

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 (laboratoriais e *in situ*), com ênfase na avaliação da toxicidade de metais e de pesticidas organoclorados em peixes (*Danio rerio* e *Poecilia reticulata*) – Sub-bacia do rio Monjolinho.

Renata Fracácio

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal De São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências (Ciências Biológicas), área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais

São Carlos – SP

2006

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

F797eL

Fracácio, Renata.

Estudos limnológicos e ecotoxicológicos (laboratoriais e *in situ*), com ênfase na avaliação da toxicidade de metais e de pesticidas organoclorados em peixes (*Danio rerio* e *Poecilia reticulata* - sub-bacia do rio Monjolinho (São Carlos – SP) / Renata Fracácio. -- São Carlos : UFSCar, 2006.

184 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2006.

1. Limnologia. 2. Ecotoxicologia. 3. Monjolinho, Rio (SP). 4. *Danio rerio*. 5. Barrigudinho – (Peixe). I. Título.

CDD: 574.52632 (20^a)

AGRADECIMENTOS

Especialmente à Profa. Dra. **Nelsy Fenerich Verani**, pela orientação, amizade, respeito, confiança e incentivo; ao Prof. Dr. **Evaldo Luiz Gaeta Espíndola** pela co-orientação, coordenação do projeto Monjolinho, dedicação no decorrer do trabalho e pela credibilidade. Obrigada por vocês terem contribuído para o meu desenvolvimento profissional.

À CAPES, pela bolsa concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo financiamento do projeto Monjolinho

Ao Prof. Dr. **Alberto Carvalho Peret** pelo auxílio na análise estatística e pela amizade.

À Profa. Dra. **Odete Rocha** por ter contribuído na montagem do laboratório de ecotoxicologia, no Departamento de Hidrobiologia-UFSCar.

À Profa. Dra. **Maria Olimpia** e à técnica **Maria Diva**, pela realização das análises de organoclorados.

Aos técnicos **Amandio**, pela ajuda em campo e em laboratório e ao **Marcelo**, do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada, pelo auxílio nas análises limnológicas realizadas.

À Sra **Amábile** e ao Sr **Laércio** (*in memória*), pelo auxílio nas técnicas histológicas; ao **Ditão**, pelas coletas de peixes e à Fátima pelo carinho e dedicação na resolução de questões burocráticas.

Aos funcionários do Programa de Pós Graduação de Ecologia e Recursos Naturais-PPG/ERN

Ao **Mercival Roberto Francisco** por toda a contribuição estatística e por todo o apoio e ajuda durante a realização deste trabalho.

Às amigas **Aline Fernanda Campagna** e **Beatriz Kawamura Rodrigues**, pela ajuda, respeito e competência com que realizaram as atividades em campo e em laboratório. Agradeço pelo convívio extremamente agradável durante a realização deste trabalho e pela amizade sincera. Vocês foram essenciais para a realização desta tese.

Às amigas do projeto Monjolinho: **Carolina Buso Dornfeld**, **Andréa Novelli** e **Sabrina Viana**, por toda a colaboração em campo e em laboratório.

Aos amigos do laboratório de Hidrobiologia, especialmente à Dra. **Evelise Nunes Fragoso**, pela convivência de longa data, pelo auxílio na avaliação gonadal dos peixes, e pela pessoa maravilhosa que é.

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

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, *José Fracácio* e *Sônia Talarico Fracácio*, por terem me ensinado que o respeito, a honestidade, a solidariedade e a educação são tesouros incomparáveis na vida de um ser humano. Obrigada pelas oportunidades e caminhos ensinados....

Ao *Mercival* pelo carinho, companheirismo e auxílio profissional, sempre.

RESUMO

Fracácio, R. (2006). Estudos limnológicos e ecotóxicológicos (*laboratoriais e in situ*) com ênfase na avaliação de metais e pesticidas organoclorados em peixes (*Danio rerio* e *Poecilia reticulata*) – Sub-bacia do rio Monjolinho (São Carlos-SP). 214p. Tese (doutorado)-Universidade Federal de São Carlos.

Com o objetivo de avaliar as características físicas, químicas, biológicas e ecotoxicológicas (laboratoriais e *in situ*) da água e sedimento, do sistema Monjolinho, foram realizadas coletas em julho/03, outubro/03, janeiro/04 e abril/04 (rio e 8 tributários). Na avaliação ecotoxicológica, utilizou-se *Danio rerio* e *P. reticulata*, juvenis e adultos. A mortalidade, biometria final (dos juvenis) e efeitos deletérios nos tecidos branquiais foram as variáveis consideradas em testes. Os resultados limnológicos revelaram que, em geral, o período seco apresentou as maiores concentrações das diferentes variáveis analisadas, incluindo-se os metais e organoclorados, acima dos limites recomendados para proteção da vida aquática. Nos sedimentos, o zinco e o heptacloro apresentaram-se em concentrações capazes de provocar efeitos deletérios nos organismos biológicos, nos últimos pontos do sistema. O sedimento dos pontos UFSCar, Confluência e córrego Tijuco, apresentaram as maiores concentrações das variáveis analisadas, possivelmente devido à fração de silte e argila detectadas. Nos testes crônicos parciais com amostras ambientais, pelo menos uma das espécies e variáveis analisadas, indicaram a toxicidade do rio Monjolinho. Nos testes *in situ*, os efeitos foram mais pronunciados para ambas as espécies, especialmente em julho/03. *P. reticulata* demonstrou a maior sensibilidade comparando-se à espécie *D. rerio*, em todas as situações avaliadas, principalmente considerando-se a fase juvenil. Foram escolhidos dois poluentes para avaliação ecotoxicológica em laboratório, utilizando-se *D. rerio* juvenis como organismos-teste. O cádmio apresentou uma CL(I)50,96h de 1894,77µg/L. Nos testes de toxicidade crônica parcial estático, obteve-se um valor crônico de 189,73µg/L tanto para sobrevivência como para a biometria final, indicando que na mesma concentração os efeitos na sobrevivência e biometria foram semelhantes. As alterações branquiais foram progressivas nas concentrações de 0,6µg/L, 6µg/L, 60µg/L e 600µg/L, sendo detectado na última, a junção de várias lamelas secundárias. Considerando-se o endossulfan sulfato, a CL(I)50, 96h, semi-estático foi de 7,24µg/L e o valor crônico, considerando-se a sobrevivência foi de 0,948µg/L os efeitos histológicos foram obtidos em todas as concentrações (0,03µg/L, 0,3µg/L e 3µg/L), com o efeito mais pronunciado na última concentração, com hiperplasia e conseqüente junção de lamelas secundárias. Os testes de toxicidade refletiram o estado de degradação instalado em todo o sistema Monjolinho, confirmada pelas análises limnológicas, as quais em última instância comprometem também a saúde da população.

Palavras-chave: Testes de toxicidade; rio Monjolinho; limnologia; cádmio, endossulfan sulfato, *Poecilia reticulata* e *Danio rerio*

ABSTRACT

Limnological and ecotoxicological studies (in laboratory and *in situ*), emphasizing the evaluation of heavy metals and organochloride pesticides in fishes (*Danio rerio* and *Poecilia reticulata*) – Monjolinho River sub-basin (São Carlos, SP). 214p. Phd. Thesis - Universidade Federal de São Carlos.

In order to evaluate the physical, chemical, biological and ecotoxicological parameters of Monjolinho River system (in laboratory and *in situ*), water and sediment samples (from the river and from eight of its tributaries) were obtained in July/03, October/03, January/04 and April/04. Juveniles and adult individuals of *Danio rerio* and *Poecilia reticulata* were used in the ecotoxicological studies. Mortality, juvenile biometry, and deleterious effects observed on the gills tissue were considered in the tests. The limnological data revealed the higher concentrations of heavy metals and organochlorides in the dry season, being over the limits established for aquatic organisms protection. The concentrations of zinc and heptachlore found in the sediments of the last study sites resulted in deleterious effects. The higher concentrations of the analyzed parameters were found in the study sites UFSCar, Confluência and Córrego Tijuco, probably due to the higher concentrations of clay and silt found in these areas. The partially chronic tests performed using samples obtained from the natural environment revealed significant toxicity for at least one fish species and one parameter. Tests *in situ* showed more drastic effects, especially in July/03. *P. reticulata* was more vulnerable when compared to *D. rerio* in all of the analyses, especially considering the juvenile stages. Two contaminants were used in the laboratory ecotoxicological analyzes, using *D. rerio* juveniles as a test organism. Cadmium showed a CL(I)50, 96h, of 1894,73µg/L. In the tests of static partial chronic toxicity, the chronic value obtained was 189,73µg/L, for both survival and growth, indicating that in the same concentration, the effects on the survival and biometry were similar. Gills morphological alterations increased with the increasing concentrations: 0.6 µg/L, 6 µg/L, 60 µg/L and 600 µg/L, being the fusion of the secondary lamellae observed in the last concentration. Regarding to the endosulfan sulphate, the semi-static CL(I)50, 96h, was 7.24 µg/L and the chronic value, considering survival rates, was 0.948 µg/L. Histological effects were observed in all of the concentrations (0.03 µg/L, 0,3 µg/L and 3 µg/L), being the hyperplasia and secondary lamellae fusions more drastic in the last concentration. The toxicity tests, as well as the limnological analyses, showed that the Monjolinho system is highly disturbed, with inadequate conditions for the conservation of the aquatic organisms and may represent risks for the human health.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Localização do rio Monjolinho na bacia hidrográfica do rio Jacaré-Guaçu e no Estado de São Paulo _____ 19
- Figura 2:** Distribuição dos pontos de coleta no rio Monjolinho (6) e em seus tributários (8) _____ 22
- Figura 3:** Teste de sensibilidade com dicromato de potássio, com destaque para a espécie *P. reticulata* juvenil _____ 27
- Figura 4:** Teste de toxicidade com amostras de sedimento do rio Monjolinho, realizado com juvenis de *P. reticulata*, no destaque _____ 28
- Figura 5:** Testes de toxicidade com amostra de água _____ 29
- Figura 6:** Representação esquemática das armadilhas utilizadas para a realização dos testes *in situ*, no rio Monjolinho. _____ 30
- Figura 7:** Realização dos testes de toxicidade *in situ* no rio Monjolinho _____ 31
- Figura 8:** Estrutura molecular dos isômeros α e β e do resíduo endossulfan sulfato. _____ 33
- Figura 9:** Testes de toxicidade com o endossulfan, com 4 réplicas por concentração, além do controle e do controle + acetona. _____ 34
- Figura 10:** Valores de vazão (m^3/s) nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso. _____ 37
- Figura 11:** Valores de condutividade da água ($\mu S/cm$) nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 38
- Figura 12:** Valores de pH obtidos nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com seus limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 _____ 39
- Figura 13:** Valores de oxigênio dissolvido obtidos nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 _____ 41
- Figura 14:** Valores de temperatura da água nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 42
- Figura 15:** Valores de material em suspensão nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 43
- Figura 16:** Valores de clorofila *a* nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 44

Figura 17: Valores de nitrogênio orgânico total nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso ___ 45

Figura 18: Valores de íon amônio nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 46

Figura 19: Valores de nitrato nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 47

Figura 20: Valores de nitrito nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 48

Figura 21: Valores de fósforo total nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 49

Figura 22: Valores de fosfato total dissolvido nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso ___ 50

Figura 23: Valores de fosfato inorgânico nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 51

Figura 24: Valores de silicato reativo nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 52

Figura 25: Valores de íon cloreto nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 54

Figura 26: Valores de sulfato nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 55

Figura 27: Valores de sulfeto nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 56

Figura 28: Valores de DQO nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 57

Figura 29: Valores de DBO nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 _____ 58

Figura 30: Valores de cádmio nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 _____ 59

Figura 31: Valores de cobre nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 _____ 60

Figura 32: Valores de cromo total nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 _____ 61

- Figura 33:** Valores de ferro nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 _____ 62
- Figura 34:** Valores de manganês nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 63
- Figura 35:** Valores de zinco nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 _____ 64
- Figura 36:** Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de água do rio Monjolinho e seus tributários, nos quatro períodos de coleta _____ 68
- Figura 37:** Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de água do rio Monjolinho e seus tributários, nos diferentes períodos de estudo, considerando-se os metais _____ 70
- Figura 38:** Porcentagens de matéria orgânica dos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 71
- Figura 39:** Concentrações de fósforo total nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 75
- Figura 40:** Concentrações de nitrogênio orgânico total nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 76
- Figura 41:** Concentrações de cádmio nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 77
- Figura 42:** Concentrações de cobre nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 78
- Figura 43:** Concentrações de cromo total nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 79
- Figura 44:** Concentrações de ferro nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 80
- Figura 45:** Concentrações de manganês nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 81
- Figura 46:** Concentrações de zinco nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso _____ 82
- Figura 47:** Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de sedimento do rio Monjolinho e de seus tributários, nos diferentes períodos de estudo _____ 85
- Figura 48:** Faixas de sensibilidade ao dicromato de potássio obtidas para os juvenis de *D. rerio* (A) e de *P. reticulata* (B) no presente estudo _____ 86

Figura 49: Mortalidade (%) de *D. rerio* (A) e de *P. reticulata* (B) submetidos a testes de toxicidade crônicos parciais com amostras de sedimentos em quatro períodos de amostragem. _____ 89

Figura 50: Brânquia de um organismo-teste controle juvenil de *D. rerio*, em julho/03. Notar a cartilagem (C); os espaços interlamelares (x). **Coloração: HE.** _____ 92

Figura 51: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto Nascente em julho/03. Notar a proliferação celular entre as lamelas secundárias (↘), com a fusão de todas elas no filamento superior). **Coloração: HE** _____ 92

Figura 52: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto UFSCar em julho/03. Notar a proliferação celular e conseqüente fusão de duas lamelas secundárias (↗). **Coloração: HE.** _____ 93

Figura 53: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto USP, em julho/03. Notar a proliferação celular e conseqüente fusão de lamelas secundárias (↗) e o espaço bem definido entre algumas lamelas secundárias (x). **Coloração: HE.** _____ 93

Figura 54: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto Usina, em julho/03. Notar a proliferação celular e junção de lamelas secundárias (→) e a dilatação do seio venoso central. **Coloração: HE** _____ 94

Figura 55: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto Ponte caída, em julho/03. C: cartilagem. Notar a proliferação celular e junção de lamelas secundárias (→) e a dilatação do seio venoso central. **Coloração: HE.** _____ 94

Figura 56: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto Confluência, em julho/03. C: cartilagem. Notar a dilatação no seio venoso central (SVC); a proliferação celular (→) e a dilatação no ápice das lamelas secundárias (x). **Coloração: HE.** _____ 95

Figura 57: Mortalidade (%) de organismos adultos de *D. rerio* (A) e de *P. reticulata* (B) submetidos a testes de toxicidade crônicos parciais com amostras de água dos diferentes pontos em três períodos de amostragem. _____ 97

Figura 58: Mortalidade (%) de organismos juvenis de *D. rerio* (A) e de *P. reticulata* (B) submetidos a testes de toxicidade crônicos parciais com amostras de água dos diferentes pontos de coleta, em três períodos de amostragem _____ 98

Figura 59: Brânquia de um organismo-teste controle juvenil de *D. rerio*, em julho/03. Notar os espaços interlamelares bem definidos (↓); as lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS; x) e o epitélio respiratório justaposto nas lamelas secundárias (ER ↶). **Coloração: HE. Escala: 20µm.** _____ 101

Figura 60: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto Nascente em julho/03. Notar a hiperplasia (→) do epitélio respiratório; a dilatação no seio venoso central (SVC) e a dilatação no ápice das lamelas secundárias (x). **Coloração: HE** _____ 101

Figura 61: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto Nascente em julho/03. Notar a hiperplasia (↗) e conseqüente junção de todas as lamelas secundárias (}). **Coloração: HE** _____ 102

Figura 62: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto UFSCar em julho/03. Notar a proliferação celular (→), culminando na junção de lamelas secundárias e a dilatação no ápice das lamelas secundárias (x) **Coloração: HE** _____ 102

Figura 63: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto UFSCar em janeiro/04. Notar o início de uma dilatação nas extremidades das lamelas secundárias (x) e o precário desenvolvimento das lamelas secundárias (▲). Lamelas secundárias (LS); C (Cartilagem) **Coloração: HE** _____ 103

Figura 64: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto UFSCar em janeiro/04. Notar a proliferação celular (↓) e a fusão de lamelas secundárias (}). Lamelas secundárias (LS). **Coloração: HE** _____ 103

Figura 65: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto USP, em janeiro/04. Notar a proliferação celular (→) e conseqüente fusão de algumas lamelas secundárias, e a dilatação na extremidade de algumas lamelas secundárias (x). **Coloração: HE** _____ 104

Figura 66: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto USP, em janeiro/04. Notar a proliferação celular (→) e conseqüente fusão de algumas lamelas secundárias. (C: cartilagem). **Coloração: HE** _____ 104

Figura 67: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto Usina, em janeiro/04. Notar a proliferação de células nas lamelas secundárias (x) e pela proliferação do epitélio respiratório na base da lamela primária (→). Observar o seio venoso central (SVC). **Coloração: HE. Escala: 20µm** _____ 105

Figura 68: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto Usina, em julho/03. Notar a dilatação nas extremidades das lamelas secundárias (x) e a proliferação do tecido epitelial (→). Observar a cartilagem (C) **Coloração: HE** _____ 105

Figura 69: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto Usina, em janeiro/04. Notar a proliferação do tecido epitelial respiratório culminando com junção de lamelas secundárias (→), reduzido espaço interlamelar (x) e o desprendimento do epitélio respiratório das lamelas secundária (↗). **Coloração: HE** _____ 106

Figura 70: Brânquia de um organismo-teste juvenil (*D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto Ponte caída, em janeiro/04. Notar a proliferação celular nas lamelas secundárias, culminando no seu adensamento (x). Observar a cartilagem (C) e o seio venoso central (SVC) **Coloração: HE** _____ 107

Figura 71: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto Ponte caída, em janeiro/04. Notar proliferação do tecido epitelial respiratório e conseqüente diminuição dos espaços interlamelares (↓); fusão de algumas lamelas secundárias (↘) e o desprendimento do epitélio respiratório das lamelas (↗). **Coloração: HE** _____ 107

Figura 72: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto Confluência, em janeiro/04. Notar a proliferação do epitélio respiratório (→), resultando na diminuição dos espaços interlamelares (↔) e fusão de lamelas secundárias (⌋). Observar o espaço interlamelar (x), que ocorre em parte da brânquia, **Coloração: HE** _____ 108

Figura 73: Mortalidade (%) obtidas para adultos (A) e Juvenis (B) de *D. rerio* e de *P. reticulata* em julho/03 e em abril/04 _____ 109

Figura 74: Brânquia de um organismo-teste adultos (espécie *D. rerio*), exposto a teste *in situ* no ponto Nascente em julho/03. Notar a proliferação celular das lamelas secundárias (→). **Coloração: HE** _____ 112

Figura 75: Brânquia de um organismo-teste adultos (espécie *P. reticulata*), exposto a teste *in situ* no ponto Nascente em julho/03. Notar a proliferação celular com junção de várias lamelas secundárias (→) e o desprendimento do epitélio respiratório das lamelas secundárias (↗). **Coloração: HE** _____ 112

Figura 76: Brânquia de um organismo-teste adulto (espécie *P. reticulata*), exposto a teste *in situ* no ponto Nascente, em julho/03. Notar a dilatação no ápice das lamelas secundárias, com fusão de algumas extremidades (→). **Coloração: HE** _____ 113

Figura 77: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste *in situ* no ponto UFSCar em abril/04. Notar a proliferação celular, com junção de lamelas secundárias (⌋) e o espessamento das lamelas secundárias (→). **Coloração: HE** _____ 113

Figura 78: Brânquias de organismos-teste adultos (A e B) (espécie *P. reticulata*), expostos a teste *in situ* no ponto Confluência, em abril/04. Notar aneurismas (*), desprendimento do tecido epitelial nas lamelas secundárias (↗), dilatação e junção das extremidades das lamelas secundárias e dilatação do seio venoso central (D). **Coloração: H.E** _____ 114

Figura 79: Brânquias de organismo-teste juvenis (espécie *P. reticulata*), expostos a teste *in situ* no ponto Confluência, em abril/04. Notar a proliferação celular com a diminuição acentuada dos espaços interlamelares (↗); a dilatação do seio venoso central (SVC) e a junção de lamelas secundárias (⌋). **Coloração: HE** _____ 115

Figura 80: Faixa de sensibilidade ao cádmio, obtida para os juvenis de *D. rerio* ____ 116

Figura 81: Brânquia de um organismo-teste controle. Espaços interlamelares bem definidos (x); epitélio respiratório justaposto às lamelas secundárias (ER↔). **Coloração: HE** _____ 120

Figura 82: Brânquia de um organismo-teste exposto a 0,6µg/L de cádmio, por 7 dias. Espaços interlamelares bem definidos (x); desenvolvimento das lamelas secundárias (LS) e início de uma hiperplasia interlamelar (➔). **Coloração: HE** _____ 120

Figura 83: Brânquia de um organismo-teste a 6µg/L de cádmio, por 7 dias. Espaços interlamelares (x); desprendimento do epitélio respiratório nas lamelas secundárias (➔). **Coloração: HE** _____ 121

Figura 84: Brânquia de um organismo-teste exposto a 60µg/L de cádmio, por 7 dias. Hiperplasia (↘); junção de lamelas secundárias (↘); dilatação do seio venoso central (SVC). **Coloração: HE** _____ 121

Figura 85: Brânquia de um organismo-teste exposto a 600µg/L de cádmio, por 7 dias. LS (lamela secundária). Hiperplasia (↓) levando a junção de várias lamelas secundárias e dilatação na extremidade de lamela secundária (→). **Coloração:H.E.**_____122

Figura 86: Faixa de sensibilidade ao organoclorado endossulfan sulfato, obtida para os juvenis de *D. rerio*_____124

Figura 87: Brânquia de um organismo controle. Notar espaços bem definidos (↙) entre as lamelas secundárias (LS), o desenvolvimento das mesmas e o tecido epitelial justaposto. **Coloração HE**_____128

Figura 88: Brânquia de um organismo controle + acetona. Observar os espaços bem definidos (↑) entre as lamelas secundárias (LS), o desenvolvimento das mesmas e o tecido epitelial justaposto. **Coloração HE**_____129

Figura 89: Brânquia de um organismo-teste da concentração de 0,03 µg/L. Observar o espessamento das lamelas secundárias (x), pela proliferação de células epiteliais. **Coloração HE**_____129

Figura 90: Brânquia de um organismo-teste da concentração de 0,3 µg/L. Notar o espessamento das lamelas secundárias (x) e fusão de algumas lamelas secundárias (↘), pela proliferação de células epiteliais. **Coloração HE**_____130

Figura 91: Brânquia de um organismo-teste exposto a concentração de 3 µg/L. Notar a proliferação do tecido epitelial entre as lamelas secundárias (↖) e a conseqüente fusão de algumas lamelas secundárias (}), pela proliferação de células epiteliais. **Coloração HE**_____130

LISTA DE TABELAS (do texto)

- Tabela 1:** Classificação, usos e caracterização geral dos pontos de coleta no rio Monjolinho (São Carlos, SP) _____ 20
- Tabela 2:** Classificação, usos e caracterização geral dos pontos de coleta nos tributários do rio Monjolinho (São Carlos, SP) _____ 21
- Tabela 3:** Metodologias adotadas para as análises físicas, químicas e biológicas da água do rio monjolinho e seus tributários no presente estudo _____ 23
- Tabela 4:** Metodologias utilizadas para as análises físicas e químicas das amostras de sedimento do rio monjolinho e seus tributários no presente estudo _____ 24
- Tabela 5:** Principais alterações branquiais e estágio da lesão correspondente, segundo Polecsik & Mitrovic-Tutundizc (1994) _____ 36
- Tabela 6:** Valores de coliformes totais e fecais nos pontos de coleta do rio Monjolinho durante o período de estudo _____ 53
- Tabela 7:** Valores de coliformes totais e fecais nos tributários do rio Monjolinho durante o período de estudo _____ 53
- Tabela 8:** Concentrações de aldrin, em seis pontos de coleta do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04), com o limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2 _____ 65
- Tabela 9:** Concentrações de endossulfan sulfato, em seis pontos de coleta do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04), considerando-se o limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2 _____ 66
- Tabela 10:** Concentrações de heptacloro, em seis pontos coleta do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04), com os limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2 _____ 66
- Tabela 11:** Composição granulométrica dos seis pontos amostrados no rio Monjolinho, em quatro períodos de coleta _____ 73
- Tabela 12:** Composição granulométrica dos tributários do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04) _____ 74
- Tabela 13:** Concentrações dos organoclorados aldrin, heptacloro e endossulfan sulfato, no rio Monjolinho e em dois de seus tributários, nos períodos seco e chuvoso _____ 83
- Tabela 14:** Valores médios de peso e comprimento, de ambas as espécies na fase adulta, e o respectivo coeficiente de correlação de Spearman, para os diferentes lotes adquiridos comercialmente _____ 87

Tabela 15: Valores médios de peso e comprimento, de ambas as espécies na fase juvenil, e o respectivo coeficiente de correlação de Spearman, para os diferentes lotes adquiridos comercialmente e em laboratório, considerando-se *P. reticulata* _____ 87

Tabela 16: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação das mortalidades de *D. rerio* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com sedimento, em cada ponto, nos diferentes períodos de amostragem _____ 89

Tabela 17: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de *P. reticulata* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com sedimento, em cada ponto, nos diferentes períodos de amostragem _____ 90

Tabela 18: Análise comparativa do peso fresco (g) e comprimento padrão (cm) dos organismos-teste, expostos aos sedimentos dos diferentes pontos de coleta, em relação aos organismos controle, para ambas as espécies, por meio da análise de variância Kruskal-Wallis _____ 91

Tabela 19: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de adultos de *D. rerio* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água, nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem _____ 97

Tabela 20: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de adultos de *P. reticulata* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem _____ 98

Tabela 21: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de juvenis de *D. rerio* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água, nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem _____ 99

Tabela 22: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de juvenis de *P. reticulata* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem _____ 99

Tabela 23: Análise comparativa do peso fresco (g) e comprimento padrão (cm) dos organismos-teste *D. rerio juvenil*, expostos a amostras de água dos diferentes pontos de coleta, em relação ao grupo controle por meio da análise de variância KruskalWallis _____ 100

Tabela 24: Análise comparativa do peso fresco (g) e comprimento padrão (cm) dos organismos-teste *P. reticulata* juvenil, expostos a amostras de água dos diferentes pontos de coleta, em relação ao grupo controle por meio da análise de variância Kruskal-Wallis _____ 100

Tabela 25: Resultados obtidos pela aplicação do Fisher Exact Test, na comparação das proporções de mortos e vivos, dos diferentes organismos-teste expostos aos testes de toxicidade *in situ*, com o grupo controle _____ 110

Tabela 26: Valores de pH, oxigênio dissolvido, condutividade e temperatura, obtidos no início e após 96H dos testes de toxicidade *in situ*, e nos testes em laboratório, referindo-se aos lotes controles _____ 111

Tabela 27: Resultado dos testes de toxicidade aguda (96h), estáticos ao metal cádmio com organismos-teste *D. rerio* _____ 116

Tabela 28: Primeiro teste de toxicidade crônica parcial, com cádmio, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, bem como as porcentagens de

sobrevivência e a sua significância em relação ao lote controle obtido através da análise estatística teste exato de Fisher _____ 117

Tabela 29: Segundo teste de toxicidade crônica parcial , com cádmio, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, bem como as porcentagens de sobrevivência e a sua significância em relação ao lote controle obtido através da análise estatística teste exato de Fisher _____ 117

Tabela 30: Terceiro teste de toxicidade crônica parcial (7 dias), com cádmio, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, bem como as porcentagens de sobrevivência e a sua significância em relação ao lote controle obtido através da análise estatística teste exato de Fisher _____ 118

Tabela 31: Comparação dos pesos frescos e comprimentos padrões dos organismos expostos às diferentes concentrações, com as mesmas medidas obtidas nos organismos controles, por meio da análise de variância Kruskal-Wallis, nos três testes de toxicidade crônica parciais (7 dias) _____ 119

Tabela 32: Valores de CEO, CENO e VC para os três testes crônicos parciais realizados com o metal cádmio _____ 119

Tabela 33: Testes de toxicidade aguda preliminares ao endossulfan sulfato, com valores de CL(I)50, 96H, semi-estático, obtidos para os organismos-teste *D. rerio*, utilizando-se o programa computacional Trimmed Spearman-Kärber _____ 123

Tabela 34: Testes de toxicidade aguda definitivos, ao endossulfan sulfato, com valores de CL(I)50, 96H, semi-estático, obtidos para os organismos-teste *D. rerio*, utilizando-se o programa computacional Trimmed Spearman-Kärber _____ 123

Tabela 35: Primeiro teste de toxicidade crônica parcial, com endossulfan sulfato, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, a cada 24 horas, bem como a porcentagem final de sobreviventes em 7 dias de exposição _____ 125

Tabela 36: Segundo teste de toxicidade crônica parcial, com endossulfan sulfato, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, a cada 24 horas, bem como a porcentagem final de sobreviventes em 7 dias de exposição _____ 126

Tabela 37: Terceiro teste de toxicidade crônica parcial, com endossulfan sulfato, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, a cada 24 horas, bem como a porcentagem final de sobreviventes em 7 dias de exposição _____ 127

Tabela 38: Valores de p do Fisher exact test, considerando-se as porcentagens de organismos sobreviventes nos três testes de toxicidade crônica parcial, com endossulfan-sulfato _____ 127

Tabela 39: Valores de CEO, CENO e VC, para os três testes crônicos parciais realizados com o metal cádmio _____ 128

Tabela 40: Guia de qualidade de sedimento canadense com as concentrações dos metais considerando-se TEL (concentrações abaixo da qual raramente são causados efeitos adversos nos organismos e PEL (concentrações acima da qual é freqüentemente esperado efeito adversos nos organismos aquáticos) _____ 139

Tabela 41: Concentrações de metais biodisponíveis obtidos em diferentes trabalhos realizados em corpos de água na bacia do alto Jacaré-Guaçú _____ 140

Tabela 42: Concentrações máximas obtidas, de pesticidas organoclorados, em sedimentos de diferentes rios brasileiros _____ 142

Tabela 43: Comparação dos valores de CL(I)50, 96H, em regime estático, considerando-se as variáveis pH, dureza, condutividade e temperatura da água, nas mortalidades dos peixes, em diferentes fases _____ 159

Tabela 44: Comparação dos valores de CEO, CENO e VC obtidos no presente trabalho e na literatura, para diferentes espécies de peixes e fases do desenvolvimento _____ 162

Tabela 45: Valores de CL50 obtidos para peixes, por diferentes autores, em testes de toxicidade aguda com endossulfan, em diferentes condições _____ 166

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Classificação, usos e caracterização geral dos pontos de coleta no rio Monjolinho (São Carlos, SP) _____ 20
- Tabela 2:** Classificação, usos e caracterização geral dos pontos de coleta nos tributários do rio Monjolinho (São Carlos, SP) _____ 21
- Tabela 3:** Metodologias adotadas para as análises físicas, químicas e biológicas da água do rio monjolinho e seus tributários no presente estudo _____ 23
- Tabela 4:** Metodologias utilizadas para as análises físicas e químicas das amostras de sedimento do rio monjolinho e seus tributários no presente estudo _____ 24
- Tabela 5:** Principais alterações branquiais e estágio da lesão correspondente, segundo Polecsik & Mitrovic-Tutundizc (1994) _____ 36
- Tabela 6:** Valores de coliformes totais e fecais nos pontos de coleta do rio Monjolinho durante o período de estudo _____ 53
- Tabela 7:** Valores de coliformes totais e fecais nos tributários do rio Monjolinho durante o período de estudo _____ 53
- Tabela 8:** Concentrações de aldrin, em seis pontos de coleta do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04), com o limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2 _____ 65
- Tabela 9:** Concentrações de endossulfan sulfato, em seis pontos de coleta do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04), considerando-se o limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2 _____ 66
- Tabela 10:** Concentrações de heptacloro, em seis pontos coleta do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04), com os limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2 _____ 66
- Tabela 11:** Composição granulométrica dos seis pontos amostrados no rio Monjolinho, em quatro períodos de coleta _____ 73
- Tabela 12:** Composição granulométrica dos tributários do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04) _____ 74
- Tabela 13:** Concentrações dos organoclorados aldrin, heptacloro e endossulfan sulfato, no rio Monjolinho e em dois de seus tributários, nos períodos seco e chuvoso _____ 83
- Tabela 14:** Valores médios de peso e comprimento, de ambas as espécies na fase adulta, e o respectivo coeficiente de correlação de Spearman, para os diferentes lotes adquiridos comercialmente _____ 87
- Tabela 15:** Valores médios de peso e comprimento, de ambas as espécies na fase juvenil, e o respectivo coeficiente de correlação de Spearman, para os diferentes lotes adquiridos comercialmente e em laboratório, considerando-se *P. reticulata* _____ 87

Tabela 16: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação das mortalidades de *D. rerio* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com sedimento, em cada ponto, nos diferentes períodos de amostragem _____ 89

Tabela 17: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de *P. reticulata* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com sedimento, em cada ponto, nos diferentes períodos de amostragem _____ 90

Tabela 18: Análise comparativa do peso fresco (g) e comprimento padrão (cm) dos organismos-teste, expostos aos sedimentos dos diferentes pontos de coleta, em relação aos organismos controle, para ambas as espécies, por meio da análise de variância Kruskal-Wallis _____ 91

Tabela 19: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de adultos de *D. rerio* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água, nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem _____ 97

Tabela 20: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de adultos de *P. reticulata* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem _____ 98

Tabela 21: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de juvenis de *D. rerio* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água, nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem _____ 99

Tabela 22: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de juvenis de *P. reticulata* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem _____ 99

Tabela 23: Análise comparativa do peso fresco (g) e comprimento padrão (cm) dos organismos-teste *D. rerio juvenil*, expostos a amostras de água dos diferentes pontos de coleta, em relação ao grupo controle por meio da análise de variância KruskalWallis _____ 100

Tabela 24: Análise comparativa do peso fresco (g) e comprimento padrão (cm) dos organismos-teste *P. reticulata* juvenil, expostos a amostras de água dos diferentes pontos de coleta, em relação ao grupo controle por meio da análise de variância Kruskal-Wallis _____ 100

Tabela 25: Resultados obtidos pela aplicação do Fisher Exact Test, na comparação das proporções de mortos e vivos, dos diferentes organismos-teste expostos aos testes de toxicidade *in situ*, com o grupo controle _____ 110

Tabela 26: Valores de pH, oxigênio dissolvido, condutividade e temperatura, obtidos no início e após 96H dos testes de toxicidade *in situ*, e nos testes em laboratório, referindo-se aos lotes controles _____ 111

Tabela 27: Resultado dos testes de toxicidade aguda (96h), estáticos ao metal cádmio com organismos-teste *D. rerio* _____ 116

Tabela 28: Primeiro teste de toxicidade crônica parcial, com cádmio, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, bem como as porcentagens de sobrevivência e a sua significância em relação ao lote controle obtido através da análise estatística teste exato de Fisher _____ 117

Tabela 29: Segundo teste de toxicidade crônica parcial , com cádmio, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, bem como as porcentagens de sobrevivência e a sua significância em relação ao lote controle obtido através da análise estatística teste exato de Fisher	117
Tabela 30: Terceiro teste de toxicidade crônica parcial (7 dias), com cádmio, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, bem como as porcentagens de sobrevivência e a sua significância em relação ao lote controle obtido através da análise estatística teste exato de Fisher	118
Tabela 31: Comparação dos pesos frescos e comprimentos padrões dos organismos expostos às diferentes concentrações, com as mesmas medidas obtidas nos organismos controles, por meio da análise de variância Kruskal-Wallis, nos três testes de toxicidade crônica parciais (7 dias)	119
Tabela 32: Valores de CEO, CENO e VC para os três testes crônicos parciais realizados com o metal cádmio	119
Tabela 33: Testes de toxicidade aguda preliminares ao endossulfan sulfato, com valores de CL(I)50, 96H, semi-estático, obtidos para os organismos-teste <i>D. rerio</i> , utilizando-se o programa computacional Trimmed Spearman-Karber	123
Tabela 34: Testes de toxicidade aguda definitivos, ao endossulfan sulfato, com valores de CL(I)50, 96H, semi-estático, obtidos para os organismos-teste <i>D. rerio</i> , utilizando-se o programa computacional Trimmed Spearman-Karber	123
Tabela 35: Primeiro teste de toxicidade crônica parcial, com endossulfan sulfato, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, a cada 24 horas, bem como a porcentagem final de sobreviventes em 7 dias de exposição	125
Tabela 36: Segundo teste de toxicidade crônica parcial, com endossulfan sulfato, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, a cada 24 horas, bem como a porcentagem final de sobreviventes em 7 dias de exposição	126
Tabela 37: Terceiro teste de toxicidade crônica parcial, com endossulfan sulfato, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, a cada 24 horas, bem como a porcentagem final de sobreviventes em 7 dias de exposição	127
Tabela 38: Valores de p do Fisher exact test, considerando-se as porcentagens de organismos sobreviventes nos três testes de toxicidade crônica parcial, com endossulfan-sulfato	127
Tabela 39: Valores de CEO, CENO e VC, para os três testes crônicos parciais realizados com o metal cádmio	128
Tabela 40: Guia de qualidade de sedimento canadense com as concentrações dos metais considerando-se TEL (concentrações abaixo da qual raramente são causados efeitos adversos nos organismos e PEL (concentrações acima da qual é freqüentemente esperado efeito adversos nos organismos aquáticos)	139
Tabela 41: Concentrações de metais biodisponíveis obtidos em diferentes trabalhos realizados em corpos de água na bacia do alto Jacaré-Guaçú	140

Tabela 42: Concentrações máximas obtidas, de pesticidas organoclorados, em sedimentos de diferentes rios brasileiros _____ 142

Tabela 43: Comparação dos valores de CL(I)50, 96H, em regime estático, considerando-se as variáveis pH, dureza, condutividade e temperatura da água, nas mortalidades dos peixes, em diferentes fases _____ 159

Tabela 44: Comparação dos valores de CEO, CENO e VC obtidos no presente trabalho e na literatura, para diferentes espécies de peixes e fases do desenvolvimento _____ 162

Tabela 45: Valores de CL50 obtidos para peixes, por diferentes autores, em testes de toxicidade aguda com endossulfan, em diferentes condições _____ 166

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 - O ecossistema lótico e a sua contaminação	1
1.2- Pesticidas no meio ambiente aquático	3
1.3 – Metais	6
1.4 - Estudos ecotoxicológicas para auxiliar na avaliação da qualidade ambiental	7
2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: ALGUNS TRABALHOS REALIZADOS NO RIO MONJOLINHO	9
3. JUSTIFICATIVA	13
4. OBJETIVOS	16
4.1. Objetivo geral	16
4.2. Objetivos específicos	16
5. MATERIAIS E MÉTODOS	17
5.1. Área de estudo	17
5.2. Períodos de amostragem e pontos de coleta	19
5.3. Análise física, química e biológica da água	23
5.3.1 – Metais totais	23
5.3.2 – Pesticidas organoclorados	24
5.4. Análises físicas e químicas do sedimento	24
5.4.1 – Metais potencialmente biodisponíveis	24
5.4.2 – Pesticidas organoclorados	25
5.5 – Análise de discriminantes	25
5.6 - Estudos ecotoxicológicos	25
5.6.1. Organismos-teste e manutenção	25

5.6.2. <i>Teste de sensibilidade</i>	26
5.6.3 – <i>Testes de toxicidade crônicos parciais com amostras ambientais</i>	27
5.6.4. <i>Testes de toxicidade aguda “in situ”</i>	29
5.6.5. <i>Testes de toxicidade com o metal cádmio</i>	31
5.6.6. <i>Testes de toxicidade com o organoclorado endossulfan sulfato</i>	32
5.6.7. <i>Avaliação dos resultados de toxicidade</i>	34
6.RESULTADOS	36
6.1 – Variáveis hidrológicas	36
6.1.1 – <i>Vazão</i>	36
6.2 – Variáveis Limnológicas	37
6.2.1 – <i>Condutividade elétrica</i>	78
6.2.2 – <i>pH</i>	38
6.2.3 – <i>Turbidez</i>	39
6.2.4 – <i>Oxigênio dissolvido</i>	40
6.2.5 – <i>Temperatura</i>	41
6.2.6 – <i>Material em suspensão total (MST), orgânico (MSO) e inorgânico (MSI)</i>	42
6.2.7 – <i>Clorofila <u>a</u> total</i>	44
6.2.8 – <i>Formas nitrogenadas</i>	45
6.2.9 – <i>Formas fosfatadas</i>	48
6.2.10 – <i>Silicato reativo</i>	51
6.2.11 – <i>Coliformes totais e fecais</i>	52
6.2.12 – <i>Cloretos, sulfatos e sulfetos</i>	54
6.2.13. – <i>Demanda Química de Oxigênio (DQO)</i>	56
6.2.14 – <i>Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)</i>	57
6.2.15 – <i>Metais</i>	58
6.2.16 – <i>Pesticidas organoclorados</i>	65
6.2.17 – <i>Análise estatística</i>	67
6.3 – Análise física e química do sedimento	71
6.3.1 – <i>Porcentagem de matéria orgânica e inorgânica</i>	72
6.3.2 – <i>Granulometria</i>	72

6.3.3 – <i>Fósforo total</i>	74
6.3.4 – <i>Nitrogênio orgânico total</i>	75
6.3.5 – <i>Metais potencialmente biodisponíveis</i>	76
6.3.6 – <i>Pesticidas organoclorados</i>	83
6.3.7 – <i>Análise estatística</i>	84
6.4 – Testes de toxicidade	86
6.4.1 – <i>Testes de sensibilidade</i>	86
6.4.2. – <i>Homogeneidade dos organismos teste (biometria inicial)</i>	87
6.4.3 - <i>Bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento</i>	88
6.4.3.1 - <i>Biometria final dos organismos-teste</i>	90
6.4.3.2 – <i>Avaliação histológica das brânquias</i>	92
6.4.4 – <i>Testes de toxicidade com amostras de água</i>	95
6.4.4.1 – <i>Biometria final dos organismos testes</i>	99
6.4.4.2 – <i>Avaliação histológica das brânquias</i>	100
6.4.5 – <i>Testes de toxicidade “in situ”</i>	108
6.4.5.1 – <i>Avaliação histológica das brânquias</i>	111
6.4.6. Testes de toxicidade com o metal cádmio	115
6.4.6.1 – <i>Testes de toxicidade aguda (96h) com <i>D. rerio</i> juvenis</i>	115
6.4.6.2 – <i>Testes de toxicidade crônica parciais com cádmio (7 dias)</i>	116
6.4.6.3- <i>Análise histológica das brânquias</i>	119
6.4.7. Testes de toxicidade com o pesticida organoclorado endossulfan sulfato	122
6.4.7.1 – <i>Testes de toxicidade aguda (96h) com <i>D. rerio</i> juvenis</i>	122
6.4.7.2 – <i>Testes de toxicidade crônica parcial semi-estático</i>	124
6.4.7.3.- <i>Avaliação histológica das brânquias</i>	128
7- DISCUSSÃO	131
7.1 – Caracterização limnológica do rio Monjolinho	131
7.2 – Avaliação física e química do sedimento	135

7.2.1- <i>Organoclorados em sedimentos do rio Monjolinho</i>	140
7.3- Testes de toxicidade com amostras de sedimento	142
7.4 -Testes de toxicidade com amostras de água em laboratório	148
7.5 - Testes de toxicidade aguda <i>in situ</i>	151
7.6 – Discussão dos testes de toxicidade com o metal cádmio	157
7.7- Discussão dos testes de toxicidade com endossulfan sulfato	164
8 – CONCLUSÕES	169
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	171
ANEXO 1 (LIMNOLOGIA)	
ANEXO 2 (SEDIMENTO)	
ANEXO 3 (TESTES DE TOXIXIDADE COM AMOSTRAS DE SEDIMENTO)	
ANEXO 4 (TESTES DE TOXICIDADE COM AMOSTRAS DE ÁGUA)	

1. INTRODUÇÃO

1.1 - O ecossistema lótico e a sua contaminação

Os rios constituem sistemas abertos e lineares cujas características variam ao longo do tempo e do espaço, diferindo dos demais sistemas aquáticos por seu fluxo unidirecional da nascente em direção à foz (BARBOSA & ESPÍNDOLA, 2003).

Segundo BOON (1992), os rios são um dos ecossistemas mais explorados pelo homem. A idéia de constante renovação da água levou a humanidade a utilizá-lo como destino final de efluentes, geração de energia, fonte de água potável a baixo custo e recreação.

FRISSEL (1986) *apud* BISSON & MONTGOMERY (1996), menciona que um segmento de rio é identificado por um conjunto de características do seu entorno, o que faz da bacia hidrográfica a escala mais indicada quando se deseja correlacionar os fatores antrópicos à ecologia dos mesmos. Em concordância, BARBOSA & ESPÍNDOLA (*op. cit*) enfatizam que o ecossistema não seria somente o rio, mas toda a bacia hidrográfica, a qual pode ser definida fisicamente como área limítrofe da união de dois pontos de maior altitude do relevo (ROCHA *et al.*, 2000).

Segundo a teoria do descontínuo fluvial, discutida por POOLE (2002), os rios são assumidos como sistemas ímpares, isto é, únicos em estrutura e função na escala de bacia hidrográfica, que por sua vez é constituída de manchas que são as características de cada segmento (vegetação, fluxo, solo, uso e ocupação etc). Neste sentido, é importante destacar o papel dos tributários como grande fator de interferência longitudinal do rio.

O curso de água, assim constituído, responde tanto à influência de fatores naturais como de alterações antrópicas (BRIGANTE & ESPÍNDOLA, 2003). Portanto, as características dos corpos de água refletem aquelas das bacias hidrográficas, espelhando na qualidade e quantidade de águas as atividades humanas existentes nas mesmas (ROCHA *et al.*; *op. cit*).

Segundo REBOUÇAS (1999), as diferentes atividades antrópicas realizadas próximas aos corpos de água geram resíduos que acarretam os diferentes tipos de poluição, pontual e difusa, alterando a estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquáticos. As fontes de poluição pontuais são de fácil visualização e quantificação, sendo representadas pelos despejos de esgotos domésticos e industriais diretamente nos corpos de água. Quanto às fontes de poluição difusas, são difíceis de visualizar e quantificar, uma vez que são representadas pelos escoamentos urbanos e agrícolas, além da precipitação atmosférica (LLOYD, 1992).

A poluição difusa é intensa e prejudicial para um corpo de água em áreas com escassez ou ausência de vegetação marginal, principalmente em épocas chuvosas, onde o material em suspensão tende a aumentar na coluna de água. Este material, muitas vezes proveniente de áreas agrícolas, está associado a poluentes como pesticidas e metais pesados, dentre outras classes de compostos tóxicos (TUNDISI *et al.*, 1999).

De acordo com MAYBECK & HELMER (1992), os ecossistemas aquáticos, de uma forma ou de outra, servem como reservatórios temporários ou finais de uma grande variedade e quantidade de poluentes lançados no ar, solo ou diretamente na água. As conseqüências podem ser a perda dos múltiplos usos além dos prejuízos aos seres vivos (TUNDISI, 2005).

Uma vez carregados para dentro dos corpos de água, os compostos tóxicos podem interagir diretamente com a biota por ingestão e contato, ou se depositar nos sedimentos. Este compartimento funciona, portanto, como um sumidouro temporário de poluentes os quais, sob determinadas condições ambientais, podem ser liberados para a coluna de água afetando assim não só a fauna bentônica, mas também os organismos nectônicos. Neste sentido os sedimentos podem ser considerados fontes de poluição dentro do próprio ambiente aquático (BAUDO & MUNTAU, 1990).

Diante deste fato é evidente a necessidade de avaliação da qualidade da água e sedimento dos rios uma vez que a presença de agentes químicos nos ambiente sempre apresenta riscos aos seres vivos em qualquer ecossistema, não existindo, portanto, o que poderia ser chamado de risco zero à exposição dessas substâncias (CAIRNS, 1980).

BRANCO (1999) destaca que entre os parâmetros de qualidade de água que se tornaram clássicos e de uso generalizado em todo o mundo, podem ser citados os números mais prováveis de coliformes, a demanda bioquímica de oxigênio e recentemente os bioensaios de toxicidade.

BATALHA (1998) atenta para o fato de que o monitoramento da qualidade da água dos sistemas públicos deva ser atualizado para evitar que não sejam avaliados apenas os padrões físicos, químicos e bacteriológicos. Os diferentes compartimentos do sistema aquático (água, sedimento e comunidades), suas inter-relações e os efeitos dos contaminantes sobre a biota, incluindo-se os bioensaios de toxicidade, mutagenicidade, biomarcadores, entre outros, devem ser considerados, uma vez que representam ferramentas complementares para uma melhor avaliação da degradação dos recursos hídricos.

Segundo BERTOLETTI (2000), ao longo do tempo, padrões desejáveis de qualidade de água têm sido estabelecidos para vários usos. O uso destinado ao consumo humano tem maior destaque, pelo fato da espécie humana se preocupar em preservar a própria espécie. No entanto, a qualidade destinada ao abastecimento humano não é necessariamente a mesma apropriada para a proteção das comunidades aquáticas.

Neste sentido, a resolução CONAMA 20/86 vinha estabelecendo limites de poluentes para a proteção da vida aquática e foi revisada e reformulada em 2005, denominando-se resolução CONAMA 357. Recentemente, no artigo 34 desta mesma resolução, foi legalizada no Brasil a utilização de bioensaios ecotoxicológicos para a avaliação da qualidade de efluentes, os quais somente poderão ser lançados direta ou indiretamente nos corpos de água se estiverem de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelos órgãos competentes (Diário oficial da União – 18/03/05).

1.2-Pesticidas no meio ambiente aquático

Os pesticidas representam um grupo químico único por serem ministrados intencionalmente no ambiente para destruir ou controlar alguma forma de vida indesejada (BAIRD, 1995; DORES & FREIRE, 1999). Embora os agrotóxicos tenham sido desenvolvidos com o objetivo de eliminar pragas e aumentar a produtividade agrícola, além de eliminar vetores transmissores de doenças, representam pelo menos dois graves problemas: afetam não só os organismos-alvo e persistem no ambiente por longos períodos de tempo, uma vez que são substâncias químicas sintéticas.

Geralmente os pesticidas são levados aos ambientes aquáticos por meio do uso na agropecuária, por esgotos industrial e municipal e pelo controle de insetos aquáticos (ALLAN, 2002). A aplicação direta no solo, a pulverização manual ou por trator e por via aérea sobre as plantações, além do desrespeito às concentrações adequadas, permitem que os pesticidas percorram outras rotas não desejadas, atingindo não somente os organismos-alvo. Segundo PIMENTEL & LEVITAN (1991), em revisão sobre a quantidade de pesticidas aplicados, apenas 0,1% do produto atinge os organismos-alvo.

Entre os inseticidas orgânicos sintéticos, os mais persistentes no meio ambiente são os organoclorados (possuem átomos de cloro em sua estrutura molecular). Este grupo apresenta como características a baixa degradabilidade biótica e abiótica; alta estabilidade química, pouca solubilidade em água, são relativamente inertes frente a ácidos e bases e sob luz solar podem formar compostos com estabilidade similar ou maior que o composto original (SILVA, 2000).

Além destas características, associa-se o fato de esses compostos apresentarem afinidade por gordura animal e estabilidade no meio fisiológico. Desta forma, acumulam-se nos tecidos adiposos dos animais de ordem superior à medida que não são eliminados fisiologicamente, tendo gerado distúrbios ecológicos no meio ambiente com a morte de diversos animais predadores. Por esta razão, diversos países proibiram o uso destes grupos químicos.

Os pesticidas organoclorados podem ser divididos em três grupos:

- *Grupo do DDT*: descoberto em 1874 por Paul Zeidler, muito utilizado durante a I Guerra Mundial no combate aos transmissores da malária e tifo. Somente em 1939, Paul Muller veio a descobrir suas propriedades tóxicas, os quais só foram alertados em 1962, por Rachel Carlson em seu livro “Silente Springuer”.
- Grupo dos BHCs : sintetizados em 1940 e,
- Grupo dos ciclodienos (envolvem o Aldrin, Dieldrin, Endrin, Endosulfan e Heptacloro), que passaram a ser sintetizados a partir de 1950.

Os DDTs e BHCs foram proibidos no Brasil em 1985 devido a suas propriedades carcinogênicas, e os demais organoclorados pela sua característica cumulativa tiveram o seu uso limitado pela Portaria 329 de 02/09/1985. Dentre os ciclodienos, o endossulfan é o único composto organoclorado que ainda tem o seu uso permitido em função de sua baixa persistência e bioconcentração. No Brasil, o seu uso é destinado às plantações de algodão e no combate à “broca da cana”; o nome comercial do produto é Thiodan®. Apesar de ser tóxico, ainda não foram registradas ocorrências de carcinogenicidade em humanos (SILVA, 2000; ALMEIDA, 2002).

Os pesticidas organoclorados nos ecossistemas aquáticos têm impactos potenciais sobre a biota, inclusive em seres humanos. Sua alocação pode ser controlada por uma série de fatores relacionados à composição química dos pesticidas e às propriedades dos ecossistemas aquáticos em si (ALLAN, 2002).

Segundo STRANDBERG *et al.* (1998), a associação dos organoclorados com o material particulado pode ocasionar sua precipitação e deposição no sedimento de fundo ou mesmo sua ligação ao compartimento biótico que são considerados os destinos finais desses compostos.

De acordo com SPADOTTO *et al.* (1998), a área com lavouras agrícolas no Brasil cresceu 76% passando de 28,4 milhões de hectares, em 1960, para 50 milhões de hectares em 1991. Os grandes consumidores de agrotóxicos estão localizados nas regiões sudeste e

sul, particularmente no estado de São Paulo, com um consumo de 44.387 toneladas, correspondente a 35% da utilização de agrotóxicos no país.

Os dados do IBGE (1993), revelaram que as culturas de soja e cana-de-açúcar envolveram, respectivamente, 11,5 e 4,3 milhões de hectares em 1990. Estas culturas apresentam-se como fontes potenciais de contaminação pelo uso de agrotóxicos com grande amplitude espacial.

Segundo CAMPAGNA (2005), pela falta de informações ou pelo interesse no lucro fácil e sem atentar para as conseqüências no meio ambiente, a produção agrícola ainda contribui de forma significativa para a contaminação das águas superficiais e subterrâneas.

O mecanismo de ação dos organoclorados não é inteiramente conhecido, mas sabe-se que atinge o sistema nervoso periférico e central, além de se acumular em tecidos adiposos, entrando facilmente na cadeia trófica (OKI & PEREIRA, 1999.). Geralmente são altamente tóxicos para peixes, pássaros e mamíferos sendo que os sintomas de envenenamento incluem hipersensibilidade, hiperatividade, convulsão, prostração e morte.

Diferentes estudos enfocando a toxicidade de organoclorados em peixes de água doce demonstraram os seguintes efeitos: hiperglicemia e diminuição de conteúdos protéicos em fígado e músculo; hipocalcemia; hiperfosfatemia e danos epiteliais aos tecidos respiratórios (SINGH *et al.*, 1996); disfunções renais (RASHATWAR & ILYAS, 1984); diminuição nas taxas de sobrevivência e de eclosão de ovos (ROEX, *et al.*, 2002); alterações no crescimento e reprodução (GORMLEY & TEATHER, 2003); desordem neuromuscular; má formação esquelética e tremores (OWENS & BAER, 2000); bioacumulação em órgãos e efeitos teratogênicos, dentre outros. Esses efeitos são decorrentes de exposições a concentrações subletais, comumente encontradas em ambientes naturais.

Assim, apesar de ser indiscutível a importância deste grupo químico no aumento da produção de alimentos, é necessário salientar que o crescente e inadequado uso dos mesmos têm refletido na instabilidade dos ecossistemas, com efeitos deletérios nos organismos aquáticos, considerando-se espécie, população e comunidades. Os reflexos têm ocorrido na própria saúde humana.

É necessário que o uso destas substâncias seja praticado de forma criteriosa para evitar riscos de contaminação. Para tanto, é fundamental a compreensão da dinâmica destas substâncias no meio ambiente físico, bem como a atuação e efeitos nos organismos (BATALHA, 1998).

1.3 - Metais

Alguns elementos-traço como Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, Co, Mo e B são essenciais aos seres vivos, ainda que em pequenas concentrações, e têm grande importância no metabolismo dos organismos aquáticos por participar de processos fisiológicos como fotossíntese (Mg – formação de clorofila), cadeia respiratória (Fe e Cu – partes do citocromo e ferredoxina) e fixação de nitrogênio.

Outros elementos-traço, como Hg, Pb, Cd, Ag, Cr, Ni e Sn, entretanto, não têm função biológica conhecida e são geralmente tóxicos a uma grande variedade de organismos. Mesmo os elementos que desempenham um papel fisiológico, quando em concentrações elevadas podem apresentar toxicidade aos organismos vivos (ESTEVEZ, 1988; SORENSEN, 1991).

Estes elementos 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 à saúde humana (BRAGA *et al.*, 2002).

Os processos industriais, particularmente aqueles relacionados à mineração, ao acabamento e à manufatura dos objetos metálicos, são as principais fontes de poluição por metal. Outras indústrias, como as de tinta, manufaturados de couro, borrachas, têxteis e de celulose utilizam amplamente os compostos metálicos. Os insumos utilizados em algumas culturas agrícolas colaboram intensivamente para o aumento da poluição por metais (ABEL, 1989). As características geológicas da bacia de drenagem são de fundamental importância para a determinação de concentrações de elementos-traço em ecossistemas fluviais (ESTEVEZ, 1988).

Nos ambientes aquáticos, os elementos-traço podem sofrer transformações químicas que os tornam ainda mais nocivos ao ambiente. Segundo SOLOMONS & FORSTNER (1984), as transformações químicas às quais os elementos-traço estão submetidos são ainda mais acentuadas em ambientes ricos em nutrientes e com temperaturas elevadas.

De acordo com SORENSEN (1991), as cargas iônicas dos metais favorecem ligações complexas com os sistemas biológicos, prejudicando a capacidade de funcionamento dos mesmos. Dependendo da concentração, do íon metálico e do tempo de exposição dos organismos, as consequências podem ser a letalidade, em decorrência do

elevado potencial tóxico, ou a ocorrência de efeitos crônicos como alterações morfológicas, bioquímicas e histológicas, comprometendo a reprodução, o funcionamento de órgãos vitais e, conseqüentemente, a viabilidade de espécies, além de outras injúrias como a bioacumulação em animais de topo de cadeia como os peixes (em ambientes aquáticos), 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 representar o compartimento sedimento, prejudicando a fauna local, os animais onívoros e iliófagos, além de novamente se disponibilizarem à coluna de água, sob condições ambientais específicas, sendo este compartimento ora um depósito ora uma fonte de contaminação aos corpos de água (FORSTNER, 1990).

1.4 - Estudos ecotoxicológicos para auxiliar na avaliação da qualidade ambiental

Os testes de toxicidade devem ser considerados como uma análise indispensável no controle da poluição hídrica, pois detectam os efeitos dos poluentes sobre a biota, enquanto as análises químicas apenas identificam e quantificam as substâncias presentes nas amostras ambientais (HOFFMAN, 1995; ZAGATTO, 1999).

De acordo com ADAMS (1995), existem os **testes de toxicidade agudos**, definidos como uma forma de avaliar os efeitos severos sofridos pelos organismos a um curto período de exposição e os **testes de toxicidade crônicos**, que se caracterizam pela longa duração (utilizam o ciclo de vida inteiro do organismo) e proporcionam a avaliação dos efeitos indiretos do agente como alterações no crescimento, na reprodução e de efeitos subletais, os quais incluem mudanças no comportamento (dificuldade de movimentação; aumento na frequência da abertura do opérculo), alterações fisiológicas, bioquímicas e histológicas. Há também os **testes de toxicidade crônicos parciais**, que utilizam uma parte do ciclo de vida dos organismos, de preferência a mais sensível, sendo feitas as mesmas avaliações (BURTON & MacPHERSON, 1995).

Os testes acima citados podem ser realizados em laboratório com substâncias químicas ou amostras ambientais e em campo, denominados de **testes de toxicidade *in situ***. Estes permitem avaliar as mesmas respostas destes organismos em condições mais próximas ao sistema natural, refletindo as diversas interações dos poluentes. Estas interações sofrem influências das flutuações diárias de temperatura, oxigênio, luminosidade, pH, dentre outras variáveis, resultando nas modificações das condições

tóxicas do ambiente (TORRE, 2000; CHAPPIE & BURTON, 2000; RINGWOOD *et al.*, 2002).

Em testes laboratoriais, as condições são diferenciadas pela própria manipulação das amostras e pelo controle de variáveis, o que resulta na perda de informações, desencadeando respostas que refletem de maneira limitada às condições ambientais (FOSTNER, 1990). Vários bioensaios *in situ* têm sido desenvolvidos para monitorar os ambientes aquáticos com organismos de diferentes níveis tróficos (MEREGALLI *et al.*, 2000). No Brasil, esta abordagem ecotoxicológica ainda é pouco utilizada (DORNFELD, *et al.*, no prelo). Assim, considerando a sua relevância no monitoramento de qualidade de águas, faz-se necessário a geração de informações que permitam o desenvolvimento de metodologias mais adequadas e eficazes em trabalhos desta natureza.

Quanto à escolha de um organismo-teste, existem alguns critérios a serem considerados, tais como: ampla taxa de sensibilidade; abundância e disponibilidade; se possível a espécie deve ser endógena para a melhor representatividade dos 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).

Considerando-se a dificuldade em encontrar uma espécie com todas estas propriedades ideais, muitas espécies padronizadas podem ser utilizadas nos testes em laboratório, sendo extremamente importante a realização de bioensaios com espécies representativas do ambiente de estudo que melhor responderão as condições encontradas nos ambientes naturais onde vivem.

Segundo EWALD (1995), considerando-se os efeitos deletérios crônicos ou crônicos parciais, os danos histológicos são precedidos por respostas bioquímicas e fisiológicas e, quando detectados em organismos expostos a testes ou bioensaios, os efeitos adversos são inquestionáveis. POLECSIC & MITROVIC-TUTUNDIZC (1994) salientam que os estudos histopatológicos de brânquias para a avaliação de efeitos crônicos sobre peixes são fundamentais, pois, de acordo com a severidade da lesão encontrada, pode-se extrapolar os resultados para o ambiente, substância ou efluente em estudo. As brânquias são alvos primários de poluentes, pois estão em contato direto com a água.

Quanto maior o número de informações a respeito de um determinado ecossistema, mais fácil se torna a elaboração de um plano de monitoramento visando atenuar os principais impactos através de técnicas de controle da poluição ou mesmo a elaboração de planos para a recuperação de ecossistemas aquáticos, tendo em vista o caráter limitado

deste recurso em contraposição ao aumento da demanda e degradação da sua qualidade pelos usos múltiplos.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: ALGUNS TRABALHOS REALIZADOS NO RIO MONJOLINHO

A partir da década de 70 foram realizadas diversas pesquisas no rio Monjolinho, sendo que os mais relevantes, em termos de avaliação de qualidade da água, estão relacionados abaixo demonstrando a influência dos usos e ocupação da bacia hidrográfica na estrutura e funcionamento do ecossistema.

DAMACEDO *et al* (1971) avaliaram as concentrações de oxigênio dissolvido em alguns locais do rio Monjolinho e associaram os resultados com o grau de poluição do sistema. Os autores concluíram que o trecho urbano era o mais impactado, mas o sistema apresentava grande capacidade de recuperação ao longo do seu percurso, o que foi avaliado pela análise de DBO, o que também foi constatado por CAMPOS & CARNEIRO-BRANCO (1982). Os autores concluíram que o rio Monjolinho apresentava elevada capacidade depurativa antes de desaguar no rio Jacaré-Guaçu, afluente do rio Tietê.

SÉ (1992), estudando o rio Monjolinho e sua bacia hidrográfica como integradores de sistemas ecológicos, identificou e classificou a bacia do Monjolinho em 5 subsistemas de acordo com o grau de ocupação e intervenções antrópicas.

GUERESCHI (1995), realizando um monitoramento biológico no rio Monjolinho, verificou que a maior diversidade de espécies era encontrada na nascente, com a presença de organismos indicadores de boa qualidade de água. A autora observou também a ocorrência de variação temporal relacionada com a maior poluição no período chuvoso.

SALAMI (1996), com o objetivo de obter inter-relações entre os aspectos climatológicos, geológicos, morfométricos, hidrográficos e de uso e ocupação do solo com as variáveis físicas e químicas em escala espacial e temporal, concluiu, dentre outros aspectos, que as grandes alterações espaciais de oxigênio ocorreram devido à grande quantidade de matéria orgânica, resultante da entrada de esgotos domésticos e industriais. Temporalmente, o autor verificou que no período de seca houve um maior acúmulo de material orgânico e diminuição nas concentrações de oxigênio, sendo que no período de cheias, observou-se o efeito diluidor da carga orgânica, coincidindo com as maiores concentrações de oxigênio.

MENDES (1998) avaliou a comunidade macrozoobentônica no rio Monjolinho, dividindo-o em três regiões distintas, sendo a primeira com pouca influência antrópica, a

segunda com alta influência antrópica e a terceira caracterizada pela ocupação rural. Dentre outras, o autor concluiu que o rio Monjolinho tem uma grande capacidade de depuração no seu eixo longitudinal, considerando-se as variáveis físicas e químicas da água. Com relação à comunidade macrozoobentônica, o autor observou que os impactos são constantes e ampliam-se ao longo do rio.

BARRETO (1999), avaliando a qualidade das águas ao longo do rio Monjolinho, com ênfase para a concentração de metais na biomassa das comunidades nectônica, de macrófitas, bentônica e perifítica, além dos compartimentos água e sedimento, em diferentes períodos do ano, constatou um declínio na qualidade das águas da nascente em direção a foz. Segundo a autora, os sulfetos e a demanda bioquímica de oxigênio dissolvido foram os responsáveis pelo declínio na qualidade da água, associados às elevadas concentrações de Zn, Cd, Ni e Fe nos diferentes meses de estudo. No período de chuvas foi observado um declínio na qualidade das águas para a maioria das variáveis estudadas. As comunidades nectônicas apresentaram concentrações elevadas de Fe, Zn e Mn em todos os períodos. Observou um decréscimo da qualidade da água do rio Monjolinho em direção à foz e concluiu que em relação às concentrações de metais obtidas na água, apenas a nascente se enquadra com rio de classe 1 (abastecimento após tratamento simples), sendo as demais estações classificadas como 3 e 4, ou seja, usos menos exigentes. Além da água, este autor encontrou concentrações bastante elevadas de metais biodisponíveis nos sedimentos.

ESPÍNDOLA *et al.* (2000) caracterizaram a bacia hidrográfica do rio Monjolinho quanto aos aspectos geológicos, pedológicos, climatológicos, levantamentos de espécies vegetais e de vertebrados, uso e ocupação do solo (ao longo do processo histórico), aspectos limnológicos, abordagem ecotoxicológica e experiências em educação ambiental, além dos aspectos jurídicos e institucionais. Fazendo-se uma compilação das principais conclusões obtidas nos diferentes capítulos, destacam-se :

1- O acelerado êxodo urbano sem prévio planejamento e a resultante ocupação inadequada com geração de resíduos orgânicos e inorgânicos em concentrações elevadas, desencadeando a diminuição na qualidade do recurso hídrico no rio Monjolinho;

2- O desmatamento de vegetação natural é marcante com destaque para a inexistência de vegetação ciliar; nas áreas rurais próximas à nascente;

3- Foram verificadas atividades agrícolas e pastoris além do predomínio de monocultura de cana-de-açúcar no trecho médio superior do sistema, que constituem uma

fonte difusa de poluição, destacando-se os pesticidas; erosão instalada em solos próximos a áreas de nascente podendo contribuir para o processo de assoreamento do rio;

3- A carência de estudos ecotoxicológicos, incluindo-se os de longo prazo;

4- A necessidade de programas de educação ambiental que envolvam todos os setores sociais que se relacionem direta ou indiretamente com a bacia, no sentido de preservar os mananciais.

PELAÉZ-RODRIGUÊZ (2001), caracterizando a bacia hidrográfica do alto Jacaré-Guaçu, através de análises limnológicas, com ênfase para a quantificação de metais organoclorados, concluiu que no rio Monjolinho, junto à Usina da Serra, existe comprometimento da qualidade das águas decorrente da elevada carga orgânica e de nutrientes provenientes do esgoto urbano e das atividades relacionadas à cultura de cana-de-açúcar, tendo constatado o predomínio de algumas espécies macrozoobentônicas indicadores de poluição. Os metais cobre e ferro, no período chuvoso e ferro, manganês e zinco na estiagem, estiverem acima dos limites estabelecidos por lei. Dentre os organoclorados, os PCBs foram detectados em altas concentrações devido a sua persistência. Enfocando as nascentes estudadas, a do rio Monjolinho destacou-se por apresentar estado moderado de impacto em decorrência das atividades agropastoris em suas margens associadas à ausência de mata ciliar.

PERES (2002), avaliando as águas do rio Monjolinho com ênfase para as análises físicas e químicas e pelo uso de macroalgas bioindicadoras, concluiu que a condutividade elétrica apresentou a maior correlação positiva com as demais variáveis estudadas, enquanto o oxigênio dissolvido apresentou correlação negativa com todas elas, indicando o processo de eutrofização, que no caso deste rio é de origem predominantemente orgânica. A maioria das espécies identificadas foi classificada como α -mesossapróbicas, características de zonas poluídas ou poluição forte.

DORNFELD *et al.* (*no prelo*), utilizando *Chironomus xanthus* em testes de toxicidade *in situ*, no rio Monjolinho, concluiu que no período seco as porcentagens de mortalidade foram mais elevadas em decorrência do acúmulo de matéria orgânica no sistema, provenientes dos lançamentos de esgotos, associadas às elevadas concentrações de metais pesados. Essa situação tende a melhorar no período chuvoso perante a diluição dos poluentes no sistema em questão.

NOVELLI (1995), avaliando a toxicidade de amostras de água e sedimento no rio Monjolinho utilizando *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*, verificou toxicidade aguda das amostras de água em todos os pontos amostrados em julho de 2003, para *D. similis*,

além do elevado potencial tóxico nas amostras de sedimento. Efeitos crônicos foram bastante evidentes no período chuvoso para *C. dubia*. Estes resultados apresentaram correlação com as concentrações de metais e concentrações de matéria orgânica detectadas no sistema em estudo.

CAMPAGNA (2005) realizou uma avaliação limnológica do rio Monjolinho e de seus tributários, com ênfase para a toxicidade de cobre, aldrin e heptacloro. Amostras de sedimento também foram avaliadas toxicologicamente utilizando peixes como organismos-teste. A autora concluiu que os córregos Gregório, Tijuco Preto e Água Quente encontram-se bastante impactados, tendo sido identificados cobre, cádmio, aldrin, heptacloro e endossulfan em concentrações acima das recomendadas pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2. A maior toxicidade dos sedimentos foi verificada no período chuvoso, provavelmente propiciada pelo maior revolvimento das partículas sedimentares, tornando os poluentes biodisponíveis.

Com base na análise dos resultados apresentados pelos referidos autores, verifica-se que desde a década de 70 o rio Monjolinho já se encontra em elevado processo de degradação ambiental, a qual foi agravada pelo aumento populacional, pela expansão das atividades agrícolas, pela ausência de um sistema de tratamento de esgoto, entre outros.

3. JUSTIFICATIVA

A escolha do rio Monjolinho e de seus tributários como área de estudo baseou-se na evidência da diversidade de uso e ocupação do seu entorno, com destaque para os impactos provenientes de áreas urbanas, como o lançamento *in natura* de esgotos domésticos e industriais e também pelo impacto de áreas agrícolas, principalmente das culturas de cana-de-açúcar.

Em relação aos efluentes gerados, há um sistema coletor de 100% do esgoto doméstico, o qual é lançado *in natura* no rio Monjolinho, pois a cidade não apresenta sistemas de tratamento de esgoto, o qual segundo PELATTI (2004), no final do ano de 2004, apresentava-se em fase de licitação.

Em relação aos efluentes industriais, 45% representam resíduo inorgânico e 17% os resíduos orgânicos, contribuindo para a poluição do rio Monjolinho. Dados divulgados pela SEADE (1998) demonstram que São Carlos tem uma economia de base industrial, sendo este setor constituído por cerca de 600 estabelecimentos. A maior parte é representada pela metalurgia, transformação de minerais não metálicos. 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).

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, totalizando 35,7% de toda a área. Em relação à área urbana, São Carlos ocupava 6,4% em 1965, atingindo 15,0% em 1998.

Segundo SILVA *et al.* (2000), a bacia do rio Monjolinho apresenta-se com 26,3% do remanescente vegetal e deste total apenas 17,5% são fragmentos de vegetação natural e 8,8% são fragmentos de capoeira. A maioria da área vegetal (73,7%) consiste basicamente de pastos cultivados (20%) e de áreas de cultivo de cana-de-açúcar (35,7%), a qual contribui para a poluição difusa, principalmente de pesticidas.

Embora muitos agrotóxicos sejam proibidos por lei (Portaria 329/85, Ministério da Agricultura) em decorrência do seu elevado potencial tóxico, podem ser liberados, em caráter emergencial, pela portaria 95/85 pela Secretaria Nacional de Desenvolvimento Agrícola - SNDA. No entanto, várias pesquisas realizadas sobre a composição química da água e do sedimento, indicam que os mesmos são utilizados com frequência nas áreas agrícolas.

Esta situação é representada pelo Aldrin, Heptachlor e Endosulfan, que são os agrotóxicos organoclorados mais utilizados nas culturas de cana-de-açúcar (CBH-Mogi, 1999; BRONDI, 2000) e que foram detectados no rio Monjolinho por PELÁEZ-RODRIGUES (2001). Estes três pesticidas, de acordo com a resolução CONAMA 357/05, não devem ultrapassar as concentrações de 0,005 µg/L, 0,001µg/L e 0,056µg/L, respectivamente, em rios de classe 2, como é o caso da maioria dos tributários (exceção do córrego Gregório, considerado de classe 4) e do rio Monjolinho desde a sua nascente até a montante do encontro com o córrego Gregório, a partir do qual passa a ser considerado de classe 4 (Tabelas 1 e 2).

As aplicações mais intensas de agrotóxicos ocorrem em novembro para o plantio de culturas temporárias, coincidindo com o período de maior pluviosidade, comprometendo provavelmente a qualidade dos corpos de água (Secretaria do Meio Ambiente, 1995).

Mesmo existindo no Brasil normas e padrões de potabilidade de água que incluem análise de agrotóxicos (válido para todo o território nacional e estabelecidos pelo Ministério da Saúde através do Decreto Federal no. 79.637 de 9/03/1977 e pela portaria 56BSB de 13/03/1977, utilizada até janeiro de 1992, quando entrou em vigor a portaria no. 36/GM de 19/01/1990), a CETESB não inclui agrotóxicos no cálculo de IQA (Índice de Qualidade de Água), mesmo tendo conhecimento do alto grau de toxicidade destas substâncias (BRONDI, 2000; SOUZA, 2000).

FRACÁCIO *et al.* (2000), avaliando a toxicidade aguda do rio Monjolinho em maio de 1998 com organismos de diferentes níveis tróficos, verificaram que para um curto período de tempo houve toxicidade para algas e microcrustáceos em relação a alguns pontos mais urbanizados do rio. No entanto, concluíram que seria necessária uma avaliação mais cautelosa da toxicidade tanto espacial quanto temporalmente, com ênfase a testes crônicos e *in situ*, e com fases mais sensíveis (larvas) de espécies representativas do sistema para realmente conhecer o potencial tóxico deste rio frente às atividades do seu entorno.

De fato, existem vários trabalhos avaliando as características limnológicas de água e sedimento no rio Monjolinho, no entanto, a avaliação ecotoxicológica com amostras ambientais, *in situ* ou ainda com concentrações de poluentes detectados neste ambiente de estudo, não foi encontrada para os organismos-teste.

Não apenas no rio Monjolinho, mas, em outros ambientes aquáticos do Brasil, os testes de toxicidade *in situ* são escassos. No entanto, uma vez que os mesmos são capazes de avaliar a toxicidade do ambiente em condições mais reais, faz-se necessário a

implantação e padronização de métodos que permitam a comparação e interpretação dos resultados. Neste sentido, o presente trabalho tentou implementar um método de testes de toxicidade aguda *in situ* para peixes bioindicadores, buscando avaliar a eficácia e inconveniências do mesmo. A avaliação histológica nos organismos testes também se faz importante, uma vez que antes da mortalidade as injúrias teciduais são incontestáveis (EWALD, 1995).

O presente trabalho foi desenvolvido na tentativa de compreender a toxicidade deste ambiente e de determinados poluentes que foram detectados em concentrações acima dos limites recomendados para a proteção da vida aquática em desacordo com a Resolução CONAMA 357/2005. Considerando-se a relevância do rio Monjolinho para a população local quanto ao abastecimento urbano (20% da população da cidade de São Carlos), irrigação e lazer, além da importância da preservação de sua biota e de outras de corpos de água nos quais este rio deságua (Jacaré-Guaçu e conseqüentemente no rio Tietê), é necessário que haja informações complexas para que se possa implementar um manejo e um plano de monitoramento visando atenuar os impactos advindos de esgotos domésticos, industriais e de atividades agrícolas, permitindo assim os múltiplos usos destes recursos, que são escassos frente ao aumento de sua demanda.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Avaliar as características físicas, químicas e biológicas (laboratoriais e *in situ*) da água e do sedimento do sistema Monjolinho, enfatizando por meio de testes laboratoriais os efeitos agudos e crônicos de metais e organoclorados cujas concentrações estiverem em desacordo com as concentrações máximas permitidas pelo CONAMA 357/05, para a proteção da vida aquática.

4.2. Objetivos específicos

- ❖ Avaliar as características físicas e químicas da água e do sedimento do rio Monjolinho e de seus tributários, em quatro períodos de coleta (julho/03, outubro/03, janeiro/04 e abril/04) com ênfase na detecção e quantificação de inseticidas organoclorados (aldrin, heptacloro e endossulfan sulfato) e metais;
- ❖ Avaliar a toxicidade crônica parcial das amostras de água e de sedimento do rio Monjolinho, comparando-se as respostas de mortalidade, de biometria final (peso fresco e comprimento padrão em relação ao controle) e analisando-se histologicamente as brânquias de exemplares juvenis de *Danio rerio* e de *Poecilia reticulata*;
- ❖ Avaliar a toxicidade aguda *in situ* (96h) em pontos representativos, de diferentes impactos no rio Monjolinho, em julho/03 e em abril/04 considerando-se adultos e juvenis quanto às respostas de mortalidade e alterações histológicas das brânquias;
- ❖ Determinar a faixa de sensibilidade dos juvenis de *D. rerio* ao metal cádmio e ao organoclorado endossulfan sulfato;
- ❖ Avaliar a toxicidade crônica parcial do metal cádmio e do organoclorado endossulfan sulfato, incluindo-se as concentrações limites estabelecidas pela resolução CONAMA 357/05 para a proteção da vida aquática, considerando-se os efeitos na sobrevivência, alterações branquiais e biometria final, nos testes com o cádmio, para juvenis da espécie *Danio rerio*;
- ❖ Comparar a sensibilidade de ambas as espécies buscando-se avaliar a possibilidade de se utilizar *P. reticulata* em bioensaios ecotoxicológicos em ambientes neotropicais.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Área de estudo

O rio do Monjolinho localiza-se na região centro-oeste do estado de São Paulo, distando aproximadamente 240 Km da capital, entre 21°47' e 22°06' de latitude sul e 47°50' e 48°05' de longitude oeste (IBGE, 1971).

A sub-bacia hidrográfica do rio Monjolinho abrange uma área de aproximadamente 275 Km², com a maior parte de sua área contida no município de São Carlos, estado de São Paulo. A porção noroeste, entre o córrego Cancan e o rio Monjolinho, está localizada no município de Ibaté (SÉ, 1992).

Essa sub-bacia integra a bacia hidrográfica do rio Jacaré-Guaçu (Figura 1), sendo este um dos importantes afluentes da margem direita do rio Tietê, o qual recebe este afluente no reservatório de Ibitinga, um dos sistemas pertencentes ao complexo de reservatórios construídos em cascata no rio Tietê (ESPÍNDOLA, 2000).

O rio Monjolinho, com uma extensão de aproximadamente 43,25 Km, nasce no planalto de São Carlos, a leste do município, na cota de 900 m, percorrendo o sentido leste-oeste. Desce a serra originando uma ampla planície de inundação onde deposita a maior parte do material em suspensão (MENDES, 1998). Adiante, seu leito reencontra rocha vulcânica, adquirindo aspecto encachoeirado até próximo à entrada do afluente córrego Cancan. Em seqüência percorre uma grande planície e próximo à foz, na cota dos 453m, encachoeira-se novamente sobre afloramento de rocha vulcânica (SÉ, *op. cit.*). em juvenis de *D. rerio* e de *P. reticulata*;

O clima da região de São Carlos, de acordo com a classificação de Koepen, é do tipo Cwa, C-grupo mesotérmico; w-seco no inverno e a-a temperatura do mês mais quente é superior a 22°C (TOLENTINO, 1967). Este clima é caracterizado por apresentar estações bem definidas, com um mínimo pluviométrico de abril a setembro (estação seca e fria) e um máximo de dezembro a fevereiro (estação chuvosa e quente). As médias anuais de precipitação variam entre 1.200 e 1.500mm, sendo janeiro, fevereiro, março e dezembro, em ordem decrescente, os meses mais quentes (SÉ, *op. cit.*).

SILVA *et al.* (2000) registraram ocorrências de grupos diversificados de formações vegetais representadas por Floresta Estacional Semidecidual Submontana (mata) e Floresta Estacional Semidecidual Aluvial (Mata ciliar ou galeria), as quais, apesar de protegidas por lei, foram destruídas ao longo do rio Monjolinho e de seus córregos. Além disso,

existem pequenos fragmentos de Savana Florestada (cerradão) e Savana Arborizada (cerrado). Estes remanescente florestais representam 26,3% da bacia. O restante de sua vegetação natural (73,7%) foi convertido em áreas de cultivo de cana-de-açúcar, pasto cultivado e ocupação urbana.

O Grupo São Bento (formação Pirambóia, Botucatu e Serra Geral) e o Grupo Bauru (formação adamantina) são as principais formações geológicas da sub-bacia do Monjolinho (MACIEL, 2000). Os solos são agrupados em sete categorias: latossolo roxo, latossolo vermelho escuro, latossolo vermelho amarelo, terra roxa estruturada, areias quartzosas profundas, solos litólicos e solos hidromórficos (SÉ, 1992; SOUZA *et. al*, 2000).

Essa sub-bacia é marcada pelos impactos provenientes das atividades antrópicas decorrentes do desenvolvimento da cidade de São Carlos. Na área urbana este rio foi canalizado, recebendo contribuições de diversos tributários, como os córregos Santa Maria Madalena, Tijuco Preto e do Gregório. Recebe também águas residuais da região norte de São Carlos e despejos provenientes de aproximadamente 600 indústrias (curtumes, papel, tintas, alimentos, etc.). Após o trecho urbano, o rio percorre áreas agropastoris (predomínio de cultura de cana-de-açúcar) e finalmente desemboca no rio Jacaré-Guaçu (CRISCUOLO *et.al.*,2000; CÔRTES *et al.*,2000).

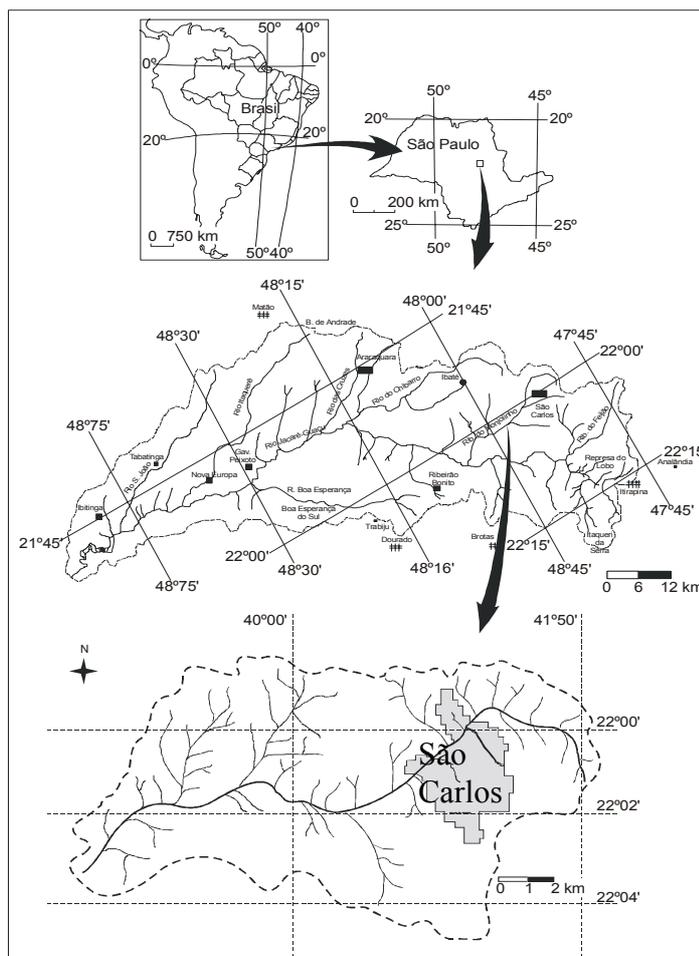


Figura 1: Localização do rio Monjolinho na bacia hidrográfica do rio Jacaré-Guaçu e no Estado de São Paulo.

5.2. Períodos de amostragem e pontos de coleta

As amostragens no rio Monjolinho foram realizadas em 6 pontos de coleta sistema (Tabela 1), em quatro períodos, os quais foram representativos do período seco (julho/03), intermediário de seco para chuvoso (outubro/03), chuvoso (janeiro/04) e intermediário de chuvoso para seco (abril/04). Também foram realizadas coletas em oito tributários (Tabela 2) amostrando-se água e sedimento antes da confluência com o rio Monjolinho, a fim de se avaliar a contribuição de impactos para o mesmo, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04).

A escolha dos pontos foi baseada em trabalhos anteriormente realizados quanto aos aspectos de qualidade de água e sedimento (SÉ, 1992; GUERESCHI, 1995; MENDES, 1998; BARRETO, 1999; PELÁEZ-RODRIGUES, 2000; FRACÁCIO *et al.* 2000 e MARINELLI *et al.* 2000). Os pontos de coleta são destacados na figura 2 e descritos as tabelas 1 (rio Monjolinho) e 2 (tributários).

Tabela 1: Classificação, usos e caracterização geral dos pontos de coleta no rio Monjolinho (São Carlos, SP).

Decreto 10.755 de 1977	CONAMA 357/2005 Usos	Pontos de coleta	<i>Características gerais</i>	
Classe 2	Abastecimento humano após tratamento convencional; Proteção das comunidades aquáticas; Recreação de contato primário;	Nascente		<i>Trecho de cabeceira do rio Monjolinho a aproximadamente 3 Km de sua nascente principal. Localiza-se na Fazenda Santa Terezinha. As atividades realizadas são de caráter agropecuário (gado e hortaliças). Verifica-se ausência de vegetação ciliar na maior parte do leito do rio e acelerado processo erosivo no solo.</i>
	Irrigação de hortaliças, plantas frutíferas, e de campos com os quais o público possa ter contato direto;	UFSCar		<i>Ponto de transição entre a área rural e urbana. Localiza-se a alguns metros da confluência do córrego Tijuco Preto e à jusante da desembocadura com o córrego Santa Maria Madalena. Verifica-se ausência de mata ciliar e recebe os primeiros despejos de esgotos domésticos e industriais.</i>
	Aqüicultura e atividade de pesca.	USP		<i>Localiza-se à jusante da confluência com o córrego do Tijuco Preto. Área urbana a 20m do maior despejo de esgoto doméstico da cidade, em frente à USP, na avenida marginal.</i>
Classe 4	Navegação e Harmonia paisagística	Usina		<i>Localiza-se no trecho médio do rio Monjolinho, à jusante dos córregos Gregório e Mineirinho. Presença de uma usina Hidrelétrica, ausência de vegetação. Trecho final da malha urbana.</i>
		P. Caída		<i>Localiza-se na Usina da Serra, área rural, com predomínio de cana-de-açúcar, à jusante dos córregos Água Quente e Água Fria, após receber todo o esgoto doméstico da cidade. Ausência de vegetação ciliar.</i>
		Confluência		<i>Localiza-se em área rural, à jusante dos córregos Cancan e Serra, antes da confluência com o rio Jacaré-Guaçu. Ausência de vegetação ciliar.</i>

Tabela 2: Classificação, usos e caracterização geral dos pontos de coleta nos tributários do rio Monjolinho (São Carlos, SP).

Decreto 10.755/1977	CONAMA 357/2005 Usos	Tributários do rio Monjolinho	Características gerais	
Classe 2	Abastecimento humano após tratamento convencional; Proteção das comunidades aquáticas; Recreação de contato primário; Irrigação de hortaliças, plantas frutíferas, e de campos com os quais o público possa ter contato direto; Aqüicultura e atividade de pesca.	Córrego Santa Maria Madalena		Localizado na área urbana, desemboca no rio Monjolinho à jusante do ponto UFSCar e à montante do ponto USP. Ausência de vegetação ciliar.
		Córrego do Tijuco Preto		Localiza-se na área urbana, em frente a USP. Desemboca no rio Monjolinho à montante do ponto de coleta USP, no rio Monjolinho. Ausência de vegetação ciliar. Recebe o esgoto do bairro Tijuco Preto, na cidade de São Carlos.
Classe 4	Navegação e Harmonia paisagística	Córrego do Gregório		Localiza-se na área urbana da cidade de São Carlos, desemboca no rio Monjolinho à montante do ponto Usina e à jusante do ponto USP. Ausência de vegetação ciliar. Único tributário do rio Monjolinho enquadrado como classe 4. Ponto de coleta em frente ao SESC, na Marginal, em São Carlos.
Classe 2	Abastecimento humano após tratamento convencional; Proteção das comunidades aquáticas; Recreação de contato primário; Irrigação de hortaliças, plantas frutíferas, e de campos com os quais o público possa ter contato direto; Aqüicultura e atividade de pesca.	Córrego Mineirinho		Localiza-se em área urbana, desemboca no rio Monjolinho à jusante da confluência do córrego Gregório com o rio Monjolinho e à montante do ponto Usina. Em janeiro/04 passou a receber esgoto do bairro Parque-Faber. Ponto de coleta em Frente ao Shopping Iguatemi São Carlos
		Córrego Água Fria		Localiza-se em área rural, a jusante do ponto Usina e à montante da confluência do córrego Água Quente com o rio Monjolinho.
		Córrego Água Quente		Localiza-se em área rural, desaguardo no rio Monjolinho à montante do ponto Ponte caída e a jusante da desembocadura do córrego Água Fria no rio Monjolinho. Ausência de vegetação ciliar.
		Córrego Cancan		Área rural, dentro da Usina da Serra, com extensa monocultura de cana-de-açúcar.
		Córrego Serra	SF	Localiza-se na zona rural, dentro da usina da Serra, com extensa monocultura de cana-de-açúcar. Desemboca no rio Monjolinho à montante do ponto Confluência.

5.3. Análise física, química e biológica da água.

As coletas das amostras de água para avaliação das variáveis físicas, químicas e biológicas, foram realizadas com o auxílio de uma garrafa de Van Dorn, ou coletadas diretamente nos recipientes adequados sendo acondicionadas e preservadas para posterior análise conforme metodologia apresentada na tabela 3.

Tabela 3: Metodologias adotadas para as análises físicas, químicas e biológicas da água do rio Monjolinho e seus tributários no presente estudo.

Variáveis	Unidades	Metodologia	Referência
Temperatura	°C	Multisensor Horiba U-20	-
Turbidez	UNT		
pH	-		
Condutividade	µS/cm		
Oxigênio dissolvido	mg/L		
Material em suspensão total (MST), orgânico (MSO) e inorgânico (MSI).	mg/L	Gravimetria em filtros GF/C milipore (45µm)	Teixeira <i>et al.</i> , (1968)
Nitrito (NO ₂) e Nitrato (NO ₃)	µg/L	Espectrofotometria	Machereth <i>et al.</i> (1978)
Íon Amônio (NH ₄)	µg/L	Espectrofotometria	Koroleff (1976)
Nitrogênio Orgânico Total (NOT)	mg/L	Espectrofotometria	APHA (1995)
Fosfato total dissolvido (PO ₄), fosfato inorgânico (PI) e fósforo total (PT).	µg/L	Espectrofotometria	Strickland & Parson (1960)
Silicato (SiO ₂)	mg/L	Espectrofotometria	Golterman (1978)
Sulfeto (SO ₂), Sulfato (SO ₃), Íon Cloreto e Demanda química de oxigênio (DQO)	mg/L	Kit-Hatch	USEPA (1995)
Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO 20,5)	mg/L	Titulometria	APHA (1995)
Coliformes	NMP	Colorimétrico (collilert)	APHA (1995)
Clorofila <i>a</i>	mg/L	Espectrofotometria	Nush (1980)

5.3.1 – Metais totais

As amostras de água coletadas para as análises de metais totais foram acondicionadas em garrafas plásticas com capacidade para 1L. A metodologia seguida foi a descrita em APHA (1995), que consiste na fixação das amostras em campo com 1,5ml de ácido nítrico concentrado. Em laboratório, as amostras foram concentradas até 100ml, com auxílio de uma placa aquecedora em capela. No decorrer do processo, foram adicionados 5 ml de ácido nítrico por amostra. O material concentrado foi filtrado e introduzido em balões volumétricos de 100ml. Completou-se o volume para 100ml e foi realizada a leitura dos metais totais em espectrofotômetro de absorção por chama (modelo SpectrAA 220, Varian). Os resultados de cobre, cádmio e cromo foram expressos em µg/L e o resultado de ferro, manganês e zinco expressos em mg/L.

5.3.2 – Pesticidas organoclorados

As amostras de água foram coletadas em garrafas de vidro com capacidade para 1L. No campo foi adicionado às amostras ácido sulfúrico até que atingissem pH 2,0 ou próximo deste valor. Em laboratório foi feito o condicionamento na coluna C18, passando 10 ml de metanol e 10 ml de água milli-Q. Foram aguardadas 10 horas para a passagem da amostra. A extração de organoclorados consiste na passagem de 1L da amostra através de um cartucho de C 18 (1 grama) eluídos com 10 ml de hexano. O extrato foi concentrado para 1 ml e foi feita a determinação por CE/ECD (LANÇAS, 1997).

5.4. Análises físicas e químicas do sedimento

As amostras de sedimento para a realização das análises físicas e químicas (Tabela 4), foram obtidas com uma draga do tipo Eckman-Birge, com três réplicas por ponto, sendo imediatamente homogêneas e acondicionadas em potes plásticos de 1L. Em alguns pontos de coleta o material foi coletado com auxílio de uma pá plástica, diretamente sobre os potes. Estes permaneceram em temperatura ambiente para secagem e análises posteriores.

Tabela 4: Metodologias utilizadas para as análises físicas e químicas das amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários no presente estudo.

Variáveis	Metodologia	Referência
Matéria orgânica (%)	Incineração	Trindade (1980)
Granulometria (%)	Peneiramento e decímetro	ABNT (1968)
Fósforo total (µg/g)	Espectrofotometria	Andersen (1976)
Nitrogênio orgânico total (%)	KJEDHAL	APHA (1995)

5.4.1 – Metais potencialmente biodisponíveis

Para a quantificação dos metais biodisponíveis, foi utilizada a metodologia descrita em SILVÉRIO (1999). O procedimento metodológico consistiu em pesar 1g de sedimento, transferi-lo a um erlenmeyer e adicionar 25 ml de ácido clorídrico 0,1N. Esta mistura foi levada à mesa agitadora a 200rpm, onde permaneceu 2 horas. Posteriormente, a suspensão foi filtrada em membrana de acetato de celulose 0,45µm e a amostra diluída em balão volumétrico de 100ml. A leitura foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica por chama (modelo SpectrAA 220, Varian). Os resultados foram expressos em mg/Kg de sedimento seco.

5.4.2 – *Pesticidas organoclorados*

Para a extração de organoclorados foi utilizada a técnica Soxhlet. Adicionou-se o volume de 150 ml de hexano tratado a 10 g de sedimento *in natura*. O sistema permaneceu em extração por 8 horas. Em seguida, o extrato foi evaporado em um reataevaporador até 1 ml e realizou-se o *clean up* das amostras com 2,0 g de florizil ativados. A eluição foi realizada com 10 ml de hexano que em seguida foram evaporados até 1ml em fluxo de nitrogênio para análise de aldrin, endossulfan sulfato e heptachlor por GC/ECD (LANÇAS, 1997; DEL GRANDE, 2000).

5.5 – *Análise de discriminantes*

A análise estatística foi realizada utilizando-se os dados obtidos nos quatro períodos de amostragem (julho/03, outubro/03, janeiro/04 e abril/04). Nesta análise verificou-se a influência das variáveis ambientais sobre determinados pontos ou grupos de pontos de coleta, através da realização de uma análise de discriminantes. Esta análise foi baseada em matriz de co-variância das variáveis transformadas em distância de Mahalanobis, possibilitando a observação gráfica da distância entre os grupos e entre os indivíduos dentro dos respectivos grupos. O *software* utilizado foi o xistat Addin, versão 5.2 (LEGENDRE, 1983).

5.6 - *Estudos ecotoxicológicos*

5.6.1. *Organismos-teste e manutenção*

No presente estudo, foram utilizadas duas espécies de peixe na fase juvenil e, a fase adulta foi utilizada em testes de toxicidade com amostras de água e nos testes de toxicidade *in situ*, a fim de se comparar as respostas nas diferentes fases de vida de ambas as espécies.

A espécie *Danio rerio* (Cypriniformes, Ciprinidae) foi escolhida por estar padronizada para estudos de toxicidade pela ABNT (1993 e 2003); IBAMA (1990) e CETESB (1990 e 1994), além de ser considerada de fácil manutenção em laboratório e obtenção no comércio a baixos custos, existindo vasta bibliografia sobre a sua biologia.

A outra espécie, *Poecilia reticulata* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae), embora não tenha uma norma brasileira específica para a sua utilização em testes de toxicidade, é uma espécie recomendada por norma brasileira (IBAMA, 1990), além de ser encontrada no ambiente de estudo. É de fácil cultivo, reprodução e aquisição comercial a baixos custos,

além de ser uma espécie bastante estudada morfológica e fisiologicamente (MEFFE & SNELSON, 1989).

Uma vez que a espécie *P. reticulata* é vivípara, não apresentando a fase larval, optou-se por utilizar a fase juvenil de ambas as espécies, possibilitando uma análise comparativa dos resultados.

Para a espécie *D. rerio*, a fase juvenil foi identificada de acordo com o tamanho dos organismos, seguindo-se a correlação tamanho com a maturação gonadal estabelecida por MAACK & SEGNER (2003). Segundo os autores, o comprimento entre 0,5 cm a 1,5 cm são considerados juvenis, uma vez que não há diferenciação gonadal. Esta fase inicia-se com 7 dias e permanece por 5 semanas. A partir desta, já observa-se diferenciação e maturação gonadal. Com 12 semanas, os organismos já estão totalmente maduros e são considerados adultos (valor médio de 2,2 cm de comprimento).

Quanto à espécie *P. reticulata*, foi registrado o comprimento dos organismos e posterior confirmação histológica das gônadas, confirmando-se os dados obtidos por THIBALT & SCHULTZ (1978). Estes dados demonstram que de 0,70cm a 2,1cm não há diferenciação gonadal (aproximadamente 50 dias de vida), sendo os organismos considerados juvenis.

Os organismos-teste foram mantidos separadamente em aquários de 25 litros com metade do volume composto pela água do próprio cultivo e outra parte com água de manutenção recomendada pelas normas da ABNT (1993). A substituição de 1/3 da água foi feita gradativamente por água reconstituída, a cada 24h, e a aeração foi mantida constantemente.

Os peixes foram alimentados com ração comercial Tetramim®, a qual foi suspensa 24h antes da realização dos testes de toxicidade.

5.6.2. Teste de sensibilidade

Cada lote de organismos teve a sensibilidade avaliada pelo uso de uma substância de referência, o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), buscando-se avaliar a saúde dos organismos-teste. Desta maneira foi possível assegurar que as mortalidades nos bioensaios foram decorrentes da toxicidade das amostras e não relativa aos problemas intrínsecos dos organismos. A biometria inicial dos lotes e a correlação peso comprimento foi averiguada.

Os testes de sensibilidade foram realizados pela exposição dos organismos-teste a diferentes concentrações de dicromato de potássio, buscando-se encontrar a concentração

letal a 50% dos organismos (CL(I)50) em um curto intervalo de tempo, que variou de 48h a 96h (ABNT, 1993; ABNT 2003) (Figura 3).

Os organismos-teste *D. rerio* foram expostos ao dicromato de potássio por um período de 96h, em regime estático, com base em concentrações determinadas para adultos e larvas, em trabalhos relatados na literatura (TONISSI, 1999; FRACÁCIO, 2001). Para a espécie *P. reticulata* foi estabelecida uma faixa de sensibilidade para os juvenis em 48h de exposição, em regime estático, com a faixa de sensibilidade determinada no presente estudo, com base nas normas da ABNT (2003).



Figura 3: Teste de sensibilidade com dicromato de potássio, com destaque para a espécie *P. reticulata* juvenil.

5.6.3 – Testes de toxicidade crônicos parciais com amostras ambientais

Sedimento

As amostras de sedimento foram coletadas com auxílio de uma draga do tipo Eckman-Birge, em três réplicas, as quais foram homogeneizadas e acondicionadas em recipientes plásticos com capacidade para 2L. As amostras foram mantidas em geladeira a 4°C por no máximo 30 dias, para posterior montagem dos testes. Estes foram realizados em julho/03, outubro/03, janeiro/04 e abril/04 apenas para os pontos de coleta do rio Monjolinho e com a fase juvenil de ambas as espécies.

A metodologia seguida foi a descrita em BURTON & MACPHERSON (1995), para larvas de peixes, adaptada para os juvenis. A metodologia consiste na manutenção da proporção 1:4 de sedimento e água reconstituída (ABNT, 1993), no caso 250g de sedimento e 1000 ml de água reconstituída, os quais foram montados em potes plásticos de 2L, forrados com sacos plásticos. Foram utilizadas 2 ou 3 réplicas, com 10 indivíduos em cada, de acordo com a disponibilidade dos mesmos (Figura 4). De acordo com as normas estabelecidas para testes de toxicidade (ABNT, 1993 e 2003), IBAMA (1990) e CETESB (1994), a água reconstituída apresentou valores de pH, condutividade e dureza coerentes

aos recomendados, sendo estas mesmas variáveis monitoradas a cada 48hs. A mortalidade foi avaliada a cada 24h e os organismos mortos retirados dos testes.

Os testes permaneceram em sala climatizada, com fotoperíodo 12h:12h claro/escuro, temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e aeração constante. A duração dos testes foi de 7 dias em regime estático. O controle foi montado apenas com água reconstituída, em volume correspondente a 1000ml. Nenhum dos sedimentos amostrados mostrou-se qualitativamente adequado para representar um controle do sistema.

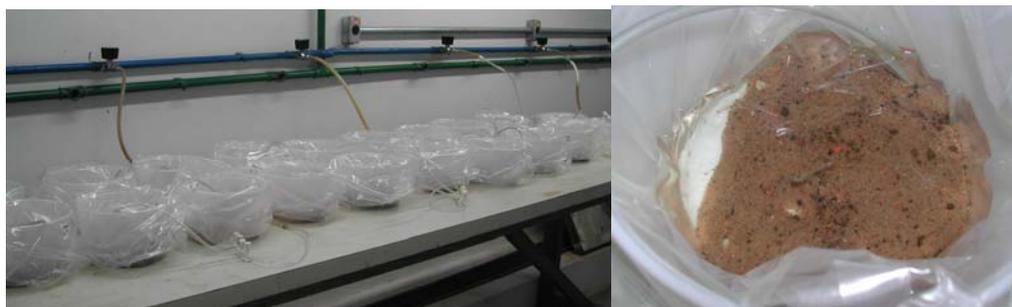


Figura 4: Teste de toxicidade com amostras de sedimento do rio Monjolinho. No destaque teste de toxicidade com sedimento utilizando como organismos-teste os juvenis de *P. reticulata*.

Água

As amostras de água para a realização dos bioensaios foram coletadas diretamente em galões plásticos com capacidade para 5L e preservadas em geladeira por no máximo 24hs após a data da coleta. Os organismos-teste utilizados foram adultos e juvenis de ambas as espécies.

Os testes de toxicidade crônica parcial com amostras de água seguiram as metodologias descritas em IBAMA (1990) e CETESB (1994) para larvas de *D. rerio*, adaptadas para organismos juvenis e adultos de *D. rerio* e de *P. reticulata*. Os testes foram montados utilizando-se duas réplicas com dez organismos em cada, incluindo o controle, o qual foi montado com água reconstituída (ABNT, 2003). Suportes plásticos rígidos, forrados com sacos plásticos transparentes, foram os recipientes testes (Figura 5).

Para os indivíduos adultos, utilizou-se recipiente com capacidade para 2L, no qual foi adicionado 1,5L de amostra. Para os juvenis foram utilizados potes de 1L, com 800ml de amostra, mantendo-se a relação 1g de peixe/L de água. A duração dos testes foi de sete dias, em condições estáticas, sob fotoperíodo, temperatura e oxigenação controlados (12:12-claro/escuro; $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e oxigenação constante). As medidas de pH,

condutividade e dureza foram realizadas no início, após 96hs e no final dos experimentos. A mortalidade foi avaliada a cada 24hs e os organismos mortos foram retirados dos testes.



Figura 5: Testes de toxicidade com amostra de água.

5.6.4. Testes de toxicidade aguda “in situ”

Os testes de toxicidade aguda (96h) *in situ* seguiram a metodologia descrita em BURTON (1992). Para tanto, as diferentes espécies nas fases adultas e juvenis foram aclimatadas em laboratório, sendo adicionados 10 organismos-teste em sacos plásticos contendo água reconstituída (ABNT, 2003) e com oxigênio para garantir a sobrevivência dos organismos-teste, os quais foram transportados até o rio Monjolinho no interior de caixas de isopor, evitando-se grandes variações de temperatura.

Para aclimação da temperatura, os sacos plásticos com os peixes permaneceram em contato com a água do rio Monjolinho por aproximadamente 20 minutos.

As armadilhas foram instaladas no rio com 24hs de antecedência possibilitando a diluição de possíveis resíduos contidos nos materiais utilizados na confecção das mesmas. As câmaras testes, com 20cm de comprimento, 7,5cm de diâmetro e capacidade para 900 ml de água, foram feitas com tubos de PVC, mantendo uma abertura superior, uma inferior e duas laterais (dispostas paralelamente), que foram preenchidas com telas de malha de 300 μ m com auxílio de cola atóxica (Figura 6). Três armadilhas foram amarradas em posição vertical às estacas de madeira e, posteriormente, fixadas no rio, mantendo contato direto com o sedimento. A cada conjunto de armadilhas, foram adicionadas as espécies em diferentes fases, totalizando três réplicas (com 10 ind/câmara), em cada ponto de amostragem (Figura 7).

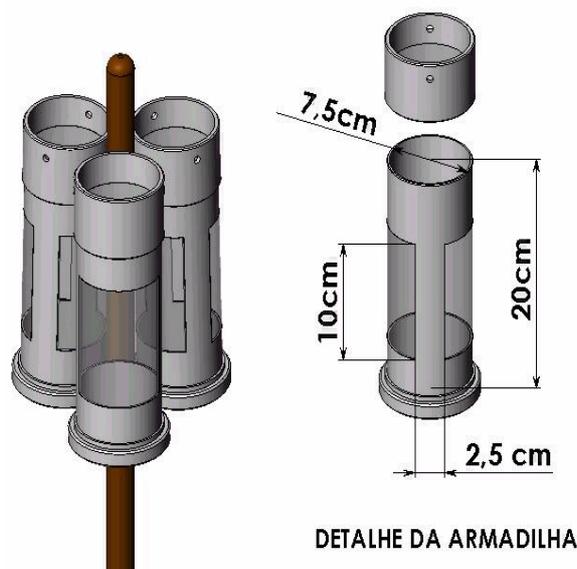


Figura 6: Representação esquemática das armadilhas utilizadas para a realização dos testes *in situ*, no rio Monjolinho.

Os testes de toxicidade *in situ* foram realizados apenas nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04). Porém, em decorrência do grande volume de chuvas em janeiro/04, as armadilhas foram perdidas e os testes foram repetidos em abril/04. Neste período, foram utilizadas duas réplicas em decorrência da menor disponibilidade de organismos.

A duração dos experimentos foi de 96hs, uma vez que pela ausência de registros de teste *in situ* com peixes neste rio, optou-se por avaliar os efeitos dos ambientes a um curto período de exposição. Além disso, os custos para o monitoramento em períodos de exposição crônica seria maior, considerando a grande distância onde os mesmos foram montados, além dos riscos de roubo e perda das armadilhas.

As variáveis pH, condutividade, oxigênio dissolvido e temperatura da água, foram medidas no início e ao final dos testes, através do medidor portátil Horiba-U10. A mortalidade foi avaliada após 96h da montagem dos testes.

Optou-se por montar os testes somente em três pontos de coleta representativos do rio Monjolinho, uma vez que mais pontos acarretaria estresse aos organismos-teste, considerando-se as distâncias entre os mesmos e tempo de montagem em cada local. Nos pontos Nascente e Confluência foram montados os testes em julho/03 e em abril/04. O ponto intermediário, em julho/03, foi o Ponte Caída. Porém, em decorrência do difícil acesso e intensas chuvas em abril/04, optou-se por escolher um outro ponto, que foi o

UFSCar, por já apresentar impactos urbanos e ter uma profundidade da coluna de água suficiente para manter os recipientes-teste submersos.

Considerando a ausência de locais não impactados, optou-se em utilizar um Controle laboratorial, em regime estático, com água reconstituída.



Figura 7: Realização dos testes de toxicidade *in situ* no rio Monjolinho (1-armadilhas sendo presas a estaca de madeira; 2-armadilhas em número de três para cada espécie; 3-aclimatação dos organismos teste no ambiente ao qual ficariam expostos; 4-introdução dos organismos-teste nas armadilhas; 5- armadilhas no ambiente e retirada após 96hs; 6-avaliação fina e coleta dos organismos com auxílio de uma bandeja plástica e água do próprio ambiente).

5.6.5. Testes de toxicidade com o metal cádmio

A escolha do metal cádmio, para a realização de testes de toxicidade aguda e crônica parcial, foi em decorrência de análise de algumas amostras de água do rio Monjolinho, as quais apresentaram concentrações deste metal acima do limite máximo recomendado pelo CONAMA 357/05, de $0,1 \mu\text{g/L}$, para a proteção da vida aquática.

O sal utilizado foi o cloreto de cádmio ($\text{CdCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), da marca Baker J.T. com peso molecular de 228,34. Através de cálculos de peso molecular, utilizou-se a toxicidade referente apenas ao metal cádmio, com as concentrações expressas em $\mu\text{g/L}$.

Foram realizados testes de toxicidade aguda estáticos de 96hs apenas para juvenis da espécie *D. rerio*, seguindo-se a metodologia descrita na ABNT (1993), buscando-se determinar a faixa de sensibilidade ao cádmio para os juvenis (USEPA, 1985). Para tanto, utilizou-se o programa computacional Trimmed Spearman-Kärber para a determinação da concentração letal a 50% dos organismos-teste (CL(I)50,96h) calculando-se as concentrações limites, inferior e superior, com 95% de confiança (HAMILTON *et al.*, 1977).

Posteriormente, foram realizados testes de toxicidade crônicos parciais, em regime estático (substância não volátil), seguindo-se a metodologia descrita em IBAMA (1990) e CETESB (1994) para larvas de *D. rerio*, adaptadas para juvenis, com três réplicas e 10 organismos no controle e em cada uma das 4 concentrações, partindo da menor concentração de efeito não observado, dos testes agudos, e dividindo os valores pelo fator 10, incluindo a concentração próxima a da permitida pelo CONAMA 357/05 para a proteção da vida aquática. A mortalidade e as variáveis pH, condutividade e dureza foram monitoradas a cada 24hs.

Os testes foram montados em recipientes plásticos, com capacidade para 1L, forrados com sacos plásticos transparentes, adicionando-se 500ml de soluções testes por réplica, mantendo-se a proporção 1g de peixe/litro de água. Os testes foram mantidos em sala climatizada com fotoperíodo 12h:12h claro/escuro, temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e aeração constante.

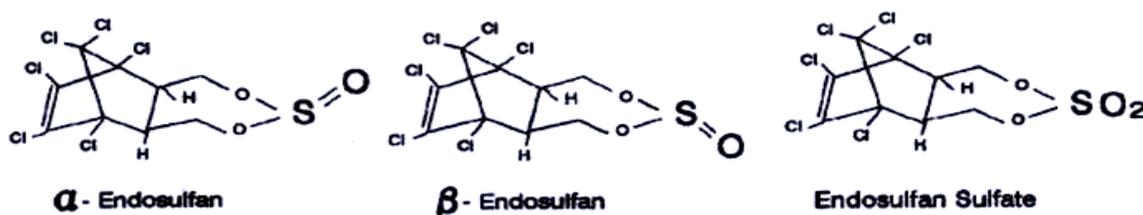
Durante os testes e 24h antes da montagem dos mesmos, foi suspensa a alimentação dos organismos-teste.

5.6.6. Testes de toxicidade com o organoclorado endossulfan sulfato.

A escolha do organoclorado endossulfan sulfato para a realização de testes de toxicidade aguda e crônica parcial foi em decorrência de algumas amostras de água, no sistema Monjolinho, terem apresentado concentrações acima do limite máximo recomendado pelo CONAMA 357/05, de $0,056\mu\text{g/L}$, para a proteção da vida aquática. Além disso, dos pesticidas avaliados é o único que ainda tem o uso permitido por lei no Brasil.

Este organoclorado é constituído por dois isômeros, o α e o β , os quais apresentam uma meia vida de aproximadamente 24hs. Ao sofrerem degradação, ambos os isômeros permanecem na forma de endossulfan sulfato, o qual é mais persistente com um tempo de meia vida de dois a sete dias, dependendo das condições de temperatura e pH do ambiente

(ANTONIOUS & BIER, 1997). Por este motivo, optou-se por trabalhar com o endossulfan sulfato (Figura 8).



Fonte: ANTONIOUS & BIER, 1997

Figura 8: Estrutura molecular dos isômeros α e β e do resíduo endossulfan sulfato.

Para a montagem dos testes, foi obtido comercialmente na empresa SUPELCO, o padrão puro de endossulfan sulfato, P.A: 16823-0048. Por ser insolúvel em água, utilizou-se como solvente acetona P.A, a qual serviu de veículo de dispersão deste composto na água reconstituída dos testes agudos e crônicos parciais (IBAMA, 1990). Foram realizados testes de toxicidade agudos semi-estáticos, com trocas a cada 24h e duração de 96hs, apenas para juvenis da espécie *D. rerio*, seguindo-se a metodologia descrita na ABNT (2003). O objetivo destes testes foi determinar a faixa de sensibilidade ao endossulfan (USEPA, 1994). Para tanto utilizou-se o programa computacional Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.*, 1977) para a determinação da concentração letal a 50% dos organismos-teste (CL(I)50,96h) calculando-se as concentrações limites, inferior e superior, com 95% de confiança (USEPA, 1985).

Posteriormente, foram realizados testes de toxicidade crônicos parciais, em regime semi-estático, com trocas a cada 24h, seguindo-se a metodologia descrita em IBAMA (1990) e CETESB (1994), para larvas de *D. rerio*, adaptadas para a fase juvenil. Foram utilizadas quatro réplicas com 10 organismos em cada concentração (Figura 9). Além dos controles com água reconstituída, foram montados controles contendo acetona com a concentração máxima correspondente à utilizada em teste, não ultrapassando 100 $\mu\text{l/L}$ de acordo com recomendações da norma IBAMA (1990).

Nos testes crônicos parciais, partiu-se da menor concentração de efeito não observado dos testes agudos, dividindo os valores pelo fator 10, incluindo a concentração próxima a da permitida pelo CONAMA 357/05 para a proteção da vida aquática.

A mortalidade e as variáveis pH, condutividade e dureza foram monitoradas a cada 24h. Os testes foram montados em recipientes plásticos, com capacidade para 1L, forrados

com sacos plásticos transparentes, adicionando-se 500 ml de soluções testes por réplica. Os testes foram mantidos em sala climatizada com fotoperíodo 12h:12h claro/escuro, temperatura constante de $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e aeração constante.

Durante os testes e 24h antes da montagem dos mesmos, foi suspensa a alimentação dos organismos-teste.



Figura 9: Testes de toxicidade com o endossulfan, com 4 réplicas por concentração, além do controle e do controle + acetona.

5.6.7. Avaliação dos resultados de toxicidade

Ao final dos testes de toxicidade crônica parcial com amostras ambientais (água e sedimento), com o metal cádmio e com o organoclorado endossulfan sulfato, com organismos juvenis, foram considerados e avaliados os efeitos sobre:

- **Mortalidade:** Ao final dos testes crônicos, foi contado o número de organismos mortos dos controles e de cada ponto de coleta. Através do teste exato de Fisher (AYRES *et al.*, 2000), foram comparadas as proporções de organismos mortos e vivos do controle com as detectadas em cada ponto. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativamente diferentes, demonstrando a toxicidade do ponto. Esta análise também foi aplicada para os organismos adultos expostos aos testes com amostras de água e aos testes de toxicidade *in situ*;
- **Sobrevivência:** Nos testes de toxicidade crônica parcial com cádmio e endossulfan sulfato foram consideradas as porcentagens de sobrevivência, uma vez que as concentrações são conhecidas, utilizando-se a análise acima descrita. Para estes testes, calcularam-se a CEO (menor concentração do agente químico que causa efeito deletério, estatisticamente significativo), a CENO (maior concentração do agente químico que não causa efeito deletério, estatisticamente significativo) e o valor crônico (VC), correspondente a média geométrica entre a CEO e a CENO (IBAMA, 1990);

- **Avaliação biométrica final:** o peso fresco (g) e o comprimento total (mm), tomados individualmente dos organismos sobreviventes, nos diferentes tratamentos foram comparados às mesmas variáveis do grupo controle, através da aplicação da análise de variância Kruskal-Wallis (Ayres *et al.*, 2000). Registrou-se os valor do teste (KW) e os valores de p que, abaixo de 0,05 foram considerados significativos. Neste caso, foi aplicado um pós-teste, o qual revelou qual ponto, em relação ao controle, apresentou diferença significativa para peso e/ ou comprimento. Esta análise não foi aplicada aos organismos sobreviventes nos testes *in situ*, devido ao tempo curto de exposição e nem aos organismos adultos dos testes com amostras de água, uma vez que nessa fase o crescimento menos acelerado. Nos testes com cádmio e endossulfan, foram calculados a CEO,CENO e o valor crônico (VC) acima descritos (IBAMA, 1990);
- **Análise histológica de brânquias:** após a realização das biometrias, os organismos-teste foram fixados em líquido de Bouin por 18hs e lavados em água corrente por 24h permanecendo em álcool 70% até o momento da desidratação. Seguiu-se o procedimento recomendado de desidratação e diafanização para a inclusão dos organismos em parafina. Foram realizados cortes seriados de 4 a 6 µm de espessura com navalha de aço em micrótomo (Micron HM 340E). A coloração utilizada foi hematoxilina-eosina (HE) e a avaliação dos tecidos branquiais foi feita através de microscópio de luz. O tipo e o grau das alterações foram classificados segundo POLEKSIC & MITROVIC-TUTUNDIZC (1994) (Tabela 5). Em relação aos testes com amostras ambientais, só foram realizadas histologia dos organismos expostos aos testes do período seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04). Considerando-se os testes *in situ*, apesar de terem sido agudos, foi avaliada a histologia dos organismos sobreviventes para melhor compreensão da dinâmica do ambiente de estudo.

Tabela 5: Principais alterações branquiais e estágio da lesão correspondente, segundo Polecsik & Mitrovic-Tutundizc (1994).

LESÕES BRANQUIAIS	ESTÁGIO
Hipertrofia do epitélio respiratório	I
Desprendimento da células do epitélio	I
Infiltração de leucócitos no epitélio branquial	I
Adelgamento do epitélio	I
Ruptura e desprendimento do epitélio branquial	II
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
Adensamento tecidual em decorrência da proliferação celular	II
Diminuição no tamanho das lamelas secundárias	I
Fusão completa de todas as lamelas secundárias	II
Hiperplasia e hipertrofia das células mucosas	I
Esvaziamento ou desprendimento das células mucosas	I
Hipertrofia e hiperplasia das células cloreto	I
Presença de células cloreto nas lamelas secundárias	I
Espessamento dos vasos sanguíneos	I
Hemorragias com a ruptura dos tecidos	II
Parasitas nas brânquias	I
Fibrose	III
Necrose	III

I-Lesão de primeiro estágio (reversível); **II**-lesão de segundo estágio (podem ou não serem reversíveis) e **III**-lesões de terceiro estágio (irreversíveis).

6.RESULTADOS

6.1 – Variáveis hidrológicas

6.1.1 – Vazão

De acordo com os resultados obtidos, as menores vazões foram registradas no ponto Nascente (valor mínimo de 0,012 m³/s – janeiro/04 e máximo de 0,26 m³/s – outubro/03) e as maiores vazões, nos diferentes períodos, foram obtidos no ponto Confluência (valor máximo de 3,36 m³/S, em julho/03 e valor mínimo de 1,27 m³/S em abril/04). Em geral, pode-se verificar um aumento dos valores das vazões da Nascente em direção a Confluência do rio Monjolinho (Figura 9 A - Anexo1, Tabela 47). Dentre os tributários o córrego Santa Maria Madalena foi o que apresentou as maiores vazões nos períodos seco e chuvoso, com valores de 0,69 m³/S e 1,63 m³/S, respectivamente. No

córrego do Tijuco, em ambos os períodos foram registradas as menores vazões correspondentes a $0,043 \text{ m}^3/\text{s}$ – julho/03 e $0,06 \text{ m}^3/\text{s}$ em janeiro/04 (Figura 10B Anexo1, Tabela 47).

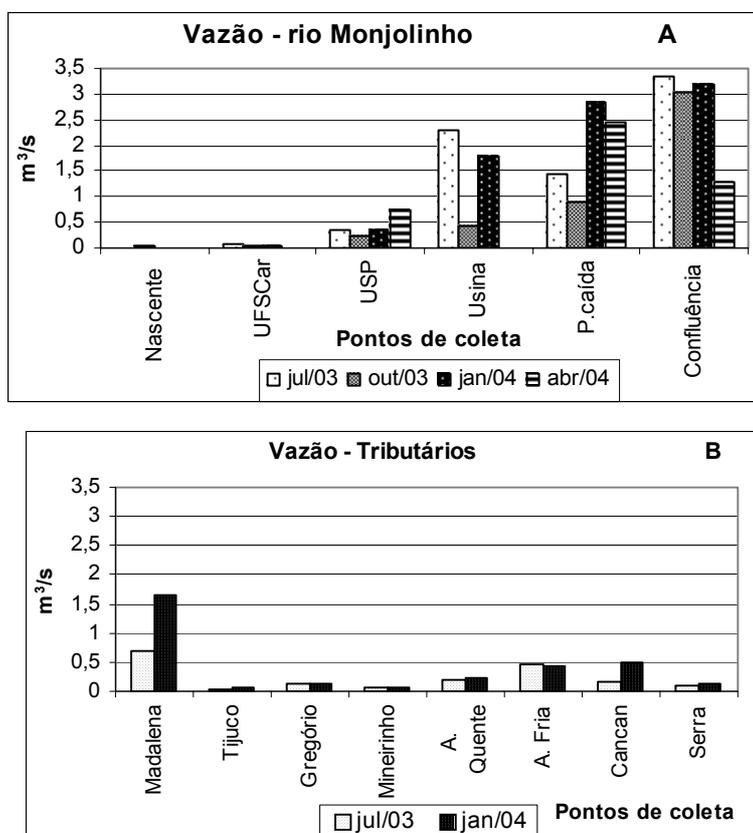


Figura 10: Valores de vazão (m^3/s) nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.2 – Variáveis limnológicas

6.2.1 – Condutividade elétrica

Os valores de condutividade no rio Monjolinho aumentaram da Nascente em direção à Confluência nos diferentes períodos de amostragem. Os maiores valores foram registrados em julho/03, com o mínimo de $10 \mu\text{S}/\text{cm}$ (Nascente) e o valor máximo de $179 \mu\text{S}/\text{cm}$ (Confluência), com exceção do ponto UFSCar (máximo de $58 \mu\text{S}/\text{cm}$ em outubro/03). Em abril/04 foram obtidos os menores valores de condutividade para todos os pontos do rio Monjolinho, com o menor valor correspondente a $8 \mu\text{S}/\text{cm}$ na Nascente e o maior valor igual a $116 \mu\text{S}/\text{cm}$ na Confluência (Figura 10 A, Anexo1-Tabela 48). Nos tributários os valores máximos também ocorreram em julho/03, sendo mais elevado no córrego Gregório ($290 \mu\text{S}/\text{cm}$), Água Quente ($212 \mu\text{S}/\text{cm}$) e Tijuco Preto ($198 \mu\text{S}/\text{cm}$).

Neste período o valor mínimo detectado foi de 20 μ S/cm no córrego Água Fria. Em janeiro/04, registrou-se uma redução nos valores de condutividade em todos os tributários, com valor mínimo de 17 μ S/cm no córrego Água Fria e máximo de 229 μ S/cm no córrego Gregório (Figura 11 B, Anexo1-Tabela 48).

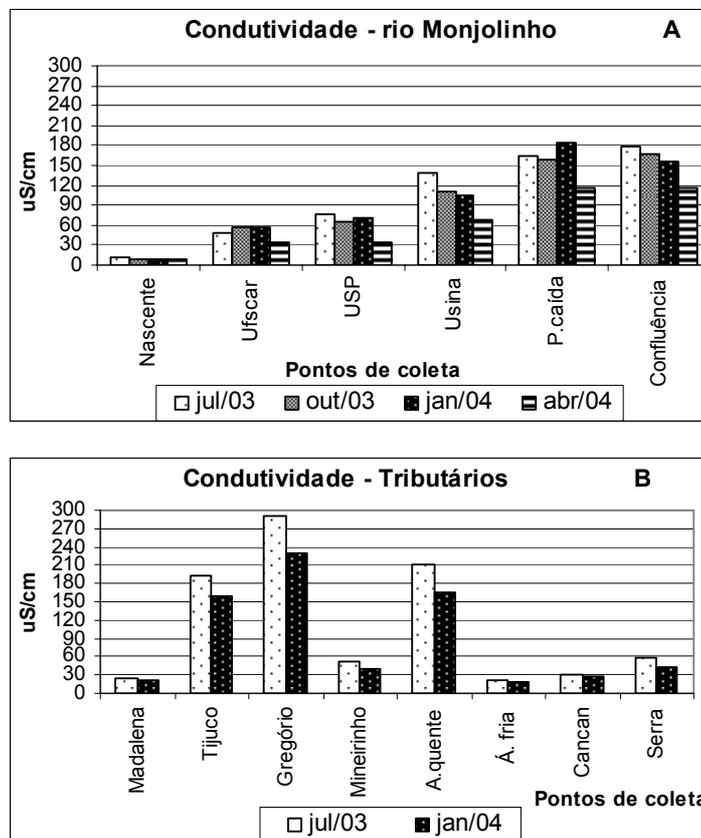


Figura 11: Valores de condutividade da água (μ S/cm) nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.2.2 – pH

Os valores de pH registrados na Nascente e UFSCar revelaram uma característica levemente mais ácida em comparação aos demais pontos de coleta. O valor mínimo, em ambos os pontos, foi registrado em janeiro/04, correspondente a 4,47 e 5,54, respectivamente, e os valores máximos foram de 6,13 e 6,63, respectivamente, registrados em outubro/03. Nos demais pontos de coleta os valores de pH detectados permaneceram na faixa de 6,2 (Confluência - abril/04) a 7,35 (Confluência – janeiro/04), nos diferentes períodos de amostragem. Em geral, os valores mínimos de pH no rio Monjolinho foram registrados em abril/04, com exceção da Nascente e UFSCar, e os valores máximos em

julho/03. Quanto aos tributários, os menores valores de pH em ambos os períodos, ocorreram no córrego Santa Maria Madalena com valores correspondentes a 5,06 em jan/04 e 5,69 em jul/03. No mês de julho/03 foram registrados os maiores valores de pH, com o máximo de 7,47 nos córregos Água Quente e Água Fria e em janeiro/04 notou-se uma diminuição dos valores. Os valores de pH dos pontos de coleta do rio Monjolinho e de seus tributários estiveram dentro dos limites estabelecidos para a proteção da vida aquática em rios de classe 2, com exceção da Nascente, UFSCar e Córrego Santa Maria Madalena, conforme apresentado na figura 12 (A e B) - Anexo1-Tabela 49.

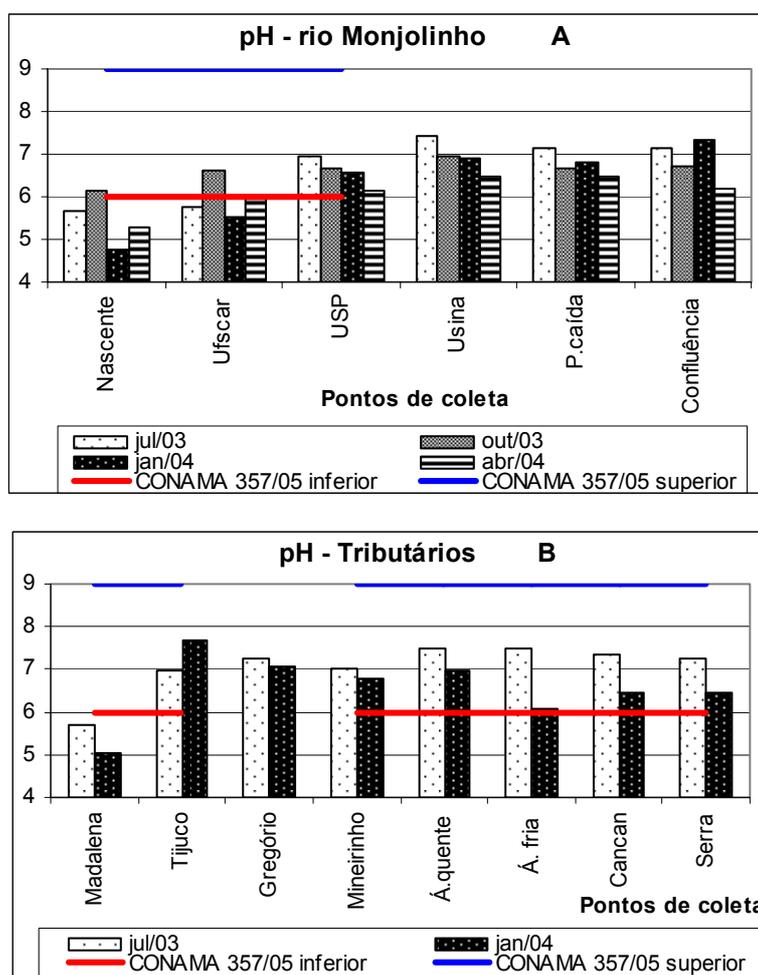


Figura 12: Valores de pH obtidos nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com seus limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05.

6.2.3 – Turbidez

No rio Monjolinho foram registrados valores máximos de turbidez em julho/03 para UFSCar (13 UNT), USP (13 UNT) e Usina (87 UNT). Para os pontos de coleta Ponte

Caída e Confluência, os maiores valores (57,6 UNT e 47,3 UNT) ocorreram em janeiro/04. O valor mínimo de turbidez, considerando-se os quatro períodos de amostragem, foi de 6 UNT em janeiro/04 para UFSCar e USP. Dentre os tributários, o valor máximo de 344 UNT em julho/03, foi obtido no córrego Gregório, seguido pelo córrego Água Quente, com valor de 175 UNT em janeiro/04. Os menores valores foram registrados no córrego do Tijuco (3 UNT-janeiro/04) e Mineirinho (5 UNT – julho/03) (Anexo1-Tabela 50).

6.2.4 – Oxigênio dissolvido

A concentração mínima permitida para a proteção da vida aquática é de 5 mg/L para rios de classe 2, segundo CONAMA 357/05. O ponto de coleta UFSCar apresentou valores abaixo do recomendado em outubro/03, com o valor de 2,7 mg/L e em janeiro/04, com valor correspondente a 3,29 mg/L. No ponto USP, em julho/03 e em outubro/03, os valores registrados também permaneceram abaixo do limite (4,38 mg/L e 4,66 mg/L, respectivamente). O ponto de coleta Ponte Caída destacou-se por apresentar nos diferentes períodos concentrações abaixo de 5 mg/L, com o valor mínimo de 1,56 mg/L em janeiro/04, o menor valor registrado no estudo (e abaixo do permitido para rios de classe 4, segundo CONAMA 357/05), e o valor máximo de 4,29 mg/L em abril/04 (Figura 12 A, Anexo1-Tabela 51). Dentre os tributários, o menor valor foi registrado no córrego do Gregório (3,27 mg/L, em julho/03) e o valor máximo de 17,18 mg/L no córrego Serra, em julho/03. Pode-se observar que nos tributários, nos diferentes períodos de coleta, os valores obtidos permaneceram acima de 5 mg/L de oxigênio, com exceção do córrego Gregório (Figura 13 B, Anexo1-Tabela 51).

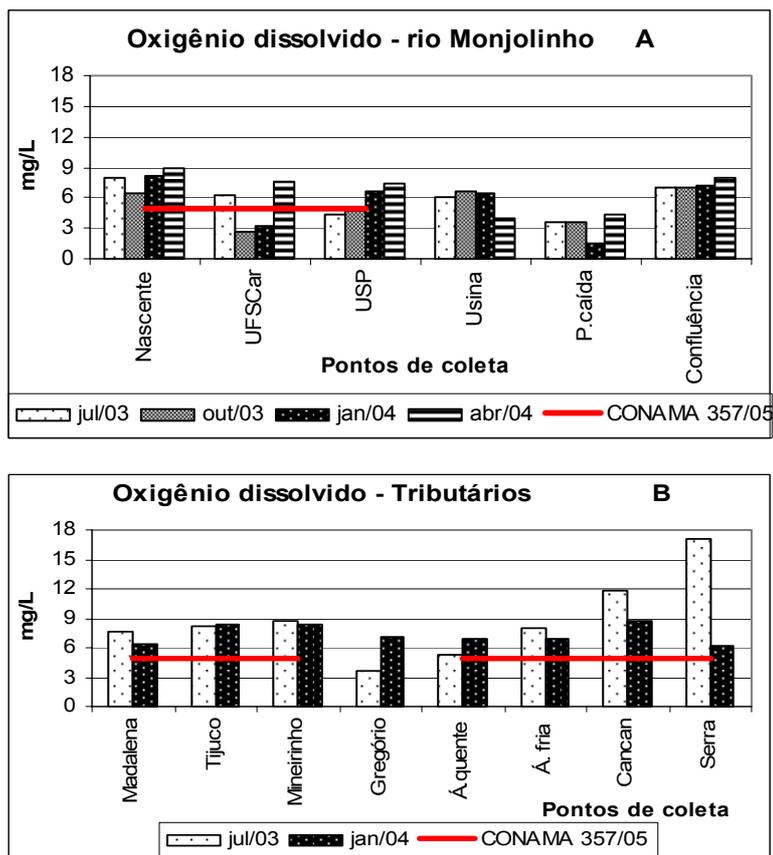


Figura 13: Valores de oxigênio dissolvido obtidos nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05.

6.2.5 – Temperatura

No rio Monjolinho (Figura 14 A, Anexo1-Tabela 52) as temperaturas mais elevadas foram registradas em janeiro/04, com o valor máximo de 25,2 °C (no ponto de coleta UFSCar) e mínimo de 20,4 °C (na Nascente). Os menores valores de temperatura foram obtidos em julho/03, com o valor mínimo registrado na Nascente (18,6°C) e o máximo de 21,8°C no ponto Usina. Quanto aos tributários verificou-se, em geral, as menores temperaturas em julho/03, com o valor mínimo de 17,5 °C no córrego Santa Maria Madalena e o máximo de 23,8 °C no córrego Água Quente. Em janeiro/04, a temperatura máxima registrada foi de 24,1 °C no córrego Gregório e a temperatura mínima foi 21,2 °C nos córregos Madalena e Mineirinho (Figura 14 B, Anexo1-Tabela 52).

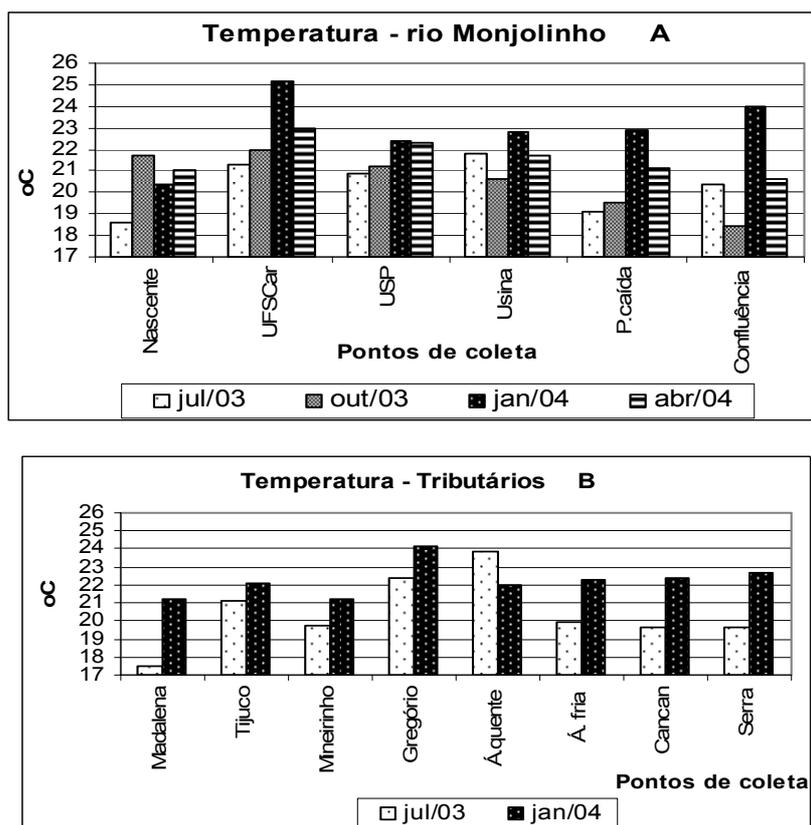


Figura 14: Valores de temperatura da água nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.2.6 – Material em suspensão total (MST), orgânico (MSO) e inorgânico (MSI)

Os resultados de material em suspensão revelaram a maior contribuição de material inorgânico em julho/03 e em janeiro/04 nos diferentes pontos. No rio Monjolinho, o ponto de coleta Ponte Caída apresentou as maiores concentrações de material inorgânico nos períodos seco e chuvoso (23,6 mg/L e 34,02 mg/L, respectivamente). Neste local também foram obtidas as maiores concentrações de material orgânico (23,5 mg/L-julho/03 e 26,44 mg/L -janeiro/04). As menores concentrações de material orgânico foram detectados na Nascente (1,01mg/L e 1,48 mg/L, em julho/03 e janeiro/04, respectivamente). Considerando-se os períodos intermediários (em outubro/03), os valores máximos de material orgânico e inorgânico foram registrados na Confluência (26,26 mg/L e 13,53 mg/L, respectivamente). Neste período os valores mínimos de material inorgânico (0,81 mg/L) e de material orgânico (1,65 mg/L) foram obtidos na Nascente. Este ponto de coleta, em abril/04 apresentou as menores concentrações de material orgânico e inorgânico (1,83 mg/L e 0,53 mg/L, respectivamente), sendo que as maiores concentrações de material orgânico (21,13 mg/L) e de material inorgânico (8,28 mg/L) ocorreram no ponto Usina em

abril/04 (Figura 15A, Anexo1-Tabela 57). Considerando-se os tributários, pode-se verificar que a maior contribuição de material em suspensão inorgânico sobre o material orgânico, com exceção dos córregos Tijuco e Mineirinho, ocorreram em janeiro/04. No córrego Água Quente obteve-se as concentrações mais elevadas de material inorgânico (35,9 mg/L em julho/03 e 105 mg/l em janeiro/04) e material orgânico, em ambos os períodos (34,76 mg/L - julho/03 e 25,06 mg/L - janeiro/04) (Figura 15 B, Anexo1-Tabela 57).

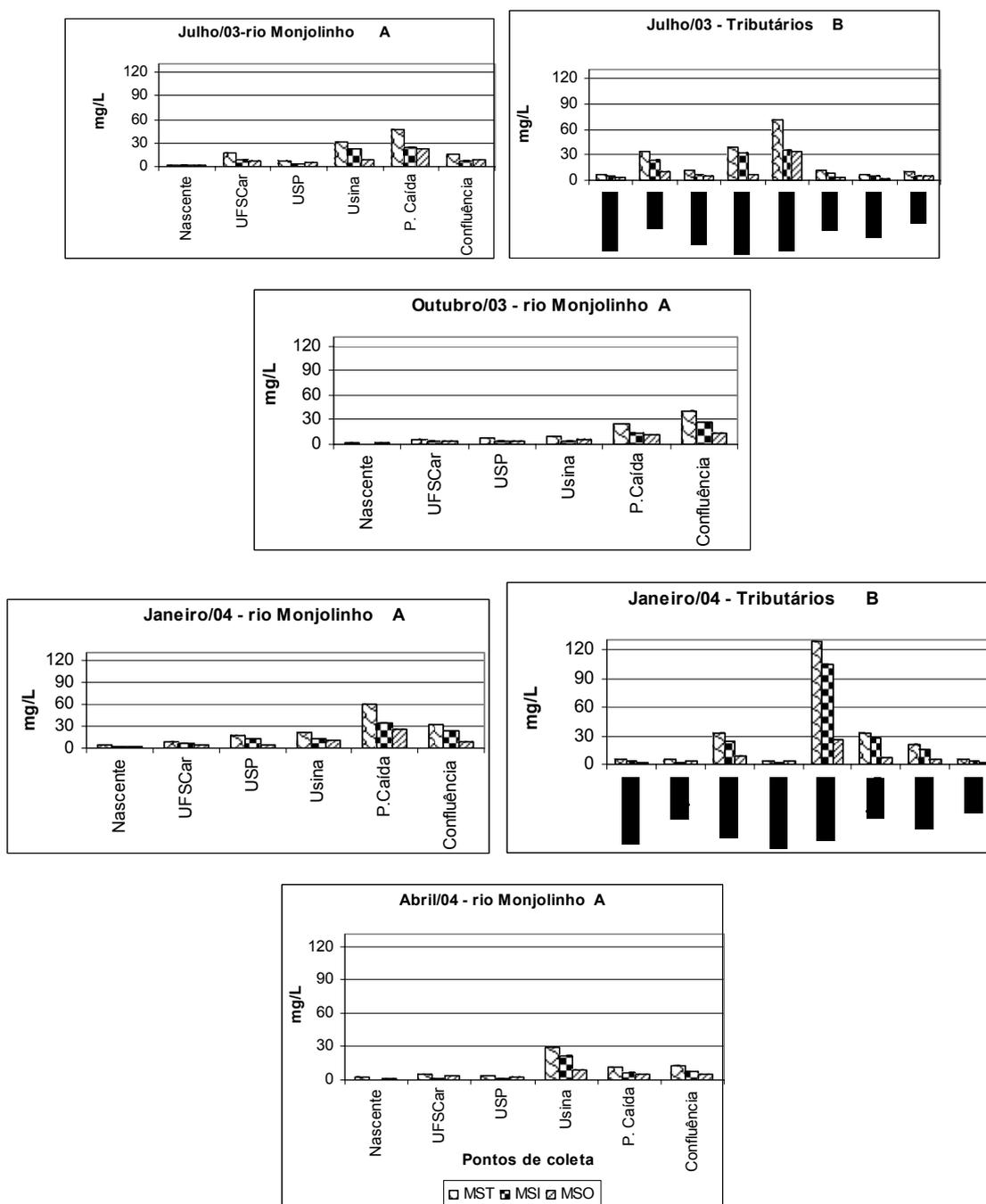


Figura 15: Valores de material em suspensão nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso (MST-material total em suspensão; MSI – material inorgânico em suspensão e MSO – material orgânico em suspensão).

6.2.7 – *Clorofila a* total

Dentre os pontos do rio Monjolinho, o da UFSCar destacou-se pelas maiores concentrações de clorofila *a* em julho/03 (89,9 µg/L), outubro/03 (40 µg/L) e em janeiro/04 (25,11 µg/L). Nos pontos Nascente (julho/03) e USP (janeiro/04) foram obtidos os valores mínimos de clorofila (0µg/L) (Figura 16 A, Anexo1-Tabela 53). Em relação aos tributários, obteve-se as máximas concentrações no córrego Tijuco, com valores de 38 µg/L em julho/03 e 65,56 µg/L, em janeiro/04. O córrego Mineirinho, em julho/03, e o córrego Água Fria, em janeiro/04, apresentaram valores mínimos de 0,28 µg/L e 3,72 µg/L, respectivamente (Figura 16 B, Anexo1-Tabela 53).

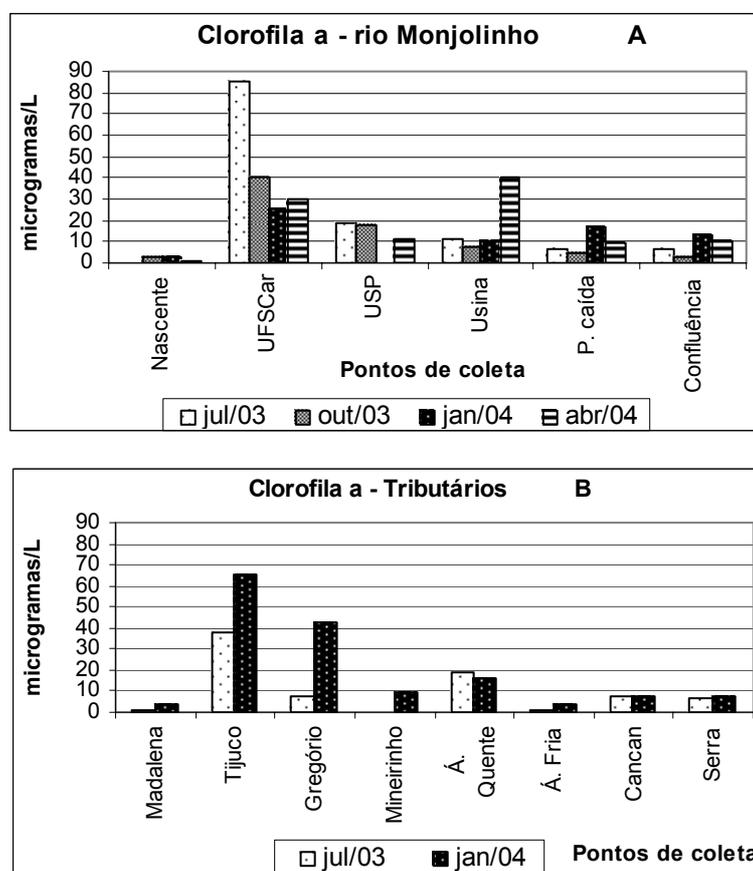


Figura 16: Valores de clorofila *a* nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.2.8 – Formas nitrogenadas

O valor máximo obtido de nitrogênio orgânico total foi de 10,57 mg/L no ponto Usina, em janeiro/04. No ponto Confluência foram obtidos os valores mais elevados em julho/03 (4,0 mg/L), outubro/03 (4,57 mg/L) e em abril/04 (3,54 mg/L). Nos diferentes períodos de amostragem, as menores concentrações ocorreram no ponto Nascente, com o valor mínimo de 0,018 mg/L em janeiro/04 e máximo de 0,7 mg/L em outubro/03 (Figura 17 A, Anexo1-Tabela 58). Dentre os tributários (Figura 17 B, Anexo1-Tabela 58), os córregos Gregório e Tijuco apresentaram as concentrações máximas, correspondentes a 15,18 mg/L, em julho/03. Em janeiro/04, foi detectado o valor mínimo de nitrogênio orgânico total (0,18 mg/L), no córrego Serra.

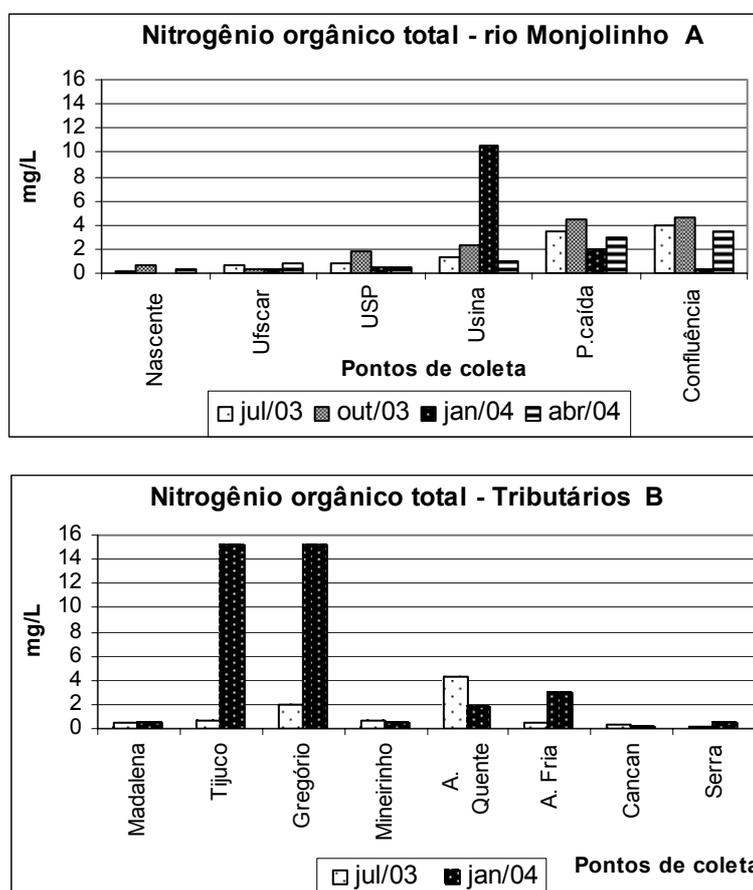


Figura 17: Valores de nitrogênio orgânico total nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

Os valores de íon amônio foram mais elevados nos pontos Ponte caída e Confluência nos diferentes períodos de coleta, com exceção de janeiro/04. O valor máximo obtido foi de 2668 µg/L, no ponto Confluência em outubro/03, sendo que em janeiro/04 a

concentração foi de 217,03 $\mu\text{g/L}$. O valor mínimo (24,17 $\mu\text{g/L}$) foi obtido na Nascente em abril/04. Considerando-se os tributários, no córrego Água Quente foi obtida a maior concentração (2220 $\mu\text{g/L}$) em julho/03, seguido pelo córrego Gregório (1923,5 $\mu\text{g/L}$), no mesmo período. No córrego Água Fria ocorreram as menores concentrações em ambos os períodos de estudo, com valor mínimo de 29,08 $\mu\text{g/L}$ e valor máximo de 48,5 $\mu\text{g/L}$ em julho/03 e janeiro/04, respectivamente. Os resultados obtidos estão apresentados na figura 18 (A e B), Anexo1-Tabela 58.

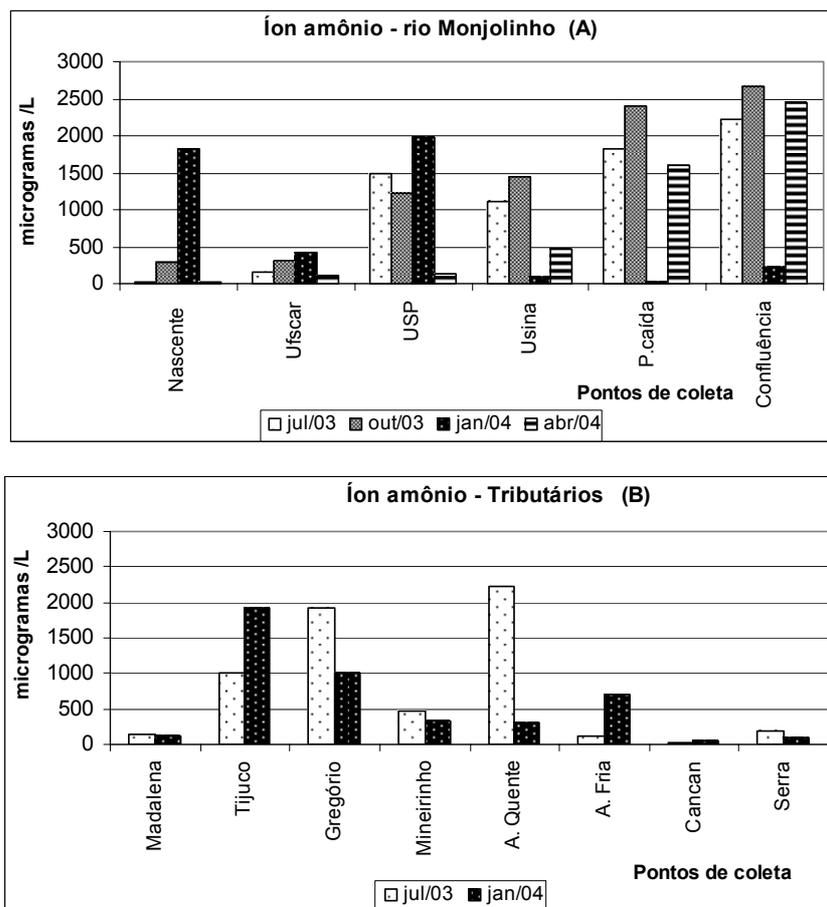


Figura 18: Valores de íon amônio nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

No rio Monjolinho (Figura 19 A, Anexo1-Tabela 58) as maiores concentrações de nitrato ocorreram no ponto Usina (máxima de 2291,1 $\mu\text{g/L}$ outubro/03 e a mínima de 641,97 $\mu\text{g/L}$). A concentração mínima ocorreu no ponto de coleta P. Caída (64,018 $\mu\text{g/L}$ -janeiro/04). Nos córregos Tijuco e Gregório foram registrados os valores mais elevados de nitrato, nos períodos seco e chuvoso, com a maior concentração no córrego Tijuco (4084 $\mu\text{g/L}$), em janeiro/04, conforme apresentado na figura 19 (B), Anexo1-Tabela 58.

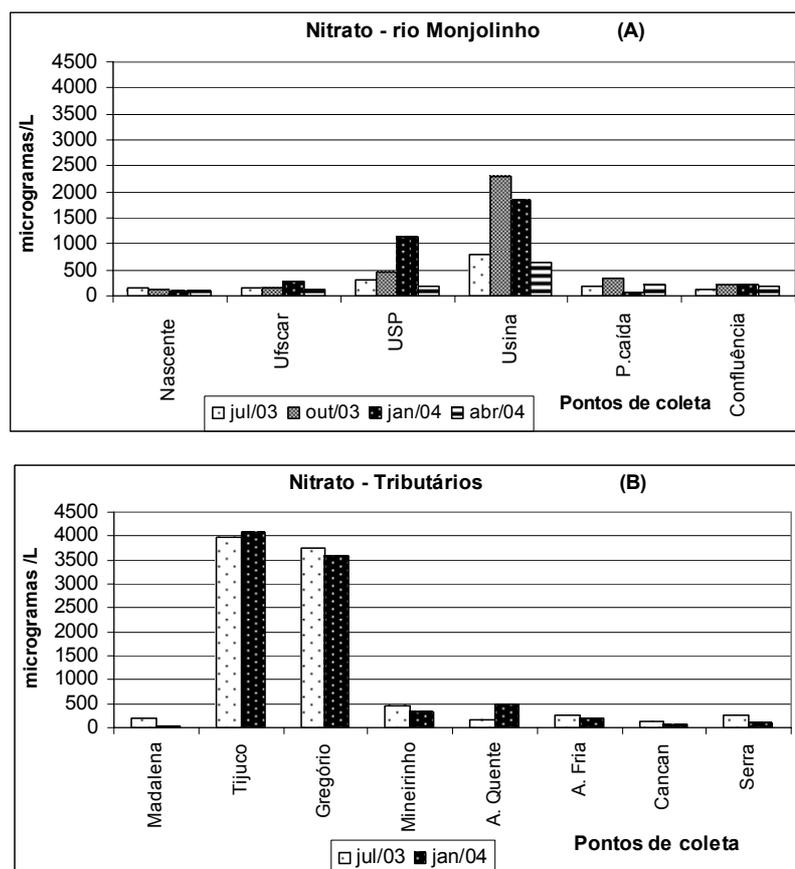


Figura 19: Valores de nitrato nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

Considerando-se o nitrato, as concentrações mais elevadas do rio Monjolinho (Figura 20^a, Anexo1-Tabela 59) foram obtidas no ponto Usina em julho/03 (125,89 µg/L), outubro/03 (174,5 µg/L) e janeiro/04 (246,94 µg/L). Em abril/04 o ponto Confluência apresentou o valor máximo de 78,78 µg/L. Nos diferentes períodos de coleta, a Nascente apresentou as menores concentrações, com o valor mínimo de 2,18 µg/L (em julho/03) e a concentração máxima de 3,92 µg/L (em abril/04). Dentre os tributários, o córrego Tijuco apresentou as concentrações mais elevadas no período seco (528,22 µg/L) e chuvoso (386,49 µg/L). Nos córregos Madalena e Cancan foram registradas as menores concentrações, nos dois períodos de coleta, com o valor mínimo de 1,57 µg/L, em janeiro/04, no córrego Cancan, e o valor máximo de 3,24 µg/L, no mesmo ponto, em julho/03 (Figura 20 B, Anexo1-Tabela 59).

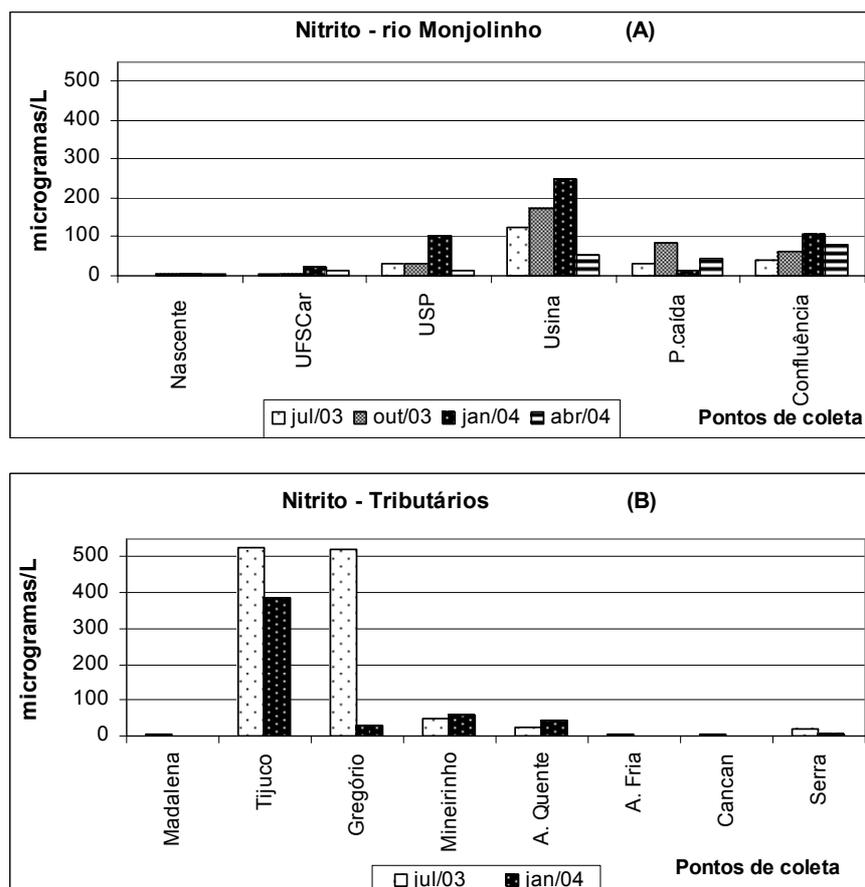


Figura 20: Valores de nitrito nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.2.9 – Formas fosfatadas

As concentrações mais elevadas de fósforo total no rio Monjolinho (Figura 21 A, Anexo1-Tabela 60) foram obtidas no ponto Ponte caída nos diferentes períodos de coleta, com valor máximo de 787,32 $\mu\text{g/L}$ e mínimo de 682,38 $\mu\text{g/L}$ em outubro/03 e janeiro/04, respectivamente. As menores concentrações foram registradas na Nascente, em todos os períodos de estudo, com valor mínimo de 18 $\mu\text{g/L}$ (em julho/03) e máximo de 61,38 $\mu\text{g/L}$ (em janeiro/04). Os córregos Água Quente e Gregório, em julho/03 e janeiro/04 apresentaram as maiores concentrações de fósforo total (982 $\mu\text{g/L}$ e 917,3 $\mu\text{g/L}$, respectivamente). No córrego Madalena registrou-se as menores concentrações nos períodos seco (36,12 $\mu\text{g/L}$) e chuvoso (42,1 $\mu\text{g/L}$), como apresentado na figura 21 (B), Anexo1-Tabela60.

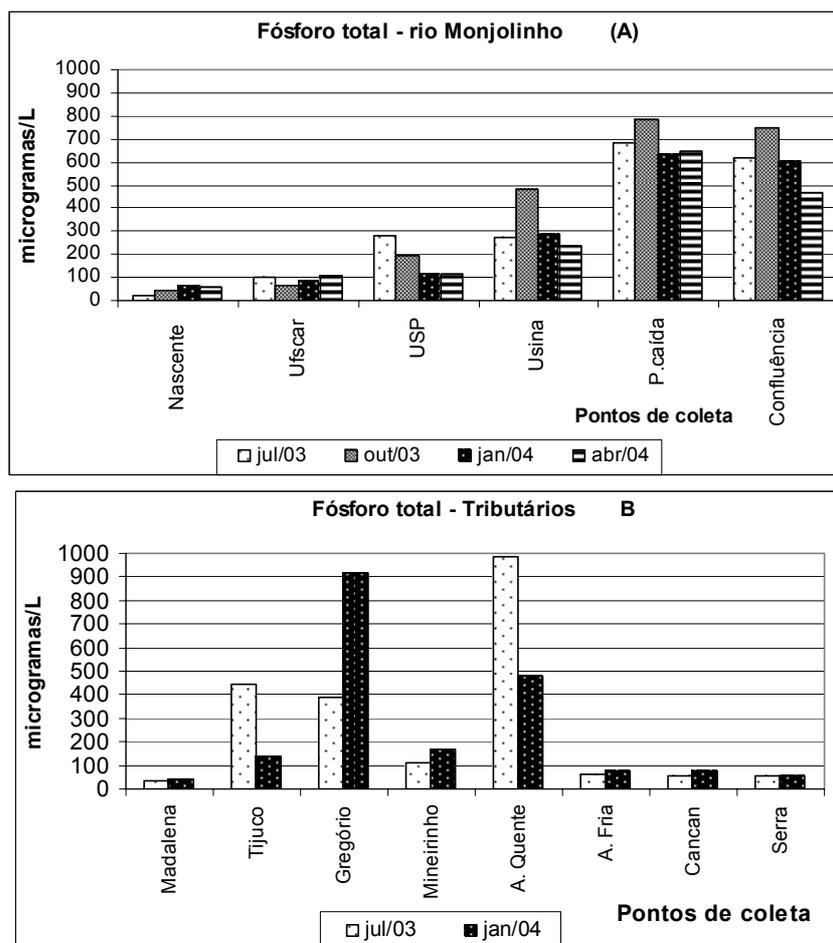


Figura 21: Valores de fósforo total nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

As concentrações mais elevadas de fosfato total dissolvido, no rio Monjolinho, foram obtidas nos pontos Ponte caída, Confluência e Usina. A maior concentração foi de 405,41 $\mu\text{g/L}$, em abril/04, no ponto Ponte caída. No ponto Nascente foram registradas as menores concentrações nos diferentes períodos de amostragem, com valor mínimo de 6,11 $\mu\text{g/L}$, em julho/03, e máximo de 19,018 $\mu\text{g/L}$ em abril/04 (Figura 22 A, Anexo1-Tabela 60). Considerando-se os tributários, os córregos Tijuco e Gregório apresentaram as concentrações mais elevadas em julho/03 (218,11 $\mu\text{g/L}$ e 211,46 $\mu\text{g/L}$, respectivamente). Neste período registrou-se o valor mínimo de 9,36 $\mu\text{g/L}$ nos córregos Água Quente e Serra. Em janeiro/04, o córrego Gregório obteve-se a concentração máxima de fosfato total dissolvido (675,97 $\mu\text{g/L}$), com mínima de 24,6 $\mu\text{g/L}$ obtida no córrego Madalena (Figura 22 B, Anexo1-Tabela 60).

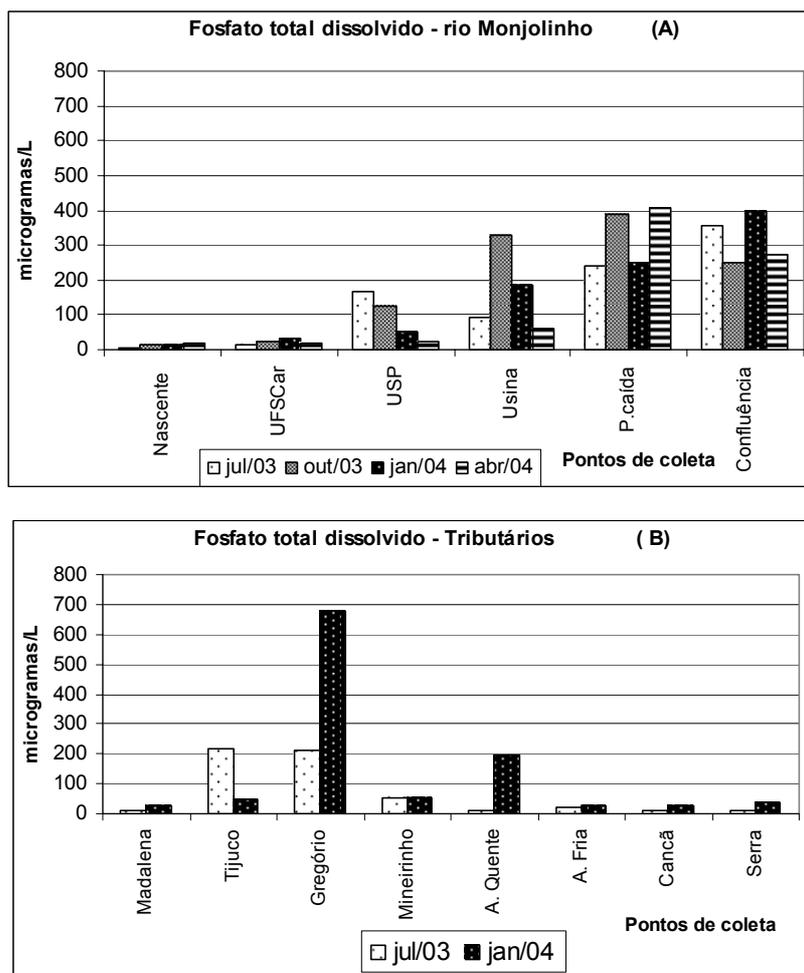


Figura 22: Valores de fosfato total dissolvido nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

No rio Monjolinho as concentrações de fosfato inorgânico foram mais elevadas nos pontos Ponte caída e Confluência, nos diferentes períodos de estudo. O valor máximo obtido foi de 355,1 $\mu\text{g/L}$ em julho/03, no ponto Confluência. Neste período, também ocorreu o valor mínimo de fosfato inorgânico (5,22 $\mu\text{g/L}$) na Nascente (Figura 23A, Anexo1-Tabela 60). Quanto aos tributários, os maiores valores foram registrados nos córregos Gregório (418,77 $\mu\text{g/L}$ – janeiro/04) e Água Quente (407,97 $\mu\text{g/L}$ – julho/03). O valor mínimo obtido foi 8,42 $\mu\text{g/L}$, no córrego Serra em julho/03 (Figura 23 B, Anexo1-Tabela 60).

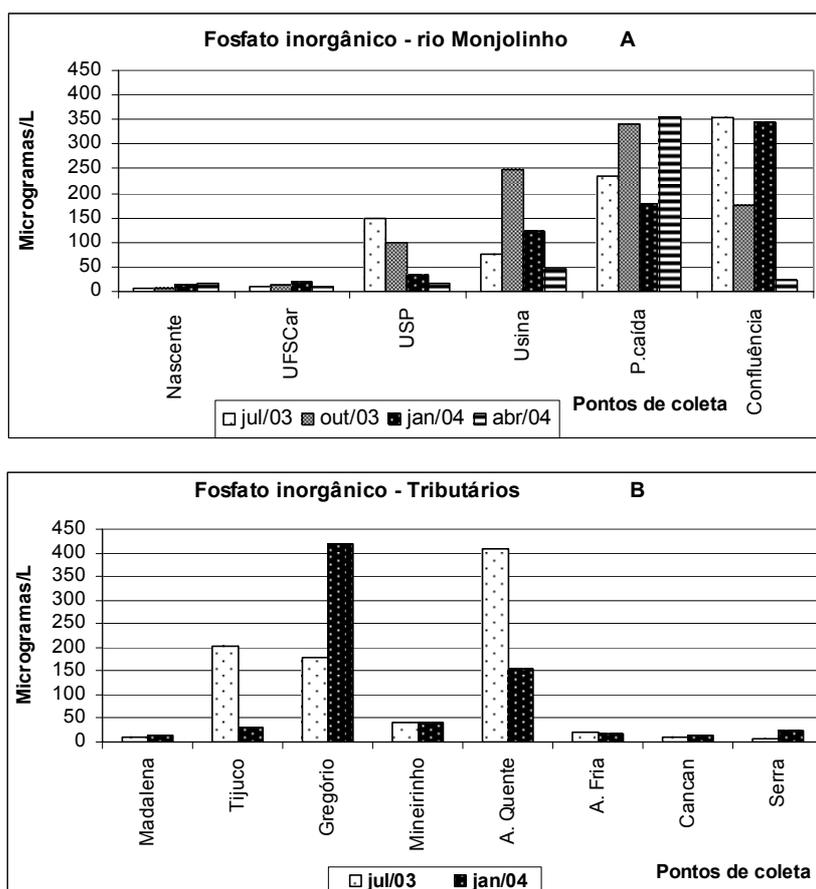


Figura 23: Valores de fosfato inorgânico nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.2.10 – Silicato reativo

Pelos resultados obtidos para silicato reativo verifica-se que as maiores concentrações ocorreram em janeiro/04, com o valor máximo de 18,94 mg/L, nos pontos Usina e Confluência, e o mínimo de 6,10 mg/L, obtido na Nascente. A única exceção foi a Nascente com valor máximo em outubro/03 (7,29 µg/L). Em abril/04, foram registradas as menores concentrações de silicato com valor mínimo de 0,64 µg/L, na Nascente e máximo de 1,95 µg/L, na Confluência (Figura 24 A, Anexo1-Tabela 54). Nos tributários as maiores concentrações também ocorreram em janeiro/04, com máxima de 19,38 µg/L no córrego Água Quente e mínima de 12,11 µg/L, no córrego Água Fria. Em julho/03, o córrego Gregório apresentou a maior concentração (7,38 µg/L) e, neste período, a menor concentração ocorreu no córrego Água Fria (1,70 µg/L), conforme pode ser visualizado na figura 24 (B), Anexo1-Tabela 54.

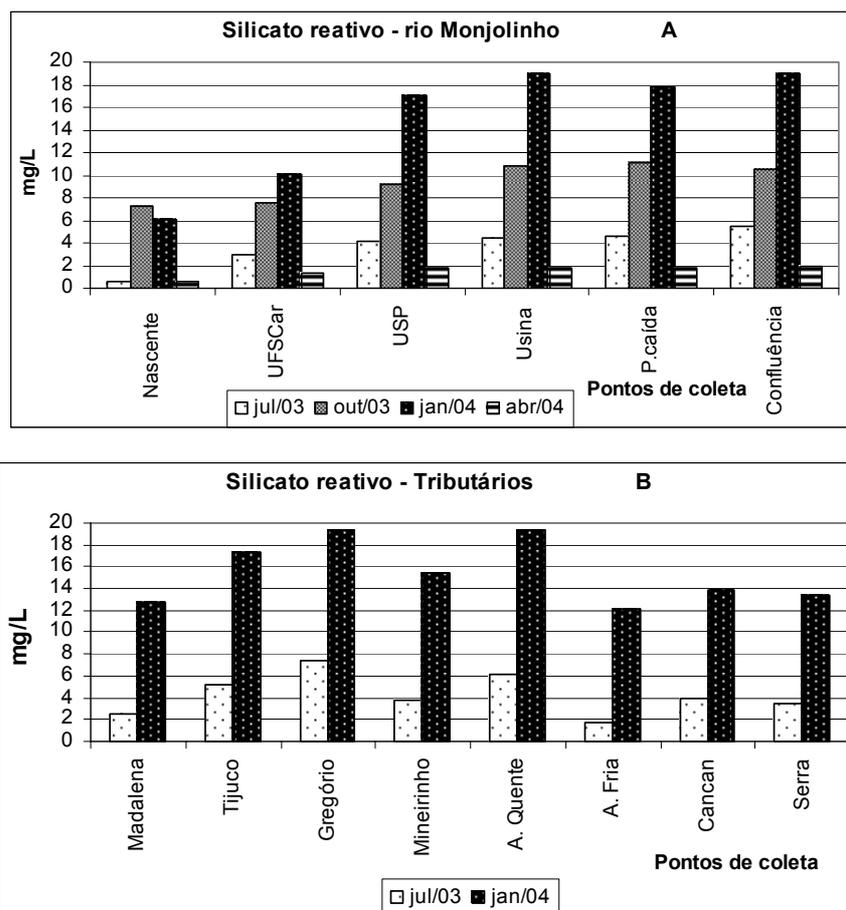


Figura 24: Valores de silicato reativo nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.2.11 – Coliformes totais e fecais

De acordo com os resultados de coliformes obtidos no presente estudo, para os pontos do rio Monjolinho, verifica-se que os valores mais elevados ocorreram em julho/03 (máximo de 19.862.800 NMP e 100.000 NMP, para coliformes totais e fecais, respectivamente, no ponto Ponte Caída). Na Nascente foram registrados os menores valores de coliformes totais e fecais, nos diferentes períodos de coleta, sendo que, para coliformes totais, o valor máximo obtido foi de 13.740 NMP – julho/03 e o mínimo foi 2.419,2 NMP – outubro/03. Para os coliformes fecais, os valores mínimo e máximo foram de 49,4 NMP – abril/04 e 648 NMP – julho/03, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6: Valores de coliformes totais e fecais nos pontos de coleta do rio Monjolinho durante o período de estudo.

Pontos de coleta	COLIFORMES (NMP) – Rio Monjolinho							
	Julho/03		Outubro/03		Janeiro/04		Abril/04	
	Totais	Fecais	Totais	Fecais	Totais	Fecais	Totais	Fecais
Nascente	13.740*	648,8*	2.419,2*	73,3*	13.130*	143,9*	11.000*	49,4*
UFSCar	198.628	2.560	129.965	2.090	173.287	1.630	83.600	71.200
USP	1.046.24	32.700	34.360	4.220	198.628	17.790	163.100	145.000
Usina	2.400.000	57.100	231.000	>100.000	184.700	4.100	1.413.600**	163.100
P. Caída	19.862.800**	100.000**	3.076.000**	121.000**	223.000	50.000	387.300	318.000**
Confluência.	4.160.000	20.000	1.281.000	>10.000	686.700**	50.400**	441.000	59.100

(* – Valores mínimos; (**) Valores máximos

Quanto aos tributários, os maiores valores de coliformes também ocorreram no período seco. No córrego Tijuco foram detectados os maiores valores de coliformes totais e fecais, em julho/03, correspondente a 86.640.000 NMP e 3.255.000 NMP, respectivamente. Neste período, o córrego Água Fria apresentou a menor concentração de coliformes totais (13.710 NMP) e no córrego Serra foi obtido o valor mínimo de coliformes fecais (30,5 NMP). Em janeiro/04, obteve-se no córrego Gregório o valor máximo de coliformes totais (1.986,250 NMP) e no córrego Água Fria o menor valor (15.760 NMP). Considerando-se os coliformes fecais, no mesmo período, o valor máximo detectado foi igual a 163.800 NMP e o mínimo foi 107,1 NMP, nos córregos Água Quente e Água Fria, respectivamente (Tabela 7).

Tabela 7: Valores de coliformes totais e fecais nos tributários do rio Monjolinho durante o período de estudo.

Pontos de coleta	COLIFORMES (NMP) - Tributários			
	Julho/03		Janeiro/04	
	Totais	Fecais	Totais	Fecais
Madalena	1.299.650	12.230	29.240	1.580
Tijuco	86.640.000**	3.255.000**	189.300	32.400
Gregório	1.986.280	98.700	1.986.250**	39.300
Mineirinho.	1.119.850	26.020	104.624	18.600
Á. quente	5.475.000	285.000	1.732.870	163.800**
Á. fria	13.710*	137,4	15.760*	107,1*
Cancan	104.624	100	1.046.240	38.730
Serra	111.985	30,5*	22.540	2.280

(* – Valores mínimos; (**) Valores máximos

6.2.12 – Íon cloreto, sulfatos e sulfetos

As maiores concentrações de íon cloreto foram registradas no ponto Ponte Caída e Confluência. O valor máximo registrado foi de 16,9 mg/L, em outubro/03, no ponto Confluência. As menores concentrações no rio Monjolinho ocorreram no ponto Nascente, com mínimo de 0,04 mg/L, em julho/03, e máximo correspondente a 0,5 mg/L, em outubro/03 (Figura 25 A, Anexo1-Tabela 61). Referindo-se aos tributários, o valor máximo obtido em julho/03 foi 20,4 mg/L, no córrego Gregório e o mínimo foi de 0,08 mg/L no córrego Madalena. Em janeiro/04, o valor máximo 16,4 mg/L e mínimo 0,2 mg/L ocorreram nos córregos Água Quente e Madalena, respectivamente (Figura 25 B, Anexo1-Tabela 61).

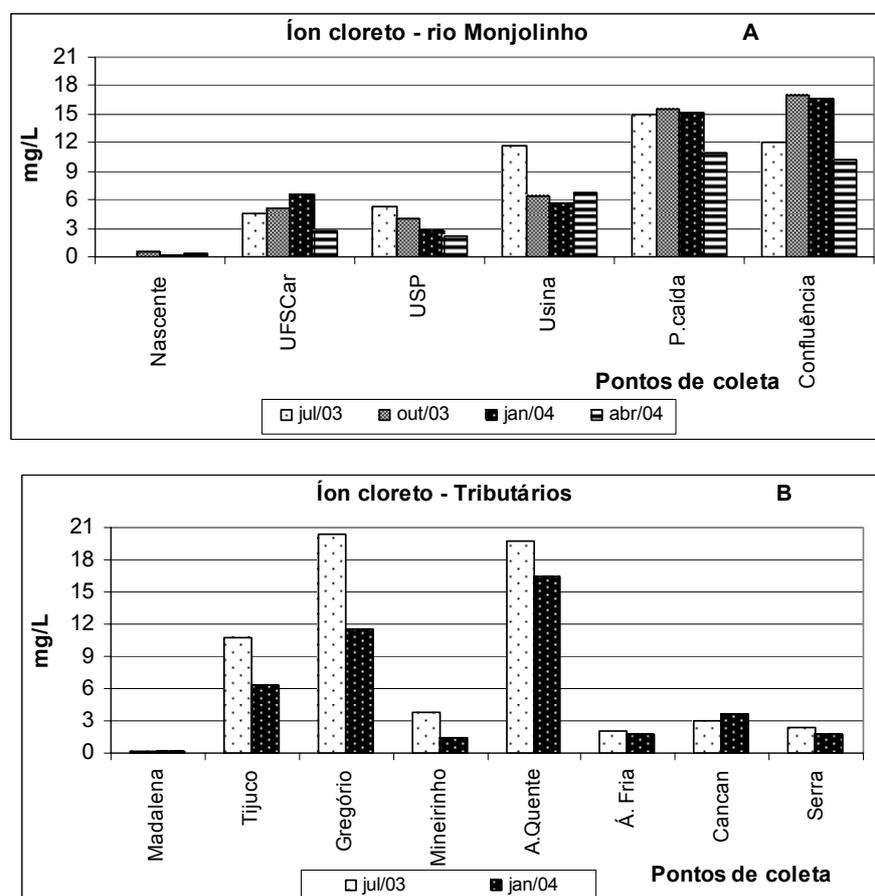


Figura 25: Valores de íon cloreto nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

As maiores concentrações de sulfato foram registradas nos pontos Ponte Caída e Confluência, sendo que o valor máximo detectado foi de 32 mg/L, foi obtido no ponto Ponte Caída em janeiro/04. O valor mínimo (2 mg/L) foi observado na Nascente, em

julho/03. Nos córregos Mineirinho, em ambos os períodos de coleta, Água Fria, Cancan e Serra (em julho/03), as concentrações de sulfato estiveram abaixo do limite de detecção do método. O córrego Gregório apresentou as maiores concentrações em julho/03 e em janeiro/04, com valores de 59 mg/L e 27 mg/L, respectivamente (Figura 26, A e B, Anexo1-Tabela 61).

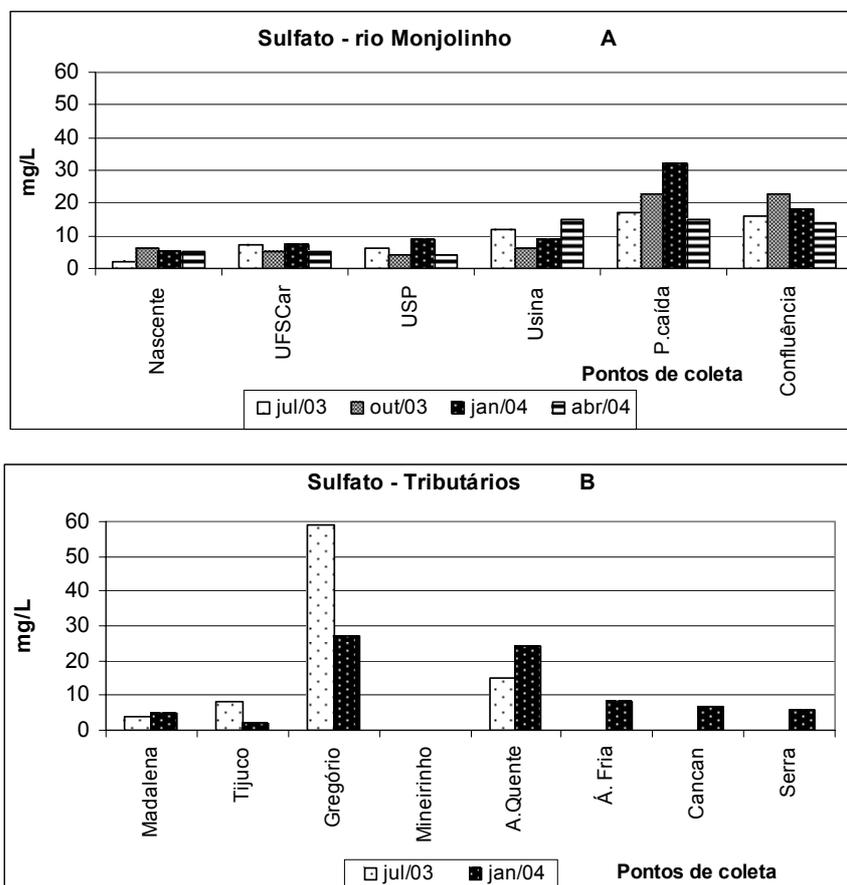


Figura 26: Valores de sulfato nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

No rio Monjolinho o valor mínimo de sulfato (0,003 mg/L) foi registrado no ponto Nascente em outubro/03 e no ponto USP em janeiro/04. No ponto Ponte Caída, nos diferentes períodos de coleta, foram registrados os maiores valores, sendo o máximo de 0,0036 mg/L, em julho/03, e o mínimo 0,021 mg/L, em abril/04 (Figura 27 A, Anexo1-Tabela 61). Considerando-se os tributários, o córrego Gregório, em julho/03, demonstrou-se com a concentração máxima do estudo equivalente a 0,156 mg/L e o córrego Serra, em janeiro/04, apresentou a concentração mínima correspondente a 0,001 mg/L (Figura 27 B, Anexo1-Tabela 61).

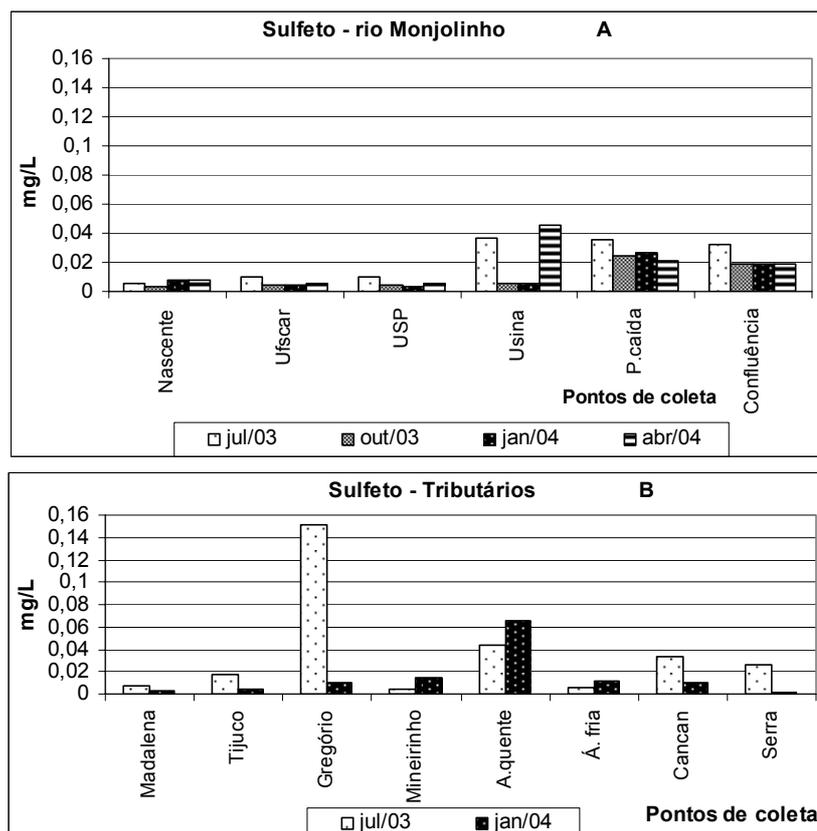


Figura 27: Valores de sulfeto nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.2.13. – Demanda Química de Oxigênio (DQO)

O maior valor de DQO registrado no rio Monjolinho (Figura 28 A, Anexo1-Tabela 55), neste estudo, foi de 55 mg/L no ponto UFSCar em janeiro/04, seguido pela Nascente, em janeiro/04, com o valor de 54 mg/L. Neste mesmo período, o ponto Usina apresentou a menor concentração correspondente a 20mg/L. Os pontos Ponte Caída e Confluência, em julho/03, apresentaram o valor máximo do período (45 mg/L), sendo o valor mínimo de 2 mg/L, no ponto USP. No ponto Nascente, em abril/04, verificou-se o menor valor de DQO (1 mg/L). Dentre os tributários, o córrego Água Quente, em julho/03, apresentou a concentração máxima de DQO (53 mg/L). Neste período, o valor mínimo detectado foi 3mg/L, no córrego Madalena. Em janeiro/04, os valores máximo e mínimo foram de 41 mg/L e 7 mg/L no córrego Tijuco e Serra, respectivamente (Figura 28 B, Anexo1-Tabela 55).

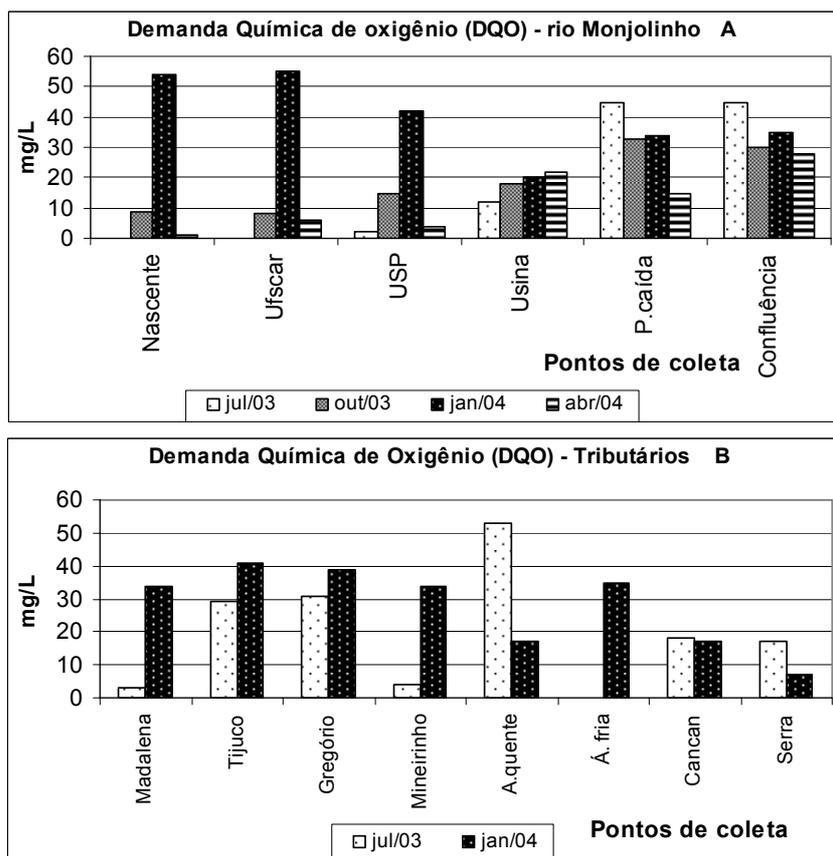


Figura 28: Valores de DQO nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.2.14 – Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).

Os valores de demanda bioquímica de oxigênio foram crescentes da Nascente em direção a Confluência, nos diferentes períodos de amostragem, ocorrendo uma redução das concentrações no ponto Confluência. Os valores máximos e mínimos ocorreram na Nascente e Ponte caída, respectivamente.

As maiores concentrações foram registradas em julho/03, com valores mínimo e máximo de 8,5mg/L e 28,2mg/L, na Nascente e P. Caída, respectivamente. Em julho/03 e outubro/03, os valores de DBO, em todos os pontos de coleta, excederam o valor máximo permitido para rios de classe 2 (5 mg/L).

Em abril/04, foram obtidos os menores valores, considerando-se todos os períodos de estudo: 3,3 mg/L-Nascente e 16,9 mg/L - P. Caída (Figura 29 A, Anexo1-Tabela 56).

Dentre os tributários, também pode-se verificar as maiores concentrações em julho/03. Os córregos Tijuco, Gregório e Água Quente apresentaram os valores máximos de 20,6 mg/L, 20,5 mg/L e 21,2 mg/L, respectivamente, no período seco, e 19,3 mg/L ,

17,8 mg/L e 16,9 mg/L, respectivamente no período chuvoso (Figura 29 B, Anexo1-Tabela 56).

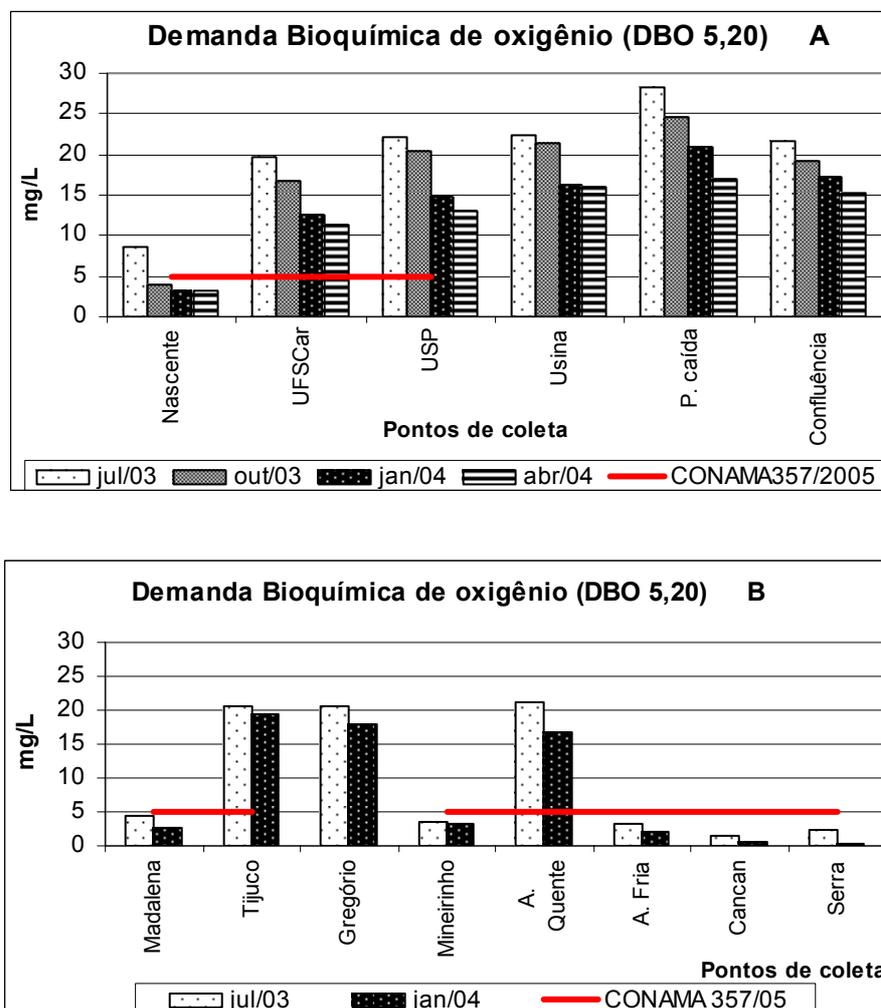


Figura 29: Valores de DBO nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05.

6.2.15 – Metais

Cádmio

As maiores concentrações de cádmio, no rio Monjolinho, foram detectadas em julho/03. A concentração máxima obtida foi de 4,0 µg/L, no ponto Confluência, em julho/03, e a concentração mínima foi de 0,0168 µg/L no ponto USP, em outubro/03. Em julho/03, os pontos UFSCar e USP, enquadrados como classe 2, apresentaram a concentração de 1,2 µg/L, excedendo em 0,2 µg/L o limite recomendado pelo CONAMA 357/05 para a proteção da vida aquática, de 1 µg/L (Figura 30 A, Anexo1-Tabela 62).

Dentre os tributários, o córrego Cancan apresentou as maiores concentrações em julho/03 (4,0 µg/L) e janeiro/04 (4,25 µg/L), excedendo em 4 vezes e 4,25 vezes, respectivamente, o limite estabelecido pelo CONAMA 357/05. Os córregos Madalena e Serra (julho/03), e os córregos Água Quente e Água Fria (em janeiro/04), também apresentaram as concentrações de cádmio excedente ao permitido para rios de classe 2. Em julho/03, não foi detectado o metal cádmio nos córregos Tijuco e Água Fria (Figura 30B, Anexo1-Tabela 62).

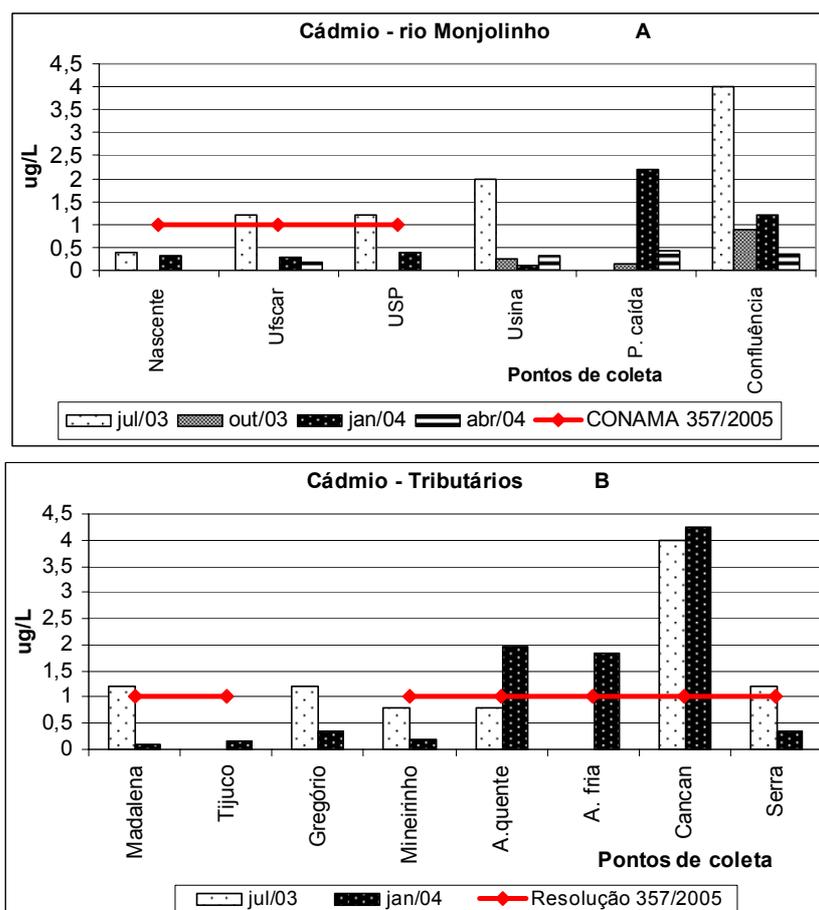


Figura 30: Valores de cádmio nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05.

Cobre:

As maiores concentrações de cobre foram obtidas em julho/03, com o valor máximo de 29,6 µg/L, na Confluência, e o mínimo de 13,6 µg/L no ponto UFSCar. Neste período, todos os pontos do rio Monjolinho apresentaram valores excedentes ao máximo estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2. Em outubro/03, os pontos Usina

e Confluência apresentaram os mais elevados valores (12,57 $\mu\text{g/L}$ e 19,1 $\mu\text{g/L}$, respectivamente), bem como o ponto Ponte Caída, em janeiro/04 (9,37 $\mu\text{g/L}$). Em abril/04 foram obtidas as menores concentrações, com valor máximo de 4,91 $\mu\text{g/L}$ no ponto Ponte caída. Neste período não foi detectado cobre na Nascente, UFSCar e USP (Figura 31 A, Anexo1-Tabela 62). Considerando-se os tributários, em julho/03, do mesmo modo que para o rio Monjolinho, detectaram-se as maiores concentrações de cobre, com o valor máximo de 32 $\mu\text{g/L}$, no córrego Gregório e o mínimo de 12 $\mu\text{g/L}$ no córrego Água Fria. Neste período, todos os valores excederam o limite recomendado para rios de classe 2. Em janeiro/04, os córregos Gregório (9,75 $\mu\text{g/L}$), Água Quente (17,48 $\mu\text{g/L}$) e Serra (11,76 $\mu\text{g/L}$) continuaram excedendo os valores permitidos por lei (Figura 31 B, Anexo1-Tabela 62).

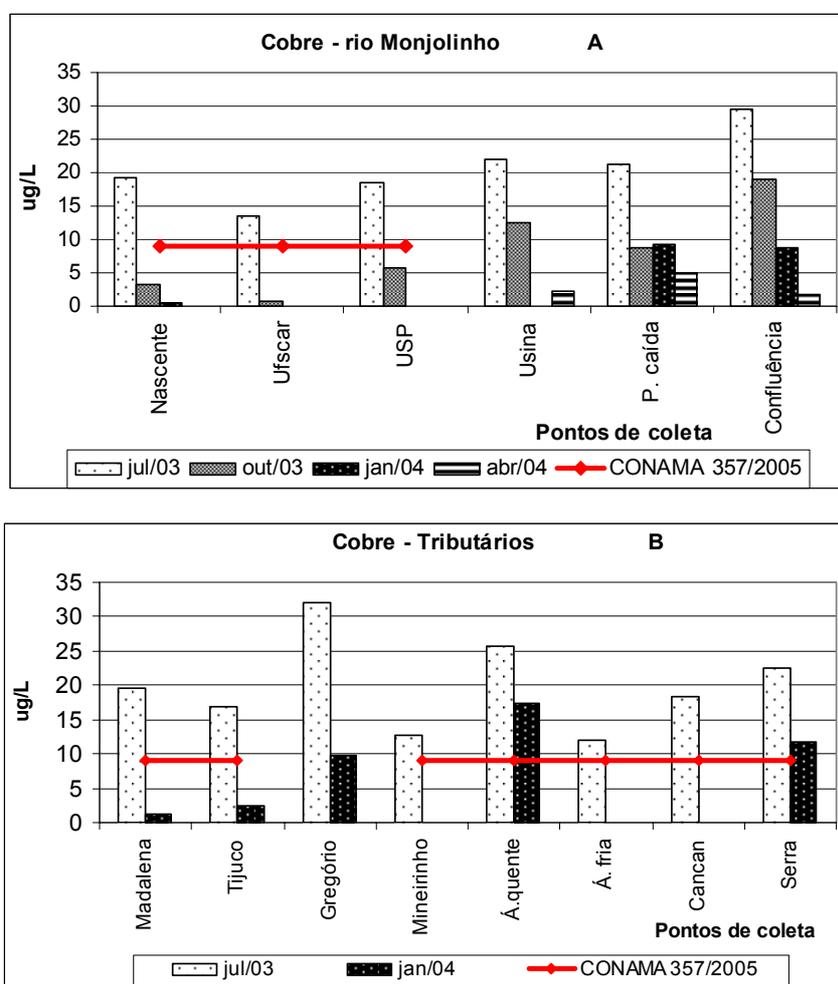


Figura 31: Valores de cobre nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05.

Cromo:

As concentrações de cromo nos pontos do rio Monjolinho e seus tributários, estiveram abaixo da permitida para rios de classe 2 (50 µg/L), estabelecida pelo CONAMA 357/05. Em julho/03 foram registrados os valores mais elevados nos diferentes pontos do rio Monjolinho, com valor máximo de 8,4 µg/L, obtido nos pontos Ponte caída e Confluência e concentração mínima de 3,6 µg/L, no ponto USP. O ponto Ponte caída foi uma exceção por apresentar o valor máximo em abril/04 (9,4 µg/L), concentração máxima obtida durante o presente estudo. O ponto UFSCar, em abril/04, apresentou a concentração mínima de 0,454 µg/L (Figura 32 A, Anexo1-Tabela 62). Considerando-se os tributários, também foram registradas as maiores concentrações em julho/03, com valor máximo de 6,4 µg/L, detectada no córrego Madalena e o valor mínimo de 1,6 µg/L no córrego Serra. Em janeiro/04, os valores mínimo e máximo foram de 0,39 µg/L e 5,31 µg/L nos córregos Madalena e Água Quente, respectivamente (Figura 32 B, Anexo1-Tabela 62).

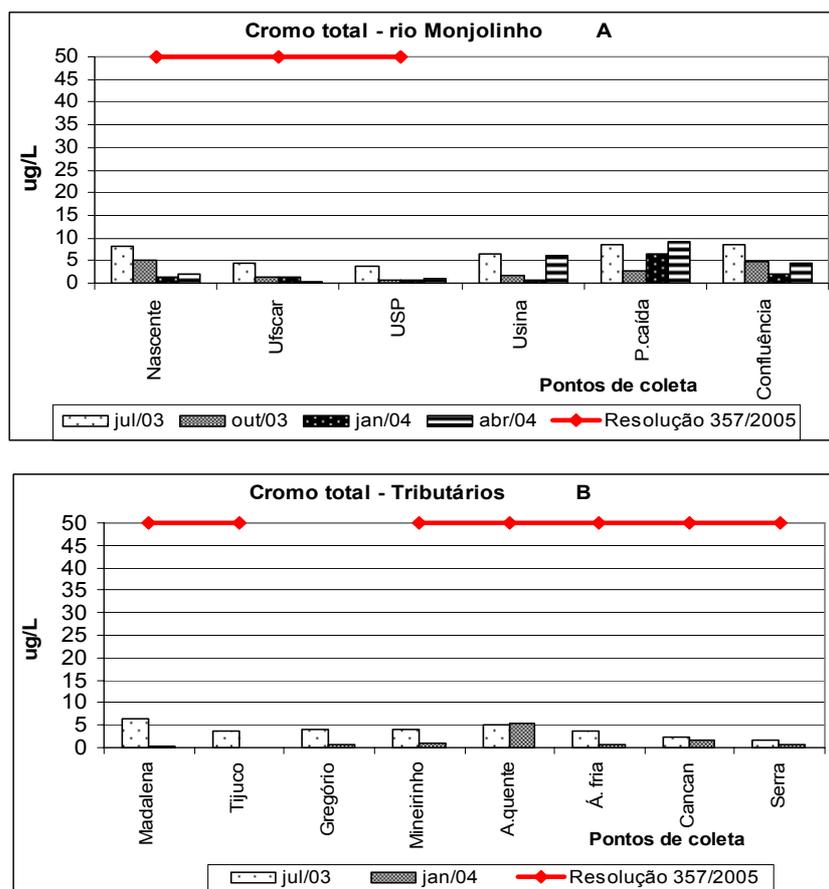


Figura 32: Valores de cromo total nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05.

Ferro:

No rio Monjolinho foram obtidas as maiores concentrações de ferro no ponto Confluência, com o valor máximo em outubro/03 (13,81 mg/L) e o valor mínimo registrado em abril/04 (0,42 mg/L). A menor concentração (0,11 mg/L) ocorreu no ponto UFSCar, em abril/04. Pode-se verificar um aumento das concentrações da Nascente em direção à Confluência nos diferentes períodos de coleta. Somente em abril/04 os pontos Nascente, UFSCar e USP registraram concentrações abaixo da permitida para rios de classe 2 (0,3 mg/L), estabelecida pela resolução CONAMA 357/05 (Figura 33 A, Anexo1-Tabela 63). Nos tributários as maiores concentrações ocorreram no período seco, com valor máximo de 8,46 mg/L, no córrego Água Quente, e mínimo de 1,63 mg/L no córrego Madalena. No período chuvoso as concentrações máximas (5,08 mg/L) e mínimas (0,98 mg/L) foram registradas nos córregos Água Quente e Madalena, respectivamente (Figura 33 B, Anexo1-Tabela 63).

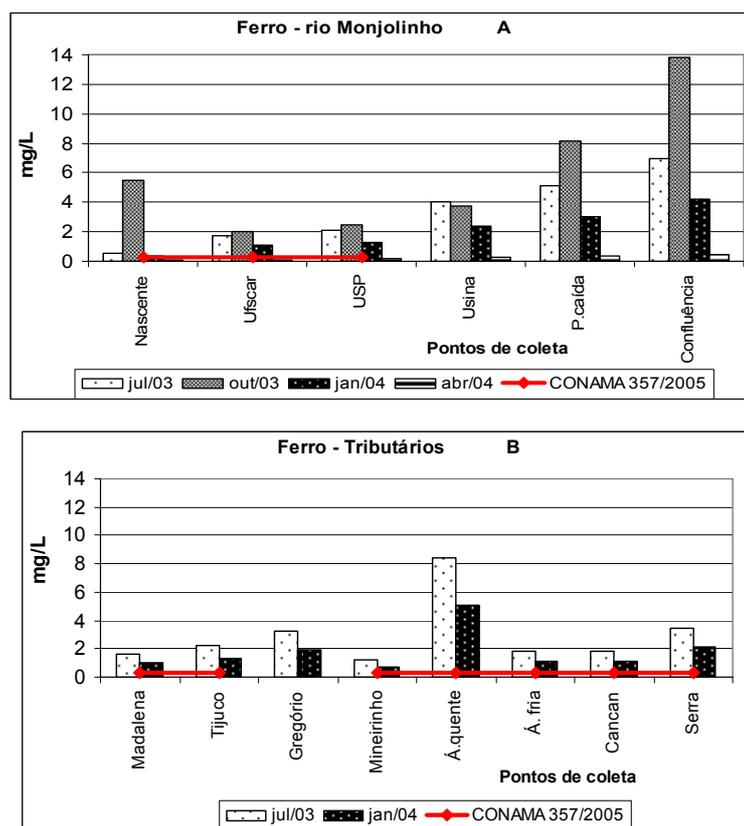


Figura 33: Valores de ferro nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05.

Manganês:

No rio Monjolinho, nos pontos enquadrados como classe 2 (Nascente, UFSCar e USP) foram determinados nos diferentes períodos de coleta, concentrações abaixo da recomendada pelo CONAMA 357/05 (0,1 mg/L). No ponto Confluência foram registradas as maiores concentrações, nos diferentes períodos, com o valor máximo de 0,34 mg/L, em julho/03 e mínimo de 0,022 mg/L, obtido em abril/04. Nos diferentes períodos foi possível observar o aumento das concentrações de manganês da Nascente em direção a Confluência (Figura 34 A, Anexo1-Tabela 63). Em relação aos tributários, no córrego Água Quente, nos períodos seco e chuvoso, foram obtidas as maiores concentrações (0,4 mg/L e 0,23 mg/L, respectivamente), sendo que a concentração mínima, em ambos os períodos foi registrada no córrego Mineirinho (0,021 mg/L). Os córregos Água Quente e Serra, em ambos os períodos, e o córrego Cancan, em janeiro/04, apresentaram concentrações de manganês excedentes a recomendada pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2 (Figura 34 B, Anexo1-Tabela 63).

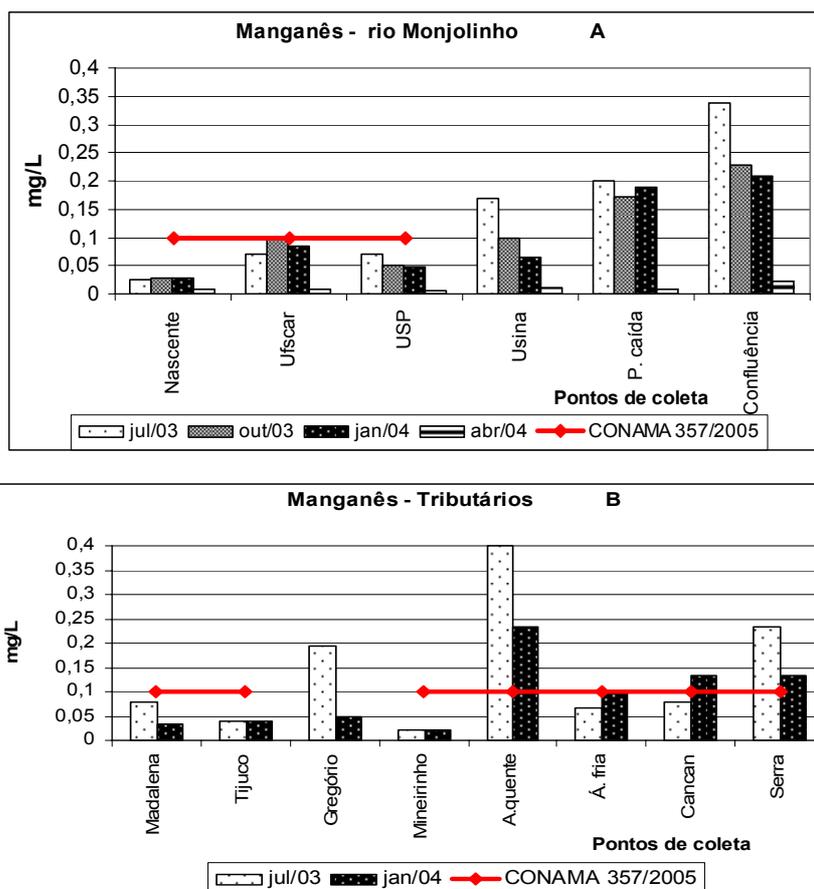


Figura 34: Valores de manganês nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

Zinco:

Nos diferentes períodos de coleta nenhum dos pontos amostrados no rio Monjolinho, excedeu a concentração de zinco recomendada pelo CONAMA 357/05 (0,18 mg/L), para rios de classe 2. Em julho/03 foram obtidos os valores mais elevados principalmente no ponto UFSCar (0,17 mg/L). Em abril/04, foram registradas as menores concentrações, com valores mínimo e máximo de 0,0022 mg/L e 0,0048 mg/L nos pontos USP e Ponte Caída, respectivamente (Figura 35 A, Anexo1-Tabela 63). Nos tributários, os maiores valores de zinco foram registrados em julho/03, com valor máximo de 0,051 mg/L, no córrego Água Quente e de 0,016 mg/L no córrego Tijuco. O córrego Gregório foi a única exceção, com valores mais elevados em janeiro/04 (0,097 mg/L), como apresentado na figura 35 (B), Anexo1-Tabela 63.

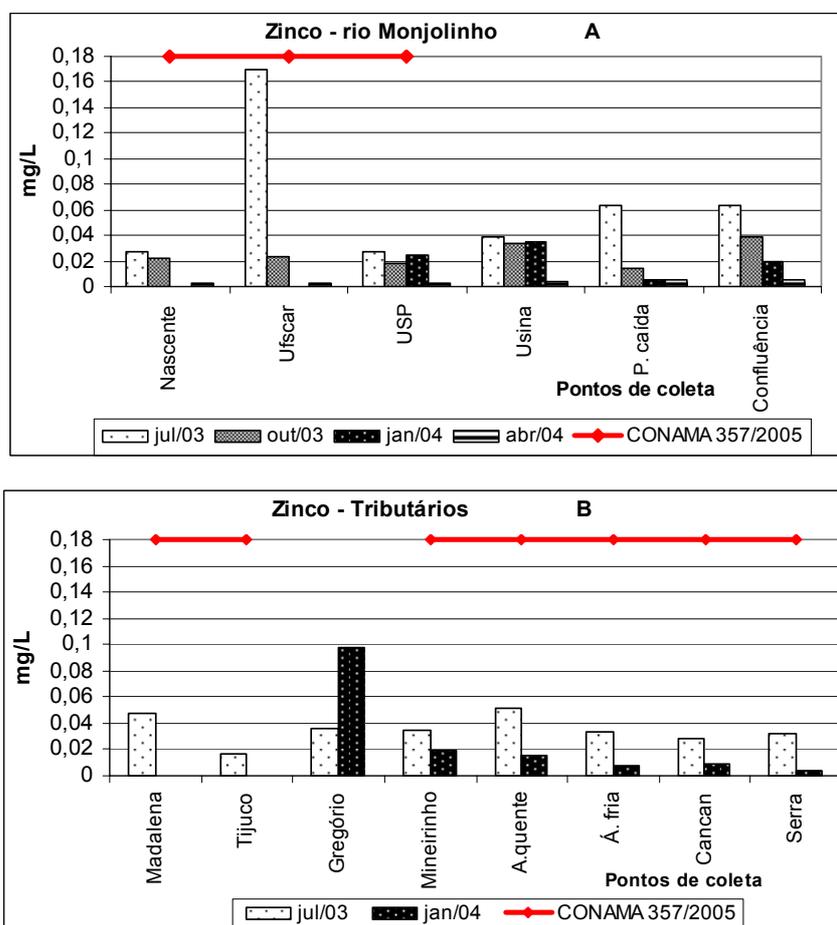


Figura 35: Valores de zinco nos pontos de amostragem do rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso, com os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05.

6.2.16 – Pesticidas organoclorados

Aldrin:

Considerando-se os pontos de coleta inseridos em rios de classe 2, pelo decreto 10.755 de 1977, verificou-se que o ponto UFSCar, em julho/03 (0,087 µg/L), e os pontos Nascente (0,147 µg/L) e USP (0,621 µg/L), em janeiro/04, excederam a concentração máxima recomendada pelo CONAMA 357/05 (0,005 µg/L). A concentração máxima obtida foi de 0,621 µg/L, no ponto USP no período chuvoso, excedendo 124 vezes a concentração limite recomendada por lei. O valor mínimo obtido foi de 0,003 µg/L, no ponto Ponte Caída em janeiro/04 (Tabela 8).

Tabela 8: Concentrações de aldrin, em seis pontos de coleta do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04), com o limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2

Classe	Agrotóxico →	ALDRIN (µg/L)		
	Pontos de coleta ↓	Julho/03	Janeiro/04	CONAMA 357/2005-classe 2
2	<i>Nascente</i>	ND	0,147	0,005
2	<i>UFSCar</i>	0,087	0	0,005
2	<i>USP</i>	ND	0,621	0,005
4	<i>Usina</i>	0,113	0,154	SL
4	<i>P. caída</i>	ND	0,003	SL
4	<i>Confluência</i>	ND	0	SL

SL – Sem limite recomendado pelo CONAMA 357/05

Valores em negrito: concentrações acima da recomendada pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2

ND – Não detectado

Endossulfan sulfato:

Os resultados obtidos para endossulfan sulfato demonstraram que, dos pontos inseridos em rios de classe 2, somente USP (0,113 µg/L), em janeiro/04, excedeu o limite máximo recomendado pelo CONAMA 357/05 (0,056 µg/L), em duas vezes. Neste período, o valor mínimo registrado foi de 0,012 µg/L, no ponto UFSCar. Não foi detectado endossulfan sulfato em julho/03 e em janeiro/04. A mesma situação ocorreu para os pontos Nascente, Ponte caída e Confluência (Tabela 9).

Tabela 9: Concentrações de endossulfan sulfato, em seis pontos de coleta do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04), considerando-se o limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2.

Classe	Agrotóxico →	ENDOSSFAN SULFATO (µg/L)		
	Pontos de coleta ↓	Julho/03	Janeiro/04	CONAMA 357/2005-classe 2
2	Nascente	0	0	0,056
2	UFSCar	0	0,012	0,056
2	USP	0	0,113	0,056
4	Usina	0	0,014	SL
4	P. caída	0	0	SL
4	Confluência	0	0	SL

SL – Sem limite recomendado pelo CONAMA 357/05

Valores em **negrito**: concentrações acima da recomendada pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2

ND – Não detectado

Heptacloro:

A concentração máxima de heptacloro obtida foi de 0,386 µg/L no ponto Usina em julho/03 e a concentração mínima de 0,027 µg/L ocorreu no ponto Confluência, em janeiro/04. Dos pontos pertencentes a classe 2, UFSCar (em julho/03) e Nascente (em janeiro/04) apresentaram concentrações acima do limite recomendado pelo CONAMA 357/05 (0,01µg/L) com valores de 0,098 µg/L e 0,148 µg/L, respectivamente. Não foi detectado heptacloro nos pontos Nascente, USP e Usina, em julho/03 e nos pontos UFSCar, USP, Usina e Ponte caída, em janeiro/04 (Tabela 10).

Tabela 10: Concentrações de heptacloro, em seis pontos coleta do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04), com os limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2.

Classe	Agrotóxico →	HEPTACLORO (µg/L)		
	Pontos de coleta ↓	Julho/03	Janeiro/04	CONAMA 357/2005-classe 2
2	Nascente	0	0,148	0,01
2	UFSCar	0,098	0	0,01
2	USP	0	0	0,01
4	Usina	0,381	0	SL
4	P. caída	0	0	SL
4	Confluência	0,062	0,027	SL

SL – Sem limite recomendado pelo CONAMA 357/05

Valores em **negrito**: concentrações acima da recomendada pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2

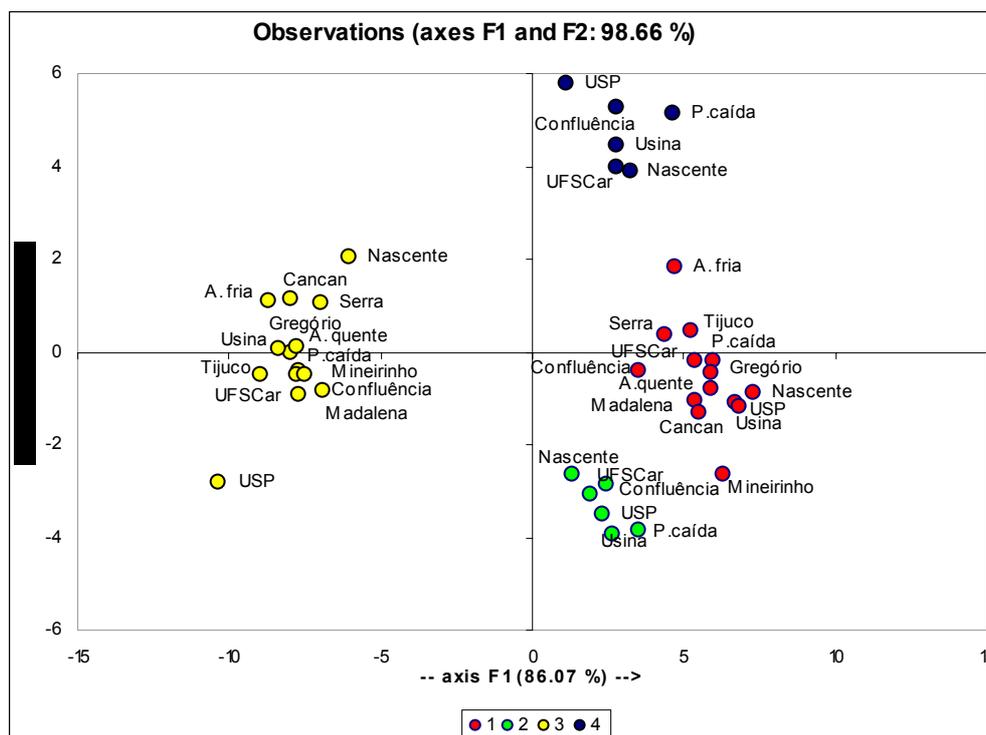
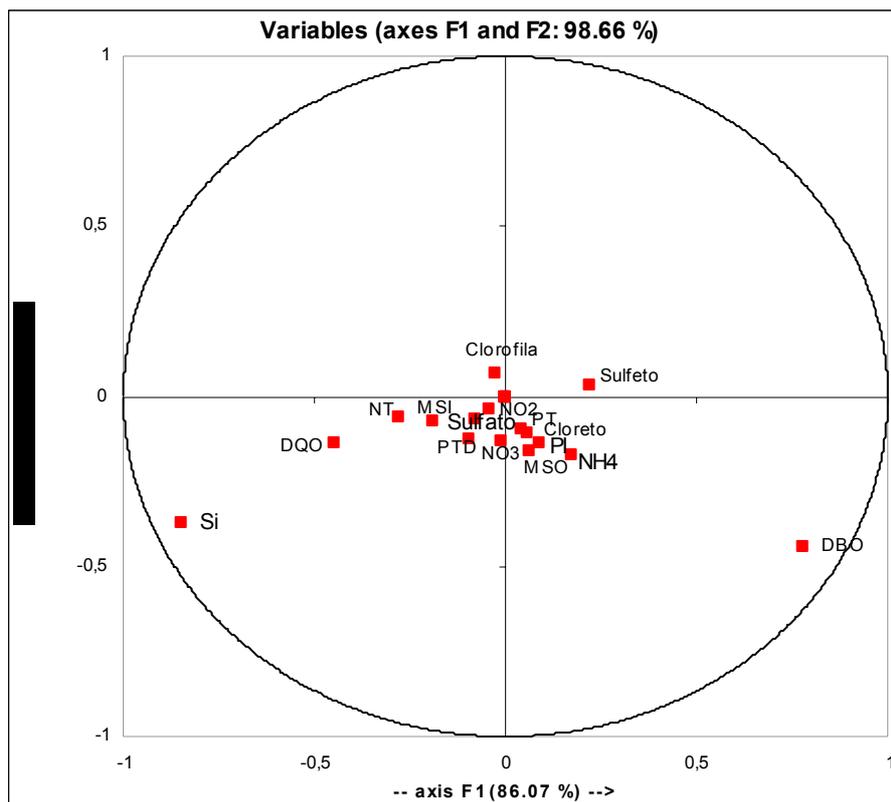
ND – Não detectado

6.2.17 – *Análise estatística*

Pela análise de discriminantes verifica-se que, temporalmente, as águas do rio Monjolinho, e de seus tributário, são influenciadas por diferentes variáveis. Os períodos correspondentes a julho/03 e outubro/03 foram mais semelhantes, com influência das variáveis DBO, íon amônio, fosfato inorgânico, íon cloreto, fósforo total e material orgânico em suspensão. Esta situação foi observada para todos os pontos do rio Monjolinho em julho/03 e outubro/03 e para os tributários Água Quente, Gregório, Madalena, Cancan e Mineirinho, em julho/03. Neste mesmo período, os tributários Serra, Água Fria e Tijuco foram influenciados pelo íon sulfeto (Figura 35).

Em janeiro/04, pode-se notar que as variáveis silicato reativo, DQO, nitrogênio orgânico total, material inorgânico em suspensão, fósforo total dissolvido e íon sulfato foram os responsáveis pela discriminação dos pontos Confluência, Madalena, Mineirinho, Água Quente, Gregório, Usina, Ponte caída, Tijuco, UFSCar e USP. Os pontos Nascente, Serra, Cancan e Água Fria sofreram influência negativa da DBO, íon amônio, fosfato inorgânico e íon cloreto.

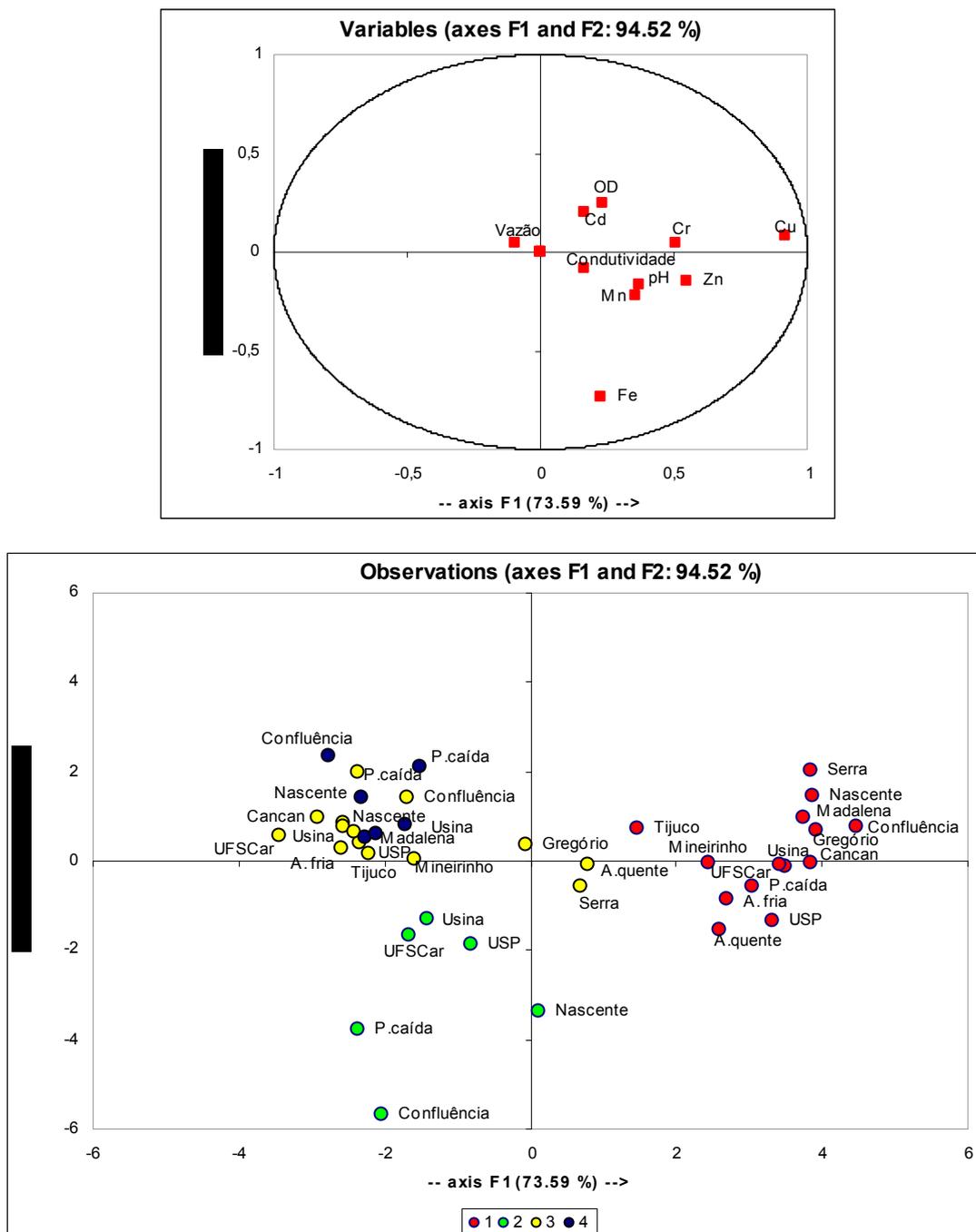
Neste estudo, em abril/04, não foi revelada alguma variável de alto coeficiente. Os resultados demonstraram influência negativa principalmente de silicato reativo, DQO, nitrogênio orgânico total, material inorgânico em suspensão, fósforo total dissolvido e íon sulfato (Figura 36).



1-julho/03; 2-outubro/03; 3-janeiro/04 e 4-abril/04

Figura 36: Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de água do rio Monjolinho e seus tributários, nos quatro períodos de coleta.

Considerando-se os metais no sistema Monjolinho verificou-se, julho/03, a influência dos metais cobre, cromo, cádmio, zinco, manganês e também do pH. Neste período, os metais cobre e cromo influenciaram intensamente os pontos Confluência, Gregório, Cancan, Usina, Madalena, Nascente e Serra. O cádmio apresentou influência sobre os córregos Tijuco e Mineirinho. Os metais zinco e manganês influenciaram os pontos P. Caída, Água Fria, Água Quente e USP. Os demais períodos (outubro/03, Janeiro/04 e abril/04) foram agrupados e caracterizados pela ausência de influência dos metais analisados no presente estudo, sendo que no período chuvoso (janeiro/04 e abril/04) verificou-se uma fraca influência da vazão e em outubro/03 observou-se a influência negativa das baixas concentrações de oxigênio dissolvido (Figura 37).



1-julho/03; 2-outubro/03; 3-janeiro/04 e 4-abril/04

Figura 37: Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de água do rio Monjolinho e seus tributários, nos diferentes períodos de estudo, considerando-se os metais.

6.3 – ANÁLISE FÍSICA E QUÍMICA DO SEDIMENTO

6.3.1 – Porcentagem de matéria orgânica

A porcentagem máxima de matéria orgânica, obtida no rio Monjolinho, foi de 5,5 % no ponto Usina, seguido pelo ponto Confluência (4,95 %) em julho/03. O valor mínimo (0,13%) foi registrado no ponto Ponte Caída, em outubro/03. As maiores porcentagens de matéria orgânica foram obtidas no ponto UFSCar e Confluência (Figura 38 A, Anexo 2-Tabela 64). Considerando-se os tributários, obteve-se uma variação de 0,05%, no córrego Água Fria (em julho/03) a 2,95 % no córrego Cancan, no mesmo período (Figura 38 B, Anexo 2-Tabela 64). Em todos os pontos de coleta foram verificados reduzidos valores de matéria orgânica, nos diferentes meses de amostragem.

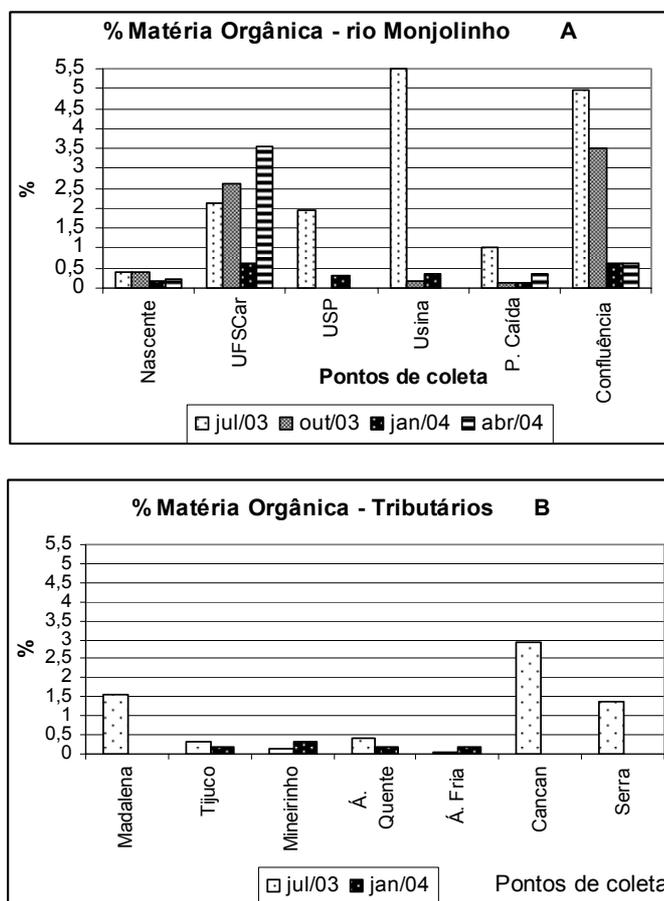


Figura 38: Porcentagens de matéria orgânica dos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.3.2 – Granulometria

Pelos resultados obtidos verifica-se que a composição granulométrica do rio Monjolinho e de seus tributários foi predominantemente arenosa. No ponto Nascente foi observado o predomínio de areia média e de areia fina as quais, somadas, representaram 74%, 82%, 80,77 % e 93,88% da composição granulométrica nos meses de julho/03, outubro/03, janeiro/04 e abril/04, respectivamente. No ponto UFSCar, nos diferentes meses, houve o predomínio de areia média, com exceção de outubro/03, no qual obteve-se a maior porcentagem de areia fina (50,3%). Este ponto foi o único a apresentar maior contribuição de silte e argila nos diferentes períodos de coleta, com mínimo de 10,3% (janeiro/04) e máximo de 21% (abril/04). No ponto USP, foi observado o predomínio de areia grossa e areia média, nos diferentes períodos de coleta, com valores máximos de 62,18% (em outubro/03) e 39,48% (em janeiro/04), respectivamente. Em julho/03 e abril/04, as porcentagens de pedregulho muito fino, foram de 20,77 % e 16,88%, respectivamente. No ponto Usina, as frações granulométricas predominantes foram areia grossa, média e fina, sendo que em outubro/03, a soma das três frações representou 98,47% da composição granulométrica. Os pontos Ponte Caída e Confluência caracterizaram-se pelo predomínio de areia média e fina, nos diferentes períodos de estudo (Tabela 10).

Considerando-se os tributários, observou-se, em geral, que nos córregos Madalena, Tijuco e Mineirinho a areia grossa e a areia média foram os componentes predominantes da composição granulométrica, em ambos os períodos de estudo. No córrego Madalena, em julho/03, silte e argila representaram 21,6% da composição do sedimento. Nos córregos Água Quente e Água Fria, as frações granulométricas predominantes foram areia média e fina (Tabela 11).

Tabela 11: Composição granulométrica dos seis pontos amostrados no rio Monjolinho, em quatro períodos de coleta.

Pontos de coleta ↓	Meses ↓	Composição granulométrica (%)						
		PMF	AMG	AG	AM	AF	AMF	SA
<i>Nascente</i>	<i>Jul./03</i>	3,03	2,57	19,56	42	32,05	0,66	0,13
	<i>Out./03</i>	1,93	1,55	13,2	37,63	44,37	-	-
	<i>Jan./04</i>	0,29	0,93	17,33	50,25	30,52	,045	0,21
	<i>Abr./04</i>	0,06	0,17	5,06	47,74	46,14	0,61	0,2
<i>UFSCar</i>	<i>Jul./03</i>	-	-	22,3	56,7	4,1	-	17,5
	<i>Out./03</i>	-	-	3,6	26,4	50,3	-	18,9
	<i>Jan./04</i>	-	-	2,5	51	36,2	-	10,3
	<i>Abr./04</i>	1,9	-	16,8	51,3	9	-	21
<i>USP</i>	<i>Jul./03</i>	20,77	8,38	24,56	33,62	12,32	0,2	0,15
	<i>Out./03</i>	1,42	10,05	62,18	25,8	0,45	0,02	0,04
	<i>Jan./04</i>	16,88	6,11	29,42	39,48	7,9	0,15	0,05
	<i>Abr./04</i>	9	-	41	32,7	3,6	-	13,8
<i>Usina</i>	<i>Jul./03</i>	2,65	5,52	40,8	38,03	11,47	0,63	0,9
	<i>Out./03</i>	0,33	0,43	17,8	57,53	23,37	0,34	0,2
	<i>Jan./04</i>	5,24	5,25	26,83	45,91	15,64	0,63	0,46
	<i>Abr./04</i>	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
<i>P. Caída</i>	<i>Jul./03</i>	0	-	2,8	77,2	17,4	-	1,8
	<i>Out./03</i>	0,04	0,52	8,2	42,56	47,58	0,82	0,28
	<i>Jan./04</i>	3,11	0,91	9,57	37,37	48,55	0,42	0,04
	<i>Abr./04</i>	0,004	0,036	0,45	19,69	76,24	3,09	0,47
<i>Confluência</i>	<i>Jul./03</i>	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
	<i>Out./03</i>	-	-	11	24,7	48	-	16,3
	<i>Jan./04</i>	-	-	-	35	58,5	-	5,3
	<i>Abr./04</i>	-	-	3,3	89,8	4,1	-	2,8

PMF- pedregulho muito fino; AMG – areia muito grossa; AG – areia grossa; AM – areia média; AF – areia fina; AMF – areia muito fina; SA – silte e argila; composição granulométrica predominante; nc – não coletado; _ não registrado .

Tabela 12: Composição granulométrica dos tributários do rio Monjolinho, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04).

Pontos de coleta ↓	Meses ↓	Composição granulométrica (%)						
		PMF	AMG	AG	AM	AF	AMF	SA
<i>Madalena</i>	<i>Jul./03</i>			38,6	36	3,8		21,6
	<i>Jan./04</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tijuco</i>	<i>Jul./03</i>	62,86	7,86	12,53	11,72	4,47	0,3	0,26
	<i>Jan./04</i>	1,11	1,19	15,17	48,46	31,95	1,17	0,93
<i>Mineirinho</i>	<i>Jul./03</i>	6,74	3,62	37,7	37,68	13,9	0,31	0,02
	<i>Jan./04</i>	-	-	25	58	8	-	9
<i>Á. Quente</i>	<i>Jul./03</i>	10,31	1,5	7,05	33,62	45,3	1,92	0,3
	<i>Jan./04</i>	0,41	0,95	16	45,84	35,84	0,85	0,12
<i>Á. Fria</i>	<i>Jul./03</i>		0,44	5,75	27,44	58,33	6,4	1,63
	<i>Jan./04</i>	0,26	0,44	3,96	48,36	44,3	1,9	0,74

PMF- pedregulho muito fino; AMG – areia muito grossa; AG – areia grossa; AM – areia média; AF – areia fina; AMF – areia muito fina; SA – silte e argila; composição granulométrica predominante; nc – não coletado; _ não registrado .

6.3.3 – Fósforo total

No rio Monjolinho, no ponto Nascente, foram obtidas as menores concentrações de fósforo total nos diferentes períodos de coleta, com valores mínimo e máximo de 166 µg/g e 574 µg/g, em abril/04 e julho/03, respectivamente. As maiores concentrações foram detectadas no ponto Confluência, com o mínimo de 284,15 µg/g, em janeiro/04 e o máximo de 766,55 µg/g, em outubro/03. Em abril/04, o valor máximo (426 µg/g) foi obtido no ponto UFSCar. Nos diferentes meses, as maiores concentrações de fósforo total foram registradas nos pontos UFSCar e Confluência (Figura 39 A, Anexo 2-Tabela 65).

Dentre os tributários, o córrego Água Fria, tanto no período seco como no chuvoso, apresentou a menor concentração de fósforo total (18 µg/g). Os maiores valores foram obtidos no córrego Tijuco, em ambos os períodos de coleta, com valor mínimo de 50 µg/g, em janeiro/04, e máximo de 470,75 µg/g, em julho/03. Em janeiro/04 não foram coletadas amostras nos córregos Madalena, Cancan e Serra (Figura 39 B, Anexo 2-Tabela 65).

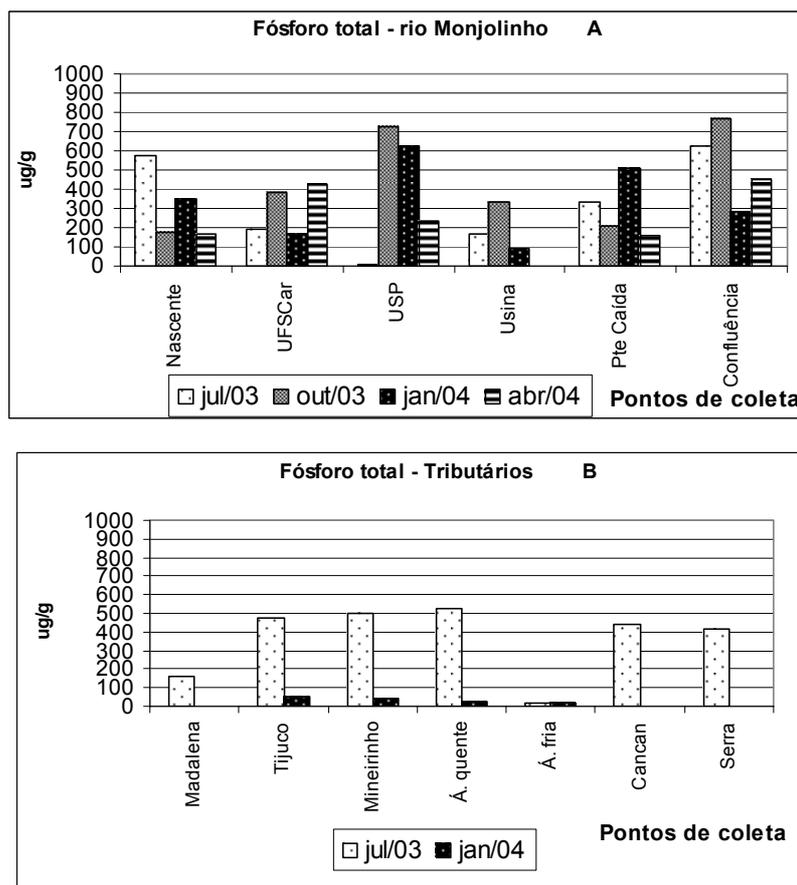


Figura 39: Concentrações de fósforo total nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.3.4 – Nitrogênio orgânico total

As maiores porcentagens de nitrogênio orgânico total, no rio Monjolinho, foram obtidas no ponto Confluência nos diferentes períodos de coleta (valor máximo de 0,25%-out/03), com exceção de abril/04, período que se obteve o valor máximo de 0,165%, no ponto UFSCar. Em abril/04, foi detectado no ponto UFSCar o valor máximo de 0,16%. No ponto Nascente, com exceção de julho/03, foram obtidas as menores porcentagens de nitrogênio orgânico total com o valor mínimo obtido em janeiro/04 (0,0046%) e o valor máximo (0,035 %), em julho/03. Neste período, o valor mínimo de 0,021 % foi registrado nos pontos USP e Usina. Os resultados de nitrogênio orgânico total, assim como de fósforo total e matéria orgânica, indicaram que os maiores valores ocorreram nos pontos UFSCar e Confluência (Figura 40 A, Anexo 2-Tabela 66).

Em relação aos tributários, em julho/03, os córregos Água Quente e Cancan apresentaram os valores mínimo e máximo de 0,007 % e 0,10 %, respectivamente. Em janeiro/04, o valor mínimo de 0,011% foi registrado nos córregos Água Quente e Água

Fria, e o valor máximo de 0,021 % foi obtido nos córregos Tijuco e Mineirinho. Em julho/03, não foram coletadas amostras de sedimento dos córregos Madalena, Cancan e Serra (Figura 40 B, Anexo 2-Tabela 66).

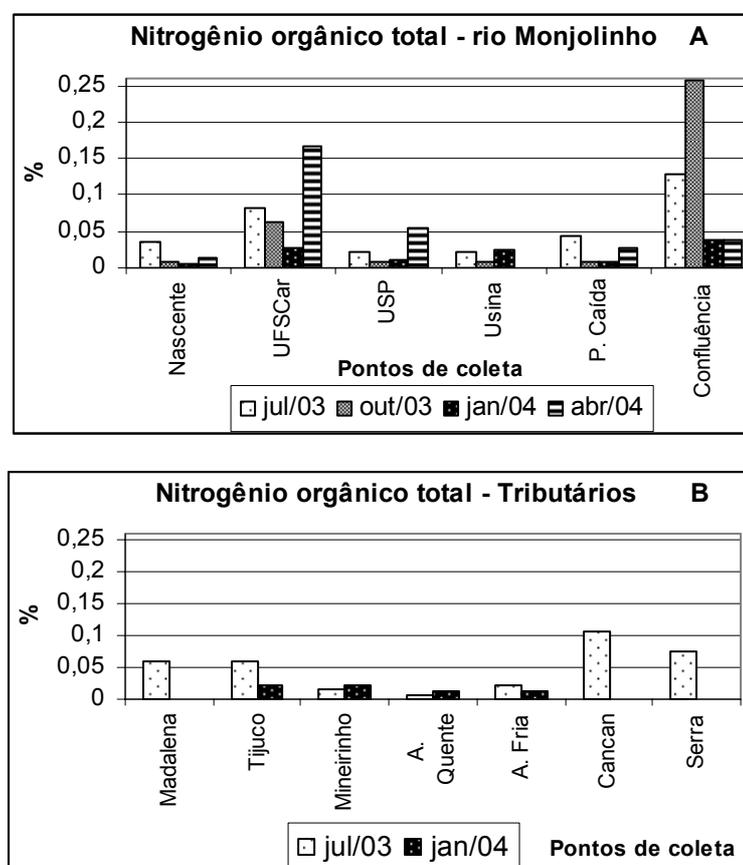


Figura 40: Concentrações de nitrogênio orgânico total nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.3.5 – Metais potencialmente biodisponíveis

Cádmio

No rio Monjolinho, não foi detectado cádmio no ponto USP em nenhum período. No ponto P. Caída, somente em julho/03 detectou-se cádmio com uma concentração de 0,028 $\mu\text{g/g}$. Em janeiro/04, apenas no ponto Nascente foi registrado a presença de cádmio, com concentração de 0,038 $\mu\text{g/g}$. No ponto Confluência, em julho/03 e outubro/03, foram obtidas as maiores concentrações (0,049 $\mu\text{g/g}$ e 0,087 $\mu\text{g/g}$, respectivamente). Em abril/04, a concentração máxima foi obtida no ponto UFSCar, (0,058 $\mu\text{g/g}$). A Nascente sempre apresentou o valor mínimo (0,0005 $\mu\text{g/g}$ -abril/04 e 0,007 $\mu\text{g/g}$ -julho/03). Neste ponto, os valores de cádmio em outubro/03 estavam abaixo do limite de detecção do método (Figura 41 A, Anexo 2-Tabela 67).

Considerando-se os tributários, nos córregos Madalena, Cancan e Serra em ambos os períodos, e no córrego Mineirinho, em julho/03, não foi detectado o metal cádmio. Em janeiro foram registradas as menores concentrações com valor mínimo de 0,00175 $\mu\text{g/g}$, no córrego Mineirinho e valor máximo de 0,0074 $\mu\text{g/g}$, no córrego Água Quente. Em julho/03, os valores mínimo e máximo foram de 0,0058 $\mu\text{g/g}$ e 0,053 $\mu\text{g/g}$, nos córregos Água Quente e Tijuco, respectivamente (Figura 41 B, Anexo 2-Tabela 67).

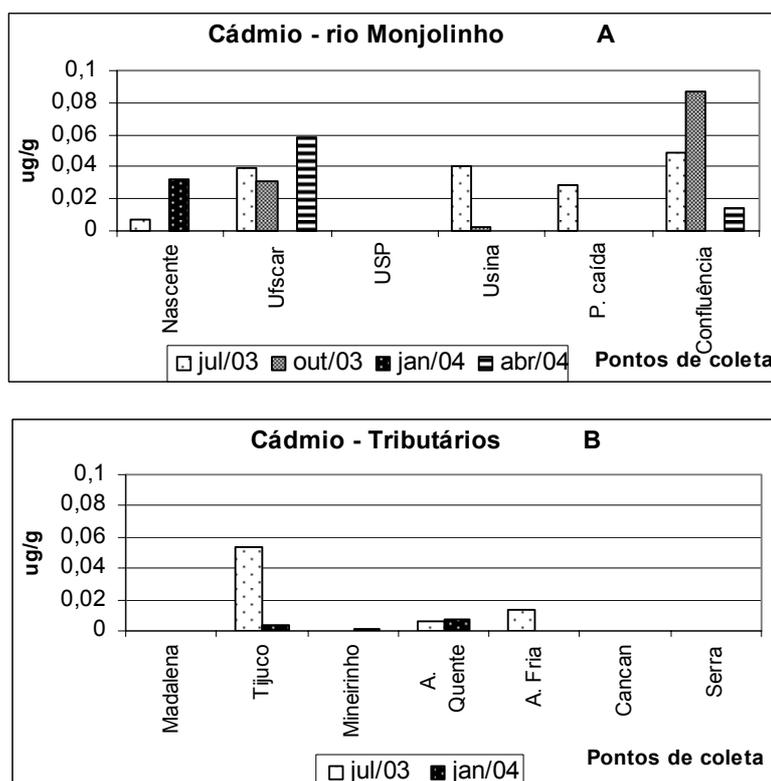


Figura 41: Concentrações de cádmio nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

Cobre

As menores concentrações de cobre foram detectadas no ponto Nascente nos diferentes períodos de coleta, com valor mínimo (0,258 $\mu\text{g/g}$) em abril/04, e valor máximo (0,396 $\mu\text{g/g}$) em julho/03. O ponto Confluência, em julho/03 e em outubro/03, apresentou as maiores concentrações (13,54 $\mu\text{g/g}$ e 27,71 $\mu\text{g/g}$, respectivamente). Em janeiro/04 e abril/04 foram registrados os maiores valores de cobre no ponto UFSCar (10,40 $\mu\text{g/g}$ e 5,48 $\mu\text{g/g}$, respectivamente). Em geral, os diferentes pontos de coleta apresentaram as menores concentrações em abril/04 (Figura 42 A, Anexo 2-Tabela 67).

Em relação aos tributários, em ambos os períodos, o córrego Tijuco apresentou as maiores concentrações de cobre (9,72 $\mu\text{g/g}$ e 6,24 $\mu\text{g/g}$, respectivamente). Em julho/03, foi

obtido o valor mínimo de 0,15 $\mu\text{g/g}$ no córrego Cancan e em janeiro/04, no córrego Água Quente (0,74 $\mu\text{g/g}$). Neste período não foram coletadas amostras nos córregos Madalena, Cancan e Serra (Figura 42 B, Anexo 2-Tabela 67).

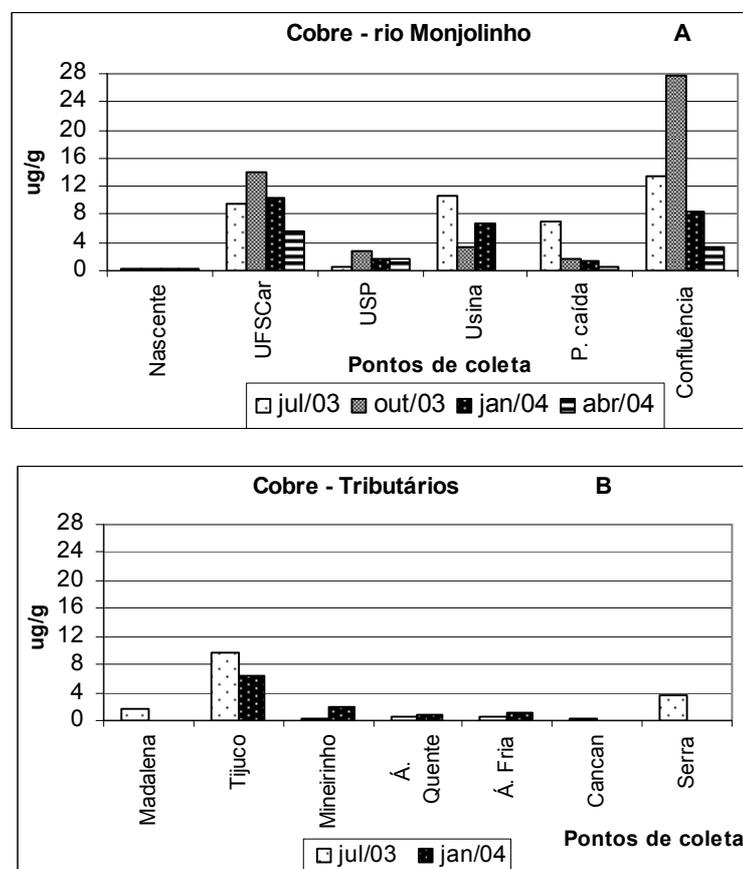


Figura 42: Concentrações de cobre nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

Cromo

As maiores concentrações de cromo, no rio Monjolinho, foram obtidas no Ponto UFSCar nos diferentes períodos de coleta, com exceção de abril/04, máximo de 2,53 $\mu\text{g/g}$, no ponto USP, com a maior concentração de 4,50 $\mu\text{g/g}$, em outubro/03, e valor mínimo de 1,27 $\mu\text{g/g}$, em abril/04. O ponto Confluência também se destacou em julho/03 e em outubro/03 por apresentar valores de cromo elevados (1,71 $\mu\text{g/g}$ e 2,80 $\mu\text{g/g}$, respectivamente). A menor concentração de cromo durante o estudo foi de 0,05 $\mu\text{g/g}$ no ponto USP, em julho/03. Na Nascente, em outubro/03, não foi detectado o metal cobre (Figura 43 A, Anexo 2-Tabela 67). Considerando-se os tributários, no córrego Tijuco foram obtidas as concentrações máximas de 0,86 $\mu\text{g/g}$ e 0,55 $\mu\text{g/g}$, em julho/03 e janeiro/04, respectivamente. As concentrações mínimas foram obtidas no córrego Cancan (0,025 $\mu\text{g/g}$),

em julho/03, e no córrego Água Fria (0,033 $\mu\text{g/g}$), em janeiro/04. Neste período não foram coletadas amostras nos córregos Madalena, Cancan e Serra (Figura 43 B, Anexo 2-Tabela 67).

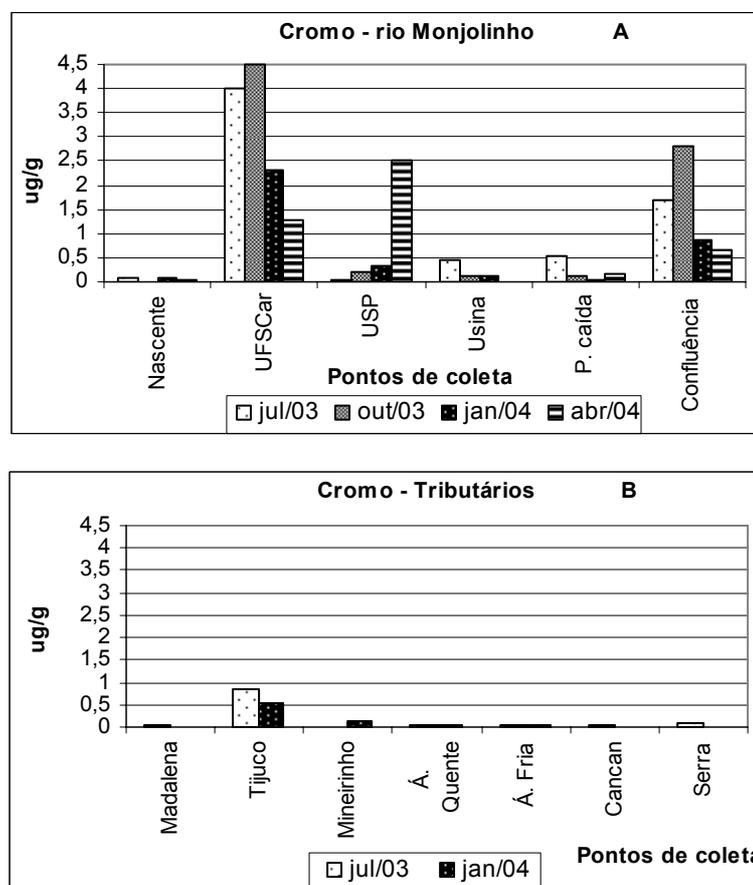


Figura 43: Concentrações de cromo total nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

Ferro

No rio Monjolinho, em outubro/03, foram verificadas concentrações elevadas de ferro nos pontos UFSCar e Confluência (109360 mg/kg e 191960 mg/kg, respectivamente). Em julho/03, outubro/03 e janeiro/04 as concentrações de ferro na Nascente estiveram abaixo do limite de detecção do método, sendo que em abril/04 registrou-se a menor concentração do período (2,05 mg/kg). No ponto Confluência, nos períodos seco e chuvoso, também não foi registrada a presença de ferro. No ponto UFSCar, nos diferentes períodos de coleta, foram obtidas as maiores concentrações de ferro (Figura 44 A, Anexo 2-Tabela 68). Em relação aos tributários, no córrego Tijuco foram registradas, nos períodos seco e chuvoso, as maiores concentrações de ferro (2464 mg/kg e 7863 mg/kg, respectivamente).

O córrego Água Fria, em julho/03, apresentou a menor concentração (55 mg/kg) e em janeiro/04, o menor valor ocorreu no córrego Água Quente (1045 mg/kg). Em janeiro/04 não foram coletadas amostras nos córregos Madalena, Cancan e Serra (Figura 44 B, Anexo 2-Tabela 68).

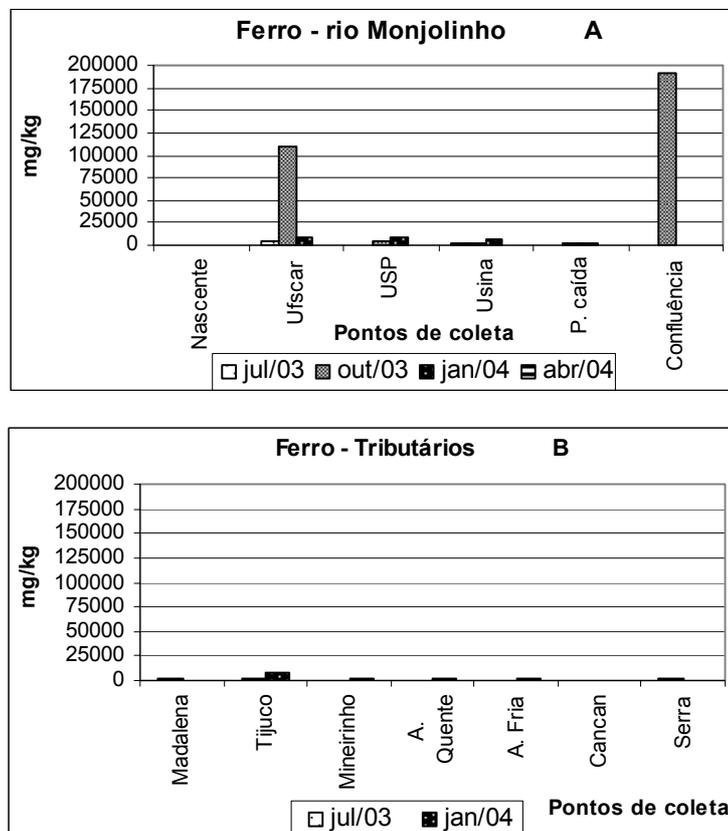


Figura 44: Concentrações de ferro nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

Manganês

A concentração máxima de manganês, no rio Monjolinho, foi obtida no ponto Confluência em outubro/03 (2470 mg/kg). Este mesmo ponto apresentou a maior concentração em janeiro/04 (610 mg/kg). Em julho/03 e abril/04, no ponto UFSCar foram obtidas as maiores concentrações de manganês (368 mg/kg e 19,85 mg/kg). O ponto Nascente apresentou as menores concentrações, nos diferentes períodos de coleta, com o valor mínimo de 0,25 mg/kg em abril/04 e valor máximo de 10 mg/kg em outubro/03, não sendo detectado manganês, neste ponto, em julho/03 e em janeiro/04. Em geral, as menores concentrações de manganês foram registradas em abril/04 (Figura 45 A, Anexo 2-Tabela 68). Referindo-se aos resultados obtidos nos tributários, o córrego Mineirinho, em julho/03 e o córrego Água Quente em janeiro/04, apresentaram os valores mínimos de 22 mg/kg e 29

mg/kg, respectivamente. As concentrações máximas de 1775 mg/kg, em julho/03, e de 232 mg/kg, em janeiro/04, foram obtidas nos córregos Serra e Tijuco, respectivamente. As maiores concentrações sempre foram registradas no período seco. Em janeiro/04 não foram coletadas amostras nos córregos Madalena, Cancan e Serra (Figura 45 B, Anexo 2-Tabela 68).

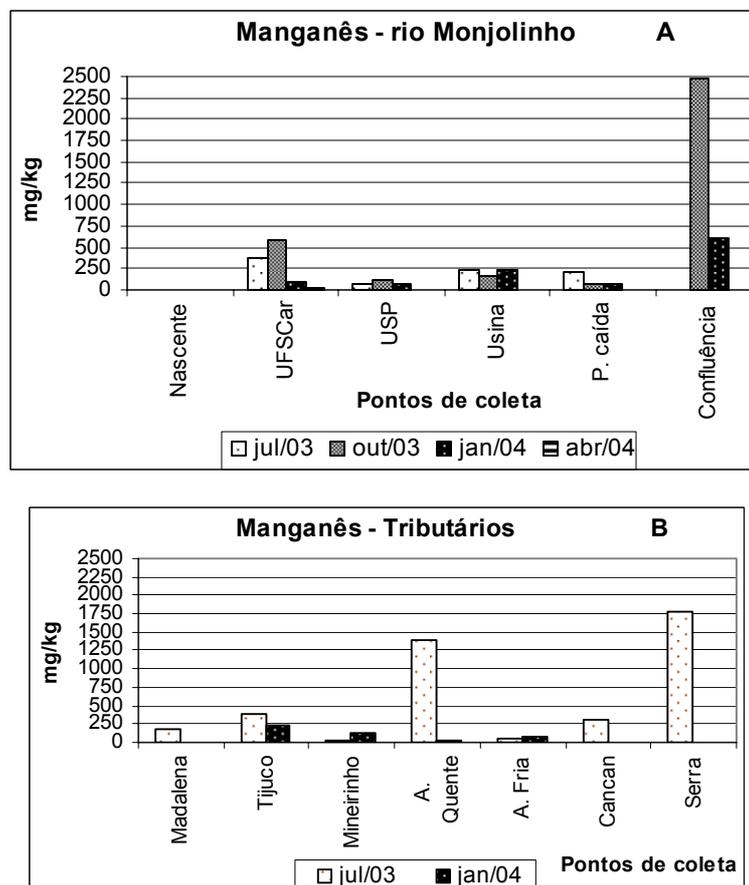


Figura 45: Concentrações de manganês nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

Zinco

Os resultados obtidos para o metal zinco revelaram que o ponto UFSCar em julho/03, janeiro/04 e abril/04, apresentou as concentrações máximas de 136 mg/kg, 195 mg/kg e 6,82 mg/kg, respectivamente. Em outubro/03 foi detectada a maior concentração de zinco ao longo do estudo, no ponto Confluência (1328 mg/kg). Não foi registrada a presença deste metal na Nascente em julho/03, outubro/03 e janeiro/04, sendo que em abril/04 o valor obtido foi 0,125 mg/kg, correspondendo a menor concentração detectada no

rio Monjolinho. Neste período foram registradas as menores concentrações de zinco nos diferentes pontos amostrados (Figura 46 A, Anexo 2-Tabela 68).

Dentre os tributários estudados, no córrego Tijuco foram obtidas as maiores concentrações de zinco nos períodos seco e chuvoso, correspondentes a 253mg/kg e 129 mg/kg, respectivamente. No córrego Mineirinho foram obtidas as menores concentrações em julho/03 e em janeiro/04 (8 mg/kg e 21 mg/kg, respectivamente). Em janeiro/04, não foi registrado o metal zinco no córrego Água Quente e não foram coletadas amostras nos córregos Madalena, Cancan e Serra (Figura 46 B, Anexo 2-Tabela 68).

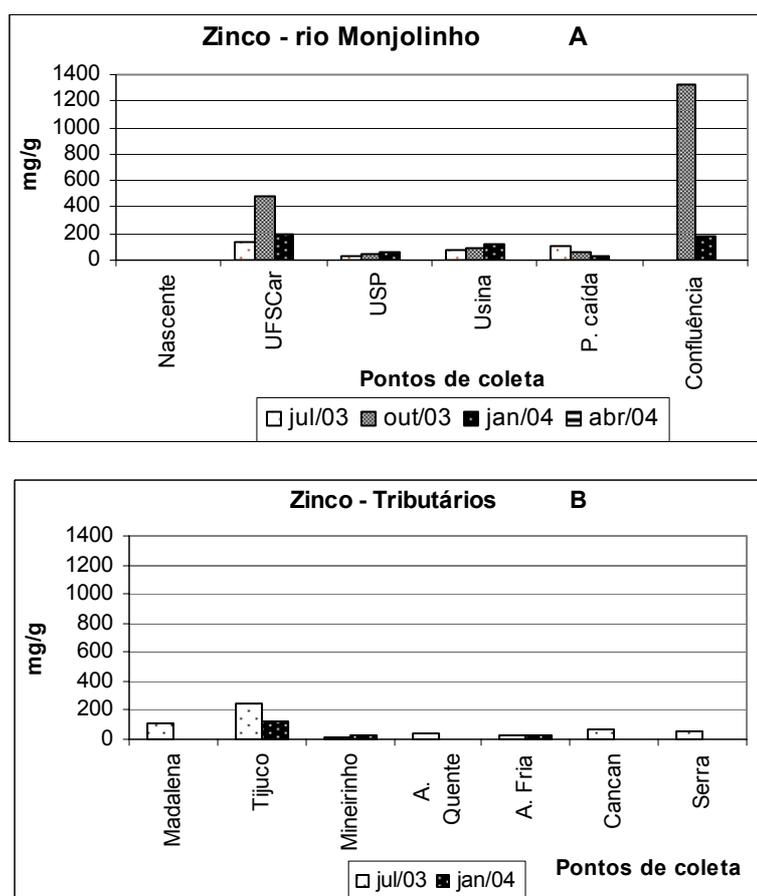


Figura 46: Concentrações de zinco nos sedimentos coletados no rio Monjolinho (A), em quatro períodos de coleta, e nos seus tributários (B) nos períodos seco e chuvoso.

6.3.6 – Pesticidas organoclorados

Os resultados de pesticidas organoclorados obtidos nos sedimentos do rio Monjolinho e de alguns tributários, podem ser visualizados na tabela 12.

No rio Monjolinho, o organoclorado aldrin foi detectado no sedimento dos pontos P. Caída (0,034 $\mu\text{g}/\text{kg}$) e Confluência (0,044 $\mu\text{g}/\text{kg}$), em julho/03, e no período chuvoso as concentrações variaram de 0,003 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (no ponto USP) a 0,059 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (no ponto UFSCar).

Nos pontos Nascente e P. Caída não foi detectado aldrin. Quanto aos tributários, em outubro/03, foram registradas concentrações de 0,054 µg/kg e 0,062 µg/kg, nos córregos Cancan e Serra, respectivamente.

Em janeiro/04, não foi detectado no rio Monjolinho o organoclorado endossulfan sulfato, e em julho/03, a concentração máxima detectada foi de 9,11 µg/kg, no ponto Usina e o valor mínimo de 0,029µg/g, no ponto P. Caída. Neste período nos pontos Nascente e UFSCar não foi detectado tal substância. Dentre os tributários, somente no córrego Cancan foi obtido endossulfan em uma concentração de 0,052 µg/kg, em julho/03.

Considerando-se o organoclorado heptachloro, no rio Monjolinho, este somente foi obtido no ponto Confluência, com concentrações correspondentes a 10,64 µg/kg e 0,29 µg/kg, em julho/03 e janeiro/04, respectivamente. No córrego Cancan, em julho/03, obteve-se uma concentração de 0,892 µg/kg.

Tabela 13: Concentrações dos organoclorados aldrin, heptachloro e endossulfan sulfato, no rio Monjolinho e em dois de seus tributários, nos períodos seco e chuvoso.

PESTICIDAS →		Aldrin (µg/kg)		Endossulfan (µg/kg)		Heptachloro (µg/kg)	
Pontos de coleta		Julho/03	Janeiro/04	Julho/03	Janeiro/04	Julho/03	Janeiro/04
rio Monjolinho	Nascente	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	<i>Nd</i>
	UFSCar	Nd	0,059	Nd	Nd	Nd	<i>Nd</i>
	USP	<Ld	0,003	5,88	Nd	Nd	<i>Nd</i>
	Usina	Nd	0,041	9,11	Nd	Nd	<i>Nd</i>
	P. Caída	0,034	Nd	0,029	Nd	Nd	<i>Nd</i>
	Confluência	0,07	0,044	< Ld	Nd	10,64	0,29
Tributários	Cancan	0,054	Nc	0,52	Nc	0,892	<i>Nc</i>
	Serra	0,062	<i>Nc</i>	<i>Nd</i>	<i>Nc</i>	<i>Nd</i>	<i>Nc</i>

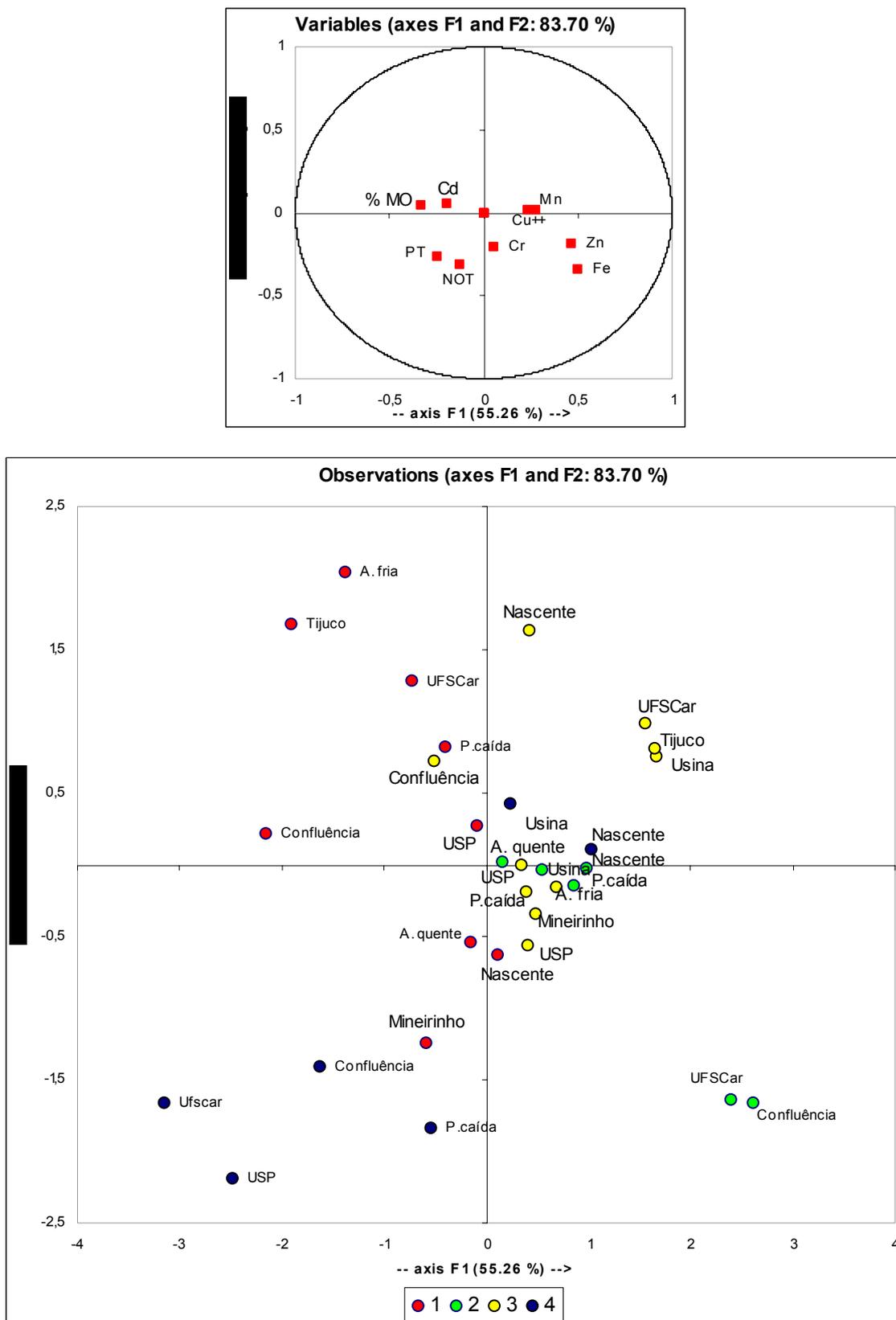
<Ld – abaixo do limite de detecção; Nd – Não detectado;

6.3.7– Análise estatística

De acordo com os resultados obtidos pela análise de discriminantes, foi verificado que os sedimentos dos períodos de outubro/03 e janeiro/04 foram influenciados pelos metais cobre, manganês, cromo, ferro e zinco. Em ambos os períodos pode-se destacar os pontos Nascente, USP, Usina e P. Caída, incluindo-se, em janeiro/04, os tributários Água Quente, Água Fria e Mineirinho e também Nascente em julho/03. Nos demais períodos, as influências foram diversificadas.

Em julho/03, observa-se que os pontos USP, Confluência e Ponte Caída foram fortemente influenciados pela porcentagem de matéria orgânica e pelo metal cádmio, com as mesmas variáveis influenciando o ponto Confluência em janeiro/04.

As variáveis fósforo total e nitrogênio orgânico total influenciaram os pontos Confluência, P. Caída, USP e UFSCar, em abril/04 e os tributários Água Quente e Mineirinho em julho/03. Estes resultados podem ser visualizados na figura 47.



1-julho/03; 2-Outubro/03; 3-Janeiro/04 e 4-Abril/04

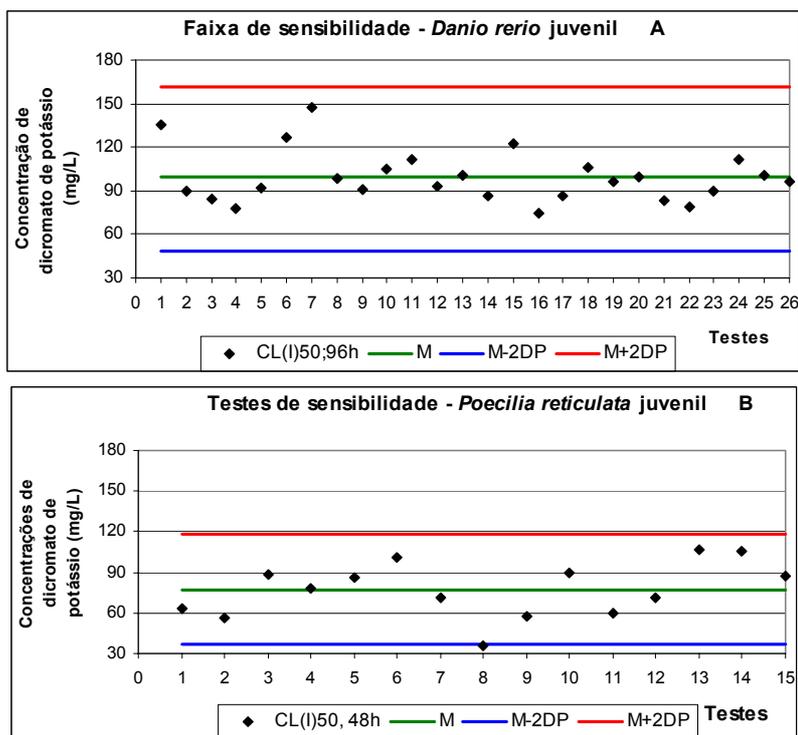
Figura 47: Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de sedimento do rio Monjolinho e de seus tributários, nos diferentes períodos de estudo.

6.4 – Testes de toxicidade

6.4.1 – Testes de sensibilidade

Os diferentes lotes de *D. rerio* e de *P. reticulata* juvenis, obtidos comercialmente e em reprodução no laboratório (considerando-se a espécie *P. reticulata*) para a realização dos testes de toxicidade (amostras ambientais, testes “*in situ*”, testes com cádmio e testes com endossulfan), apresentaram-se dentro das faixas de sensibilidade ao dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), obtidas no presente estudo. A média calculada (M) de CL(I)50, 96h, estático, para *D. rerio* foi 99,36 mg/L em um total de 26 testes definitivos realizados. As concentrações dos limites superior (M+2DP) e inferior (M-2DP) da faixa de sensibilidade foram estabelecidas em 48,6 mg/L e 161,47 mg/L, respectivamente (Figura 48 A).

Considerando-se a espécie *P. reticulata*, o valor médio de CL(I)50, 48h, estático, foi 77,17 mg/L. A faixa de sensibilidade ao dicromato de potássio foi de 33,45 mg/L (limite inferior) a 117,89 mg/L (limite superior). Foram realizados 15 testes de sensibilidade, sendo que o lote de peixes correspondente ao teste de número 8 ficou abaixo do limite inferior estabelecido para os juvenis desta espécie, não sendo utilizado em bioensaios (Figura 48 B).



M-média da CL(I)50, 96h; M-2DP (limite inferior da faixa de sensibilidade); M+2DP (limite superior da faixa de sensibilidade)

Figura 48: Faixas de sensibilidade ao dicromato de potássio obtidas para os juvenis de *D. rerio* (A) e de *P. reticulata* (B) no presente estudo.

6.4.2. – Homogeneidade dos organismos teste (biometria inicial).

Os diferentes lotes de *Danio rerio* e de *Poecilia reticulata*, juvenis, adquiridos comercialmente e em laboratório, apresentaram as correlações peso-comprimento satisfatórias, sendo que o maior índice de correlação de Spearman (rs) foi obtido para os juvenis de *P. reticulata*, em outubro/03 (0,9895), e o menor valor (0,652), para juvenis de *D. rerio* (out/03) (Tabela 15). Considerando-se os organismos-teste adultos adquiridos comercialmente (em julho/03, janeiro/04 e em abril/04) a maior correlação foi obtida em abril/04 (0,9732), para *P. reticulata*, e a menor correlação (0,761) para *D. rerio* juvenil (janeiro/04) (Tabela 14). Todos os lotes apresentam $p < 0,05$, indicando a homogeneidade dos organismos-teste

As médias obtidas para juvenis e adultos, nos diferentes períodos, enquadraram-se nas respectivas fases, conforme bibliografia consultada (pág 26) e observações de estruturas gonadais em laboratório.

Tabela 14: Valores médios de peso e comprimento, de ambas as espécies na fase adulta, e o respectivo coeficiente de correlação de Spearman, para os diferentes lotes adquiridos comercialmente.

Variáveis	<i>Danio rerio</i> adultos			<i>Poecilia reticulata</i> adultos		
	Julho/03	Janeiro/04	Abril/04	Julho/03	Janeiro/04	Abril/04
Peso médio (g)	0,2636 (±10,41)	0,1601 (±5,27)	0,1742 (±4,8)	0,2653 (±0,027)	0,2831 (± 4,6)	0,2754 (± 5,78)
Comp. padrão (cm)	2,46 (± 0,26)	2,22 (± 0,21)	2,30 (±0,25)	2,27 (± 0,17)	2,56 (±0,41)	2,35 (± 0,36)
rs	0,9030	0,76	0,9510	0,9630	0,8377	0,9732
p	0,0008	0,0058	0,0007	<0,0001	0,0007	<0,0001

± - Desvio padrão

Tabela 15: Valores médios de peso e comprimento, de ambas as espécies na fase juvenil, e o respectivo coeficiente de correlação de Spearman, para os diferentes lotes adquiridos comercialmente e em laboratório, considerando-se *P. reticulata*.

Variáveis	<i>Danio rerio</i> juvenis				<i>Poecilia reticulata</i> juvenis			
	Julho/03	Outubro	Janeiro/04	Abril/04	Julho/03	Outubro	Janeiro/04	Abril/04
Peso médio (g)	0,045 (± 0,013)	0,051 (± 0,0011)	0,0344 (± 0,0091)	0,0350 (±0,0093)	0,093 (±0,054)	0,101 (±0,076)	0,104 (±0,058)	0,094 (±0,042)
Comp. padrão (cm)	1,51 (± 0,022)	0,88 (± 0,045)	1,27 (± 0,014)	1,27 (± 0,12)	1,64 (± 0,21)	1,69 (± 0,28)	1,73 (± 0,24)	1,62 (± 0,25)
rs	0,9195	0,652	0,9142	0,9043	0,9381	0,9895	0,9624	0,9636
p	0,0000	0,02	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,000

± - Desvio padrão

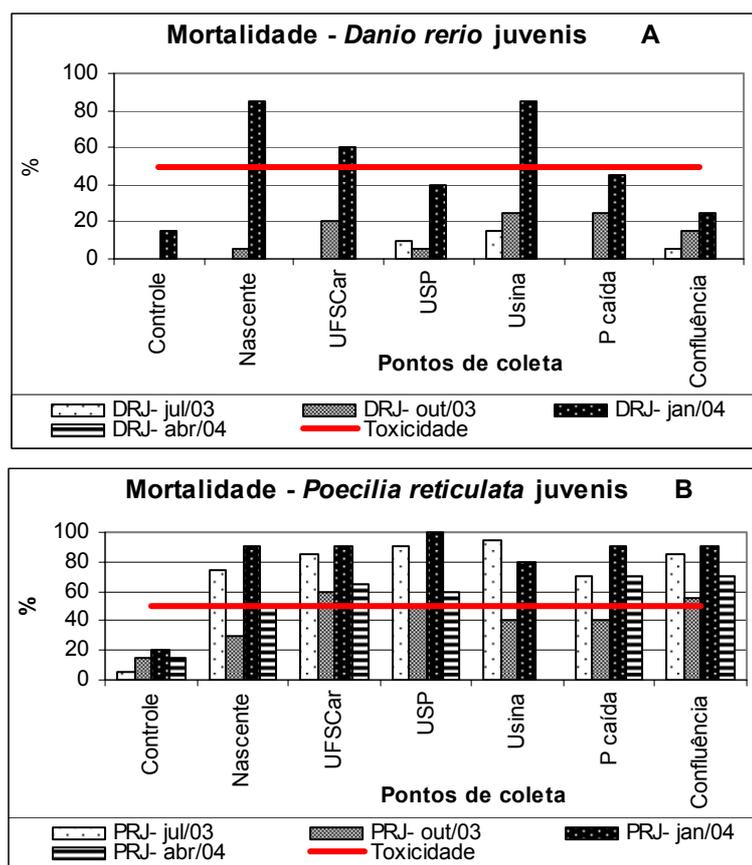
6.4.3 - Bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento.

Comparando-se as proporções de mortalidade dos organismos controle com os organismos submetidos aos bioensaios crônicos parciais com sedimentos de cada ponto de coleta, através do Teste Exato de Fisher, para ambas as espécies, pode-se verificar que as porcentagens de mortalidades iguais ou superiores a 50%, com valores de p menores do que 0,05, demonstrando a significância dos pares, o que indicou a toxicidade das amostras (Tabelas 16 e 17).

As maiores porcentagens de mortalidade, para ambos os organismos-teste, foram registradas em janeiro /04, com uma variação de 80% (Usina) a 100% (USP), para *P. reticulata*, e de 25% (Confluência) a 85% (Nascente e Usina) para a espécie *D. rerio*. Neste período as amostras de sedimento foram tóxicas, para todos os pontos, considerando as mortalidades de *P. reticulata*. Esta condição foi detectada nos pontos Nascente (85%), UFSCar (60%) e Usina (85%), considerando-se as mortalidades de *D. rerio* (Anexo 3- Tabelas 69, 70, 71 e 72).

Em abril/04, não foram registradas mortalidades para *D. rerio*, sendo que todos os pontos de coleta foram tóxicos com base nas porcentagens de mortalidades obtidas para *P. reticulata* (50% de mortalidade na Nascente; 70% de mortalidade nos pontos P. Caída e Confluência; 65% no ponto UFSCar e 60% no ponto USP). Em julho/03 e outubro/03, foram registradas baixas porcentagens de mortalidade para a espécie *D. rerio*, com valores máximos de 15% (Usina) e 25% (Usina e P. Caída), respectivamente, não sendo verificada a toxicidade das amostras (Figura 49 A e Tabela 16).

Considerando-se a espécie *P. reticulata*, em julho/03, pode-se verificar uma diminuição nas porcentagens de mortalidade, comparando-se aos resultados de janeiro/04, porém, indicando a toxicidade de todos os pontos amostrados. As porcentagens de mortalidade mínima e máxima observadas foram de 70% (P. Caída) e 95% (Usina), respectivamente. Em outubro/03, registraram-se as menores porcentagens de mortalidade, com uma variação de 30% a 60% para os pontos Nascente e UFSCar. Neste período foram consideradas tóxicas as amostras dos pontos USP (50%) Confluência (55%) e UFSCar (60%), com base na espécie *P. reticulata* (Figura 49 B).



DRJ-*Danio rerio* juvenil; PRJ-*Poecilia reticulata* juvenil

Figura 49: Mortalidade (%) de *D. rerio* (A) e de *P. reticulata* (B) submetidos a testes de toxicidade crônicos parciais com amostras de sedimentos em quatro períodos de amostragem.

Tabela 16: Valores de *p* obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação das mortalidades de *D. rerio* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com sedimento, em cada ponto, nos diferentes períodos de amostragem.

Danio rerio juvenil				
Análise estatística →	Teste Exato de Fisher			
Comparação das mortalidades ↓	Valores de <i>p</i>			
	Julho/03	Outubro/03	Janeiro/04	Abril/04
Controle x Nascente	1	1	0 *	<i>l</i>
Controle x UFSCar	1	0,1	0,0043 *	<i>l</i>
Controle x USP	1	1	0,093 *	<i>l</i>
Controle x Usina	0,24	0,047 *	0 *	<i>Nr</i>
Controle x P. Caída	0,23	0,047 *	0,048 *	<i>l</i>
Controle x Confluência	<i>l</i>	0,23	0,69	<i>l</i>

(*) Valores de $p < 0,05$, demonstrando a toxicidade das amostras; Nr – teste não realizado

Tabela 17: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de *P. reticulata* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com sedimento, em cada ponto, nos diferentes períodos de amostragem.

<i>Poecilia reticulata juvenis</i>				
Análise estatística →	Teste Exato de Fisher			
Comparação das mortalidades ↓	Valores de p			
	Julho/03	Outubro/03	Janeiro/04	Abril/04
Controle x Nascente	0,0000*	0,45	0,0000*	0,04*
Controle x UFSCar	0,0000*	0,0043*	0,0000*	0,0031*
Controle x USP	0,0000*	0,04*	0,0000*	0,0043*
Controle x Usina	0,0000*	0,093	0,0000*	Nr
Controle x P. Caída	0,0000*	0,093	0,0000*	0,001*
Controle x Confluência	0,0000*	0,01*	0,0000*	0,001*

(*) Valores de $p < 0,05$, demonstrando a toxicidade das amostras; Nr – teste não realizado

6.4.3.1 - Biometria final dos organismos-teste

Comparando-se os valores de peso fresco e comprimento padrão dos organismos *D. rerio* do grupo controle, com os organismos expostos aos sedimentos dos diferentes pontos amostrados no rio Monjolinho, após sete dias de experimento, através da análise de variância Kruskal-Wallis, foram verificados nos pontos Usina, P. Caída e Confluência, em outubro/03, valores de p menores do que 0,05, para ambas as variáveis, demonstrando a diferença significativa de crescimento em relação aos organismos controle (Tabela 18).

Considerando-se *P. reticulata*, em relação ao peso fresco, os organismos-teste sobreviventes nos bioensaios crônicos parciais com sedimentos dos pontos UFSCar e USP, em julho/03, diferiram significativamente dos pesos obtidos para os organismos controle, com valores de p correspondentes a 0,024 e 0,0001, respectivamente. Em relação ao comprimento padrão, a mesma situação foi detectada no ponto USP, com valor de p igual a 0,0002 (Tabela 18).

Tabela 18: Análise comparativa do peso fresco (g) e comprimento padrão (cm) dos organismos-teste, expostos aos sedimentos dos diferentes pontos de coleta, em relação aos organismos controle, para ambas as espécies, por meio da análise de variância Kruskal-Wallis.

<i>Danio rerio</i> juvenil					
Variável analisada →		PESO FRESCO (g)			
Análise estatística →		Análise de variância Kruskal-Wallis			
Períodos →		Julho/03	Outubro/03	Janeiro/04	Abril/04
Valor do teste (KW) →		58,014	289,75	49,624	48,50
Valor de p →		0,4458	0,0001 *	0,5486	0,43
Valores de probabilidade (p) do pós-teste comparando os diferentes pares de tratamento.	C x Nascente	Ns	Ns	Ns	Ns
	C x UFSCar	Ns	Ns	Ns	Ns
	C x USP	Ns	Ns	Ns	Ns
	C x Usina	Ns	0,0006*	Ns	Ns
	C x P. Caída	Ns	0,0006*	Ns	Ns
	C x Confluência	Ns	0,0001*	Ns	Ns

<i>Danio rerio</i> juvenil					
Variável analisada		COMPRIMENTO PADRÃO (cm)			
Análise estatística		Análise de variância Kruskal-Wallis			
Períodos		Julho/03	Outubro/03	Janeiro/04	Abril/04
Valor do teste (KW)		36,60	203,29	79,45	35,89
Valor de p		0,72	0,0024 *	0,24	0,60
Valores de probabilidade (p) do pós-teste comparando os diferentes pares de tratamento.	C x Nascente	Ns	Ns	Ns	Ns
	C x UFSCar	Ns	Ns	Ns	Ns
	C x USP	Ns	Ns	Ns	Ns
	C x Usina	Ns	0,0051*	Ns	Ns
	C x P. Caída	Ns	0,014*	Ns	Ns
	C x Confluência	Ns	0,0004*	Ns	Ns

<i>Poecilia reticulata</i> juvenil					
Variável analisada		PESO FRESCO (g)			
Análise estatística		Análise de variância Kruskal-Wallis			
Períodos		Julho/03	Outubro/03	Janeiro/04	Abril/04
KW		183,526	63,34	Nr	90,60
p		0,0011*	0,38	Nr	0,059
Valores de probabilidade (p) do pós-teste comparando os diferentes pares de tratamento.	C x Nascente	Ns	Ns	Nr	Ns
	C x UFSCar	0,024*	Ns	Nr	Ns
	C x USP	0,0001*	Ns	Nr	Ns
	C x Usina	Ns	Ns	Nr	Ns
	C x P. Caída	Ns	Ns	Nr	Ns
	C x Confluência	Ns	Ns	Nr	Ns

<i>Poecilia reticulata</i> juvenil					
Variável analisada		COMPRIMENTO PADRÃO (cm)			
Análise estatística		Análise de variância Kruskal-Wallis			
Períodos		Julho/03	Outubro/03	Janeiro/04	Abril/04
KW		178,127	55,77	Nr	49,50
p		0,0013*	0,47	Nr	0,29
Valores de probabilidade (p) do pós-teste comparando os diferentes pares de tratamento.	C x Nascente	Ns	Ns	Nr	Ns
	C x UFSCar	Ns	Ns	Nr	Ns
	C x USP	0,0002*	Ns	Nr	Ns
	C x Usina	Ns	Ns	Nr	Ns
	C x P. Caída	Ns	Ns	Nr	Ns
	C x Confluência	Ns	Ns	Nr	Ns

Ns – Não significativo; Nr – não realizado; (*) $p < 0,05$ (diferença significativa); C – controle

6.4.3.2 – Avaliação histológica das brânquias

Os organismos controle apresentaram a estrutura branquial bem definida, podendo-se observar a cartilagem, o tecido epitelial justaposto às lamelas primárias e os espaços entre as lamelas secundárias bastante amplos e nítidos (Figura 50).

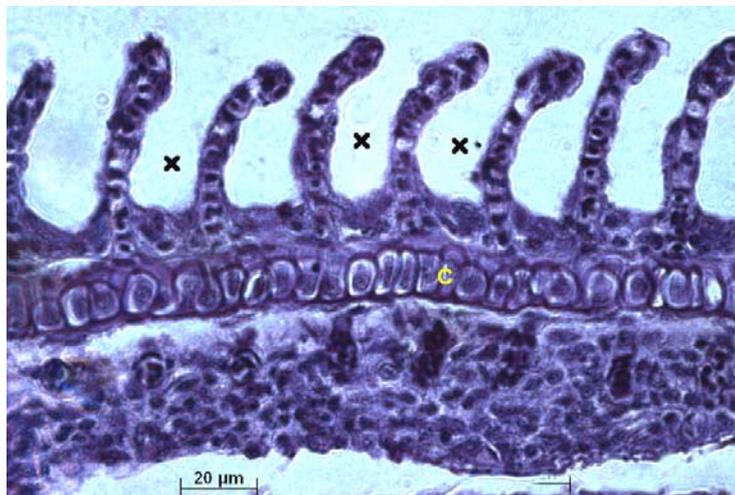


Figura 50: Brânquia de um organismo-teste controle juvenil de *D. rerio*, em julho/03. Notar a cartilagem (C); os espaços interlamelares (x). **Coloração: HE.**

Os organismos - teste expostos aos sedimentos dos pontos Nascente (Figura 51), UFSCar (Figura 52), USP (Figura 53), Usina (Figura 54), Ponte Caída (Figura 55) e Confluência (Figura 56) apresentaram alterações de primeiro grau, segundo POLECSIK & MITROVIC-TUTUNDIZC (1994), representadas pela proliferação das células do epitélio branquial, resultando, ou não, na fusão de lamelas secundárias.

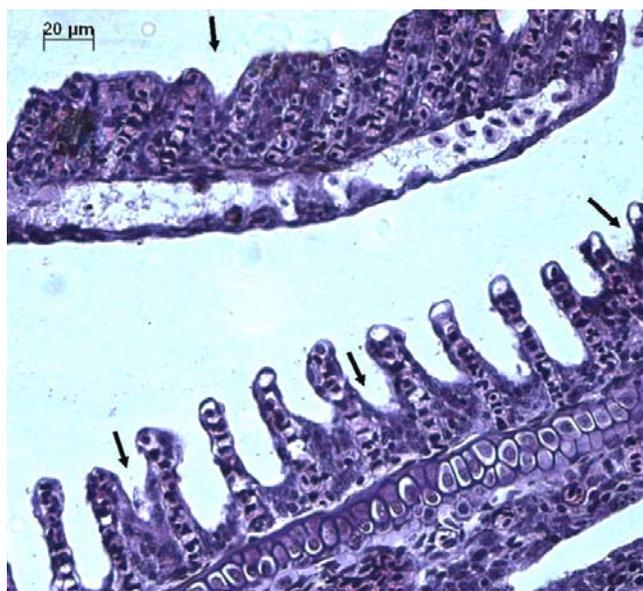


Figura 51: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto Nascente em julho/03. Notar a proliferação celular entre as lamelas secundárias (↘) com a fusão de todas elas no filamento superior). **Coloração: HE.**

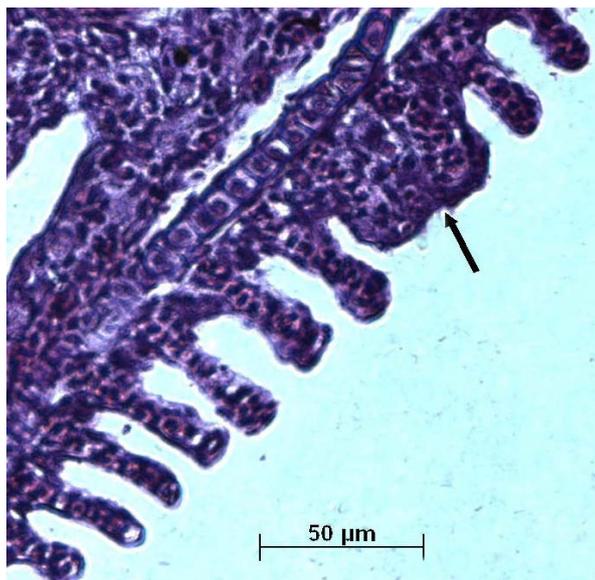


Figura 52: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto UFSCar em julho/03. Notar a proliferação celular e conseqüente fusão de duas lamelas secundárias (↗). **Coloração: HE.**

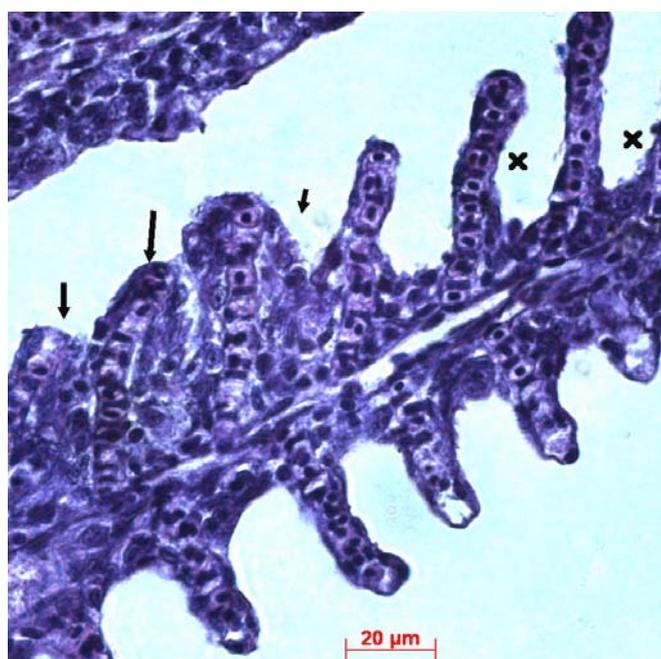


Figura 53: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto USP, em julho/03. Notar a proliferação celular e conseqüente fusão de lamelas secundárias (↗) e o espaço bem definido entre algumas lamelas secundárias (x). **Coloração: HE.**

Os organismos expostos ao sedimento do ponto Usina, além da proliferação do epitélio branquial, a qual também ocorreu para organismos-teste expostos a sedimentos de outros pontos do sistema, demonstrou, uma dilatação no seio venoso central (Figura 54), o mesmo ocorrendo no ponto Confluência (Figura 56).

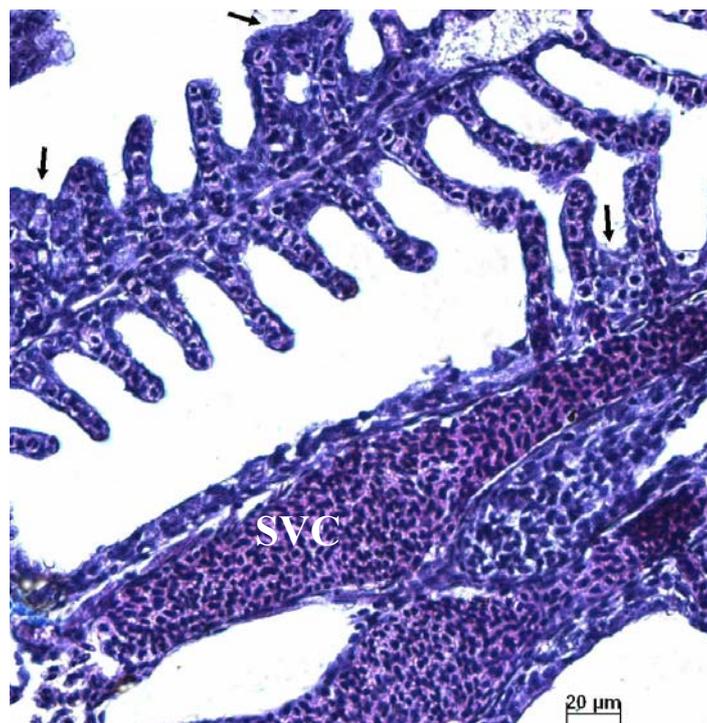


Figura 54: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto Usina, em julho/03. Notar a proliferação celular e junção de lamelas secundárias (→) e a dilatação do seio venoso central. **Coloração: HE.**

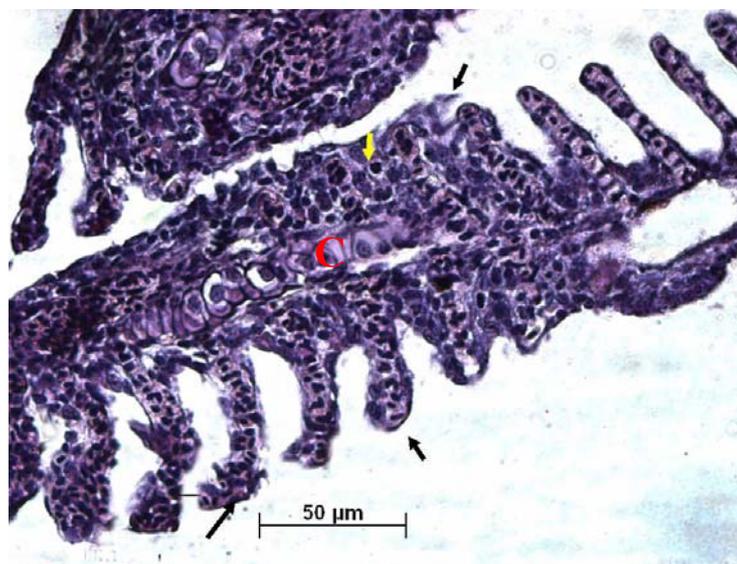


Figura 55: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto Ponte caída, em julho/03. C: cartilagem. Notar a proliferação celular e junção de lamelas secundárias (→) e a dilatação do seio venoso central. **Coloração: HE.**

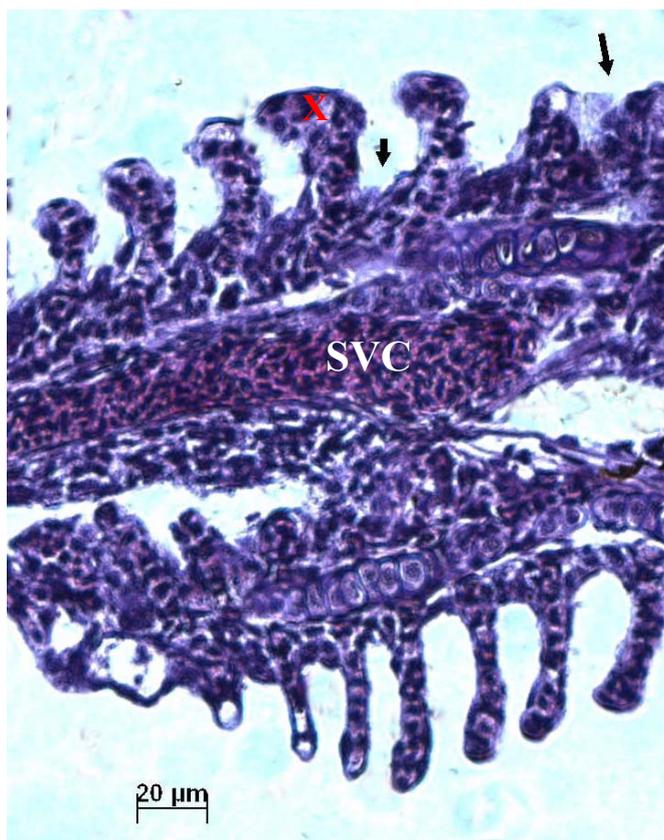


Figura 56: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto ao sedimento do ponto Confluência, em julho/03. C: cartilagem. Notar a dilatação no seio venoso central (SVC); a proliferação celular (→) e a dilatação no ápice das lamelas secundárias (x). **Coloração: HE.**

6.4.4 – Testes de toxicidade com amostras de água

Pelos resultados de mortalidade obtidos para a espécie *D. rerio* verifica-se diferença entre as fases adulta e juvenil. Em julho/03 não foram verificadas porcentagens de mortalidade significativas em relação ao lote controle para os adultos de *D. rerio*. Estes apresentaram o valor máximo de mortalidade de 6,66%, no ponto Confluência, indicando a ausência de toxicidade para as diferentes amostras. Neste período, os juvenis apresentaram mortalidades entre o valor mínimo de 6,66%, no ponto Confluência, e 30%, no ponto UFSCar, o qual foi o único ponto amostrado a apresentar toxicidade com um valor de p igual a 0,012, revelado pelo teste exato de Fisher (Figura 58 A, tabela 21). Em janeiro/04, no ponto P. Caída foi registrado o valor máximo de mortalidade (35%), para adultos de *D. rerio*, com valor de p igual a 0,023, indicando a toxicidade da amostra. Nos demais pontos de coleta as porcentagens de mortalidade não foram significativas em relação ao grupo controle, uma vez que os valores de p , foram maiores do que 0,05, não acusaram toxicidade nas amostras (Figura 57 B, tabela 19 – Anexo 3, Tabelas 74, 75 e 76).

Considerando-se a mortalidade dos juvenis, foi registrado toxicidade para os pontos Nascente e USP, ambos com 65% de mortalidade e p igual a 0,0031, além do ponto Confluência com 45% mortalidade (p igual a 0,045). Em abril/04 não foram registradas mortalidades para os organismos juvenis. Nos pontos UFSCar e Usina constataram-se valores máximos de 25%, para os adultos e toxicidade das amostras ($p = 0,047$). Em geral, tanto para adultos quanto para os juvenis de *D. rerio*, foram registradas as maiores porcentagens de mortalidade em janeiro/04, para todos os pontos amostrados (Figuras 58 A e 59 A; tabelas 19 e 21).

Em relação aos resultados obtidos para a espécie *P. reticulata* (Figuras 57 B, e 58 B, Tabelas 20 e 22 e Anexo 3, Tabelas 74, 75 e 76), pode-se observar nos diferentes períodos que as maiores porcentagens de mortalidade foram registradas para a fase juvenil. Em julho/03 e em janeiro/04, todas as amostras foram consideradas tóxicas, considerando-se as mortalidades de ambas as fases. As únicas exceções foram registradas para os adultos nos pontos USP, em julho/03 (25% de mortalidade, $p=0,4$) e em janeiro (30% de mortalidade, $p=0,091$) e no ponto Confluência, em julho/03 e em janeiro/04, com 25% de mortalidade e valores de p de 0,4 e 0,18, respectivamente. Em abril/04, foi registrada uma diminuição nas porcentagens de mortalidade, ocorrendo toxicidade apenas no ponto Usina, considerando-se tanto as respostas dos juvenis (55% de mortalidade, $p=0,028$) quanto a dos organismos adultos (50% de mortalidade, $p=0,028$). Neste período foram registradas as menores porcentagens de mortalidade para *P. reticulata* juvenis, com valor mínimo de 30% (USP e Confluência) e máximo de 55% (Usina).

A espécie *P. reticulata*, em ambas as fases, foi mais sensível do que a espécie *D. rerio*, nos diferentes períodos e pontos de amostragem.

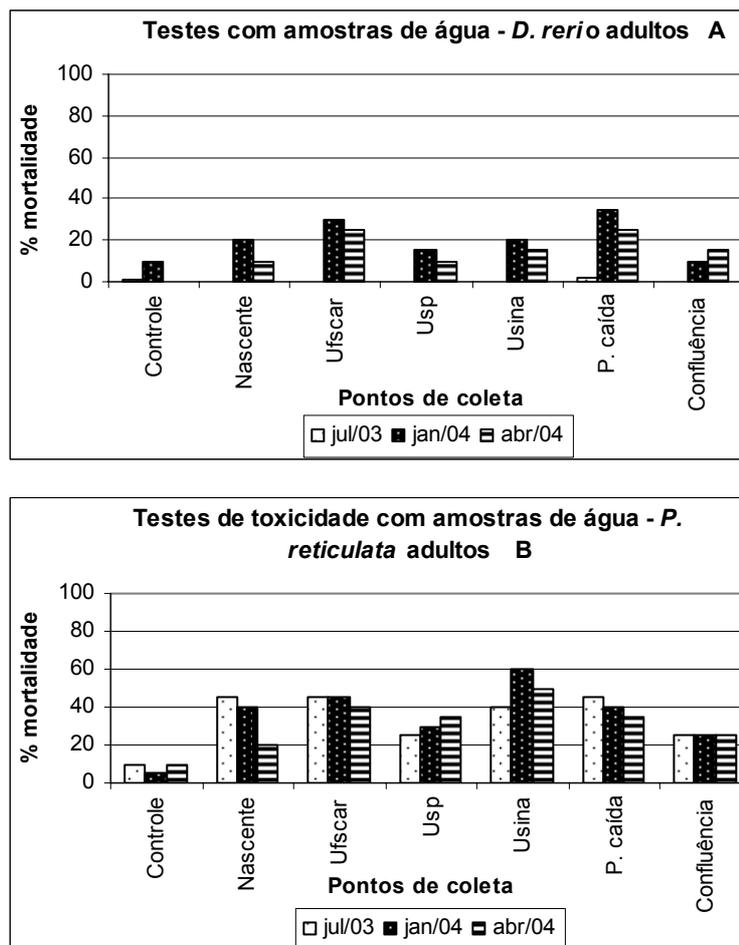


Figura 57: Mortalidade (%) de organismos adultos de *D. rerio* (A) e de *P. reticulata* (B) submetidos a testes de toxicidade crônicos parciais com amostras de água dos diferentes pontos em três períodos de amostragem.

Tabela 19: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de adultos de *D. rerio* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água, nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem.

<i>Danio rerio</i> adulto – Testes com amostras de água			
Análise estatística →	Teste Exato de Fisher		
Comparação das mortalidades ↓	p		
	Julho/03	Janeiro/04	Abril/04
Controle x Nascente	1000	0,61	0,24
Controle x UFSCar	1000	0,091	0,047
Controle x USP	1000	0,6	0,24
Controle x Usina	1000	0,61	0,23
Controle x P. Caída	1000	0,023*	0,047*
Controle x Confluência	1000	1000	0,23

* $p \leq 0,05$ - toxicidade

Tabela 20: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de adultos de *P. reticulata* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem.

<i>Poecilia reticulata</i> adulto – Testes com amostras de água			
Análise estatística →	Teste Exato de Fisher		
Comparação das mortalidades ↓	p		
	Julho/03	Janeiro/04	Abril/04
Controle x Nascente	0,017*	0,0104*	0,66
Controle x UFSCar	0,017*	0,0084*	0,064
Controle x USP	0,4	0,0915	0,127
Controle x Usina	0,023*	0,0002*	0,0075*
Controle x P. Caída	0,017*	0,0104*	0,127
Controle x Confluência	0,4	0,18	0,4

p≤0,05 – toxicidade

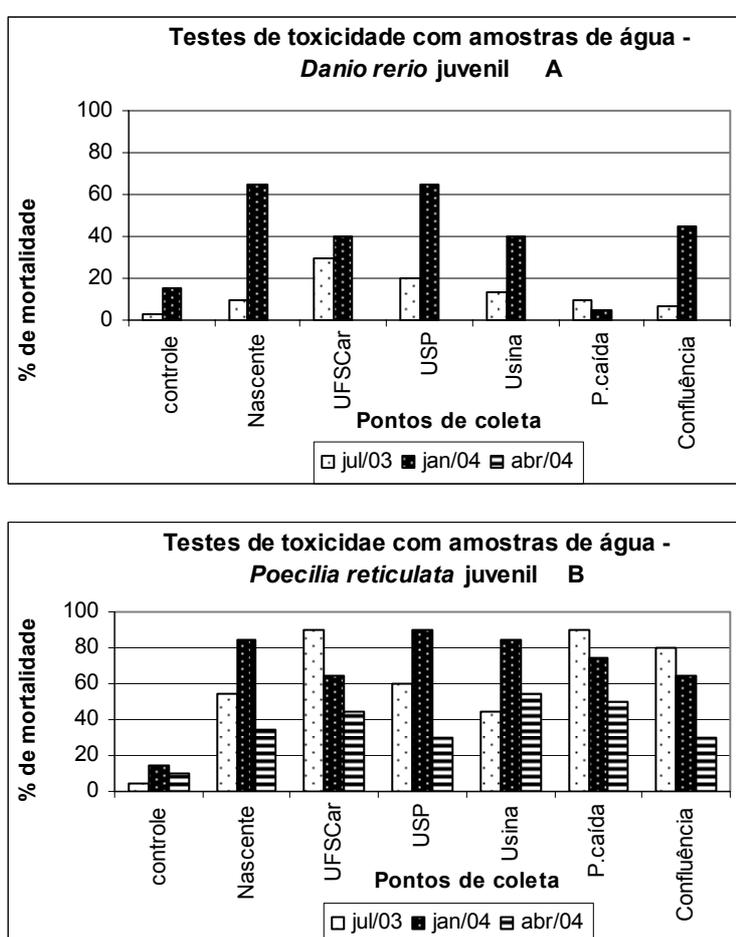


Figura 58: Mortalidade (%) de organismos juvenis de *D. rerio* (A) e de *P. reticulata* (B) submetidos a testes de toxicidade crônicos parciais com amostras de água dos diferentes pontos de coleta, em três períodos de amostragem.

Tabela 21: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de juvenis de *D. rerio* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água, nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem.

<i>Danio rerio</i> juvenil – Testes com amostras de água			
Análise estatística →	Teste Exato de Fisher		
Comparação das mortalidades ↓	Valores de p		
	Julho/03	Janeiro/04	Abril/04
Controle x Nascente	0,61	0,0031*	1000
Controle x UFSCar	0,012*	0,0931	1000
Controle x USP	0,0128*	0,0031*	1000
Controle x Usina	0,353	0,931	1000
Controle x P. Caída	1000	0,6	1000
<i>Controle x Confluência</i>	1000	0,048*	1000

*p<0,05 – toxicidade

Tabela 22: Valores de p obtidos pela aplicação do Teste Exato de Fisher na comparação de mortos e vivos de juvenis de *P. reticulata* do grupo controle com as mesmas proporções obtidas nos testes com amostras de água nos diferentes pontos de coleta e períodos de amostragem.

<i>Poecilia reticulata</i> juvenil – Testes com amostras de água			
Análise estatística →	Teste Exato de Fisher		
Comparação das mortalidades ↓	Valores de p		
	Julho/03	Janeiro/04	Abril/04
Controle x Nascente	0*	0*	0,48
Controle x UFSCar	0*	0,0031*	0,17
Controle x USP	0*	0*	0,71
Controle x Usina	0,0005*	0*	0,028*
Controle x P. Caída	0*	0,0003*	0,095
<i>Controle x Confluência</i>	0*	0,0031*	0,71

* p<0,05 - toxicidade

6.4.4.1 – Biometria final dos organismos testes

Comparando-se os dados de biometrias finais dos organismos juvenis de *Danio rerio*, sobreviventes nos testes de toxicidade crônicos parciais com amostras de água, com os dados do lote controle, através da análise de variância Kruskal-Wallis, foi observado que apenas o ponto Usina, em janeiro/04, destacou-se por apresentar $p < 0,01$ demonstrando a diferença significativa de crescimento em relação aos organismos controles (Tabela 23).

Considerando-se os juvenis de *P. reticulata*, foi observado, em janeiro/04, que tanto para o peso fresco quanto para o comprimento padrão, os organismos expostos a amostra de água do ponto UFSCar apresentaram valores de $p < 0,05$, indicando a significância destas variáveis. Neste período, o ponto USP apresentou diferença em relação ao comprimento padrão dos organismos controle, o que foi observado no ponto Usina, quanto ao peso fresco. Em julho/03, o peso fresco dos organismos expostos a amostras de água da Nascente e USP diferiu dos valores obtidos para peso fresco no lote controle, com valores de p correspondentes a 0,0155 e 0,0062, respectivamente (Tabela 24).

Tabela 23: Análise comparativa do peso fresco (g) e comprimento padrão (cm) dos organismos-teste *D. rerio juvenis*, expostos a amostras de água dos diferentes pontos de coleta, em relação ao grupo controle por meio da análise de variância Kruskal-Wallis.

<i>Danio rerio juvenis</i>											
Comprimento padrão (cm) – análise de variância Kruskal-Wallis(KW)											
Julho/03				Janeiro/04				Abril/04			
KW	p	Pós-teste		KW	p	Pós-teste		KW	p	Pós-teste	
		Cont. x Ponto	p			Cont. x Ponto	p			Cont. x Ponto	p
12,26	>0,05	-	-	19,56	0,003	C x Usina	<0,01	0,956	0,98	-	-
Peso fresco (g) – análise de variância Kruskal-Wallis											
Julho/03				Janeiro/04				Abril/04			
KW	p	Pós-teste		KW	p	Pós-teste		KW	p	Pós-teste	
		Cont x Ponto	p			Cont. x Ponto	p			Cont x Ponto	p
7,819	>0,05	-	-	0,000	1000	-	-	2,769	0,837	-	-

Tabela 24: Análise comparativa do peso fresco (g) e comprimento padrão (cm) dos organismos-teste *P. reticulata juvenis*, expostos a amostras de água dos diferentes pontos de coleta, em relação ao grupo controle por meio da análise de variância Kruskal-Wallis.

<i>Poecilia reticulata juvenis</i>											
Parâmetro: Comprimento padrão (cm) – análise de variância Kruskal-Wallis											
Julho/03				Janeiro/04				Abril/04			
KW	p	Pós-teste		KW	p	Pós-teste		KW	p	Pós-teste	
		C x Pont	p			C x Pont	p			C x Pt	p
44,14	0,35	-	-	132,45	0,012	C x UFSCar	0,0105*	5,38	0,49	-	-
						C x USP	0,014*				
Peso fresco (g) – análise de variância Kruskal-Wallis											
Julho/03				Janeiro/04				Abril/04			
KW	p	Pós-teste		KW	p	Pós-teste		KW	p	Pós-teste	
		C x Pt	p			C x P	p			C x P	p
156,17	0,0036	C x Nas	0,0155	125,68	0,0278	C x UFSCar	0,0271*	5,7	0,45	-	-
		C x USP	0,0062			C x Usina	0,0009*				

6.4.4.2 – Avaliação histológica das brânquias

A análise histológica das brânquias dos organismos-controle de ambas as espécies evidenciou organização estrutural com as lamelas secundárias bem desenvolvidas, sendo o espaço entre elas bem definido e o epitélio respiratório justaposto às lamelas secundárias (Figura 59).



Figura 59: Brânquia de um organismo-teste controle juvenil de *D. rerio*, em julho/03. Notar os espaços interlamelares bem definidos (↓); as lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS; x) e o epitélio respiratório justaposto nas lamelas secundárias (ER ↷). **Coloração: HE. Escala: 20 μm.**

Os juvenis de *D. rerio* expostos a amostras de água do ponto Nascente, em julho/03, apresentaram alterações de primeiro grau como hiperplasia do epitélio respiratório, o qual diminui os espaços entre as lamelas secundárias e uma discreta dilatação do seio venoso central (Figura 60). Os juvenis da espécie *P. reticulata* já apresentaram alterações, nos tecidos branquiais, consideradas como de segundo grau, representadas pela proliferação excessiva de células do epitélio respiratório, resultando na fusão de todas as lamelas (Figura 61).

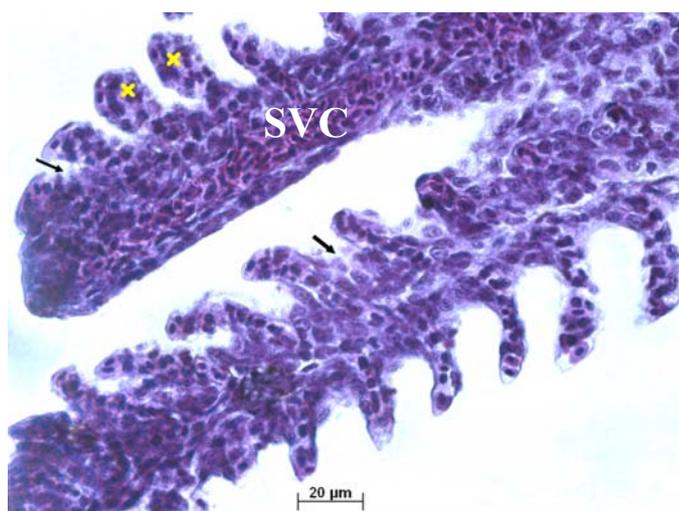


Figura 60: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto Nascente em julho/03. Notar a hiperplasia (→) do epitélio respiratório; a dilatação no seio venoso central (SVC) e a dilatação no ápice das lamelas secundárias (x). **Coloração: HE.**

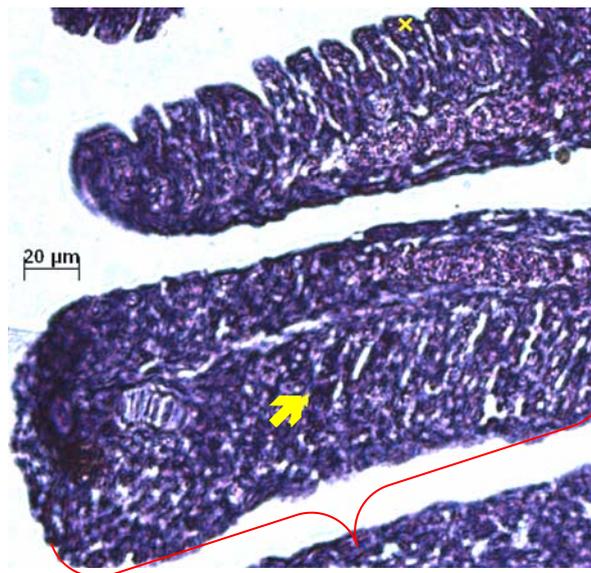


Figura 61: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto Nascente em julho/03. Notar a hiperplasia (➔) e conseqüente junção de todas as lamelas secundárias (}) **Coloração: HE.**

Considerando-se o ponto UFSCar, os organismos juvenis de *D. rerio*, em julho/03, apresentaram alterações de primeiro grau, com proliferação do tecido epitelial respiratório, diminuindo os espaços interlamelares, resultando na fusão de algumas lamelas secundárias. Também foi constatado a dilatações no ápice das lamelas secundárias (Figura 62). Em janeiro/04, ocorreram alterações de primeiro grau com dilatação das lamelas secundárias e pouco desenvolvimento das lamelas secundárias (Figura 63).

Considerando-se a espécie *P. reticulata*, foram obtidas alterações como a proliferação do tecido epitelial respiratório resultando na junção de várias lamelas secundárias (Figura 64).

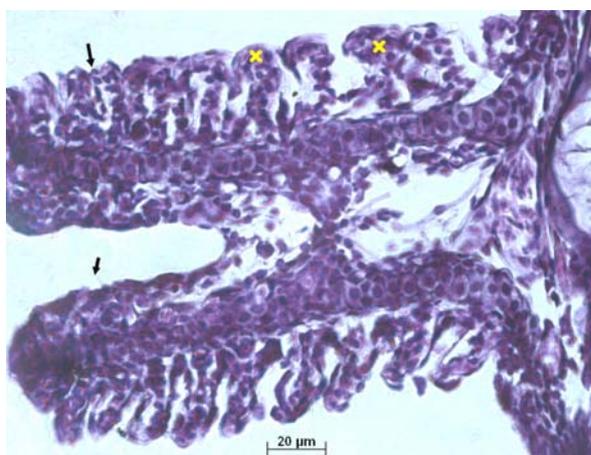


Figura 62: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto UFSCar em julho/03. Notar a proliferação celular (➔), culminando na junção de lamelas secundárias e a dilatação no ápice das lamelas secundárias (x) **Coloração: HE.**

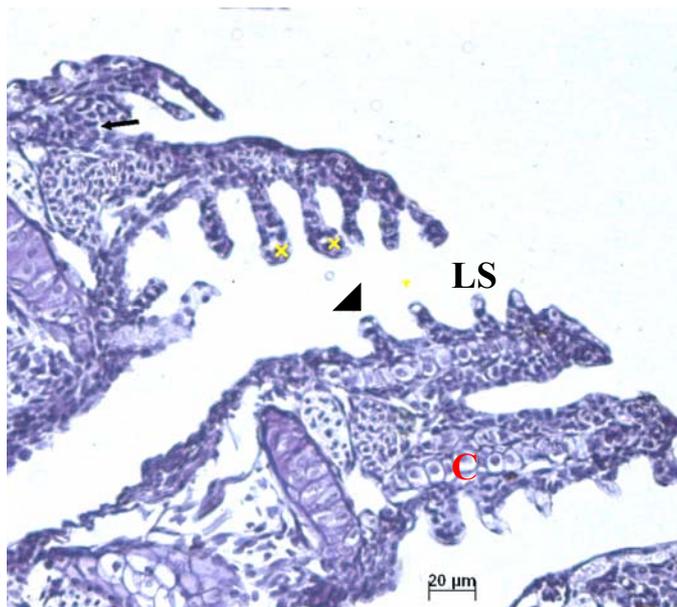


Figura 63: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto UFSCar em janeiro/04. Notar o início de uma dilatação nas extremidades das lamelas secundárias (x) e o precário desenvolvimento das lamelas secundárias (▲). Lamelas secundárias (LS); C (Cartilagem) **Coloração: HE.**

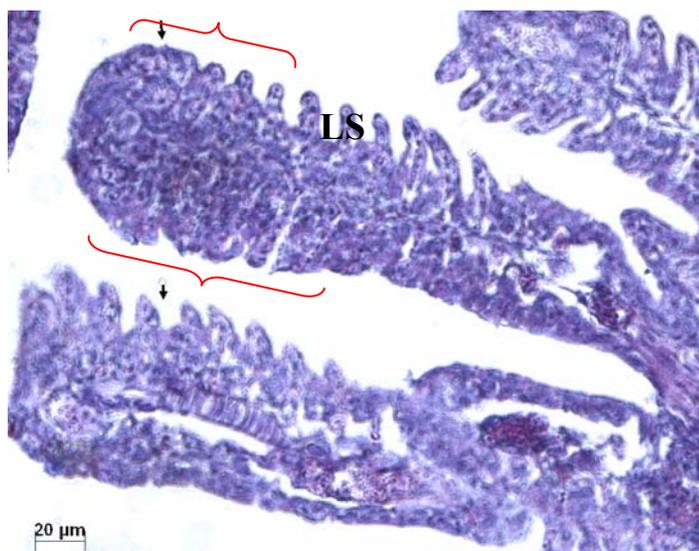


Figura 64: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto UFSCar em janeiro/04. Notar a proliferação celular (↓) e a fusão de lamelas secundárias (}). Lamelas secundárias (LS). **Coloração: HE.**

Nos organismos-teste de ambas as espécies, expostas a amostras de água do ponto USP, em julho/03, ocorreram alterações de primeiro grau, como a proliferação das células do epitélio respiratório e conseqüente fusão de algumas lamelas secundárias. Os juvenis de *D. rerio*, também apresentaram dilatação e fusão no ápice de algumas lamelas secundárias e os de *P. reticulata* (Figuras 65 e 66).

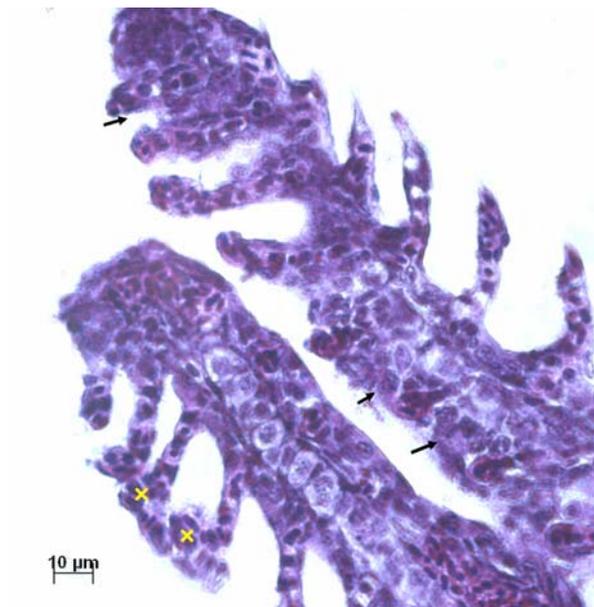


Figura 65: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto USP, em janeiro/04. Notar a proliferação celular (→) e conseqüente fusão de algumas lamelas secundárias, e a dilatação na extremidade de algumas lamelas secundárias (x). **Coloração: HE.**

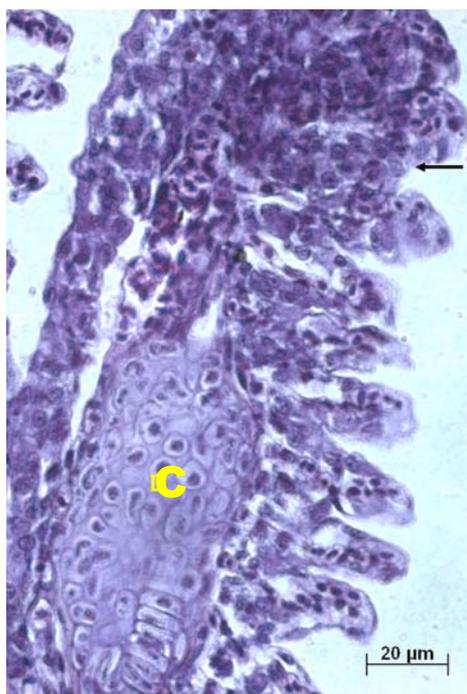


Figura 66: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto USP, em janeiro/04. Notar a proliferação celular (→) e conseqüente fusão de algumas lamelas secundárias. (C: cartilagem). **Coloração: HE.**

Nos juvenis de *D. rerio* expostos a amostras de água do ponto Usina, em janeiro/04 e em julho/03, foram observadas alterações de primeiro grau representada pela proliferação de células nas lamelas secundárias e pela proliferação do epitélio respiratório na base da lamela primária (Figuras 67 e 68). Nos indivíduos da espécie *P. reticulata*, as alterações

encontradas foram proliferação o tecido epitelial respiratório culminando com junção de lamelas secundárias, sendo os espaços interlamelares visualizado apenas em alguns pontos e o desprendimento do epitélio respiratório nas lamelas secundária, considerada alteração de segundo grau (Figura 69).

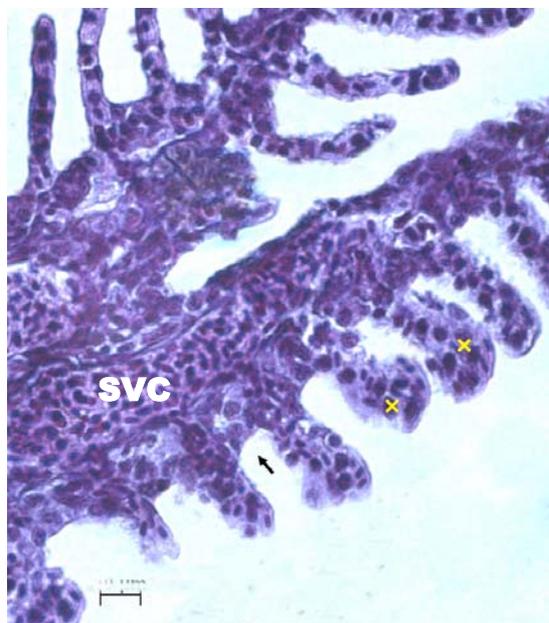


Figura 67: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto Usina, em janeiro/04. Notar a proliferação de células nas lamelas secundárias (x) e pela proliferação do epitélio respiratório na base da lamela primária (→). Observar o seio venoso central (SVC). **Coloração: HE. Escala: 20µm.**

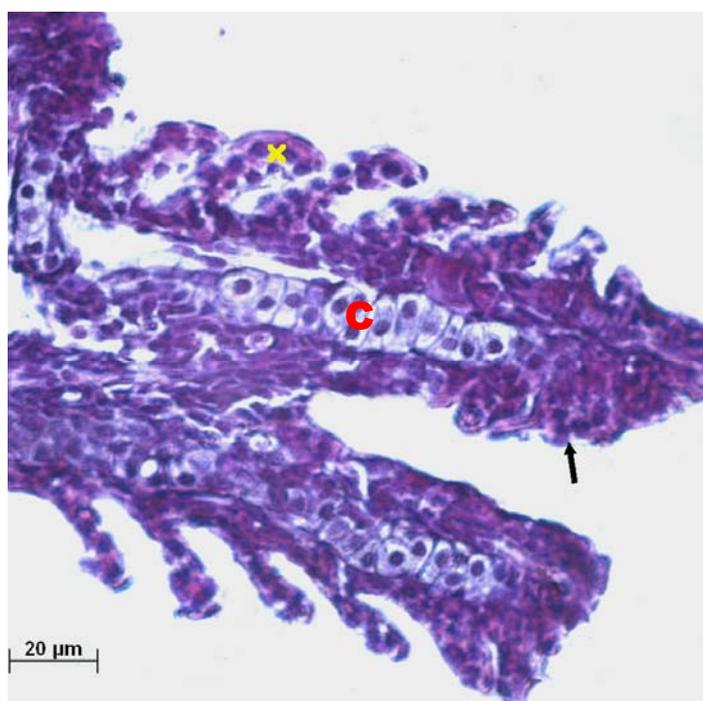


Figura 68: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto Usina, em julho/03. Notar a dilatação nas extremidades das lamelas secundárias (x) e a proliferação do tecido epitelial (→). Observar a cartilagem (C). **Coloração: HE.**

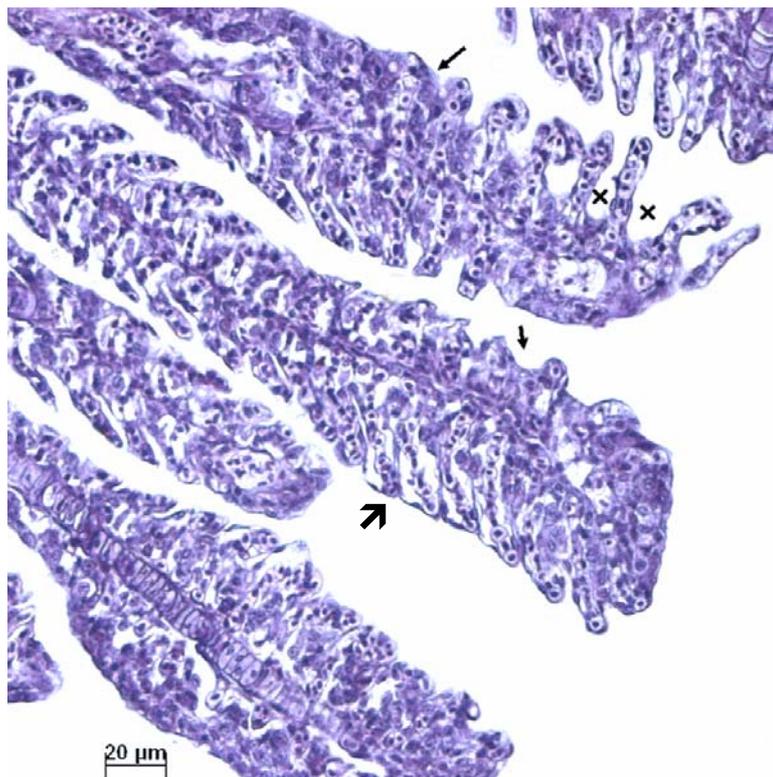


Figura 69: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto Usina, em janeiro/04. Notar a proliferação do tecido epitelial respiratório culminando com junção de lamelas secundárias (→), reduzido espaço interlamelar (x) e o desprendimento do epitélio respiratório das lamelas secundária (↗). **Coloração: HE.**

Nos organismos-teste *D. rerio* juvenis, expostos a amostras de água do ponto Ponte Caída, denotaram-se alterações como a proliferação tecidual na lamela secundária, culminando no seu adensamento (Figura 70). Em *P. reticulata*, foram encontradas alterações de primeiro grau, como a proliferação do tecido epitelial respiratório e conseqüente diminuição dos espaços interlamelares e fusão de algumas lamelas secundárias, além de alterações de segundo grau, como o desprendimento do epitélio respiratório das lamelas secundárias (Figura 71).



Figura 70: Brânquia de um organismo-teste juvenil (*D. rerio*), exposto a teste com amostra de água do ponto Ponte caída, em janeiro/04. Notar a proliferação celular nas lamelas secundárias, culminando no seu adensamento (x). Observar a cartilagem (C) e o seio venoso central (SVC) *Coloração: HE.*

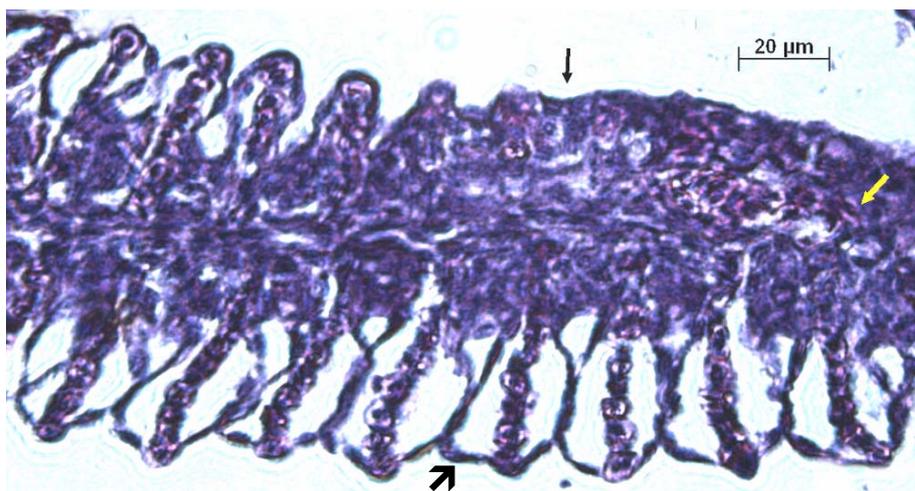


Figura 71: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto Ponte caída, em janeiro/04. Notar proliferação do tecido epitelial respiratório e conseqüente diminuição dos espaços interlamelares (↓); fusão de algumas lamelas secundárias (↙) e o desprendimento do epitélio respiratório das lamelas (↗). *Coloração: HE.*

Nos juvenis de *P. reticulata* juvenis, expostos a amostras de água do ponto Confluência, foi observada alteração de primeiro grau com proliferação do epitélio respiratório, resultando na diminuição dos espaços interlamelares e fusão de várias lamelas. O espaço interlamelar, que ocorre em parte da brânquia, pode ser observado na figura 72.

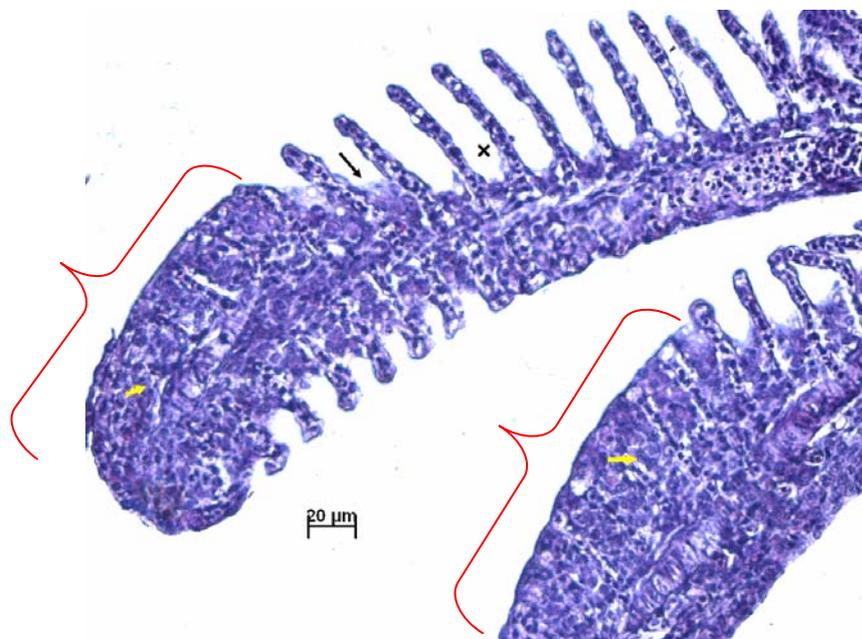


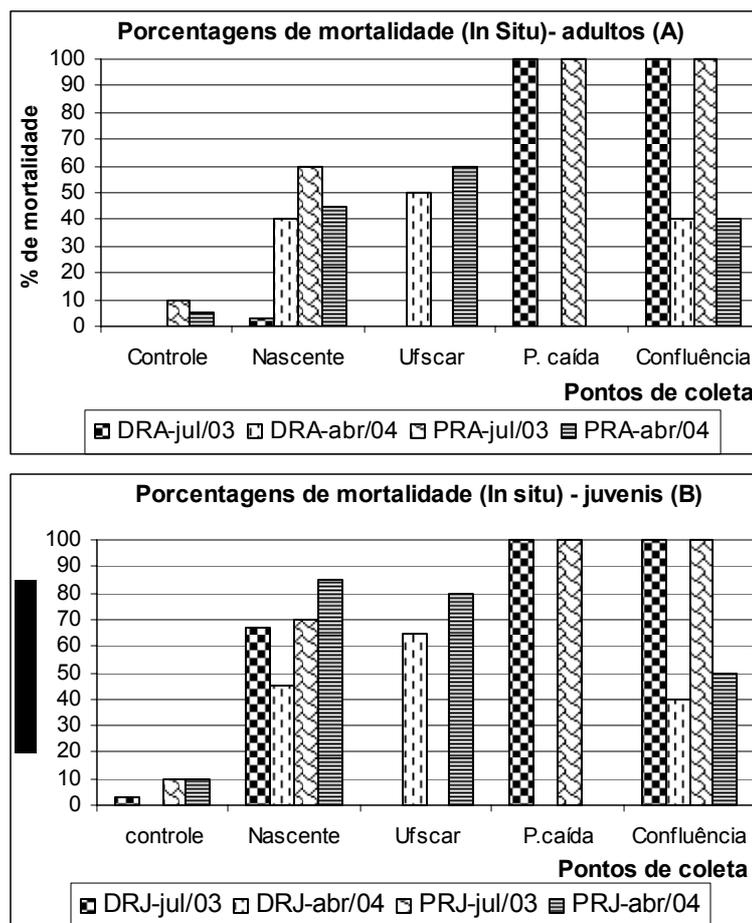
Figura 72: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste com amostra de água do ponto Confluência, em janeiro/04. Notar a proliferação do epitélio respiratório (→), resultando na diminuição dos espaços interlamelares (→) e fusão de lamelas secundárias (}). Observar o espaço interlamelar (x), que ocorre em parte da brânquia, **Coloração: HE.**

6.4.5 – Testes de toxicidade “in situ”

De acordo com a figura 73 e tabela 21, as porcentagens de mortalidade, nos testes de toxicidade *in situ*, em julho/03, para adultos e juvenis das duas espécies estudadas, foi igual a 100%, em P. Caída e Confluência, demonstrando a toxicidade nestes locais. Quanto à Nascente, os juvenis de ambas as espécies demonstraram comportamentos semelhantes, com mortalidade de 66,66% para *D. rerio* e de 70% para *P. reticulata*. Considerando-se os adultos, as respostas foram bastante discrepantes, com 3,33% de mortalidade para *D. rerio* e $p=1,5085$, não indicando toxicidade, ao contrário do resultado obtido para *P. reticulata* (60% de mortalidade e $p<0,0001$).

Em abril/04, foi verificada uma redução nas mortalidades. No ponto UFSCar foram obtidas as maiores porcentagens de mortalidade para juvenis e adultos das duas espécies. O valor máximo de mortalidade, neste local, foi de 80% para juvenis de *P. reticulata*, e 50%

de mortalidade para adultos de *D. rerio*. Neste período, foi possível verificar que os juvenis da espécie *P. reticulata* foram mais sensíveis, com maior mortalidade nos diferentes pontos de coleta, semelhante ao ocorrido em testes realizados em laboratório. As respostas de toxicidade obtidas nos testes *in situ* demonstraram que os diferentes pontos e períodos de coleta caracterizaram-se como sendo tóxicos (Tabela 25), exceto a Nascente, em julho /03, com reduzida mortalidade de adultos de *D. rerio*.



DRA – *Danio rerio* adulto; DRJ – *Danio rerio* juvenil; PRA-*Poecilia reticulata* adulto; PRJ – *Poecilia reticulata* juvenil

Figura 73: Mortalidade (%) obtidas para adultos (A) e Juvenis (B) de *D. rerio* e de *P. reticulata* em julho/03 e em abril/04.

Tabela 25: Resultados obtidos pela aplicação do Fisher Exact Test, na comparação das proporções de mortos e vivos, dos diferentes organismos-teste expostos aos testes de toxicidade *in situ*, com o grupo controle.

Pontos de coleta	Valores de p (Fisher Exact Test)			
	<i>D. rerio</i> (adultos)		<i>P. reticulata</i> (adultos)	
	Julho/03	Abril/04	Julho/03	Abril/04
C x Nascente	1,5085	0,0033*	<0,0001*	0,0033*
C x UFSCar	NR	0,0004*	NR	0,0004*
C x P.Caída	<0,0001*	NR	<0,0001*	NR
C x Confluência	<0,0001*	0,0033*	<0,0001*	0,0033*
Pontos de coleta	Valores de p (Fisher Exact Test)			
	<i>Danio rerio</i> (juvenis)		<i>P. reticulata</i> (juvenis)	
	Julho/03	Abril/04	Julho/03	Abril/04
C x Nascente	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*
C x UFSCar	NR	<0,0001*	NR	<0,0001*
C x P Caída	<0,0001*	NR	<0,0001*	NR
C x Confluência	<0,0001*	0,0033*	<0,0001*	0,0138*

Valores* - p<0,05 (toxicidade); NR- não realizado; C - Controle

Avaliando-se as variáveis em campo, foi observado que os valores de pH, oxigênio dissolvido, condutividade e temperatura permaneceram muito próximos no início e ao final dos testes. Em geral, as menores concentrações de oxigênio dissolvido foram registradas em julho/03, sendo que os valores mínimos foram detectados no ponto P. Caída com 3,59 mg/L e 3,50 mg/L, no início e final dos testes, respectivamente. Nos demais pontos, as concentrações permaneceram entre 7,3 mg/L e 9,1 mg/L, demonstrando concentrações adequadas, de acordo com o CONAMA 357/05, para a proteção da vida aquática

Em relação aos resultados obtidos para pH, foram registrados valores levemente ácidos, tanto em julho/03 quanto em abril/04, no início e final dos testes, com valores mínimo e máximo de 5,29 (Nascente –abril/04, início do teste) e 6,0 (UFSCar-abril/04-final dos testes), respectivamente. Valores neutros foram obtidos somente no início dos testes em P. Caída (7,12) e Confluência (7,14), em julho/03.

Quanto aos resultados de condutividade, os maiores valores foram registrados em julho/2003 nos diferentes pontos. Na Nascente foram registrados os menores valores durante o estudo, constantes no início e final dos testes em julho/03 (10 µS/cm) e abril/04 (8 µS/cm). No ponto Confluência, foram registradas as maiores condutividades tanto em julho/03 (179 µS/cm e 174 µS/cm, no início e final dos testes) como em abril/04 (116 µS/cm e 134 µS/cm, no início e final dos testes). As temperaturas variaram de 18,6°C a 20,2°C, em julho/03, e de 20,01 °C a 23 °C em abril/04.

Considerando-se as diferentes variáveis, nos controles realizados em laboratório, foi observado uma tendência à diminuição dos valores de pH após 96h de teste e um aumento nos valores de condutividade. As maior variação de pH registradas durante os testes foram

para adultos de *P. reticulata* tanto em julho/03 (7,56, no início e 7,19, no final) como em abril/04 (7,42, no início e 7,09 no final). Também foram obtidas as maiores variações de condutividade para esta espécie em ambos os períodos, com valores de 128 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 157 $\mu\text{S}/\text{cm}$, em julho /03 e de 135 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 166 $\mu\text{S}/\text{cm}$, em abril/04 (Tabela 26).

Tabela 26: Valores de pH, oxigênio dissolvido, condutividade e temperatura, obtidos no início e após 96H dos testes de toxicidade *in situ*, e nos testes em laboratório, referindo-se aos lotes controles.

Variáveis →	pH				Oxigênio dissolvido (mg.L ⁻¹)				Condutividade ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$)				Temperatura (°C)			
	Jul/03		Abr/04		Jul/03		Abr/04		Jul/03		Abr/04		Jul/03		Abr/04	
	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F
Contr. DRA (lab)	7,56	7,32	7,42	7,26	AC	AC	AC	AC	128	152	135	149	23	23	24	24
Contr. DRJ (lab)	7,56	7,43	7,42	7,28	AC	AC	AC	AC	128	150	135	150	23	23	24	24
Contr. PRA (lab)	7,56	7,19	7,42	7,09	AC	AC	AC	AC	128	157	135	166	23	23	24	24
Contr. PRJ (lab)	7,56	7,23	7,42	7,12	AC	AC	AC	AC	128	155	135	159	23	23	24	24
Nascente	5,65	5,37	5,29	5,7	7,87	8,2	8,8	9,1	10	10	8	8	18,6	19,1	21	20,1
UFSCar	NR	NR	5,93	6,0	NR	NR	7,5	7,3	NR	NR	34	34	NR	NR	23	21,4
P. Caída	7,12	5,95	NR	NR	3,59	3,50	NR	NR	165	141	NR	NR	19,1	20,2	NR	NR
Confluência	7,14	6,36	6,2	6,52	7,03	7,15	8,03	8,61	179	147	116	130	20,4	18,6	20,6	19,8

Contr. – controle; Lab-laboratório; I-inicial; F- Final (96h); NR - Não realizado; AC – aeração constante.

DRA – *Danio rerio* adulto; DRJ – *Danio rerio* juvenil; PRA-*Poecilia reticulata* adulto; PRJ – *Poecilia reticulata* juvenil

6.4.5.1 – Avaliação histológica das brânquias

Os indivíduos adultos de *D. rerio* expostos a testes de toxicidade *in situ* no ponto Nascente, apresentaram alterações de primeiro grau como a proliferação celular das lamelas secundárias (Figura 74). Os *P. reticulata*, apresentaram proliferação celular com junção de várias lamelas secundárias e desprendimento do epitélio respiratório das lamelas secundárias (Figura 75), além da dilatação no ápice das lamelas secundárias, com fusão de algumas extremidades (Figura 76).

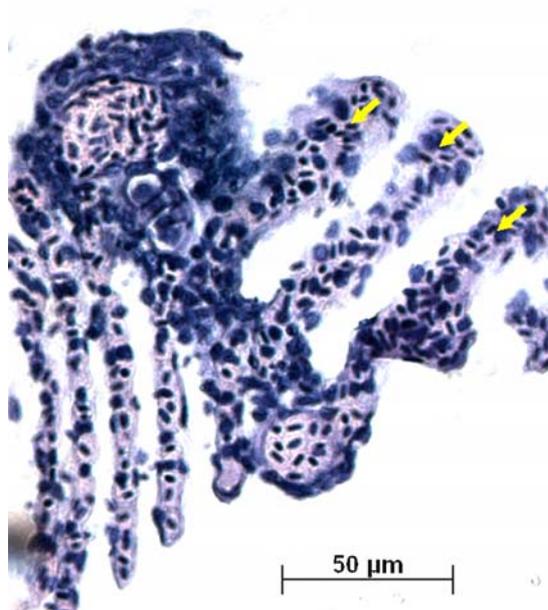


Figura 74: Brânquia de um organismo-teste adultos (espécie *D. rerio*), exposto a teste *in situ* no ponto Nascente em julho/03. Notar a proliferação celular das lamelas secundárias (→). **Coloração: HE.**

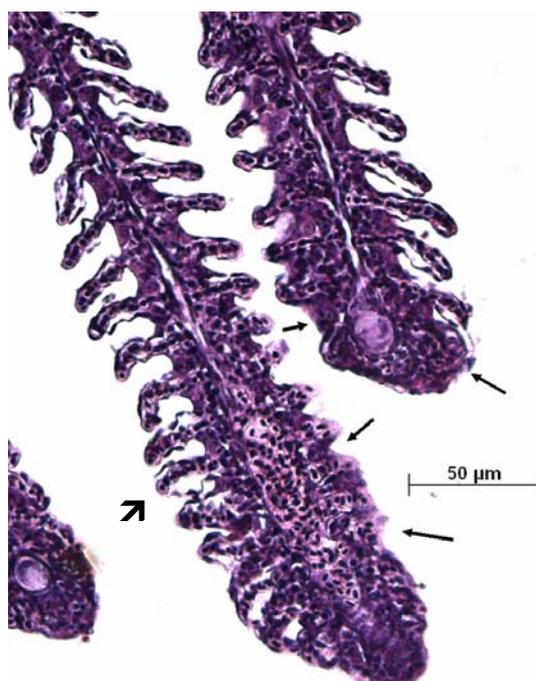


Figura 75: Brânquia de um organismo-teste adulto (espécie *P. reticulata*), exposto a teste *in situ* no ponto Nascente em julho/03. Notar a proliferação celular com junção de várias lamelas secundárias (→) e o desprendimento do epitélio respiratório das lamelas secundárias (↗) **Coloração: HE.**

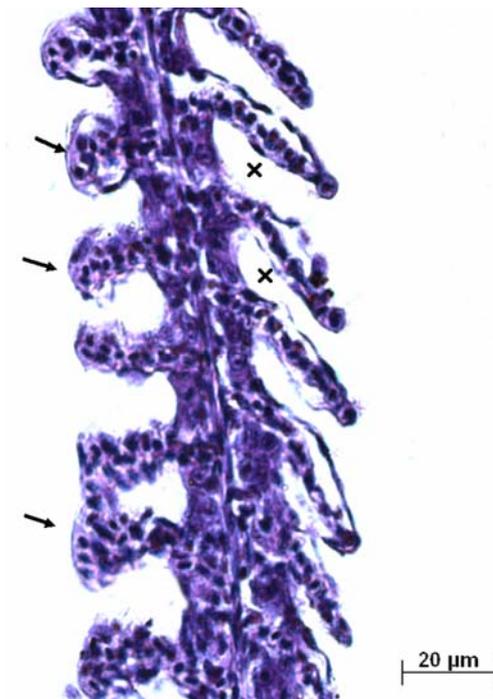


Figura 76: Brânquia de um organismo-teste adulto (espécie *P. reticulata*), exposto a teste *in situ* no ponto Nascente, em julho/03. Notar a dilatação no ápice das lamelas secundárias, com fusão de algumas extremidades (→). **Coloração: HE.**

No ponto UFSCar, os juvenis de *P. reticulata* apresentaram alterações semelhantes às encontradas nos organismos adultos, da mesma espécie, expostos ao ponto Nascente, com proliferação do tecido epitelial, além de junções de lamelas secundárias (Figura 77).

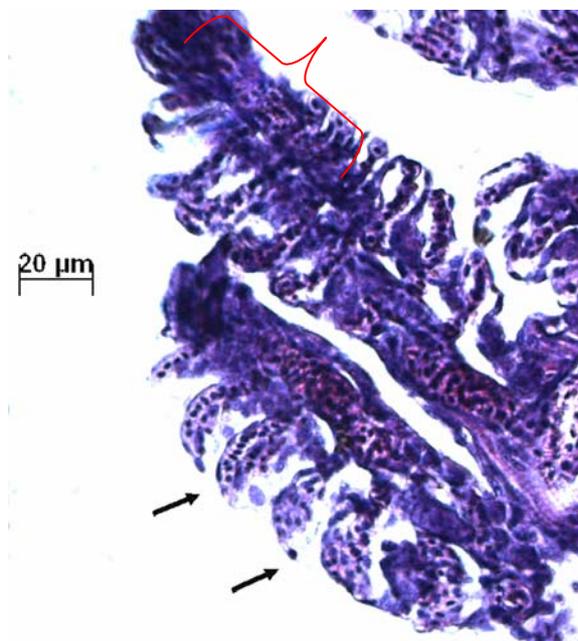


Figura 77: Brânquia de um organismo-teste juvenil (espécie *P. reticulata*), exposto a teste *in situ* no ponto UFSCar em abril/04. Notar a proliferação celular, com junção de lamelas secundárias (⌋) e o espessamento das lamelas secundárias (→). **Coloração: HE.**

Nos organismos adultos de *P. reticulata* expostos a testes de toxicidade aguda *in situ* no ponto Confluência, foram encontradas alterações como aneurismas, desprendimento do tecido epitelial nas lamelas secundárias, dilatação e junção das extremidades das lamelas secundárias e dilatação do seio venoso central (Figura 78). Nos juvenis, da mesma espécie, observou-se proliferação celular com a diminuição acentuada dos espaços interlamelares, a dilatação do seio venoso central e a junção de lamelas secundárias (Figura 79).

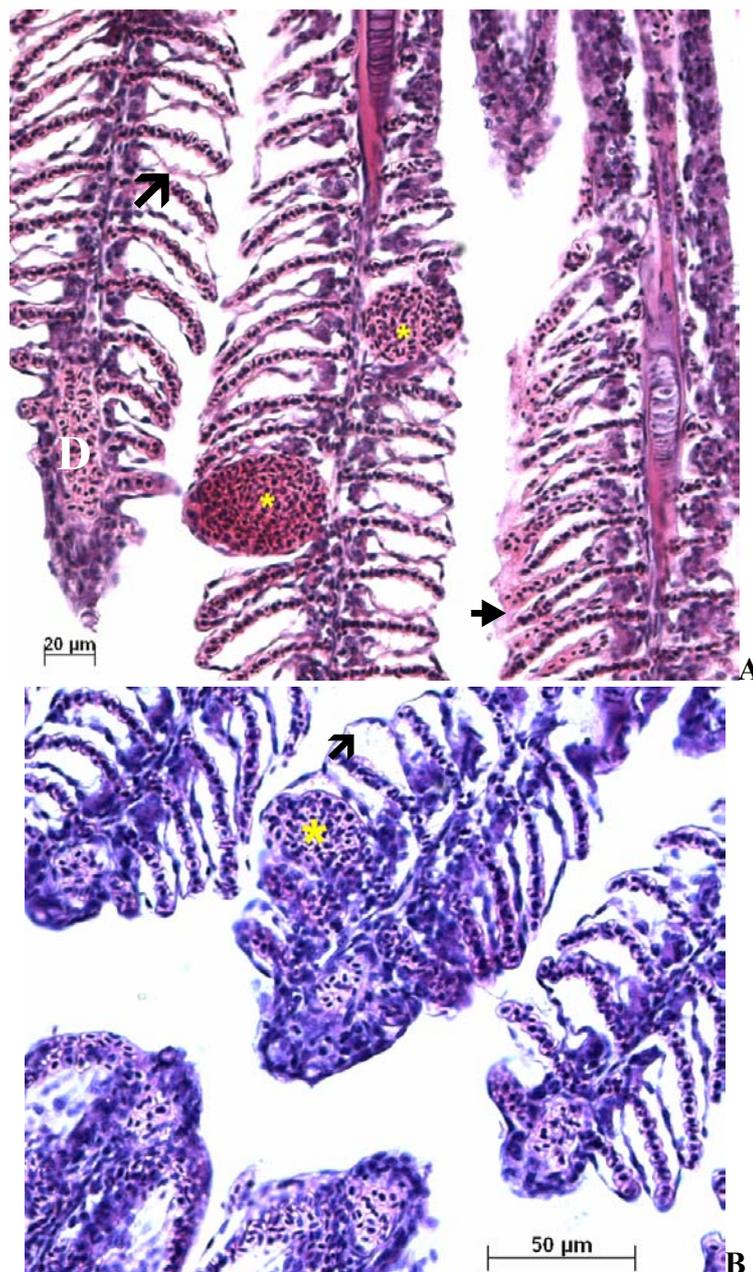


Figura 78: Brânquias de organismos-teste adultos (A e B) (espécie *P. reticulata*), expostos a teste *in situ* no ponto Confluência, em abril/04. Notar aneurismas (*), desprendimento do tecido epitelial nas lamelas secundárias (↗), dilatação e junção das extremidades das lamelas secundárias e dilatação do seio venoso central (D). **Coloração: H.E.**

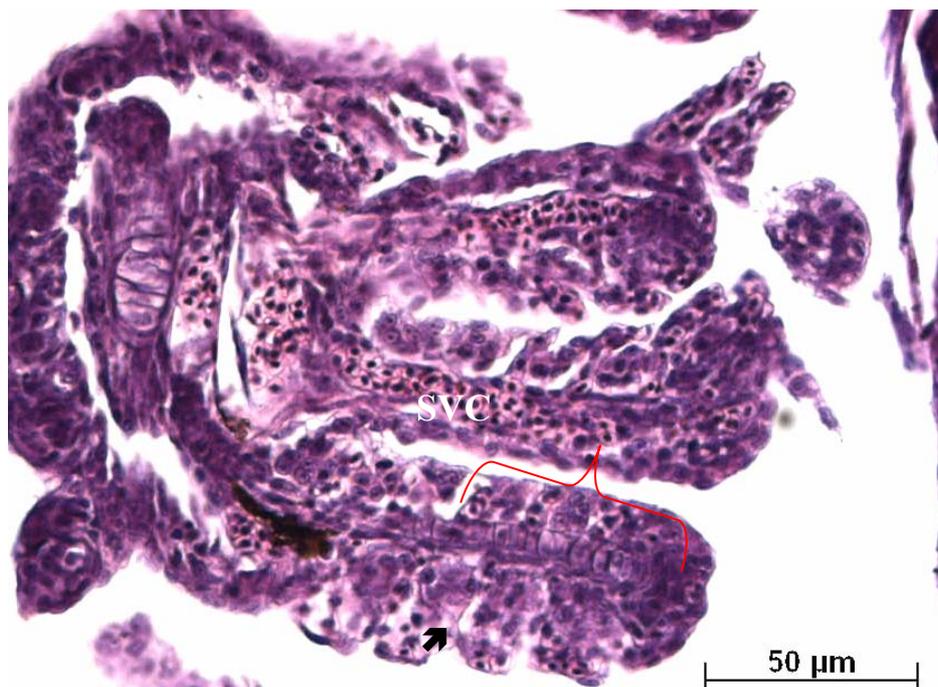


Figura 79: Brânquias de organismo-teste juvenis (espécie *P. reticulata*), expostos a teste *in situ* no ponto Confluência, em abril/04. Notar a proliferação celular com a diminuição acentuada dos espaços interlamelares (↗); a dilatação do seio venoso central (SVC) e a junção de lamelas secundárias ({}). **Coloração: HE.**

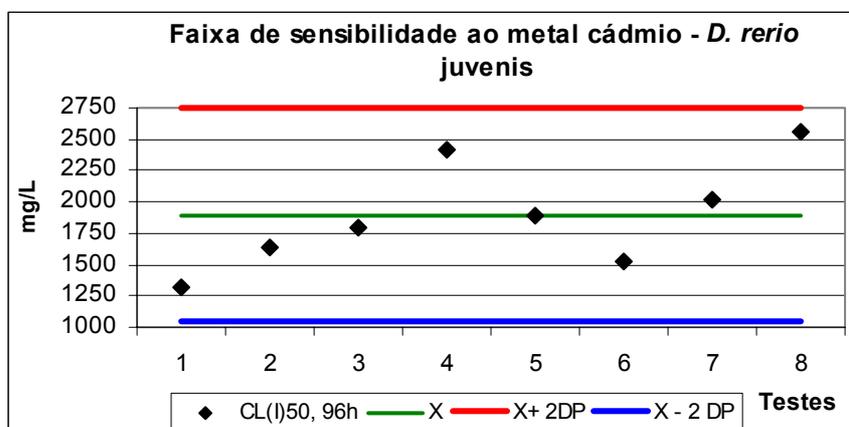
6.4.6. Testes de toxicidade com o metal cádmio

6.4.6.1 – Testes de toxicidade aguda (96H) com *D. rerio* juvenis

Foram realizados três testes de toxicidade aguda, preliminares, de 96h, estático, e oito definitivos, a fim de se obter a faixa de sensibilidade dos organismos *D. rerio* juvenis ao metal cádmio. As concentrações utilizadas nos testes foram de 600 μg/L, 1200 μg/L, 2400 μg/L e 4800 μg/L (Tabela 27). Foi obtido o valor médio de CL(I)50, 96h, de 1894,77μg/L, e uma faixa de sensibilidade entre os valores mínimo e máximo correspondentes a 1044,49 μg/L e 2745,05μg/L, respectivamente e o coeficiente de variação dos valores de CL(I)50, 96h, entre os testes foi de 22,44% (Figura 80). Todos os testes permaneceram dentro da faixa de sensibilidade estabelecida no presente trabalho.

Tabela 27: Resultado dos testes de toxicidade aguda (96h), estáticos ao metal cádmio com organismos-teste *D. rerio*.

Testes de toxicidade aguda, 96h, estáticos com cádmio						
Concentrações (µg/L)	No. testes	Data		CL50(96H) µg/L	Limite de confiança 95%	
		Inicial	Final		Inferior	Superior
600, 1200, 2400, 4800	1	01/07/04	5/7/2004	1322,09	1029,34	1698,60
	2	15/7/2004	19/7/2004	1628,69	1308,06	2027,92
	3	22/7/2004	26/7/2004	1801,02	1550,21	2092,41
	4	30/7/2004	3/8/2004	2417,39	1901,74	3072,86
	5	30/7/2004	3/8/2004	1883,00	1596,00	2220,67
	6	27/8/2004	31/8/2004	1529,47	1277,41	1831,27
	7	3/9/2004	7/9/2004	2022,47	1619,45	2525,80
	8	16/9/2004	20/9/2004	2554,03	2146,63	3038,76
Coeficiente de variação (CV) dos valores de CL(I)50		22,44%				



X-média da CL(I)50, 96h; X-2DP (limite inferior da faixa de sensibilidade); X+2DP (limite superior da faixa de sensibilidade)

Figura 80: Faixa de sensibilidade ao cádmio, obtida para os juvenis de *D. rerio*.

6.4.6.2 – Testes de toxicidade crônica parcial com cádmio

Foram realizados três testes de toxicidade crônicos parciais com o metal cádmio, sendo que a maior concentração utilizada foi 600 µg/L, a qual, nos testes de toxicidade aguda, foi a menor concentração de efeito não observado. O fator utilizado foi 10, realizando-se os testes com as concentrações 0,6 µg/L, 6 µg/L, 60 µg/L e 600 µg/L. O teste número 1 apresentou a porcentagem máxima de sobrevivência (95%) nas concentrações de 6 µg/L e 600 µg/L. A análise estatística de Fisher revelou valores de $p > 0,05$, não acusando diferença significativa em relação ao lote controle. Nos testes 2 e 3 a maior porcentagem de sobrevivência foi de 76,67%, na maior concentração, a qual, através do teste exato de Fisher, obteve-se o valor de p correspondente a 0,0105, indicando a significância em

relação ao controle. Nas demais concentrações, as porcentagens de sobreviventes não foram significativas, o que foi revelado pelos valores de $p > 0,05$, obtidos no teste exato de Fisher (Tabelas 28, 29 e 30).

Considerando-se a variável sobrevivência, no teste número 1 não foi possível calcular a menor concentração de efeito observado (CEO) e nem a maior concentração, estatisticamente significativa, de efeito não observado (CENO), conseqüentemente, não foi possível calcular o valor crônico do teste. Nos testes número 2 e 3, a CEO foi correspondente a concentração de 600 $\mu\text{g/L}$ e a CENO correspondente a 60 $\mu\text{g/L}$, sendo o Valor Crônico (VC), a média geométrica da CEO e CENO, obteve-se o valor de 189,73 $\mu\text{g/L}$, para ambos os testes (Tabela 32)

Tabela 28: Primeiro teste de toxicidade crônica parcial, com cádmio, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, bem como as porcentagens de sobrevivência e a sua significância em relação ao lote controle obtida através da análise estatística teste exato de Fisher.

TESTE CRONICO PARCIAL ①									
Substância de referência: cádmio									
Data Inicial: 25/10/04 – Data final: 01/11/04									
30 organismos /concentração – 2 réplicas									
Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	pH		Condutividade ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)		Dureza ($\text{mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$)		% sobreviventes	Fisher exact test	
	I	F	I	F	I	F		Comparações	p
Controle	7,46	7,77	150,2	172,3	48	46	100		
0,6	7,56	7,63	151,2	179,9	48	42	100	C x 0,6	1,0000
6,0	7,56	7,50	150,3	179,4	48	44	83,33	C x 6,0	0,052
60	7,54	7,72	141,1	183	48	52	100	C x 60	1,0000
600	7,36	7,43	168,86	176,9	32	26	83,33	C x 600	0,052

Tabela 29: Segundo teste de toxicidade crônica parcial, com cádmio, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, bem como as porcentagens de sobrevivência e a sua significância em relação ao lote controle obtida através da análise estatística teste exato de Fisher.

TESTE CRONICO PARCIAL ②									
Substância de referência: cádmio									
Data Inicial: 29/11/04 – Data final: 05/11/04									
30 organismos /concentração – 3 réplicas									
Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	pH		Condutividade ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)		Dureza ($\text{mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$)		% sobreviventes	Fisher exact test	
	I	F	I	F	I	F		Comparações	p
Controle	7,52	7,41	126,7	152,1	48	48	100		
0,6	7,55	7,45	129,1	151,7	50	64	86,66	C x 0,6	0,1124
6,0	7,53	7,39	129,2	150	44	48	93,33	C x 6,0	0,4915
60	7,44	7,38	125	144,6	42	46	86,66	C x 60	0,1124
600	7,36	7,23	130	97,6	40	36	76,77	C x 600	0,0105*

Tabela 30: Terceiro teste de toxicidade crônica parcial (7 dias), com cádmio, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, bem como as porcentagens de sobrevivência e a sua significância em relação ao lote controle obtida através da análise estatística teste exato de Fisher.

TESTE CRONICO PARCIAL ③									
Substância de referência: cádmio									
Data Inicial: 22/12/04 – Data final: 29/12/04									
30 organismos /concentração – 3 réplicas									
Concentrações (µg/L)	pH		Condutividade (µS.cm ⁻¹)		Dureza (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)		% sobreviventes	<i>Fisher exact test</i>	
	I	F	I	F	I	F		Comparações	<i>p</i>
Controle	7,57	7,42	154,4	193,2	46	46	100		
0,6	7,53	7,23	167,7	185,5	48	52	86,66	C x 0,6	0,1124
6,0	7,66	7,28	160,5	182,7	48	52	93,33	C x 6,0	0,4915
60	7,55	7,21	155,9	173,1	50	50	96,66	C x 60	1,0000
600	7,66	7,25	173,7	183,5	54	50	76,77	C x 600	0,0105*

Considerando-se a avaliação biométrica final, dos organismos-testes nos três testes de toxicidade crônica parcial, pode-se verificar que na concentração de 600µg/L, dos testes número 1 e 2, obteve-se diferença significativa das variáveis peso fresco e comprimento padrão, em relação as mesmas medidas avaliadas nos organismos-teste controle, através da análise de variância Kruskal-Wallis (Tabela 31). Nestes testes, a menor concentração significativa de efeito observado (CEO) foi de 600 µg/L, a maior concentração significativa de efeito não observado (CENO) foi de 60 µg/L e o VC igual a 189,73 correspondendo ao mesmo valor obtido para o variável mortalidade (Tabela 32).

No terceiro teste, as variáveis peso fresco e comprimento padrão dos organismos expostos às diferentes concentrações de cádmio, não apresentaram significância em relação às mesmas medidas obtidas nos organismos-teste controles (Tabela 31). Assim, para estas variáveis não foi possível detectar a menor concentração de efeito observado (CEO) e nem a maior concentração de efeito não observado (CENO), impedindo o cálculo do Valor crônico (VC). Nos testes 1 e 2 , a CEO foi de 600 µg/L, a CENO de 60 µg/L e o VC igual a 189,73 correspondendo ao mesmo valor obtido para o variável mortalidade (Tabela 32).

Tabela 31: Comparação dos pesos frescos e comprimentos padrões dos organismos expostos às diferentes concentrações, com as mesmas medidas obtidas nos organismos controles, por meio da análise de variância Kruskal-Wallis, nos três testes de toxicidade crônica parciais (7 dias).

<i>Substância química: Cádmio</i>								
<i>Análise de variância Kruskal - Wallis</i>								
No. teste	Peso fresco (g)				Comprimento padrão (cm)			
	KW	p	Pós teste		KW	p	Pós teste	
			Comparações	p			Comparações	p
1	450,97	0,0000*	C x 0,6 µg/L	0,2074	319,41	0,0000	C x 0,6 µg/L	0,7710
			C x 6,0 µg/L	0,4396			C x 6,0 µg/L	0,9522
			C x 60,0 µg/L	0,0684			C x 60,0 µg/L	0,5052
			C x 600,0 µg/L	0,0000*			C x 600,0 µg/L	0,0000*
2	452,01	0,0000*	C x 0,6 µg/L	0,2172	315,46	0,0000	C x 0,6 µg/L	0,6407
			C x 6,0 µg/L	0,4393			C x 6,0 µg/L	0,8982
			C x 60,0 µg/L	0,0695			C x 60,0 µg/L	0,4257
			C x 600,0 µg/L	0,0000*			C x 600,0 µg/L	0,0000*
3	45,70	0,335	C x 0,6 µg/L	-	75,57	0,1095	C x 0,6 µg/L	-
			C x 6,0 µg/L	-			C x 6,0 µg/L	-
			C x 60,0 µg/L	-			C x 60,0 µg/L	-
			C x 600,0 µg/L	-			C x 600,0 µg/L	-

Tabela 32: Valores de CEO, CENO e VC para os três testes crônicos parciais realizados com o metal cádmio.

Testes	Variável sobrevivência				Variável crescimento			
	CEO	CENO	VC	Média VC	CEO	CENO	VC	Média VC
1	NC	600	NC	-	600	60	189,73	189,73
2	600	60	189,73	189,73	600	60	189,73	
3	600	60	189,73	-	NC	600	NC	-

NC – Não calculado.

6.4.6.3- Análise histológica das brânquias

Os organismos controle caracterizaram-se por apresentar a estrutura branquial bem definida, podendo-se observar o tecido epitelial justaposto às lamelas primárias e os espaçosos entre as lamelas secundárias bastante amplos e nítidos (Figura 81).



Figura 81: Brânquia de um organismo-teste controle. Espaços interlamelares bem definidos (x); epitélio respiratório justaposto às lamelas secundárias (ER). *Coloração: HE.*

Os organismos expostos a concentração de 0,6 $\mu\text{g/L}$ de cádmio, tiveram as lamelas secundárias bem desenvolvidas e a alteração obtida foi de primeiro grau, como a hiperplasia ou proliferação celular, em poucas regiões branquiais (Figura 82).

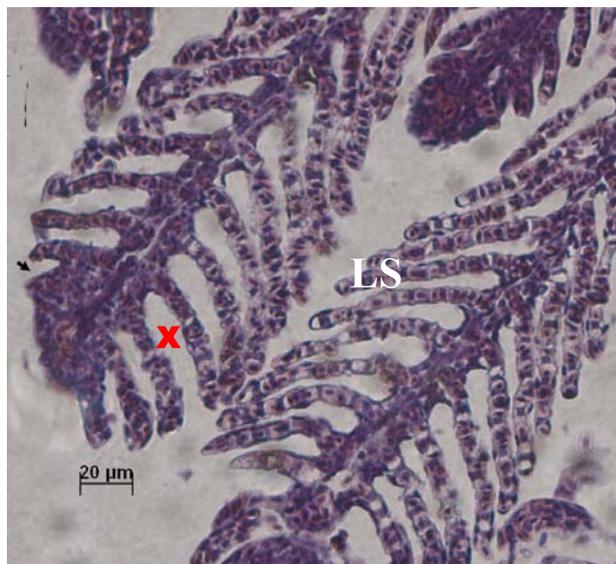


Figura 82: Brânquia de um organismo-teste exposto a 0,6 $\mu\text{g/L}$ de cádmio, por 7 dias. Espaços interlamelares bem definidos (x); desenvolvimento das lamelas secundárias (LS) e início de uma hiperplasia interlamelar (→). *Coloração: HE.*

Nos organismos expostos a concentração de 6 $\mu\text{g/L}$ de cádmio, observou-se o bom desenvolvimento das lamelas secundárias. No entanto, as mesmas tiveram, em sua maioria, o desprendimento do epitélio branquial, comprometendo as trocas gasosas dos organismos-teste (Figura 83).

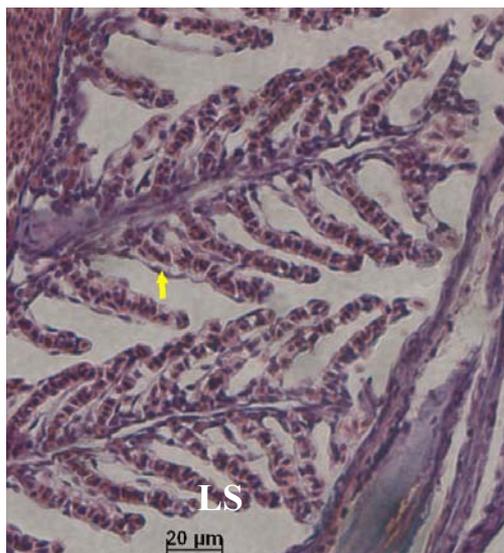


Figura 83: Brânquia de um organismo-teste a 6 μ g/L de cádmio, por 7 dias. Espaços interlamelares (x); desprendimento do epitélio respiratório nas lamelas secundárias (→). *Coloração: HE.*

Em 60 μ g/L de cádmio, as alterações obtidas nos organismos-teste foram a hiperplasia do tecido epitelial respiratório, a dilatação do seio venoso central e a junção de lamelas secundárias, em decorrência da proliferação tecidual (Figura 84).



Figura 84: Brânquia de um organismo-teste exposto a 60 μ g/L de cádmio, por 7 dias. Hiperplasia (↘); junção de lamelas secundárias (↘); dilatação do seio venoso central (SVC). *Coloração: HE.*

Em 600 μ g/L de cádmio, as alterações foram de segundo grau, com predomínio de hiperplasia do tecido epitelial branquial, resultando na junção de várias lamelas secundárias. Foi observado, ainda, a dilatação na extremidade das lamelas secundárias (Figura 85).

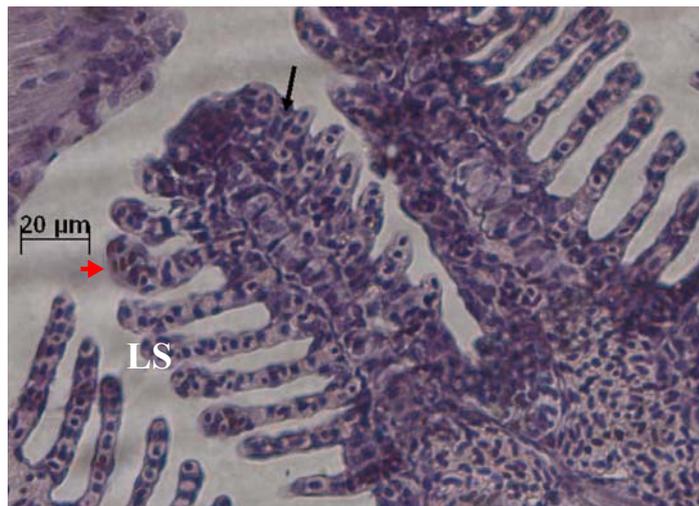


Figura 85: Brânquia de um organismo-teste exposto a 600µg/L de cádmio, por 7 dias. LS (lamela secundária). Hiperplasia (↓) levando a junção de várias lamelas secundárias e dilatação na extremidade de lamela secundária (→). **Coloração: HE.**

6.4.7. Testes de toxicidade com o pesticida organoclorado endossulfan sulfato.

6.4.7.1 – Testes de toxicidade aguda (96H), semi-estático, com *D. rerio* juvenis

Buscando-se determinar a faixa de sensibilidade dos juvenis de *D. rerio* ao organoclorado endossulfan sulfato, foram realizados quatro testes preliminares, partindo-se da concentração permitida pelo CONAMA 357/2005, para a proteção da vida aquática, a partir do teste preliminar 4 (Tabela 33), pode-se estabelecer as seguintes concentrações para os testes definitivos: 3µg/L, 4,5µg/L, 6,75µg/L e 10,25µg/L, utilizando-se o fator 1,5 (Tabela 34).

Foram realizados sete testes crônicos parciais 96h, semi-estáticos, definitivos, obtendo-se um valor médio de CL(I)50, 96h, de 7,24 µg/L de endossulfan sulfato, e limites inferior e superior de 4,57µg/L e 9,90µg/L, respectivamente (Figura 86).

Tabela 33: Testes de toxicidade aguda preliminares ao endossulfan sulfato, com valores de CL(I)50, 96H, semi-estático, obtidos para os organismos-teste *D. rerio*, utilizando-se o programa computacional Trimmed Spearman-Kärber.

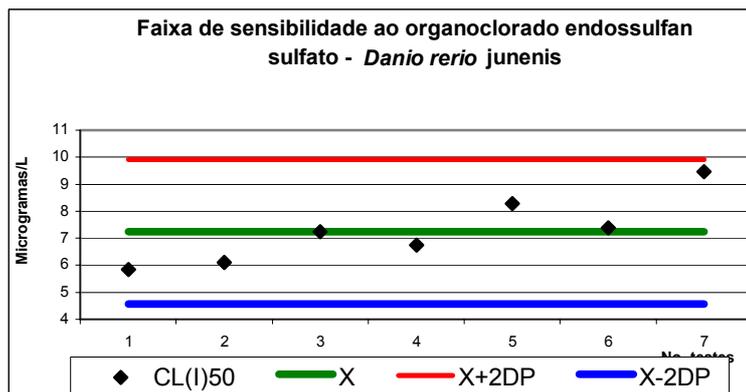
No. testes	Concentrações	No. organismos		CL(I)50,96h (µg/L)	Limite de confiança 95%	
		Iniciais	Finais		Inferior	Superior
1 (fator 5)	C	12	12	NC	NC	NC
	C+A	12	12			
	0,05	12	12			
	0,25	12	12			
	1,25	12	12			
	6,25	12	12			
2 (fator 5)	C	12	12	NC	NC	NC
	C+A	12	12			
	6,25	12	11			
	31,25	12	0			
	156,25	12	0			
3 (fator 1,5)	C	12	11	6,62	NC	NC
	C+A	12	10			
	6,25	12	7			
	9,37	12	0			
	14,06	12	0			
	21,09	12	0			
4 (fator 1,6)	C	12	10	5,84	5,42	6,29
	C+A	12	12			
	3	12	12			
	4,8	12	11			
	7,68	12	0			
	12,28	12	0			

NC- Não calcula; (C+A) – controle com acetona.

Tabela 34: Testes de toxicidade aguda definitivos, ao endossulfan sulfato, com valores de CL(I)50, 96H, semi-estático, obtidos para os organismos-teste *D. rerio*, utilizando-se o programa computacional Trimmed Spearman-Kärber.

Concentrações (µg/L) (fator 1,5)	No. testes	CL50(96) µg/L	Limite de confiança 95%	
			Inferior	Superior
C	1	5,84	5,42	6,29
C + A	2	6,1	5,28	7,05
3	3	7,24	5,97	8,77
4,5	4	6,75	5,86	7,77
6,75	5	8,27	7,16	9,54
10,25	6	7,39	5,66	7,39
	7	9,46	7,8	11,48
Coeficiente de Variação (CV)		17,25%		

C-Controle; C+A – controle com acetona



X-média da CL(I)50, 96h; X-2DP (limite inferior da faixa de sensibilidade); X+2DP (limite superior da faixa de sensibilidade)

Figura 86: Faixa de sensibilidade ao organoclorado endossulfan sulfato, obtida para os juvenis de *D. rerio*.

6.4.7.2 – Testes de toxicidade crônica parcial semi-estático

Para a montagem dos testes de toxicidade crônicos parciais, partiu-se da menor concentração de efeito não observado ($3\mu\text{g/L}$), obtida nos testes de toxicidade aguda, utilizando-se o fator de diluição igual a 10. As concentrações utilizadas foram: $3\mu\text{g/L}$, $0,3\mu\text{g/L}$ e $0,003\mu\text{g/L}$, além de um controle (C) e um controle contendo acetona (C + A). Foram realizados três testes crônicos parciais com duração de sete dias, em regime semi-estático, com trocas das soluções-teste a cada 24h.

No teste de número 1, 2 e 3, as menores porcentagens de sobrevivência foram obtidas na maior concentração correspondente a $3\mu\text{g/L}$, com valores de 77,5%, 75% e 67,5%, respectivamente (Tabelas 35, 36 e 37).

A variável pH, nos três testes crônicos, permaneceu acima de 7,2 e abaixo de 7,9. A cada 24 horas, observou-se a tendência na diminuição dos valores. A condutividade, nas diferentes concentrações, aumentou em um período de 24h, em função da eliminação de substâncias fecais pelos organismos-teste. O valor máximo registrado foi de $334\mu\text{S/cm}$, nos testes 2 e 3, na concentração de $0,03\mu\text{g/L}$. Os valores de dureza permaneceram entre $32\text{mgCaCO}_3/\text{L}$ e $52\text{mgCaCO}_3/\text{L}$, e não observou-se um padrão de comportamento nos valores obtidos.

Tabela 35: Primeiro teste de toxicidade crônica parcial, com endossulfan sulfato, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, a cada 24 horas, bem como a porcentagem final de sobreviventes em 7 dias de exposição.

TESTE CRÔNICO PARCIAL Φ																
Medidas	Data	Controle			C+A			0,03 ($\mu\text{g/L}$)			0,3 ($\mu\text{g/L}$)			3 ($\mu\text{g/L}$)		
		pH	Con.	Dureza	pH	Cond.	Dureza	pH	Con.	Dureza	pH	Con.	Dureza	pH	Con.	Durez
I	4/8/2005	7,95	198	40	7,91	239	42	7,91	241	34	7,91	247	32	7,88	250	38
F	5/8/2005	7,24	251	30	7,3	242	32	7,34	253	28	7,39	253	28	7,44	254	34
Mortos		0			0			0			0			0		
I	5/8/2005	7,55	215	44	7,57	246	40	7,8	261	38	7,8	264	36	7,78	264	40
F	6/8/2005	7,33	255	38	7,34	259	32	7,38	268	34	7,55	254	44	7,39	248	32
Mortos		0			1			0			0			0		
I	6/8/2005	7,53	231	40	7,62	250	46	7,74	261	52	7,78	260	50	7,78	262	50
F	7/8/2005	7,3	244	38	7,51	271	40	7,69	268	48	7,7	273	48	7,65	273	46
Mortos		0			0			0			0			1		
I	7/8/2005	7,56	250	52	7,3	248	42	7,6	240	50	7,53	228	50	7,54	220	48
F	8/8/2005	7,33	266	60	7,38	250	46	7,4	245	48	7,4	246	46	7,46	248	46
Mortos		0			1			0			0			2		
I	8/8/2005	7,53	220	48	7,7	234	54	7,81	244	48	7,83	249	44	7,82	252	50
F	9/8/2005	7,4	293	50	7,4	273	58	7,48	263	50	7,5	260	56	7,47	254	50
Mortos		0			0			0			0			1		
I	9/8/2005	7,67	250	46	7,65	266	42	7,62	267	46	7,73	269	44	7,73	269	48
F	10/8/2005	7,3	281	52	7,68	280	50	7,45	275	50	7,48	277	46	7,51	278	50
Mortos		0			1			0			1			2		
I	10/8/2005	7,45	224	44	7,47	222	40	7,67	226	42	7,7	227	44	7,67	226	36
F	11/8/2005	7,32	291	54	7,41	245	64	7,41	246	54	7,44	247	40	7,47	250	50
Mortos		0			1			1			0			3		
Total de mortos Após 7 dias		0			4			1			1			9		
% de sobreviventes após 7 dias		100			90			97,5			97,5			77,5		

- Medidas não efetuada; I-inicial; F-final; C-Controle; C+A – Controle com acetona; Cond – condutividade ($\mu\text{S/cm}$)

Tabela 36: Segundo teste de toxicidade crônica parcial, com endossulfan sulfato, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, a cada 24 horas, bem como a porcentagem final de sobreviventes em 7 dias de exposição.

Medidas	Data	C			C +A			0,03 (µg/L)			0,3 (µg/L)			3 (µg/L)		
		pH	Condu.¹	dureza	pH	condut	durea	pH	condut	dureza	pH	condut	dureza	pH	condut	dur
Iniciais	21/8/2005	7,57	231	44	7,59	228	72	7,69	232	40	7,67	230	44	7,68	227	54
Finais	22/8/2005	7.45	240	38	7.46	238	46	7,38	238	44	7,45	240	42	7,35	242	42
Mortalidade (24H)		0			0			0			0			0		
Iniciais	22/8/2005	7,54	229	42	7,58	227	42	7,73	224	44	7,69	219	42	7,67	211	44
Finais	23/8/2005	7.52	254	40	7.54	243	40	7.44	241	42	7.44	241	34	7.44	245	50
Mortalidade (48H)		0			0			0			0			1		
Iniciais	23/8/2005	7.66	232	46	7.67	231	42	7.82	225	44	7.79	227	40	7.76	232	38
Finais	24/8/2005	7.43	248	46	7.51	241	44	7.52	243	40	7.50	244	42	7.48	246	44
Mortalidade (72H)		0			0			0			0			1		
Iniciais	24/8/2005	7.73	233	40	7.62	234	36	7.73	231	46	7.73	231	36	7.73	232	38
Finais	25/8/2005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mortalidade (96H)		0			0			1			0			1		
Iniciais	25/8/2005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Finais	26/8/2005	7.66	266	42	7.54	254	38	7.53	257	38	7.53	263	36	7.50	261	38
Mortalidade (120H)		1			0			0			0			2		
Iniciais	26/8/2005	7.63	300	46	7.71	300	54	7.81	298	50	7.85	281	52	7.85	283	52
Finais	27/8/2005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mortalidade (144H)		0			1			1			2			3		
Iniciais	27/8/2005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Finais	28/8/2005	7,5	315	56	7.60	309	80	7.58	334	54	7.6	315	54	7.53	328	52
Mortalidade (168H)		1			1			1			0			2		
Mortos		2			2			3			3			10		
% de sobreviventes após 7 dias		95%			97,5%			95%			95%			75%		

- Medidas não efetuada; I-inicial; F-final; C-Control; C+A – Controle com acetona; Cond –condutividade (µS/cm); Dur- dureza (mgCaCO₃/L)

Tabela 37: Terceiro teste de toxicidade crônica parcial, com endossulfan sulfato, demonstrando os resultados iniciais e finais de pH, condutividade e dureza, a cada 24 horas, bem como a porcentagem final de sobreviventes em 7 dias de exposição.

Medidas	Data	C			C + A			0,03 (µg/L)			0,3 (µg/L)			3 (µg/L)		
		pH	con	dur	pH	condut	dureza	pH	condut	dureza	pH	condut	dureza	pH	condut	dureza
Iniciais	12/9/2005	7,51	212	40	7,56	222	52	7,53	220	40	7,67	230	44	7,63	228	50
Finais	13/9/2005	7,25	235	40	7,52	238	50	7,41	226	40	7,45	240	42	7,51	236	48
Mortalidade (24H)		0			0			0			0			0		
Iniciais	13/9/2005	7,52	183	42	7,56	227	42	7,51	198	42	7,62	219	42	7,67	221	40
Finais	14/9/2005	7,5	208	40	7,54	240	40	7,46	214	42	7,54	241	36	7,44	245	34
Mortalidade (48H)		0			0			1			0			2		
Iniciais	14/9/2005	7,6	216	42	7,66	228	42	7,65	224	42	7,58	231	40	7,56	229	40
Finais	15/9/2005	7,53	238	40	7,51	236	44	7,39	237	40	7,50	240	42	7,32	241	38
Mortalidade (72H)		0			0			0			0			2		
Iniciais	15/9/2005	7,73	233	40	7,62	234	36	7,73	231	46	7,73	231	36	7,73	232	38
Finais	16/9/2005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mortalidade (96H)		0			0			1			1			2		
Iniciais	16/9/2005	7,5	168	44	7,48	231	42	7,51	220	40	7,42	251	38	7,45	251	38
Finais	17/9/2005	7,62	212	42	7,52	250	38	7,58	245	38	7,53	263	38	7,50	261	36
Mortalidade (120H)		1			0			0			0			1		
Iniciais	17/9/2005	7,53	189	44	7,51	198	50	7,67	213	44	7,58	218	48	7,35	238	44
Finais	18/9/2005	7,36	226	42	7,29	224	46	7,53	249	40	7,34	256	40	7,21	258	40
Mortalidade (144H)		1			1			1			2			2		
Iniciais	18/9/2005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Finais	19/9/2005	7,5	315	56	7,60	309	80	7,58	334	54	7,6	315	54	7,53	328	52
Mortalidade (168H)		0			0			2			1			3		
Total mortos		2			1			5			4			13		
% de sobreviventes após 7 dias		95%			97,5%			87,5%			90%			67,50%		

- Medidas não efetuada; I-inicial; F-final; C-Controle; C+A – Controle com acetona; Cond – condutividade (µS/cm); Dur- dureza (mgCaCO₃/L)

Na maior concentração, nos três testes crônicos realizados, as porcentagens de mortalidade diferiram significativamente em relação às obtidas no controle, com valores de p correspondentes a 0,024 e 0,00252 e 0,0031, nos testes 1, 2 e 3, respectivamente. Esta situação não foi registrada para as demais concentrações (Tabela 38).

Tabela 38: Valores de p do Fisher exact test, considerando-se as porcentagens de organismos sobreviventes nos três testes de toxicidade crônica parcial, com endossulfan-sulfato.

Comparações	Fisher Exact Test (valores de p)		
	Teste 1	Teste 2	Teste 3
Controle x C + A	0,1116	1000	1000
C x 0,03µg/L	1000	1000	0,435
C x 0,3µg/L	1000	1000	0,675
C x 3µg/L	0,0024*	0,0252*	0,0031*

*p≤0,05-mortalidades significativas em relação ao controle.

Considerando-se a sobrevivência, nos três testes, a CENO (maior concentração que não causa efeito significativo estatisticamente) foi de 0,03 $\mu\text{g/L}$ e a CEO (menor concentração que causa efeito estatisticamente significativo) foi de 3 $\mu\text{g/L}$. O valor crônico (VC) para os três testes foi de 0,948 $\mu\text{g/L}$ (Tabela 39)

Tabela 39: Valores de CEO, CENO e VC, para os três testes crônicos parciais realizados com o metal cádmio.

Testes	<i>Variável mortalidade</i>			
	CEO	CENO	VC	<i>Média VC</i>
1	3	0,3	0,948	0,948
2	3	0,3		
3	3	0,3		

6.4.7.3.- Avaliação histológica das brânquias

Os organismos controle (Figura 87) e os organismos do controle mais acetona (Figura 88), tiveram a estrutura branquial bem definida, com o tecido epitelial justaposto às lamelas primárias e secundárias e com os espaços entre as lamelas secundárias bastante amplos e nítidos.

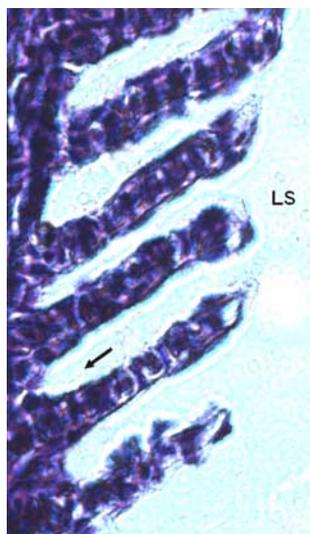


Figura 87: Brânquia de um organismo controle. Notar espaços bem definidos (\sphericalangle) entre as lamelas secundárias (LS), o desenvolvimento das mesmas e o tecido epitelial justaposto. *Coloração HE.*

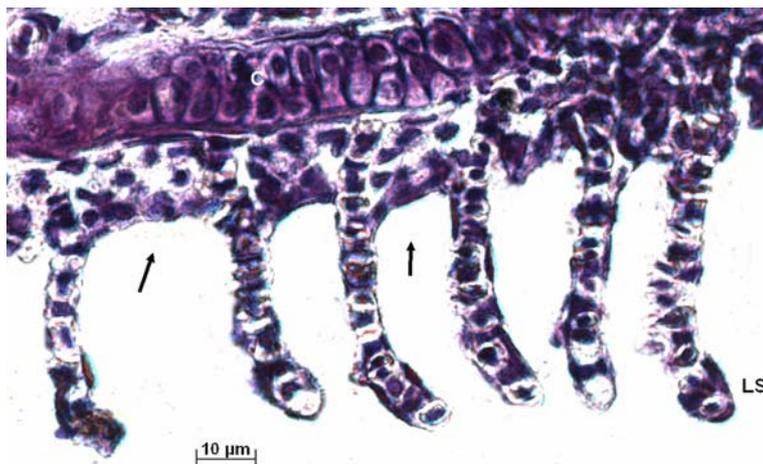


Figura 88: Brânquia de um organismo controle + acetona. Observar os espaços bem definidos (↑) entre as lamelas secundárias (LS), o desenvolvimento das mesmas e o tecido epitelial justaposto. *Coloração HE.*

Nos organismos submetidos aos testes de toxicidade na concentração de 0,03 µg/L, verificou-se o espessamento de algumas lamelas secundárias, como conseqüência da proliferação celular. Os espaços entre as lamelas secundários ainda são satisfatórios para a realização das trocas gasosas (Figura 89).

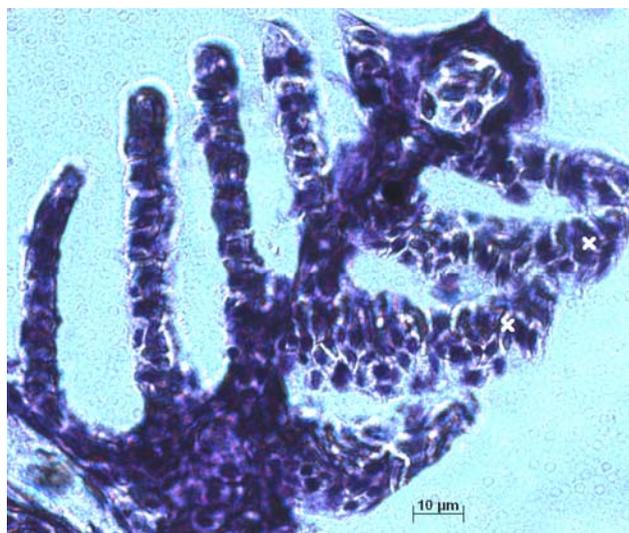


Figura 89: Brânquia de um organismo-teste da concentração de 0,03 µg/L. Observar o espessamento das lamelas secundárias (x), pela proliferação de células epiteliais. *Coloração HE.*

Na concentração de 0,3µg/L, verificou-se hiperplasia do epitélio respiratório, com conseqüente junção entre algumas lamelas secundárias, além do espessamento no ápice de algumas lamelas secundárias (Figura 90).

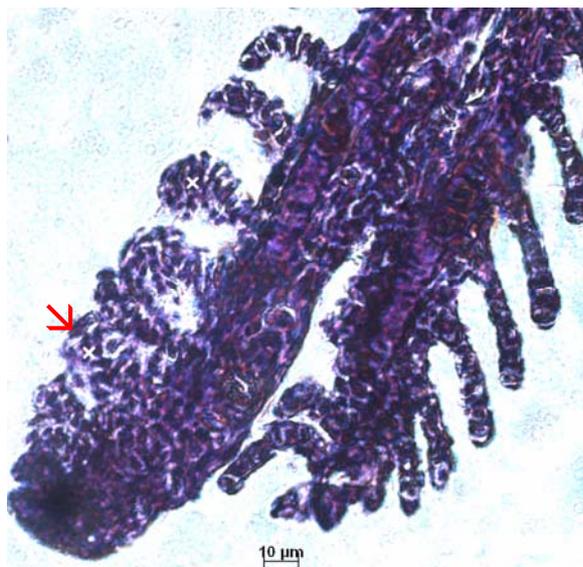


Figura 90: Brânquia de um organismo-teste da concentração de 0,3 $\mu\text{g/L}$. Notar o espessamento das lamelas secundárias (x) e fusão de algumas lamelas secundárias (\blacktriangleright), pela proliferação de células epiteliais. *Coloração HE.*

Nos organismos da concentração 3,0 $\mu\text{g/L}$, observou-se hiperplasia do epitélio respiratório, e conseqüente fusão de várias lamelas secundárias (Figura 91).

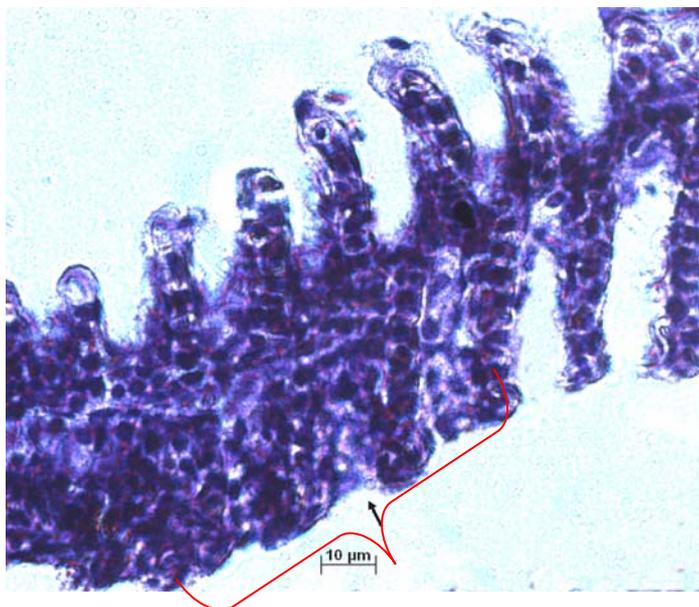


Figura 91: Brânquia de um organismo-teste exposto a concentração de 3 $\mu\text{g/L}$. Notar a proliferação do tecido epitelial entre as lamelas secundárias (\blacktriangleright) e a conseqüente fusão de algumas lamelas secundárias ($\}$), pela proliferação de células epiteliais. *Coloração HE.*

7- DISCUSSÃO

7.1 – Caracterização limnológica do rio Monjolinho

O Projeto Monjolinho foi realizado com o objetivo de avaliar a qualidade das águas de seu sistema, buscando-se detectar a origem e a natureza de substâncias que vêm degradando o sistema, averiguar e focar as possíveis conseqüências para o meio ambiente e para a proteção da vida aquática. Neste sentido, dados limnológicos e as análises físicas e químicas dos sedimentos foram comparadas com os descritos em trabalhos realizados anteriormente no sistema na tentativa de compreender a dinâmica temporal e espacial deste ecossistema em questão.

Normas, legislações e resoluções brasileiras têm estabelecido valores máximos permitidos para os diferentes parâmetros de qualidade de água em decorrência dos seus usos preponderantes. Recentemente não só a qualidade de água destinada ao abastecimento humano e animal tem sido enfocada, mas tem existido uma preocupação crescente com a proteção da vida aquática. Neste contexto, a resolução CONAMA 20/86 apresentava limites máximos permissíveis para os diferentes parâmetros físicos e químicos em função dos diferentes usos preponderantes e classe dos corpos de água. Em 2005, tal resolução foi reavaliada e alguns limites foram revistos e recomendados na resolução CONAMA 357/2005.

Várias fontes de poluição orgânica foram detectadas ao longo de todo o sistema, além do conhecimento de dados da literatura que listam várias atividades industriais, no município de São Carlos, que lançam os seus efluentes no corpo hídrico. Estas atividades são responsáveis por impactos ambientais significativos com presença de metais pesados, solventes, dentre outros compostos tóxicos.

Além das atividades acima citadas, outras fontes como as atividades domésticas, poluição difusa, por exemplo a utilização de pesticidas no controle de insetos e no combate a pragas nas culturas de cana-de-açúcar, podem ter contribuído para a detecção de três pesticidas organoclorados (aldrin, heptachloro e endossulfan sulfato) no rio Monjolinho e em seus tributários. Trabalhos realizados recentemente na bacia do rio Jacaré-Guaçú (CORBI *et al.* 2006 e PELAEZ-RODRIGUÊS, 2001) detectaram os mesmos pesticidas reconhecidos no presente trabalho assim como outros, aproximadamente 21, pertencentes à mesma classe, mesmo grande parte tendo o uso proibido frente ao caráter cumulativo e persistente no ambiente SILVA (2000).

Estas fontes acima descritas contribuem para as concentrações de metais pesados em desacordo com os limites recomendados para a proteção da vida aquática, segundo CONAMA 357/05. No presente estudo todos os metais avaliados foram detectados no sistema, com concentrações acima dos limites recomendados para a proteção da vida aquática, principalmente em julho/03, com destaque para o metal cobre.

Este sistema, em geral, apresenta um agravante que é a ausência de vegetação ciliar, propiciando o maior assoreamento do corpo de água. Este processo já representa uma degradação do ambiente aquático, além de carregarem materiais tóxicos aos organismos biológicos.

As conseqüências das diferentes ações antrópicas detectadas geram um conjunto de alterações das características do corpo de água, com destaque para as formas derivadas da matéria orgânica como as formas de fósforo e nitrogênio, coliformes fecais e totais, DBO, íons cloreto, sulfato e sulfeto, oxigênio dissolvido, condutividade, além do material total em suspensão.

As baixas vazões registradas interferem de maneira significativa nas alterações acima descritas uma vez que concentram os poluentes lançados no sistema e favorecem a sedimentação. Em ambientes lóticos, as variáveis limnológicas para avaliação de qualidade de água, variam em função da vazão, a qual, por sua vez, está diretamente relacionada com o regime de chuvas e relevo (MAYBACH, 1989). A área de entorno, e as atividades realizadas na bacia hidrográfica também interferem diretamente na dinâmica dos corpos de água, como por exemplo, o aumento da turbidez, que por sua vez contribui para a perda da vegetação, por diminuir a penetração de luz.

Deve-se ressaltar o comportamento sazonal do rio Monjolinho e de seus tributários, que durante o período de julho/03, foram influenciados pelas elevadas concentrações dos diferentes poluentes. Este período foi caracterizado pelas baixas vazões propiciando o acúmulo dos lançamentos de efluentes e poluição difusa.

O comportamento longitudinal também foi constatado, com valores crescentes do ponto Nascente em direção ao ponto Confluência acompanhando as cargas crescentes de lançamentos de esgotos associados à poluição difusa proveniente das áreas rurais, além da recepção de tributários contendo as mesmas substâncias impactantes.

Esta situação pode ser observada para as variáveis cloreto, o qual tem como característica a capacidade de alterar a pressão osmótica em células de microrganismos (CETESB, 2004); formas fosfatadas resultantes da degradação da matéria orgânica e para a condutividade, nos diferentes períodos de coleta, com os maiores valores nos pontos P.

Caída (115 μ S/cm-abril/04 a 185 μ S/cm-jan/04) e Confluência (116 μ S/cm-abr/04 a 179 μ S/cm-jul/03). Segundo CETESB (2005), valores de condutividade acima de 100 μ S/cm, caracterizam ambientes impactados. A tendência crescente no sentido longitudinal foi ainda observada para coliformes fecais e totais, corroborando com o aumento das cargas orgânicas do sistema.

Para a DBO também registraram-se valores crescentes ao longo do sistema pelos motivos acima citadas. Segundo BRANCO (1999), os valores de DBO avaliam a quantidade de oxigênio dissolvido, em mgO₂/L, que será consumida pelos organismos aeróbicos ao degradarem a matéria orgânica, juntamente com o oxigênio utilizado na oxidação de produtos inorgânicos em um certo período de tempo e também com o oxigênio utilizado para oxidar formas reduzidas de nitrogênio pelo metabolismo de microorganismos aeróbicos, que promovem a estabilização desta matéria orgânica. Portanto, através da DBO se estima a carga orgânica de corpos de água, de efluentes e a necessidade de oxigênio para degradá-la.

Após a malha urbana, o ponto P. Caída já recebeu todo o esgoto da cidade, incluindo o tributário Água Quente, último a introduzir no rio Monjolinho uma elevada carga de esgoto doméstico *in natura* proveniente do bairro Cidade Aracy. Estes dados podem ser comprovados pelos valores elevados de DBO registrados em tal tributário, acima do recomendado para rios de classe 2 (2,24 vezes em julho/03 e 1,8 vezes em janeiro/04). No período seco (julho/03 e outubro/03), observou-se a influência da DBO indicando a forte poluição orgânica do sistema, conforme destacado pela análise de discriminantes.

As baixas concentrações do oxigênio dissolvido nos pontos acima citados podem ser compreendidas pela decomposição aeróbica da elevada carga de matéria orgânica introduzida diariamente, associada ao escoamento agrícola. As concentrações de oxigênio dissolvido voltaram a se recuperar no ponto Confluência em decorrência da autodepuração natural, com um valor médio correspondente a 7,31 mg/L. Outro fator que pode ter contribuído para o aumento na concentração de oxigênio no sistema seria a introdução de águas com condições limnológicas satisfatórias para a proteção da vida aquática, como os córregos Cancan e Serra que apresentaram elevadas concentrações de oxigênio dissolvido, principalmente em julho/03, com valores correspondentes a 11,87mg/L e 17,18 mg/L, respectivamente.

De maneira semelhante às variáveis acima discutidas, os valores de material em suspensão total (MST) apresentaram o mesmo padrão longitudinal, revelando as menores concentrações no ponto Nascente, em decorrência da maior proteção dos solos pela presença de mata ciliar reduzida. Nos últimos pontos do rio (Usina, P. Caída e Confluência) foram, em geral, registradas as maiores concentrações. Ainda é importante ressaltar que o córrego Água Quente pode ter contribuído para os elevados valores de material em suspensão a partir do ponto P. Caída, no rio Monjolinho.

Em janeiro/04, quando há maior incidência de chuvas, portanto, maior carreamento de material particulado, que no sistema é um fator considerável pela ausência de vegetação ciliar, constatou-se a influência marcante da DQO. Essa variável refere-se à quantidade de oxigênio necessária para oxidação da matéria orgânica através de um agente químico. O aumento da concentração de DQO num corpo d'água se deve principalmente a despejos de origem industrial (CETESB, 2004). BRANCO (1991) e BARRETO (1999) afirmam que os principais fatores que podem influenciar a DQO são de origem antropogênica (lançamentos de esgoto doméstico e industrial), influências naturais (carreamento, pela chuva, de compostos provenientes de áreas adjacentes, que demandam oxigênio para a sua estabilização), concentração de compostos orgânicos e inorgânicos e o revolvimento de partículas dos sedimentos.

Tal fato pode estar relacionado ao escoamento agrícola, no primeiro ponto, e ao escoamento urbano em decorrência do período de chuvas, em associação aos despejos de efluentes industriais e domésticos na área urbana. Os tributários, de uma maneira geral, podem ter contribuído para o aumento dos valores, no rio Monjolinho.

SALAMI (1996) e BARRETO (1999) observaram valores crescentes de DQO no Monjolinho, após o deságüe do tributário Tijuco. Este acréscimo também poderia estar relacionado ao lançamento pontual de esgoto industrial a montante do ponto de coleta, no rio Monjolinho, no trecho urbano, correspondente ao ponto USP do presente trabalho.

Os menores valores de DQO registrados no presente trabalho, nos diferentes períodos de coleta, comparando-se aos valores detectados em trabalhos anteriormente realizados neste rio (MENDES, 1996 e BARRETO, 1999), podem estar relacionados com o tratamento dos efluentes industriais antes de serem lançados no rio Monjolinho.

As temperaturas mais elevadas no rio Monjolinho foram registradas em janeiro/04 e em abril/04 e as menores temperaturas, no período seco (julho/03 e outubro/03). A amplitude de variação em julho/03 foi de 18,6 °C a 21,8 °C; em outubro/03 foi de 18,4 °C a 22 °C; em janeiro, foi de 20,4 °C a 25,2 °C e em abril/04, foi de 20,6 °C a 23 °C . As

diferenças de temperatura observadas dentro de cada período de coleta podem ter oscilado em função dos horários das coletas.

Em geral, trabalhos anteriormente realizados no mesmo rio (GUERESCHI, 1995; MENDES, 1996; BARRETO, 1999; MARINELLI *et al.*, 2000 e PÉLAEZ-RODRIGUÊS, 2001, dentre outros) registraram as mesmas tendências de distribuição longitudinal e sazonal das variáveis analisadas no presente estudo, revelando a continuidade dos impactos sobre o sistema analisado.

7.2 – Avaliação física e química do sedimento

Segundo ESTEVES (1998), os sedimentos podem ser classificados como orgânicos (acima de 10% de matéria orgânica) ou inorgânicos (abaixo de 10% de matéria orgânica). Quanto maior a quantidade de matéria orgânica, maior a capacidade de adsorver poluentes e nutrientes, transformando este compartimento em um grande depósito de poluentes (BURTON, 2002).

Considerando-se a capacidade de adsorver poluente, é preciso considerar o tamanho das partículas dos sedimentos. Segundo SOARES (1999), as frações mais finas, como as de silte e argila, apresentam maior superfície de contato e conseqüentemente maior capacidade de ligação.

Nos diferentes pontos do rio Monjolinho e de seus tributários, os resultados demonstraram o predomínio de areia (grossa, média e fina), sendo que apenas o ponto UFSCar, nos diferentes períodos revelou porcentagens de silte e argila variando entre 10,3% a 21% e no ponto Confluência, com uma variação de 2,8% a 16,3%.

A composição granulométrica associada ao sedimento predominantemente inorgânico, em todo o sistema, pode explicar as baixas concentrações de fósforo e nitrogênio em escala espacial e temporal. Além disso, as vazões e dinâmica dos corpos de água em rios deve ser considerada, o que interfere na precipitação de compostos orgânicos e inorgânicos

Os córregos Cancan e Serra apresentaram as maiores concentrações de NOT e de fósforo total provavelmente por estarem localizados em áreas de monocultura de cana-de-açúcar, com a ampla utilização de fertilizantes. O córrego do Tijuco também apresentou elevada concentração de fósforo total, em julho/03, possivelmente relacionado com os esgotos domésticos lançados neste ambiente. Além da matéria orgânica em decomposição, produtos de limpeza como detergentes podem conter fósforo na composição, propiciando concentrações elevadas nos ambientes. Dentre todos os pontos estudados, as menores

vazões foram obtidas neste córrego, o que permite a sedimentação de partículas, ainda que a sua composição seja predominantemente arenosa.

GUERESCHI (1995) e BARRETO (1999) associaram os baixos valores de nutrientes detectados no sedimento em decorrência da predominância arenosa no sistema. MENDES (1998), ao contrário do presente trabalho, observou um padrão longitudinal para o fósforo total no sedimento, ao longo do rio Monjolinho, com valores crescentes da Nascente em direção a Confluência. O autor relacionou o fato com a hipótese deste compartimento estar sendo o depósito final deste elemento.

Segundo THOMAS (1987), concentrações de fósforo inferiores a 420 ppm são indicativos de sedimentos não poluídos. Tomando este dado como base comparativa para qualidade do sedimento, no presente estudo, os pontos iniciais do sistema, incluindo a Nascente e os pontos finais do rio Monjolinho, como o ponto P. Caída (em janeiro/04) e Confluência, em todos os períodos de estudo, enquadrando-se como poluídos. A mesma situação foi revelada para os tributários, em julho/03, com exceção do córrego Água Fria.

Segundo BARRETO (1999), a matéria orgânica do sedimento depende de fatores como a pluviosidade, tipo de substrato, vegetação marginal, decomposição e influências antrópicas. Este autor também verificou teores de matéria orgânica abaixo de 10% em todo o sistema Monjolinho, corroborando com os dados obtidos no presente trabalho.

Considerando-se a variável matéria orgânica nos pontos do rio Monjolinho, notou-se que as maiores porcentagens ocorreram em julho/03 e outubro/03 e nos pontos UFSCar e Confluência, em função dos mesmos fatores acima discutidos.

O ponto UFSCar, localizado no início da malha urbana, recebe poluentes orgânicos e indústrias que, em decorrência das baixas vazões podem precipitar acumulando-se no sedimento. O ponto Confluência, no final do sistema, tem uma carga elevada de matéria orgânica proveniente dos despejos de esgoto urbano, além dos impactos agrícolas, com a agravante da ausência de vegetação ciliar, permitindo o acúmulo de matéria orgânica no compartimento de fundo. Neste ponto Confluência, embora a vazão tende a ser maior, é preciso considerar que este ponto recebeu e está processando toda a matéria orgânica proveniente da cidade de São Carlos, além de receber a poluição difusa por fertilizantes e agrotóxica, em área agrícola.

De fato os metais biodisponíveis nos sedimento apresentaram, em geral, as maiores concentrações no período seco e nos pontos UFSCar e Confluência, corroborando com dados obtidos para matéria orgânica, fósforo total e nitrogênio orgânico total, sendo mais um indicativo da importância da constituição granulométrica na retenção de poluentes.

Segundo DE PAULA (1999), para avaliar o risco de contaminação da biota por metais, é importante se conhecer a fração móvel ou disponível destes elementos, que é basicamente composta pelos metais absorvidos às superfícies por atração iônica, mais parte do conteúdo metálico precipitados em óxidos, hidróxidos e carbonatos e parte do incorporado a matéria orgânica e sulfetos, não sendo considerada as ligações covalentes (metais ligados a óxidos, hidróxidos e material orgânico refratário ou formadores da estrutura cristalina dos minerais), dificilmente rompidas pelas atividades metabólicas de incorporação de elementos químicos por plantas e animais.

O metal cádmio apresentou um comportamento sazonal, não sendo detectado no sistema em janeiro/04, com exceção do ponto de coleta Nascente, no qual foi obtido uma concentração de $0,0318\mu\text{g/g}$, provavelmente em função de usos de herbicidas e outros compostos agrícolas contendo este elemento na formulação, atingindo o sedimento por meio do escoamento superficial. Este comportamento pode indicar atividades de caráter temporário na bacia, interação direta com a biota ou ainda concentrações abaixo do limite de detecção do método.

CORBI *et. al* (2006), ao estudar metais e organoclorados em alguns córregos da bacia do rio Jacaré-Guaçu, verificou que o cádmio não tinha sido detectado em nenhum dos córregos analisados na fração biodisponível. No entanto, avaliando-se a fração total, detectou valores em concentrações elevadas em áreas de cultura de cana-de-açúcar, indicando a utilização do elemento em tais regiões.

PÉLAEZ-RODRIGUÉZ (2001), detectou as concentrações mais elevadas de cobre no ponto de coleta correspondente ao Confluência, no período seco, correspondente a $10,48\ \mu\text{g/g}$, semelhante ao valor obtido no presente estudo, relacionando o fato às atividades agrícolas, como uso de agrotóxicos, corroborando com as concentrações detectadas no presente trabalho.

No presente trabalho, os menores valores dos metais ocorreram no ponto Nascente. O metal cobre foi o obtido em maiores concentrações, comparando-se aos demais metais biodisponíveis. Mesmo ocorrendo, no local, atividades agrícolas, as quais utilizam produtos químicos na sua manutenção, a presença da mata ciliar pode estar funcionando como uma barreira à poluição difusa, minimizando os impactos por metais neste local. Além disso, trata-se de uma região de corredeira, o que não permite a precipitação e conseqüente acúmulo de poluentes.

Dentre os tributários, no córrego Tijuco foram obtidas as maiores concentrações de todos os metais biodisponíveis analisados, nos diferentes períodos de coleta. Este ponto é

caracterizado por receber efluentes domésticos nos quais o elemento metálicos deve estar presente em decorrência de usos domésticos.

CORBI *et. al* (2006), detectou cobre e zinco em concentrações mais elevadas em regiões de cana-de-açúcar, quando comparados a córregos com mata ciliar e em regiões desprovidas da mesma. O autor associou o fato ao tratamento destas culturas, com a utilização de pesticidas que podem conter cobre em sua formulação.

O metal cromo foi detectado em maiores concentrações no ponto UFSCar, no período seco, e no córrego Tijuco, sendo um indicativo de despejos industriais, contendo tais elementos. De fato à montante do ponto de coleta UFSCar encontra-se uma indústria de papel e celulose, que utiliza este elemento no processo de fabricação, além da presença de trechos agrícolas que podem utilizar agrotóxicos, refletindo no ponto à jusante.

Segundo SILVA & PEDROSO (2001), as principais fontes de cromo nos ecossistemas aquáticos são resíduos de fertilizantes, água residencial, produção de manufaturados como metais, polpa e papel, produtos químicos, e derivados de petróleo, agricultura e lixo de alimentos, dentre outras.

Os demais metais, zinco, ferro e manganês, apresentaram o mesmo comportamento dos metais acima discutidos, prevalecendo nos pontos UFSCar e Confluência, dependendo do período de coleta. Em geral as maiores concentrações foram registradas no período seco e relacionam-se a entrada no sistema pela contribuição industrial e escoamento superficial, em decorrência da ausência de vegetação ciliar.

MARTINS & LIMA (2001), relataram que as principais fontes antropogênicas de manganês são os fertilizantes e agrotóxicos. Em relação ao ferro, as fontes de origem industrial são as atividades de mineração, soldagem, fundição, polimento de metais e antidetonantes de gasolina. Assim, os efluentes de esgoto municipal e industrial, além do escoamento superficial, propiciam a entrada deste compostos metálicos no ambientes aquáticos, sendo os sedimentos, um dos destinos .

Na região do presente estudo, os solos são naturalmente ricos em ferro, o que explica concentrações elevadas na maioria dos pontos de coleta. O zinco, apresentou concentrações elevadas no ponto UFSCar, Usina e Confluência, em decorrência nos primeiros, dos despejos industriais e domésticos e no ponto Confluência, a presença do metal pode estar relacionada a queimada de cana-de-açúcar, hipótese também considerada por CORBI *et al.* (2006) e ZIOLLI *et al.* (1995).

Considerando-se o fato de não existir parâmetros de qualidade de sedimento em normas brasileira, a CETESB (órgão ambiental do Estado de São Paulo) utiliza-se do

Canadian Environmental Sediment Quality Guidelines”, como os parâmetros de qualidade de sedimento para a proteção da vida aquática, estabelecidos pelo “ Canadian Council of Ministers of the Environment” (CCME, 2003).

O guia Canadense para avaliar a qualidade de sedimento estabelece as concentrações de metais totais que devem ou não causar efeitos adversos aos organismos aquáticos (Tabela 40). No entanto, no presente trabalho foram avaliados apenas os metais potencialmente biodisponíveis.

Tabela 40: Guia de qualidade de sedimento canadense com as concentrações dos metais considerando-se TEL (concentrações abaixo da qual raramente são causados efeitos adversos nos organismos e PEL (concentrações acima da qual é frequentemente esperado efeito adversos nos organismos aquáticos).

SQG	Cd (mg/kg)	Cr (mg/Kg)	Cu (mg/Kg)	Zn (mg/Kg)
TEL	0,6	37,3	35,7	123
PEL	3,53	90	197	315

SQG- Sediment Quality Guidline

Considerando-se a proteção da vida aquática através do guia de qualidade canadense para sedimentos, pode-se dizer que o metal zinco, considerando apenas a fração biodisponível, apresentou valores acima de PEL (concentração acima da qual são esperados efeitos adversos nos organismos aquáticos), nas quais provavelmente são provocados efeitos adversos nos organismos aquáticos, nos pontos UFSCar (136µg/g-jul/03, 486µg/g-out e 195µg/g-janeiro/04), Confluência (1328-jul/03 e 185-janeiro/04) e no tributário Tijuco (253µg/g-jul/03 e 129µg/g-jan/04

Comparando-se os dados de metais biodisponíveis obtidos no presente estudo, no rio Monjolinho, com outras pesquisas realizadas na mesma bacia, pode-se observar que os valores obtidos para cádmio, manganês, zinco e ferro, estiveram em concentrações mais elevadas, indicando o crescente nível de poluição no decorrer dos anos, ao longo do rio Monjolinho. Apenas os metais cobre e cromo apresentaram-se com valores menores aos detectados por BARRETO (1999), no mesmo rio, indicando que parte deste metal foi mobilizado para a coluna de água ou biota, não havendo reposição dos mesmos. Isto pode ser um indicativo da melhoria da qualidade do sistema Monjolinho (Tabela 41).

Comparando-se os demais estudos com os resultados no presente trabalho, pode-se dizer que em relação os metais o rio Monjolinho, no presente estudo, demonstrou-se com as piores condições, indicando impactos antropogênicos no sistema.

É importante destacar que mobilização dos metais está diretamente relacionada com os valores de pH, turbulência, concentrações de oxigênio dissolvido, temperatura, biota e composição granulométrica do sedimento.

Os resultados de metais indicam o impacto do ambiente de estudo, frente as atividades antropogênicas instaladas e crescentes na sub-bacia do Monjolinho.

Tabela 41: Concentrações de metais biodisponíveis obtidos em diferentes trabalhos realizados em corpos de água na bacia do alto Jacaré-Guaçu.

Corpos de água avaliados	Metais biodisponíveis (mg/Kg)					
	Cd	Cu	Cr	Mn	Zn	Fe
R. Monjolinho (a)	0,0871	27,71	4,50	2.470	1.328	191.960
R. Monjolinho (b)	nd	34	18,50	107,20	139,9	18.678
R. Monjolinho (c)	nd	10,48	nd	320	25	936
R. Monjolinho (d)	nd	3,15	nd	-	11,05	-
Córrego Fazzari (d)	nd	7,6	-	-	6,75	1.6555
Rio Jacaré-Guaçu (d)	nd	2	nd	-	3,49	1000
Córrego Espreadado (d)	nd	4,45	2,1	-	3,95	-
Córrego Jataí (e)	0,05	6,65	1,06	-	7,15	-

(a) Presente estudo – valores máximos; (b) Barreto (1999)-valores máximos, (c) Pélaez-Rodriguez (2001)-valores máximos; (d) Corbi *et. al* (2006) ; (e) Lima (1990)-valores máximos.

7.2.1- Organoclorados em sedimentos do rio Monjolinho

Os pesticidas orgânicos mais sérios em termos de impactos sobre os ecossistemas aquáticos foram, e continuam sendo, produtos orgânicos contendo cloro. Os principais motivos são sua toxicidade e as propriedades químicas que os tornam persistentes no meio ambiente aquático por longo tempo (ALLAN, 2002).

Segundo TONIAL (2004), a determinação de organoclorados em sedimentos podem ser uma fonte importante de informações para avaliar a contaminação de origem antropogênica, pois não existem em ambientes naturais e podem permitir estudos comparativos das fontes de poluição.

O acúmulo de pesticidas nos sedimentos relaciona-se, da mesma maneira que os metais, com o tamanho das partículas de sedimento, além da temperatura e teor de matéria orgânica (BURTON, 2002). A concentração de compostos organoclorados e de matéria orgânica aumentam com a diminuição dos tamanhos das partículas (CASTILHO *et al.* 2000).

No presente trabalho, observou-se que a tendência dos organoclorados, ao invés de serem depositados nos sedimentos, permaneceram livres na coluna de água possivelmente em decorrência dos baixos teores de matéria orgânica e predomínio de sedimento arenoso. Estes compostos da mesma maneira que os metais e demais variáveis estudadas, não

apresentaram um comportamento padronizado em escala espacial, a não ser o fato de não terem sido obtidos no sedimento do ponto de coleta Nascente, talvez pela presença de uma mata ciliar impedindo boa parte da poluição difusa.

De acordo com os resultados, no sistema Monjolinho, o aldrin aparenta ser o pesticida mais utilizado por ter sido detectado em ambos os períodos de coleta, inclusive em área urbana. Este fato indica a utilização doméstica do produto que, por meio de lançamentos de esgotos municipais, atingem os corpos de água tendo como destino final os sedimentos, permanecendo neste compartimento, em decorrência da sua propriedade cumulativa. As maiores concentrações no período seco podem estar relacionadas às baixas vazões.

Outra hipótese que poderia explicar a presença de organoclorados na água e sedimento em pontos urbanos, seria o controle de mosquitos realizados nas margens dos rios e córregos da cidade com o auxílio de pesticidas.

Considerando-se tanto o heptacloro como o aldrin, ambos apresentaram as maiores concentrações no ponto Confluência, no período seco, corroborando com as maiores concentrações de matéria orgânica e composição granulométrica. Este ponto, localizado em área rural, além das contribuições urbanas, sofre com a poluição difusa por agrotóxicos, por estar localizado à jusante de uma região de monocultura de cana-de-açúcar e é desprovido de vegetação ciliar. No período seco, com as baixas vazões associada às características cumulativas deste grupo de agrotóxicos, apresentam uma maior probabilidade de precipitarem, constituindo o sedimento.

As concentrações de organoclorados nos sedimentos também se relacionam aos fatores químicos como pH, temperatura, potencial de óxido-redução, natureza dos ligantes químicos, propriedades dos compostos organoclorados, fatores biológicos e intensidade e modo de utilização destes compostos nos pontos estudados.

Considerando-se o guia de qualidade de sedimento canadense (CCME, 2003) para a proteção da vida aquática, apenas para o organoclorado heptacloro existem limites TEL (0,6µg/Kg) e PEL (2,74µg/Kg) estabelecidos. Assim, no ponto Cancan, foi obtido um valor de 1,5 vezes acima do valor TEL, em julho/03 e no ponto Confluência, um valor de aproximadamente 4 vezes acima da PEL, indicando que estas concentrações provavelmente causam efeitos deletérios aos organismos aquáticos.

Tanto o heptacloro como a Aldrin, são inseticidas de classe toxicológica I (altamente tóxico) e com alta persistência no ambiente, que tiveram o uso proibido por no Brasil em 1991. No entanto os estudos realizados em diferentes corpos de água brasileiro

têm demonstrado que a utilização destes produtos ocorrem de maneira clandestina (BRONDI, 2000 e SILVA, 2000).

Como discutido para os metais, não existem normas brasileiras que estabeleçam critérios de qualidade para as diferentes variáveis de sedimentos. Assim para melhor compreensão do significado ambiental frente aos valores obtidos para os organoclorados estudados, utilizou-se a abordagem comparativa (Tabela 42).

Tabela 42: Concentrações máximas obtidas, de pesticidas organoclorados, em sedimentos de diferentes rios brasileiros.

Autores	Rios brasileiros	Pesticidas organoclorados ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)		
		Aldrin	Endossulfan sulfato	Heptachloro
Presente estudo	Rio Monjolinho	0,07*	9,11*	10,64*
Pelaez-Rodriguez (1999)	Rio Monjolinho	0,69*	0,41*	14,00*
	Rib. Feijão	0,70	0,35	21,87
Corbi <i>et al.</i> (2006)	Rio Monjolinho	106*	23,2*	6,57*
	Córrego Fazzari	22,7	144,1	nd
	Córrego Ouro	1787	31,00	20,8
	CórregoEspraiado	123,8	nd	nd
Silva (2000)	Rio Piracicaba	45,00	38,00	7,0
Moraes <i>et al.</i> (2003)	Rio PETAR	nd	nd	0,4
Brigante <i>et al.</i> (2003)	Rio Mogi-Guaçú	29,3	nd	nd

* Rio Monjolinho

Os resultados de organoclorados do rio Monjolinho mostraram-se bastante próximos aos obtidos por PÉLAEZ-RODRIGUEZ (1999), no mesmo sistema. Comparando-se aos resultados com os mesmos compostos em outros corpos de água, os sedimento no presente estudo tiveram, em geral, as melhores condições.

Apesar dos sedimentos estocarem compostos organoclorados em alguns pontos e épocas do sistema, não representando um impacto anual e nem ao longo de todo o sistema, as concentrações atentam para a poluição difusa e pontual instaladas, o que pode ao longo dos anos se tornar um problema para a qualidade das águas, uma vez que este compartimento funciona como uma fonte de poluição dentro dos corpos hídricos.

7.3- Testes de toxicidade com amostras de sedimento

Os diferentes lotes de peixes juvenis obtidos comercialmente (ou em cultivo no laboratório, considerando a espécie *P. reticulata*) estiveram dentro da faixa de sensibilidade estabelecida, nesta pesquisa, para o dicromato de potássio. A avaliação desta condição é importante porque representa um indicativo da saúde e sensibilidade dos

organismos, permitindo a maior confiabilidade nos resultados obtidos em testes de toxicidade.

A homogeneidade dos lotes é outra condição importante para a utilização dos peixes em testes de toxicidade, uma vez que os tamanhos dos organismos estão relacionados com as idades e, se os organismos expostos a uma determinada condição apresentarem diferentes idades, a sensibilidade e as respostas agudas ou crônicas serão diversificadas, originando um falso resultado.

Os coeficientes de Spermán obtidos para os lotes de peixes adquiridos comercialmente, e em laboratório, nos diferentes períodos de estudo, tiveram o valor de p maior do que 0,62, indicando uma boa relação peso-comprimento, e conseqüente a homogeneidade dos lotes, em relação ao peso e comprimento, permitindo a confiabilidade nos testes realizados com estes organismos-teste.

Para os juvenis da espécie *D. rerio*, obteve-se um valor de CL(I)50, 96h de 99,36mg/L de dicromato de potássio ou 35,58 mg/L de cromo, diferindo do valor obtido por BERTOLETTI (2000), para a mesma espécie (19mg/L para o cromo). Considerando-se os adultos, TONISSI (1999), obteve um valor de CL(I)50,96h entre 35,35mg/l e 40,96 mg/L de cromo, enquanto FRACÁCIO (2001) obteve uma CL(I)50, 96h de 19,15 mg/L de cromo para larvas da mesma espécie.

Para os juvenis da espécie *P. reticulata*, o valor médio de CL(I)50, 48h, foi de 77,17mg/L de dicromato de potássio ou 26mg/L de cromo. MELETTI (1997), obteve o valor de CL(I)50, 24h de 82,38 mg/L de cromo para adultos de *P. reticulata*.

As diferenças de sensibilidade observadas para as mesmas fases do ciclo de vida e entre elas, estão relacionadas a fatores intrínsecos de cada organismo, estando diretamente ligada à fatores genéticos, os quais apresentam uma variabilidade entre os organismos, inclusive os provenientes de uma mesma prole. Assim, diferenças quanto à sensibilidade dos organismos podem ser esperadas (BERTOLETTI, *op cit.*).

Nos testes realizados com amostras de sedimento do rio Monjolinho, foi observado que as maiores mortalidades, para os juvenis de ambas as espécies, ocorreram em janeiro/04.

As porcentagens de mortalidades da espécie *D. rerio*, nos pontos Nascente, UFSCar e Usina foram considerados tóxicos, em janeiro/04, e nos demais meses não foi verificada a toxicidade dos sedimentos amostrados.

Para *P. reticulata*, todas as amostras foram consideradas tóxicas, em julho/03, janeiro/04 e abril/04. Em julho/03, a mortalidade de *P. reticulata* foi menor em relação à

janeiro/04. Apesar da diminuição das porcentagens de mortalidade a espécie está respondendo as condições adversas dos sedimentos detectadas em julho/03.

A ocorrência de maior mortalidade, em janeiro/04, mostraram-se em desacordo com as condições químicas obtidas nos sedimentos, os quais, em geral, apresentaram as maiores concentrações de metais, organoclorados, fósforo total e nitrogênio orgânico total, em julho/03 e em outubro/03.

No entanto, é preciso considerar o fato de que 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 aumentam a disponibilidade de determinados metais (USEPA, 1994 *apud* MELETTI, 1997), o que pode ter ocorrido em janeiro/04.

Em janeiro/04, foi detectado cádmio em concentração elevada no ponto Nascente em comparação aos demais, o que pode explicar as mortalidades e toxicidade obtida para ambas as espécies. Neste mês, no ponto UFSCar foi verificada concentração elevada de cobre, em relação aos demais locais de coleta, o qual pode estar biodisponível provocando a toxicidade em ambas as espécies. O manganês, dentre os metais, foi o que apresentou as maiores concentrações no ponto Usina podendo estar causando mortalidades nos organismos-teste.

Nos diferentes pontos de coleta estudados é preciso considerar que foram avaliados apenas os metais potencialmente biodisponíveis, mas, autores como BARRETO (1999), PÉLAÉZ-RODRIGUÊZ (2001) e CORBI *et. al* (2006) detectaram metais totais em concentrações de até 40 vezes maiores em relação a fração biodisponível. Em condições laboratoriais, após revolvimento do sedimento frente às chuvas e coletas e alterações de pH, estes poluentes podem ser liberadas para a coluna de água dos testes, elevando a porcentagem de mortalidade nas mostras, em janeiro/04.

Além disso, no presente estudo foram avaliados apenas três organoclorados, sendo que PÉLAÉZ-RODRIGUÊZ (*op cit.*) detectou, no rio em questão, a presença de outros metais como chumbo e níquel, além de 18 pesticidas organoclorados diferentes. CORBI *et al.* (*op ci.t*) detectaram os mesmos metais em concentrações bastante superiores às do presente trabalho, além de 8 compostos organoclorados no rio Monjolinho, predominantemente no período chuvoso. Estes compostos podem estar presentes nas amostras de sedimento de janeiro/04, contribuindo para os efeitos tóxicos.

Outros grupos químicos como solventes, carbamatos, fosforados e piretróides, não foram estudados no sistema mas, podem estar presentes, frente às características industriais e rurais na área de entorno.

Na sub-bacia do rio Monjolinho, as diferentes atividades antropogênicas inserem elementos químicos diversos nos corpos de água, os quais podem apresentar comportamento tóxico ou não frente às condições físicas químicas e biológicas dos compartimentos de estudo. A complexidade de misturas e dinâmica dos fatores físico-químicos do compartimento sedimento dificulta a interpretação elemento-específico que provoca a toxicidade aos organismos-teste.

ZAGATO (1999), relata que as amostras ambientais geralmente se apresentam com diferentes poluentes associados, os quais podem apresentar antagonismo ou sinergismo, que seriam a diminuição da toxicidade em relação a soma de cada agente químico e o aumento da toxicidade em relação a soma dos poluentes, respectivamente.

ESPÍNDOLA *et al.* (2003), avaliando a toxicidade de sedimentos do rio Mogi-Guaçu não encontraram relação entre as concentrações de metais biodisponíveis e pesticidas detectados com a toxicidade das amostras, utilizando-se os organismos-teste *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia similis* e *Chironomus xanthus*. Segundo os autores em ambientes naturais, que ocorre a mistura de poluentes, a relação entre as concentrações e o efeito tóxico não é direta.

FRACÁCIO *et al.* (2000), avaliando a toxicidade de amostras de sedimento do rio Monjolinho, não obtiveram toxicidade aguda em adultos de *D. rerio*, mesmo com resultados limnológicos que demonstraram o impacto deste compartimento. Os autores concluíram que seria necessário a realização de testes de toxicidade crônica, *in situ* e com fases mais sensíveis para melhor avaliação da toxicidade do sistema.

Apesar de não ser possível atribuir poluentes específicos que expliquem as mortalidades obtidas nos testes de toxicidade com sedimento, constatou-se a maior sensibilidade, nos diferentes períodos de estudo, da espécie *P.reticulata*, considerando-se a variável mortalidade.

Estes resultados indicam que as espécies respondem de maneira diferenciada aos poluentes presentes nos sedimentos. VITOZI & DE ANGELIS (1991), avaliando 200 compostos tóxicos a diferentes espécies de peixes (*Poecilia reticulata*, *Danio rerio*, *Pimephales promelas*, *Cyprinus carpio*, *Oryza latipes*, *Salmo gairdnerii* e *Leuciscus idus*), verificaram o que se denomina de “toxicidade aguda a espécie seletiva”, ou seja, cada espécie apresenta uma sensibilidade à determinada substância.

De fato, MELETTI (1997), avaliando a mortalidade de 4 espécies de peixes (*Poecilia reticulata*, *Prochilodus scrofa*, *Cheirodon stenodon* e *Hyphessobrycon bifasciatus*) expostos a sedimentos da bacia do rio Piracicaba, verificou que as espécies responderam de maneira diferenciada quando expostas aos testes, ou seja apresentaram toxicidade aguda espécie-seletiva. O autor enfatizou que devido a este fato é importante a utilização de mais de uma espécie quando se avaliam misturas complexas.

BURTON (1995) faz uma crítica aos testes de toxicidade com amostras de sedimento em laboratório, uma vez que eles são baseados entre a água do bioensaio e o sedimento. Este equilíbrio artificial pode mascarar outros processos que ocorrem no ambiente e que contribuem para a toxicidade do sedimento.

Embora as mortalidades de *D. rerio* não tenha demonstrado toxicidade das amostras, em outubro/03, obteve-se efeito subletal para a variável crescimento nos últimos pontos do sistema (Usina, P. Caída e Confluência).

Para a espécie *P. reticulata*, os organismos do ponto UFSCar apresentaram alterações crônicas quanto ao peso fresco e, no ponto USP, o efeito foi observado para peso fresco e comprimento padrão (7º. Dia), indicando respostas diferenciadas frente às condições de teste.

As análises histológicas foram realizadas apenas com a espécie *D. rerio*, porque, em julho/03, foi a única que sobreviveu em quantidade adequada para esta análise.

Embora as porcentagens de mortalidade de *D. rerio* não tenham revelado a toxicidade dos pontos de coleta, foram verificados efeitos crônicos em outubro/03, quanto aos valores de peso fresco e comprimento padrão, finais. Considerando-se a histologia, em julho/03, foram detectadas alterações histológicas de primeiro grau como a proliferação de tecido epitelial (hiperplasia) e junção de lamelas. No ponto Nascente foi detectada alteração de segundo grau, com junção de todas as lamelas secundárias, que pode ser irreversível, caso as condições do meio não tenham uma melhoria. Portanto, os efeitos subletais estão ocorrendo com a espécie, porém de maneira menos intensa, se comparada a espécie *P. reticulata*.

Segundo EWALD (1995), as brânquias são alvos primários de poluentes presentes em ambientes aquáticos por estarem em contato direto com a água. Os danos histológicos são precedidos por alterações bioquímicas e fisiológicas e quando são detectados, os efeitos adversos são incontestáveis. PAWERT *et al.* (1998), afirmam que os biomarcadores teciduais são ferramentas que apresentam um potencial para se avaliar efeitos de poluição

ambiental, uma vez que as baixas concentrações de poluentes já provocam modificações primárias nas estruturas branquiais.

Em ambientes aquáticos, sujeitos a recepção de poluição pontual e difusa, os poluentes podem ocorrer em concentrações subletais, acarretando a modificação na estrutura e funcionamento dos organismos aquáticos. Alterações como a hiperplasia, desprendimento ou elevação do epitélio branquial e produção de muco são mecanismos de defesa dos organismos por aumentar a barreira água-sangue, evitando o contato interno dos organismos com poluentes ou materiais irritantes (POLECSIK & MITROVIC-TUTUNDIZK, 1994)

Segundo TAHASHIMA & HIBIYA (1995), a hiperplasia é uma alteração progressiva caracterizada pelo aumento das funções das células e tecidos, provocadas pelas alterações das atividades fisiológicas destes, resultando na junção de lamelas. O grau de fusão irá depender da intensidade da hiperplasia. Será parcial se estiver restrita a partes da lamela secundária (caso de todos os pontos, com exceção do ponto Nascente), mas se ocorrer em todas as lamelas, a fusão poderá ser total (Nascente).

POWER *et al.* (1998), após avaliarem os tecidos branquiais de peixes expostos a rios poluídos e relacionarem os dados com a literatura, desenvolveram uma classificação que relaciona o grau de poluição com as alterações branquiais. Segundo os autores, em rios onde se encontram elevadas concentrações de poluentes, verifica-se a hiperplasia de lamelas secundárias, com a fusão completa de pelo menos duas lamelas secundárias vizinhas. Esta alteração, segundo os autores, já pode ser considerada como sendo de ambientes altamente poluídos. Esta situação foi detectada nos pontos Nascente, UFSCar, USP e P. Caída, nas análises histológicas de *D. rerio*, em julho/03.

FRACÁCIO (2001), avaliando os tecidos branquiais de larvas de *D. rerio* expostas por um período de sete dias a sedimentos dos seis reservatórios em cascata do médio e baixo Tietê, detectou alterações de primeiro grau (proliferações de tecido epitelial entre as lamelas secundárias) em ambientes com baixas concentrações de metais biodisponíveis (reservatório de Três irmãos). A junção de lamelas foi observada nos rios Piracicaba, Tietê e nos reservatórios de Barra Bonita, Bariri e Promissão, que apresentaram as maiores concentrações de poluentes no sedimento. O autor relacionou os efeitos subletais com os metais biodisponíveis detectados nos locais de estudo.

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 junção de algumas

lamelas secundárias. A mesma espécie, expostas a sedimentos do rio Mogi-Guaçu, apresentou aneurisma lamelar (alteração de segundo grau), e intensa proliferação celular levando a fusão completa de várias lamelas secundárias, corroborando com os resultados obtidos para *D. rerio* (Nascente), em julho/03, no presente estudo. O autor relacionou o resultados com o processo de degradação do sistema.

CAMPAGNA (2005), avaliando as alterações branquiais de juvenis de *D. rerio* expostos a sedimentos de tributários do rio Monjolinho, verificou hiperplasia nas lamelas secundárias e dilatação nos vasos sanguíneos em organismos-teste nos córregos Madalena, Tijuco e Água Quente. No córrego Água Fria, foi verificada a produção excessiva de muco. A autora relacionou as alterações a mecanismos de defesa dos organismos frente às condições desfavoráveis do meio.

Embora as condições químicas avaliadas no presente trabalho tenham se mostrado em melhores condições, comparando-se a outros trabalhos realizados, no mesmo sistema ou sub-bacia, considerando-se os resultados ecotoxicológicos, cujas respostas dos organismos-teste, a um curto período de exposição, foram mortalidade ou efeitos subletais no crescimento e histologia de brânquias, é notável as condições inadequadas a proteção da vida aquática, frente às atividades antropogênica instaladas na bacia.

7.4 - Testes de toxicidade com amostras de água em laboratório.

Considerando-se a espécie *P. reticulata*, os resultados de toxicidade com amostras de água foram condizentes com as condições limnológicas do sistema verificando-se mortalidade para os juvenis em todos os locais de coleta. Na fase adulta, as amostras dos pontos Nascente, UFSCAr, Usina e P. Caída foram tóxicas em julho/03 e em janeiro/04. Portanto, esta espécie foi sensível aos poluentes existentes neste rio quando comparada à espécie padronizada (*D. rerio*).

Para juvenis de *Danio rerio* verificou-se toxicidade nas amostras dos pontos UFSCAr e USP em julho/03 e, em janeiro/04, os pontos Nascente, USP e Confluência foram considerados tóxicos, frente as porcentagens de mortalidade dos organismos juvenis e o ponto P. Caída, considerando-se a mortalidade dos adultos, observando-se diferença na mortalidade em relação à fase de vida.

Em julho/03, a influência dos metais (obtida pela análise de discriminantes), a presença de organoclorados, e a de íon sulfeto em concentrações entre 0,01mg/L e 0,037 mg/L, faixa na qual causam efeito agudo letal, em organismos aquáticos submetidos a

testes laboratoriais (CETESB *apud* Espíndola, 2003), podem ter contribuído para a toxicidade, considerando-se ambas as espécies e diferentes fases, com exceção dos adultos de *D. rerio*. Em janeiro/04, os mesmos poluentes foram detectados em concentrações mais baixas, sendo que a toxicidade pode estar sendo influenciada por outras variáveis ou poluentes presentes no sistema.

ESPÍNDOLA *et al.* (*op. cit.*), avaliando a toxicidade aguda e crônica, da água, no rio Mogi-Guaçu, com *D. similis* e *C. dubia*, observaram toxicidade aguda para ambas as espécies, com maior imobilidade de neonatos de *C. dubia*, demonstrando a maior sensibilidade da mesma aos poluentes. Em relação à toxicidade crônica, os autores verificaram que *D. similis* sofreu maiores efeitos. Os autores, da mesma maneira que no presente trabalho, relacionaram os níveis de metais a toxicidade obtida.

MELETTI (1997), avaliando a toxicidade aguda de amostras de água da bacia do rio Piracicaba, não obteve relação entre concentração de poluentes e mortalidade para a espécie de peixe *Prochilodus scrofa*. Segundo o autor as amostragens pontuais não representam a condição real de qualidade da água.

É importante considerar que a toxicidade de uma amostra depende da interação entre os elementos químicos e das condições físicas e químicas, que podem resultar em atenuação ou sinergismo dos efeitos tóxicos individuais (BRANCO, 1999; ZAGATO, 1999).

Em abril/04, período de melhoria na qualidade da água, também se verificou ausência de toxicidade para a maioria dos pontos amostrados, com exceção das amostras de água dos pontos UFSCar e Ponte Caída, considerando-se adultos de *D. rerio* e, no ponto Usina, considerando-se adultos e juvenis de *P. reticulata*.

Estes dados corroboram com os resultados obtidos por NOVELLI (2005), que avaliando a toxicidade das mesmas amostras de água, utilizando microcrustáceos como organismos-teste, detectou toxicidade aguda para *Daphnia similis*, em julho/03, para todas as amostras. O autor relacionou o resultado as elevadas concentrações de cobre, cádmio, zinco, cromo e manganês, obtidos neste período, e também a presença de aldrin e heptacloro em alguns locais de coleta. Em abril/04, o autor não verificou toxicidade das amostras.

FRACÁCIO *et al.* (2001), avaliando a toxicidade de amostras de água no rio Monjolinho com *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*, verificaram a maior sensibilidade de *D. similis* com toxicidade aguda em pontos correspondentes aos pontos USP e

Confluência. Os autores atribuíram o fato aos despejos urbanos e industriais, no ponto USP, e possivelmente a maior carga de agrotóxicos, em região de cana-de-açúcar, no último local de amostragem.

Considerando-se os efeitos crônicos de *P. reticulata* juvenis, obteve-se em julho/03 para os pontos Nascente e USP, diferença significativa da variável peso fresco em relação aos organismos controle. Em janeiro/04, as alterações foram obtidas para o peso nos pontos UFSCar e Usina e para comprimento no ponto USP. Considerando-se os juvenis de *D. rerio*, apenas em janeiro/04 registrou-se alteração significativa do comprimento, em relação aos organismos controle.

Estes dados indicam que alguns locais do rio Monjolinho desencadeiam respostas seletivas aos diferentes organismos, comprometendo o seu desenvolvimento. Em geral, estas respostas ocorreram na área urbana, indicando possivelmente a atuação de poluentes metálicos e também aos organoclorados como o aldrin, que esteve em concentração de 0,115µg/L, no ponto Usina, em janeiro/04.

Em abril/04, as análises histológicas das brânquias dos organismos teste, expostos às amostras de água do rio Monjolinho, demonstraram alguns efeitos deletérios como proliferação celular (*P. reticulata* juvenil em todos os pontos e *D. rerio* juvenil, UFSCar), junção de lamelas secundárias e elevação do epitélio respiratório nas lamelas secundárias (*P. reticula* juvenil, em todos os pontos), consideradas alterações de grau I, segundo POLEKSIC & MITROVIC-TUTUNDIZC (1994), os quais são reversíveis frente à melhoria das condições ambientais.

As brânquias apresentam uma grande área superficial através da qual trocas gasosas entre o sangue e o meio externo ocorrem (NEWSTEAD, 1987). O contato direto deste órgão com os corpos de água facilita a interação com substâncias tóxicas, sendo este um alvo primário para a toxicidade (HOLLIS & PLAYLE, 1997). Segundo PERNA-MARTINS (1997), em condições desfavoráveis pode ocorrer o rearranjo do epitélio branquial, desencadeando alterações morfofuncionais. Uma alteração comum, segundo o autor, é o aumento da espessura da barreira água-sangue, dificultando a difusão do oxigênio.

As membranas plasmáticas das células constituintes das brânquias apresentam uma bicamada lipídica que representam sítios de ligações para metais em potencial, assim como as proteínas de membrana (NEWMAN & JAGOE, 1994). Estes metais, uma vez em contato com os sítios de ligações desencadeiam alterações teciduais diversas, como junção de lamelas, hiperplasia, hipertrofia, dentre outras. Portanto, embora a mortalidade não

tenha indicado toxicidade, as análises histopatológicas revelaram indícios de toxicidade nas amostras, principalmente considerando-se as fases mais sensíveis dos organismos testes, o que podem estar associados à presença de metais, mesmo que em baixas concentrações, e a outros compostos tóxicos.

Assim, as amostras de água do rio Monjolinho, mesmo apresentando menores concentrações dos poluentes orgânicos e inorgânicos, de acordo com o período de coleta, apresentam um potencial tóxico, uma vez que refletem nos organismos-teste efeitos deletérios como mortalidade, alterações no desenvolvimento (peso fresco e / ou comprimento padrão) e na morfologia branquial.

7.5 - Testes de toxicidade aguda *in situ*

Em julho/03 a porcentagem de mortalidade, para adultos e juvenis das duas espécies estudadas, foi igual a 100%, em P. caída e Confluência, demonstrando a toxicidade nestes locais. Quanto à Nascente, os juvenis de ambas as espécies demonstraram comportamentos semelhantes, com mortalidade de 66,66% para *D. rerio* e de 70% para *P. reticulata*. Considerando-se os adultos, as respostas foram bastante discrepantes, com 3,33% de mortalidade para *D. rerio* e 60% para *P. reticulata*, no ponto Nascente.

Em abril/04, foi verificada, em geral, uma redução nas mortalidades. No ponto UFSCar foram constatadas as maiores porcentagens de mortalidade para juvenis e adultos das duas espécies. O valor máximo, neste local, foi de 80% para juvenis de *P. reticulata* e 50% para adultos de *D. rerio*.

Neste período, foi possível verificar que os juvenis da espécie *P. reticulata* foram mais sensíveis, com maior mortalidade nos diferentes pontos, semelhante ao ocorrido em testes realizados em laboratório.

Neste sentido, MELETI (1997) observou que entre as quatro espécies de peixes expostos a testes de toxicidade *in situ* e com amostras ambientais, na bacia do rio Piracicaba, que *Poecilia reticulata* era mais resistente e que *Hyphessobrycon bifasciatus* era mais sensível. TUCKER & BURTON (1999), verificaram que *Hialella azteca* apresentou maior sensibilidade em área urbana do rio do que em área rural. Os autores atribuíram o fato aos diferentes poluentes provenientes das duas áreas, os quais manifestaram diferentes toxicidades para a espécie em questão.

As respostas de toxicidade obtidas nos testes *in situ* demonstraram que os diferentes pontos e períodos de coleta caracterizaram-se como sendo tóxicos, exceto na Nascente, em julho /03, com reduzida mortalidade de adultos de *D. rerio* (3,33%).

Estes resultados demonstram a importância dos testes *in situ*, uma vez que avaliam em tempo real os processos dinâmicos, com sinergismo ou antagonismo, que interferem nos ecossistemas aquáticos, refletindo na maior ou menor toxicidade para os diferentes organismos submetidos aos testes de toxicidade.

Muitos poluentes não foram analisados no presente trabalho, mas, com base nas atividades agrícolas desenvolvidas na região, estes provavelmente existem e interferem na toxicidade do sistema. PÉLAEZ-RODRIGUES (2001) e CORBI *et. al* (2006), por exemplo, detectaram compostos organoclorados e metais na água e sedimentos do rio Monjolinho em locais de coleta próximos ao do presente estudo. Outras classes de compostos tóxicos podem ocorrer no sistema, embora ainda não tenham sido estudados.

Estes, juntamente com os metais e as condições limnológicas detectadas no presente estudo, podem ter interferido no metabolismo e na sobrevivência dos organismos nos testes *in situ*.

Em jul/03, no ponto P. caída, as baixas concentrações de oxigênio dissolvido durante o teste *in situ* (3,59 mg.L⁻¹-inicial e 3,50mg.L⁻¹-após 96h), por exemplo, podem ter desencadeado a elevada mortalidade de peixes.

MELETTI (2003), estudando a toxicidade *in situ* com *Serrapinus notomelas*, adultos, na bacia do rio Piracicaba, detectou 100% de mortalidade em um período de 24hs, atribuindo o fato as baixas concentrações de oxigênio e não aos poluentes tóxicos do sistema.

O tamanho das armadilhas e a abertura de malha da tela utilizada também podem ter interferido nas porcentagens de mortalidade. O volume circulante de água (900ml) para os juvenis, considerando-se o maior peso médio por peixe (0,093g), obtido para *P. reticulata* em jul/03, foi satisfatória frente às recomendações de 1g de peixe por litro de água, relação indicada nas normas brasileiras para testes com peixes.

Para os adultos, considerando-se o menor peso médio por indivíduo (0,1742 g, registrado para *D. rerio* em abr/04), o espaço pode ter sido um fator limitante, pois foram adicionados 10 organismos (1,74g em 900ml de água) e o espaço reduzido pode ter ocasionado um estresse aos organismos e, conseqüentemente, a morte. No entanto, quando se avaliaram as condições da Nascente em julho/03, nos testes *in situ* com os adultos, não houve toxicidade, demonstrando que o espaço, neste caso, não foi limitante.

Outro aspecto importante a ser considerado diz respeito a retenção de material particulado nas telas das câmaras (interna e externamente) em julho/03, o que poderia ser um fator adicional ao aumento da mortalidade pela limitação da circulação de água no interior dos recipientes –teste e conseqüente redução da oxigenação. No entanto, no ponto Nascente, esta situação não foi observada. Assim, sugere-se que as armadilhas introduzidas nesse ponto podem ser consideradas um controle quanto à abertura de malha, permitindo um fluxo constante de água no interior das câmaras testes, ao contrário dos demais pontos de coleta.

Em abril/04, a retenção de material particulado nas telas das armadilhas foi observada nos pontos de coleta UFSCar e Confluência, sendo que neste último as mortalidades foram menores ou próximas aos valores obtidos na Nascente para os diferentes organismos e fases utilizadas. Portanto, não se pode afirmar que as elevadas porcentagens de mortalidade detectadas nos testes sejam decorrentes das câmaras testes, embora se considere esta possibilidade.

Para esclarecer esta questão, seria necessária a repetição dos experimentos utilizando-se armadilhas com volumes variados e as mesmas contendo telas com diferentes tamanhos de abertura de malha, fazendo-se medições de oxigênio, pH e outras variáveis na água contida no interior das armadilhas.

As mortalidades discrepantes entre os adultos de *P. reticulata* (60%) e de *D. rerio* (3,33%), na Nascente, em julho/03, estão relacionadas, possivelmente, as características químicas do ambiente. É importante considerar que os organismos-teste permaneceram em condições laboratoriais, com dureza da água entre 40 e 46 mgCaCO₃/L. Na Nascente, foram obtidos valores entre 10 e 20 mgCaCO₃/L. Esta diferença de dureza pode, em campo, acarretar o estresse dos organismos, levando a mortalidade.

Segundo RATTNER & HEATH (1995), a toxicidade dos metais está intimamente relacionada com a dureza. Alguns metais são mais tóxicos em águas menos duras, sendo a constatação mais efetiva para o cádmio. De fato, foram obtidos todos os metais em baixas concentrações neste ponto, estando o cobre em concentração 10 vezes acima do limite CONAMA 357/03. Os baixos valores de dureza podem ter contribuído para potencializar a toxicidade aguda das fases juvenis de ambas as espécies e, adulta de *P. reticulata*.

Segundo BURTON & MACPHERSON (1995), valores de pH levemente ácidos, auxiliam a manutenção dos metais na fase líquida, permitindo a interação com os organismos biológicos. No ponto Nascente verificaram-se valores de pH abaixo de 6. Esta

condição também pode ter interferido na toxicidade dos metais em relação aos organismos-teste.

MELETTI & ROCHA (2002) confeccionaram armadilhas para realização de testes de toxicidade aguda (96H) *in situ* com peixes adultos de pequeno porte, as quais foram confeccionadas com malhas de aberturas de 2 mm e capacidade para 3,3L de água. As câmaras foram consideradas adequadas pelos autores, uma vez que não foram verificadas alterações comportamentais dos peixes durante os experimentos.

Comparando-se os resultados de mortalidade dos testes laboratoriais (7 dias de exposição) com os testes de toxicidade *in situ* (96h), pode-se verificar algumas semelhanças, como a redução nas porcentagens de mortalidade para as duas espécies e fases (adultos e juvenis), em abril/04, associadas à melhoria das condições ambientais, evidenciando o caráter complementar das duas abordagens ecotoxicológicas neste sistema.

Outra semelhança foi a maior sensibilidade da espécie *P. reticulata*, quando comparada a *D. rerio*. Tal fato também foi verificado por CASTRO *et al.* (2004), ao comparar adultos de *P. reticulata* e de *Gambusia affinis*, em testes de toxicidade *in situ* com efluentes ácidos. Os autores verificaram, por meio de respostas bioquímicas, a maior sensibilidade da espécie *P. reticulata* em relação aos metais.

Outros aspectos também devem ser considerados quando se comparam os dois testes. Em abril/04, por exemplo, os testes laboratoriais, ao contrário dos testes *in situ*, indicaram ausência de toxicidade (Nascente, UFSCar e Confluência), exceto no ponto de amostragem UFSCar, considerando-se as mortalidades de adultos de *D. rerio*.

TONISSI (1999) estudando o reservatório de Salto Grande, comparou os resultados de mortalidade obtidos em testes de toxicidade com amostras de água e sedimento em laboratório e *in situ*, utilizando organismo-teste *D. rerio*. O autor observou que em laboratório não ocorreram mortalidades, mas, em campo, as mortalidades indicaram indícios de toxicidade. Segundo o autor, os resultados em laboratório indicaram claramente uma subestimativa dos reais efeitos adversos causado pelos poluentes.

Uma das hipóteses para explicar a ausência de toxicidade em laboratório reside nas implicações das manipulações das amostras durante os experimentos laboratoriais, no controle de variáveis como luminosidade e a aeração constante, que tornam as reações químicas diferentes do ambiente natural, e também pelo fato de que as amostras de águas coletadas no campo se constituem em uma referência pontual do sistema, uma vez que várias informações não estão sendo avaliadas.

TUCHER & BURTON (1999) afirmam que os testes laboratoriais não são apropriados para a avaliação de impactos gerados por fontes não pontuais na escala de tempo. Neste sentido MELETTI (1997) e TONISSI *et al.* (2004) atentam para o fato de que as amostragens pontuais de água não necessariamente representam a real qualidade deste ambiente, ainda mais se este ambiente for um rio, onde a variabilidade espacial e temporal é muito intensa.

No presente estudo, as respostas dos testes *in situ* foram mais intensas em apenas 96h de exposição, o que, mesmo considerando-se a problemática da metodologia, evidenciam os impactos do sistema. DORNFELD *et al.* (*no prelo*), avaliando a toxicidade do rio Monjolinho através de testes *in situ* e laboratoriais com *Chironomus xanthus* (96h), nos mesmo pontos de coleta do presente trabalho, também registraram maior mortalidade nos testes *in situ*, o que foi relacionado às baixas concentrações de oxigênio e às elevadas cargas de poluentes no sistema.

Além da mortalidade, os biomarcadores (fisiológicos, bioquímicos e histológicos) têm sido utilizados para auxiliar na interpretação dos testes de toxicidade e na compreensão das condições de sistemas complexos (CASTRO *et al.*, 2004).

De acordo com GERNHOFER *et al.* (2001), os problemas ambientais no mundo atual estão mais relacionados com problemas de concentrações crônicas dos poluentes químicos do que problemas agudos, os quais são difíceis de detectar e as conseqüências, difíceis de se compreender. Assim, nas últimas décadas, a utilização de biomarcadores tem sido ferramenta eficiente para o monitoramento de contaminantes ambientais. Neste sentido, a avaliação histológica é uma das ferramentas mais adequadas para avaliação de efeito subletal em ambientes impactados uma vez que, segundo LAURANT & PERRY (1991), as espécies para se adaptar a uma nova condição ambiental sofrem modificações morfológicas.

No presente estudo as análises histológicas foram realizadas em abril/04, no sentido de avaliar se mesmo com a melhoria na qualidade da água e redução da mortalidade, os organismos sobreviventes estariam sofrendo efeitos deletérios. Os resultados revelaram que apesar do curto período de exposição, *P. reticulata* demonstrou alterações teciduais em comparação aos organismos controle, o que não foi verificado para adultos e juvenis de *D. rerio*, indicando a maior sensibilidade de *P. reticulata* as condições do rio Monjolinho.

A única alteração encontrada para *D. rerio* foi a hiperplasia nas lamelas secundárias de indivíduos adultos. A fase adulta de *P. reticulata* mostrou-se mais resistente do que a juvenil, quanto à mortalidade, embora nos bioensaios realizados com amostras da

Confluência foram registradas alterações branquiais, como a presença de aneurismas, que comprometem a respiração dos organismos, refletindo as condições adversas do ponto em questão. Os juvenis de *P. reticulata* também apresentaram acentuada proliferação celular, junção de lamelas e elevação do epitélio respiratório.

Segundo SORENSEN (1991), a exposição de *Fundulus hetericlitus* a 50 ppm de cádmio em 48h de exposição provocou alterações branquiais como hiperplasia e hipertrofia. BILINKS & JONAS (1973), verificaram que a exposição de *Salmo gairdneri* a 64 ppb de Cu^{++} em 48h de exposição, acarretou a junção de lamelas secundárias.

KARLSSON-NORRGREN & RUNN (1985), verificaram que a exposição de adultos de *D. rerio*, por 6 semanas a $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Cd resultou no aumento do volume das lamelas secundárias, havendo o preenchimento dos espaços interlamelares, tendo como conseqüência a diminuição da capacidade de difusão gasosa.

Alguns metais como Zn, Fe, Mn, Cd, Cu^{++} , Al, Ni, Co, Ag, Au e Hg, induzem a produção de muco, no sentido de proteger o epitélio respiratório branquial, podendo desencadear a asfixia (SORENSEN, *op. cit.*).

No presente trabalho, a presença de metais, anteriormente discutidos, bem como de organoclorados, podem ter contribuído para as alterações teciduais e mortalidade dos indivíduos. Comparando-se as alterações dos organismos submetidos aos testes em laboratório e *in situ*, pode-se observar semelhanças, porém com ênfase a espécie *P. reticulata* juvenil, a qual apresentou as diferentes alterações em laboratório e *in situ*.

A análise de discriminantes indicou a influência dos metais em todo o sistema em julho/03, o que de fato apresentou uma relação com as elevadas mortalidades nos testes de toxicidade *in situ*.

Portanto, o rio Monjolinho foi caracterizado pelas alterações físicas e químicas decorrentes de variações temporais (seca e chuva), o que se refletiu nos resultados dos testes laboratoriais e *in situ* para *D. rerio* e *P. reticulata* (adultos e juvenis).

P. reticulata apresentou maior sensibilidade em relação a *D. rerio* (espécie padronizada). Este fato, mais uma vez, indica a necessidade de se realizarem testes com misturas complexas com diferentes organismos-teste, uma vez que no decorrer dos testes com amostras ambientais detectou-se o efeito tóxico espécie-seletiva, em concordância com MELETTI (1997).

Os resultados dos testes *in situ* indicaram, em ambos os períodos, a toxicidade do rio Monjolinho, o que não ocorreu nos testes laboratoriais em abril/04. Este fato revela a importância dos testes de toxicidade *in situ* na avaliação da qualidade de águas, uma vez

que é realizada em tempo real. As análises histológicas foram ferramentas complementares que auxiliaram na confirmação e interpretação das condições ambientais do rio Monjolinho, revelando efeitos deletérios em um período onde as mortalidades não revelaram a toxicidade das amostras.

A maior sensibilidade foi encontrada com a espécie que vive no ambiente de estudo, refletindo o estado real da toxicidade do ambiente, podendo ser considerada a sua utilização em testes muito mais expressiva, ao responder prontamente às condições adversas do ambiente. Além disso, esta espécie apresenta um rápido crescimento, aproximadamente 0,3mm por dia e ciclo de vida curto além do fácil aceso comercial e natural, e fácil reprodução e cultivo em laboratório.

O uso de *D. rerio*, empregado universalmente como organismo-teste, deve ser repensado para regiões neotropicais. Esta espécie apresenta-se mais resistente quando comparada à espécie introduzida e estabelecida na maioria dos corpos hídricos brasileiros

São poucas as espécies de peixes presentes no sistema estudado (), sendo a espécie *P. reticulata* a mais abundante, o que pode ser explicado pelo eficiente sistema de reprodução e capacidade de fuga, para condições mais adequadas em ambiente natural.

Danio rerio, apesar de ser amplamente utilizado em aquarofilia não tem demonstrado capacidade de colonização em ambientes naturais, não tendo, portanto, relevância ecológica, se comparado a outras espécies de peixes.

7.6 – Discussão dos testes de toxicidade com o metal cádmio

Em ambientes naturais, embora os organismos possam auxiliar na detecção dos distúrbios em longo prazo, é muito difícil estabelecer a relação causa-efeito em decorrência das alterações qualitativas e quantitativas que ocorrem nos ecossistemas. Assim, a maioria dos padrões de qualidade para a proteção da vida aquática foi e ainda é estabelecida com base em estudos laboratoriais, os quais simulam o que pode ocorrer nos ecossistemas aquáticos com razoável aproximação (BERTOLETTI, 2000).

De acordo com ABEL (1989) *apud* MELETTI (2003), os metais mais importantes e com efeitos na fisiologia dos peixes são: mercúrio, cádmio, chumbo cobre, arsênio, zinco, estanho, cromo, níquel e alumínio. Esses metais atuam no epitélio, rins, fígado, brânquias, musculatura esquelética, baço, intestino, tecido adiposo, cérebro e nadadeiras. Geralmente o cádmio e o chumbo ficam retidos nos rins.

No presente estudo optou-se pela avaliação dos efeitos do metal cádmio, uma vez que no rio Monjolinho as concentrações estiveram acima do limite recomendado pela Resolução CONAMA 357/05 (1µg/L) para a proteção da vida aquática. Este metal, mesmo em baixas concentrações, tem sido descrito na literatura como altamente tóxico aos organismos aquáticos CARDOSO & CHASIN (2001). Por este motivo e pela escassez de trabalhos sobre a toxicidade aguda e crônica do cádmio em organismos juvenis de *D. rerio*, optou-se por avaliar os efeitos do cádmio sobre a espécie.

MEINELT (2001) menciona que a toxicidade do cádmio é altamente influenciada pela quantidade de cálcio e substâncias húmicas. Segundo JACHSON (2002), o cádmio é mais tóxico aos organismos aquáticos em águas leves (20-130mg CaCO₃/L) do que em águas duras (130-300mgCaCO₃/L) devido ao antagonismo entre a absorção de cálcio (ou magnésio) e cádmio.

ALABASTER & LLOYD (1992), em revisão da literatura para diferentes espécies e fases de crescimento dos peixes, em relação aos metais, observaram que, em média, a faixa de concentração entre 10µg/L e 1000µg/L de cádmio provoca efeitos deletérios. Segundo BRESCH (1982), a concentração máxima aceitável de cádmio aos peixes está entre 1µg/L e 10µg/L, para se evitar danos reprodutivos.

Os juvenis de *D. rerio* apresentaram um valor médio de CL(I)50, 96hs, em regime estático, de 1894,77µg/L e um faixa de sensibilidade entre 1044,49 µg/L e 2745,05µg/L. O coeficiente de variação, calculado entre os oito testes definitivos, foi de 22,44%, o que poder avaliado como baixo quando obtido em até 14%. No entanto, considerando a variabilidade genética dos diferentes lotes adquiridos, o valor obtido era esperado.

Segundo SPRAGUE (1985) e PELGROM *et al.* (1994), cada experimento deve ser avaliado considerando-se a sensibilidade da espécie, o estágio de vida, o tamanho dos organismos e, ainda, a sua condição nutricional.

Comparando-se os valores de CL(I)50, 96H, com os valores estimados para a mesma espécie em diferentes fases e com outras espécies, principalmente *P. reticulata*, utilizada neste estudo, verifica-se uma variação que pode estar relacionada com os valores de dureza, pH e temperatura (Tabela 43).

Tabela 43: Comparação dos valores de CL(I)50, 96H, em regime estático, considerando-se as variáveis pH, dureza, condutividade e temperatura da água, nas mortalidades dos peixes, em diferentes fases.

Autores	Espécie	CL(I)50, 96H	Teste	Dureza (mgCaCO ₃)	pH	Condutividade (µs/cm)	Temperatura (°C)
Presente trabalho	<i>D. rerio</i> (juvenil)	1894,77µg/L	Estático	28-56	6,7-8,2	96-264	25,0
Bertoletti (2000)	<i>D. rerio</i> (juvenil)	4600,00µg/L	Estático	35-62	6,3-8,0	108-255	24,5
	<i>D. rerio</i> (larvas)	345,00µg/L	Estático	35-62	6,3-8,0	108-255	24,5
Bresch (1982)	<i>D. rerio</i> (adultos)	7350,00µg/L	Estático	100	7,2	-	24,0
Canton & Slooff (1982)	<i>P. reticulata</i> (adultos)	12000µg/L	Estático	200	-	-	24,0
	<i>P. reticulata</i> (adultos)	3800µg/L	Estático	100	-	-	24,0
Suedel <i>et al.</i> (1997)	<i>P. promelas</i> (larvas)	4,8µg/L	Estático	6-28	5,5-7,4	22-130	20,7-24,0
Pickering & Henderson (1966)	<i>P. reticulata</i> (adultos)	1270µg/L	Estático	20	7,3-	-	25,0

- Não registrado

BERTOLETTI (2000), avaliando a toxicidade de cádmio aos juvenis de *D. rerio*, obteve uma CL(I)50, 96hs, de 4600µg/L, não sendo descrito o valor de coeficiente de variação. Para as larvas, o autor obteve uma CL(I)50, 96hs, de 354µg/L de cádmio, e um coeficiente de variação de 4% entre 2 testes realizados. As condições de pH, condutividade e dureza, obtidas pelo autor, são bastante próximas às detectadas no presente estudo. Assim, o valor médio de CL(I)50, 96hs correspondeu a maior sensibilidade dos lotes obtidos nesta pesquisa, com uma mortalidade de 50% dos organismos-teste, concentração de 2,42 vezes menor. No entanto, o autor discute que entre testes o fator ≤ 2 não é diferença expressiva.

BRESCH (1982), obteve um valor médio de CL(I)50, 96h de 7350,00µg/L de cádmio para adultos de *D. rerio*. De fato, a fase adulta foi menos sensível ao cádmio em comparação as fases larvais e juvenis, como apresentado na tabela x.

Comparando os resultados obtidos com os de CANTON & SLOOFF (1982), verifica-se que em água leve (100mg CaCO₃/L) os adultos de *P. reticulata* tiveram a CL(I)50,96h, média, de 3800µg/L. Em relação aos juvenis do presente estudo, este valor representa um fator 2, não sendo considerado significativo. Assim, pode-se considerar, nestas condições, que a sensibilidade dos adultos de *P. reticulata* é bastante semelhante aos juvenis da espécie *D. rerio*. Os autores citados verificaram que a toxicidade do cádmio

para *P. reticulata* aumentava três vezes mais em água mole (com CL(I) 50,96h, de 3800µg/L) do que em água dura (200 mg CaCO₃/L, com a CL(I)50, 96h, de 12000µg/L).

PICHERING & HENDERSON (1966), avaliando a toxicidade de alguns metais, em água dura (360 mgCaCO₃/L) e em água mole (20 mgCaCO₃/L), para quatro espécies de peixes (*Pimephales promelas*, *Lepomis Macrochirus*, *Carasius auratus* e *Poecilia reticulata*), verificaram que para o cloreto de cádmio, em água mole, o valor médio de CL(I)50, 96h, estático foi de 1270 µg/L ou 526,54µg/L de cádmio para *P. reticulata*. Para *Fathead minnows*, os autores obtiveram, em água mole, um valor médio de CL(I)50,96h de 348,26 µg/L de cádmio. Em água dura, o valor obtido foi de 34041,3µg/L de cádmio, ou seja, a concentração que mata 50% da população em água mole, em 96hs de exposição, foi 97,7 vezes menor do que em água dura. Os autores concluíram que a toxicidade do cádmio aumenta com a diminuição da dureza e é variável entre as espécies.

Portanto, a conclusão a respeito da sensibilidade das espécies ao cádmio é difícil, uma vez que os dados na literatura apresentam uma grande variedade na realização dos testes, bem como as condições dos mesmos em relação à dureza, temperatura, oxigenação e tempo de exposição. Os dados obtidos por BERTOLETTI (2000) são os que mais se aproximam da presente pesquisa, demonstrando que em ambos os estudos a sensibilidade foi semelhante para *D. rerio* juvenil e intermediária entre as fases larvais e adultas.

No presente estudo, para a avaliação crônica, partiu-se da menor concentração de efeito observado obtidas nos testes de toxicidade aguda (600 µg/L). Optou-se pela utilização de um fator 10 para diluição das concentrações, por ser esta normalmente utilizada na literatura e também para se avaliar a concentração próxima à permitida pelo CONAMA 357/05 para a proteção da vida aquática (próxima a 1µg/L).

Dentre as variáveis utilizadas para a avaliação de efeitos deletérios em tempo de exposição crônico-parcial, foram utilizados os seguintes parâmetros: sobrevivência, crescimento e biomarcadores histológicos de brânquias.

Segundo BRESCH *et al.* (1990), *D. rerio* tem sido amplamente utilizado em testes de toxicidade por apresentarem um crescimento rápido, em comparação com as demais espécies de peixe, e por alcançarem rapidamente a maturidade sexual (11 a 12 semanas), além da capacidade reprodutiva anual. São peixes de aquário, facilmente manipuláveis, podendo ser obtidos comercialmente.

MAACH & SEGNER (2003) observaram que após 7 dias, quando os indivíduos deixam de se alimentar do vitelo e passam a se utilizar de alimento externo, estes deixam

de ser considerados larvas e passam a ser considerados juvenis, o que permanece até atingirem a maturidade sexual (aproximadamente 12 semanas), quando as gônadas estão totalmente diferenciadas.

Segundo WESTERFIELD (1995), a fase juvenil de *D. rerio* apresenta um crescimento bastante acelerado, permitindo a utilização da espécie em testes crônicos de curta duração (7 a 12 dias) para a avaliação de crescimento. KRISTENSEN (1994), fazendo uma revisão da literatura, obteve mais de 100 produtos químicos avaliados em diferentes estágios de vida de peixes. O autor observou que em 25% dos estudos, os juvenis foram mais sensíveis do que os estágios larvais, considerando-se o parâmetro sobrevivência. Em 90% dos experimentos revisados, foram constatados efeitos crônicos no crescimento na fase juvenil, sendo considerado uma variável importante a ser avaliada nesta fase.

No presente trabalho, nos três testes crônicos parciais realizados, registraram-se o comportamento semelhante das variáveis analisadas, com a menor concentração de efeito observado (CEO) significativamente estatístico para a biometria final (peso e comprimento) e sobrevivência de 600 μ g/L e a maior concentração de efeito não observado (CENO), significativamente estatístico, para ambas as variáveis (60 μ g/L).

Portanto, para os juvenis estudados no presente trabalho, foram verificados efeitos (sensibilidade dos organismos) do cádmio em relação às variáveis biométricas finais (peso e comprimento) e sobrevivência, semelhantes. A média aritmética das duas concentrações estabelece o valor crônico, que foi de 189,3 μ g/L. Este valor seria aquele a partir do qual, provavelmente, desencadeia efeitos deletérios a um longo período de exposição aos organismos teste.

Comparando-se os dados obtidos para sobrevivência nos testes crônicos com outros dados relatados na literatura, verifica-se que os juvenis foram mais sensíveis, uma vez que o valor crônico foi de 189,73 μ g/L quando comparados ao valor crônico obtido para organismos embriolarvais, para os quais, segundo BERTOLETTI (2000), o valor crônico foi de 348 μ g/L (Tabela 44).

Em relação aos resultados obtidos por outros autores (Tabela x), verifica-se que a fase juvenil foi mais resistente do que as larvas e organismos embriolarvais de *D. rerio* e de *P. promelas*, mesmo considerando o maior tempo de exposição por NGUYEN & JANSSEN (2001).

Tabela 44: Comparação dos valores de CEO, CENO e VC obtidos no presente trabalho e na literatura, para diferentes espécies de peixes e fases do desenvolvimento.

AUTORES	Organismo-teste/fase	Duração	CEO	CENO	VC (média)
Presente trabalho	<i>D. rerio</i> / juvenis	7 dias	600µg/L	60µg/L	189,73µg/L
Bertoletti (2000)	<i>D. rerio</i> / embriolarvais	7 dias	492µg/L	246µg/L	348µg/L
	<i>D. rerio</i> / larvas		108µg/L	41,33µg/L	70µg/L
Suedel <i>et. al</i> (1997)	<i>P. promelas</i> / larvas	7 dias	6µg/L	4µg/L	4,89µg/L
Nguyen&Janssen (2001)	<i>D. rerio</i> / embriolarvais	12 dias	150µg/L	50µg/L	86,60µg/L

Em relação ao crescimento, BRESCH (1982) observou inibição do crescimento na fase embriolarval de *D. rerio* a partir da concentração de 50µg/L de cádmio, em 7 dias de exposição. Para juvenis, no presente estudo, o crescimento só diferiu dos organismos controles na concentração mais elevada (600µg/L), no mesmo tempo de exposição. Comparando-se os resultados, *D. rerio* juvenil é mais resistente.

NGUYEN & JANSSEN (2001) observaram que a menor concentração de efeito observado para embriolarvais de *D. rerio* foi de 50µg/L (estatisticamente significativo), coincidindo com os resultados obtidos por BRESCH (*op.cit*).

SUEDEL *et al.* (1997), observaram que o crescimento de larvas de *P. promelas* em 14 dias de exposição ao cádmio foi menos sensível quando comparado a variável sobrevivência, sendo que o crescimento só apresentou diferença significativa em 445µg/L e a sobrevivência, em 84µg/L. No presente trabalho, alterações significativas na sobrevivência e crescimento foram obtidas na maior concentração (600µg/L).

Considerando-se as alterações histológicas, obtiveram-se, em relação aos organismos controle, alterações de primeiro grau nas concentrações de 0,6µg/L e 6µg/L, incluindo a hiperplasia ou proliferação celular em pequenas áreas das branquiais e a elevação do epitélio respiratório, em algumas lamelas secundárias, respectivamente.

Nas concentrações de 60µg/L, as alterações passam a ser mais nítidas, com fusões de algumas lamelas secundárias. Na maior concentração (600µg/L), a junção de várias lamelas secundárias, considerada de segundo grau, indica que nesta concentração o tecido branquial, na tentativa de impedir a entrada de uma substância estranha, passa a proliferar tecido, o qual impede as trocas gasosas, acarretando a dificuldade respiratória.

Segundo GERNHOFER *et al.* (2001), em rios contaminados por metais, as principais alterações branquiais foram a proliferação de células do epitélio branquial, com conseqüente redução dos espaços interlamelares.

KARLSSON-NORRGREN & RUNN (1985), ao incorporarem cádmio na dieta de fêmeas de *D. rerio* observaram que o mesmo tinha sido incorporado nas brânquias e pele

dentro de um período de 24h. Nos ovários, o metal foi detectado somente 10 dias após o início do experimento. Em um período de 7 dias, houve uma perda de 65% da atividade branquial. Após 21 dias, os autores verificaram que os organismos tinham perdido 80% da atividade branquial.

De acordo com KARLSSON-NORRGREN & RUNN (*op. cit.*), as alterações branquiais mais comuns verificadas em tecidos branquiais de peixes expostos ao cádmio são a proliferação celular de tecido e a junção lamelar. Adultos de *D rerio* expostos a 10 μ g/L de cádmio por 6 semanas, observou-se um aumento significativo do volume das lamelas secundárias, resultando na diminuição dos espaços interlamelares e conseqüente perda de 30% da capacidade de difusão gasosa. No presente trabalho esta alteração foi detectada nos juvenis expostos a 60 μ g/L de cádmio, em 7 dias de exposição.

HOLLIS & PLAYLE (1997) afirmam que águas com maior concentração de cálcio propiciam uma menor concentração de ligação do cádmio ao tecido branquial, protegendo-o. Nos testes realizados nesta pesquisa, os valores de dureza foram baixos (26mgCaCO₃/L - 64mgCaCO₃/L), indicando baixas concentrações de Ca e Mg.

O limite de 1 μ g/L de cádmio para a proteção da vida aquática, de fato, não apresentou efeito crônico para os organismos-teste em 168hs de exposição, em relação à sobrevivência e biometrias finais, considerando as concentrações de 0,6 μ g/L e 6 μ g/L. No entanto podem-se observar alterações de primeiro grau nas lamelas secundárias, com reflexo no processo respiratório dos organismos juvenis.

No rio Monjolinho foram obtidas as concentrações mínima e máxima de 0,0168 μ g/L e 4 μ g/L, respectivamente. A concentração máxima se aproxima da concentração de 6 μ g/L dos testes laboratoriais, com indícios de toxicidade em relação à análise histológica.

Assim, verifica-se que as concentrações de cádmio obtidas no rio Monjolinho podem não ser preocupantes em comparação as alterações obtidas nos testes de toxicidade laboratoriais. Porém, é preciso considerar que as menores durezas no ambiente (em torno de 10mgCaCO₃/L, no ponto Nascente), os baixos valores de pH e as interações com outras substâncias químicas podem potencializar o efeito da toxicidade dos metais aos organismos aquáticos.

7.7- Discussão dos testes de toxicidade com endossulfan sulfato.

O endossulfan é um pesticida organoclorado que apresenta um tempo de vida médio de 3 a 7 dias, na água, portanto, considerado de baixa persistência no ambiente. Por esta razão é amplamente utilizado em plantações, que requerem aplicações repetidas, como a do algodão e a da cana-de-açúcar (DOMITROVIC, 2001). NAQVI & VAISHNAVI (1993), afirmam que no solo, este pesticida apresenta uma meia-vida de 2 anos.

Segundo WAN *et al.* (2005), o endossulfan é constituído de isômeros α e β , sendo que a meia vida do isômero- α é de 3 meses e do isômero β e do endossulfam sulfato (produto da degradação de ambos os isômeros), de dois a seis anos, dependendo das condições ambientais, principalmente da temperatura

Segundo a portaria No.10/1985 (Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 14 de março de 1985), a fórmula molecular do endossulfan é $C_9H_6Cl_6O_3S$, sendo o pesticida considerado de classe toxicológica I (altamente tóxico) e de persistência média no meio ambiente. O nome químico do produto é 6,7,8,9,10,10-hexacloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,4,3-benzodioxatiepín-3-óxido e pertence à classe dos organoclorados ciclodienos. A legislação permite o uso de endossulfan desde que a aplicação não ultrapasse as concentrações recomendadas, e os intervalos de aplicações previstos.

ALLAN (2002), afirma que o destino dos organoclorados no meio ambiente aquático é controlado por uma série de fatores físico-químicos dos próprios pesticidas e das condições ambientais, como a solubilidade, volatilidade, fotodegradação, estabilidade, temperatura, vida ativa, absorção e formulação e concentração de material particulado.

NOWAK & SUNDERAM (1991), avaliando diferentes temperaturas na toxicidade do endossulfan técnico a *Gambusia affinis*, observaram que as maiores mortalidades ocorreram nas maiores temperaturas (35°C). Os autores alegaram que em elevadas temperaturas, ocorre uma rápida degradação, detoxificação e metabolismo, do endossulfan, propiciando uma maior e mais rápida interação com os organismos biológicos.

De acordo com JONSSON *et al.* (1992), o endossulfan é um inseticida organoclorado que tem se mostrado altamente tóxico para peixes, com toxicidade da ordem de partes por bilhão. Os valores médios de CL(I)50, 96h, variam desde 0,014 μ g/L (*Rasbora heteromorpha*) a 14 μ g/L (*Clarias batrachus*), segundo literatura (SUNDERAM, *et al.* 1992).

RAO & MURTY (1982), relatam que desde 1979 têm sido reportados dados sobre a toxicidade do endossulfan a organismos aquáticos de água doce e salgada, com efeitos

agudos e subletais diversificados, de acordo com a espécie, devido às diferentes capacidades de detoxificar o produto. Os autores verificaram que dentre os resíduos, o endossulfan sulfato e o endossulfan- α apresentam elevada capacidade de se ligar nos tecido epiteliais, cerebrais, branquiais, hepáticos, renais e musculares tendo como base um estudo com três espécies de siluriformes. Estes resíduos foram estocados, detoxificados e eliminados pelos peixes através dos rins.

No presente estudo, obteve-se para os juvenis de *D. rerio*, uma CL(I)50, 96H, média, de 7,24 μ g/L para o endossulfan sulfato e um coeficiente de variação de 17,25%, considerado baixo, frente a variabilidade dos diferentes lotes obtidos comercialmente.

Na literatura os testes de toxicidade aguda apresentam-se muito diversificados quanto ao tipo (estático, semi-estático ou fluxo contínuo) e condições (pH, dureza, temperatura, dentre outros fatores), produto utilizado (grade técnica, endossulfan padrão, thiodan, endossulfan- α , endossulfan- β e endossulfan sulfato, dentre outros); duração dos testes (24H a 96H) além das espécies e fases utilizadas. Estas variações interferem na toxicidade e tornam difícil a comparação dos dados e afirmações a respeito da sensibilidade da espécie.

No presente trabalho utilizou-se o endossulfan sulfato padrão supelco, caracterizado por apresentar uma pureza de 99,9%. Este produto é volátil a uma temperatura de 45°C ou superior, e apresenta uma meia vida de aproximadamente 7 dias, considerado, portanto, mais estável que os produtos técnicos e comerciais, cujo tempo de vida é praticamente a metade, além destes conterem outras misturas que não apenas o isômero sulfato.

Na tabela 45, encontram-se os valores de CL50, obtidos para diferentes espécies de peixes, na literatura, com os quais buscou-se discutir os dados do presente trabalho. Não foram encontrados, na literatura, trabalhos com testes de toxicidade com endossulfan sulfato puro. No entanto, na tentativa de compreender os dados do presente estudo, foi feita uma comparação, considerando-se todas as restrições das metodologias utilizadas.

Tabela 45: Valores de CL50 obtidos para peixes, por diferentes autores, em testes de toxicidade aguda com endossulfan, em diferentes condições.

Autores	Produto	Organismo/fase	Tempo (H) / tipo de teste	CL(I)50 (valor médio)	pH	Dureza (mgCaCO ₃ /L)	T (°C)
Presente estudo	Endossulfan sulfato padrão Supelco.	<i>D. rerio</i> / juvenis	96 / Semi-estático (renovação: 24h)	7,24 µg/L	7,2-7,7	34-56	25
Sunderan <i>et al.</i> (1992)	Endossulfan técnico	<i>Cyprinus Carpio</i> / adultos	96 / Semi-estático (renovação: 24H)	0,1µg/L	7,5	45	25
		<i>Melatonaenia duboulai</i> / adultos		2,4 µg/L			
		<i>Bidyanus bidianus</i> / adultos		2,4 µg/L			
Nebeker <i>et. al</i> (1983)	Endossulfan técnico	<i>Pimephales promelas</i> /adultos	Estático	1,3 µg/L	-	32	20
			Fluxo contínuo	1,35 µg/L			
		<i>Rainbow trout</i> /adultos	Estático	1,65µg/L	-	38	12
			Fluxo contínuo	0,35µg/L			
Jonsson <i>et al</i> (1993)	Endossulfan (thiodan)	<i>D. rerio</i> / adultos	24 / Semi-estático (renovação: 6H)	1,6 µg/L	7,1	35	25
		<i>H. bifasciatus</i> / adultos		2,6µg/L			
Herzel & Ludeman (1971)	Endossulfan (thiodan)	<i>Poecilia reticulata</i> / adultos	96 / Estático	4,2µg/L	-	-	4
Domitrovic (2001)	Endossulfan (thiodan)	<i>Aequidens portalegrensis</i> / adultos	96 / Estático	12,68µg/L	-	-	-
Wan <i>et al.</i> (2005)	α-endossulfan	<i>O. mykiss</i> / Juvenis	96 / Estático	0,7µg/L	-	-	-
	β-endossulfan			3,3µg/L	-	-	-
	α+β - endossulfan			0,5µg/L	-	-	-
	endossulfan sulfato			1,4µg/L	-	-	-

Comparando-se os resultados com os obtidos na literatura, observa-se que, em regime semi-estático, os juvenis de *D. rerio* apresentaram-se mais resistentes, com uma concentração letal superior às encontradas por SUNDERAN *et al* (1992), para diferentes espécies de peixes na fase adulta, em condições semelhantes de pH, dureza e temperatura e tipo de teste, demonstrando a maior resistência da espécie.

Em geral, os juvenis de *D. rerio* mostraram-se mais resistentes se comparados a todos os organismos adultos, descritos na tabela 45, com exceção dos adultos de *Aequidens portalegrensis*. No entanto é preciso considerar que a maioria dos testes foram realizados com produtos em misturas, como o thiodan e a grade técnica, cuja pureza do princípio ativo é de no máximo 97%, além da proporção desigual entre os isômeros, os quais apresentam toxicidade e modo de ação diferenciado nos organismos biológicos. Segundo SWARUP *et. al* (1981), o isômero α é potencialmente mais tóxico para peixes.

JONSSON *et al.* (1993), avaliando a degradação do endossulfan técnico, observaram que em condições de pH entre 7,4-8,0, o tempo de meia vida foi de 26 horas, com os resíduos endossulfan sulfato, endossulfan-α, e β, obtidos em ordem de concentração decrescente. Os autores consideraram importante a renovação do produto nos

testes em tempo inferior a 20 horas e concluíram que a maior toxicidade aos peixes é decorrente do resíduo endossulfan sulfato.

WAN *et al.* (2005), avaliando a toxicidade das diferentes formas de endossulfan (isômero- α , isômero- β , isômeros $\alpha+\beta$, e endossulfan sulfato) a diferentes organismos – teste, concluíram que invertebrados e juvenis de salmonídeos foram mais sensíveis à forma combinada de ambos os isômeros associados, seguido pelo isômero- α , em testes de toxicidade aguda, 96H em regime estático.

Em geral, comparando-se os valores de CL50 listados na tabela x, nota-se que nos testes de toxicidade em regime estático houve menor toxicidade aos organismos-teste, demonstrando que o produto sofre uma rápida degradação do princípio ativo, principalmente observando-se os dados de JONSSON *et. al* (op. cit).

No rio Monjolinho, a concentração máxima detectada foi de 0,113 $\mu\text{g/L}$ do resíduo endossulfan sulfato. Para a proteção da vida aquática, a resolução CONAMA 357/05 recomendada no máximo 0,056 $\mu\text{g/L}$ de endossulfan total ($\alpha+\beta$ +sulfato). Portanto nas amostras ambientais, só foram consideradas um resíduo, o qual segundo a literatura é considerado o mais tóxico e cumulativo, demonstrando a degradação do produto.

Nos testes de toxicidade crônica-parcial, as menores porcentagens de sobrevivência, estatisticamente significativas foram na maior concentrações (3 $\mu\text{g/L}$), para os três testes realizados, considerando o endossulfan sulfato, indicando que o aumento da concentração, aumenta a toxicidade .

Os valores de CEO e CENO foram idênticos para os três testes realizados, com valores de 3 $\mu\text{g/L}$ e 0,3 $\mu\text{g/L}$, respectivamente, e o valor crônico de 0,984 $\mu\text{g/L}$. Esta situação indica que houve um padrão de comportamento entre os lotes de peixes, que tiveram a maior sensibilidade em maiores concentrações. Na literatura (BRAUBECH, 1994), os testes crônicos encontrados foram iguais ou superiores a 4 semanas, não sendo viável a comparação de CEO, CENO e VC.

Além da sobrevivência, avaliaram-se os tecidos branquiais, em exposição crônica parcial dos organismos, e pode-se constatar que a intensidade das alterações foi proporcional ao aumento das concentrações, assim como para as menores porcentagens de sobrevivência.

Na menor concentração, a alteração foi o espessamento das lamelas secundárias, reduzindo o espaço para trocas gasosas em algumas lamelas secundárias. Nas concentrações de 0,3 $\mu\text{g/L}$ e 3 $\mu\text{g/L}$, a proliferação de células do epitélio branquial foram

mais intensas e progressivas, levando a junção de lamelas secundárias, em grande parte do filamento branquial, especialmente na maior concentração.

Estas alterações indicam uma resposta à agressão às brânquias; na tentativa de evitar a entrada destas substâncias no interior dos organismos, as células se proliferam intensamente aumentando a barreira água-sangue (POWER *et al.*, 2001).

NOVAK (1992), estudando a degradação do endossulfan técnico (7:3 de isômeros α e β , respectivamente) e o modo de ação dos seus resíduos nas brânquias do siluriforme adulto (*Tandanus tandanus*), observou que após um dia de exposição em concentração de 0,1 $\mu\text{g/L}$, foram constatadas concentrações de 159,5 $\mu\text{g/kg}$ de endossulfan- α ; 19 $\mu\text{g/kg}$ de endossulfan- β e 22 $\mu\text{g/kg}$ de endossulfan sulfato, nos tecidos branquiais, com as alterações mais comuns sendo o desprendimento epitelial e a hiperplasia.

JONSSON *et. al* (1992), expondo adultos *D. rerio* e de *H. bifasciatus* durante 21 dias em 0,4 $\mu\text{g/L}$ de endossulfan técnico, em regime semi-estático (renovação a cada 24hs), observaram para as duas espécies, dilatação dos vasos sanguíneos das lamelas branquiais, infiltrados inflamatórios dos mesmos e para *D. rerio*, focos de necrose epitelial. Portanto, no presente trabalho, o tempo de exposição 3 vezes menor, não foi suficiente para causar efeitos subletais de segundo e terceiro grau, como os autores detectaram para *D. rerio*.

DOMITROVIC (2001), observou em 96H de exposição a 5 $\mu\text{g/L}$, que as brânquias de *Aequidens portalegrensis*, apresentaram dilatação dos vasos sanguíneos, edemas sub-epiteliais e hemorragias, todas alterações de segundo grau. No presente trabalho, em organismos expostos a um tempo maior em concentração de 3 $\mu\text{g/L}$, verificaram-se alterações de segundo grau, porém diferentes das observadas pelo autores, demonstrando a sensibilidade específica.

As concentrações de endossulfan sulfato obtidas no ambiente foram de 0,014 $\mu\text{g/L}$ a 0,113 $\mu\text{g/L}$. Nestas concentrações, correspondentes a 0,03 $\mu\text{g/L}$ e a 0,3 $\mu\text{g/L}$, embora não tenham sido detectados efeitos significativos na sobrevivência dos organismos-teste em 7 dias de exposição, os efeitos deletérios nas brânquias mostraram-se progressivos.

Os resultados do presente estudo mostram a toxicidade do endossulfan sulfato para o organismo teste *D. rerio* juvenil. Porém para uma avaliação mais precisa das respostas aos testes em ambientes naturais, seria necessário a realização de um monitoramento da degradação das soluções-teste em tempos inferiores a 24 horas (antes da renovação das soluções), durante todo período de exposição. Assim, o conhecimento das concentrações, a que os organismos foram expostos, permitiria a maior confiabilidade dos resultados.

8 - CONCLUSÕES

- As análises limnológicas demonstraram um comportamento sazonal, do rio Monjolinho, com as maiores concentrações das variáveis orgânicas e inorgânicas, em julho/03 com as maiores influências das variáveis Demanda Bioquímica de oxigênio e do metal cobre.
- Nos diferentes períodos, o sistema apresentou um comportamento limnológico longitudinal com as concentrações das diferentes variáveis aumentando do ponto Nascente em direção à Confluência, registrando-se a contribuição de tributários impactados como o Tijuco, Gregório e Água Quente.
- Os metais foram detectados em concentrações acima dos limites para a proteção da vida aquática, principalmente em julho/03, para a maioria do sistema, com destaque para o metal cobre, inclusive na Nascente.
- Dentre os organoclorados o aldrin apresentou as maiores concentrações e registros no sistema, predominante em área urbana, nos dois períodos estudados (julho/03 e janeiro/04).
- As análises físicas e químicas do sedimento nos pontos UFSCar e Confluência retêm maiores concentrações de substâncias orgânicas e inorgânicas em decorrência da sua composição granulométrica.
- Dentre os poluentes analisados nos sedimentos o zinco apresentou as maiores concentrações nos últimos pontos (P. Caída e Confluência), as quais podem desencadear efeitos adversos aos organismos.
- Avaliando-se os organoclorados nos sedimentos, o heptacloro se destacou pelas concentrações inadequadas à proteção da vida aquática nos córrego Cancan e no ponto Confluência, demonstrando o impacto por agrotóxicos em áreas de monocultura de cana-de-açúcar.

- Os testes de toxicidade com amostras ambientais do rio Monjolinho (sedimento, água e testes *in situ*), considerando-se os efeitos sofridos por *D. rerio* ou por *P. reticulata*, como a mortalidade, as alterações biométricas e os efeitos deletérios nas brânquias, sugerem condições inadequadas à proteção da vida aquática,
- *Danio rerio* e *Poecilia reticulata* demonstraram-se mais sensíveis em exposição *in situ*, comparando-se aos demais testes realizados, revelando a importância desta abordagem na avaliação ecotoxicológica.
- Os efeitos deletérios nos tecidos branquiais demonstraram-se ferramentas importantes na interpretação da toxicidade crônica parcial com amostras ambientais, permitindo a maior confiabilidade nos resultados e confirmando a maior sensibilidade da espécie *P. reticulata* anti aos poluentes detectados neste ambiente de estudo, uma vez que foi a única a apresentar efeitos deletérios de grau II.
- Os efeitos adversos obtidos para a espécie *Poecilia reticulata* demonstrou a sua maior sensibilidade nos diferentes testes de toxicidade, evidenciando-se a fase juvenil, quando comparada à espécie *Danio rerio*. Além disso, a fácil reprodução, cultivo e manuseio, em laboratório, enquadram a espécie nos requisitos estabelecidos para utilizá-la como organismos-teste.
- Avaliando-se o metal cádmio em laboratório, obteve-se uma CL(I)50, 96H, estático, de 1894,77 μ g/L. Nos testes crônicos parciais, os efeitos na sobrevivência e na biometria dos juvenis de *Danio rerio* foram semelhantes, revelando que as duas variáveis são semelhantes para avaliação da toxicidade deste metal. A análise histológica demonstrou efeitos deletérios progressivos com o aumento das concentrações, sendo que na concentração de 6 μ g/L, próxima à detectada no ambiente, as alterações histológicas foram de primeiro grau. Notou-se nas três variáveis analisadas semelhanças na sensibilidade da espécie.
- O endossulfan sulfato apresentou uma CL(I)50,96H, em regime semi-estático de 7,24 μ g/L. Considerando-se a sobrevivência, o valor crônico do teste foi de 0,948.

As análises histológicas das concentrações de 0,03µg/L e 0,3µg/L, próximas as detectadas no ambiente, foram de primeiro grau, demonstrando o indício de efeitos subletais em exposição crônica parcial.

- A partir dos dados físicos, químicos e ecotoxicológicos obtidos no presente estudo e observações realizadas em campo, conclui-se que o sistema Monjolinho está degradado frente às atividades industriais, efluentes domésticos *in natura*, atividades agrícolas e ausência de planejamentos visando proteger rios e córregos da cidade.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, W.J. (1995) Aquatic Toxicology Testing Methods. IN: HOFFMAN, D.J., RATTNER, B.A., BURTON Jr., G.A. & CAIRNS Jr., J. (eds.). *Handbook of Ecotoxicology*. Boca Raton, Lewis Publishers.
- ALABASTER, J.S. & LLOYD, R. (1992) *Water Quality Criteria for freshwater fish*. 2^a ed. Butterworths.
- ALLAN, R.J. (2002) Os pesticidas orgânicos em meio ambiente aquático, com ênfase em sua origem e destino nos Grandes Lagos. IN: MATSUI, S., BARRETT, B.F.D. & BANERJEE, J. (eds.). *Diretrizes para o gerenciamento de lagos vol. 4: gerenciamento de substâncias tóxicas em lagos e reservatórios*. Instituto Internacional de Ecologia, SP.
- ANDERSEN, J.M. (1976) An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. *Water Research*. 10: 329-331.
- ANTONIUS, G.F. & BYERS, M.E. (1997) Fate and movement of endosulfan under field conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16(4): 644-649.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (1968) *Análise granulométrica de solos*. Rio de Janeiro.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (2003) Projeto 00:001.44-001. *Ecotoxicologia aquática: Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes*. Rio de Janeiro.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (1990) *Toxicological profile for copper*. Syracuse, US Department of Commerce.
- ATLAS, E. & GIMA, C.S. (1981) Global transport of organic pollutants: ambient concentrations in the remote marine atmosphere. *Science*. 311: 163 – 165.
- BAKER, J.T.P. (1969) Histological and electron microscopical observations on copper poisonings in the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). *Journal of Fish Research Bd. Canadian*. 26: 2785-2793.
- BENEDETTI, I., ALBANO, A.G. & MOLA, L. (1989) Histomorphological changes in some organs of the brown bullhead, *Ictalurus nebulosus* Le Sueur, following short and long-term exposure to copper. *Journal of Fish Biology*. 34: 273-280.
- BANERJEE, S. & BHATTACHARYA, S. (1995) Histological changes induced by chronic nonlethal levels of elsan, mercury and ammonia in the small intestine of *Channa punctatus* (Bloch). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 31: 62-68.
- BARBOSA, D.S. & ESPÍNDOLA, E.L.G. (2003) Algumas teorias ecológicas aplicadas a sistemas lóticos. IN: BRIGANTE, J. & ESPÍNDOLA, E.L.G. (eds.). *Limnologia Fluvial*. Editora Rima, SP.
- BARRETO, A.S. (1999) *Estudo da distribuição de metais em ambiente lótico, com ênfase na assimilação das comunidades biológicas e a sua quantificação no sedimento e água*. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.

- BAUDO, R. & MUNTAU, H. (1990) Lesser Know in-place pollutants and diffuse source problems. IN: BAUDO, R., GIESY, J.P. & MUNTAU, H. (eds.). *Sediments: chemistry and toxicity of in-place pollutants*. Lewis Publishers, INC. Boca Raton.
- BEAUMONT, M.W., BUTLER, P.J. & TAYLOR, E.W. (2000) Exposure of brown trout, *Salmo trutta*, to a sub-lethal concentration of copper in soft acidic water: effects upon muscle metabolism and membrane potential. *Aquatic Toxicology*. 51: 259 – 272.
- BENEDETTI, I., ALBANO, A.G. & MOLA, L. Histomorphological changes in some organs of the brown bullhead, *Ictalurus nebulosus* Le Sueur, following short and long-term exposure to copper. *Journal of Fish Biology*. 34: 273 – 280.
- BENGTSSON, B. & LARSSON, A. (1986) Vertebral deformities and physiological effects in fourhorn sculpin (*Myoxocephalus quadricornis*) after long-term exposure to a simulated heavy metals containing effluent. *Aquatic Toxicology*. 9: 215 – 229.
- BERTOLETTI, E., GOLDSTEIN, E.G. & ZAGATTO, P.A. (1989) Variabilidade de testes de toxicidade com peixes. *Ambiente*. 3: 52-58.
- BERTOLETTI, E. (2000) *Estimativa de efeitos tóxicos crônicos com Danio rerio (Pisces, Cyprinidae)*. Tese de Doutorado. Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- BETTEX-GALLAND, M. & HUGHES, G.M. (1973) Contractile filamentous material in the pillar cells of fish gills. *Journal of Cell Science*. 13: 359-370.
- BHAVAN, P.S. & GERALDINE, P. (2000) Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. *Aquatic Toxicology*. 50: 331-339.
- BILINSKI, E. & JONAS, R.E.E. (1973) Effects of cadmium and copper on the oxidation of lactate by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) gills. *Journal of Fish Research Board Canadian*. 30: 1553-1558.
- BILLEN, G., GARNIER, J. & HANSET, P. (1994) Modelling phytoplankton development in whole drainage networks: the Riverstrahler Model applied to the Siene river system. *Hydrobiology*. 289: 119-137.
- BILLIARD, R., BRY, C. & GILLET, C. (1981) Stress, environment and reproduction in teleost fish. IN: *Stress and Fishes* (Pickering A.D.), Academic Press, London. Pgs. 185–207.
- BOON, P.J. (1992) Essential elements in the case for the river conservation. IN: BOON, P., CALOW, J. & PETTS, G.E. (eds.). *River conservation and management*. John Wiley & Sons.
- BRAGA, B., HESPANHOL, I., CONEJO, J.G.L., BARROS, M.T.L., SPENCER, M., PORTO, M., NUCCI, N., JULIANO, N. & EIGER, S. (2002) *Introdução à Engenharia Ambiental*. Prentice Hall, São Paulo, SP.
- BRANCO, S.M. (1999) Água, meio ambiente e saúde. IN: REBOUÇAS, A.C., BRAGA, B. & TUNDISI, J.G. (eds.). *Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação*. Editora Escrituras, São Paulo, SP.

- BRAUNBECK, T. (1994) Detection of environmentally relevant concentrations of toxic organic compounds using histological and cytological parameters: substance-specificity in the reaction rainbow trout liver? IN: MULLER, R. & LLOYD, R. (eds.). *Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish*. United Nation, Fishing News Books.
- BRESCH, H., BECK, H., EHLERMANN, D., SCHLASZUS, H. & URBANEK, M. (1990) A long-term toxicity test comprising reproduction and growth of zebrafish with 4-Chloroaniline. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 19: 419-427.
- BRESCH, H. (1982) Investigation of the long-term action of xenobiotics on fish with special regard to reproduction. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 6: 102-112.
- BRESCH, H. (1991) Early life-stage test in Zebrafish versus a growth test in Rainbow Trout to evaluate toxic effects. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 46: 641-648.
- BRIGANTE, J., MERENGO, M.C., ESPÍNDOLA, E.L.G. & VIEIRA, E.M. (2003) Praguicidas nos sedimentos do rio Mogi-Guaçu. IN: BRIGANTE, J. & ESPÍNDOLA, E.L.G. (eds.). *Limnologia Fluvial. Um estudo no Rio Mogi-Guaçu*. Editora Rima, São Carlos, SP.
- BRONDI, S.H.G. (2000) *Determinação de multiresíduos de agrotóxicos em águas de abastecimento do município de Araraquara: Ribeirão das Cruzes, Ribeirão das Anhumas e Córrego do Paiól*. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.
- BURTON Jr., G.A. (1992). *Sediment toxicity assessment*. Chelsea: Lewia Publishers.
- BURTON Jr., G.A. (2002) Sediment quality criteria in use around the world. *Limnology*. 3: 65-75.
- BURTON, G.L. & MACPHERSON, C. (1995) Sediment toxicity testing issue and methods. In: HOFFMAN, D.J., RATTNER, B.A., BURTON Jr., G.A. & CAIRNS Jr., J. (eds.). *Handbook of ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton.
- CAIRNS Jr, J. (1980) Estimazing hazard. *Bioscience*. 30: 101-107.
- NIEDERLEHNER, B. R. & BIDWELL, J. R. (1998) Ecological toxicity testing. IN: MEYERS, R.A. (ed.). *Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation*. John Wiley & Sons, Inc.
- CAMPAGNA, A.F. (2005) *Toxicidade dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho (São Carlos – SP): ênfase nas substâncias cobre, aldrin e heptacloro*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Pirassununga, SP.
- CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT (2004) *Summary of existing Canadian Environmental Quality Guidelines – Summary Table, 2003*. Disponível em: http://www.ccme.ca/assets/pdf/e1_062.pdf, acesso em 12 nov.
- CANTON, J.H. & SLOOF, W. (1982) Toxicity and accumulation studies of cadmium (CD²⁺) with freshwater organisms of different trophic levels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 6: 113-128.
- CARDOSO, L.M.N. & CHASIN, A.A.M. (2001) *Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos*. Série Cadernos de Referência Ambiental, v.6. Salvador, BA.

- CASTILHO, J.A.A. et al. (2000) Organochlorine and organophosphorus pesticides residues in the Atata river basin, Chinandega, Nicaragua. *Environmental Pollution*. 10: 523-533.
- CASTRO, B.B., SOBRAL, O., GUILHERMINO, L. & RIBEIRO, R. (2004) An *in situ* bioassay integrating individual and biochemical responses using small fish species. *Ecotoxicology*. 13: 667-681.
- CBH-MOGI (1999) *Diagnóstico da Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho "Relatório Zero"*.
- CHAPMAN, D. (1992) *Water quality assessments*. CHAPMAN and HALL, London.
- CHAPPIE, D.J. & BURTON Jr., G.A. (2000) Applications of aquatic and sediment toxicity testing *in situ*. *Journal of Soil Contamination*. 9: 1-27.
- CETESB (1990-2000) *Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo*. São Paulo.
- CETESB (1992-2002) *Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo*. São Paulo.
- CETESB (1994) *Metodologia para avaliação da toxicidade crônica com o peixe Brachydanio rerio*. São Paulo.
- CETESB (1997) *Ano 1986: Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo*. São Paulo.
- CETESB (2005) *Ano 2004: Relatório da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo*, São Paulo.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA 20 – 12 de junho de 1986. IN: Coletânea de Legislação Ambiental Federal - Estadual, 1991. Imprensa Oficial do Estado do Paraná, 1986.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA 357 – 17 de março de 2005.
- CORBI, J.J., STRIXINO, S.T., SANTOS, A. & DEL GRANDE, M. (2006) Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de cana-de-açúcar (Estado de São Paulo, Brasil). *Química Nova*. 29(1): 61-65.
- CÔRTEZ, M.R., RIGHETTO, G.M., LEONELLI, G.C.V. & FERNANDES, A. (2000) Uso e ocupação da terra na área urbana. IN: ESPÍNDOLA, E.L.G., SILVA, J.S.V., MARINELLI, C.E. & ABDON, M.M. (eds.). *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*. Editora Rima, São Carlos, SP.
- CRISCUOLO, C., VASCONCELOS, C.H. & SILVA, J.S.V. (2000) Uso e Ocupação da terra em 1965 e 1968. IN: ESPÍNDOLA, E.L.G., SILVA, J.S.V., MARINELLI, C.E. & ABDON, M.M. (eds.). *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*. Editora Rima, São Carlos, SP.
- DE LA TORRE, F.R., FERRARI, L. & SALIBIÁN, A. (2000) Long-term *in situ* toxicity bioassays of the reconquista river (Argentina) water with *Cyprinus carpio* as sentinel organism. *Water, Air and Soil Pollution*. 121: 205-215.

- DOMITROVIC, H.A. (2001) Toxicidad y respuesta histopatológica em *Aequidens portalegrensis* (Pisces, Cichlidae) expuestos a endosulfan em ensayos de toxicidad aguda y em ensayos sbletales.
- DORNFELD, C.B., ESPÍNDOLA, E.L.G., FRACÁCIO, R., RODRIGUES, B.K. & NOVELLI, A. (No prelo) Comparação de bioensaios laboratoriais e "in situ" utilizando *Chironomus xanthus* na avaliação da toxicidade do rio Monjolinho (São Carlos, SP). *Brazilian Journal of Biology*.
- DORES, E.F.G.C., DE-LAMONICA-FREIRE, E.M. (1999) Contaminação do ambiente aquático por pesticidas: via de contaminação e dinâmica dos pesticidas no ambiente aquático. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente: Pesticidas*. 9: 1-18.
- ESPÍNDOLA, E.L.G. (2000) O Rio Monjolinho: um estudo de caso. IN: ESPÍNDOLA, E.L.G., SILVA, J.S.V., MARINELLI, C.E. & ABDON, M.M. (eds.). *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*. Editora Rima, São Carlos, SP.
- ESPÍNDOLA, E.L.G., BRIGANTE, J. & DORNFELD, C.B. (2003) Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. IN: BRIGANTE, J. & ESPÍNDOLA, E.L.G. (eds.). *Limnologia Fluvial: Um Estudo no Rio Mogi-Guaçu*. Editora Rima, São Carlos, SP.
- ESTEVES, F.A. (1988) *Fundamentos de limnologia*. Interciência, FINEP, Rio de Janeiro, RJ.
- EWALD, G. (1995) Chronic measures of toxicant - induced effects on fish. *Ann Zool. Fenici*. 32: 311-316.
- FÖRSTNER, U. (1985) Chemical forms and reactivities of metals in sediments. IN: LESCHBER, R., DAVIS, R.D. & L'HERMITE, P. (eds.). *Chemical Methods for Assessing Bioavailable Metals in Sludges and Soils*. Elsevier, London.
- FÖRSTNER, U. (1990) Inorganic sediment chemistry and elemental speciation. IN: BAUDO, R., GIESY, J.P. & MUNTAU, H. (eds.). *Sediments: chemistry and toxicity of in-place pollutants*. Lewis Publishers, INC. Boca Raton.
- FRACÁCIO, R., RODGHER, S., ESPÍNDOLA, E.L.G., PASCHOAL, C.M.R.B., LIMA, D., NASCIMENTO, A.P. & RODRIGUES, M.H. (2000) Abordagem ecotoxicológica. IN: ESPÍNDOLA, E.L.G., SILVA, J.S.V., MARINELLI, C.E. & ABDON, M.M. (eds.) *A bacia hidrográfica do Rio do Monjolinho*. Editora Rima, São Carlos, SP.
- FRACÁCIO, R. (2001) *Utilização de bioensaios ecotoxicológicos com Danio rerio (Cypriniformes, Cyprinidae) e análises limnológicas para a avaliação ambiental dos reservatórios do médio e baixo Tietê (SP)*. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- FRACÁCIO, R., VERANI, N.F., ESPÍNDOLA, E.L.G., ROCHA, O., RIGOLIN-SÁ, O. & ANDRADE, C.A. (2003) Alterations on growth and gill morphology of *Danio rerio* (Pisces, Ciprinidae) exposed to the toxic sediments. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 46: 685-695.
- GERNHÖFER, M., PAWERT, M., SCHRAMM, M., MÜLLER, E. & TRIEBSKORN, R. (2001). Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*. 8: 241-260.
- GIESY, J.P. & HOKE, R.A. (1989) Freshwater sediment toxicity bioassessment: rationale for species selection and test design. *Journal of Great Lakes Research*. 15: 539-569.

- GOLDMAN, C.R. & HORNE, A.J. (1983) *Limnology*. International student, Mc Graw-Hill, Tokyo.
- GOLTERMAN, H.L., CLYMO, R.S. & OHNSTAD, R. (1978) Methods for chlorophyll and phaeopigments determination. *Archives Fur. Hydrobiology*. 14: 14-36.
- GORMLEY, K.L. & TEATHER, K.L. (2003) Developmental, behavioral, and reproductive effects experienced by *Japanese medaka (Oryziaslatipes)* in response to short-term exposure to endosulfan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 54: 330-338.
- GUERESCHI, R.M. (1995). *Monitoramento biológico da bacia hidrográfica do rio Monjolinho pelo uso de invertebrados bentônicos*. Monografia de Graduação. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- HAMILTON, M.A., RUSSO, R.C. & THURSTON, R.U. (1977) Trimmed Sperman-Karber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. *Environmental Science and Technology*. 7: 714-719.
- HEATH, A.G. (1987) *Water pollution and fish physiology*. CRC Press, Boca Raton.
- HEATH, A.G. (1995) *Water pollution and fish physiology*. CRC Press, Boca Raton.
- HEATH, A.G. (1997) Physiological responses of fathead minnow larvae to rice pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 37: 280-288.
- HOLLIS, L. & PLAYLE, R.C. (1997) Influence of dissolved organic matter on copper binding and calcium on cadmium binding, by gills of rainbow trout. *Journal of Fish Biology*. 50: 703-720.
- HOFFMAN, D.J., HATTNER, B.A., BURTON, G.A.J. & CAIRNS, J.J. (1995) *Handbook of Ecotoxicology*. Lewis Publishers. London.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE (1990) *Manual de testes para avaliação da ecotoxicologia de agentes químicos*. IBAMA, Brasília.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE (1991) *Levantamento sistemático da produção agrícola, vol. 5*. Rio de Janeiro.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE (1993) *Levantamento sistemático da produção agrícola, vol. 5*. Rio de Janeiro.
- JACKSON, J. (2002) Metais pesados e outras substâncias tóxicas inorgânicas. IN: MATSUI, S., BARRETT, B.F.D. & BANERJEE, J. (eds.). *Diretrizes para o gerenciamento de lagos vol. 4: gerenciamento de substâncias tóxicas em lagos e reservatórios*. Instituto Internacional de Ecologia, SP.
- JONSSON, C.M., TOLEDO, M.C.F. & ALVES, V.A.F. (1992) Alterações histopatológicas em duas espécies de teleosteos expostos ao inseticida endosulfan. *Revista Brasileira de Toxicologia*. 5: 9-12.
- JONSSON, C.M. & TOLEDO M.C.F. (1993) Acute toxicity of endosulfan to the fish *Hyphessobrycon bifasciatus* and *Brachydanio rerio*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 24: 151-155.

- KARLSSON-NORRGREN, L. & RUNN, P. (1985) Cadmium dynamics in fish: pulse studies with ^{109}Cd in female zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Journal of Fish Biology*. 27: 571-581.
- KRISTENSEN, P. (1994) 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.
- LAURANT, P. & PERRY, S.F. (1991) Environmental effects on fish gill morphology. *Physiological Zoology*. 64(1): 4-25.
- LEGENDRE, L. & LEGENDRE, P. (1983) *Numerical Ecology*. Elsevier Scientific Publishing Company. New York.
- LIMA, I.V. & PEDROSO, M.F.M. (2001) *Ecotoxicologia do ferro e seus compostos. Série de Cadernos de Referência Ambiental, vol. 4*. Editora CRA. Salvador, BA.
- LLOYD, R. (1992). *Pollution and freshwater fish*. Oxford, Fishing News Books.
- MAAK, G. & SEGNER, H. (2003) Morphological development of the gonads in zebrafish. *Journal of Fish Biology*. 62: 895-906.
- MACEDO, J.A.B. *Introdução a Química Ambiental. (Química, Meio Ambiente & sociedade)*. Juiz de Fora-MG: Jorge Macêdo (CRQ-MG), 2002.
- MALLATT, J. (1985) Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A statistical review. *Canadian Journal of Fish Aquatic Sciences*. 42: 630-648.
- MARGALEF, R. (1983) *Limnologia*. Omega, Barcelona.
- MARINELLI, C.E., MORETTO, E.M., BRUCHA, G. & LUCCA, J.V. (2000). *Limnologia*. IN: ESPÍNDOLA, E.L.G., SILVA, J.S.V., MARINELLI, C.E. & ABDON, M.M. (eds). *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*. Editora Rima, São Carlos, SP.
- MARTINS, I. & LIMA, I.V. (2001) *Ecotoxicologia do manganês e seus compostos. Cadernos de referência Ambiental, vol. 7*. Editora CRA. Salvador, BA.
- MAYER (1994) *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.
- MEINELT, T., PLAYLE, R.C., PIETROCK, M., BURNISON, B.K., WIENKE, A. & STEINBERG, C.E.W. (2001) Interaction of cadmium toxicity in embryos and larvae of zebra fish (*Danio rerio*) with calcium and humic substances. *Aquatic Toxicology*. 54: 205-215.
- MELETTI, P.C. (1997) *Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade aguda com peixes*. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- MELETTI, P.C. & ROCHA, O. (2002) Development of a chamber for in situ toxicity tests with small fishes. *Brazilian Journal of Biology*. 62(1): 187-190.
- MELETTI, P.C. (2003) *Avaliação da degradação ambiental por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes*. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

- MENDES, A.J.S. (1998) *Avaliação dos impactos sobre a comunidade macrozoobentônica, no córrego do Monjolinho (São Carlos, SP)*. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- MEREGALLI, G., VERMEULEN, A.C. & OLIVIER, F. (2000) The use of Chinoromidae deformation in an in situ test for sediment toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 47: 231-238.
- MEYBECK, M. (1996) River water quality Global ranges, time and space variabilities, proposal for some redefinitions. *Verhein International Limnology*. 26: 81-96.
- MOALLA, S.M.N. et al. (1998) Distribution and chemical fractionation of some heavy metal in bottom sediments of lake Nasser. *Hidrobiologia*. 364: 31-40.
- MORAES, R., ELFVENDAHL, S., KYLIN, H. & MOLANDER, S. (2003) Pesticide residues in rivers of a Brazilian rain forest reserve: Assessing potential concern for effects on aquatic life and human health. *Ambio*. 32(4): 258-263.
- MOREIRA, A.S. (2001) *Avaliação da influência da agricultura na presença de metais pesados nas águas do Baixo Rio Pardo – SP*. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- NEBEKER, A.V., McCRADY, J.K., MSHAR, R. & McAULIFFE, C.K. (1983) Relative sensitivity of *Daphnia magna*, Rainbow Trout and Fathead Minnows to endosulfan. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 1: 69-72.
- 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. (eds.). *Bioavailability, physical, chemical, and biological interactions*.
- NEWSTEAD, J.D. (1987) Fine structure the respiratory lamellae of Teleostean gills. *Zeitschrift für Zellforschung*. 70: 420-445.
- NGUYEN, L.T.H. & JANSSEN, C.R. (2001) Comparative sensitivity of embryo-larval toxicity assays with African Catfish (*Clarias gariepinus*) and Zebra Fish (*Danio rerio*).
- NOVELLI, A. (2005) *Estudo limnológico e ecotoxicológico da água e sedimento do rio Monjolinho – São Carlos (SP), com ênfase nas substâncias de referência cádmio e cobre*. Dissertação de mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- NOWAK, B. & SUNDERAN, R.I.M. (1991) Toxicity and bioaccumulation of endosulfan to mosquitofish, *Gambusia affinis* (Baird & Girard). *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 24: 2327-2329.
- NOWARK, B. (1992) Histological changes in gills induced by residues of endosulfan. *Aquatic Toxicology*. 23: 65-84.
- NUSH, E.A. (1980) Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. *Archives Fur. Hydrobiology*. 14: 14-36.
- OKI, J. & PEREIRA, E.M. (1999) *Poluição ambiental causada por descarte de organoclorados: o impacto do uso de organoclorados como pesticidas*. <http://junoki.vila.bol.com.br/organoclorados/organoclorados.html>.

- OWENS, K.D. & BAER, K.N. (2000) Modifications of the tropical Japanese medaka (*Oryzias latipes*) embryo larval assay for assessing developmental toxicity of Pentachlorophenol and p,p'-Dichlorodophenyltrichloroethane. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 47: 87–95.
- PAWERT, M., MÜLLER, E. & TRIEBSKORN, R. (1998) Ultrastructural changes in fish gills as biomarker to assess small stream pollution. *Tissue and Cell*. 30(6): 617-626.
- PEDROZO, M.F.M. (2001) *Ecotoxicologia do cobre e seus compostos*. Cadernos de referência ambiental. Salvador, BA.
- PELAÉZ-RODRIGUES, M. (2001) *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*. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- PELATTI, I. (2004) *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 Espreado*. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- PELGROM, S.M.G.J., LAMERS, L.P.M., HAAIJMAN, A., BALM, P.H.M., LOCK, R.A.C. & WENDELAAR BONGA, S.E. (1994) Interactions between copper and cadmium during single and combined exposure in juvenile tilapia *Oreochromis mossambicus*: Influence of feeding condition on whole body metal accumulation and the effect of the metals on tissue water and ion content. IN: MULLER, R. & LLOYD, R. (eds.). *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. Fishing news Books, Oxford.
- PERES, A.C. (2002) *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*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- PERNA-MARTINS, S.A. (1997) *Efeitos das concentrações de íons Na⁺, Cl⁻ e Ca⁺² sobre a morfologia e ultra – estrutura das brânquias de cascudo, Hypostomus plecostomus (Teleostei, Loricariidae)*. Tese de doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- PERRY, S.F. & LAURENT, P. (1993) Environmental effects on fish gill structure and function. IN: RAKIN, J.C. & JENSEN, F.B. (eds.). *Fish Ecophysiology*. Chapman and Hall, London.
- PICKERING, Q.H. & HENDERSON, P. (1966) The acute toxicity of some heavy metals to different species of warm water fishes. *Air and Water Pollution International*. 10: 453–463.
- PIMENTEL, D., LEVITAN, L. (1991) Pesticides: amount applied and amounts reaching pests. IN: PIMENTEL, D. (ed.). *Handbook of pest management in agriculture*. 2ed. CRC Press, Boca Raton.
- PLAYLE, R.C. & WOOD, C.M. (1991) Mechanisms of aluminum extraction and accumulation at the gills of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in acidic soft water. *Journal of Fish Biology*. 38: 791–805.
- POLEKSIC, V. & MITROVIC-TUTUNDIZIC, V. (1994) Fish gills as monitor of sublethal and chronic effects of pollution. IN: MULLER, R. & LLOYD, R. (eds.). *Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish*. Fishing News Books.

- POOLE, G.C. (2002) Fluvial landscape ecology: addressing uniqueness within the river discontinuum. *Freshwater Biology*. 47: 641-660.
- PRATER, B.L. & ANDERSON, M.A. (1997) A 96-hour bioassay of Otter Creek. *J. Water Pollution Control Federation*. 49: 2090-2106.
- RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R. (1985) *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and application*. Hemisphere Publishing Corporation, London.
- RAO, D.M.R. & MURTY, A.S. (1982) Toxicity and metabolism of the endosulfan in three freshwater catfishes. *Environmental Pollution (series A)*. 27: 223-231.
- RAO et al. (1988) Effect of endosulfan on cardiac activity of *Mytilopsis sallei*. *Biol. Bull. India*. 10: 1-4.
- RASHATWAR, S.S. & ILYAS, R. (1984) Effect of phosphomidon in a freshwater teleost fish, *Nemachelius demisonii* (Day) Histopathological and biochemical studies. *Journal of Environmental Biology*. 5(1): 1-8.
- REBOUÇAS, A.C. (1999) Água Doce no Mundo e no Brasil. IN: REBOUÇAS, A.C., BRAGA, B. & TUNDISI, J.G. (eds.). *Águas Doces no Brasil: Capital Ecológico, Uso e Conservação*. Editora Escrituras, São Paulo, SP.
- RINGWOOD, A.H. & KEPPLER, C.J. (2002) Comparative in situ and laboratory sediment bioassays with juvenile *Mercenaria mercenaria*. *Environmental Toxicology*. 21(8): 1651-1657.
- RISSATO, S.R. et al. (2004) Determinação de pesticidas organoclorados em água de manancial, água potável e solo na região de Bauru (SP). *Química Nova*. 27(5): 739-743.
- ROBERTS, R.J. (1989) *Fish pathology*. Bailliere Tindall, London.
- ROCHA, O., PIRES, J.S.R. & SANTOS, J.E. (2000) Abacia hidrográfica como unidade de estudo. IN: ESPÍNDOLA, E.L.G., SILVA, J.S.V., MARINELLI, C.E. & ABDON, M.M. (eds.) *A Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho*. Editora RIMA. São Carlos, SP.
- ROEX, E.W.M., VRIES, E. & VAN GESTEL, C.A.M. (2002) Sensitivity of the zebrafish (*Danio rerio*) early life stage test for compounds with different models of action. *Environmental Pollution*. 120: 355-362.
- SÃO PAULO (Estado). 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.
- SALAMI, L.N.B.P. (1996) *Estudo das influencias climáticas e antropogênicas nas características físico-químicas no rio Monjolinho*. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- SALOMONS, W.J. et al. (1987) Sediments as a source for contaminants? *Hydrobiology*. 149: 13-30.
- SANTOS, M.J. (1993) *Estudo limnológico dos córregos Água fria e Água quente*. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

- SÉ, J.A.S. (1992) *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*. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- SEADE. São Paulo em dados, 1998.
- SILVA, D.M.L. (2000) *Avaliação dos compostos organoclorados na bacia do rio Piracicaba*. Dissertação de Mestrado. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- SILVA, C.S. & PEDROSO, M.F.M. (2001) *Ecotoxicologia do cromo e seus compostos*. Série de Cadernos de Referência Ambiental. Editora CRA. Salvador.
- SILVA, M.R.C. (2002) *Estudos de sedimentos da bacia hidrográfica do rio Moji-Guaçu com ênfase na determinação de metais*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- SILVA, A.C., BATTISTELLE, R.A.G. & CABRAL, N.R.A.J. (2000) Clima. IN: ESPÍNDOLA, E.L.G., SILVA, J.S.V., MARINELLI, C.E. & ABDON, M.M. (eds.). *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*. Editora Rima, São Carlos, SP.
- SILVA, M.R. & TONIAL, I.B. (2004a) Verificação dos teores residuais de agroquímicos organoclorados em águas no Rio Chopim e seus afluentes; Rio Caldeiras, Rio Bandeira e Rio Lontras no município de Palmas – PR. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*. 9(4): 45-55.
- SILVA, M.R. & TONIAL, I.B. (2004b) Verificação dos teores residuais de agroquímicos organoclorados em sedimentos de superfície no Rio Chopim e seus afluentes; Rio Caldeiras, Rio Bandeira e Rio Lontras no município de Palmas – PR. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*. 9: (4): 57-66.
- SILVÉRIO, P.F. (1999) *Partição, biodisponibilidade e toxicidade de metais pesados a organismos bentônicos em sedimentos*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- SINGH, B.B. & NARAIN, A.S. (1982) Acute toxicity of Thiodan to catfish (*Heteropneustes fossilis*). *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology*. 28: 122-127.
- SOARES, H.M.V.M. et al. (1999) Sediments as monitors of heavy metal contamination in the Ave River Basin (Portugal): Multivariate analysis of data. *Environmental Pollution*. 105: 311-323.
- SORENSEN, E.M.B. (1991) *Metal poisoning in fish*. Boca Raton.
- SPADOTTO, C.A., GOMES, M.A.F. & RODRIGUES, G.S. (1998) Uso de agrotóxicos nas diferentes regiões brasileiras: subsídio para a geomedicina. *Ecotoxicologia e meio Ambiente*. 8: 11-126.
- SPRAGUE, J.B. (1985) Factors that modify toxicity. IN: RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R. (Eds.). *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and application*. Hemisphere Publishing Corporation, London.
- STRICKLAND, J.D.H. & PARSONS, T.R. (1960) A manual of sea water analysis. *Bulletin of Fish Research Bl. Canada*. 125: 1-185.

- SUEDEL, B.C., RODGERS Jr., J.H. & DEEVER, E. (1997) Experimental factors that may affect toxicity of cadmium to fresh water organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 33: 188-193.
- SUNDERAM, R.I.M., CHENG, D.M.H. & THOMPSON, G.B. (1992) Toxicity of endosulfan to native and introduced fish in Australia. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 11: 1469-1476.
- SWARUP, P.A., RAO, D.M. & MURTY, A.S. (1981) Toxicity of endosulfan to the freshwater fish *Cirrhinus mrigala*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 27: 850-855.
- TAHASHIMA, F. & HIBIYA, T. (1995) *An Atlas of Fish Histology: Normal and pathological features*. Kodansha Ltd., Tóquio.
- TEIXEIRA, C., TUNDISI, J.G. & KUTNER, M.B. (1965) Plankton studies in mangrove environmental – the standing stock and some ecological factors. *Boletim do Instituto de Oceanografia da USP*. 24: 23-41.
- THIBAUT, R.E. & SCHULTZ, R.Y. (1978) Reproductive adaptations among viviparous fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Evolution*. 32(2): 320-333.
- THOMAS, R.L.A. (1987) Protocol for selection of process-oriented remedial options to control in situ sediment contaminants. Ecological effects of *in situ* sediment contaminants. *Hydrobiology*. 49: 247-258.
- TONISSI, F.B. (1999) *Avaliação ecotoxicológica do reservatório de Salto Grande, Americana (SP), como subsídio para a análise da qualidade ambiental do sistema*. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- TRIEBSKORN, R. et al. (2002) Biomarkers as diagnostic tools for evaluating effects of unknown past water quality conditions on streams organisms. *Ecotoxicology*. 11: 451-465.
- TRINDADE, M. (1980). *Nutrientes em sedimentos da represa do Lobo (Brotas - Itirapina)*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- TUCKER, K.A. & BURTON Jr., G.A. (1999) Assessment of nonpoint-source runoff in a stream using in situ and laboratory approaches. *Environmental Toxicology*. 18(12): 2797-2803.
- TUNDISI, J.G., MATSUMURA-TUNDISI, T. & ROCHA, O. (1999) Theoretical basis for reservoir management. IN: TUNDISI, J.G. & STRASKRABA, M. (eds.). *Theoretical Reservoir Ecology and its Applications*. Backhuys Publishers.
- TUNDIZI, J.G. (2005) *Enfrentando a Escassez de Água*. Editora Rima, SP.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (1976). *Quality Criteria for water*. Washington, DC.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (1995). *Quality Criteria for water*. Washington, DC.
- VIANA, S.M. (2005) *Riqueza e distribuição de macrófitas aquáticas no rio Monjolinho e tributários (São Carlos, SP) e análise de sua relação com variáveis físicas e químicas*. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

- VITTOZZI, L. & DE ANGELIS, G. A. (1991) critical review of comparative acute toxicity data on freshwater fish. *Aquatic Toxicology* 19(2): 167-204.
- WAN, T.M., KUO, J., BUDAY, C. SCHROEDER, G., AGGELN, G.V. & PASTERNAK, J. (2005) Toxicity of α -, β -, ($\alpha + \beta$)-endosulfan and their formulated and degradation products to *Daphnia magna*, *Hyalela azteca*, *Onchorhynchus mykiss*, *Onchorhynchus kisutch*, and biological implications in streams. *Environmental Toxicology Chemistry*. 24(5): 1146-1154.
- WESTERFIELD, M. (1995) *The zebrafish book: a guide for the laboratory use of zebrafish (Brachydanio rerio)*. University of Oregon Press.
- ZAGATTO, P. A. (1999) "Mini-curso: Ecotoxicologia Aquática". VII Congresso Brasileiro de Limnologia. Florianópolis.
- ZIOLLI, R.L., BARRETO, A.S. & JARDIM, W.F. (1995) 18°. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química e 7°. Encontro Brasileiro de Fotoquímica e Fotobiologia. Caxambu, MG.