de exposição: (1) utilizando-se diferentes fontes de matéria orgânica; (2) diferentes estágios de degradação da matéria orgânica (substâncias húmicas, fúlvicas, ácidos tânico e gálico); (3) variando-se valores de pH; dureza; intensidade de luz; temperatura; (3) adotando-se o sistema semi-estático e fluxo contínuo; (4) variando-se o tipo de argila. Além disto, também devem ser avaliadas as espécies químicas do cromo e de outros metais que se presente avaliar.

Finalmente, recomenda-se a utilização dos sedimentos artificiais com formulação simples na avaliação da toxicidade de diferentes compostos, considerando-se a facilidade na obtenção das frações e no preparo, bem como a rapidez na obtenção de dados. Estas avaliações devem ser realizadas considerando-se diferentes variáveis biológicas paralelamente (sobrevivência, crescimento, morfologia de mento e de brânquias, emergência; acúmulo em tecidos), visando-se obter informações complementares e, portanto, mais confiáveis.

## 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRANCO, S.M. Poluição: A morte de nossos rios. CETESB – São Paulo, 1983, p.90-95.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – método de ensaio com peixes. NBR 15088, São Paulo, 19 p. 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com peixes. NBR 15499, São Paulo, 21 p. 2007.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. 2005, 23p.
- CANADA. Canadian Council Of Ministers of the Environment – CCME. 2003. *Summary of existing Canadian Environmental Quality Guidelines – Summary Table*. Disponível em: [http://www.ccme.ca/assets/pdf/e1\\_062.pdf](http://www.ccme.ca/assets/pdf/e1_062.pdf), acesso em 12 nov. 2004.

ESTADOS UNIDOS. United States Environment Protection Agency (USEPA). Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. 4 ed. EPA/600/4-90-027F, Washington, District of Columbia, USA, 1993.



**ANEXO 1:** Média e desvio padrão referentes ao comprimento padrão e peso fresco dos organismos da espécie *D. rerio* expostos em amostras de sedimento da bacia do Alto Jacaré-Guaçu.

Espécie →	<i>Danio rerio</i>							
	Peso Fresco (g)							
	Abril/2007		Julho/2007		Outubro/2007		Janeiro/2008	
Valores da média e desvio padrão →	$\chi$	DP	$\chi$	DP	$\chi$	DP	$\chi$	DP
Controle	0,0334	0,0121	0,0816	0,0251	0,0753	0,0888	0,0161	0,0094
J1	0,0438	0,0253	0,0593	0,0332	0,0675	0,0340	0,0133	0,0040
J2	0,0268	0,0126	0,0683	0,0270	0,0608	0,0244	0,0166	0,0123
J3	0,0340	0,0154	0,0675	0,0306	0,0642	0,0228	0,0136	0,0094
J4	0,0321	0,0142	0,0628	0,0265	0,0560	0,0292	0,0169	0,0127
J5	0,0442	0,0288	0,0628	0,0206	0,0656	0,0297	0,0126	0,0063
F1	0,0669	0,0435	0,0841	0,0641	0,0693	0,0377	0,0137	0,0113
F3	0,0444	0,0215	0,0590	0,0225	0,0581	0,0161	0,0133	0,0073
F4	0,0344	0,0118	0,0702	0,0326	0,0695	0,0344	0,0137	0,0094
M1	0,0312	0,0127	0,0635	0,0309	0,0731	0,0281	0,0139	0,0092
M2	0,0344	0,0134	0,0749	0,0250	0,0698	0,0393	0,0191	0,0200
M3	0,0378	0,0172	0,0799	0,0302	0,0601	0,0209	0,0167	0,0096
L	0,0334	0,0148	0,0767	0,0324	0,0648	0,0353	0,0151	0,0050
I	0,0274	0,0117	0,0812	0,0296	0,0650	0,0306	0,0139	0,0053

Espécie →	<i>Danio rerio</i>							
	Comprimento Padrão (cm)							
	Abril/2007		Julho/2007		Outubro/2007		Janeiro/2008	
Valores da média e desvio padrão →	$\chi$	DP	$\chi$	DP	$\chi$	DP	$\chi$	DP
Controle	1,40	0,14	1,72	0,17	1,53	0,23	1,02	0,15
J1	1,46	0,19	1,53	0,22	1,57	0,22	1,00	0,07
J2	1,33	0,12	1,64	0,23	1,53	0,15	1,05	0,19
J3	1,39	0,11	1,61	0,23	1,55	0,17	0,99	0,13
J4	1,37	0,14	1,61	0,18	1,46	0,21	1,03	0,14
J5	1,50	0,21	1,55	0,14	1,56	0,20	0,95	0,11
F1	1,59	0,29	1,66	0,19	1,60	0,20	0,98	0,11
F3	1,41	0,17	1,55	0,20	1,52	0,13	0,97	0,14
F4	1,40	0,10	1,61	0,23	1,57	0,21	0,96	0,13
M1	1,37	0,10	1,54	0,25	1,59	0,18	0,96	0,14
M2	1,38	0,11	1,65	0,17	1,56	0,25	1,02	0,14
M3	1,44	0,14	1,68	0,17	1,54	0,14	1,01	0,15
L	1,40	0,11	1,64	0,22	1,57	0,24	0,97	0,08
I	1,33	0,14	1,72	0,18	1,54	0,25	1,00	0,10

\*  $\chi$  – Média; DP – Desvio padrão.

**ANEXO 2:** Média e desvio padrão referentes ao comprimento padrão e peso fresco dos organismos da espécie *P. reticulata* expostos em amostras de sedimento da bacia do Alto Jacaré-Guaçu.

Espécie →	<i>Poecilia reticulata</i>							
	Peso Fresco (g)							
Variável analisada →								
Períodos de coleta →	Abril/2007		Julho/2007		Outubro/2007		Janeiro/2008	
Valores da média e desvio padrão →	$\chi$	DP	$\chi$	DP	$\chi$	DP	$\chi$	DP
Controle	0,0978	0,0631	0,0987	0,0378	0,0135	0,0089	0,0808	0,0639
J1	0,0942	0,0298	0,1009	0,0182	0,0199	0,0146	0,0733	0,0485
J2	0,1135	0,0554	0,0737	0,0114	0,0162	0,0123	0,0741	0,0354
J3	0,0905	0,0404	0,1797	0,0182	0,0157	0,0168	0,0817	0,0350
J4	0,1052	0,0479	0,1125	0,0746	0,0138	0,0119	0,0759	0,0499
J5	0,0931	0,0308	0,1468	0,0510	0,0090	0,0061	0,0726	0,0355
F1	0,0734	0,0375	0,0954	0,0401	0,0104	0,0067	0,0863	0,0593
F3	0,0823	0,0385	NA	NA	0,0168	0,0132	0,0885	0,0466
F4	0,1427	0,0580	0,1404	0,0426	0,0090	0,0071	0,1064	0,0489
M1	0,0927	0,0647	0,1507	0,0810	0,0107	0,0051	0,0825	0,0337
M2	0,1088	0,0492	0,1629	0,0809	0,0135	0,0122	0,0918	0,0461
M3	0,1059	0,0468	0,1042	0,0445	0,0129	0,0141	0,0947	0,0496
L	0,0678	0,0312	0,0964	0,0225	0,0111	0,0082	0,0914	0,0380
I	0,0938	0,0459	NA	NA	0,0102	0,0092	0,0842	0,0536

Espécie →	<i>Poecilia reticulata</i>							
	Comprimento Padrão (cm)							
Variável analisada →								
Períodos de coleta →	Abril/2007		Julho/2007		Outubro/2007		Janeiro/2008	
Valores da média e desvio padrão →	$\chi$	DP	$\chi$	DP	$\chi$	DP	$\chi$	DP
Controle	1,59	0,18	1,65	0,20	0,86	0,20	1,45	0,25
J1	1,65	0,18	1,76	0,13	0,95	0,21	1,44	0,27
J2	1,70	0,28	1,56	0,10	0,90	0,21	1,46	0,20
J3	1,66	0,27	1,95	0,11	0,84	0,21	1,51	0,21
J4	1,70	0,28	1,70	0,33	0,83	0,20	1,42	0,25
J5	1,65	0,16	1,92	0,23	0,76	0,14	1,44	0,21
F1	1,47	0,24	1,68	0,30	0,79	0,17	1,52	0,27
F3	1,50	0,22	NA	NA	0,89	0,19	1,51	0,28
F4	1,80	0,26	1,91	0,22	0,81	0,15	1,62	0,24
M1	1,55	0,34	1,96	0,41	0,81	0,13	1,47	0,15
M2	1,67	0,22	1,91	0,26	0,83	0,19	1,53	0,26
M3	1,68	0,24	1,67	0,20	0,81	0,17	1,56	0,27
L	1,48	0,22	1,72	0,09	0,81	0,16	1,52	0,20
I	1,65	0,27	NA	NA	0,81	0,17	1,50	0,30

\* NA – não analisado;  $\chi$  – Média; DP – Desvio padrão.

**ANEXO 3:** Certificado de análise da areia quartzosa industrial AG-0410, utilizada na formulação dos sedimentos artificiais, fornecido pela mineração Jundu Ltda.

Mineração Jundu Ltda.

RO00300  
Controle Qualidade

### Especificação de Expedição - Padrão

Página 1

12/03/2010 12:16

<b>Número 820</b>	<b>Revisão: 1</b>
<b>Produto :</b> AG - 0410 CONT.	Areia Quartzosa Industrial AG - 0410 Cont.
<b>Unidade Produtora :</b> 22	AnaLândia


Elemento	Mínimo	Máximo	Típico	Unidade	Controle
# 18	0.0	20.0	18.1	%	Especificado
# 20	18.0	30.0	24.1	%	Orientativo
# 30	20.0	35.0	27.7	%	Orientativo
# 40	20.0	30.0	25.0	%	Orientativo
# 50	0.0	10.0	3.6	%	Orientativo
# 70	0.0	2.0	1.4	%	Especificado
Fundo	0.0	0.0	0.0	%	Especificado
Umidade	0.000	0.200	0.100	%	Especificado
Temperatura	0.0	40.0	25.0	°C	Especificado
Perda ao Fogo	0.000	0.250	0.080	%	Especificado
Teor de SiO <sub>2</sub>	99.000		99.540	%	Especificado
Concentração	78.0	100.0	80.4	%	Especificado

**Outras Especificações**

FRAÇÃO GROSSA: ACUMULADO RETIDO NA # 18  
 CONCENTRAÇÃO: SOMATÓRIA DAS #20,30,40 E 50  
 FRAÇÃO FINA: PASSANTE DA # 50

CÓPIA NÃO CONTROLADA

**ANEXO 4:** Certificado de análise da argila caulinita (caulim), utilizada na formulação dos sedimentos artificiais, fornecido pela EMBRARAD.



**EMPRESA BRASILEIRA DE RADIAÇÕES LTDA.**  
 AV. CRUZADA BANDEIRANTE, 280 - COTIA - SP  
 C.N.P.J. 45.789.724/0002-85  
 REGISTRO MS 926/81

CLIENTE.....: LABSYNTH PRODS.P/LABORATORIOS LTDA  
 CERTIFICADO N.: 156610 - EMITIDO EM 29/05/2008

PROCESSADO EM : 21/05/2008

MATERIAL PROCESSADO:


QUANT.	PRODUTO	LOTE
102 UN	CAULIM EM PO USP	112105
76 UN	CAULIM EM PO USP.	112107
6 UN	CAULIM EM PO USP.	112106

DOSE: 10 KG  
 MATERIAL REFERENTE SUA NF: 330699 DE 16/05/2008


CERTIFICAMOS QUE O MATERIAL ACIMA DESCRITO FOI PROCESSADO ATRAVES DE RAIOS GAMA E REHEITIDO ATRAVES DE NOSSA N.F. 170915.

SISTEMA DE MEDIDA DOSIMETRICA RED PERSPEX 4034.

O MATERIAL E' CONSIDERADO PROCESSADO DESDE QUE INVIOLADAS AS EMBALAGENS.





DR. DIRCEU M. VAZOU  
Físico



DR. RUDOLF URI HUTZLER  
Controlador Microbiológico

**ANEXO 5:** Controle de qualidade da argila caulinita (caulim), utilizada na formulação dos sedimentos artificiais, fornecido pela LABSYNTH Ltda.

 			
<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE DE QUALIDADE</b>			
<b>BOLETIM TÉCNICO</b>			
FAB. : 19/11/2007			
VAL. : 19/11/2012			
Origem Brasileira			
PRODUTO CAULIM U.S.P. 30 (ESTERILIZADO)	LOTE 112107		
FÓRMULA *****	PESO MOLECULAR *****		
CHAVE AUTENTICIDADE DESTO-VYRAA-EIVQO-DSUEN			
<b>Informações Adicionais :</b> * I.C.V. : excluído por fabricação, manuseio e estocagem			
<b>TESTES</b>	<b>LIMITES</b>	<b>RESULTADOS</b>	
01 CARACTERÍSTICAS	Pó muito fino, lev. amarelado, inodoro	de acordo	
02 IDENTIFICAÇÃO	Positiva	Positiva	
03 CARACOTÍPO	Passa o teste	P.T.	
04 ODMO	máx. 0,001%	< 0,001%	
05 FERRO	Passa o teste	P.T.	
06 IMPUREZAS ORGÂNICAS VOLÁTEIS	-	-	
07 PERDA POR IGREÇÃO	máx. 15,0%	15,15%	
08 SOLÚVEL EM ÁCIDO	máx. 2,0%	2,01%	
09 LIMITE MICROBIOLÓGICO :	-	-	
10 Escherichia coli	Ausente	Ausente	
<b>DATA EMISSÃO</b>	<b>ANALISTA</b>	<b>RESPONSÁVEL</b>	<b>RESULTADO</b>
17/05/2010	MARIA	IZILDA MORELLI - CRF/SP 9371	APROVADO
CERTIFICADO EMITIDO VIA SISTEMA INTEGRADO COM APROVAÇÃO ELETRÔNICA			
Página 01 de 01			
<b>Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda.</b>			
<small>Av. Dr. Ugo de Souza, 387 - Vila Ugo de Souza - SP - CEP 08850-070 - Tel: (11) 4734-0174 Fax: (11) 4734-0175 e-mail: contato@labsynth.com.br</small>			
<small>www.labsynth.com.br</small>			