

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

**CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL DA BACIA DO ALTO JACARÉ-GUAÇU  
(EXPERIMENTOS LABORATORIAIS E *IN SITU*): ELABORAÇÃO DE  
SEDIMENTOS SINTÉTICOS PARA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO CÁDMIO**

**BEATRIZ KAWAMURA RODRIGUES**

**SÃO CARLOS**

**2011**

**BEATRIZ KAWAMURA RODRIGUES**

**CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL DA BACIA DO ALTO JACARÉ-GUAÇU  
(EXPERIMENTOS LABORATORIAIS E *IN SITU*): ELABORAÇÃO DE  
SEDIMENTOS SINTÉTICOS PARA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO CÁDMIO**

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

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Nelsy Fenerich Verani**

**São Carlos**

**2011**

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

R696ca

Rodrigues, Beatriz Kawamura.

Caracterização ambiental da bacia do Alto Jacaré-Guaçu (experimentos laboratoriais e *in situ*) : elaboração de sedimentos sintéticos para avaliação da toxicidade do cádmio/ Beatriz Kawamura Rodrigues. -- São Carlos : UFSCar, 2011.  
196p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2011.

1. Limnologia. 2. Ecotoxicologia. 3. Toxicidade - testes. 4. Cadmio. 5. Danio rerio. I. Título.

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

**Beatriz Kawamura Rodrigues**

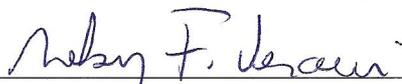
**CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL DA BACIA DO ALTO JACARÉ-GUAÇU  
(EXPERIMENTOS LABORATORIAIS E *IN SITU*): ELABORAÇÃO DE  
SEDIMENTOS SINTÉTICOS PARA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO  
CÁDMIO**

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

**Aprovada** em 28 de março de 2011

**BANCA EXAMINADORA**

Presidente



Profa. Dra. Nelsy Fenerich Verani  
(Orientadora)

1º Examinador



Profa. Dra. Odete Rocha  
PPGERN/UFSCar

2º Examinador



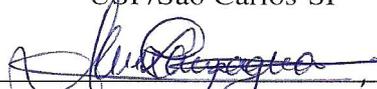
Profa. Dra. Maria da Graça Gama Melão  
PPGERN/UFSCar

3º Examinador



Profa. Dra. Clarice Maria Rispoli Botta  
USP/São Carlos-SP

4º Examinador



Profa. Dra. Aline Fernanda Campagna  
CNPq/APLYSIA/Vitórias-ES

*“Ando devagar porque já tive pressa  
e levo esse sorriso porque já chorei demais  
Hoje me sinto mais forte, mais feliz quem sabe  
Só levo a certeza de que muito pouco eu sei, ou nada sei...”*

*Almir Sater e Renato Teixeira*

*À Deus pela esperança em todos os momentos.  
Aos meus pais, Marcos Jose e Célia, por todo amor.*

## AGRADECIMENTOS

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Nelsy Fenerich Verani, pela orientação, ensinamentos, confiança e incentivo em mais uma etapa da minha formação acadêmica;

Ao Prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola pelo apoio à realização deste trabalho;

Ao CNPq pela concessão da bolsa e auxílio à pesquisa;

Ao Prof. Dr. Luís Reynaldo Ferracciú Alleoni e à Msc. Roberta Corrêa Nogueirol, da ESALQ/USP, pela realização da análise de extração seqüencial;

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Odete Rocha, ao Prof. Dr. Irineu Bianchini Junior e à Dr<sup>ª</sup>. Clarice Maria Rispoli Botta pela contribuição ao trabalho;

Aos técnicos Marcelo Menezes Nogueira e Amândio Menezes Nogueira, do NEEA/CRHEA/EESC/USP, pelo auxílio nas coletas e análises, ensinamentos e pela amizade;

Aos técnicos Amábile e Claudinei, do Laboratório de Dinâmica de Populações de Peixes, do DHB, pelo auxílio com a histologia;

Ao Msc. Jorge Luiz Rodrigues Filho, pelo auxílio nas análises estatísticas multivariadas;

Aos amigos do Laboratório de Dinâmica de Populações de Peixes, Alexandre, Dani, Elisa, Jorge, Jussara, Lia, Meme, Monica e Tati, pelos momentos de alegria e descontração;

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais;

Às amigas Andréa Novelli e Maria Edna Tenório Nunes, pelo auxílio no trabalho e sincera amizade;

Às amigas Carla Polaz, Dani Chiarelli e Tati Koga pelo carinho, incentivo, ensinamentos, conversas, risadas e ouvidos pacientes;

À 'Equipe' Aline Fernanda Campagna, pela confiança, apoio incansável e convívio agradável durante o trabalho, e pela sincera amizade, respeito e carinho! Muito obrigada!

À todos que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional e que, de alguma maneira, colaboraram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	xi
APRESENTAÇÃO DA TESE.....	xiv

### **CAPÍTULO 1: PROBLEMÁTICA DA POLUIÇÃO DOS SISTEMAS LÓTICOS E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO ..... 1**

1. Introdução.....	1
2. Objetivos Gerais.....	4
2.1. Objetivos específicos.....	4
3. Caracterização da Área de Estudo.....	4
4. Períodos de Amostragem e Estações de Coleta.....	10

### **CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO LIMNOLÓGICA DA BACIA DO ALTO JACARÉ-GUAÇU ..... 14**

1. Introdução.....	14
2. Objetivo.....	15
3. Material e Métodos.....	15
3.1. Vazão.....	15
3.2. Análises física, química e biológica da água.....	16
3.2.1. Metais.....	17
3.3. Análises física e química do sedimento.....	17
3.3.1. Metais biodisponíveis.....	18
3.4. Análise Estatística.....	18
4. Resultados.....	18
4.1. Análises física, química e biológica da água.....	18
4.1.1. Vazão.....	18
4.1.2. pH e Condutividade.....	19
4.1.3. Sólidos Totais Dissolvidos e Potencial de Óxido-redução.....	20
4.1.4. Temperatura e Oxigênio Dissolvido.....	22

4.1.5. Material em Suspensão .....	23
4.1.6. Clorofila a .....	25
4.1.7. Compostos de Nitrogênio .....	25
4.1.8. Compostos de Fósforo .....	28
4.1.9. Silicato Reativo .....	30
4.1.10. Coliformes fecais .....	30
4.1.11. Sulfetos.....	31
4.1.12. Metais .....	32
4.2. Análises física e química do sedimento .....	36
4.2.1. Granulometria.....	36
4.2.2. Matéria Orgânica .....	38
4.2.3. Fósforo Total .....	39
4.2.4. Nitrogênio Orgânico Total.....	40
4.2.5. Metais Biodisponíveis.....	40
4.3. Análise Estatística.....	44
5. Discussão .....	47
5.1. Variáveis físicas, químicas e biológicas da água.....	47
5.2. Variáveis físicas e químicas do sedimento .....	52
6. Conclusões .....	57

### **CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA ÁGUA DA BACIA DO ALTO JACARÉ-GUAÇU .....**

1. Introdução .....	58
2. Objetivo .....	63
3. Material e Métodos.....	63
3.1. Manutenção dos organismos-teste .....	63
3.2. Testes de sensibilidade .....	63
3.3. Homogeneidade dos organismos-teste .....	64
3.4. Testes de toxicidade crônico-parciais com água .....	64
3.5. Testes <i>in situ</i> .....	65
3.6. Estudos histológicos .....	67

4. Resultados .....	68
4.1. Homogeneidade dos organismos-teste .....	68
4.2. Testes de sensibilidade .....	68
4.3. Testes de toxicidade crônica parcial com água em laboratório .....	69
4.3.1. Sobrevivência e Crescimento .....	69
4.3.2. Análise histológica de brânquias .....	71
4.4. Testes <i>in situ</i> .....	80
4.4.1. Sobrevivência e Crescimento .....	82
4.4.2. Análise histológica de brânquias .....	83
5. Discussão .....	86
5.1. Testes de toxicidade crônica parcial com água em laboratório .....	86
5.2. Testes <i>in situ</i> .....	92
6. Conclusões .....	95

## **CAPÍTULO 4: UTILIZAÇÃO DE SEDIMENTOS SINTÉTICOS NA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO CÁDMIO .....96**

1. Introdução .....	96
2. Objetivo Geral .....	103
2.1. Objetivos específicos .....	103
3. Material e Métodos.....	104
3.1. Formulação dos sedimentos artificiais .....	104
3.2. Manutenção dos organismos-teste .....	105
3.2.1. <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .....	105
3.2.2. <i>Chironomus xanthus</i> .....	106
3.2.3. <i>Danio rerio</i> .....	107
3.3. Testes de toxicidade aguda .....	108
3.4. Testes de toxicidade crônica .....	109
3.4.1. <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .....	109
3.4.2. <i>Chironomus xanthus</i> .....	110
3.4.3. <i>Danio rerio</i> .....	111
3.4.4. Análises físicas e químicas.....	113

3.4.5. Extração seqüencial .....	113
4. Resultados .....	115
4.1. Sedimentos artificiais sem fortificação .....	115
4.1.1. Água .....	115
4.1.2. Sedimento .....	118
4.1.3. Cádmio na água e sedimento .....	121
4.2. Testes de toxicidade com sedimentos sintéticos .....	121
4.2.1. Sensibilidade dos organismos .....	121
4.2.2. Homogeneidade dos lotes de <i>D. rerio</i> .....	121
4.2.3. Testes de toxicidade aguda .....	122
4.2.4. Testes de toxicidade crônica .....	126
4.2.4.1. Sedimentos sem fortificação .....	126
4.2.4.2. Sedimentos fortificados com Cádmio .....	131
4.4. Extração seqüencial .....	138
5. Discussão .....	139
5.1. Características físicas e químicas dos sedimentos sintéticos .....	139
5.2. Testes toxicidade aguda .....	142
5.3. Testes de toxicidade crônica .....	146
6. Conclusões .....	159
<b>CAPÍTULO 5: CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES .....</b>	<b>161</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>163</b>
<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>180</b>
<b>APÊNDICE B .....</b>	<b>183</b>
<b>APÊNDICE C .....</b>	<b>191</b>
<b>ANEXO 1 .....</b>	<b>193</b>
<b>ANEXO 2 .....</b>	<b>195</b>

## RESUMO

RODRIGUES, B.K. **Caracterização ambiental da bacia do Alto Jacaré-Guaçu (Experimentos laboratoriais e *in situ*): Elaboração de sedimentos sintéticos para avaliação da toxicidade do cádmio.** 2011. 196 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

A bacia do Alto Jacaré-Guaçu foi avaliada quanto aos aspectos limnológicos e ecotoxicológicos em quatro campanhas de amostragem de água e sedimento em 14 pontos distribuídos na área. Testes de toxicidade com água, tanto em laboratório como *in situ*, apresentaram toxicidade crônica com efeitos na sobrevivência, crescimento e morfologia de brânquias de juvenis de ambas as espécies de peixes avaliadas (*Danio rerio* e *Poecilia reticulata*). As menores porcentagens de sobrevivência nos testes em laboratório foram observadas no ponto L e, nos testes *in situ*, em J1. A análise das brânquias mostrou alterações de primeiro estágio nos organismos expostos em todos os pontos avaliados, e em diversos pontos foram verificadas alterações de segundo estágio (aneurisma e congestão vascular). As elevadas concentrações de nutrientes e metais na água e sedimentos da Bacia do Alto Jacaré-Guaçu revelam um sistema impactado pelas atividades humanas que se desenvolvem em seu entorno. As análises de metais quantificaram Cd, Cr, Cu, Mn e Fe acima da CONAMA 357/05 na água e Cd acima dos valores estabelecidos pela legislação nacional (CONAMA 344/04) e internacional (CCME, 2003) nos sedimentos. Foram desenvolvidos sedimentos sintéticos simples compostos de areia, argila e matéria orgânica (obtida a partir da macrófita aquática *Scirpus cubensis*, nas concentrações de 0; 0,25; 0,5 e 1%) para avaliar a toxicidade do Cd. Os sedimentos sintéticos se apresentaram viáveis para o crescimento e sobrevivência de *Ceriodaphnia silvestrii*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio*, sendo adequados para uso em experimentos de fortificação. A avaliação da toxicidade aguda dos sedimentos fortificados com Cd, indicaram CE<sub>50</sub>;48h média para *C. silvestrii* de 3,09mg.Kg<sup>-1</sup> nos sedimentos sem MO e 2,98mg.Kg<sup>-1</sup> nos sedimentos com 1% de MO. A CL<sub>50</sub>;96h média para *C. xanthus* foi de 18,67mg.Kg<sup>-1</sup> nos sedimentos sem MO e, cerca de 4 vezes menor nos sedimentos com 1% de MO, 4,93mg.Kg<sup>-1</sup>. Para *D. rerio* também foi notada tendência semelhante, CL<sub>50</sub>;48h maior nos sedimentos sem MO, 114,88mg.Kg<sup>-1</sup> e menor nos sedimentos com 1% de MO, 75,31mg.Kg<sup>-1</sup>. Os sedimentos também foram fortificados com 0,6mg.Kg<sup>-1</sup> de Cd, concentração considerada segura para a proteção da vida aquática segundo legislações nacionais e internacionais, em experimentos posteriores. *C. silvestrii* teve a sobrevivência comprometida nos sedimentos fortificados com Cd, de modo que não foi possível avaliar os efeitos na reprodução. *C. xanthus* também apresentou efeitos na sobrevivência, biomassa, morfologia de mento e concentração de Cd nos tecidos. *D. rerio* teve a sobrevivência e crescimento comprometidos nos sedimentos com maior porcentagem de matéria orgânica. Além disso, os organismos apresentaram a morfologia de brânquias comprometida e concentração de Cd em

seus tecidos elevada em função da exposição aos sedimentos fortificados com o metal. Com base nos resultados foi possível concluir que *C. silvestrii* foi a espécie mais sensível aos sedimentos fortificados com Cd, seguido de *C. xanthus* e, a menos sensível, *D. rerio*. Tais efeitos observados nos organismos em concentrações consideradas seguras para a biota sugerem a avaliação mais cuidadosa dos valores para espécies e climas tropicais.

Palavras-chave: *Ceriodaphnia silvestrii*, *Chironomus xanthus*, *Danio rerio*, *Poecilia reticulata*, Testes de toxicidade *in situ*, Toxicidade do cádmio.

## ABSTRACT

RODRIGUES, B.K. **Environmental characterization of the Alto Jacaré-Guaçu River Basin (Laboratory and *In situ* experiments): Formulation of synthetic sediments for assessing the toxicity of cadmium.** 2011. 196 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

The Alto Jacaré-Guaçu Basin was evaluated regarding limnological and ecotoxicological aspects in four water and sediment sampling campaigns at 14 points distributed in the area. Toxicity tests with water, in the laboratory and *in situ*, showed chronic toxicity, with effects on the survival, growth and gill morphology of juveniles of both fish species examined (*Danio rerio* and *Poecilia reticulata*). The lowest survival percentages in the laboratory assays were observed for point L, and in the field tests for point J1. The analysis of the gills revealed first-stage alterations in the specimens of both species exposed at all the sample points, and there were second-stage alterations (aneurism and vascular congestion) at various points. The high concentrations of nutrients and metals in the basin's water and sediments reveal a system impacted by human activities in the surrounding region. The analyses of metals quantified Cd, Cr, Cu, Mn and Fe levels in the water above those permitted by the Brazilian National Environmental Council (CONAMA 357/05), and of Cd in the sediments above the threshold levels permitted both by national (CONAMA 344/04) and international regulations (CCME, 2003). Simple synthetic sediments were prepared composed of sand, clay and organic matter (obtained from the aquatic macrophyte *Scirpus cubensis*, at concentrations of 0, 0.25, 0.5 and 1%) to assess the toxicity of Cd. The synthetic sediments were viable for the growth and survival of *Ceriodaphnia silvestrii*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio*, and were suitable for use in spiked experiments. The evaluation of the acute toxicity of the sediments fortified with Cd indicated mean 48-h;EC<sub>50</sub> for *C. silvestrii* of 3.09mg.Kg<sup>-1</sup> in the sediments with 0% OM and 2.98mg.Kg<sup>-1</sup> in the sediments with 1% OM. The mean 96-h;LC<sub>50</sub> for *C. xanthus* was 18.67 mg.Kg<sup>-1</sup> in the sediments with 0% OM and nearly four times lower in those with 1% OM (4.93 mg.Kg<sup>-1</sup>). A similar pattern was noted for *D. rerio*, a higher 48-h;LC<sub>50</sub> in the sediments with 0% OM (114.88 mg.Kg<sup>-1</sup>) than in the sediments with 1% OM (75.31 mg.Kg<sup>-1</sup>). In subsequent experiments, the sediments were also spiked with 0.6mg.Kg<sup>-1</sup> of Cd, a concentration considered safe for protection of aquatic life according to the applicable national and international regulations. In these tests, the survival of *C. silvestrii* was impaired in the Cd spiked sediments, so it was not possible to assess the effects on reproduction. There were also effects on the survival, biomass, mentum morphology and Cd concentration in the tissues of *C. xanthus*. For *D. rerio*, the survival and growth were compromised in the sediments with higher percentage of organic matter. Besides this, the organisms showed impaired gill morphology and higher Cd concentration in tissue in function of exposure to sediments spiked with the metal. Based on the results, it can be concluded that *C. silvestrii* was the most sensitive species to the sediments fortified with Cd, followed by *C. xanthus* and *D. rerio*, the least sensitive. These effects on the

organisms at concentrations considered safe for the biota suggest more conservative thresholds of this metal should be established for tropical aquatic habitats.

Keywords: *Ceriodaphnia silvestrii*, *Chironomus xanthus*, *Danio rerio*, *Poecilia reticulata*, *In situ* toxicity tests, Cadmium toxicity.

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1

- Figura 1.1: Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídrico (UGRHs) do estado de São Paulo, detalhando a 13ª UGRH, onde está localizada a área de estudo (fonte: adaptado de [www.sgrh.sp.gov.br](http://www.sgrh.sp.gov.br)). ..... 6
- Figura 1.2: Localização dos pontos de coleta na bacia do Alto Jacaré-Guaçu (fonte: adaptado do SAAE). ..... 11

### Capítulo 2

- Figura 2.1: Variação da vazão ( $m^3 \cdot s^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. .... 19
- Figura 2.2: Variação do pH nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. .... 19
- Figura 2.3: Variação da condutividade elétrica ( $mS \cdot cm^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. .... 20
- Figura 2.4: Variação da concentração de sólidos totais dissolvidos ( $g \cdot L^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em abril e julho de 2007. .... 21
- Figura 2.5: Variação do potencial e óxido-redução (mV) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em abril e julho de 2007. .... 21
- Figura 2.6: Variação da temperatura ( $^{\circ}C$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. .... 22
- Figura 2.7: Variação da concentração de oxigênio dissolvido ( $mg \cdot L^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. .... 23
- Figura 2.8: Variação concentração de material em suspensão total ( $mg \cdot L^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. .... 23
- Figura 2.9: Variação concentração de material em suspensão orgânico ( $mg \cdot L^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. .... 24
- Figura 2.10: Variação concentração de material em suspensão inorgânico ( $mg \cdot L^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. .... 24
- Figura 2.11: Variação concentração de clorofila a ( $\mu g \cdot L^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. .... 25
- Figura 2.12: Variação concentração de nitrogênio orgânico total ( $mg \cdot L^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. .... 26
- Figura 2.13: Variação concentração de nitrito ( $\mu g \cdot L^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. .... 26

Figura 2.14: Variação concentração de nitrato ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.....	27
Figura 2.15: Variação concentração de íon amônio ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	27
Figura 2.16: Variação concentração de fósforo total ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	28
Figura 2.17: Variação concentração de fosfato total dissolvido ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	29
Figura 2.18: Variação concentração de fosfato inorgânico ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	29
Figura 2.19: Variação concentração de silicato reativo ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	30
Figura 2.20: Variação concentração de sulfetos ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.....	32
Figura 2.21: Variação concentração de cádmio ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.....	33
Figura 2.22: Variação concentração de cobre ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.....	33
Figura 2.23: Variação concentração de cromo ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.....	34
Figura 2.24: Variação concentração de ferro ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.....	35
Figura 2.25: Variação concentração de manganês ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	35
Figura 2.26: Variação concentração de zinco ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.....	36
Figura 2.27: Variação espacial da composição granulométrica da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em abril de 2007. ....	37
Figura 2.28: Variação espacial da composição granulométrica da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em julho de 2007.....	37
Figura 2.29: Variação espacial da composição granulométrica da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em outubro de 2007.....	38
Figura 2.30: Variação espacial da composição granulométrica da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em janeiro de 2008. ....	38
Figura 2.31: Porcentagem de matéria orgânica no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	39

Figura 2.32: Variação da concentração de fósforo total ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	39
Figura 2.33: Variação porcentagem de nitrogênio orgânico total (%) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	40
Figura 2.34: Variação da concentração de cádmio ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	41
Figura 2.35: Variação da concentração de cobre ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	41
Figura 2.36: Variação da concentração de cromo ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	42
Figura 2.37: Variação da concentração de ferro ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	43
Figura 2.38: Variação da concentração de manganês ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	43
Figura 2.39: Variação da concentração de zinco ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. ....	44
Figura 2.40: Análise de discriminantes baseada na covariância das variáveis das amostras de água da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu, durante o período de estudo. ....	45
Figura 2.41: Análise de discriminantes baseada na covariância das variáveis das amostras de sedimento da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu, durante o período de estudo. ....	46

### Capítulo 3

Figura 3.1: Esquema das câmaras-teste utilizadas nos testes <i>in situ</i> no rio Jacaré-Guaçu. ....	66
Figura 3.2: Porcentagem de sobrevivência de juvenis de <i>D. rerio</i> expostos nos testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em todas as campanhas de coleta. ....	70
Figura 3.3: Porcentagem de sobrevivência de juvenis de <i>P. reticulata</i> expostos nos testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em todas as campanhas de coleta. ....	71
Figura 3.4: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de <i>D. rerio</i> submetidos aos testes com água em abril de 2007. A. Organismos mantidos no controle mostrando os espaços interlamelares bem definidos (X) e suporte cartilaginoso (C). B. J1. C. J2. D. J4. E. M1. F. I. Observar proliferação de células entre lamelas (X), inclusive a fusão completa de todas as lamelas secundárias (TF), deslocamento de células do epitélio (setas), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida da presença de congestão vascular (CV). Coloração: HE. ....	72
Figura 3.5: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de <i>P. reticulata</i> utilizados em testes com amostras de água em abril de 2007. A. Indivíduo mantido em condições controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas e os espaços	

interlamelares bem definidos (X). B. J1. C. J4. D. F3. E. F4. Notar a proliferação de células entre lamelas (X), inclusive a fusão completa de todas as lamelas secundárias (TF), deslocamento de células do epitélio (setas), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) além da presença de aneurisma (Estrela). Coloração: HE..... 73

Figura 3.6: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *D. rerio* submetidos a testes com água em julho de 2007. A. Controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e o seio venoso central (SVC). B. J4. C. F2. D. F4. E. M3. Atentar à hiperplasia de células entre as lamelas (X), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida de congestão vascular nas lamelas secundárias (CV). Coloração: HE. .... 74

Figura 3.7: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *P. reticulata* expostos as amostras de água coletadas em julho de 2007. A. Organismos mantidos em condições controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e deslocamento de células do epitélio. B. J5. C. M2. D. M3. Verificar a proliferação de células entre lamelas (X), deslocamento de células do epitélio (setas) e dilatação de capilares (D), além de congestão vascular (CV). Coloração: HE. .... 75

Figura 3.8: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *D. rerio* sobreviventes dos testes com amostras de água de outubro de 2007. A. Controle mostrando o filamento branquial (F), lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS) e espaços interlamelares bem definidos (X). B. J2. C. J5. D. Indivíduo de M1 sem alterações morfológicas. E. L. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida de congestão vascular nas lamelas secundárias (CV) e aneurisma (\*). Coloração: HE..... 76

Figura 3.9: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *P. reticulata* submetidos aos testes com amostras de água de outubro de 2007. A. Controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e deslocamento de células do epitélio (seta). B. J5. C. F2. D. F3. E. I. F. J1. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), deslocamento de epitélio (setas) e dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida de aneurisma (\*). Em F, a seta indica a produção de muco. Coloração: HE. .... 77

Figura 3.10: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *D. rerio* expostos nos testes com amostras de água de janeiro de 2008. A. Controle mostrando o filamento branquial (F), lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS) e espaços interlamelares bem definidos (X). B. F4. C. J5. D. L. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), deslocamento do epitélio de epitélio (seta), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida de congestão vascular nas lamelas secundárias (CV) e aneurisma (\*). Coloração: HE..... 78

Figura 3.11: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *P. reticulata* expostos às amostras de água em janeiro de 2008. A. Controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e seio venoso central (SVC). B. J2. C. J5. D. M2. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), dilatação de capilares, deslocamento de epitélio (setas) e dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D). Coloração: HE. .... 79

Figura 3.12: Variação do pH durante os testes *in situ* realizados nos pontos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu. .... 81

Figura 3.13: Variação da condutividade elétrica ( $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) durante os testes *in situ* realizados nos pontos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu..... 81

Figura 3.14: Variação da concentração de oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) durante os testes *in situ* realizados nos pontos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu..... 81

Figura 3.15: Porcentagem de sobrevivência de organismos juvenis de *D. rerio* (Dr) e *P. reticulata* (Pr) submetidos a testes de toxicidade aguda *in situ* em pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em julho de 2007 e janeiro de 2008..... 82

Figura 3.16: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *D. rerio* submetidos aos testes *in situ* em julho de 2007. A. Controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS), espaços interlamelares bem definidos (X) e seio venoso central (SVC). B. J1. C. J3. D. J5. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), deslocamento de epitélio (seta) e dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida congestão vascular (CV). Coloração: HE..... 83

Figura 3.17: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *P. reticulata* submetidos a testes *in situ* em julho de 2007. A. Organismos mantidos em condições controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e deslocamento de células do epitélio. B. J1. C. J3. D. J5. Observar a proliferação de células entre lamelas (X), deslocamento de células do epitélio (seta) e dilatação de capilares (D) seguida de congestão vascular (CV) e a fusão completa de lamelas secundárias (TF). Coloração: HE..... 84

Figura 3.18: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *D. rerio* expostos em testes *in situ* em janeiro de 2008. A. Controle mostrando o filamento branquial (F), lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS) e espaços interlamelares bem definidos (X). B. J1. C. J3. D. J5. Notar a dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida de congestão vascular nas lamelas secundárias (CV) e aneurisma (\*). Coloração: HE..... 85

Figura 3.19: Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *P. reticulata* expostos em teste *in situ* em janeiro de 2008. A. Controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e seio venoso central (SVC). B. J1. C. J3. D. J5. Verificar proliferação de células entre lamelas (X), deslocamento de epitélio (seta) e dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D). Coloração: HE..... 85

## Capítulo 4

Figura 4.1: Concentração de nitrogênio orgânico total, íon amônio, nitrato e nitrito nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade..... 116

Figura 4.2: Concentração de fosfato inorgânico, fosfato total dissolvido e fósforo total nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade..... 117

Figura 4.3: Concentração de silicato reativo nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade..... 117

Figura 4.4: Concentração de carbono orgânico total e dissolvido nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade sem fortificação..... 118

Figura 4.5: Concentração de nitrogênio total nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade sem fortificação..... 119

Figura 4.6: Concentração de fósforo total nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade sem fortificação..... 120

Figura 4.7: Porcentagem de matéria orgânica nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade sem fortificação. ....	120
Figura 4.8: Concentração de Cd na água e sedimento ao início e final dos testes de toxicidade aguda com <i>C. silvestrii</i> em Sed 0% (A e B) e Sed 1% (C e D) fortificados com Cd. ....	122
Figura 4.9: Concentração de Cd na água e sedimento ao início e final dos testes de toxicidade aguda com <i>C.xanthus</i> em Sed 0% (A e B) e Sed 1% (C e D) fortificados com Cd. ....	124
Figura 4.10: Concentração de Cd na água e sedimento ao início e final dos testes de toxicidade aguda com <i>D. rerio</i> em Sed 0% (A e B) e Sed 1% (C e D) fortificados com Cd. ....	125
Figura 4.11: Exemplar de <i>C. xanthus</i> exposto ao sedimento artificial (Sed 1%) sem fortificação, mostrando desenvolvimento normal da cápsula cefálica e do mento. ....	128
Figura 4.12: Brânquias de juvenis de <i>D. rerio</i> expostos aos sedimentos sintéticos sem contaminação. Notar os espaços interlamelares bem definidos (X), filamentos (F) e lamelas secundárias (LS) bem desenvolvidas. A. Organismos mantidos no controle. B. Sed 0%. C. Sed 0,25%. D. Sed 0,5%. E. Sed 1%. ....	130
Figura 4.13: Concentração de Cd na água (A) e sedimento (B) ao início e final dos testes de toxicidade crônica com <i>C. silvestrii</i> nos diferentes tipos de sedimento sintético fortificados com 0,6mg.Kg <sup>-1</sup> de Cd. ....	131
Figura 4.14: Concentração de Cd na água (A) e sedimento (B) ao início e final dos testes de toxicidade crônica com <i>C. xanthus</i> nos diferentes tipos de sedimento sintético fortificados com 0,6mg.Kg <sup>-1</sup> de Cd. ....	132
Figura 4.15: Exemplos de <i>C. xanthus</i> expostos em sedimentos sintéticos fortificados com Cd. A. Sed 0%. Notar o tamanho visivelmente menor da cápsula cefálica e ausência de dentes. B. Sed 1%. Cápsula cefálica ligeiramente maior que do Sed 0%, porém ainda menor que dos organismos mantidos nos sedimentos sem fortificação. ....	134
Figura 4.16: Concentração de Cd na água (A) e sedimento (B) ao início e final dos testes de toxicidade crônica com <i>D. rerio</i> nos diferentes tipos de sedimento sintético fortificados com 0,6mg.Kg <sup>-1</sup> de Cd. ....	136
Figura 4.17: Cortes longitudinais ao filamento braquial de juvenis de <i>D. rerio</i> expostos nos testes com sedimentos sintéticos fortificados com Cd. A e B. Sed 0%. C. Sed 0,25%. D. Sed 0,5%. E. Sed 1%. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D). Coloração: HE. ....	137
Figura 4.18: Porcentagens de Cd nas frações de cada um dos sedimentos. ....	139

## Apêndice A

Figura 1: Carta controle da sensibilidade dos juvenis de <i>D. rerio</i> ao dicromato de potássio. ....	181
Figura 2: Carta controle da sensibilidade dos juvenis de <i>P. reticulata</i> ao dicromato de potássio. ....	181
Figura 3: Carta controle da sensibilidade de <i>C. silvestrii</i> ao cloreto de sódio ....	182
Figura 4: Carta controle da sensibilidade de <i>C. xanthus</i> ao cloreto de potássio. ....	182

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1

Tabela 1.1: Características dos pontos de amostragem na bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu. ....	12
---	----

### Capítulo 2

Tabela 2.1: Variáveis utilizadas na avaliação da qualidade água, método e referências. ....	16
Tabela 2.2: Metodologia de análise das principais variáveis de qualidade de sedimento a serem considerados no presente estudo. ....	17
Tabela 2.3: Números mais prováveis (NMP) de coliformes fecais nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. Células destacadas indicam valores acima do CONAMA 357/05. ....	31

### Capítulo 3

Tabela 3.1: Principais alterações histológicas branquiais e estágios da lesão correspondente (POLEKSIĆ; MITROVIĆ-TUTUNDIŽIĆ, 1994). Fonte: Fracácio (2006). ....	68
Tabela 3.2: Resultados significativos na sobrevivência e crescimento de <i>D. rerio</i> e <i>P. reticulata</i> , juntamente com as alterações histológicas na morfologia de brânquias dos organismos expostos às amostras de água coletadas na bacia do Alto Jacaré-Guaçu em laboratório, nas diferentes épocas do estudo. ....	80
Tabela 3.3: Resultados significativos na sobrevivência e crescimento de <i>D. rerio</i> e <i>P. reticulata</i> , juntamente com as alterações histológicas na morfologia de brânquias dos organismos expostos às amostras de água coletadas na bacia do Alto Jacaré-Guaçu em laboratório, nas diferentes épocas do estudo. ....	86

### Capítulo 4

Tabela 4.1: Valores de CE50;48h para os sedimentos fortificados com cádmio para os sedimentos 0 e 1% para <i>C. silvestrii</i> . Valores expressos em mg.Kg <sup>-1</sup> de Cd no sedimento. ....	123
Tabela 4.2: Valores de CL50;96h para os sedimentos fortificados com cádmio para os sedimentos 0 e 1% para <i>C. xanthus</i> . ....	124
Tabela 4.3: Valores de CL50;96h para os sedimentos fortificados com cádmio para os sedimentos 0 e 1% para <i>D. rerio</i> . ....	126
Tabela 4.4: Porcentagem de sobrevivência média de <i>C. silvestrii</i> e resultados da análise estatística de Fisher, com valores de p. ....	126
Tabela 4.5: Porcentagem de sobrevivência média de <i>C. xanthus</i> e resultados da análise estatística de Fisher, com valores de p. ....	127

Tabela 4.6: Porcentagem de sobrevivência média de <i>D. rerio</i> e resultados da análise estatística de Fisher, com valores de p. ....	129
Tabela 4.7: Sobrevivência média de <i>C. silvestrii</i> expostos aos sedimentos sintéticos sem fortificação e fortificados com 0,6mg.Kg <sup>-1</sup> de Cd. Porcentagem média de sobrevivência (± DP). Células destacadas indicam diferença significativa entre os tratamentos sem fortificação e fortificados com Cd, e o valor de p da análise estatística de Fisher (α=0,05).132	
Tabela 4.8: Sobrevivência média de <i>C. xanthus</i> expostos aos sedimentos sintéticos sem fortificação e fortificados com 0,6mg.Kg <sup>-1</sup> de Cd. Porcentagem média de sobrevivência (± DP). Células destacadas indicam diferença significativa entre os tratamentos sem fortificação e fortificados com Cd, e o valor de p da análise estatística de Fisher (α=0,05).133	
Tabela 4.9: Biomassa seca média final de <i>C. xanthus</i> expostos aos sedimentos formulados sem fortificação e fortificados com 0,6mg.Kg <sup>-1</sup> de cádmio. Valores expressos em g.....	133
Tabela 4.10: Concentração de Cd nos organismos de <i>C. xanthus</i> expostos aos sedimentos sintéticos não fortificados e fortificados com 0,6mg.Kg <sup>-1</sup> de Cd. Valores expressos em µg.g <sup>-1</sup> de peso seco. ....	135
Tabela 4.11: Sobrevivência média de <i>D. rerio</i> expostos aos sedimentos sintéticos sem fortificação e fortificados com 0,6mg.Kg <sup>-1</sup> de Cd. Porcentagem média de sobrevivência (± DP). Células destacadas indicam diferença significativa entre os tratamentos sem fortificação e fortificados com Cd, e o valor de p da análise estatística de Fisher (α=0,05).136	
Tabela 4.12: Concentração de Cd nos organismos de <i>D. rerio</i> expostos aos sedimentos sintéticos não fortificados e fortificados com 0,6mg.Kg <sup>-1</sup> de Cd. Valores expressos em µg.g <sup>-1</sup> de peso seco. ....	138
Tabela 4.14: Distribuição das concentrações de Cd nas frações dos sedimentos. ....	138

## Apêndice B

Tabela 1: Valores médios do comprimento padrão e peso total (± Desvio Padrão) dos lotes de juvenis de <i>D. rerio</i> , juntamente com os coeficientes de correlação de Spearman (rs) e os valores de p. ....	184
Tabela 2: Valores médios do comprimento padrão e peso total (± Desvio Padrão) dos lotes de juvenis de <i>P. reticulata</i> , juntamente com os coeficientes de correlação de Spearman (rs) e os valores de p.. ....	184
Tabela 3: Porcentagem (S) e análise estatística de Fisher (p, α=0,05) da sobrevivência de <i>D. rerio</i> submetidos aos testes de toxicidade crônica parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle (C).....	184
Tabela 4: Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de p (α=0,05) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de <i>D. rerio</i> expostos em testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em Abril de 2007 e Julho de 2007. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle. ....	185
Tabela 5: Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de p (α=0,05) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de <i>D. rerio</i> expostos em testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em	

Outubro de 2007 e Janeiro de 2008. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle ..... 186

Tabela 6: Porcentagem (S) e análise estatística de Fisher ( $p$ ,  $\alpha=0,05$ ) da sobrevivência de *P. reticulata* submetidos aos testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle (C)..... 187

Tabela 7: Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de  $p$  ( $\alpha=0,05$ ) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de *P. reticulata* expostos em testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em Abril de 2007 e Julho de 2007. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle. .... 188

Tabela 8: Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de  $p$  ( $\alpha=0,05$ ) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de *P. reticulata* expostos em testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em Outubro de 2007 e Janeiro de 2008. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle ..... 189

Tabela 9: Porcentagem (S) e análise estatística de Fisher ( $p$ ,  $\alpha=0,05$ ) da sobrevivência de *D. rerio* e *P. reticulata* submetidos aos testes de toxicidade aguda *in situ* em pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em julho de 2007 e janeiro de 2008. .... 190

Tabela 10: Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de  $p$  ( $\alpha=0,05$ ) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de *D. rerio* expostos em testes de toxicidade aguda *in situ* na bacia do Alto Jacaré-Guaçu em julho de 2007 e janeiro de 2008. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle..... 190

Tabela 11: Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de  $p$  ( $\alpha=0,05$ ) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de *P. reticulata* expostos em testes de toxicidade aguda *in situ* na bacia do Alto Jacaré-Guaçu em julho de 2007 e janeiro de 2008. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle..... 190

## Apêndice C

Tabela 1: Valores médios do peso total e comprimento padrão dos lotes de juvenis de *D. rerio*, juntamente com os coeficientes de correlação de Spearman ( $r_s$ ) e os valores de  $p$ . 192

Tabela 2: Comprimento padrão (CP) e peso (P) médios dos juvenis de *D. rerio* ao final dos testes de toxicidade crônica-parcial com sedimentos sintéticos fortificados com Cd (TC1 e TC2) e Valores de  $p$  ( $p$ ) da análise estatística de Mann-Whitney ( $\alpha=0,05$ ). As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle ..... 192

## APRESENTAÇÃO DA TESE

A presente Tese é parte do projeto de pesquisa intitulado “Bacia Hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu – Caracterização Ambiental com Ênfase na Toxicidade de Metais em Peixes: Análises *In Situ* e Laboratorial financiado pelo CNPQ (Processo nº 479135/2006-1) e desenvolvido pela Universidade Federal de São Carlos, no Departamento de Hidrobiologia, sob a coordenação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Nelsy Fenerich Verani.

Esta Tese está dividida em 5 capítulos, onde são utilizadas análises limnológicas e ecotoxicológicas como ferramentas para a avaliação da qualidade ambiental.

No Capítulo 1 temos a introdução à problemática da poluição dos sistemas lóticos e caracterização da área de estudo. No Capítulo 2 estão apresentados os resultados da caracterização limnológica da Bacia do Alto Jacaré-Guaçu. O Capítulo 3 refere-se aos resultados das avaliações ecotoxicológicas da água e *in situ* na bacia de estudo. No Capítulo 4 estão apresentados os resultados da avaliação de sedimentos artificiais fortificados com cádmio e a possibilidade de servirem como subsídios para avaliações ecotoxicológicas. Por final, o Capítulo 5 apresenta as considerações finais e recomendações.

## **CAPÍTULO 1**

### **Problemática da poluição dos sistemas lóticos e caracterização da área de estudo**

#### **1. Introdução**

O termo água refere-se, em geral, ao elemento natural, desvinculado de qualquer uso ou utilização. Por sua vez, o termo recurso hídrico é a consideração da água como bem econômico, passível de utilização com determinado fim. Entretanto, deve-se ressaltar que toda a água da Terra não é, necessariamente, um recurso hídrico, na medida em que seu uso nem sempre tem viabilidade econômica (REBOUÇAS, 2002).

Atualmente, as populações dos grandes centros urbanos, industriais e áreas de desenvolvimento agrícola com uso intensivo de insumos químicos já se defrontam com problemas de escassez qualitativa de recursos hídricos para consumo. Se a escassez quantitativa desse bem constitui fator limitante ao desenvolvimento, a escassez qualitativa engendra problemas muito mais sérios à saúde pública, à economia e ao ambiente em geral (REBOUÇAS, 2002).

O que difere o rio dos demais ecossistemas aquáticos é o seu fluxo unidirecional da nascente à foz. E muitos processos ecológicos são explicados a partir dos fenômenos de transporte (de matéria e energia) e da interação entre as paisagens que compõem a bacia hidrográfica. O rio funciona como um integrador entre as paisagens e os processos ocorridos a jusante de um ponto são, geralmente, resultado dos fenômenos ocorridos a montante (BARBOSA; ESPÍNDOLA, 2003).

Os sistemas lóticos são tetradimensionais, ou seja, possuem componentes laterais, verticais e longitudinais, que se modificam ao longo do tempo (WARD, 1989). Além dessas, foi incorporado um quinto elemento, a dimensão conceitual humana, como variável de controle no sistema de um rio (BOON, 1992). O tempo está inserido em todas as demais dimensões e inclui a relação entre a escala espacial e tempo de transformação do sistema (FRISSEL et al., 1986). Apesar desse

conceito pentadimensional não explicar *per se* os processos ecológicos em rios, ele mostra a necessidade de uma visão holística para a compreensão do funcionamento desses sistemas (BARBOSA; ESPÍNDOLA, 2003).

Praticamente toda atividade humana constitui uma fonte potencial de contaminantes para os ecossistemas naturais (MOZETO; ZAGATTO, 2006). O compartimento aquático é, geralmente, o último receptor destes produtos, uma vez que, na atmosfera estes compostos sofrem reações, principalmente fotoquímicas, e, invariavelmente, atingem o ambiente aquático diretamente ou depositam-se em solos e coberturas vegetais de onde, com as chuvas, são transportados para os corpos d'água (MOZETO; ZAGATTO, 2006).

Os principais fatores que contribuem para a degradação desses corpos d'água são as fontes de poluição pontuais e difusas (LLOYD, 1992). As fontes de poluição pontual são aquelas diretamente introduzidas no ambiente, como os despejos de esgotos domésticos e industriais (LLOYD, 1992; MOZETO; ZAGATTO, 2006). Já as fontes de poluição difusa são difíceis de quantificar e visualizar, tais como a precipitação atmosférica e os escoamentos urbano e agrícola (LLOYD, 1992; MOZETO; ZAGATTO, 2006).

O alto nível de industrialização, em função da necessidade do aumento da produção, juntamente com a alta densidade populacional, distribuídas principalmente em regiões geográficas próximas a baixios de rios aliados aos despejos agrícolas, têm aumentado significativamente os lançamentos de despejos e resíduos nos corpos d'água (ZAGATTO, 2006).

Critérios de qualidade de água foram estabelecidas para os mais diversos usos, entre eles, aqueles destinados ao consumo humano foram os que mereceram maior atenção quanto à qualidade, em função da preocupação humana em preservar sua espécie. Esta preocupação tem causado interpretações errôneas, sendo comum muitos considerarem que a qualidade exigida para consumo humano seja a mesma necessária para a proteção de comunidades aquáticas (BERTOLETTI, 2000).

Entre os contaminantes ambientais estão os metais, que são elementos naturais essenciais à vida na Terra. Alguns são fundamentais em pequenas

quantidades aos organismos vivos, sendo encontrados em concentrações naturais na faixa de parte por milhão (ppm) ou parte por bilhão (ppb), enquanto outros não exercem nenhuma função conhecida no ciclo biológico, cujas concentrações naturais se encontram na faixa de parte por bilhão (ppb) ou parte por trilhão (ppt). Porém, em ambos os casos, a presença de concentrações cada vez mais elevadas passam dos níveis toleráveis ao tóxico (TAVARES; CARVALHO, 1992).

Os metais, comumente encontrados no escoamento urbano, deposição atmosférica e no intemperismo de rochas, são tóxicos para os seres humanos e para fauna, além de serem persistentes no ambiente (CHAPMAN et al., 1998; WALKER et al., 2006). As concentrações de metais nos sistemas aquáticos têm aumentado em função da urbanização e industrialização, atingindo níveis perigosos para os organismos (TESSIER et al., 1993; WALKER et al., 2006).

As principais fontes antropogênicas de metais para o ambiente são fertilizantes, agrotóxicos, água de irrigação contaminada e queima de biomassa na zona rural, combustão de carvão e óleo, emissões veiculares, incineração de resíduos urbanos e industriais e, principalmente, atividades de mineração, fundição e refinamento, tanto em regiões urbanas como rurais (TAVARES; CARVALHO, 1992). Entre os metais potencialmente tóxicos, os mais comuns são o arsênico, cádmio, cobre, mercúrio, chumbo e zinco (WALKER et al., 2006).

Os metais apresentam cargas iônicas, que lhes propiciam a capacidade de se ligarem com os sistemas biológicos de forma complexa, prejudicando a capacidade de funcionamento dos mesmos (SORENSEN, 1991). Dependendo da concentração, do íon metálico e do tempo de exposição dos organismos ao mesmo, os efeitos podem ser agudos, como a letalidade, ou crônicos, como alterações morfológicas, bioquímicas e histológicas, que comprometem a reprodução, 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).

## 2. Objetivos Gerais

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar as características físicas, químicas e biológicas da água e do sedimento da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu, bem como avaliar a toxicidade das amostras de água da bacia por meio de testes em laboratório e *in situ* e seus efeitos sobre juvenis das espécies de peixe *Danio rerio* e *Poecilia reticulata*, com ênfase nas concentrações de metais.

### 2.1. Objetivos específicos

- Caracterizar física, química e biologicamente a água e o sedimento da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, com ênfase na concentração de metais;
- Avaliar a toxicidade das amostras de água por meio de bioensaios de toxicidade aguda *in situ* e crônica parcial em laboratório com juvenis de duas espécies de peixe *Danio rerio* e *Poecilia reticulata*;
- Formular sedimentos artificiais simples, com características granulométricas semelhantes às dos sedimentos encontrados na bacia do Alto Jacaré-Guaçu e avaliar as respostas da toxicidade ao cádmio, buscando auxiliar na criação de um banco de dados para a elaboração de um critério de qualidade de sedimentos nacional e comparar estes resultados com os valores recomendados pela legislação vigente;
- Avaliar a toxicidade aguda e crônica parcial do cádmio adicionado aos sedimentos artificiais para as espécies *Ceriodaphnia silvestrii*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio*;

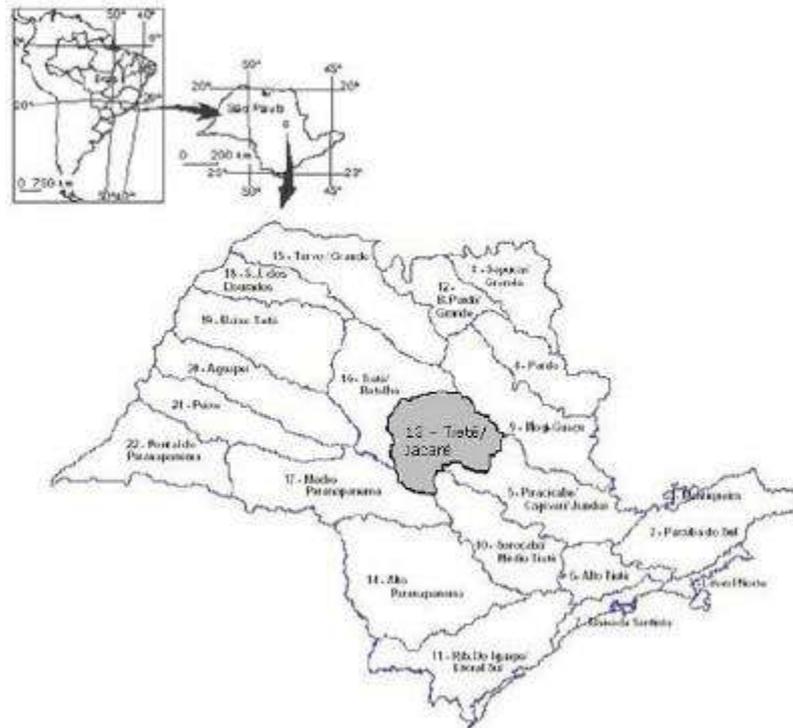
## 3. Caracterização da Área de Estudo

A bacia do rio Jacaré-Guaçu ocupa área de 4.108 Km<sup>2</sup> e compreende total ou parcialmente os municípios de Analândia, Araraquara, Boa Esperança do Sul, Brotas, Dourado, Gavião Peixoto, Ibaté, Ibatinga, Itirapina, Matão, Nova Europa, Ribeirão Bonito, São Carlos e Tabatinga. Está entre as bacias mais importantes do

estado de São Paulo, pois além de cortar terras de extraordinário valor econômico, também é utilizada para fins hidrelétricos. Na bacia, existem quatro represamentos: represa do Lobo (Itirapina); represa Santana (Brotas); Usina Alois Partel (São Carlos) e Usina de Gavião Peixoto, sendo alguns ainda utilizados para aproveitamento hidrelétrico (BRASIL, 1980).

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

A parte alta da bacia do rio Jacaré-Guaçu localiza-se na região Centro-Oriental do Estado de São Paulo, sendo o rio Jacaré-Guaçu um importante afluente da margem direita do rio Tietê, pertencendo ambas as bacias à 13ª Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI Tietê-Jacaré), segundo a Lei Estadual Nº. 7.663 de dezembro de 1991. Limita-se ao norte e nordeste com a bacia do rio Mogi-Guaçu, ao sul e oeste com as bacias do rio Jacaré-Pepira e do médio Jacaré-Guaçu e a leste e sudeste com a bacia do rio Corumbataí, apresentando uma extensão aproximada de 1.100 Km<sup>2</sup>, definida pelas coordenadas 21° 57' 30" e 22° 22' 30" de latitude sul e 47° 42' 30" e 48° 05' 30" de longitude oeste. A área abrange os municípios de São Carlos, Analândia, Itirapina e Brotas (Figura 1.1).



**Figura 1.1:** Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídrico (UGRHs) do estado de São Paulo, detalhando a 13ª UGRH, onde está localizada a área de estudo (fonte: adaptado de [www.sgrh.sp.gov.br](http://www.sgrh.sp.gov.br)).

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

Na área abrangida pelo Perímetro Corumbataí, as cuestas basálticas compõem um cenário paisagístico de grande beleza, onde se destacam a Serra de São Pedro e Itaqueri. Nos paredões que formam os degraus das cuestas, ainda restam trechos de mata original (cerrados e cerradões) e são comuns os testemunhos, morros isolados que a erosão esculpiu, formando um cenário peculiar na região. Ao pé das cuestas, estendem-se vales amplos e suaves, com presença

das várzeas ao longo do curso dos rios. Ao sul faz divisa com a Represa de Barra Bonita. A região é conhecida por suas inúmeras cachoeiras, resultantes dos desníveis abruptos de seu relevo, e se transforma paulatinamente em um centro do ecoturismo no Estado, principalmente nos municípios de Brotas e São Pedro, onde se destacam a navegação do rio Jacaré-Pepira e os hotéis-fazendas espalhados pela área rural.

A bacia do Alto Jacaré-Guaçu sofre influência da enorme diversificação quanto ao aproveitamento e ocupação do solo, apresentando como característica marcante atividades agrícolas e pecuárias, além do desenvolvimento urbano das cidades envolvidas, principalmente de São Carlos e Itirapina.

O solo, inicialmente, era predominantemente ocupado pela vegetação nativa de cerrado, panorama que foi modificado em decorrência da interferência do homem (FERRANTE, 1989). A expansão de monoculturas, principalmente de cana-de-açúcar e citrus desencadeou uma ocupação desordenada da terra, resultando em desmatamento de vegetação ciliar e áreas marginais aos cursos de água, comprometendo assim os recursos hídricos da região. O uso de grandes quantidades de agrotóxicos nas culturas, a acentuação dos processos erosivos em decorrência do uso inadequado do solo; a ausência de fiscalização e monitoramento adequado do lançamento de efluentes das indústrias nos corpos de água, a destruição da vegetação nativa para a formação de pastos e plantio de monoculturas, foram os principais fatores responsáveis pela degradação ambiental na região em estudo (SANTOS, 1993).

Entre as atividades de uso do entorno da bacia são as pastagens, destinadas às técnicas de criação semi-intensiva e extensiva de gado bovino, e a agricultura, destacando-se as culturas de cana-de-açúcar e milho, a cafeicultura e a citricultura, com o predomínio de pequenos e médios agricultores. Também são encontradas algumas áreas com monoculturas das espécies *Pinus* e *Eucalyptus*, bem como áreas cobertas por vegetação natural (campo e cerrado) (TEIXEIRA, 1993).

Os municípios de Analândia e Itirapina apresentam um panorama estagnado com relação ao crescimento da área urbana, de modo que as alterações nas paisagens destes municípios são mínimas. Porém, em Itirapina, ocorrem indícios de uma urbanização desorganizada e caracterizada pela falta de diretrizes urbanísticas.

Ambos os municípios estão entre os maiores produtores de leite e de ovos da região, apresentando importantes agroindústrias responsáveis pela produção avícola (SANTOS, 1993), e conseqüentemente, os impactos provenientes destas atividades.

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

A bacia do rio Monjolinho apresenta-se com 26,3% do remanescente vegetal, sendo que deste total apenas 17,5% são fragmentos de vegetação natural e 8,8% são fragmentos de capoeira. A vegetação remanescente é caracterizada por Floresta Estacional Semidecidual Submontana (Mata); Floresta Estacional Semidecidual Aluvial (Mata ciliar); Savana Florestada (Cerradão); Savana Arborizada (Cerrado) (SILVA et al., 2000). No entanto, a maioria da área vegetal (73,7%) consiste basicamente de áreas de cultivo de cana-de-açúcar (35,7%) e pasto cultivado (20,0%). Criscuolo et al. (2000), comparando o percentual de área alterada em relação à agricultura, verificaram que de 1965 para 1998, ocorreu um aumento de 10,8% na área cultivada com cana-de-açúcar, chegando a totalizar 35,7% de toda a área, sendo esta a única cultura a ter um aumento significativo. Em relação à área urbana, São Carlos ocupava 6,4% em 1965, atingindo 15,0% em 1998. São Carlos tem uma economia de base industrial, sendo a maior parte representada pela metalurgia, transformação de minerais não metálicos, siderurgia e por atividades tradicionais como calçados e vestuários, couros e peles (SEADE, 1998). 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 e solventes (CÔRTEZ et al., 2000).

Em relação aos efluentes gerados, há um sistema coletor de quase 100% do esgoto doméstico, o qual é atualmente tratado (CAMPAGNA, 2010). Em relação aos efluentes industriais, 45% representam resíduo inorgânico e 17% os resíduos orgânicos, contribuindo para a poluição do rio Monjolinho. Em consequência disto, trabalhos já mostram a contaminação em toda extensão do rio Monjolinho por metais pesados em concentrações acima do CONAMA 357/05 para rios de classe dois (BARRETO, 1999; CAMPAGNA, 2005; PELATTI, 2004).

O ribeirão do Feijão é formado na Fazenda Arizona no município de Analândia, pela união de dois córregos sem denominação própria, percorrendo 22 Km até o encontro com o ribeirão do Lobo. Seus principais afluentes são os córregos das Antas, Laranja Azeda, Quebra Canela, Visconde do Rio Claro, das Cobras e do Lajeado. A bacia é predominantemente rural, e em decorrência disto, parte da vegetação natural foi substituída por pastagens (intensiva e semi-intensiva) e agricultura de médio e pequeno porte. Seu uso preponderante é o abastecimento público, contribuindo diariamente com cerca de 21.700 m<sup>3</sup> de água para a cidade de São Carlos, o que representa aproximadamente 62% do valor médio tratado da Estação de Tratamento de água de São Carlos, além de outros usos significativos (dessedentação de animais e pesca) (Serviço Autônomo de Água e Esgoto de São Carlos - SAAE, comunicação pessoal).

Análises realizadas na água do ribeirão do Feijão pelo SAAE (dados não publicados) evidenciaram a presença de metais (cobre, prata, ferro, manganês e zinco) na água e também a biodisponibilidade destes elementos nos sedimentos coletados em cinco pontos amostrados. Ainda, Pelaéz-Rodríguez (2001) constatou a presença de pesticidas organoclorados, HCBs e PCBs no ribeirão do Feijão, bem como nos rios Monjolinho e Jacaré-Guaçu.

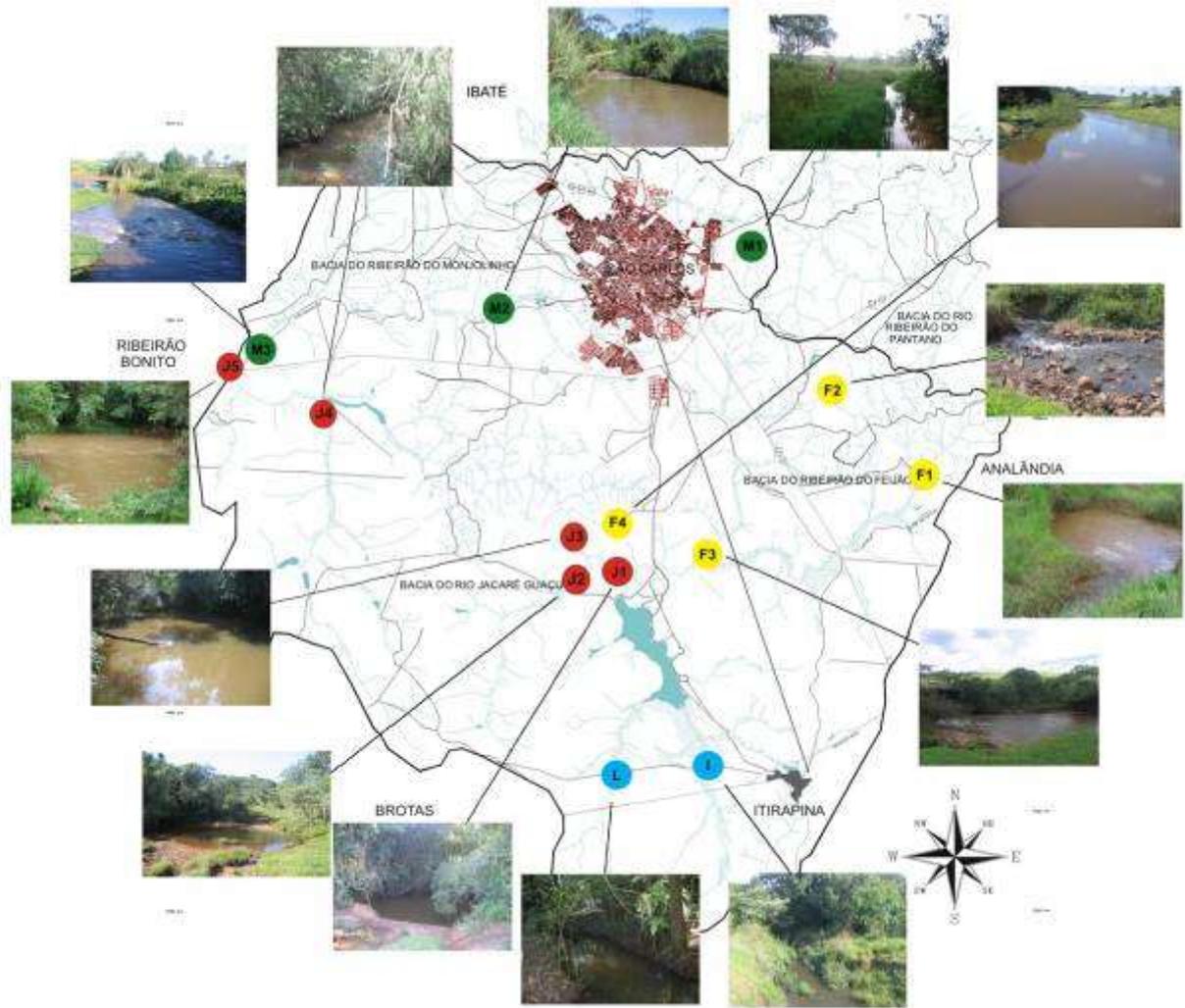
Na bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu existe quantidade considerável de áreas naturais de recarga do Aquífero Guarani, um dos maiores aquíferos do mundo. Ressalta-se ainda que, nas bacias do conjunto Jacaré (Jacaré-Guaçu e Jacaré-Pepira) o Aquífero Guarani aflora em aproximadamente 4.300 Km<sup>2</sup>, o que corresponde a 2,21% de toda a área de recarga direta do Aquífero na América do Sul (10% de 1.942.000 Km<sup>2</sup>) ao longo da totalidade do Paraná e de Chaco-Paraná (VIVES et al., 2001). Por ser a região de estudo uma área onde o aquífero é

principalmente aflorante, sua importância aumenta sobretudo pela maior facilidade de exploração e pela maior vulnerabilidade natural de seu manancial subterrâneo. Por este motivo, atualmente esta área vem sendo objeto de estudos de muitas instituições governamentais e não governamentais.

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

#### **4. Períodos de Amostragem e Estações de Coleta**

As coletas foram realizadas trimestralmente durante o período de 12 meses (entre abril de 2007 e janeiro de 2008), englobando os períodos seco e chuvoso em quatorze pontos de coleta nas principais sub-bacias do alto Jacaré-Guaçu, sendo três pontos localizados no rio Monjolinho, quatro pontos localizados no ribeirão do Feijão; cinco pontos localizados no rio Jacaré-Guaçu; um ponto localizado no ribeirão do Lobo e um ponto localizado no rio Itaqueri (Figura 1.2, Tabela 1.1).



**Figura 1.2:** Localização dos pontos de coleta na bacia do Alto Jacaré-Guaçu (fonte: adaptado do SAAE). F – ribeirão do Feijão; I – rio Itaqueri; J – rio Jacaré-Guaçu; L – ribeirão do Lobo; M – rio Monjolinho.

Estas estações de coleta foram escolhidas com base em trabalhos anteriormente realizados em rios da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, quanto aos aspectos de qualidade de água e sedimento (BARRETO, 1999; CAMPAGNA, 2005; GUERESCHI, 1995; MARINELLI et al., 2000; MENDES, 1998; PELÁEZ-RODRÍGUEZ, 2001; SÉ, 1992), bem como em saída de campo preliminar.

**Tabela 1.1:** Características dos pontos de amostragem na bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu.

Pontos	Características principais
J1	Rio Jacaré-Guaçu, dentro da Fazenda Bela Vista do Salto, logo após o Ribeirão do Lobo receber o Ribeirão do Feijão (onde já passa a ter o nome de Rio Jacaré-Guaçu). Apresenta mata ciliar bastante preservada, com pastagens no entorno e assentamento humano. Coordenadas geográficas: 22°09'06.4"S; 47°54'36.3"O; Altitude: 632m.
J2	Ribeirão do Onça, afluente do Rio Jacaré-Guaçu, dentro da Fazenda Bela Vista do Salto. Predomínio de pastagens e assentamento humano. Coordenadas geográficas: 22°09'12.3"S; 47°55'10.4"O; Altitude: 627m.
J3	Rio Jacaré-Guaçu, após receber o Ribeirão do Onça, dentro da Usina Santa Maria. Mata ciliar preservada e predomínio do cultivo de cana-de-açúcar. Coordenadas geográficas: 22°08'24.5"S; 47°55'42.2"O; Altitude: 656m.
J4	Rio Jacaré-Guaçu, dentro da Usina Santana, a montante da captação de água para uso da Usina. Trecho apresentando mata ciliar abundante, e cultivo de cana-de-açúcar no entorno. Coordenadas geográficas: 22°05'06.6"S; 48°02'41.7"O; Altitude: 662m.
J5	Rio Jacaré-Guaçu aproximadamente 300 m depois de receber o Rio Monjolinho, dentro da fazenda Santana. Presença de pastagens e assentamento humano. Coordenadas geográficas: 22°03'28.1"S; 48°05'45.9"O; Altitude: 527m.
F1	Trecho de cabeceira do Ribeirão do Feijão, aproximadamente 2km das nascentes, situado em área rural na cidade de Analândia, próximo às formações do Morro do Camelo, Pedra Vermelha e Cuscuzeiro. O entorno é caracterizado por pastagens e cultivo de cana-de-açúcar. Coordenadas geográficas: 22°07'57.9"S; 47°41'52.1"O; Altitude: 672m.
F2	Córrego São José (formador do Córrego laranja Azeda, afluente do Ribeirão do Feijão), na estrada dentro da Fazenda Itaguaçu, a montante do antigo lixão de São Carlos. Nas margens há abundante mata ciliar, com assentamento humano a aproximadamente 100 m do ponto de coleta. Coordenadas geográficas: 22°04'42.5"S; 47°47'59.4"O; Altitude: 788m.
F3	Córrego Laranja Azeda, na Fazenda Yolanda. Caracterizado pelo predomínio de pastagens e cultivo de culturas temporárias. Coordenadas geográficas: 22°08'55.3"S; 47°51'29.5"O; Altitude: 688m.
F4	Ribeirão do Feijão, a montante da captação do SAAE. Entorno caracterizado por pastagens e recente cultivo de cana-de-açúcar. Coordenadas geográficas: 22°09'07.2"S; 47°53'09.6"O; Altitude: 669m.
M1	Trecho de cabeceira do rio Monjolinho, em uma área de mananciais e, aproximadamente, 3 Km de sua nascente principal. Localizado na Fazenda Santa Terezinha, caracterizado pelo predomínio de pastagens no entorno e pela ausência de vegetação nativa, com acelerado processo de erosão. Há um sistema de captação de água para cultivo de hortaliças a 200 m desta estação de amostragem. Presença de depósitos de entulhos e início do cultivo de cana-de-açúcar no entorno. Coordenadas geográficas: 22°00'32.7"S; 47°50'10"O; Altitude: 850m.
M2	Trecho do rio Monjolinho, depois de receber os córregos Água Fria e Água Quente. Situa-se em área rural, apresentando cultivo de cana-de-açúcar no entorno (Usina da Serra). Recebeu contribuição acentuada de esgotos da cidade de São Carlos, por meio, principalmente do córrego Água Quente, onde foi construída uma estação de tratamento de esgotos, que entrou em operação em 2008. Coordenadas geográficas: 22°02'06"S; 47°57'23"O; Altitude: 541m.
M3	Trecho final do rio Monjolinho antes da confluência com o rio Jacaré-Guaçu. Situado dentro da Fazenda Santana, com predomínio de pastagens. Coordenadas geográficas: 22°03'32.7"S; 48°05'25.7"O; Altitude: 540m.
L	Ribeirão do Lobo, principal formador da represa do Lobo (Broa) e do rio Jacaré-Guaçu, ao lado da rodovia que liga Analândia a Itirapina e Brotas. Apresenta mata ciliar característica, sendo o entorno predominado por pastagens e cultivo de laranja. Coordenadas geográficas: 22°15'54.9"S; 47°54'45.1"O; Altitude: 743m.
I	Rio Itaqueri, formador da represa do Lobo (Broa), ao lado da rodovia que liga Analândia a Itirapina e Brotas, a montante do lançamento de esgotos do presídio de Itirapina. Trecho próximo ao ponto amostrado no Ribeirão do Lobo, com as mesmas características de entorno. Coordenadas geográficas: 22°15'29.9"S; 47°51'53.5"O; Altitude: 716m.

Os pontos de coleta estão enquadrados em três categorias de uso preponderantes, sendo os pontos M2 e M3 na classe 4, o ponto J5 enquadrado na classe 3 e os demais pontos de coleta na classe 2 (SÃO PAULO, 1977). Os corpos d'água de classe 2 podem ser destinados ao abastecimento humano, após tratamento simplificado; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário; à irrigação de hortaliças e frutas consumidas cruas; e à proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas. As águas de rios de classe 3 podem ser destinadas ao abastecimento humano, após tratamento convencional ou avançado; à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; à pesca amadora; à recreação de contato secundário; e à dessedentação de animais. Já os rios de classe 4 podem ter suas águas destinadas à navegação e à harmonia paisagística (BRASIL, 2005).

## CAPÍTULO 2

### Caracterização Limnológica da Bacia do Alto Jacaré-Guaçu

#### 1. Introdução

As bacias hidrográficas constituem paisagens ou unidades ambientais, nas quais todos os elementos naturais ou humanos se relacionam de maneira efetiva e inseparável. Os estudos de bacias hidrográficas tem se destacado entre as pesquisas ambientais elaboradas dentro de uma visão holística do meio ambiente (PELÁEZ-RODRÍGUEZ, 2001).

O desenvolvimento industrial, aliado à migração do homem do campo para os centros urbanos, tem gerado graves problemas para os corpos d'água localizados próximos às cidades. Entre os impactos que podem ser observados, destacam-se aqueles oriundos da gestão deficiente das bacias, como desflorestamento de áreas próximas aos corpos d'água e lançamento de efluentes sem tratamento nos mesmos (PELÁEZ-RODRÍGUEZ, 2001).

Os ambientes lóticos são caracterizados, dentre outros fatores, pela variabilidade longitudinal da nascente até a foz, altamente variável na escala de tempo, dependendo das condições climáticas e padrões de drenagem da bacia, e que impõem uma organização diferenciada das comunidades biológicas (BRIGANTE et al., 2003; CHAPMAN, 1992). Rios são considerados ecossistemas abertos por estarem em íntima relação com o ambiente terrestre, e heterotróficos em razão da entrada de matéria e energia (BARBOSA; ESPÍNDOLA, 2003).

Cada corpo d'água tem um padrão individual de características físicas e químicas que são amplamente determinados pelas condições climáticas, geomorfológicas e geoquímicas predominantes na bacia (CHAPMAN, 1992). Variações na disponibilidade de luz, substrato, velocidade da corrente e recursos são fatores fundamentais para avaliação de rios, pois são responsáveis por processos como produção e respiração, que caracterizam os diversos trechos de um rio (BRIGANTE et al., 2003).

A capacidade de um corpo d'água de suportar vida, bem como sua conveniência para outros usos depende, entre outros, de elementos traço. Metais como o manganês, zinco e cobre em concentrações traço são importantes para as funções fisiológicas dos organismos e para regular muitos processos bioquímicos. Porém, os mesmos metais em elevadas concentrações podem ter efeitos tóxicos severos aos organismos que vivem ou dependem desse corpo d'água. Na água, os metais podem existir nas formas dissolvidas, coloidais e particuladas. A proporção destas formas varia com as características do metal e das condições ambientais e, portanto, a toxicidade depende destas formas (PELÁEZ-RODRÍGUEZ, 2001).

Dentre os vários processos que se desenvolvem nas bacias, a entrada e acúmulo de substâncias tóxicas nos sistemas aquáticos tem aumentado grandemente, merecendo os metais especial interesse devido à ação residual e seus efeitos cumulativos (PELÁEZ-RODRÍGUEZ, 2001).

## **2. Objetivo**

O presente estudo teve o objetivo de avaliar as características físicas, químicas e biológicas (clorofia a e coliformes fecais) das amostras de água e sedimento coletados na bacia do Alto Jacaré-Guaçu nos pontos descritos no Capítulo 1.

## **3. Material e Métodos**

### **3.1. Vazão**

Para o cálculo da vazão parcial  $q_i$  ( $m^3 \cdot s^{-1}$ ), foi utilizado o método da seção transversal, onde a velocidade média da corrente em cada segmento vertical foi medida com o auxílio de um molinete de 20 a 80% da profundidade, que foi multiplicada pela área de influência de cada vertical. A vazão total  $Q$  ( $m^3 \cdot s^{-1}$ ) foi obtida pela soma das vazões parciais (LIMA, 1986; WISLER; BRATER, 1964) pela fórmula:

$$q_i = A_i \times V_i$$

$$Q = \sum q_i$$

Onde:

$A_i$  – área de cada subseção em  $m^2$ ;

$V_i$  – velocidade de escoamento em cada vertical em  $m.s^{-1}$ ;

$q_i$  – vazão da área de influência de cada vertical em  $m^3.s^{-1}$ ;

$Q$  – vazão total da seção em  $m^3.s^{-1}$ .

### 3.2. Análises físicas, químicas e biológicas da água

As amostras de água foram coletadas com o auxílio de garrafa de Van Dorn, sendo acondicionadas em garrafas plásticas e preservadas até o momento das análises, seguindo os métodos específicos para cada procedimento (Tabela 2.1).

**Tabela 2.1:** Variáveis utilizadas na avaliação da qualidade água, método e referências.

Variáveis	Método	Referência
Temperatura	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
pH	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Condutividade elétrica	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Oxigênio dissolvido	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Sólidos Totais Dissolvidos	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Potencial de Óxido-redução	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Material em suspensão	Gravimetria em filtros GF/C Millipore (0,45 $\mu$ m)	TEIXEIRA; TUNDISI; KUTNER (1965)
Nitrito e nitrato	Espectrofotometria	MACKERETH; HERON; TALLING (1978)
Íon amônio	Espectrofotometria	KOROLEFF (1976)
Nitrogênio orgânico total	Espectrofotometria	APHA (1995)
Fósforo total e dissolvido; Fosfato inorgânico	Espectrofotometria	APHA (1995)
Silicato	Espectrofotometria	GOLTERMAN; CLYMO; OHNSTAD (1978)
Clorofila a	Espectrofotometria (Álcool 70%)	NUSH (1980)
Coliformes	Colorimétrico (Collilert)	APHA (1995)
Sulfetos	Kit-Hach	APHA (1995)

### 3.2.1. Metais

As amostras de água coletadas para análise de metais foram acondicionadas em garrafas plásticas com capacidade para um litro, preservadas em campo com 1,5mL de ácido nítrico concentrado (pH final < 2). Em laboratório, foi retirada uma alíquota de 100mL, à qual foram adicionados 5 mL de ácido nítrico concentrado. O material foi digerido em placa aquecedora (80°C) até ter o seu volume reduzido para 50mL. Então, a amostra teve o volume completado para 100mL com água ultrapura (Mili-Q) e encaminhada para análise (APHA, 1999). As amostras foram analisadas em Espectrofotômetro de Absorção Atômica por chama e forno de grafite (Varian SpectrAA 220).

### 3.3. Análises física e química do sedimento

As amostras de sedimento foram coletadas com o auxílio de uma draga do tipo Eckman-Birge, com três subamostragens por ponto, sendo imediatamente homogêneas. Uma alíquota permaneceu em temperatura ambiente para secagem e foi homogênea em almofariz. Posteriormente, o material foi encaminhado para as análises seguindo os métodos específicos (Tabela 2.2).

**Tabela 2.2:** Metodologia de análise das principais variáveis de qualidade de sedimento a serem considerados no presente estudo.

<b>Variável</b>	<b>Método</b>	<b>Referência</b>
Matéria orgânica	Incineração	TRINDADE (1980)
Granulometria	Peneiramento e densímetro	ABNT (1968)
Fósforo total	Espectrofotometria	ANDERSEN (1976)
Nitrogênio orgânico total	KJELDHAL	APHA (1995)

### **3.3.1. Metais biodisponíveis**

Para a análise da fração biodisponível dos metais no sedimento, 1g de material seco e homogeneizado foi mantido sob agitação em 25mL de HCl 0,1M durante 2 horas, em temperatura ambiente (FISZMAN; PFEIFFER; LACERDA, 1984). Posteriormente, esse material foi filtrado e encaminhado para a leitura em Espectrofotômetro de Absorção Atômica por chama e forno de grafite (Varian SpectrAA 220).

### **3.4. Análise Estatística**

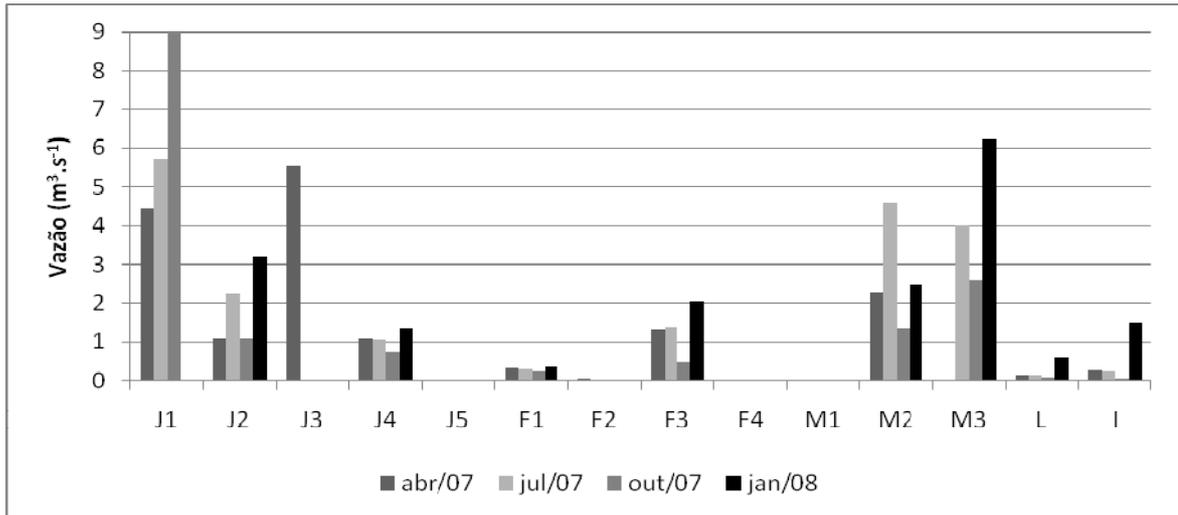
Os dados obtidos nas quatro campanhas de coleta foram avaliados pela análise de discriminantes, que possibilitou verificar a influência das variáveis ambientais sobre determinados pontos ou grupos de pontos de coleta. A análise foi baseada na matriz de co-variância das variáveis transformadas em distância de Mahalanobis, que permitiu a observação gráfica da distância entre os grupos e entre os indivíduos dentro dos respectivos grupos (XLSTAT 5.2) (LEGENDRE; LEGENDRE, 1983).

## **4. Resultados**

### **4.1. Análises físicas, químicas e biológicas da água**

#### **4.1.1. Vazão**

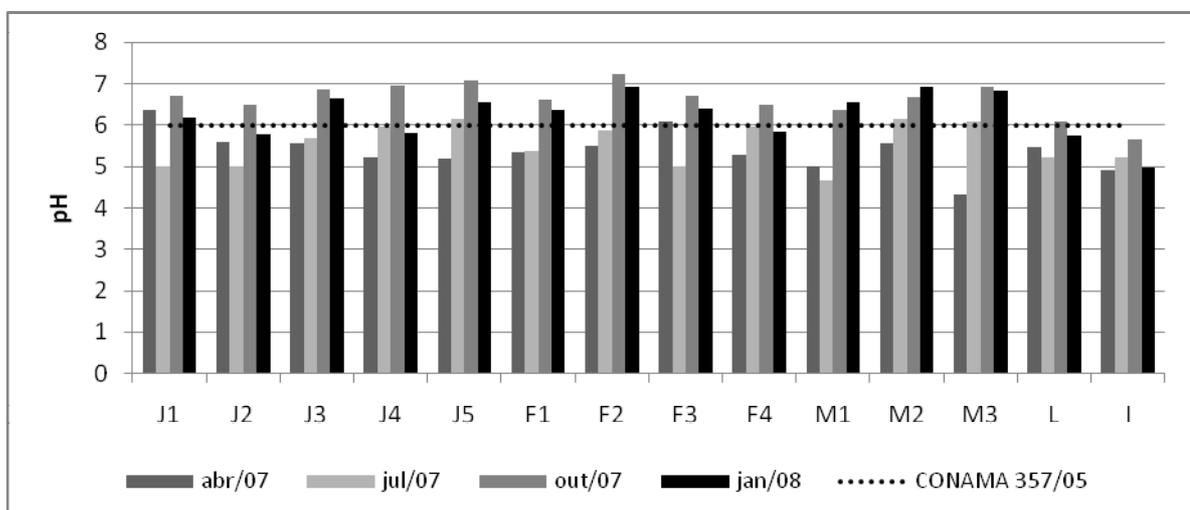
Na maioria dos pontos da bacia, a vazão em janeiro de 2008, correspondente à época chuvosa, foi maior que nas demais épocas de amostragem. Algumas medidas não puderam ser realizadas em certos pontos devido ao aumento da vazão (ponto J1 em janeiro de 2008) e da profundidade (pontos J3 e J5) e à dificuldade de acesso (ponto M1) (Figura 2.1).



**Figura 2.1:** Variação da vazão ( $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

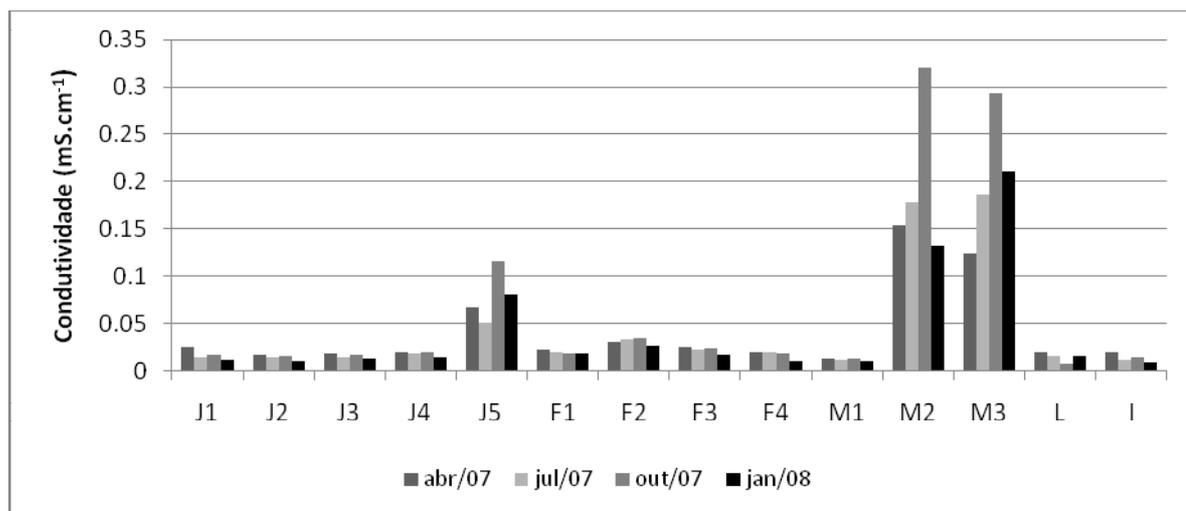
#### 4.1.2. pH e Condutividade

O pH variou espacial e temporalmente pouco durante o estudo, entre levemente ácido a neutro, sendo os menores valores verificados em abril de 2007 (4,31 em M3 e 6,35 em J1) e em julho de 2007 (4,68 em M1 e 6,16 em M2). Os valores mais elevados foram detectados em outubro de 2007 (5,65 em I e 7,24 em F2) (Figura 2.2). Boa parte dos valores encontrados no sistema ficaram abaixo da faixa estabelecida pela resolução CONAMA 357/05, que é de 6 a 9 para rios de classe 2, 3 e 4.



**Figura 2.2:** Variação do pH nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

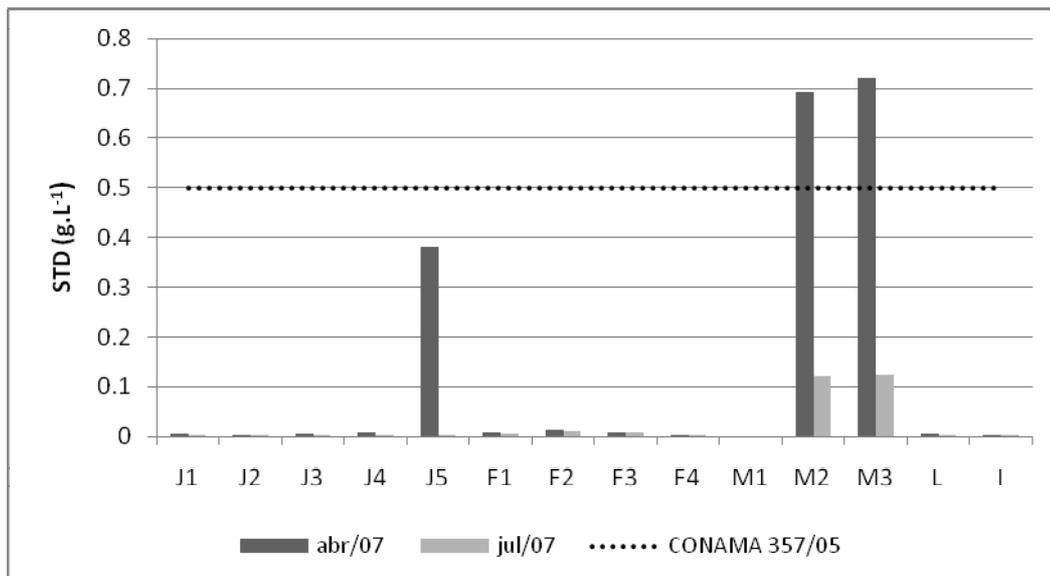
Os maiores valores de condutividade no sistema foram obtidos em outubro de 2007, nos pontos J5 (de 0,051 a 0,116  $\text{mS.cm}^{-1}$ ), M2 (0,132 a 0,321  $\text{mS.cm}^{-1}$ ) e M3 (0,124 a 0,293  $\text{mS.cm}^{-1}$ ) (Figura 2.3).



**Figura 2.3:** Variação da condutividade elétrica ( $\text{mS.cm}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

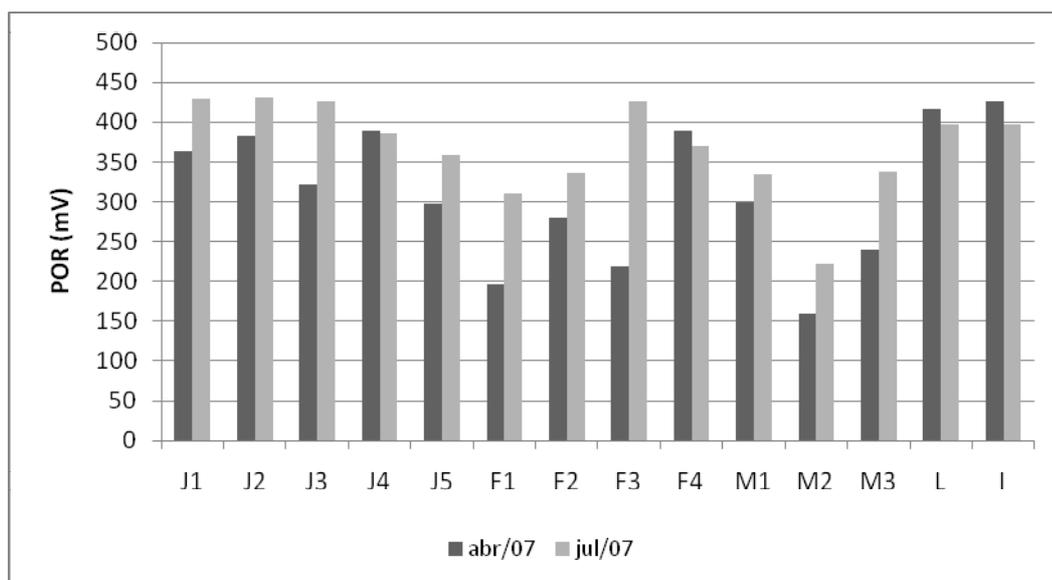
#### 4.1.3. Sólidos Totais Dissolvidos e Potencial de Óxido-redução

As concentrações de sólidos totais dissolvidos (TDS) e potencial de óxido-redução (ORP) foram determinadas apenas nas duas primeiras coletas, abril e julho de 2007. Nas campanhas seguintes houve a troca do aparelho utilizado em campo, o que não permitiu a determinação da concentração destas variáveis. Os valores de TDS estiveram mais elevados em abril de 2007 em J5 ( $0,380 \text{ g.L}^{-1}$ ), M2 ( $0,693 \text{ g.L}^{-1}$ ) e M3 ( $0,720 \text{ g.L}^{-1}$ ), sendo que, nos dois últimos, a concentração ficou acima de  $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ , valor estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 2 e 3 (Figura 2.4).



**Figura 2.4:** Variação da concentração de sólidos totais dissolvidos ( $\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em abril e julho de 2007.

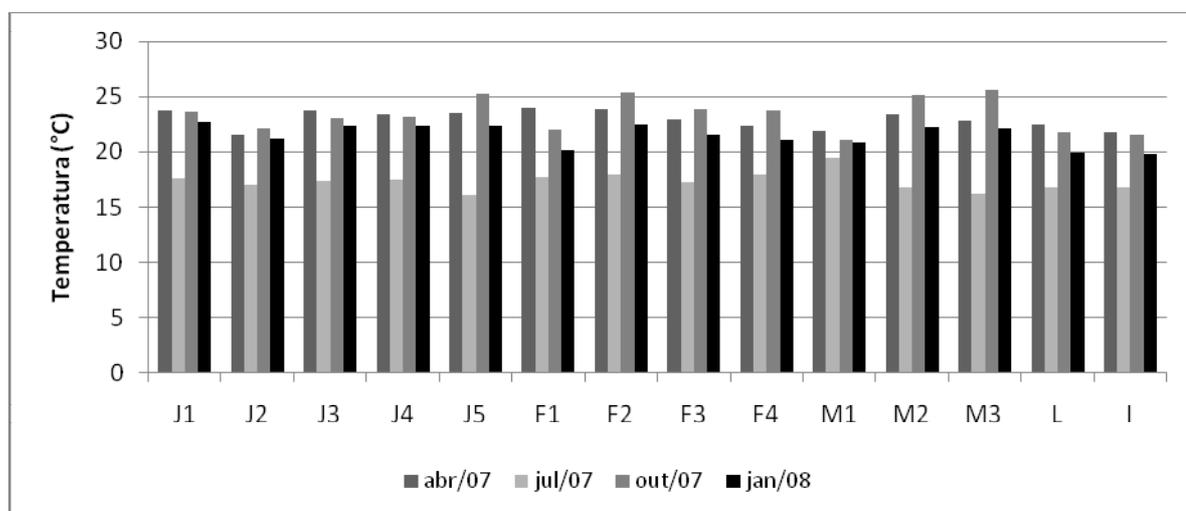
Os menores valores de potencial de óxido-redução (ORP) foram verificados no ponto M2, 160 e 223mV em abril e julho de 2007, respectivamente, enquanto os maiores valores foram registrados em J2, 382 e 430mV em abril e julho de 2007, respectivamente (Figura 2.5).



**Figura 2.5:** Variação do potencial e óxido-redução (mV) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em abril e julho de 2007.

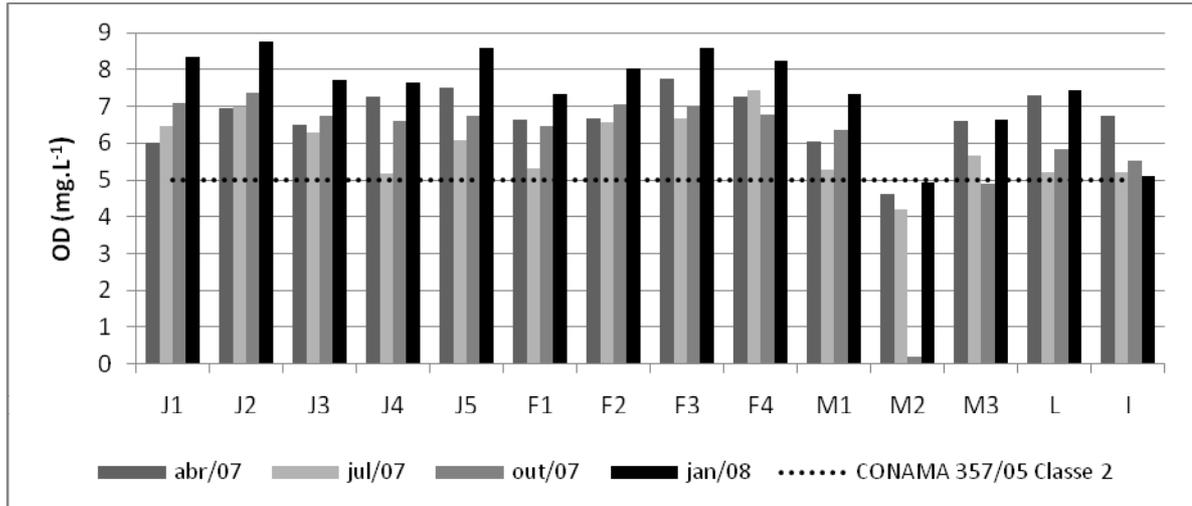
#### 4.1.4. Temperatura e Oxigênio Dissolvido

As temperaturas mais elevadas foram verificadas em outubro de 2007, variando de 21,1°C em M1 a 25,6°C em M3. Já as temperaturas mais baixas foram registradas em julho de 2007, sendo a mínima de 16,1°C em J5 e a máxima de 19,4°C em M1 (Figura 2.6).



**Figura 2.6:** Variação da temperatura (°C) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

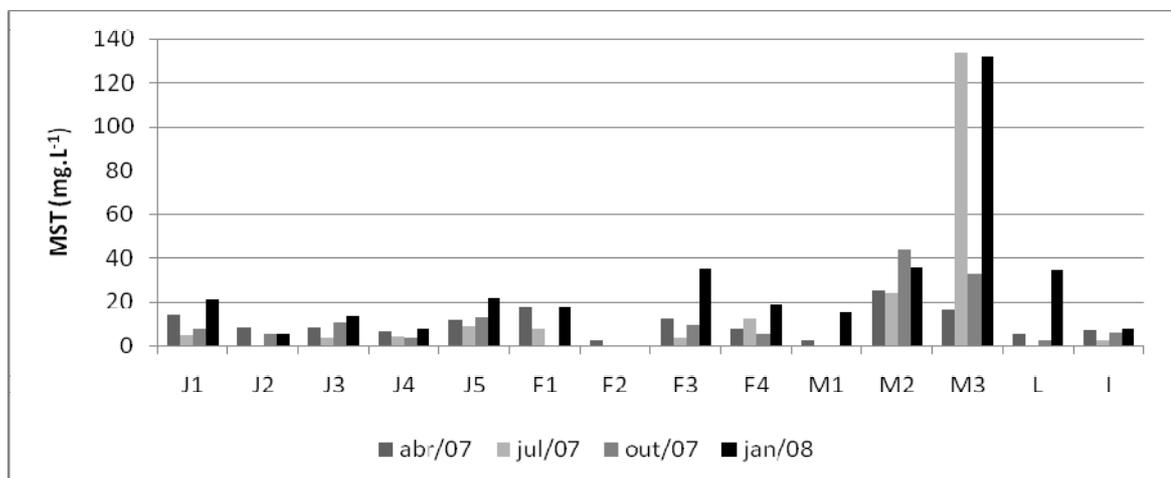
A concentração de oxigênio dissolvido (OD) foi maior em janeiro de 2008, com exceção do ponto I, que apresentou a menor concentração durante o período de estudo ( $5,10 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os menores valores de OD foram encontrados no ponto M2 e, na campanha de outubro de 2007, o valor foi de  $0,19 \text{ mg.L}^{-1}$ , a menor concentração de oxigênio dissolvido encontrada no estudo, abaixo de  $2 \text{ mg.L}^{-1}$ , estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 4 (Figura 2.7).



**Figura 2.7:** Variação da concentração de oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

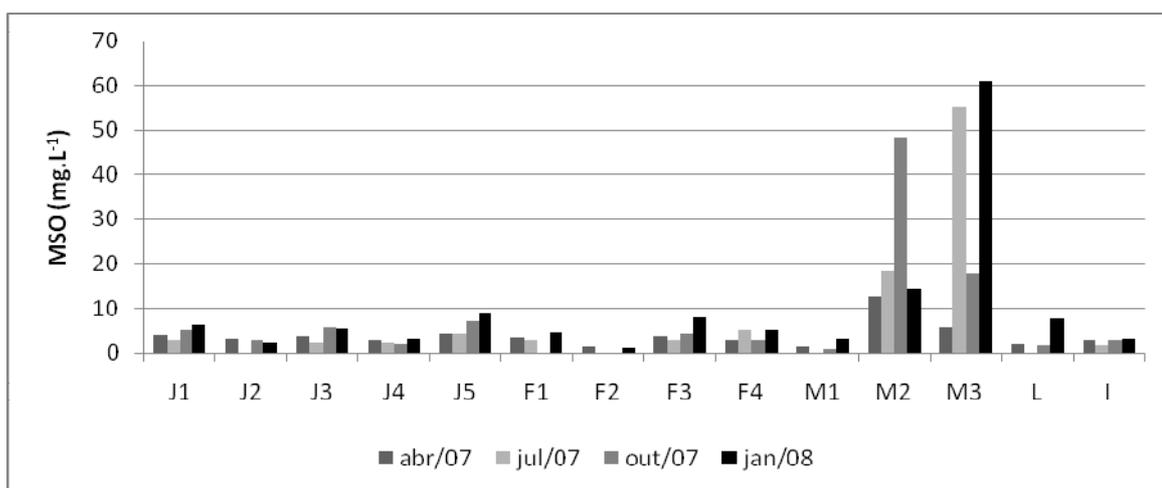
#### 4.1.5. Material em Suspensão

As concentrações de material em suspensão total (MST) mais elevadas foram verificadas no ponto M3 em julho de 2007 ( $133,27 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e janeiro de 2008 ( $132,10 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e M2 em outubro de 2007 ( $44,40 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e janeiro de 2008 ( $36,10 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os valores mais baixos foram detectados em F2, variando de 0 a  $2,20 \text{ mg.L}^{-1}$  (Figura 8). De maneira geral, os valores foram mais elevados em janeiro de 2008, época chuvosa, onde o carreamento de partículas para o sistema é mais intenso, em função do escoamento superficial.



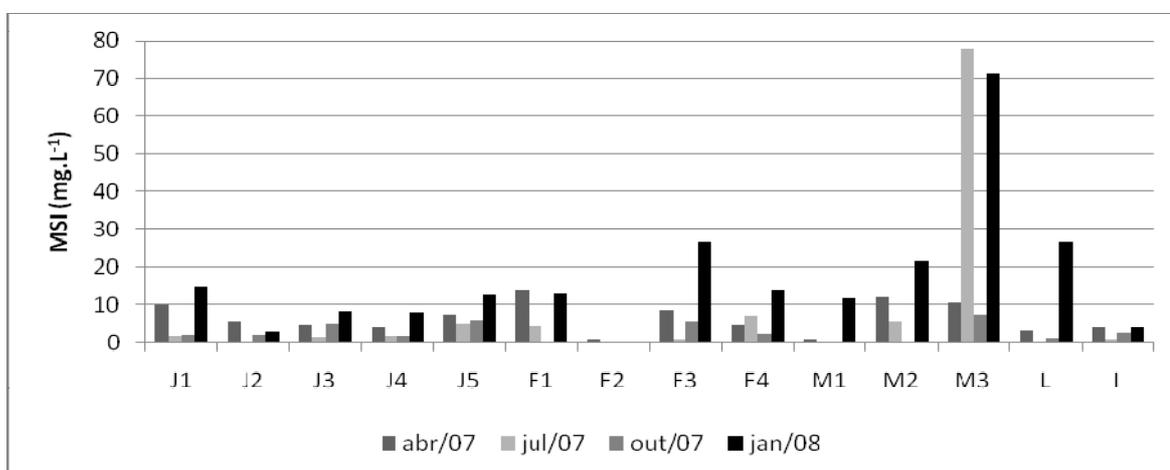
**Figura 2.8:** Variação concentração de material em suspensão total ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

Os valores mais elevados de material orgânico em suspensão (MSO) foram encontradas nos pontos M3 em julho de 2007 ( $55,30 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e janeiro de 2008 ( $60,95 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e no ponto M2 em outubro de 2007 ( $48,30 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os menores valores foram detectados no ponto F2 em todas as épocas (0 a  $1,29 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (Figura 2.9).



**Figura 2.9:** Variação concentração de material em suspensão orgânico ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

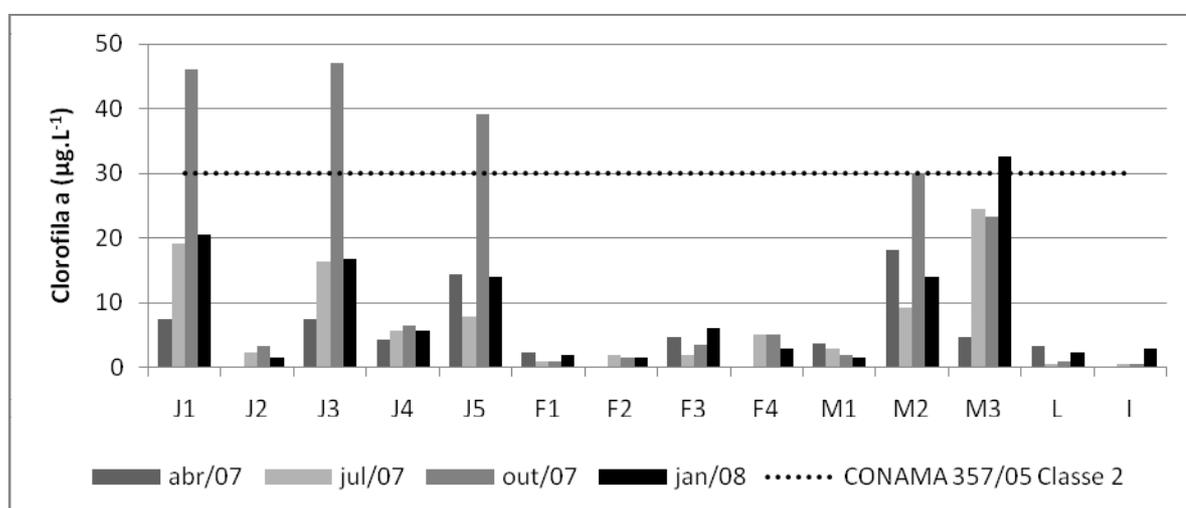
Já em relação ao material inorgânico em suspensão (MSI), os valores mais elevados foram verificados nos pontos M3 em julho de 2007 ( $77,97 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e janeiro de 2008 ( $71,15 \text{ mg.L}^{-1}$ ), F3 em janeiro de 2008 ( $26,65 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e L em janeiro de 2008 ( $26,80 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os valores mais baixos foram detectados no ponto F2 (0 a  $0,92 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (Figura 2.10).



**Figura 2.10:** Variação concentração de material em suspensão inorgânico ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.1.6. Clorofila a

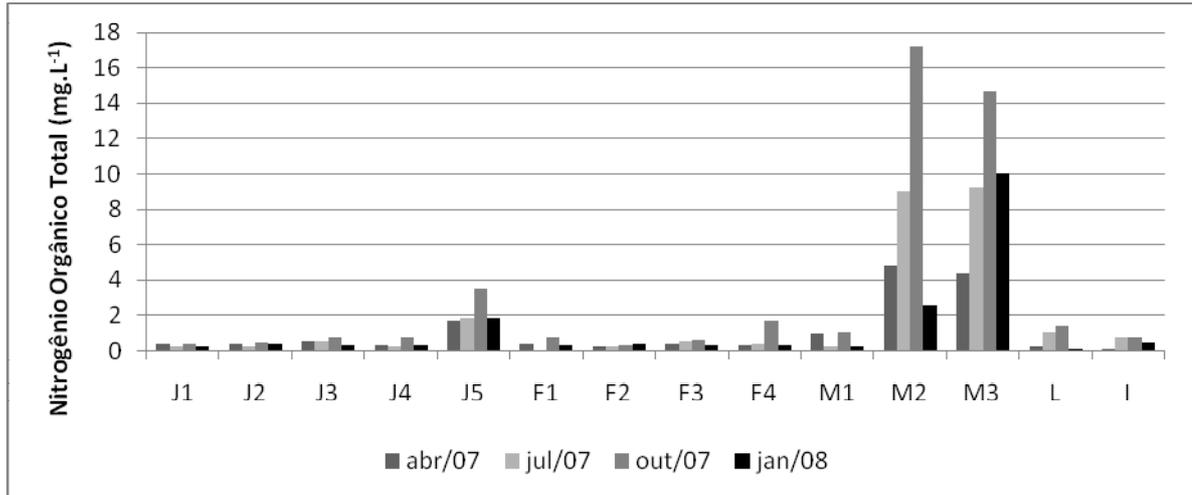
As maiores concentrações de clorofila a foram detectadas em outubro de 2007 nos pontos J1 ( $46,04 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), J3 ( $46,97 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), J5 ( $39,06 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e M2 ( $29,99 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). Em janeiro de 2008 o ponto M3 foi o que apresentou a maior concentração de clorofila a,  $32,55 \mu\text{g.L}^{-1}$  (Figura 2.11). Nos pontos J1 e J3, em outubro de 2007 estiveram acima de  $30 \mu\text{g.L}^{-1}$ , valor estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 2. O ponto J5 apresentou valores abaixo dos  $60 \mu\text{g.L}^{-1}$ , estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 3.



**Figura 2.11:** Variação concentração de clorofila a ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

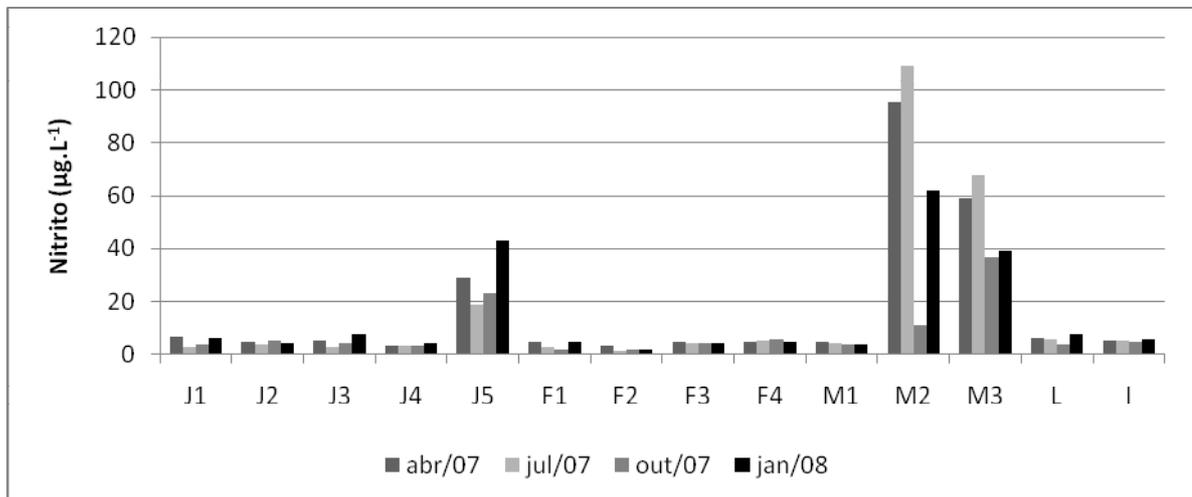
#### 4.1.7. Compostos de Nitrogênio

As concentrações mais elevadas de nitrogênio orgânico total foram verificadas em outubro de 2007 nos pontos J5 ( $3,50 \text{ mg.L}^{-1}$ ), F4 ( $1,68 \text{ mg.L}^{-1}$ ), M2 ( $17,22 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e M3 ( $14,70 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os pontos de J5 ( $1,73$  a  $3,50 \text{ mg.L}^{-1}$ ), M2 ( $2,61$  a  $17,22 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e M3 ( $4,39$  a  $14,70 \text{ mg.L}^{-1}$ ) apresentaram os valores mais elevados em todos os períodos de coleta (Figura 2.12).



**Figura 2.12:** Variação concentração de nitrogênio orgânico total ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

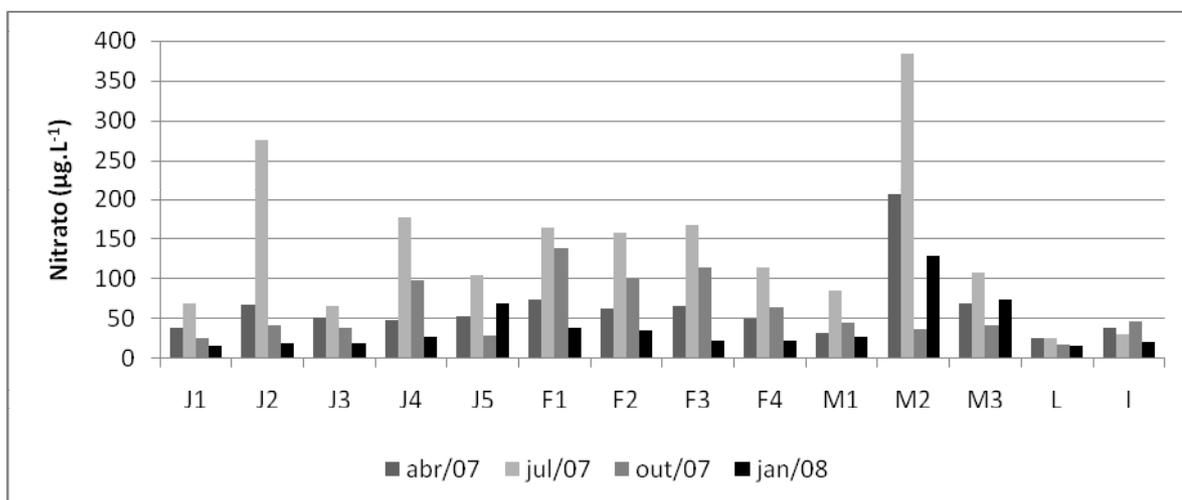
Em relação ao nitrito, os pontos que apresentaram os maiores valores destas variáveis foram J5 ( $18,96$  a  $43,09 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), M2 ( $11,03$  a  $19,37 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e M3 ( $36,97$  a  $67,77 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) (Figura 2.13). Todos os valores estiveram abaixo de  $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$ , estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 2.



**Figura 2.13:** Variação concentração de nitrito ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

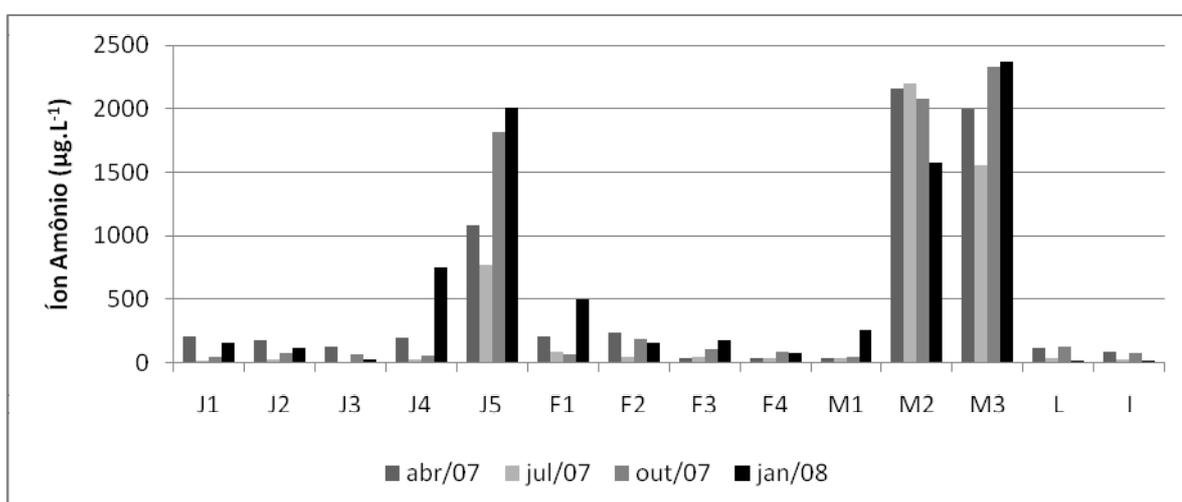
Os valores de nitrato apresentaram-se maiores em julho de 2007 na maioria dos pontos de coleta. Os pontos onde foram verificadas as maiores concentrações foram J2 ( $19,61$  a  $275,55 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), J4 ( $27,43$  a  $177,34 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), F1 ( $38,03$  a  $164,43$

$\mu\text{g.L}^{-1}$ ), F2 (35,02 a 158,82  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), F3 (22,91 a 168,04  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), F4 (21,66 a 115,21  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e M2 (37,49 a 384,28  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (Figura 2.14). Todos os valores estiveram abaixo de 10000  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , valor estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 2.



**Figura 2.14:** Variação concentração de nitrato ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

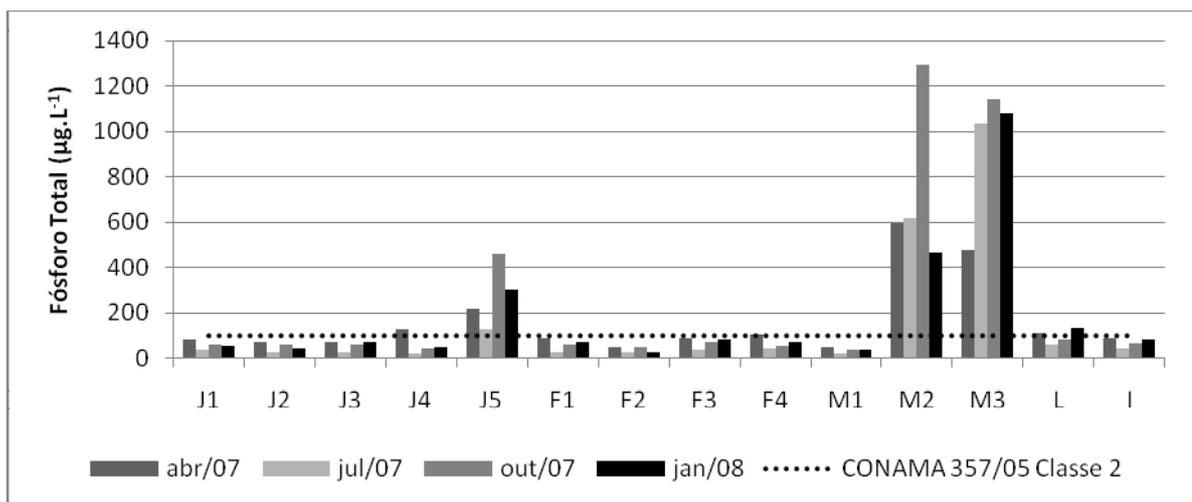
Assim como o nitrogênio orgânico total, as maiores concentrações de íon amônio foram registradas nos pontos J5 (767,9 a 2007,20  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), M2 (1577,30 a 2204,40  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e M3 (1551,00 a 2365,90  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ). Entre as épocas de coleta, os valores estiveram mais elevados em abril de 2007 e janeiro de 2008 (Figura 2.15).



**Figura 2.15:** Variação concentração de íon amônio ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

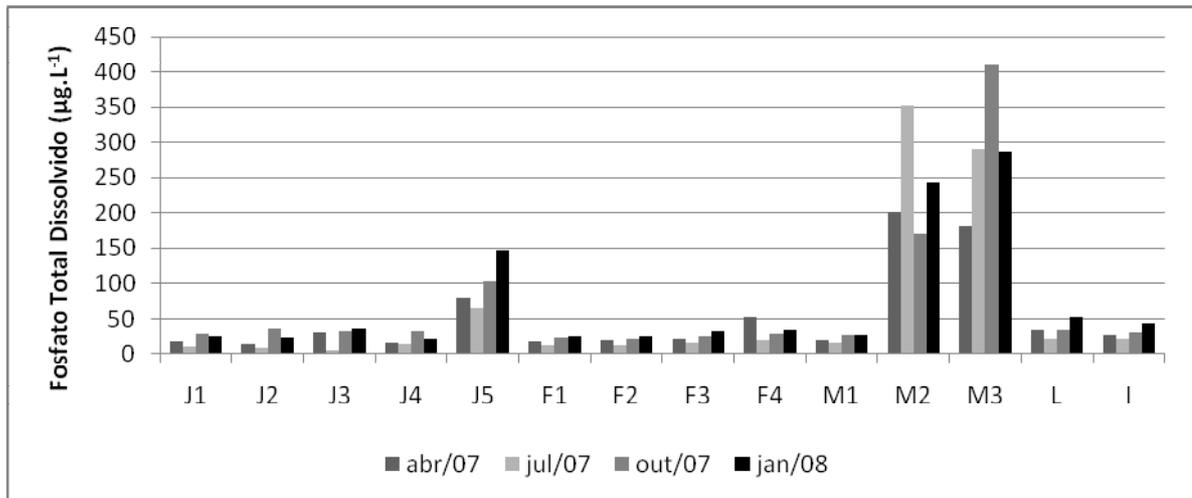
#### 4.1.8. Compostos de Fósforo

As maiores concentrações de fósforo total foram detectadas em outubro de 2007, variando de 19,81  $\mu\text{g.L}^{-1}$  em J4 a 1036,6  $\mu\text{g.L}^{-1}$  em M3. Os pontos de coleta que apresentaram as maiores concentrações foram J5 (460,11  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), M2 (1295,80  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e M3 (1139,10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), todas em outubro de 2007. Os pontos J4 e F4 em abril de 2007 estiveram acima de 100  $\mu\text{g.L}^{-1}$  estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 2, com 127,69 e 102,41  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente. O ponto J5 apresentou valores acima dos 150  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 3 nas coletas de abril e outubro de 2007 e em janeiro de 2008 (Figura 2.16).



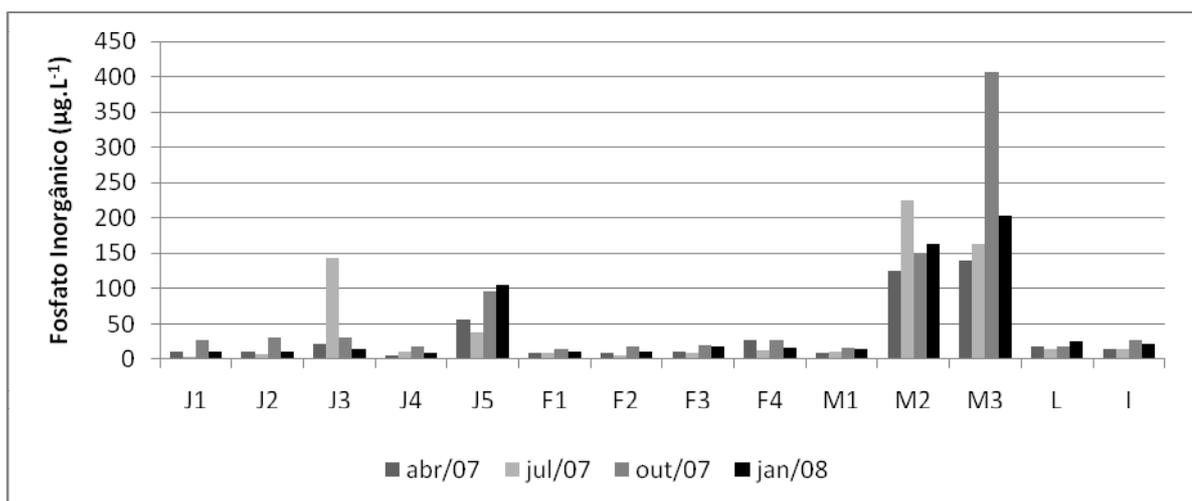
**Figura 2.16:** Variação concentração de fósforo total ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

Com relação ao fosfato total dissolvido, as concentrações não apresentaram um padrão sazonal. Nos pontos J5, M2 e M3 foram encontrados os maiores valores desta variável, 64,59 a 147,69  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , 170,84 a 352,12  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e 181,19 a 410,35  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (Figura 2.17).



**Figura 2.17:** Variação concentração de fosfato total dissolvido ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

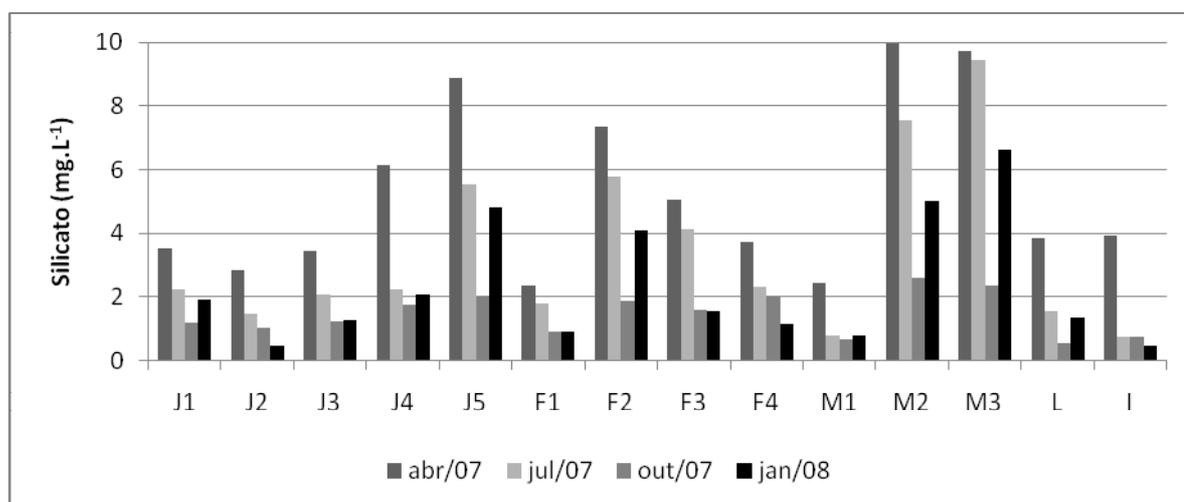
Assim como os demais compostos de fósforo, o fosfato inorgânico apresentou valores elevados nos pontos J5 ( $37,30$  a  $104,84 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), M2 ( $148,87$  a  $225,05 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e M3 ( $139,93$  a  $407,34 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). Considerando as campanhas de coleta, os valores mais elevados de fosfato inorgânico foram encontrados em outubro de 2007. Em julho de 2007, o ponto J3 também apresentou valor elevado desta variável,  $143,12 \mu\text{g.L}^{-1}$  (Figura 2.18).



**Figura 2.18:** Variação concentração de fosfato inorgânico ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.1.9. Silicato Reativo

Em abril de 2007 foram verificadas as maiores concentrações de silicato reativo, de 2,37 mg.L<sup>-1</sup> em F1 a 9,95 mg.L<sup>-1</sup> em M2. Os maiores valores foram encontrados em J5 (2,03 a 8,87 mg.L<sup>-1</sup>), M2 (2,58 a 9,95 mg.L<sup>-1</sup>) e M3 (2,34 a 9,74 mg.L<sup>-1</sup>) (Figura 2.19).



**Figura 2.19:** Variação concentração de silicato reativo (mg.L<sup>-1</sup>) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.1.10. Coliformes fecais

Os valores do número mais provável (NMP) de coliformes fecais foram mais altos em outubro de 2007 e janeiro de 2008. Os números mais elevados foram observados no ponto J5 (2000 a 145000 NMP/100mL), M2 (35 a 120000 NMP/100mL) e M3 (5920 a 1008000 NMP/100mL).

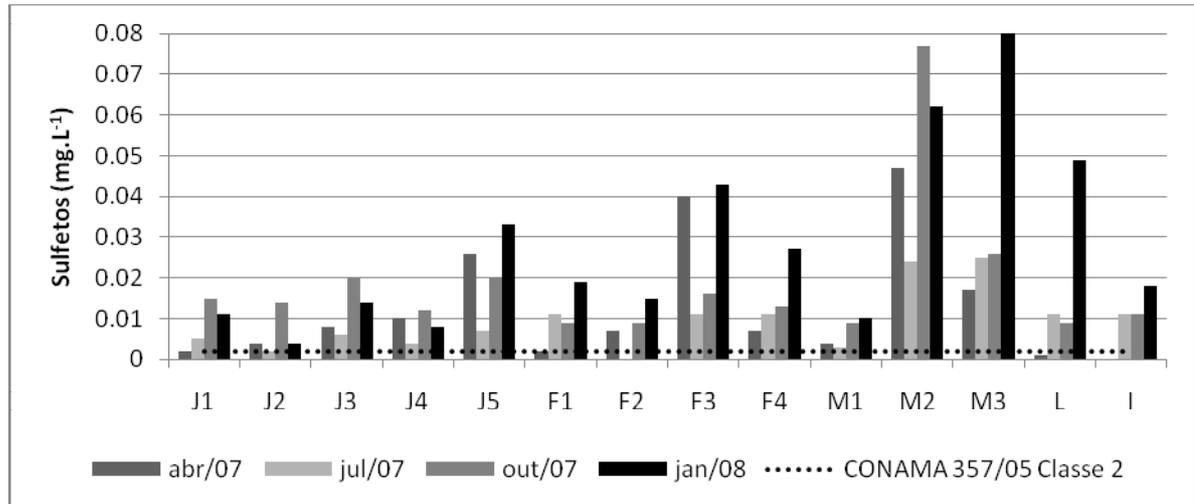
Os pontos J5 e M3 apresentaram valores acima de 2500 NMP/100mL de coliformes fecais em quase todas as campanhas de amostragem, acima do limite estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 3. Com exceção de J1, F2 e M1, todos os pontos de coleta apresentaram valores acima de 1000 NMP/100mL, permitido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 2, em alguma época (Tabela 2.3).

**Tabela 2.3:** Números mais prováveis (NMP) de coliformes fecais nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. Células destacadas indicam valores acima do estabelecido pela resolução CONAMA 357/05.

Pontos de coleta	NMP/100mL			
	abr/07	jul/07	out/07	jan/08
J1	144	148	754	496
J2	410	613	4106	420
J3	630	265	1670	670
J4	2660	4100	410	298
J5	2000	10900	145000	139100
F1	107,1	31	1580	181
F2	52	30	10	63
F3	545	216	292	3441
F4	75	221	2613	3873
M1	139,6	71	798	247
M2	35	110000	1200000	645000
M3	5920	8010	121000	1008000
L	410,6	201	228	1576
I	107	135	262	2489

#### 4.1.11. Sulfetos

A concentração de sulfetos apresentou-se mais elevada em outubro de 2007 e janeiro de 2008. Entre os pontos de coleta, J5 (0,007 a 0,033 mg.L<sup>-1</sup>), F3 (0,011 a 0,043 mg.L<sup>-1</sup>), M2 (0,024 a 0,077 mg.L<sup>-1</sup>) e M3 (0,017 a 0,080 mg.L<sup>-1</sup>) apresentaram os maiores valores (Figura 2.20). Todos os pontos enquadrados em classe 2 os valores estiveram acima do permitido pela CONAMA 357/05, que é 0,002 mg.L<sup>-1</sup>. Os pontos J5 (classe 3), M2 e M3 (classe 4) não ficaram acima do limite estabelecido pela CONAMA 357/05.

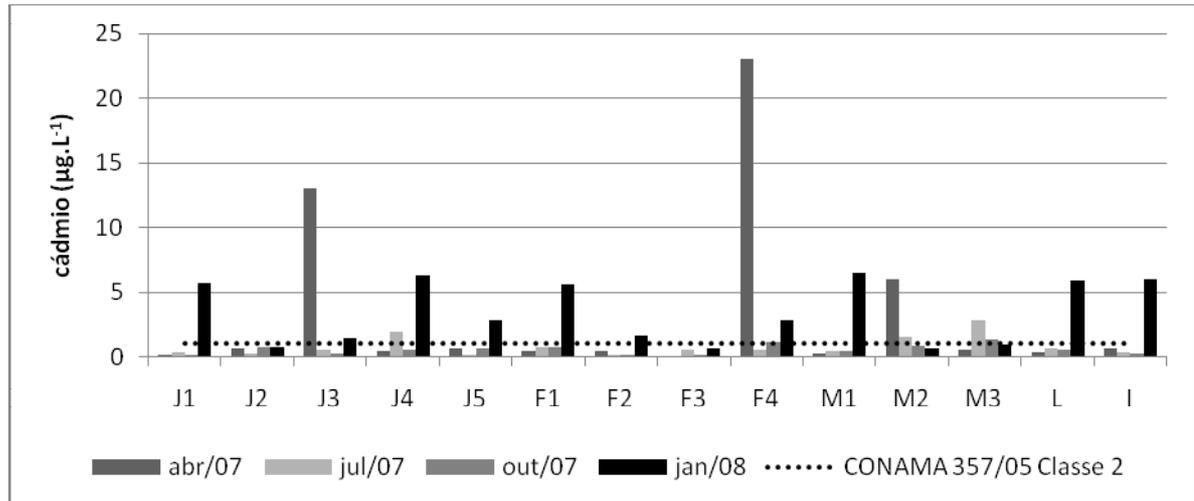


**Figura 2.20:** Variação concentração de sulfetos ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.1.12. Metais

##### **Cádmio**

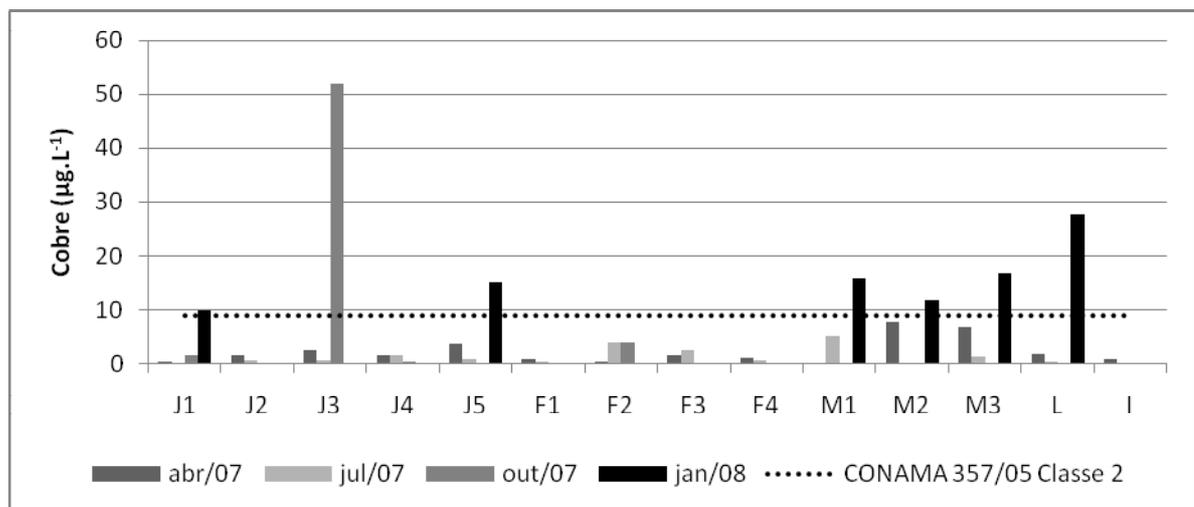
As maiores concentrações de cádmio na água foram detectadas em abril de 2007 e janeiro de 2008 (Figura 2.21). Com exceção dos pontos J2 e F3 todos os pontos classificados como classe 2 apresentaram as concentrações de cádmio acima de  $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ , valor estabelecido pela CONAMA 357/05. O ponto J5, enquadrado como classe 3 não apresentou valores de Cd acima de  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ , valor estabelecido pela CONAMA 357/05 para essa classe de uso. Já os pontos M2 e M3, classificados como classe de uso 4, não possuem valores estabelecidos pela legislação para essa variável.



**Figura 2.21:** Variação concentração de cádmio ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### Cobre

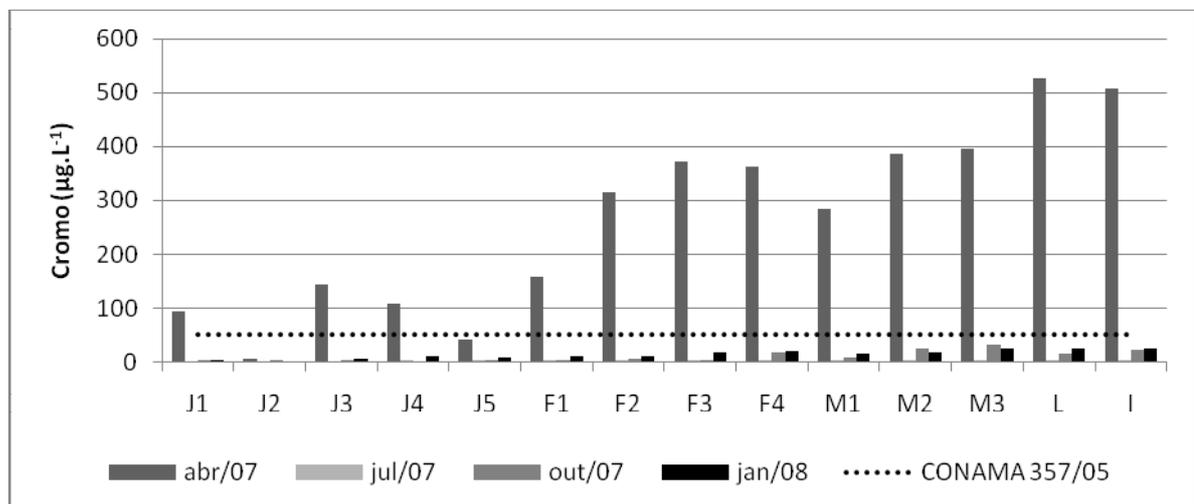
As menores concentrações de cobre foram verificadas em julho de 2007, enquanto os maiores valores foram encontrados em janeiro de 2008 (Figura 2.22). Os pontos J1, J3, M1 e J5 apresentaram concentrações acima do estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 2 e 3, de 9,0 e 13,3  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente.



**Figura 2.22:** Variação concentração de cobre ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

## Cromo

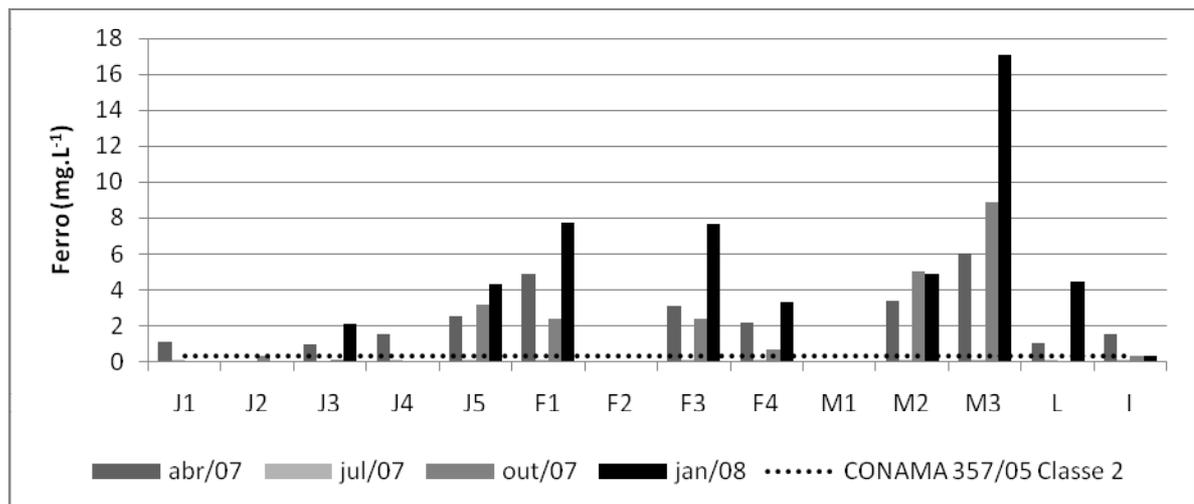
Assim como o cobre, as menores concentrações de cromo foram verificadas em julho de 2007. As amostras de água coletadas em abril de 2007 apresentaram concentrações de cromo acima do limite estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 2 e 3 ( $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), exceto no ponto J2. Os pontos M2 e M3, enquadrados como classe de uso 4 não possuem valores estabelecidos pela legislação para essa variável. Os maiores valores foram detectados em L ( $526 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e I ( $507 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) em abril de 2007 (Figura 2.23).



**Figura 2.23:** Variação concentração de cromo ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

## Ferro

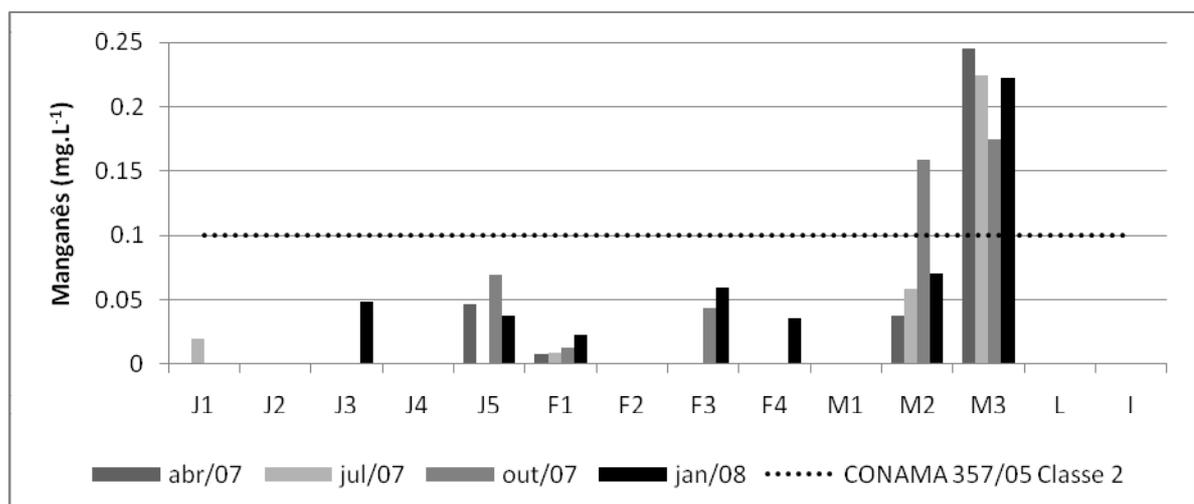
As maiores concentrações de ferro foram observadas em janeiro de 2008. Com exceção dos pontos F2 e M1, todos os pontos de coleta enquadrados na classe 2 apresentaram valores acima do estabelecido pela CONAMA 357/05, que é de  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ . Para rios de classe 3, a concentração de ferro estabelecida pela CONAMA 357/05 é de  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ , e J5, enquadrado nessa classe de uso, apresentou valores acima desse valor. Para a classe 4, a legislação também não apresenta valores estabelecidos para as concentrações de ferro. As menores concentrações foram observadas em julho de 2007 (Figura 2.24).



**Figura 2.24:** Variação concentração de ferro ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### Manganês

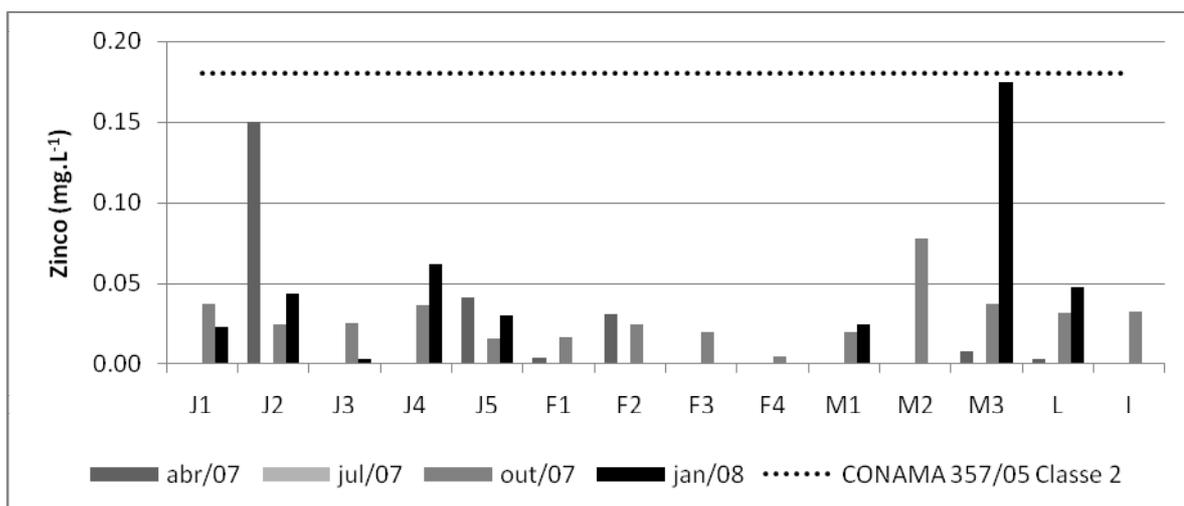
Não foi possível observar um padrão sazonal nas concentrações de manganês detectadas nas amostras de água do sistema. Nenhum dos valores detectados esteve acima do permitido pela CONAMA 357/05. Os valores mais elevados foram detectados nos pontos M2 e M3, mas como estão enquadrados como em classes de uso 4, estes não possuem limites estabelecidos pela CONAMA 357/05 (Figura 2.25).



**Figura 2.25:** Variação concentração de manganês ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

## Zinco

Assim como o manganês, não foi possível observar um padrão sazonal nas concentrações de zinco. Nenhum valor apresentou-se acima do estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 2, de  $0,18 \text{ mg.L}^{-1}$ , porém, valores limiares foram observados em J2 ( $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$ ) em abril de 2007 (Figura 2.26).



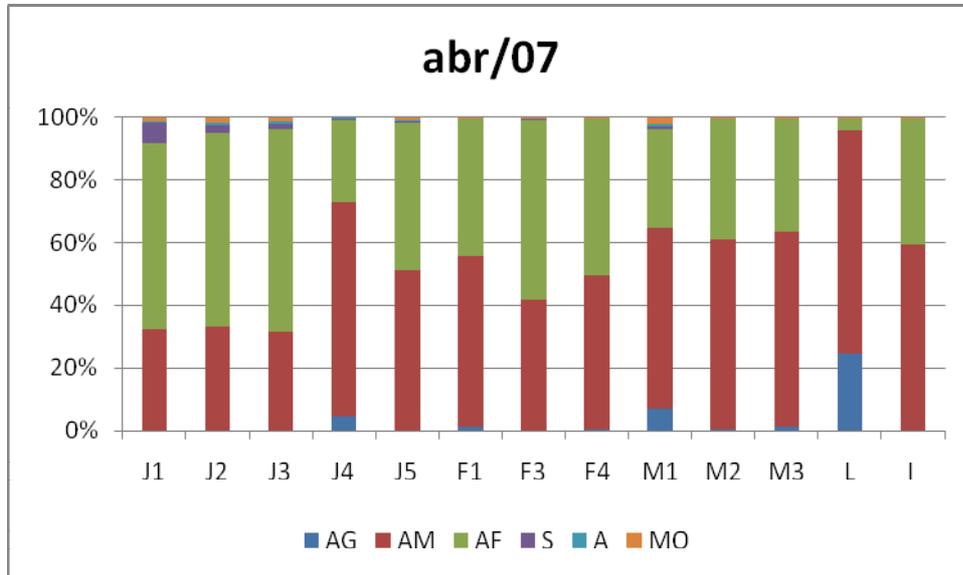
**Figura 2.26:** Variação concentração de zinco ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

## 4.2. Análises física e química do sedimento

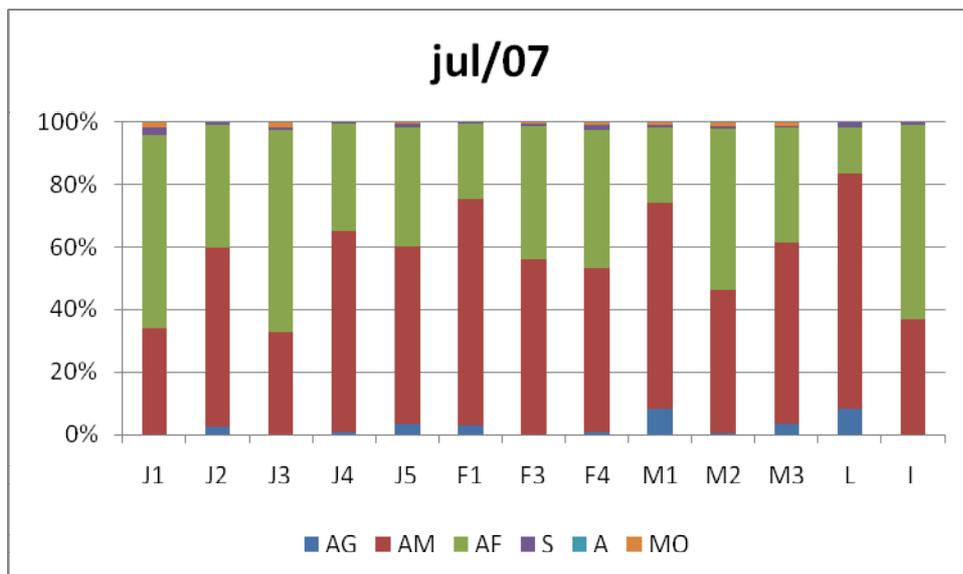
### 4.2.1. Granulometria

Os sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu são formados predominantemente por frações arenosas (areias grossa, média e fina). Em abril de 2007 verificou-se uma predominância de areia média e fina nos pontos de coleta (Figura 2.27). Em julho de 2007 também foi observada a predominância de areia média e fina nas amostras de sedimento da bacia (Figura 2.28). Nas amostras de sedimento de outubro de 2007 nota-se uma pequena mudança na composição granulométrica em M3, onde silte e matéria orgânica compõem 13 e 18% do sedimento, respectivamente (Figura 2.29). Em janeiro de 2008 a matéria orgânica

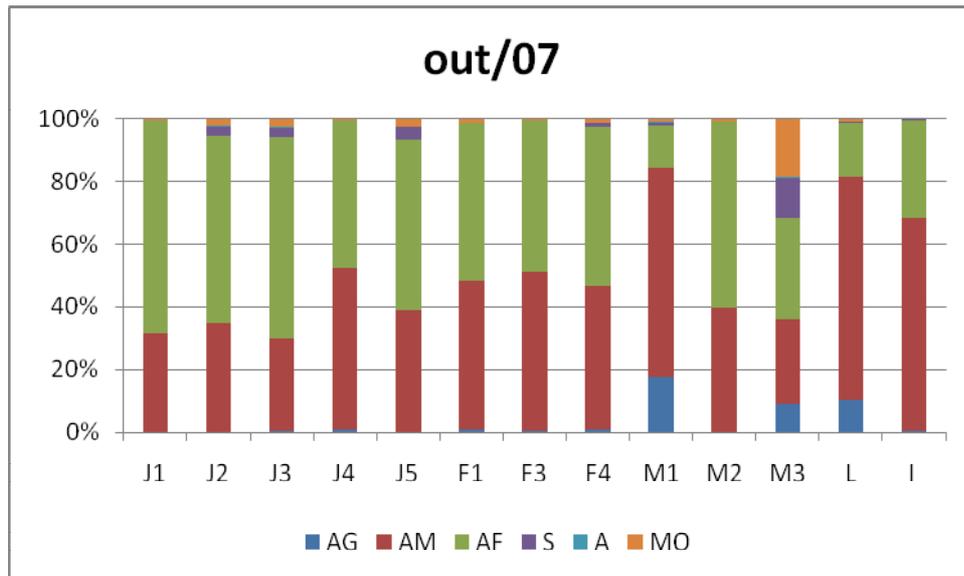
aumenta a contribuição na formação dos sedimentos da maioria dos pontos amostrados da bacia, chegando a 20% em J5 (Figura 2.30).



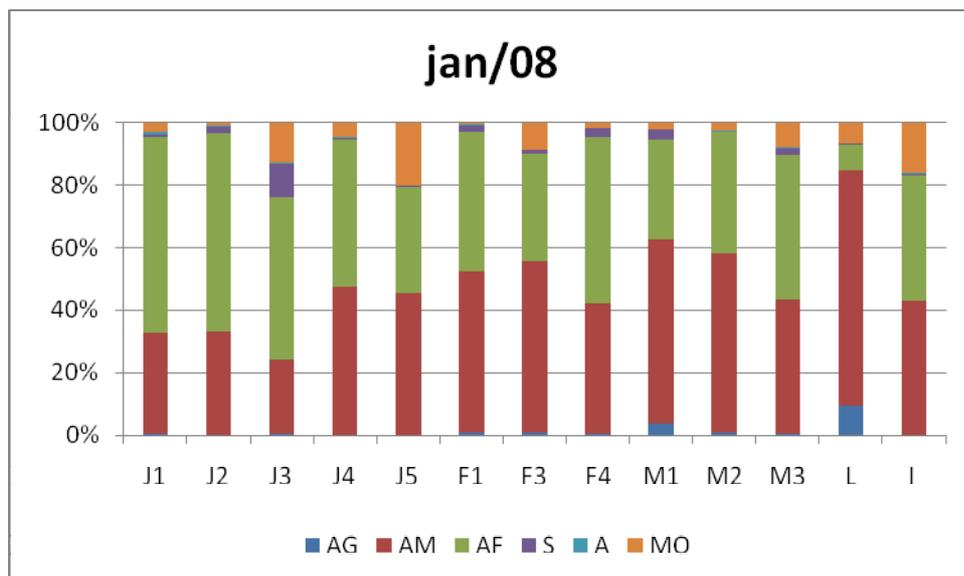
**Figura 2.27:** Variação espacial da composição granulométrica da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em abril de 2007. AG – Areia Grossa; AM – Areia Média; AF – Areia Fina; S – Silte; A – Argila; MO – Matéria Orgânica.



**Figura 2.28:** Variação espacial da composição granulométrica da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em julho de 2007. AG – Areia Grossa; AM – Areia Média; AF – Areia Fina; S – Silte; A – Argila; MO – Matéria Orgânica.



**Figura 2.29:** Variação espacial da composição granulométrica da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em outubro de 2007. AG – Areia Grossa; AM – Areia Média; AF – Areia Fina; S – Silte; A – Argila; MO – Matéria Orgânica.

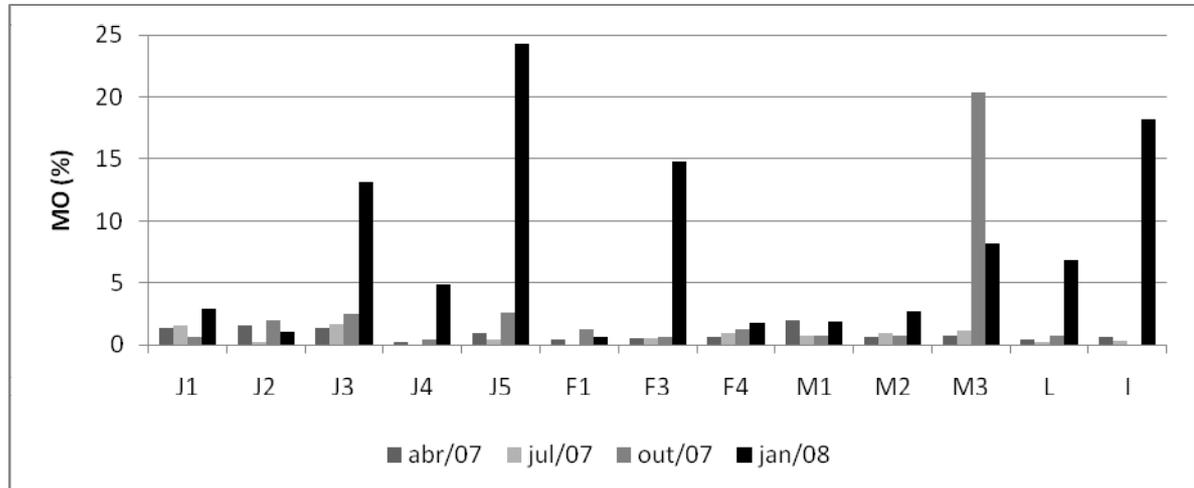


**Figura 2.30:** Variação espacial da composição granulométrica da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em janeiro de 2008. AG – Areia Grossa; AM – Areia Média; AF – Areia Fina; S – Silte; A – Argila; MO – Matéria Orgânica.

#### 4.2.2. Matéria Orgânica

As porcentagens de matéria orgânica (MO) nos sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu estiveram mais elevadas em janeiro de 2008 e em J2, F1 e M3 em outubro de 2007. Ao longo do período de estudo, os sedimentos apresentaram-se

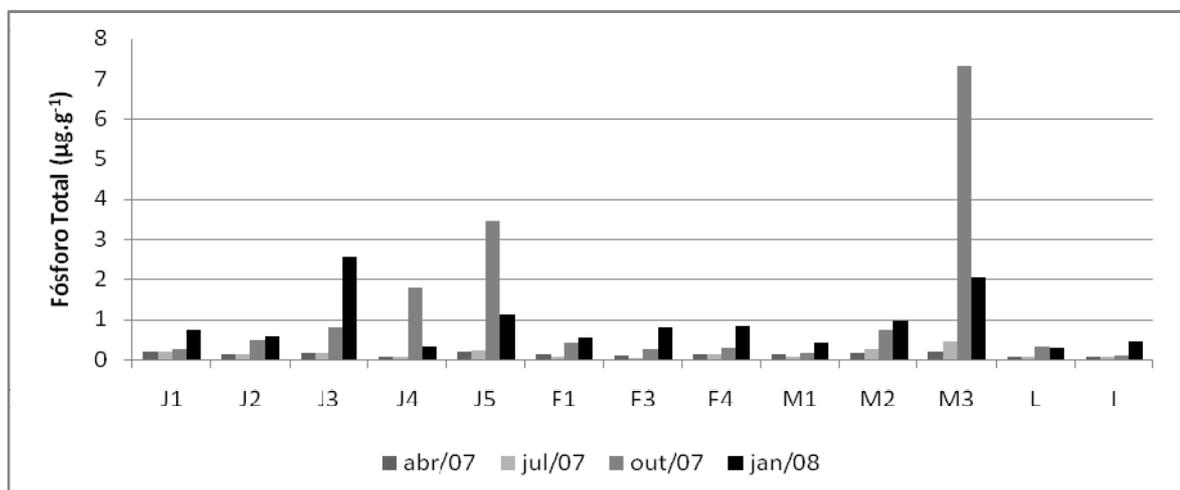
inorgânicos (< 10% de MO), com exceção de M3 (20,36%) em outubro de 2007 e de J3 (13,09%), J5 (24,24%), F3 (14,80%) e I (18,18%) em janeiro de 2008 (Figura 2.31).



**Figura 2.31:** Porcentagem de matéria orgânica no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.2.3. Fósforo Total

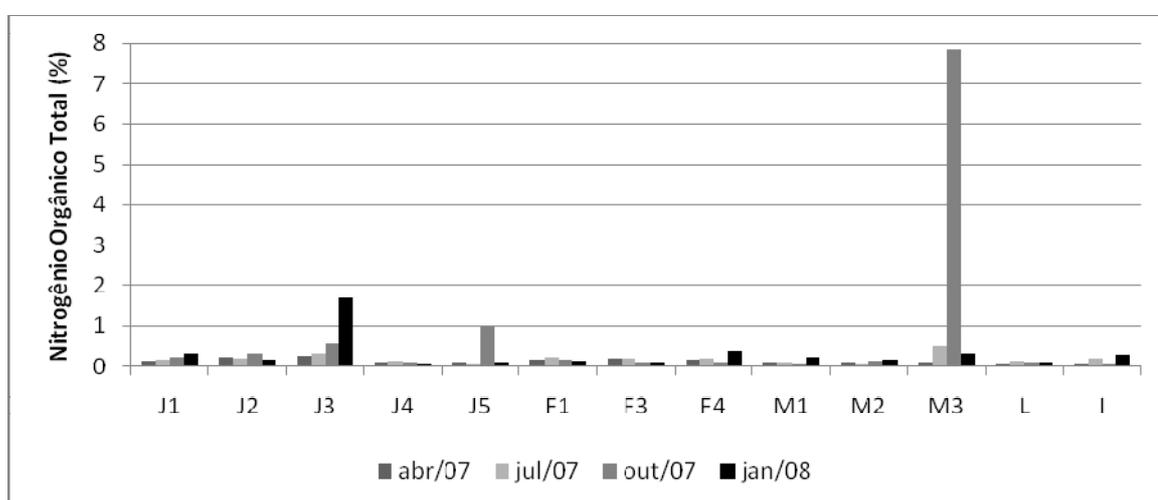
A maioria dos pontos de coleta apresentou tendência ao aumento das concentrações de fósforo total ao longo do período de estudo, com exceção de J4, J5 e M3, que apresentaram valores mais elevados em outubro de 2007 (Figura 2.32).



**Figura 2.32:** Variação da concentração de fósforo total ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.2.4. Nitrogênio Orgânico Total

Os maiores valores de nitrogênio orgânico total no sedimento foram observados em abril de 2007, com exceção de alguns pontos, como J5 e M3. Concentrações mais elevadas foram verificadas em J3, J5 e M3, bem como J1 e J2, que apresentaram valores mais elevados que os demais durante o período de estudo (Figura 2.33).

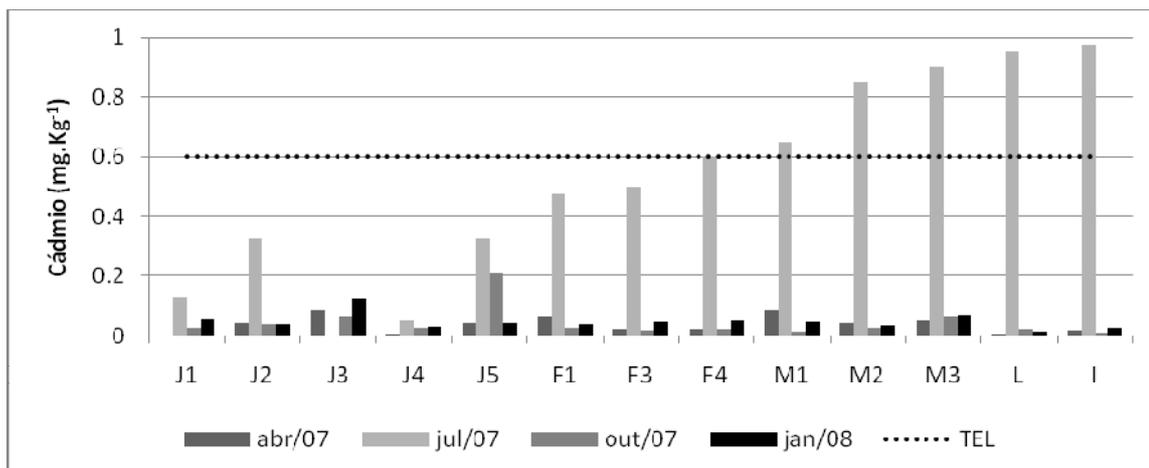


**Figura 2.33:** Variação percentagem de nitrogênio orgânico total (%) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

#### 4.2.5. Metais Biodisponíveis

##### **Cádmio**

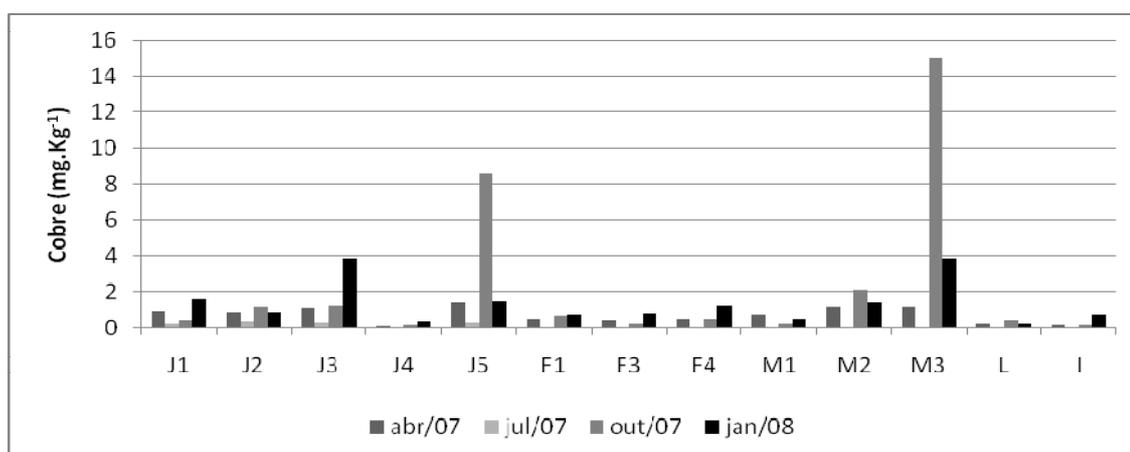
Em julho de 2007 foram verificadas as maiores concentrações de cádmio (Figura 2.34). Nesta época, os valores observados nos pontos M1 (0,65 mg.Kg<sup>-1</sup>), M2 (0,85 mg.Kg<sup>-1</sup>), M3 (0,9 mg.Kg<sup>-1</sup>), L (0,95 mg.Kg<sup>-1</sup>) e I (0,97 mg.Kg<sup>-1</sup>) estiveram acima da TEL (0,6 mg.Kg<sup>-1</sup>) (CCME, 2003).



**Figura 2.34:** Variação da concentração de cádmio ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### Cobre

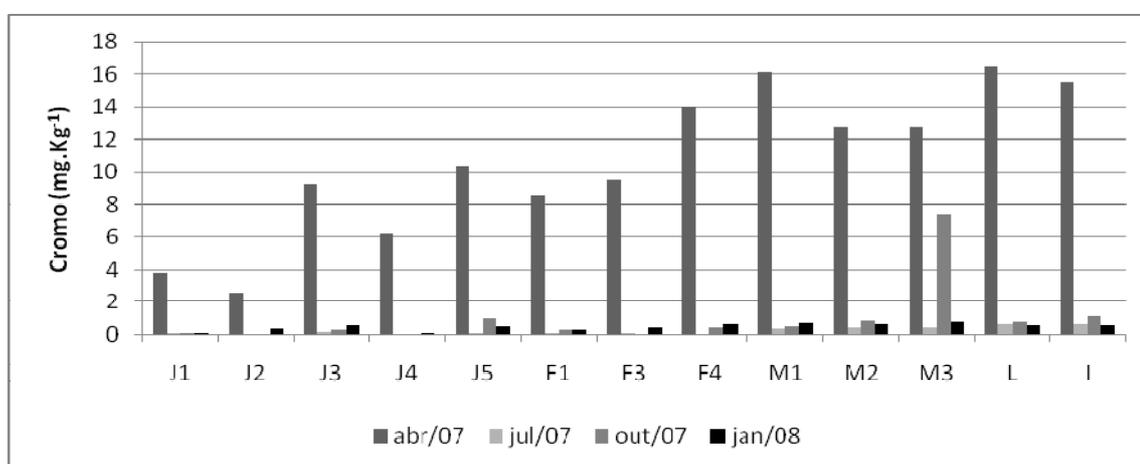
Os valores mais elevados de cobre foram detectados em outubro de 2007 e janeiro de 2008, com destaque para J5 ( $8,58 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) e M3 ( $15,04 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) em outubro de 2007 e para J3 e M3 ( $3,84 \text{ mg.Kg}^{-1}$  cada) em janeiro de 2008 (Figura 2.35). As concentrações observadas estiveram abaixo do limite da TEL ( $35,7 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) (CCME, 2003).



**Figura 2.35:** Variação da concentração de cobre ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

## Cromo

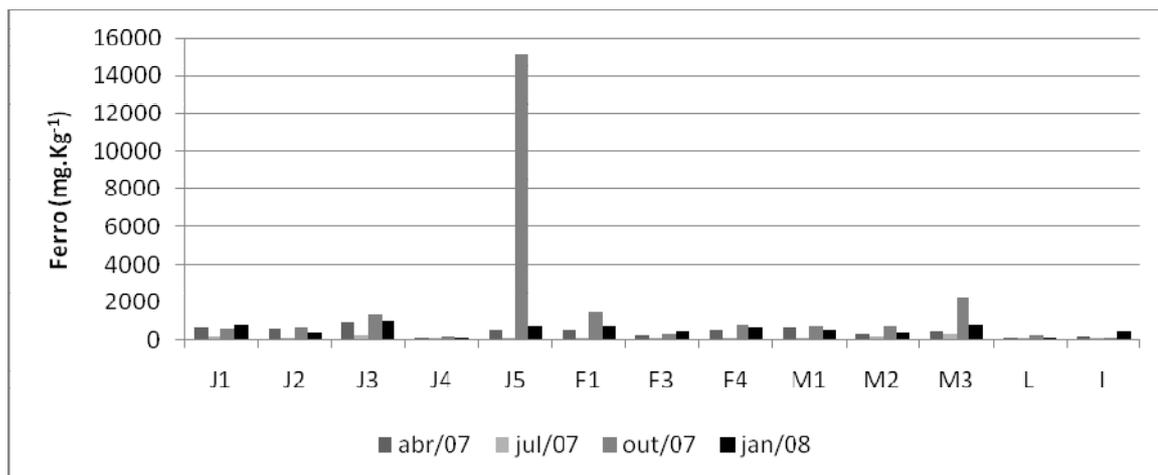
As concentrações de cromo nos sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu foram mais elevadas em abril de 2007 nos pontos L (16,45 mg.Kg<sup>-1</sup>), M1 (16,13 mg.Kg<sup>-1</sup>), I (15,50 mg.Kg<sup>-1</sup>) e F4 (14,03 mg.Kg<sup>-1</sup>). De modo geral, os menores valores foram encontrados em J1 (0,13 a 3,80 mg.Kg<sup>-1</sup>), J2 (0 a 2,55 mg.Kg<sup>-1</sup>) e J4 (0 a 6,25 mg.Kg<sup>-1</sup>), em todas as épocas de coleta (Figura 2.36). Os teores encontrados foram abaixo da TEL, 37,3 mg.Kg<sup>-1</sup> (CCME, 2003).



**Figura 2.36:** Variação da concentração de cromo (mg.Kg<sup>-1</sup>) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

## Ferro

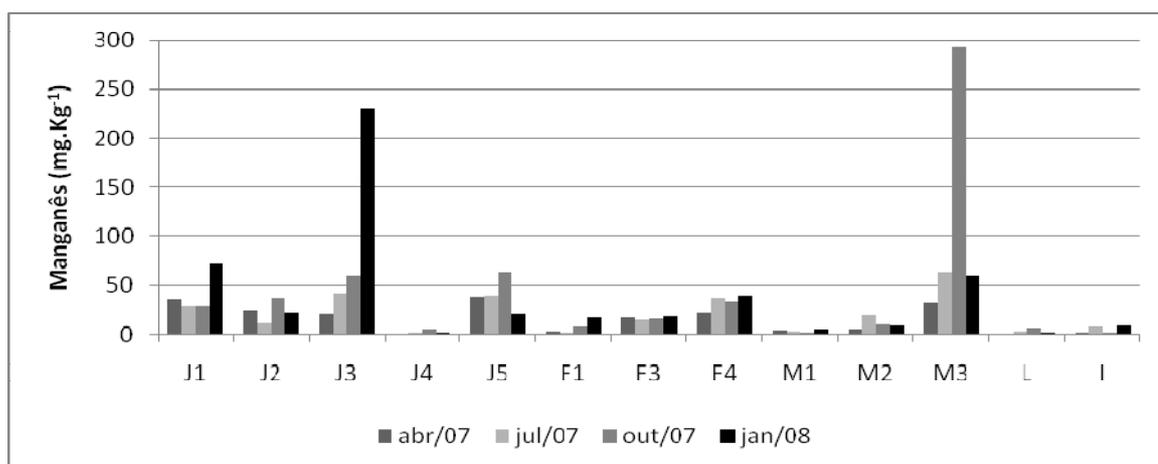
Os valores mais elevados foram observados em outubro de 2007 e janeiro de 2008, com destaque para o ponto J5 em outubro de 2007 (15186,80 mg.Kg<sup>-1</sup>) (Figura 2.37). Os maiores valores foram observados no ponto M3 (268,20 a 2212,60 mg.Kg<sup>-1</sup>), J3 (210,90 a 1302,58 mg.Kg<sup>-1</sup>) e F1 (89,95 a 1450,25 mg.Kg<sup>-1</sup>). Os menores teores de ferro foram encontrados nos pontos J4 (45,70 a 176,08 mg.Kg<sup>-1</sup>), L (16,33 a 243 mg.Kg<sup>-1</sup>) e I (3,55 a 412,63 mg.Kg<sup>-1</sup>).



**Figura 2.37:** Variação da concentração de ferro ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

### Manganês

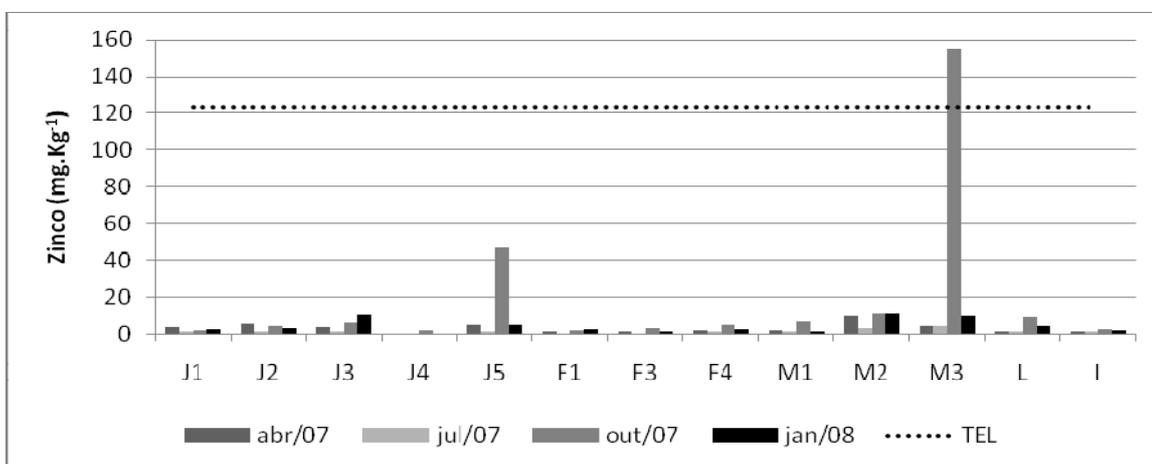
Os maiores teores de manganês foram verificados em outubro de 2007 e janeiro de 2008 (Figura 2.38), sendo verificados em J3 (20,90 a 229,19  $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) e M3 (32,50 a 292,50  $\text{mg.Kg}^{-1}$ ). Os valores mínimos foram detectados em J4 (0 a 5,67  $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) e L (0 a 6  $\text{mg.Kg}^{-1}$ ).



**Figura 2.38:** Variação da concentração de manganês ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

## Zinco

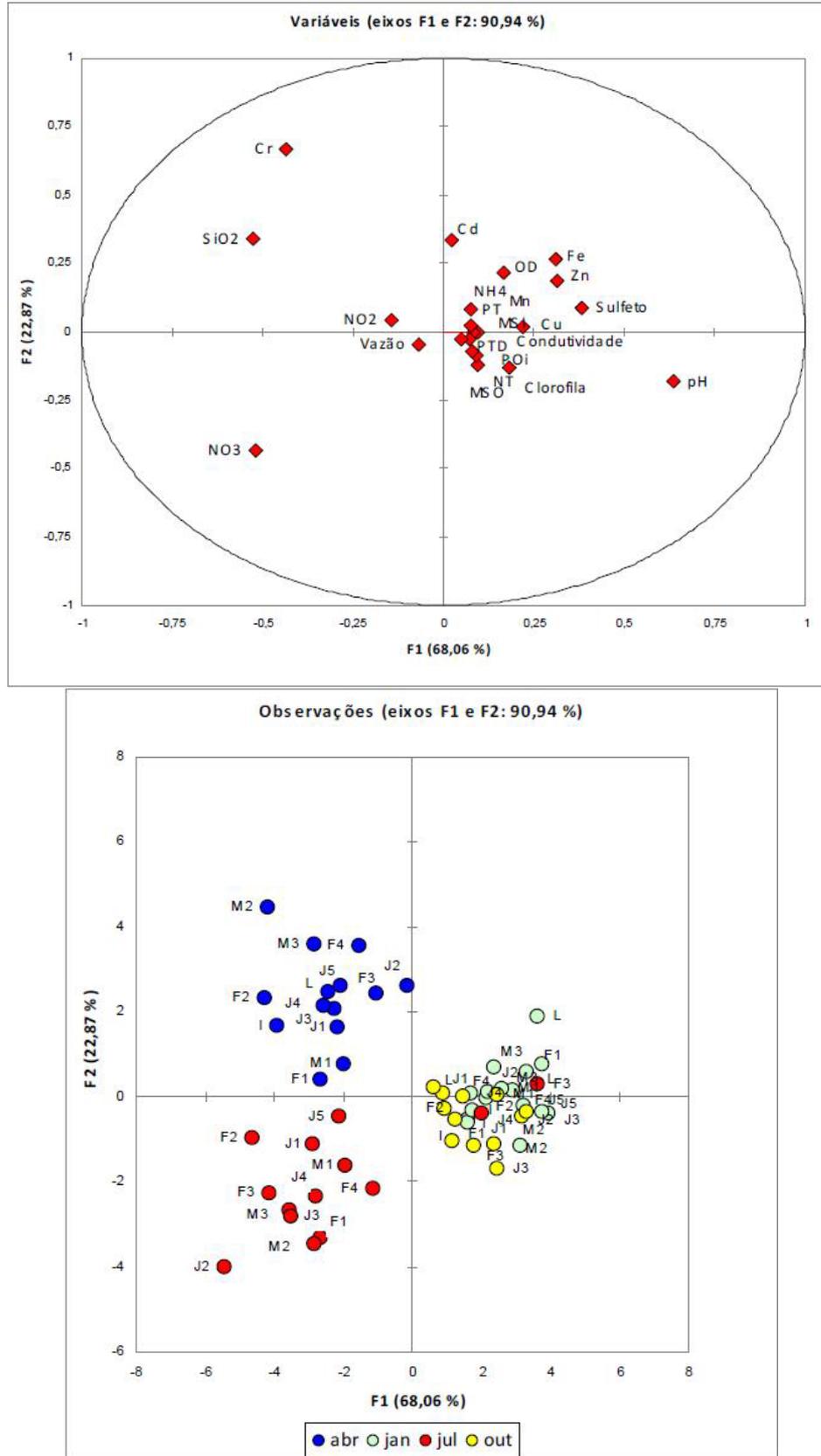
Em outubro de 2007 foram verificados os maiores valores de zinco, com destaque para J5 ( $46,56 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) e M3 ( $154,64 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) (Figura 2.39). O ponto M3 nesta época apresentou concentração acima da TEL, que é de  $123 \text{ mg.Kg}^{-1}$  (CCME, 2003). As menores concentrações de zinco foram observadas em J4 (0 a  $1,26 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ).



**Figura 2.39:** Variação da concentração de zinco ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) no sedimento dos pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo.

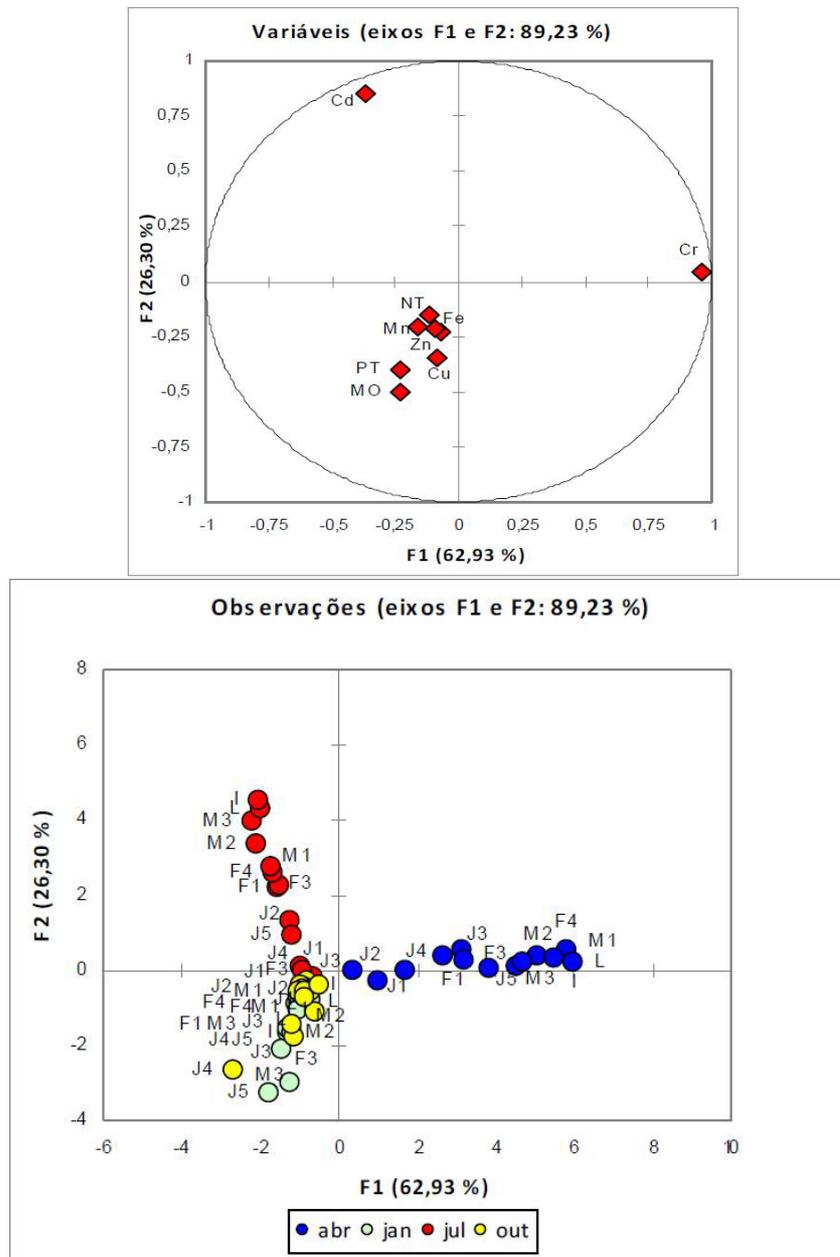
### 4.3. Análise Estatística

Com relação às variáveis das amostras de água, as épocas de outubro de 2007 e janeiro de 2008 foram mais semelhantes, influenciados pelos metais ferro, zinco, cobre e manganês, bem como pelos compostos de fósforo, pH, sulfetos, clorofila a e condutividade (Figura 2.40). Em abril de 2007, as concentrações de cromo, silicato reativo e nitrito foram as que mais influenciaram essa estação. Os pontos J2, F3 e F4 nessa época foram influenciados pela concentração de cádmio. A coleta de julho de 2007 foi influenciada pelas concentrações de nitrato e pela vazão, principalmente nos pontos J2, M2 e M3.



**Figura 2.40:** Análise de discriminantes baseada na covariância das variáveis das amostras de água da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu, durante o período de estudo.

Assim como para as amostras de água, as amostras de sedimento de outubro de 2007 e janeiro de 2008 foram as mais semelhantes, influenciadas pelas concentrações dos metais ferro, zinco, cobre e manganês, assim como as concentrações de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo total (Figura 2.41). Já os pontos em abril de 2007 foram influenciados pelas concentrações de cromo, enquanto os pontos em julho de 2007 foram fortemente influenciados pelas concentrações de cádmio.



**Figura 2.41:** Análise de discriminantes baseada na covariância das variáveis das amostras de sedimento da bacia hidrográfica do Alto Jacaré-Guaçu, durante o período de estudo.

## 5. Discussão

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

De maneira geral, os dados obtidos no presente estudo mostraram a degradação da bacia do Alto Jacaré-Guaçu que compromete os usos múltiplos desse sistema. Estudos anteriores na bacia já demonstraram condições semelhantes e que denotam preocupação em relação ao gerenciamento da bacia, como Peláez-Rodríguez (2001), Campagna (2005), Novelli (2005), Fracácio (2006) e Dornfeld (2006). A instalação da estação de tratamento de esgoto da cidade de São Carlos ocorreu em 2008, visando a melhoria das condições do sistema Monjolinho, que sofria com o despejo de esgotos domésticos in natura. Apesar de ser uma medida importante na tentativa de recuperar o sistema, ela não pode ser avaliada durante o período de estudo, uma vez que ocorreu após o término das campanhas de coleta.

A vazão de um corpo d'água afeta diretamente a sua capacidade de assimilar e transportar poluentes e está relacionada ao regime de chuvas e ao relevo (CHAPMAN, 1992; SÉ, 1992). Durante o período de estudo, a influência da época chuvosa foi observada nos maiores valores de vazão em janeiro de 2008. A variação longitudinal também foi verificada, com valores crescentes de vazão no sentido nascente-foz, no rio Monjolinho e no ribeirão do Feijão, resultante das crescentes cargas de lançamento de esgotos associados às fontes de poluição difusa nas áreas rurais, bem como da confluência de tributários.

O aumento da vazão no sentido nascente-foz foi acompanhado do aumento da condutividade, sólidos totais dissolvidos, material em suspensão, nitrogênio orgânico total, nitrito, amônio, dos compostos de fósforo e dos sulfetos. Todas estas variáveis estão relacionadas à entrada de material ao longo do curso do rio, principalmente de esgotos domésticos e industriais, bem como outras fontes de poluição difusa.

O aumento da vazão em janeiro de 2008 também influenciou a concentração de oxigênio dissolvido nos pontos de coleta, que promoveu uma maior movimentação do fluxo de água. No ponto M2 foram verificadas as menores

concentrações de oxigênio durante o estudo, chegando a  $0,19 \text{ mg.L}^{-1}$  em outubro de 2007, valor abaixo do estabelecido pela CONAMA 357/05 para rios de classe 4, no qual se enquadra esse ponto. Estas concentrações muito baixas de oxigênio foram resultado da degradação de matéria orgânica introduzida no sistema, inclusive esgotos e foram relatadas em estudo anterior na mesma área, para esse mesmo ponto de coleta (CAMPAGNA, 2005). Outros pontos com concentrações mais baixas de OD, como J4, M1, F1, L e I, assim como M2 estão inseridos na área rural, sugerindo que a intensa atividade agrícola que se desenvolve no entorno, contribui para a entrada matéria orgânica e também de fertilizantes no corpo d'água.

Os valores de pH levemente ácidos da bacia também foram encontrados no estudo de Peláez-Rodríguez (2001), onde o autor associou esse fato à característica ácida dos solos de cerrado que compõem o entorno da bacia de drenagem, cujo carreamento resultaria em águas também com características ácidas.

Com relação ao material em suspensão, destacam-se os pontos M2 e M3 com as maiores concentrações de material em suspensão total, inorgânico e orgânico, havendo a predominância de material inorgânico, em todas as épocas de coleta. Em outubro de 2007, houve uma predominância dos valores de material orgânico na composição do material em suspensão, com exceção de F3. Nas demais épocas, o material inorgânico foi mais significativo na maioria dos pontos, indicando contribuições naturais, como intemperismo de rochas, e antrópicas, como carreamento de solos da bacia de drenagem, para o sistema.

As concentrações elevadas de material orgânico em M2 e M3 podem ser resultantes da entrada de esgotos domésticos tanto em trechos a acima destes pontos, como também em afluentes do rio Monjolinho, como o córrego Água Quente (CAMPAGNA, 2005). Os elevados valores em J5 são decorrentes da contribuição do ponto M3, uma vez que esse ponto se situa um pouco antes da confluência do rio Monjolinho com o rio Jacaré-Guaçu. No ponto J5, ocorre apenas a diluição das concentrações verificadas em M3, com a entrada do rio Jacaré-Guaçu, resultando em concentrações mais elevadas de material em suspensão orgânico em relação aos demais pontos na bacia.

As concentrações de clorofila *a* estiveram mais elevadas em outubro de 2007, sendo que em J1 e J3, os valores ficaram acima do estabelecido pela CONAMA

357/05 para rios de classe 2. A maior atividade fotossintética em outubro de 2007 ocorreu juntamente com as maiores concentrações dos compostos de nitrogênio e fósforo, que atuam como fatores limitantes dessa função. Outro fator observado foi a elevação dos valores de pH também em outubro de 2007, já que os organismos autotróficos utilizam o gás carbônico do ambiente na atividade fotossintética, aumentando, assim, esses valores. Vale ressaltar que o aumento da concentração de clorofila a nos pontos J1 e J3 também são influenciados pelos represamentos a montante, a represa do Lobo e a represa Santana, respectivamente, desses pontos.

Os pontos que apresentaram as maiores concentrações dos compostos de nitrogênio e fósforo, bem como de clorofila a, estão situados em trechos rurais do sistema, com predominância de pastagens e culturas de cana-de-açúcar, laranja, milho e hortaliças. A atividade agrícola que se desenvolve no entorno do corpo d'água favorece a entrada de nutrientes no sistema pelo escoamento superficial de compostos químicos e fertilizantes utilizados nos cultivos e nos cuidados com as pastagens, bem como pelo manuseio e descarte incorretos das embalagens desses produtos.

Além de contribuir com a entrada de matéria orgânica no sistema, o despejo de esgotos domésticos sem tratamento é responsável pelo aumento de coliformes fecais nas amostras de água. O NMP de coliformes fecais indica, quantitativamente, a presença de bactérias da espécie *Escherichia coli*, que ocorre em grande quantidade no trato intestinal humano e de outros animais homeotermos, e são eliminada pelas fezes (BRANCO, 2002; BRIGANTE et al., 2002). A presença de coliformes fecais, sendo de origem intestinal, indica indiretamente a presença de microrganismos patogênicos, presentes nas fezes humanas (BRANCO, 2002). Os valores mais elevados do NMP de coliformes fecais foram encontrados no final do sistema, nos pontos M2, M3 e J5, influenciados pelo aporte de esgotos *in natura* lançados acima desses pontos no sistema. E os maiores valores foram observados em outubro de 2007 e janeiro de 2008, épocas onde provavelmente houve um maior carreamento de materiais da bacia para o rio, que explica também o maior NMP de coliformes em pontos localizados na área rural, como J2, J3, F3 e F4.

Alguns metais como o cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e ferro (Fe) são essenciais aos seres vivos, ainda que em pequenas concentrações (SILVA, 2002), e

têm importante papel no metabolismo dos organismos aquáticos, participando de um grande número de processos fisiológicos, como na cadeia respiratória, em que Fe e Cu fazem parte de citocromos e Fe faz parte da ferredoxina (ESTEVES, 1998). Outros, como o cádmio (Cd), não têm função biológica e são, geralmente, tóxicos a uma grande variedade de organismos. Mesmo aqueles elementos com função biológica definida, podem, quando em grandes concentrações, apresentar alta toxicidade aos organismos (ESTEVES, 1998).

Em relação aos metais avaliados, o Cu, Cd e Fe apresentaram concentrações mais elevadas em janeiro de 2008. Resultados semelhantes para o Cu também foram verificados por Peláez-Rodríguez (2001), em estudo na mesma região, quando o autor verificou valores mais elevados para o metal na época chuvosa. A presença de Cu foi associada anteriormente (CAMPAGNA, 2005) ao seu uso em atividades agrícolas da bacia, uma vez que o metal é amplamente utilizado como algicida e fungicida, bem como na preservação de madeira, em dejetos de produção intensiva de aves e porcos e em canalizações antigas para o abastecimento de água, que podem sofrer desgaste com o tempo.

Em relação ao Cd, a situação foi mais preocupante, uma vez que em todos os períodos de coleta foram detectadas concentrações do metal acima do permitido pela CONAMA 357/05. As concentrações de Cd inclusive aparecem com destaque na análise de discriminantes, influenciando os pontos de outubro de 2007 e janeiro de 2008. A presença do Cd no sistema, detectada em estudo anterior (CAMPAGNA, 2005), foi associada à sua presença em fertilizantes e agrotóxicos utilizados na área rural, bem como em processos industriais que se desenvolvem na cidade de São Carlos, como a galvanoplastia, metalurgia e fabricação de canalizações plásticas.

Com relação ao Fe, foram verificadas concentrações acima do estabelecido pela CONAMA 357/05, em todas as épocas, em pelo menos um ponto de coleta. Foi possível observar uma tendência de aumento das concentrações no sentido nascente-foz nos rios Jacaré-Guaçu e Monjolinho, sendo as maiores concentrações verificadas no ponto M3, que novamente, influenciaram as concentrações no ponto J5, situado a jusante. Segundo Sperling (1998), o ferro é um dos elementos mais abundantes da crosta terrestre, sendo constantemente encontrado em todos os

corpos d'água. Além disso, o ferro é um metal comum na composição do solo da bacia (BARRETO, 1999), daí os valores mais elevados desse elemento.

Outro metal verificado em concentrações acima do estabelecido pela CONAMA 357/05 foi o Cr, especialmente em abril de 2007, influência notada na análise de discriminantes. Foi possível verificar uma tendência de aumento da concentração de cromo no sentido nascente-foz nos rios Jacaré-Guaçu e Monjolinho e no ribeirão do Feijão. O cromo é um metal raramente encontrado em locais não poluídos, sendo possível atribuir a sua presença na bacia, aos efluentes gerados pelas indústrias localizadas no município de São Carlos (CAMPAGNA, 2005).

Com relação ao Mn e ao Zn, as concentrações não se apresentaram acima da CONAMA 357/05, no entanto, o ponto M3 se destacou com os maiores valores de manganês e zinco durante o estudo.

Apesar da concentração de metais em ambientes lóticos ser relacionada a fatores como variações sazonais no fluxo de água, pH e condições redox, níveis de salinidade, temperatura, características da bacia de drenagem, entre outros (FORSTNER; WITTMANN, 1983), as concentrações elevadas de alguns metais na bacia são resultantes de diferentes atividades que se desenvolvem na mesma, como despejo de efluentes domésticos, industriais e agrícolas. Essas influências são evidenciadas pela tendência de aumento do gradiente de metais das nascentes em direção à confluência dos rios estudados (ribeirão do Feijão e rios Jacaré-Guaçu, Monjolinho).

Estudos anteriores em rios da bacia (BARRETO, 1999; CAMPAGNA, 2005; PELÁEZ-RODRÍGUEZ, 2001) revelaram tendências e gradientes longitudinais e sazonais semelhantes, evidenciando a continuidade dos impactos no sistema analisado ao longo do tempo e a necessidade de um melhor gerenciamento dos recursos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu.

## 5.2. Variáveis físicas e químicas do sedimento

O sedimento é um componente importante na avaliação dos sistemas aquáticos, já que diversos mecanismos e processos de funcionamento destes ambientes ocorrem nesse compartimento e refletem tanto as influências antropogênicas, como os fatores naturais, como a geologia da bacia, clima da região e condições físicas, químicas e biológicas do sistema (JURACEK; MAU, 2003).

Os contaminantes são transportados para o ambiente aquático em solução ou ligados ao material em suspensão e, durante o transporte, são armazenados nos sedimentos de rios, lagos, estuários, águas costeiras e, finalmente, nos oceanos. Esse fato constitui um problema, uma vez que o sedimento pode constituir uma fonte de poluentes por muito tempo após a descarga dos mesmos no sistema (SOARES et al., 1999).

O tipo de solo da região de São Carlos é o Latossolo Vermelho Amarelo, resultando em sedimentos argilo-arenosos (CETESB, 2001), fato que foi confirmado pelas análises granulométricas. As areias média e fina foram as frações predominantes, seguidas pela argila e silte. Em outubro de 2007 e janeiro de 2008, houve uma predominância das frações granulométricas mais finas. Campagna (2005) em estudo anterior no rio Monjolinho também detectou predominância das frações de areia na composição granulométrica do sedimento.

O tamanho das partículas do sedimento estão diretamente relacionadas com a capacidade de adsorver poluentes. Assim, quanto menor o tamanho das partículas que compõem o sedimento, maior a superfície de contato e, portanto, maior a capacidade de ligação. As partículas com maior capacidade adsortiva são o silte e argila, enquanto a areia e pedregulho apresentam poucos sítios de ligação (SOARES et al., 1999).

Em abril e julho de 2007, os sedimentos apresentaram características inorgânicas, com concentrações de matéria orgânica abaixo dos 10% (ESTEVEZ, 1998). Em outubro de 2007 e janeiro de 2008, os sedimentos apresentaram um aumento do conteúdo orgânico do sedimento, especialmente nos pontos J3, J5, F3, M3 e I. As maiores concentrações de nitrogênio orgânico total e de fósforo total

também foram encontradas em outubro de 2007 e janeiro de 2008, com valores máximos em J3, J5 e M3. Houve uma tendência de aumento dos valores de nitrogênio e fósforo no sentido nascente-foz no rio Jacaré-Guaçu.

O teor de MO no sedimento depende de fatores externos e internos ao meio, como a precipitação pluviométrica, escoamento superficial, tipo de substrato, vegetação aquática e marginal, decomposição e influência antrópica, na forma de lançamento de efluentes domésticos e industriais, esgotos e presença de resíduos sólidos no local ou proximidades (BARRETO, 1999). As baixas concentrações de MO no sistema em estudo podem estar relacionadas ao transporte do sedimento, já que em sistemas lóticos, a vazão tem forte influência sobre a dinâmica dos poluentes. Já as concentrações mais elevadas de MO e nutrientes nos sedimentos dos pontos J3, J5 e M3, que se localizam em áreas rurais, podem ser resultado das atividades que se desenvolvem no entorno, como cultivo de cana-de-açúcar, laranja e milho, com uso intensivo de fertilizantes, além de serem pontos mais ao final do sistema, de modo que o aporte de materiais em função da vazão pode ter contribuído para esses valores.

Apesar de alguns valores mais elevados, na maioria dos pontos no presente estudo, as porcentagens de MO ficaram abaixo dos 10%, assim como no estudo de Barreto (1999) no rio Monjolinho.

No presente trabalho, as maiores concentrações de nitrogênio orgânico no sistema foram encontradas na época intermediária, entre as épocas seca e chuvosa, assim como os resultados obtidos por Campagna (2005). Porém as concentrações de nitrogênio orgânico total deste trabalho foram inferiores às encontradas em estudo anterior no rio Monjolinho (CAMPAGNA, 2005), apesar do sedimento em 2005 apresentar uma fração granulométrica mais fina e uma maior porcentagem de MO.

O aumento da concentração de fósforo total no sentido nascente-foz verificado no presente estudo, também foi observado por Campagna (2005) no rio Monjolinho. Isso demonstra a entrada material ao longo do sistema, tanto pela entrada de despejos domésticos e industriais, como pela confluência com afluentes.

Os pontos de coleta que apresentaram as frações granulométricas mais finas e as maiores concentrações de matéria orgânica (J3, J5 e M3) foram aqueles onde foram detectadas os maiores valores de nutrientes e metais biodisponíveis.

Os metais no sedimento são, geralmente, agrupados em duas categorias, litogênico ou antropogênico, de acordo com sua origem predominante. Elementos como o zircônio, rubídio e estrôncio são derivados de material de rochas de processos temporais naturais, constituindo o primeiro grupo. O segundo grupo é formado por metais que aparecem principalmente como resultado de atividades antropogênicas, incluindo, entre outros, o cromo, cobalto, níquel, cobre, zinco, cádmio, mercúrio e chumbo (SILVA, 2002).

Além da capacidade de armazenar metais, nos sedimentos ocorrem inúmeras transformações químicas desses elementos, uma vez que os processos ocorridos podem modificar as características físicas e químicas, alterando o equilíbrio entre as fases sólidas e dissolvidas (CAMPAGNA, 2005). As análises de metais no sedimento no presente estudo tratam do termo metais biodisponíveis. Biodisponibilidade é definida como a fração do total de contaminantes presentes na água intersticial e nas partículas de sedimento que estão disponíveis para a bioacumulação, sendo que a bioacumulação é a acumulação do contaminante por todas as rotas disponíveis ao organismo (LANDRUM; ROBBINS, 1990).

Sedimentos arenosos com baixas porcentagens de MO, como os do presente estudo, representam um potencial de liberação de poluentes para a coluna d'água. A MO no sedimento, tem a capacidade de ligar metais diminuída na seguinte seqüência: cobre, zinco, chumbo, cromo, níquel e cádmio (SOARES et al., 1999).

No Brasil, ainda não dispomos de uma critérios de qualidade como a CONAMA 357/05, que estabelece valores orientadores em razão de sua classificação para diferentes usos. Os valores encontrados nas amostras de sedimento do presente estudo foram comparados com os valores-guia de qualidade de sedimentos (VGQS) elaborados pelo Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME) em 2003. O guia estabelece valores limite que poderão (PEL – Probable Effect Level) ou não (TEL – Threshold Effect Level) causar efeitos tóxicos aos organismos bentônicos. O guia é bastante completo, pois se baseia em critérios químicos, toxicológicos e biológicos para a avaliação integrada de sedimentos. Os

valores-guia se referem às concentrações de metais totais, enquanto que no presente estudo foi avaliada apenas a fração biodisponível. Mesmo não existindo uma legislação específica para qualidade de sedimentos no Brasil, alguns autores (BAGGIO; HORN, 2010; BONANI, 2010; SILVA et al., 2010) utilizam a resolução CONAMA 344/04 como referência para a qualidade de sedimentos, que estabelece limite de nível 1, no qual se prevê baixa probabilidade de efeitos adversos à biota, e nível 2, acima do qual se prevê um provável efeito adverso à biota.

Os metais biodisponíveis no sedimento apresentaram, no geral, concentrações mais elevadas em outubro de 2007 e janeiro de 2008 nos pontos J3, J5 e M3. As concentrações de Cu, Cd e Cr apresentaram padrões sazonais e espaciais, havendo uma tendência de aumento das concentrações no sentido nascente-foz nos rios da bacia de estudo.

As maiores concentrações de Cu foram observadas em outubro de 2007 e janeiro de 2008. Pelaez-Rodríguez (2001) também verificou as concentrações mais elevadas de Cu na época chuvosa. O mesmo autor encontrou valores de Cu semelhantes às do presente estudo no ponto correspondente ao M3, de  $10,48 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , e relacionou esses valores às atividades agrícolas que se desenvolvem na bacia, porém os valores gerais encontrados no estudo estiveram cerca de 2 vezes menores que os encontrados no trabalho atual, evidenciando o aumento da poluição por esse metal na bacia.

Em relação ao Cd, os valores mais elevados foram encontrados em julho de 2007. As maiores concentrações na época seca podem ser resultado da menor vazão e pluviosidade, que favorecem a deposição de partículas no sedimento. As concentrações de Cd biodisponível nos pontos F4 ( $0,60 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ), M1 ( $0,65 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ), M2 ( $0,85 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ), M3 ( $0,90 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ), L ( $0,95 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ) e I ( $0,97 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ) ficaram acima de  $0,6 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ , valor da TEL (CCME, 2003) e concentração de nível 1 (CONAMA 344/04). Uma vez que o cádmio apresenta uma menor afinidade pela MO em relação a outros metais, as concentrações encontradas no sistema são preocupantes, principalmente em relação aos pontos M1, nascente do rio Monjolinho, e F4, captação de água para abastecimento da cidade de São Carlos. Outro fator preocupante é o fato de que no estudo anterior em 2001 (PELÁEZ-

RODRÍGUEZ, 2001) não foi detectada a presença desse metal nos sedimentos da bacia.

O Cr apresentou a tendência de aumento das concentrações no sentido nascente-foz, as concentrações mais elevadas do metal foram detectadas em abril de 2007, nos pontos F4 (14,02 mg.Kg<sup>-1</sup>), M1 (16,12 mg.Kg<sup>-1</sup>), M2 (12,80 mg.Kg<sup>-1</sup>), M3 (12,80 mg.Kg<sup>-1</sup>), L (16,45 mg.Kg<sup>-1</sup>) e I (15,50 mg.Kg<sup>-1</sup>). Assim como para o Cd, foram encontradas concentrações elevadas do Cr nos pontos da nascente do rio Monjolinho (M1) e na captação de água para abastecimento de São Carlos (F4). Embora Campagna (2005) tenha encontrado valores mais elevados de Cr no ponto correspondente a M1 do presente estudo, em 2001 (PELÁEZ-RODRÍGUEZ, 2001) esse metal não foi detectado nos sedimentos da bacia.

Os metais Fe, Mn e Zn não apresentaram uma tendência espacial de concentração, somente temporal, sendo outubro de 2007 e janeiro de 2008 as épocas com as maiores valores detectados. As maiores concentrações de Fe foram observadas no ponto J5 em outubro de 2007 (15186,80 mg.Kg<sup>-1</sup>), lembrando que esse elemento é abundante na bacia de drenagem (BARRETO, 1999) e sua presença em elevadas concentrações no final do sistema é resultante do crescente aporte de material rico em Fe ao longo do sistema, tanto de origem natural quanto antrópica, como no despejo de efluentes de indústrias de tintas, que são presentes no município (FRACÁCIO et al., 2000). Quanto ao Mn, as maiores concentrações foram verificadas no ponto M3 (292,50 mg.Kg<sup>-1</sup> em outubro de 2007) e J3 (229,19 mg.Kg<sup>-1</sup> em janeiro de 2008). O Mn faz parte da composição de alguns fertilizantes, o que pode explicar uma maior concentração desse elemento nos trechos rurais do sistema, como os pontos M3 e J3.

Em outubro de 2007 a concentração de Zn no ponto M3 (154,64 mg.Kg<sup>-1</sup>) ficou acima da TEL (123,0 mg.Kg<sup>-1</sup>). Entre as atividades desenvolvidas na cidade de São Carlos que contribuem para a disposição desse metal no ambiente estão as indústrias de tintas e papel (FRACÁCIO et al., 2000) e o uso de fertilizantes na região agrícola (TOREM; CUNHA; CASQUEIRA, 2002). Os valores de Zn na bacia estiveram cerca de quinze vezes maiores que os encontrados em estudo anterior da região (PELÁEZ-RODRÍGUEZ, 2001). Porém em outro estudo no rio Monjolinho (CAMPAGNA, 2005), as concentrações de zinco observadas estiveram cerca de 10

vezes maior que a do presente estudo, indicando uma diminuição da carga poluidora influenciada por esse elemento.

## **6. Conclusões**

As diversas atividades humanas que se desenvolvem no entorno da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, como as atividades agrícolas e o desenvolvimento urbano, em especial da cidade de São Carlos, aliadas à ausência de mata ciliar em diversas localidades, contribuem para um quadro de degradação do sistema, que compromete a sua qualidade e compromete os usos múltiplos das águas da bacia. O padrão crescente dos gradientes de condutividade, sólidos totais dissolvidos, material em suspensão, clorofila a, dos compostos de nitrogênio e fósforo e coliformes fecais no sentido nascente-foz evidenciam a entrada de materiais ao longo do sistema, que prejudicam não só localmente os corpos d'água em questão, mas todo o sistema do qual fazem parte e dele dependem.

## CAPÍTULO 3

### Avaliação ecotoxicológica da água da Bacia do Alto Jacaré-Guaçu

#### 1. Introdução

Pela sua importância com relação à fisiologia de todos os seres vivos e pela manutenção do equilíbrio interno dos corpos de água, os recursos hídricos devem ser objeto de atenção e de medidas de preservação da sua qualidade (BRANCO, 2002). Também deve-se considerar as perdas dos seus múltiplos usos frente a atual situação dos corpos de água em nosso país.

Padrões de qualidade de água têm sido estabelecidos ao longo do tempo para diversos usos. Entre estes, os padrões destinados ao consumo humano são os que têm merecido maior atenção, em função da preocupação do homem em preservar a sua espécie. Porém, esta preocupação pode causar interpretações errôneas de modo que se considere a qualidade exigida para o consumo humano seja a mesma necessária para a preservação de comunidades aquáticas (BERTOLETTI, 2000).

A maioria dos padrões de qualidade para proteção de comunidades aquáticas foram, e ainda são, estabelecidos com base em estudos de laboratório, entre eles, experimentos de bioacumulação, de comportamento e testes ecotoxicológicos, que fornecem conhecimentos básicos e custo reduzido, além de simular o que pode acontecer nos sistemas aquáticos com razoável aproximação (BERTOLETTI, 2000). Os testes de toxicidade aquática fornecem informações sobre o perigo potencial dos efeitos de uma substância tóxica aos organismos aquáticos, tais como letalidade, carcinogênese, mutagênese, teratogênese, desordens comportamentais, efeitos fisiológicos cumulativos, antagônicos e sinérgicos (BAUDO, 1987).

Quando se pretende avaliar o impacto de substâncias tóxicas em sistemas aquáticos, as análises que medem as concentrações dessas substâncias são importantes, porém, limitadas e insuficientes para a real compreensão dos

processos e interações das mesmas com o meio, com a biota e para a estimativa dos efeitos resultantes na estrutura e função ecológicas. Para suprir essas limitações, são utilizados testes ecotoxicológicos com organismos aquáticos, que permitem testar hipóteses mais abrangentes relativas à saúde dos sistemas hídricos submetidos às mais diversas formas de poluição hídrica (ESPÍNDOLA; BRIGANTE; DORNFELD, 2003). E, de modo a se ter uma estimativa mais adequada de concentrações de poluentes aceitáveis para a proteção da vida aquática, tornam-se indispensáveis a realização de testes de toxicidade crônica, onde é possível a avaliação de efeitos tóxicos produzidos por baixas concentrações de substâncias químicas sobre estádios de vida mais sensíveis dos organismos (BERTOLETTI, 2000).

Os testes de toxicidade têm se mostrado úteis na avaliação do risco ambiental e de poluentes químicos que possam trazer efeitos negativos sobre organismos aquáticos, devido à rapidez e ao seu baixo custo quando comparados com as análises químicas (BETTINETTI; GIAREI; PROVINI, 2003). Além disso, estes conseguem avaliar efeitos da combinação de diferentes poluentes sobre os organismos, pois na definição dos limites de metais na água, objetivando regulamentações legais para a preservação da vida aquática, não é considerado o efeito aditivo sinérgico ou antagônico de toxicidade advindo dos diferentes metais presentes nas amostras de água e sedimento (ESPÍNDOLA; BRIGANTE; DORNFELD, 2003).

Os testes de toxicidade podem ser do tipo agudo ou crônico, de acordo com a sua duração e efeitos avaliados. Nos testes de toxicidade crônica, os organismos são expostos continuamente aos produtos tóxicos por um período de tempo significativo do ciclo de vida, que pode variar de metade a dois terços do ciclo, (RAND; PETROCELLI, 1985). Nestes ensaios são avaliados os efeitos subletais sobre os organismos, tais como, alterações no crescimento, na reprodução, entre outros, os quais incluem mudanças no comportamento (dificuldade de movimentação; aumento na frequência da abertura do opérculo), na fisiologia, bioquímica e histologia (ADAMS, 1995; LAWS, 1993). Os testes de toxicidade parciais utilizam apenas parte do ciclo de vida dos organismos, preferencialmente, a mais sensível, onde são avaliados os mesmos efeitos (BURTON; MACPHERSON, 1995).

Os testes ecotoxicológicos em laboratório possibilitam, dentro de condições controladas, determinar as concentrações das substâncias químicas que causam efeitos adversos a organismos aquáticos. Entre as variáveis que podem ser controladas estão: fatores abióticos (pH, oxigênio dissolvido, temperatura, dureza, luminosidade, entre outros); substância química estudada (isolada ou em misturas); critérios para a avaliação do efeito danoso sobre os organismos (crescimento, reprodução, redução da sobrevivência); período de exposição dos indivíduos; concentrações de exposição do agente químico; espécies dos organismos, bem como a sua idade; e as condições de saúde e de cultivo dos organismos testados (BERTOLETTI, 2000).

Além dos testes de toxicidade em laboratório, estes podem ser também conduzidos *in situ*, de forma a integrar os efeitos de concentrações variadas de poluentes no ambiente em momento real. Eles têm a vantagem de medir diretamente os efeitos tóxicos de substâncias em organismos aquáticos, em tempo real. Entre as substâncias avaliadas estão poluentes perigosos conhecidos e desconhecidos, incluindo produtos resultantes de degradação (TONKES; DEN BESTEN; LEVERETT, 2005). Os testes promovem uma avaliação mais holística e, portanto, mais representativa dos efeitos de poluentes nos sistemas aquáticos do que o simples monitoramento das concentrações destes (LIBER et al., 2007; TONKES; DEN BESTEN; LEVERETT, 2005).

Os testes de toxicidade *in situ* são ferramentas importantes para avaliar o potencial de toxicidade do ambiente de forma mais ampla, uma vez que está sujeito às interferências locais, sendo esses complementares aos laboratoriais na avaliação ambiental. Porém, no Brasil, a realização de testes *in situ* ainda é incipiente, sendo necessário maior esforço para o estabelecimento de metodologias mais adequadas às condições encontradas em países tropicais, já que as adaptações de ensaios de regiões temperadas podem não ser totalmente satisfatórias (DORNFELD et al., 2006).

Apesar da crescente utilização dos testes ecotoxicológicos, no Brasil são poucas as espécies de organismos aquáticos empregados em métodos padronizados (BERTOLETTI, 2000). Entre os diversos grupos taxonômicos utilizados, estão os peixes. A importância da utilização desse grupo como

bioindicadores de toxicidade está centrada em dois fatores: ecológico, uma vez que, na maturidade, certos peixes ocupam níveis altos na cadeia trófica (BERTOLETTI, 2000; KÜSTER, 2005; TONISSI, 1999) e econômico, já que os mesmos representam importantes fontes de alimento para o homem, sendo de extrema importância estudos de bioacumulação e ecotoxicologia, que acabam por servir de referência em programas de saúde para as populações que dependem dessas fontes de alimento (KÜSTER, 2005; TONISSI, 1999). Além disso, os peixes estão entre os que mais despertam a sensibilidade de leigos, tanto pela fácil visibilidade, como pelo interesse comercial e recreacional das espécies de maior porte (BERTOLETTI, 2000).

O uso de espécies de pequeno porte facilita a execução dos testes em laboratório. Entre as espécies de peixes dulciaquícolas de pequeno porte utilizadas em ensaios ecotoxicológicos estão *Cheirodon notomelas* (piquira), *Hemigrammus marginatus* (bandeirinha), *Hyphessobrycon callistus* (mato-grosso), *Danio rerio* (paulistinha ou peixe-zebra) e *Poecilia reticulata* (guarú ou lebiste) (BERTOLETTI, 2000).

*Danio rerio* (Cypriniformes, Ciprinidae) é uma espécie ativa e, por isso, apresenta alta taxa respiratória, que permite que uma grande quantidade de água passe pelas brânquias, tornando a tomada de substâncias químicas do meio igualmente rápida (LLOYD, 1992). É ovípara, onívora, tem comprimento médio entre 3 e 5cm (ABNT 2003; NJIWA; MÜLLER; KLEIN, 2004), apresenta ciclo de vida curto (MAACK; SEGNER, 2003; NJIWA; MÜLLER; KLEIN, 2004) e, devido ao seu pequeno porte, requer pouco espaço e água para a realização dos testes (BERTOLETTI, 2000; LLOYD, 1992; MAACK; SEGNER, 2003). Além disso, pode ser facilmente obtida por meios comerciais ou pelo cultivo em laboratório, sem grandes custos, durante todas as épocas do ano (BERTOLETTI, 2000; MAACK; SEGNER, 2003; NJIWA; MÜLLER; KLEIN, 2004).

*Poecilia reticulata* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) é uma espécie ágil e de pequeno porte (machos em média com 3cm e fêmeas, 6cm). São facilmente cultivados e possuem ciclo de vida curto, são vivíparos, onívoros e possuem dimorfismo sexual em relação ao seu padrão de crescimento, tamanho e cores (REZNICK; ENDLER, 1982).

Bertoletti (2009) e Domingos e Bertoletti (2006) indicam o uso de *D. rerio* e *P. reticulata* rotineiramente em ensaios ecotoxicológicos dado que são espécies recomendadas internacionalmente com sensibilidade semelhante a espécies nativas e são facilmente cultivadas em laboratório ou adquiridas comercialmente com reprodução contínua ao longo do ano.

A escolha pelo uso de fases iniciais do desenvolvimento, tais como larvas e juvenis, baseia-se no fato de que estas são fases mais sensíveis aos efeitos danosos dos poluentes. Além disso, o uso de organismos jovens permite a avaliação de um efeito subletal como, por exemplo, no crescimento dos indivíduos expostos aos diferentes produtos químicos, onde baixas taxas de crescimento podem ser decorrentes tanto de um fornecimento inadequado de alimento, como também do aumento da atividade dos organismos associado à tentativa de evitar águas contaminadas, além do incremento no gasto de energia para a detoxificação de poluentes e no reparo celular (LLOYD, 1992).

Entre os efeitos subletais que podem ser avaliados, os danos histológicos são precedidos por respostas bioquímicas e fisiológicas e, uma vez detectados em organismos expostos em testes de toxicidade, os efeitos adversos são inquestionáveis (EWALD, 1995). Em peixes, a superfície corpórea e as brânquias são regiões de absorção primárias, sendo que, depois de assimilados, esses produtos podem ser encontrados no sangue ou se distribuírem pelos tecidos (RAND; PETROCELLI, 1985). De fato, Poleksić e Mitrović-Tutundižić (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. Além disso, conforme a severidade da lesão encontrada nas brânquias é possível conhecer a qualidade do ambiente, atribuindo graus de perturbação e poluição do sistema (CAMARGO; MARTINEZ, 2007).

## 2. Objetivo

O objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade de amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, por meio de ensaios em laboratório e *in situ*, utilizando juvenis de *Danio rerio* e *Poecilia reticulata*.

## 3. Material e Métodos

### 3.1. Manutenção dos organismos-teste

Os juvenis de *D. rerio* e *P. reticulata* foram obtidos comercialmente e mantidos em laboratório para aclimação por um período de 15 dias, antes de serem utilizados nos testes de toxicidade. Os organismos foram aclimatados em água reconstituída e, diariamente, foi substituída cerca de 1/3 da água de cultivo.

Os organismos foram mantidos em aquários com aeração constante, temperatura controlada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e a água reconstituída apresentava pH entre 7,0 e 7,6 e dureza total entre 40 e 48 mg  $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$  (ABNT, 2007). A alimentação foi ministrada diariamente, com ração obtida comercialmente, contendo cerca de 45% de proteína (Tetrafin<sup>®</sup>). Antes da realização dos testes (24h), a alimentação era suspensa.

### 3.2. Testes de sensibilidade

Cada lote de organismos adquirido teve a sua sensibilidade avaliada por meio de testes com uma substância de referência, o dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) (ABNT, 2004). Estes testes buscam avaliar a saúde dos organismos, de maneira a assegurar que a mortalidade dos mesmos nos testes de toxicidade sejam decorrentes das substâncias presentes nas amostras e não a problemas intrínsecos dos indivíduos.

Estes testes consistem na exposição dos organismos a diferentes concentrações da substância de referência por um período de 48 horas para *P. reticulata* e 96 horas para *D. rerio*, em regime estático. Ao final deste período, a mortalidade foi avaliada (ABNT, 2004) e os dados foram utilizados para o cálculo da concentração letal a 50% dos organismos (CL50). Os resultados de CL50 deveriam estar dentro da faixa de sensibilidade estabelecida por Campagna (2005).

### **3.3. Homogeneidade dos organismos-teste**

No início dos bioensaios, 10% do total de organismos utilizados foi avaliado biometricamente para averiguar a homogeneidade do lote. O peso total e comprimento padrão foram aferidos por meio de balança analítica e paquímetro. Os indivíduos utilizados neste procedimento foram descartados, pois seu manuseio desencadeia um processo de estresse nos mesmos.

### **3.4. Testes de toxicidade crônica-parciais com água**

Os testes de toxicidade crônica parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu seguiram as metodologias descritas em SEMA (1988) adaptadas para organismos juvenis de *D. rerio* e *P. reticulata*. A fase juvenil dos organismos foi identificada pelo tamanho dos organismos, seguindo a correlação com a maturação gonadal estabelecida por Maack e Segner (2003). Os organismos de *D. rerio* apresentaram comprimento padrão médio de  $1,41 \pm 0,23$  cm e de *P. reticulata*  $1,40 \pm 0,30$  cm.

Os testes foram estáticos, com duração de sete dias e contaram com três réplicas, com 10 organismos em cada amostra, inclusive controle, totalizando 30 organismos por tratamento. O controle foi mantido com água reconstituída, semelhante à do cultivo. Os testes foram mantidos com aeração constante, temperatura ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e fotoperíodo controlados (12:12h claro: escuro) e os organismos foram alimentados diariamente. As variáveis pH, condutividade, dureza,

oxigênio dissolvido e sobrevivência foram avaliadas a cada 48 horas e os organismos mortos foram retirados.

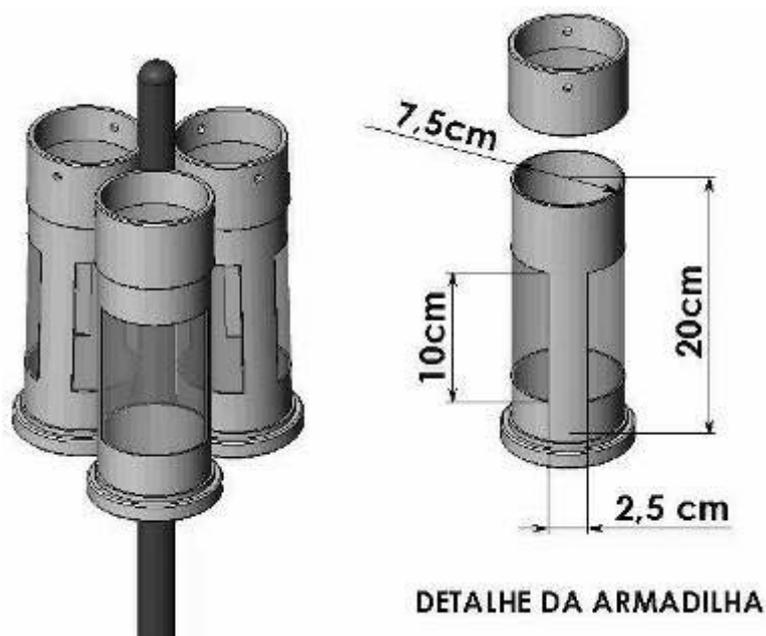
Ao final dos testes, a sobrevivência dos organismos em cada ponto de coleta foi comparada com controle por meio do teste exato de Fisher, utilizando o BioEstat 3.0 (Ayres et al., 2003). Os sobreviventes foram avaliados biometricamente quanto ao peso e comprimento padrão. Os pesos e comprimentos dos organismos expostos às amostras de água foram comparados aos pesos e comprimentos dos organismos mantidos no controle com o auxílio do teste estatístico de Mann-Whitney, também utilizando o BioEstat 3.0 (Ayres et al., 2003). A toxicidade crônica foi constatada quando diferenças significativas foram observadas entre os grupos de amostras e o controle, seja na sobrevivência e/ou crescimento dos organismos.

### **3.5. Testes *in situ***

Os testes de toxicidade *in situ* seguiram a metodologia indicada por Burton (1992) e foram realizados apenas nos períodos seco e chuvoso do estudo e, em três pontos do sistema, J1, J3 e J5. Estes pontos foram selecionados por se localizarem no rio Jacaré-Guaçu, sendo um ao início (J1), um intermediário (J3) e um ao final (J5) do sistema avaliado.

Na manhã do dia da montagem dos experimentos *in situ*, os organismos foram separados em grupos de 10 em sacos plásticos contendo água reconstituída. Para o transporte, os sacos foram colocados em caixa de isopor.

Assim que chegaram a campo, os sacos plásticos com os organismos a serem utilizados no local eram retirados e colocados em contato com a água do ponto por cerca de 20 minutos, para estabilização da temperatura. As câmaras-teste foram feitas de PVC e possuíam 20 cm de comprimento, 7,5 cm de diâmetro e capacidade para 900 mL, com aberturas superior e inferior e duas aberturas laterais paralelas, recobertas de tela de nylon, com abertura de 1mm (Figura 3.1). As câmaras ficaram presas verticalmente a estacas de madeira, em grupos de 3 (representando as 3 réplicas para cada ponto), que foram fixadas no rio mantendo contato direto com a água e o sedimento do rio.



**Figura 3.1:** Esquema das câmaras-teste utilizadas nos testes *in situ* no rio Jacaré-Guaçu.

Foram utilizados 10 peixes juvenis em cada réplica, totalizando 30 organismos expostos, de cada espécie, em cada estação de amostragem. A duração dos testes foi de 96 horas, sendo que no início e final dos experimentos, os parâmetros físicos e químicos foram medidos com o medidor portátil Horiba-U10. Os testes *in situ* foram realizados em três pontos de coleta representativos do rio Jacaré-Guaçu, uma vez que um maior número de pontos de coleta acarretaria em estresse aos organismos-teste, considerando a distância entre os pontos e o tempo de montagem dos experimentos em cada local.

A escolha pela realização de testes de toxicidade aguda, de apenas 96 horas, foi baseada em estudo anterior (FRACÁCIO, 2006) por conta do risco de roubo e perda das câmaras-teste; dos custos para o monitoramento dos experimentos em períodos mais longos, bem como pela distância entre os pontos de coleta.

Assim como nos testes de toxicidade crônica parcial com amostras de água, ao final dos testes, a sobrevivência e crescimento dos organismos foram avaliadas e comparadas com o controle mantido com água reconstituída em laboratório.

### 3.6. Estudos histológicos

Os organismos sobreviventes dos testes de toxicidade crônica parcial com amostras de água e dos testes de toxicidade aguda *in situ* foram encaminhados para análise histológica de brânquias. A avaliação histológica foi conduzida segundo a prática rotineira utilizada no Laboratório de Dinâmica de Populações de Peixes, no Departamento de Hidrobiologia da UFSCar. Os organismos foram fixados em Bouin por 18 horas e, posteriormente, lavados em água corrente por 24 horas. Depois os organismos foram submetidos à uma desidratação prévia em uma série de alcoóis (de 30 a 70%, substituídos a cada 24 horas) para preservação em álcool 70%. A seguir, os organismos foram desidratados em uma bateria de alcoóis, diafanizados em xilol e incluídos em parafina.

A trimagem para a obtenção dos cortes seriados (4-6 micrômetros) foi efetuada em micrótomo MICRON HM 340E utilizando-se navalha de aço. Depois, o material foi corado com hematoxilina-eosina (HE) e analisado sob microscópio óptico.

A morfologia de brânquias foi analisada e o tipo e grau das alterações encontradas foram classificadas conforme os critérios descritos por Poleksić e Mitrović-Tutundižić (1994) (Tabela 3.1).

**Tabela 3.1:** Principais alterações histológicas branquiais e estágios da lesão correspondente (POLEKSIĆ; MITROVIĆ-TUTUNDIŽIĆ, 1994). Fonte: Fracácio (2006).

<b>LESÕES BRANQUIAIS</b>	<b>ESTÁGIO</b>
Hipertrofia do tecido respiratório	I
Desprendimento das células do epitélio	I
Infiltração de leucócitos no epitélio branquial	I
Adelgaçamento 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
Fusão de várias lamelas secundárias	I
Diminuição no tamanho das lamelas secundárias	I
Fusão completa de todas as lamelas secundárias	II
Hipertrofia e hiperplasia 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

## 4. Resultados

### 4.1. Homogeneidade dos organismos-teste

Os lotes de juvenis de *D. rerio* e *P. reticulata* adquiridos durante o período de estudo para a realização dos testes com amostras de água em laboratório e *in situ* apresentaram relação peso-comprimento significativa, indicando homogeneidade dos lotes de organismos (Tabelas 1 e 2 – Apêndice B).

### 4.2. Testes de sensibilidade

Os lotes de *D. rerio* utilizados nos testes com amostras de água e *in situ* apresentaram a sensibilidade ao  $K_2Cr_2O_7$  dentro da faixa estabelecida. A carta

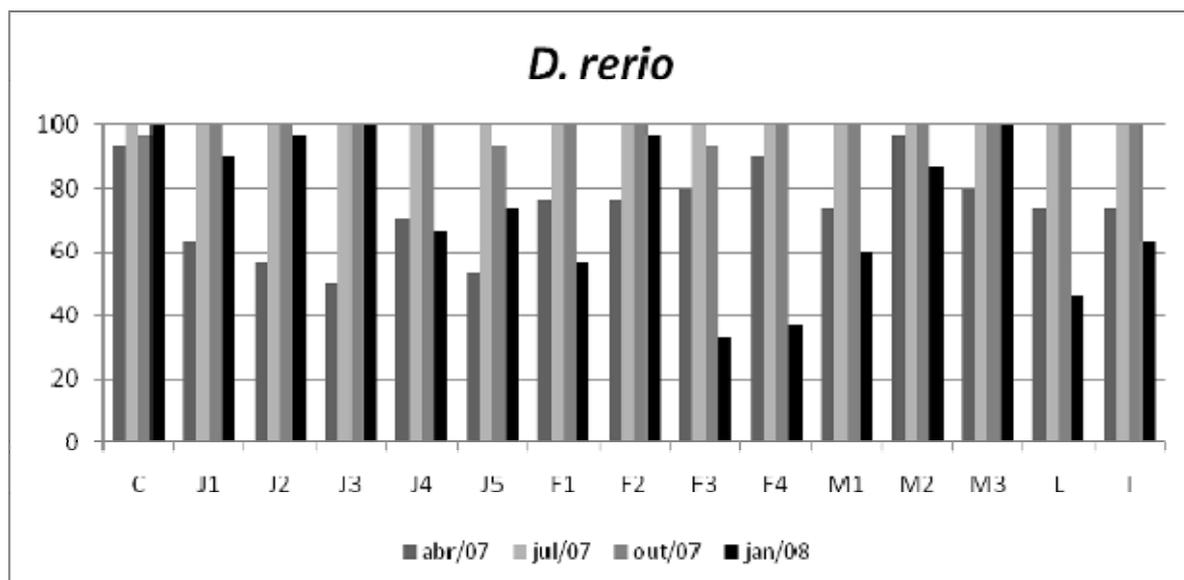
controle, elaborada segundo os critérios da USEPA (1995) e ABNT (2004), apresentou os valores médios (X) de CL50;96h de 112,54 mg.L<sup>-1</sup> de dicromato de potássio. O desvio padrão (DP) foi de 24,58, de modo que o limite superior (X+2DP) foi 161,70 mg.L<sup>-1</sup> e o limite inferior foi de 63,38 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 1 – Apêndice A).

Para *P. reticulata*, os valores de CL50;48h, em relação ao dicromato de potássio, estiveram dentro do estabelecido. De acordo com o modelo da USEPA (1994) e ABNT (2004), os valores médios (X) de CL50;48h foi de 86,04 mg.L<sup>-1</sup>. O desvio padrão (DP) foi de 24,35, sendo o limite superior (X+2DP) 143,74 mg.L<sup>-1</sup> e o limite inferior (X-2DP) 37,34 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 2 – Apêndice A).

### **4.3. Testes de toxicidade crônica parcial com água em laboratório**

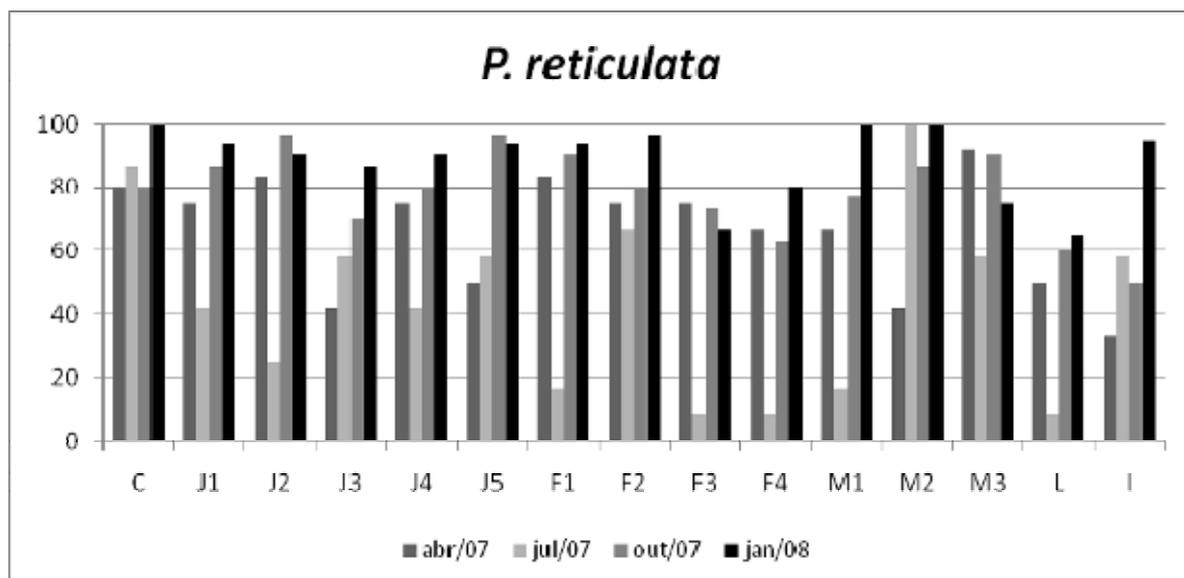
#### **4.3.1. Sobrevivência e Crescimento**

Para *D. rerio*, as amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu avaliadas em laboratório apresentaram toxicidade crônica em abril de 2007 com diferenças significativas na sobrevivência dos organismos (nos pontos J1, J2, J3, J4, J5, M1, L e I) e no crescimento dos organismos (nos pontos J1, J3, J4, J5, F2, F3, F4, M1, M2, M3 e L). Em julho de 2007 não foram verificados efeitos na sobrevivência dos organismos, mas efeitos adversos foram observados no crescimento dos organismos (nos pontos F4, M1, M2, M3, L e I). As amostras coletadas em outubro de 2007 resultaram nas maiores porcentagens de sobrevivência dos organismos, sem efeitos significativos em relação ao controle e, em relação ao crescimento dos organismos, foi a época que apresentou o menor número de pontos que afetaram adversamente os organismos (nos pontos J4, F2 e M1). Em janeiro de 2008 a sobrevivência de *D. rerio* voltou a ser afetada (nos pontos J4, J5, F1, F3, F4, M1, L e I) e no crescimento dos organismos (nos pontos J3, J4, F2 e F4). (Figura 3.2; Tabelas 3, 4 e 5 – Apêndice B).



**Figura 3.2:** Porcentagem de sobrevivência de juvenis de *D. rerio* expostos nos testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em todas as campanhas de coleta.

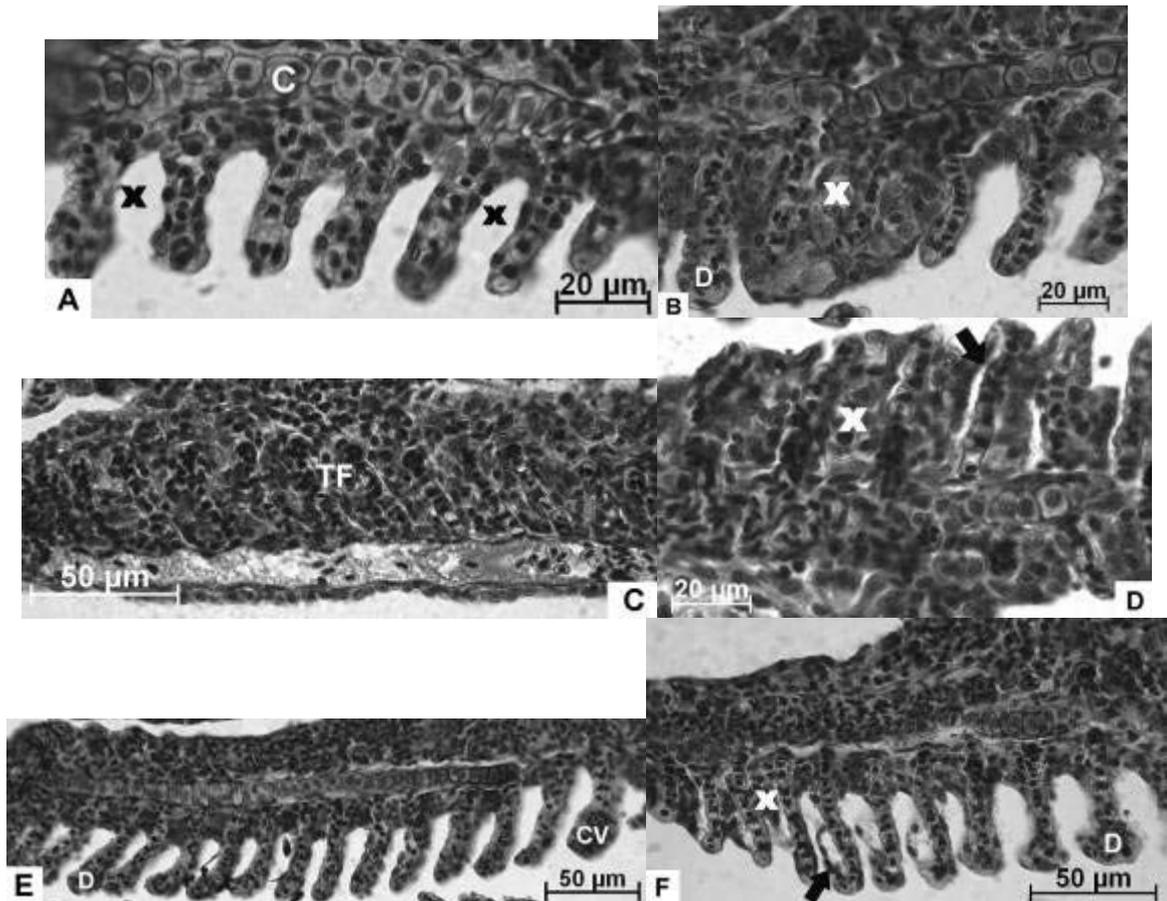
Para a espécie *P. reticulata*, as amostras coletadas em abril de 2007, apresentaram efeitos crônicos na sobrevivência dos organismos (nos pontos J3, M2 e I) e no crescimento dos juvenis (nos pontos J1, J4, F1, F4, M3 e L). As amostras de água coletadas em julho de 2007 afetaram significativamente a sobrevivência de *P. reticulata* em um maior número de pontos (nos pontos J1, J2, J4, F1, F3, F4, M1 e L) e, em função da baixa sobrevivência, não foi possível avaliar o crescimento dos organismos em todos os pontos, sendo o comprimento adversamente afetado em J5. Para a época de outubro de 2007, a sobrevivência dos organismos foi significativamente menor no ponto I (50%) e o crescimento dos organismos foi afetado nos pontos J4, J5, F2 e F4. E, em janeiro de 2008, a sobrevivência de *P. reticulata* foi adversamente afetada nos pontos F3, F4, M3 e L, enquanto o crescimento foi significativamente menor no ponto F2 (Figura 3.3; Tabelas 6, 7 e 8 – Apêndice B).



**Figura 3.3:** Porcentagem de sobrevivência de juvenis de *P. reticulata* expostos nos testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em todas as campanhas de coleta.

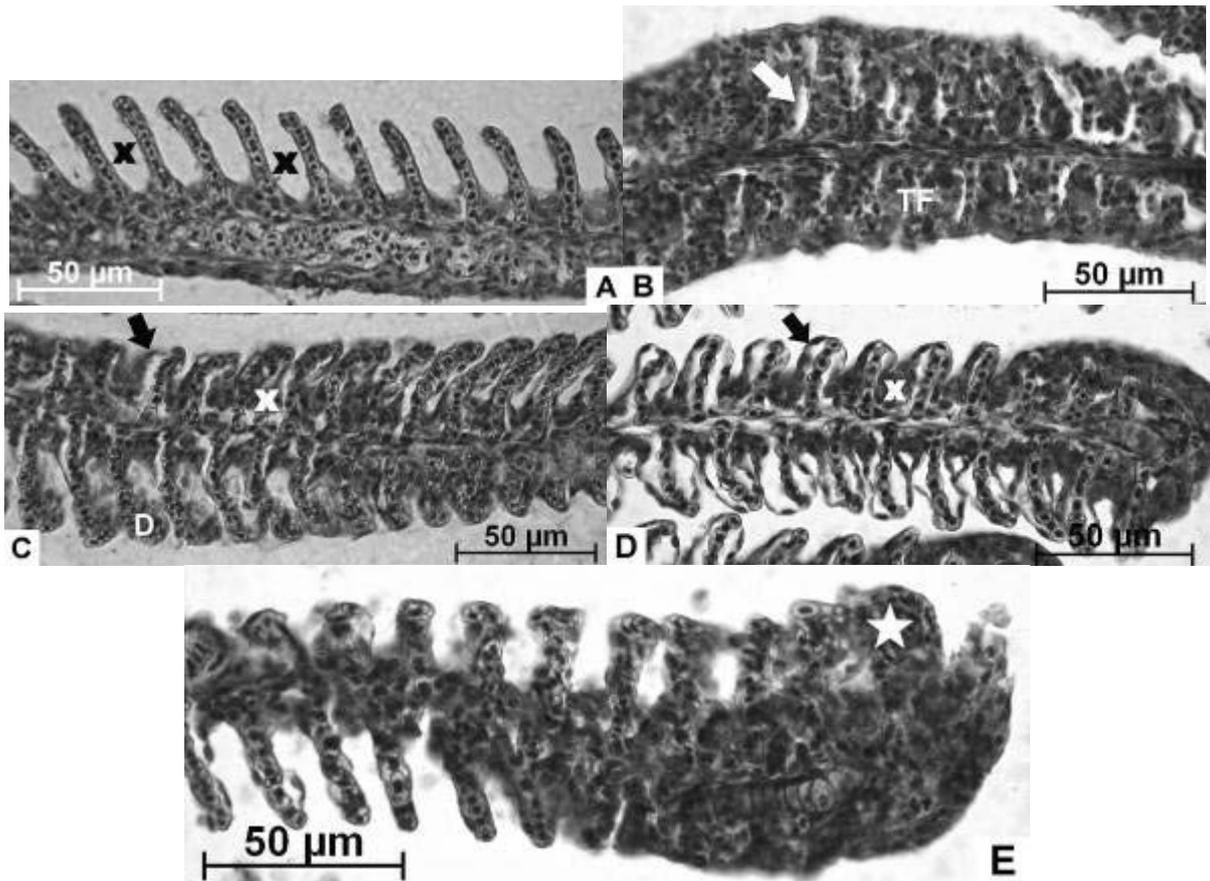
#### 4.3.2. Análise histológica de brânquias

Os indivíduos de *D. rerio* do lote utilizado nos testes com água em abril de 2007, mantidos em condições controle, apresentaram desenvolvimento normal das estruturas branquiais, incluindo lamelas secundárias bem desenvolvidas e espaços interlamelares bem definidos (Figura 3.4 **A**). Os organismos de *D. rerio* expostos às amostras de água coletadas em abril de 2007 apresentaram, em todos os pontos de coleta, lesões de primeiro estágio, principalmente hiperplasia das células epiteliais e espessamento de vasos sanguíneos das lamelas secundárias, porém alguns organismos apresentaram lesões mais graves, como congestões vasculares (M1), aneurisma (F1), a fusão completa das lamelas secundárias e a dilatação do seio venoso central (ambas em J2) (Figura 3.4).



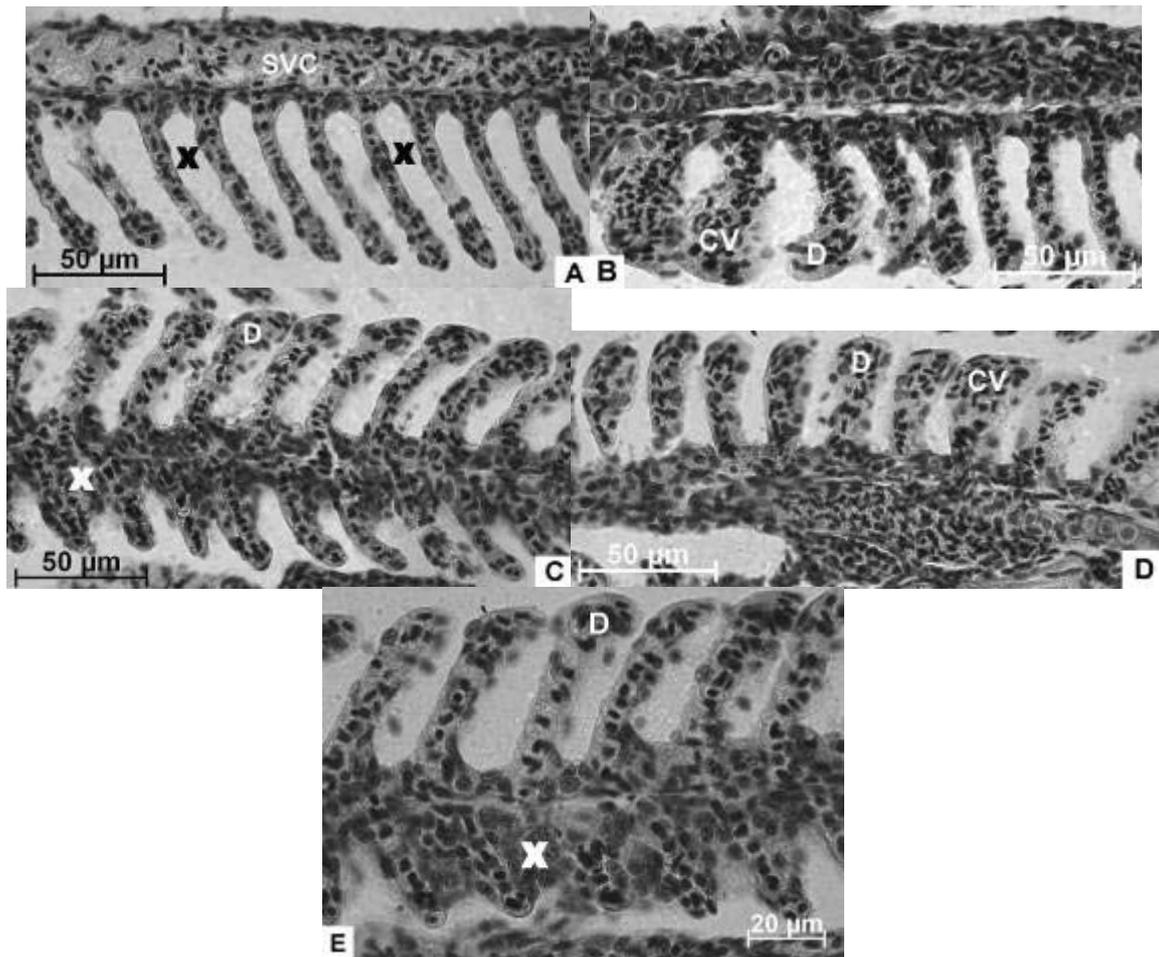
**Figura 3.4:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *D. rerio* submetidos aos testes com água em abril de 2007. **A.** Organismos mantidos no controle mostrando os espaços interlamelares bem definidos (X) e suporte cartilaginoso (C). **B.** J1. **C.** J2. **D.** J4. **E.** M1. **F.** I. Observar proliferação de células entre lamelas (X), inclusive a fusão completa de todas as lamelas secundárias (TF), desprendimento de células do epitélio (setas), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida da presença de congestão vascular (CV). Coloração: HE.

Os organismos de *P. reticulata* mantidos em condições controle em abril de 2007 apresentaram brânquias com morfologia normal, semelhantes às de *D. rerio* (Figura 3.5 **A**). Todos os indivíduos expostos às amostras de água coletadas em abril de 2007 apresentaram hiperplasia e o desprendimento de células do epitélio. Na maioria dos pontos apresentaram dilatações nas extremidades das lamelas secundárias (J3, J4, J5, F2, F4, M1, M2, M3, L e I) e, em alguns pontos de coleta, aneurismas (J5 e F4), produção de muco (F4) e a fusão completa de lamelas secundárias (J1) (Figura 3.5).



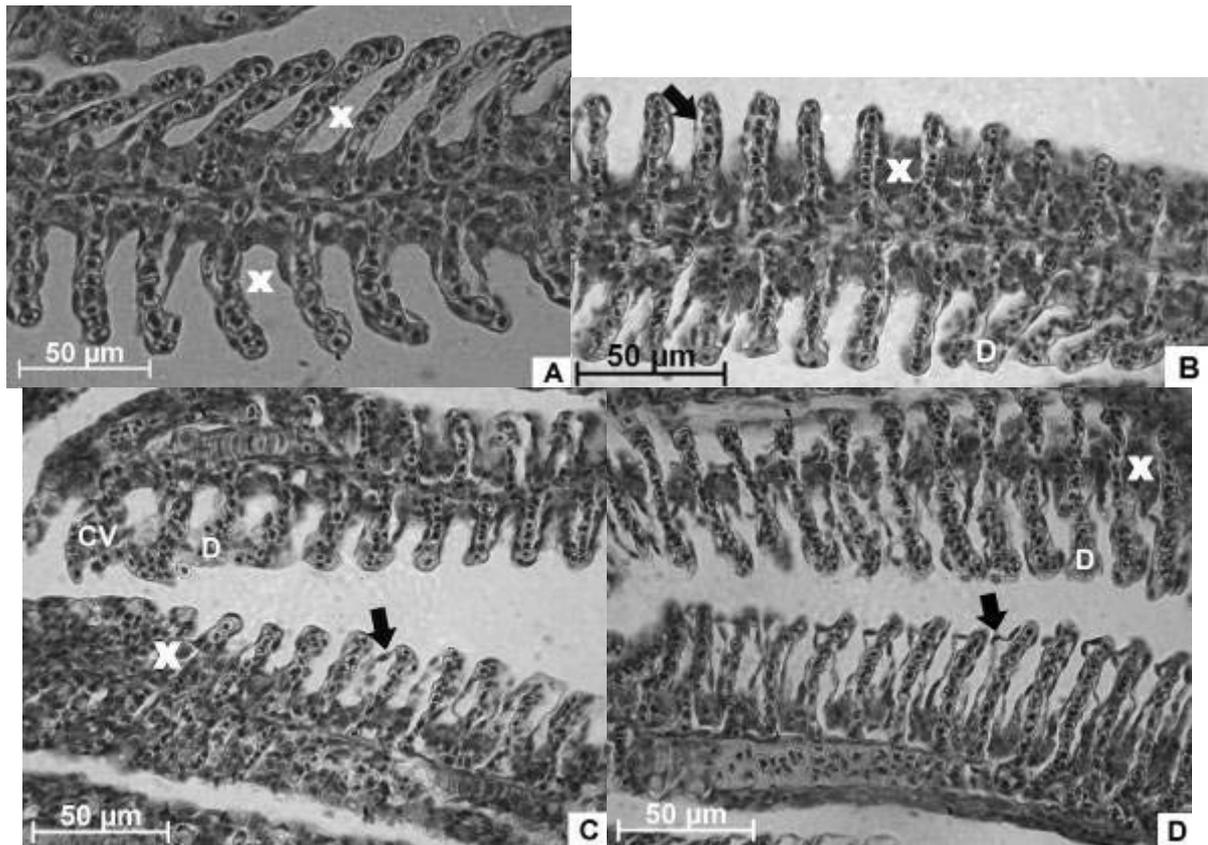
**Figura 3.5:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *P. reticulata* utilizados em testes com amostras de água em abril de 2007. **A.** Indivíduo mantido em condições controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas e os espaços interlamelares bem definidos (X). **B.** J1. **C.** J4. **D.** F3. **E.** F4. Notar a proliferação de células entre lamelas (X), inclusive a fusão completa de todas as lamelas secundárias (TF), desprendimento de células do epitélio (setas), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) além da presença de aneurisma (Estrela). Coloração: HE.

Em julho de 2007, os indivíduos de *D. rerio* expostos a todas as amostras de água apresentaram proliferação de células entre lamelas e dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias. Além destas alterações, foi notada a presença de congestão vascular em J4 e F4 (Figura 3.6).



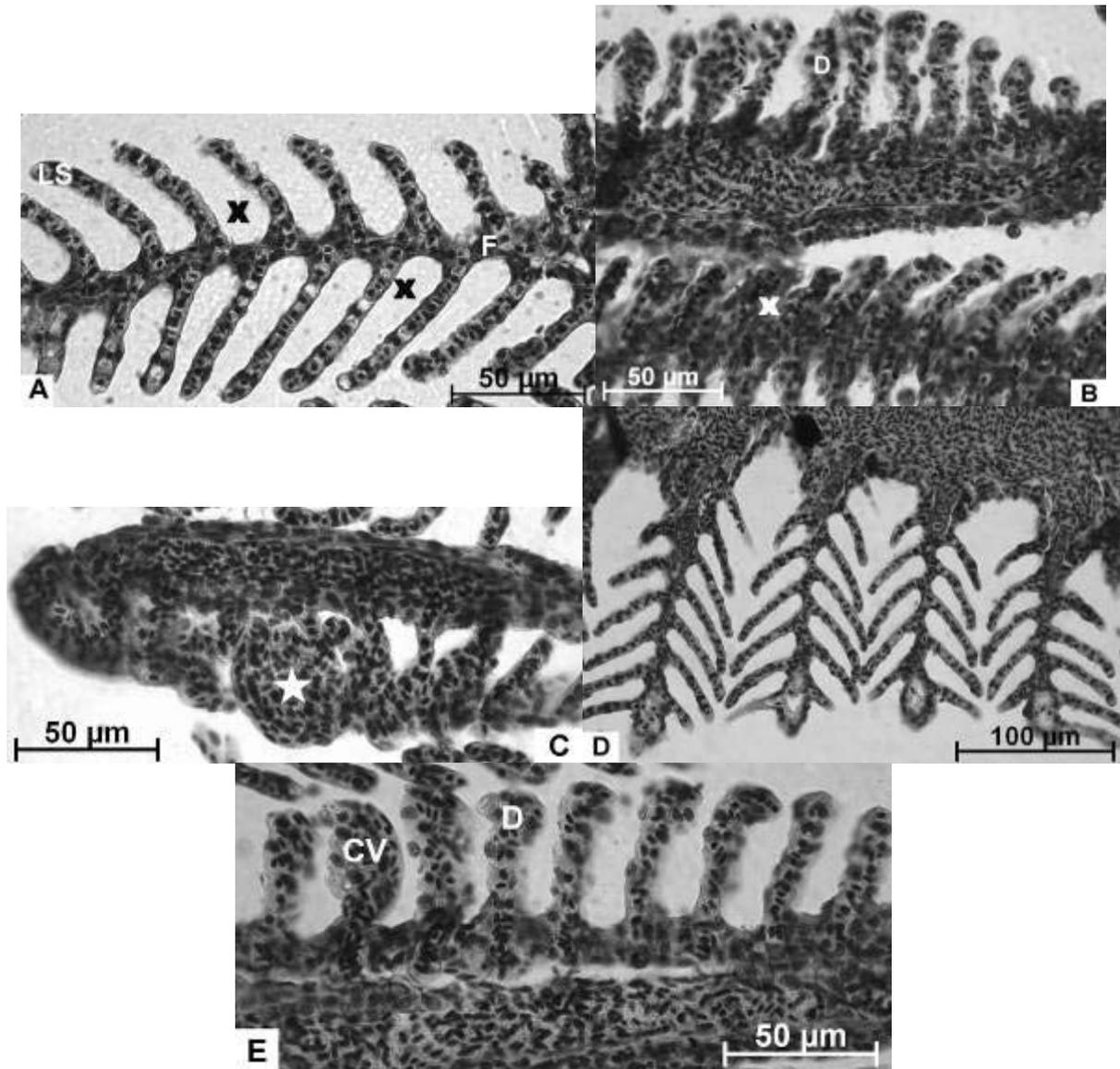
**Figura 3.6:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *D. rerio* submetidos a testes com água em julho de 2007. **A.** Controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e o seio venoso central (SVC). **B.** J4. **C.** F2. **D.** F4. **E.** M3. Atentar à hiperplasia de células entre as lamelas (X), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida de congestão vascular nas lamelas secundárias (CV). Coloração: HE.

Em virtude da alta mortalidade de *P. reticulata* submetidos aos testes com amostras de água em julho de 2007, a análise histológica foi realizado somente em alguns pontos de coleta. Os organismos do controle tiveram desenvolvimento normal das estruturas branquiais (Figura 3.7 **A**). Os organismos sobreviventes dos testes com água apresentaram alterações de primeiro estágio, principalmente hiperplasia de células epiteliais, desprendimento do epitélio e dilatação de capilares. Em M2 foi verificado a presença de congestão vascular e em J5 a produção de muco (Figura 3.7).



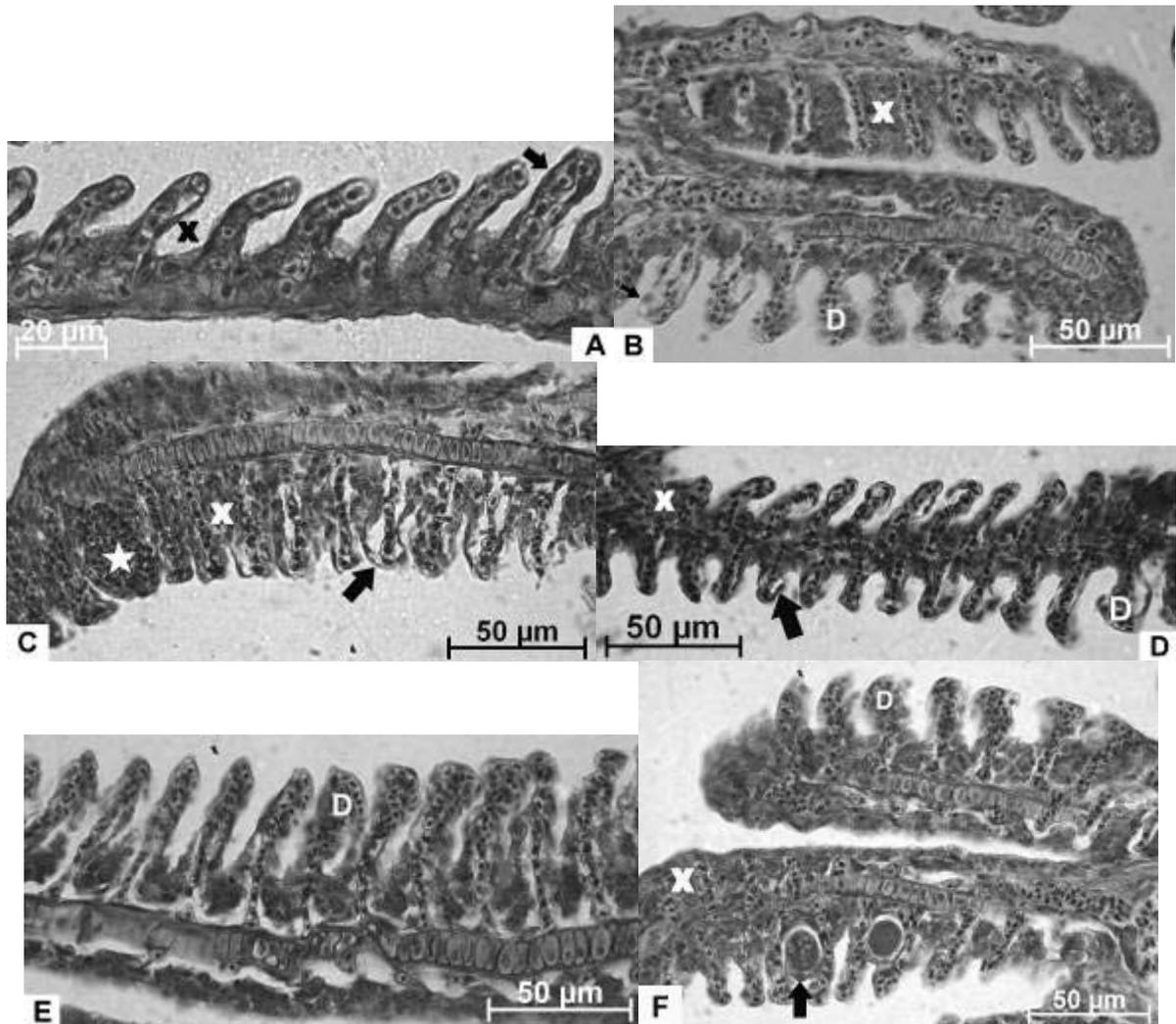
**Figura 3.7:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *P. reticulata* expostos as amostras de água coletadas em julho de 2007. **A.** Organismos mantidos em condições controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e desprendimento de células do epitélio. **B.** J5. **C.** M2. **D.** M3. Verificar a proliferação de células entre lamelas (X), desprendimento de células do epitélio (setas) e dilatação de capilares (D), além de congestão vascular (CV). Coloração: HE.

Nos organismos de *D. rerio* expostos nos testes com água, em outubro de 2007, foram encontradas hiperplasia de células entre lamelas e dilatação de capilares. Nos organismos expostos às amostras dos pontos J3, J4, M2, M3 e L foram verificadas congestões vasculares e do ponto J5 foi observada a presença de aneurisma (Figura 3.8). Nos organismos expostos às amostras de M1 não foi observada nenhum tipo de alteração na morfologia das brânquias (Figura 3.8 D).



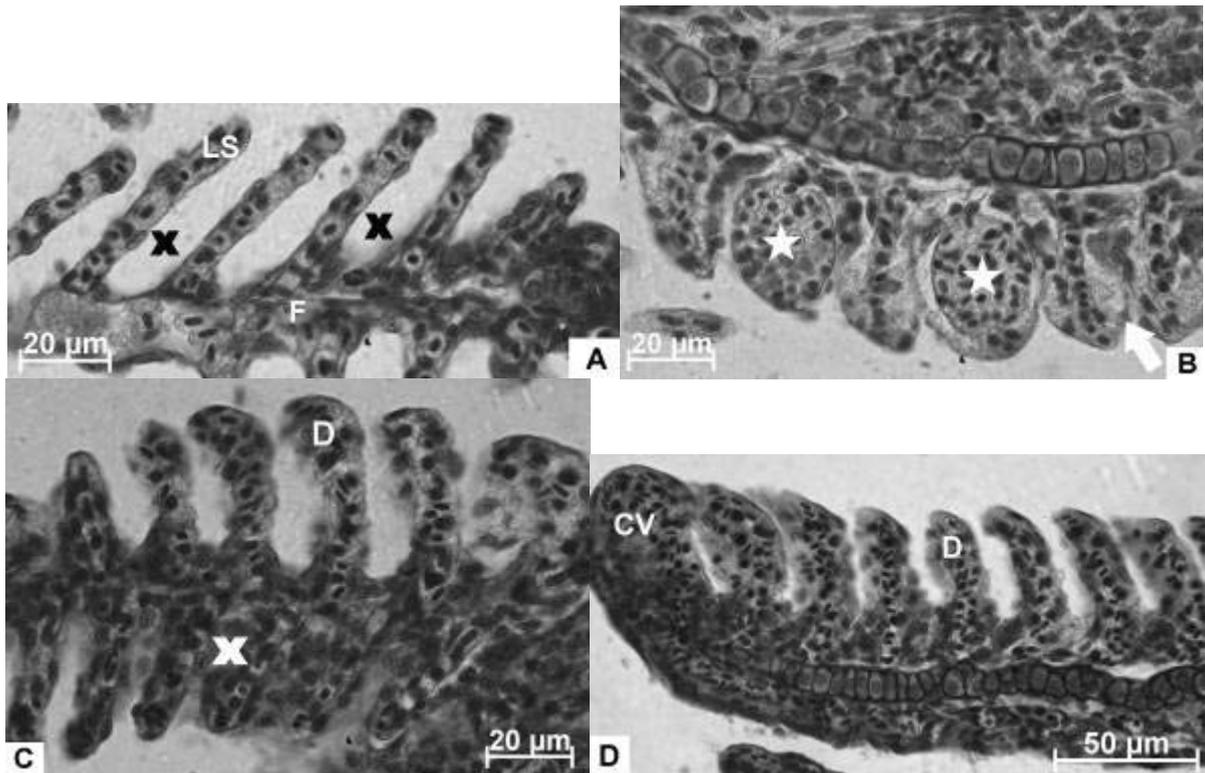
**Figura 3.8:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *D. rerio* sobreviventes dos testes com amostras de água de outubro de 2007. **A.** Controle mostrando o filamento branquial (F), lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS) e espaços interlamelares bem definidos (X). **B.** J2. **C.** J5. **D.** Indivíduo de M1 sem alterações morfológicas. **E.** L. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida de congestão vascular nas lamelas secundárias (CV) e aneurisma (\*). Coloração: HE.

Em outubro de 2007, para *P. reticulata*, notaram-se nos organismos mantidos em controle, alguns desprendimentos de epitélio branquial (Figura 3.9 **A**). Nos pontos de coleta foram observadas lesões de primeiro estágio e, no ponto F2, houve a presença de aneurisma, uma lesão de segundo estágio. Nessa época, foi observada a formação de muco em sete pontos de coleta: J1, J2, J4, J5, F1, F3 e M2 (Figura 3.9).



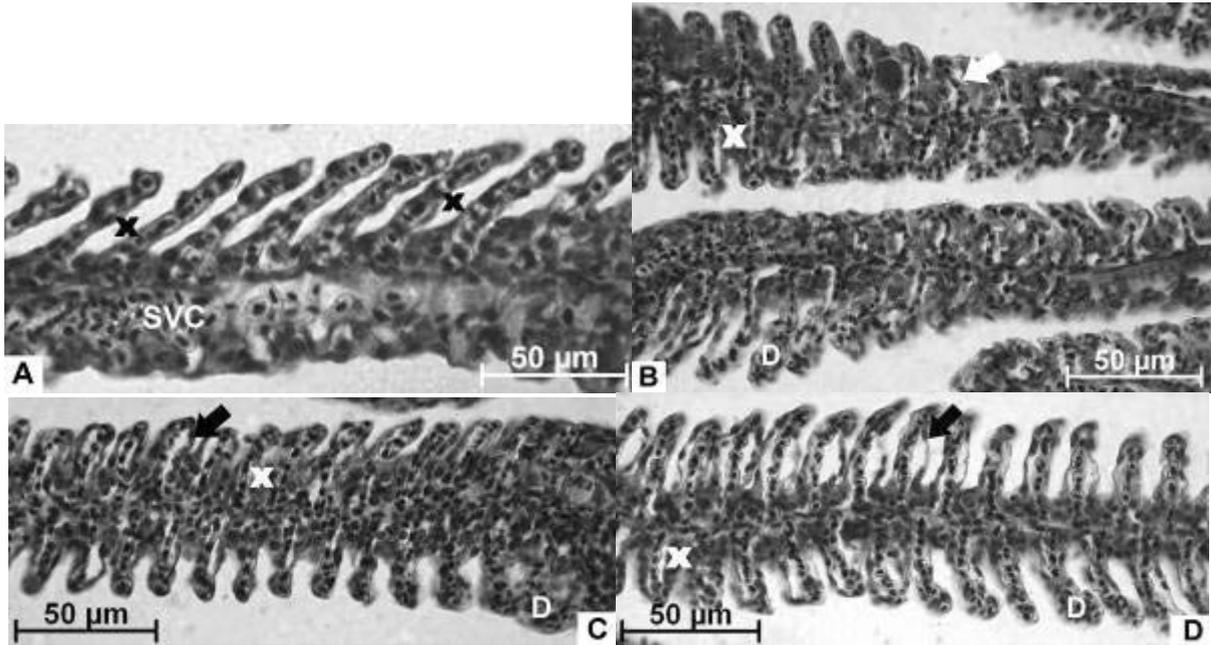
**Figura 3.9:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *P. reticulata* submetidos aos testes com amostras de água de outubro de 2007. **A.** Controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e desprendimento de células do epitélio (seta). **B.** J5. **C.** F2. **D.** F3. **E.** I. **F.** J1. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), desprendimento de epitélio (setas) e dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida de aneurisma (\*). Em F, a seta indica a produção de muco. Coloração: HE.

Nos indivíduos de *D. rerio* sobreviventes dos testes com amostras de água em janeiro de 2008 foram observados hiperplasia de células entre as lamelas secundárias e a dilatação de capilares na maioria dos pontos de coleta. Foi observado o desprendimento de epitélio das lamelas secundárias em J2, J3, F2 e F4. Em F4 foram encontrados aneurismas e em L congestão vascular (Figura 3.10).



**Figura 3.10:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *D. rerio* expostos nos testes com amostras de água de janeiro de 2008. **A.** Controle mostrando o filamento branquial (F), lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS) e espaços interlamelares bem definidos (X). **B.** F4. **C.** J5. **D.** L. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), desprendimento do epitélio de epitélio (seta), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida de congestão vascular nas lamelas secundárias (CV) e aneurisma (\*). Coloração: HE.

Nas brânquias dos organismos de *P. reticulata* em janeiro de 2008 foram observadas somente lesões do primeiro estágio, principalmente a proliferação de células entre as lamelas e o desprendimento de epitélio em todos os pontos de coleta, com exceção de F3. Em J2, J3, J5, F2, M2 e M3 foram observadas dilatações nas extremidades das lamelas secundárias e em J2 e J4 houve a produção de muco (Figura 3.11).



**Figura 3.11:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *P. reticulata* expostos às amostras de água em janeiro de 2008. **A.** Controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e seio venoso central (SVC). **B.** J2. **C.** J5. **D.** M2. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), dilatação de capilares, desprendimento de epitélio (setas) e dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D). Coloração: HE.

Efeitos crônicos foram observados em ambas as espécies, em todas épocas de coleta, seja na sobrevivência, no crescimento e/ou na morfologia de brânquias dos organismos (Tabela 3.2).

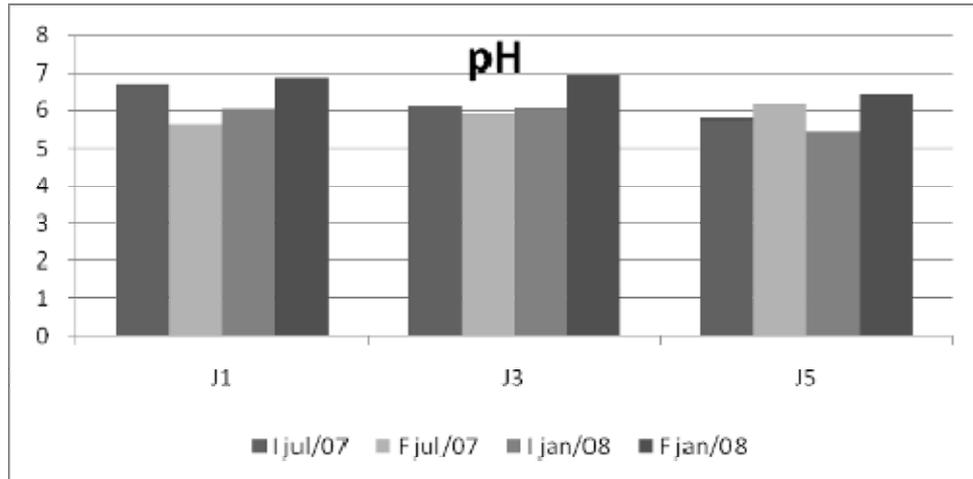
**Tabela 3.2:** Resultados significativos na sobrevivência e crescimento de *D. rerio* e *P. reticulata*, juntamente com as alterações histológicas na morfologia de brânquias dos organismos expostos às amostras de água coletadas na bacia do Alto Jacaré-Guaçu em laboratório, nas diferentes épocas do estudo.

Pontos	Abril/07		Julho/07		Outubro/07		Janeiro/08	
	Dr	Pr	Dr	Pr	Dr	Pr	Dr	Pr
J1	S/C/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1,2</sub>	H <sub>1</sub>	S	H <sub>1</sub>	H <sub>1,2</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>
J2	S/H <sub>1,2</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	S	H <sub>1</sub>	H <sub>1,2</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1,2</sub>
J3	S/C/H <sub>1</sub>	S/H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1,2</sub>	H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>
J4	S/C/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>	H <sub>1,2</sub>	S/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1,2</sub>	C/H <sub>1,2</sub>	S/C/H <sub>1</sub>	H <sub>1,2</sub>
J5	S/C/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1,2</sub>	H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>	H <sub>1,2</sub>	C/H <sub>1,2</sub>	S/H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>
F1	H <sub>1,2</sub>	C/H <sub>1,2</sub>	H <sub>1</sub>	S	H <sub>1</sub>	H <sub>1,2</sub>	S/H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>
F2	C/H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1,2</sub>	C/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>
F3	C/H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	S	H <sub>1</sub>	H <sub>1,2</sub>	S/H <sub>1</sub>	S/H <sub>1</sub>
F4	C/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1,2</sub>	C/H <sub>1,2</sub>	S	H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>	S/C/H <sub>1,2</sub>	S/H <sub>1</sub>
M1	S/C/H <sub>1,2</sub>	H <sub>1,2</sub>	C/H <sub>1</sub>	S	C	H <sub>1</sub>	S/H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>
M2	C/H <sub>1</sub>	S/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1,2</sub>	H <sub>1,2</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>
M3	C/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1,2</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	S/H <sub>1</sub>
L	S/C/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>	S	H <sub>1,2</sub>	H <sub>1</sub>	S/H <sub>1,2</sub>	S/H <sub>1</sub>
I	S/H <sub>1</sub>	S/H <sub>1</sub>	C/H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>	S/H <sub>1</sub>	S/H <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>

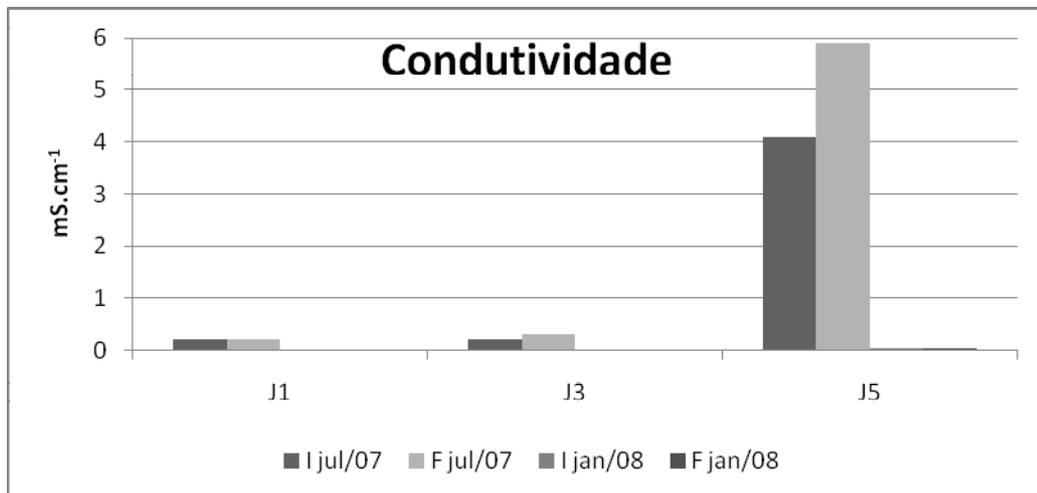
\* Dr – *D. rerio*; Pr – *P. reticulata*; S – Sobrevivência; C – crescimento; H – alterações histológicas (1 – primeiro estágio; 2 – segundo estágio).

#### 4.4. Testes *in situ*

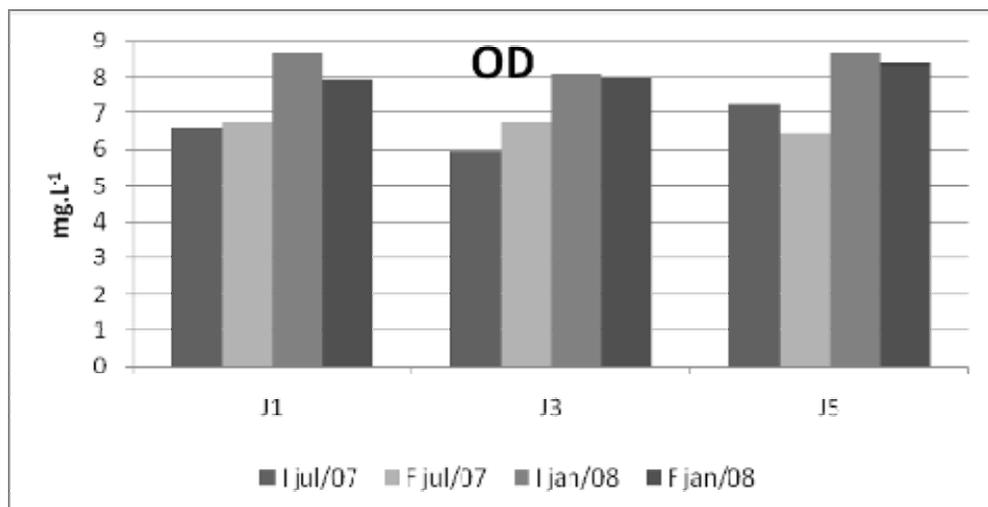
As variáveis físicas e químicas em campo, no início e no final dos testes *in situ*, apresentaram variações temporais. O pH se manteve sem grandes variações entre os pontos e épocas de coleta, variando de 5,47 em J5 em janeiro de 2008 até 6,95 em J3 em janeiro de 2008 (Figura 3.12). Os valores de condutividade elétrica foram os que mais variaram entre as épocas de coleta, sendo mais elevados em julho de 2007, de 15 a 80 vezes maiores que em janeiro de 2008. Os valores mais elevados foram verificados em J5 em julho de 2007, de 4,1 mS.cm<sup>-1</sup> no início e 5,9 mS.cm<sup>-1</sup> ao final dos testes (Figura 3.13). As concentrações de oxigênio dissolvido (OD) em julho de 2007 variaram entre 5,93 e 7,23 mg.L<sup>-1</sup> e em janeiro de 2008 ficaram entre 7,94 e 8,64 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 3.14).



**Figura 3.12:** Variação do pH durante os testes *in situ* realizados nos pontos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu.



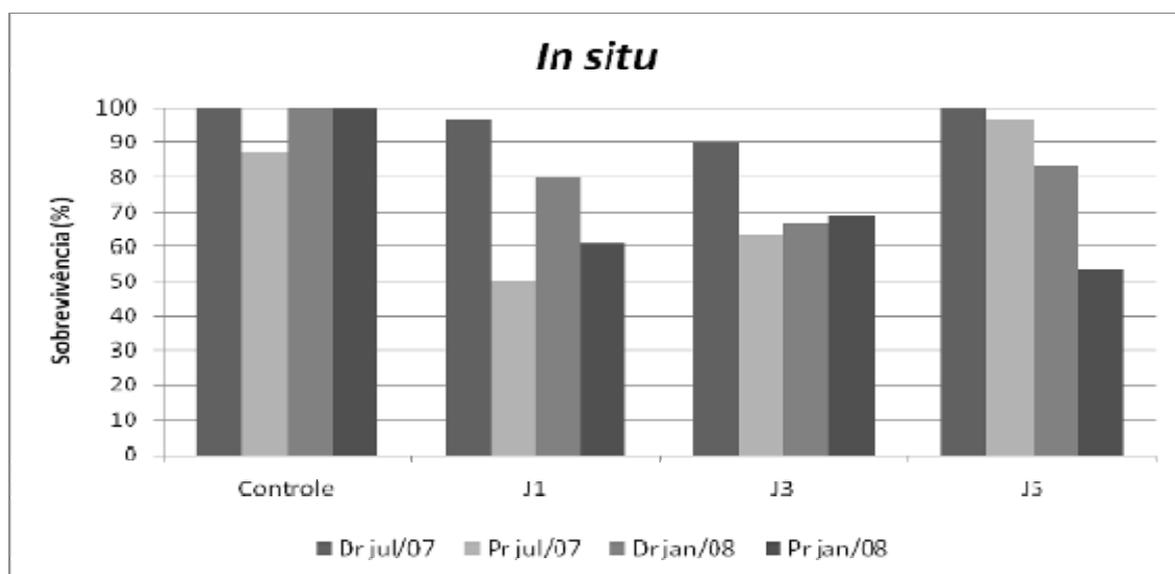
**Figura 3.13:** Variação da condutividade elétrica ( $\text{mS.cm}^{-1}$ ) durante os testes *in situ* realizados nos pontos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu.



**Figura 3.14:** Variação da concentração de oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) durante os testes *in situ* realizados nos pontos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu.

#### 4.4.1. Sobrevivência e Crescimento

Todos os pontos avaliados nos testes *in situ* apresentaram efeitos crônicos com efeitos na sobrevivência e/ou no crescimento dos juvenis de ambas as espécies de peixe. No ponto J1, em julho de 2007 foram observados efeitos na sobrevivência (*P. reticulata*) e no crescimento dos organismos (*D. rerio* e *P. reticulata*). Em janeiro de 2008 houveram diferenças significativas na sobrevivência dos juvenis de ambas as espécies e no crescimento de *P. reticulata*. No ponto J3, em julho de 2007, foram observados efeitos na sobrevivência (na espécie *P. reticulata*) e crescimento (na espécie *D. rerio*) submetidos aos testes *in situ*. Em janeiro de 2008, foram observados efeitos na sobrevivência dos organismos de ambas as espécies e não foram observados efeitos no crescimento dos organismos expostos no ponto J3. Com relação ao ponto J5, na coleta de julho de 2007, foram observados efeitos somente no crescimento de *D. rerio*. Em janeiro de 2008, os organismos expostos nos testes *in situ* em J5 apresentaram efeitos na sobrevivência dos organismos de *D. rerio* e *P. reticulata* (Figura 3.15; Tabelas 9, 10 e 11 – Apêndice B).

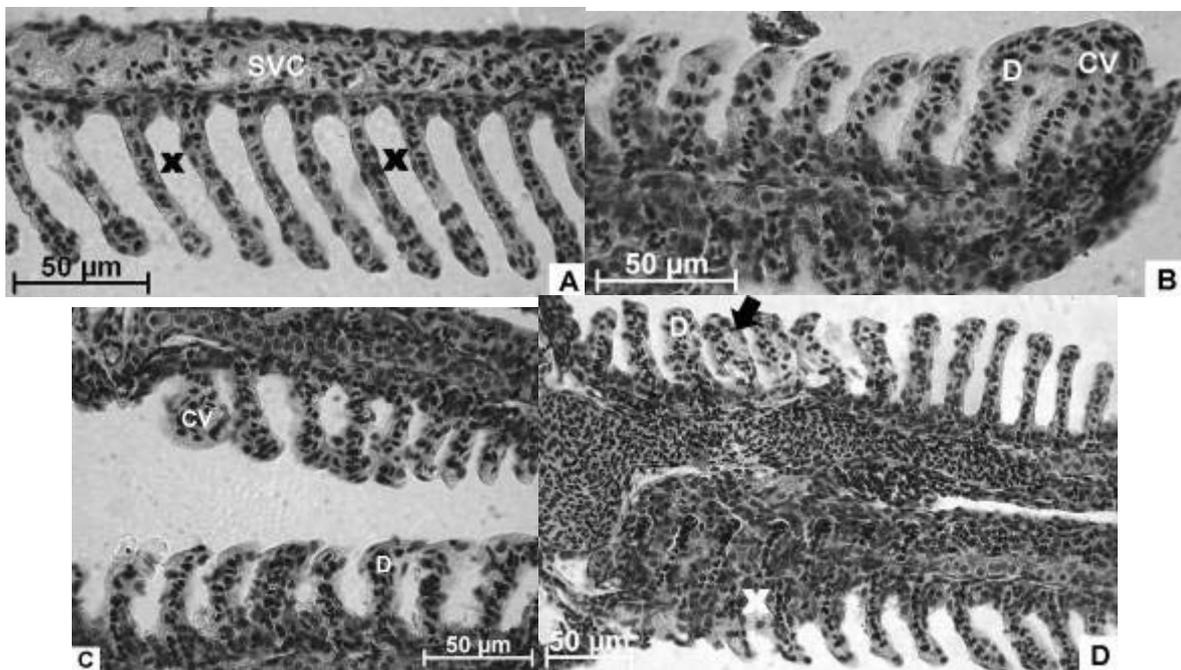


**Figura 3.15:** Porcentagem de sobrevivência de organismos juvenis de *D. rerio* (Dr) e *P. reticulata* (Pr) submetidos a testes de toxicidade aguda *in situ* em três pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em julho de 2007 e janeiro de 2008.

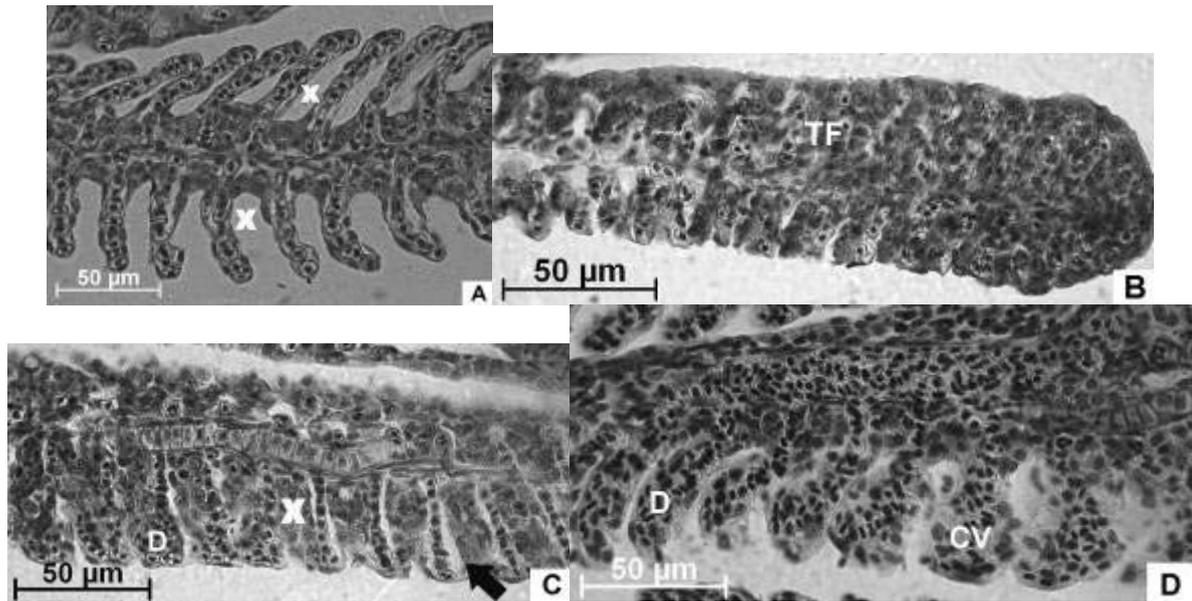
#### 4.4.2. Análise histológica de brânquias

Em julho de 2007, nos organismos de *D. rerio* mantidos em condições controle, foram observadas condições normais das estruturas branquiais, filamentos com lamelas secundárias bem desenvolvidas e espaço entre elas bem definidos (Figura 3.16 A). Nos indivíduos utilizados nos testes *in situ*, foram observadas alterações como hiperplasia de células epiteliais entre as lamelas e dilatação de capilares sanguíneos, lesões primárias, bem como congestão de capilares e desprendimento de epitélio respiratório, alterações secundárias (Figura 3.16).

Em *P. reticulata* foram observados alguns desprendimentos de epitélio respiratório nos organismos do controle (Figura 3.17 A). Já os sobreviventes dos testes *in situ* apresentaram proliferação de células entre as lamelas secundárias e dilatação de capilares sanguíneos, além de fusão completa de lamelas (J1) e congestão vascular (J5) (Figura 3.17).

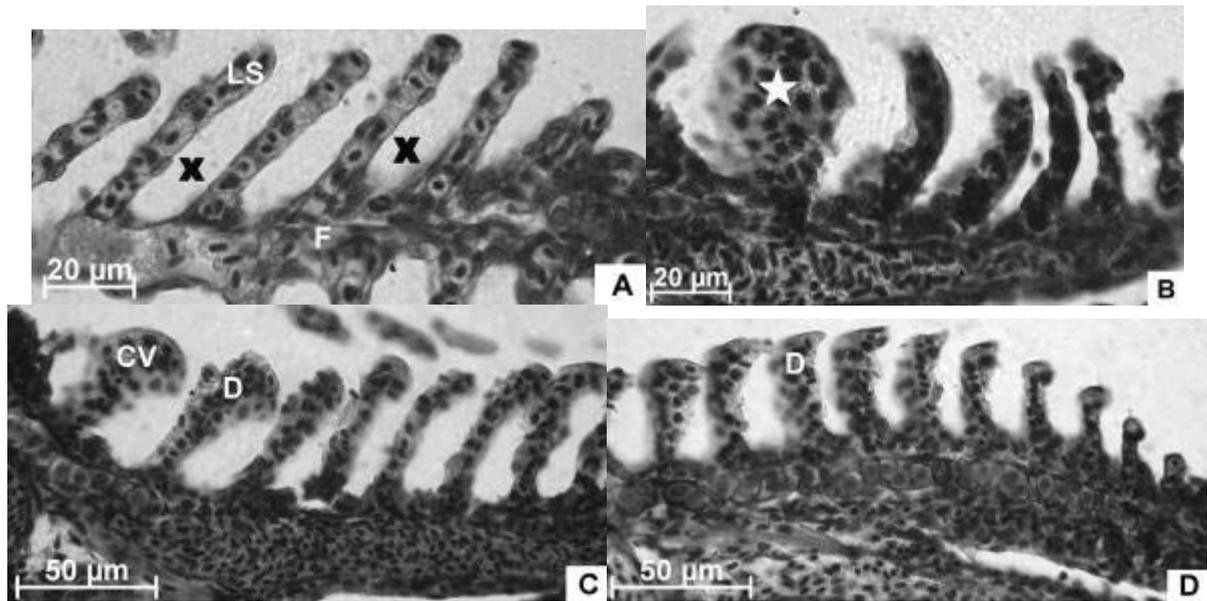


**Figura 3.16:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *D. rerio* submetidos aos testes *in situ* em julho de 2007. **A.** Controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS), espaços interlamelares bem definidos (X) e seio venoso central (SVC). **B.** J1. **C.** J3. **D.** J5. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), desprendimento de epitélio (seta) e dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida congestão vascular (CV). Coloração: HE.

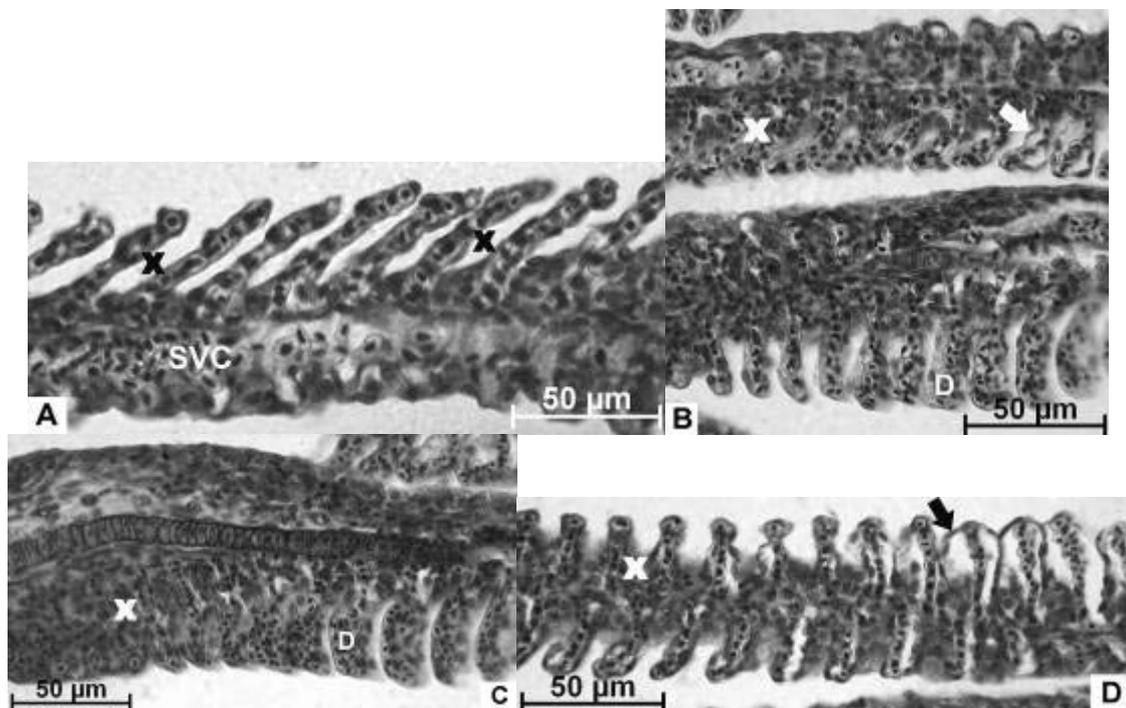


**Figura 3.17:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *P. reticulata* submetidos a testes *in situ* em julho de 2007. **A.** Organismos mantidos em condições controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e desprendimento de células do epitélio. **B.** J1. **C.** J3. **D.** J5. Observar a proliferação de células entre lamelas (X), desprendimento de células do epitélio (seta) e dilatação de capilares (D) seguida de congestão vascular (CV) e a fusão completa de lamelas secundárias (TF). Coloração: HE.

Em janeiro de 2008, os juvenis da espécie *D. rerio* apresentaram dilatação nas extremidades das lamelas secundárias (em todos os pontos de coleta), hiperplasia de células interlamelares (J1), aneurisma (J1) e congestão vascular (J3) (Figura 3.18). Nos organismos de *P. reticulata* foram observadas proliferação de células entre lamelas, desprendimento de epitélio e dilatação de capilares em todos os pontos e produção de muco no ponto J1 (Figura 3.19).



**Figura 3.2:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *D. rerio* expostos em testes *in situ* em janeiro de 2008. **A.** Controle mostrando o filamento branquial (F), lamelas secundárias bem desenvolvidas (LS) e espaços interlamelares bem definidos (X). **B.** J1. **C.** J3. **D.** J5. Notar a dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D) seguida de congestão vascular nas lamelas secundárias (CV) e aneurisma (\*). Coloração: HE.



**Figura 3.3:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de organismos de *P. reticulata* expostos em teste *in situ* em janeiro de 2008. **A.** Controle mostrando lamelas secundárias bem desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos (X) e seio venoso central (SVC). **B.** J1. **C.** J3. **D.** J5. Verificar proliferação de células entre lamelas (X), desprendimento de epitélio (seta) e dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D). Coloração: HE.

Assim como nos testes em laboratório, efeitos crônicos foram observados nos testes *in situ* em ambas as espécies, em todas épocas de coleta, seja na sobrevivência, no crescimento e/ou na morfologia de brânquias dos organismos (Tabela 3.3)

**Tabela 3.3:** Resultados significativos na sobrevivência e crescimento de *D. rerio* e *P. reticulata*, juntamente com as alterações histológicas na morfologia de brânquias dos organismos expostos às amostras de água coletadas na bacia do Alto Jacaré-Guaçu em laboratório, nas diferentes épocas do estudo.

Pontos	Julho/07		Janeiro/08	
	Dr	Pr	Dr	Pr
J1	C/H <sub>1,2</sub>	S/C/H <sub>1,2</sub>	S/H <sub>1,2</sub>	S/C/H <sub>1,2</sub>
J3	C/H <sub>1,2</sub>	S/H <sub>1</sub>	S/H <sub>1,2</sub>	S/H <sub>1,2</sub>
J5	C/H <sub>1,2</sub>	H <sub>1,2</sub>	S/H <sub>1</sub>	S/H <sub>1,2</sub>

\* Dr – *D. rerio*; Pr – *P. reticulata*; S – Sobrevivência; C – crescimento; H – alterações histológicas (1 – primeiro estágio; 2 – segundo estágio).

## 5. Discussão

### 5.1. Testes de toxicidade crônica parcial com água em laboratório

Efeitos crônicos foram notados em todas as épocas de coleta para ambas as espécies, sejam na sobrevivência, no crescimento e/ou nas alterações histológicas de brânquias nos organismos expostos às amostras de água em laboratório ou *in situ*.

Com relação à sobrevivência nos testes de toxicidade com amostras de água, a espécie *D. rerio* se mostrou mais sensível que *P. reticulata* em abril de 2007 e janeiro de 2008. Ao contrário do encontrado no presente estudo, Campagna (2010), avaliando os sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu com as mesmas espécies, encontrou maior toxicidade para *P. reticulata* em abril de 2007. Em julho e outubro de 2007, a espécie *P. reticulata* foi mais sensível que *D. rerio*.

De acordo com os resultados das análises de metais na água, em abril de 2007, as concentrações de cromo estiveram acima dos limites estabelecidos pela CONAMA 357/05 na maioria dos pontos de coleta. Dentre os pontos com toxicidade

crônica, os pontos M1, L e I apresentaram as maiores concentrações de cromo (284, 526 e 507  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente). No entanto essa toxicidade não pode ser diretamente associada à presença do cromo, pois os valores associados à toxicidade desse metal estão acima das concentrações encontradas no sistema. Considerando o valor médio de CL50;96h para o cromo determinadas no presente estudo, de 112,54  $\text{mg.L}^{-1}$ , o valor crônico aproximado seria de 11,25  $\text{mg.L}^{-1}$ , superior às maiores concentrações detectadas. Porém, as amostras de água contêm misturas de contaminantes, de modo que efeitos sinérgicos dos metais presentes, bem como outras substâncias, podem ter resultado na redução da sobrevivência dos organismos.

Além de efeitos na sobrevivência de *D. rerio* expostos às amostras de água, efeitos sobre o crescimento dos mesmos foi observado mais severamente do que em *P. reticulata*, inclusive em F2, F3, F4, M2 e M3, onde não haviam sido verificados efeitos sobre a sobrevivência. Para *P. reticulata*, foram poucos os pontos cuja sobrevivência evidenciou efeitos negativos (J3, M2 e I), já os efeitos sobre o crescimento foram observados em outros sete pontos (J1, J4, J5, F1, F4, M3 e L), onde não haviam sido notados efeitos sobre a sobrevivência.

Em relação à julho de 2007, a sobrevivência de *D. rerio* não foi afetada pela exposição dos juvenis às amostras de água. De modo semelhante, Campagna (2010) não observou efeitos sobre a sobrevivência de *D. rerio* expostos a sedimentos da bacia em estudo. Porém, apesar de não terem sido observados efeitos sobre a sobrevivência, tanto o presente estudo que avaliou as amostras de água tanto o de Campagna (2010) que avaliou os sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu encontraram efeitos negativos sobre o crescimento dos organismos expostos às amostras ambientais. Em relação aos juvenis de *P. reticulata* as porcentagens de sobrevivência observadas em julho de 2007 foram as menores observadas durante o período de estudo, assim como para os juvenis expostos às amostras de sedimento da bacia em estudo de Campagna (2010). Em função dos efeitos mais severos sobre a sobrevivência dos organismos, pouco foi avaliado o crescimento dos organismos, assim como no estudo de Campagna (2010). Em julho de 2004, Fracácio (2006), avaliando as amostras de água no ponto correspondente ao M1, verificou efeitos negativos sobre a sobrevivência dos organismos de *P. reticulata*, assim como no presente estudo.

As amostras de água coletadas em outubro de 2007 não apresentaram efeitos negativos sobre a sobrevivência dos juvenis de *D. rerio* e efeitos na sobrevivência foram observados somente em um ponto de coleta, o ponto I, para *P. reticulata*. Assim como no estudo de Campagna (2010), as amostras de sedimento coletadas na bacia em outubro de 2007 foram as que apresentaram a menor toxicidade em relação à sobrevivência dos organismos. Apenas o ponto F2 apresentou efeitos sobre o crescimento de ambos os juvenis.

Em janeiro de 2008, os efeitos da exposição às amostras de água foram mais sentidos na sobrevivência e crescimento dos juvenis de *D. rerio*. Inclusive a sobrevivência dos indivíduos dessa espécie foi afetada nos pontos F1 e M1, nascentes de dois corpos d'água do estudo, além dos pontos J4, J5, F3, F4, L e I. *D. rerio* expostos aos sedimentos de F1 em janeiro de 2008 também sofreram alterações no peso, segundo Campagna (2010). As concentrações de cádmio no ponto F1 nessa época estiveram acima do estabelecido pelo CONAMA 357/05. Além do ponto F1, os valores de cádmio estiveram acima do estabelecido em outros nove pontos do sistema. Outro metal que foi encontrado em concentrações acima dos limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 foi o cobre.

Os resultados permitiram considerar que todos os pontos de coleta, apresentaram toxicidade crônica para as espécies *D. rerio* e/ou *P. reticulata* durante o período de estudo, sejam por efeitos na sobrevivência e/ou no crescimento. Isso também foi verificado por Campagna (2010) na avaliação dos sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu com as mesmas espécies.

Fracácio et al. (2009), avaliando as amostras de água do rio Monjolinho, verificaram que *P. reticulata* foi mais sensível do que *D. rerio* para as variáveis sobrevivência e crescimento. Campagna et al. (2008), avaliando o sedimento do rio Monjolinho, utilizando as espécies *D. rerio* e *P. reticulata*, verificaram que a última foi mais sensível. No presente estudo, ambas as espécies apresentaram sensibilidade para as variáveis sobrevivência e crescimento, em épocas diferentes, de modo que o uso das duas espécies simultaneamente culminou numa avaliação complementar e, portanto, essencial.

Fracácio (2006), em testes de toxicidade crônica parcial com amostras de água do rio Monjolinho utilizando juvenis de *D. rerio* e *P. reticulata*, observou efeitos

crônicos no peso e comprimento dos organismos. Nos períodos de amostragem em que não foram detectados efeitos na sobrevivência, foram registradas alterações significativas no peso e comprimento dos indivíduos expostos às amostras de água.

Meletti (1997), avaliando a toxicidade aguda de amostras de água da bacia do rio Piracicaba, não verificou relação entre a concentração de poluentes e a mortalidade de *Prochilodus scrofa* e, segundo ele, as amostragens pontuais não representam a condição real de qualidade de água. Ao contrário do que foi observado por Campagna (2010) avaliando os sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, não foi possível observar uma tendência espacial na toxicidade das amostras de água as quais foram expostos os organismos. Porém, assim como no presente estudo, a autora verificou uma variabilidade nas respostas das espécies estudadas (*D. rerio* e *P. reticulata*) e também não atribuiu as respostas observadas a poluentes específicos. Os efeitos tóxicos foram sentidos em ambas as espécies nos diferentes períodos de coleta, o que reflete a importância no uso de espécies diversas nas avaliações ecotoxicológicas, já que nenhuma espécie é mais sensível para todas as substâncias tóxicas (ESPÍNDOLA; BRIGANTE; DORNFELD, 2003).

Quando se estuda a toxicidade de águas naturais, os efeitos nem sempre dependem de uma única espécie química, mas sim da interação de diferentes substâncias e de condições físicas e químicas que podem resultar em atenuação ou, ao contrário, sinergismo, reduzindo ou acentuando os efeitos tóxicos individuais (CHAPMAN, 2001). Ressalta-se também os efeitos de outras substâncias potencialmente tóxicas cuja concentração na água não foi avaliada, como agrotóxicos organofosforados e organoclorados, que já foram quantificados em estudos anteriores na bacia (CAMPAGNA, 2005; CORBI et al., 2006; PELÁEZ-RODRÍGUEZ, 2001).

A análise histopatológica é uma prática útil na avaliação de efeitos de agentes estressores em nível individual, que representa um grau de organização biológica intermediária. Apesar de ser uma avaliação qualitativa, a abordagem histopatológica é válida, pois as lesões detectadas em células, tecidos ou órgãos, representam a integração de efeitos cumulativos de estressores fisiológicos e bioquímicos, e não deixam de ser um dano ao organismo (MYERS; FOURNIE, 2002).

Em ambientes degradados, onde os poluentes ocorrem em concentrações subletais, as modificações na estrutura e função dos organismos aquáticos ocorrem mais freqüentemente do que a mortalidade em massa. Alterações como hiperplasia, desprendimento de epitélio e produção de muco são mecanismos de defesa dos organismos para aumentar a barreira água-sangue, dificultando assim, a entrada do poluente do meio externo (POLEKSIĆ; MITROVIĆ-TUTUNDIŽIĆ, 1994).

No presente trabalho, em abril de 2007, foram encontradas alterações de primeiro estágio na morfologia de brânquias em todos os pontos de coleta, além de alterações de segundo estágio, mais severas, tanto em *D. rerio* como *P. reticulata*.

Em *D. rerio* em julho de 2007, não foram observados efeitos em relação à sobrevivência, e apenas alguns pontos apresentaram efeitos no crescimento. Nessa mesma época, os indivíduos analisados apresentaram poucas alterações histológicas de brânquias, entre elas a proliferação de células epiteliais e a dilatação nas extremidades das lamelas secundárias. Congestão vascular foi observada em F4 e J4, os mesmos pontos em que foram observados efeitos mais intensos como resultado da exposição à sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu (CAMPAGNA, 2010). Para *P. reticulata*, foram poucas alterações observadas, mas isso se deve à baixa sobrevivência dos juvenis expostos às amostras de água nessa época, que resultou na avaliação histológica de poucos pontos. Campagna (2010) avaliando o sedimento da bacia em estudo, mesmo não observando efeitos na sobrevivência, verificou as alterações histológicas mais severas para *P. reticulata* no mesmo período.

As amostras de água coletadas em outubro de 2007 causaram a proliferação de células epiteliais e a dilatação de lamelas secundárias nos juvenis de *D. rerio*. No ponto J5 foram observados aneurismas e, nos pontos J3, J4, M2, M3 e L foram detectadas congestões vasculares. Em M1 não foram observados nenhum efeito negativo nas brânquias dos organismos, mas o ponto não pode ser considerado isento de toxicidade, dado que efeitos sobre o peso e comprimento nos organismos. Campagna (2010), avaliando os sedimentos da mesma bacia, verificou efeitos mais severos em J3, M3 e L, assim como no presente estudo. Nos juvenis de *P. reticulata*, foram observadas proliferações de células epiteliais, desprendimento de epitélio e dilatação de lamelas secundárias em todos os pontos. Alterações mais

severas foram observadas nos pontos J1, J2, J4, J5, F1, F3 e M2 (produção de muco) e no ponto F2 (aneurisma).

Em janeiro de 2008, as alterações observadas em *D. rerio* foram de primeiro grau em todos os pontos e, mais grave em F4 (aneurismas) e L (congestão vascular). As alterações mais comuns em *P. reticulata* foram de primeiro estágio em todos os pontos, além da produção de muco em J2 e J4.

No ponto F4, acima da captação de água do município de São Carlos, tanto em *D. rerio* como *P. reticulata* foram observados efeitos de segundo estágio. Assim como no estudo de Campagna (2010) com sedimentos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, *D. rerio* apresentou alterações mais severas, e em *P. reticulata*, as alterações de primeiro estágio foram mais intensas.

Segundo GERNHOFER et al. (2001), em rios contaminados por metais, as principais alterações branquiais são a proliferação de células do epitélio branquial, com conseqüente redução dos espaços interlamelares. Metais como cádmio, chumbo, zinco e cobre estimulam a secreção de muco pelas células mucosas, que são consideradas barreiras importantes contra agentes patogênicos, na regulação e difusão iônica (HANDY; EDDY; ROMAIN, 1989; HEATH, 1987). O espessamento do epitélio respiratório reduz a eficiência respiratória do organismo e, em casos severos, a hiperplasia resulta na fusão de lamelas adjacentes com uma conseqüente redução na superfície disponível para a respiração. As brânquias são órgãos altamente sensíveis a uma variedade de estressores ambientais, mas as respostas patológicas geralmente não são específicas, tornando difícil em estudos de campo, relacionar as alterações observadas com contaminantes específicos (MYERS; FOURNIE, 2002).

As análises histológicas das brânquias evidenciaram efeitos negativos sobre os organismos em amostras onde não haviam sido notados efeitos sobre a sobrevivência ou o crescimento dos organismos. Isso demonstra a importância dessa ferramenta como um complemento em estudos ecotoxicológicos, já comentada em outros estudos (CAMPAGNA, 2006, 2010; FRACÁCIO, 2001, 2006).

## 5.2. Testes *in situ*

A importância dos testes *in situ* é inquestionável, uma vez que avaliam em tempo real os processos dinâmicos, como sinergismo ou antagonismo, que interferem nos ecossistemas aquáticos, refletindo na maior ou menor toxicidade para os diferentes organismos submetidos aos testes de toxicidade (FRACÁCIO, 2006).

As variáveis físicas e químicas avaliadas em campo, como: pH, condutividade e oxigênio dissolvido apresentaram pouca variação durante o período dos testes. Essa mesma tendência foi observada por Fracácio (2006) em testes *in situ* no rio Monjolinho. As maiores concentrações de OD foram observadas em janeiro de 2008, resultantes do aumento da vazão nos pontos do rio nessa época (Capítulo 2). Valores levemente ácidos de pH também foram observados nos testes de toxicidade, já a condutividade elétrica foi a variável que mais apresentou alterações entre as épocas do estudo. Assim como no estudo de Fracácio (2006), o ponto ao final do sistema, no caso, J5 apresentou os maiores valores de condutividade, especialmente na época seca.

Valores de pH levemente ácidos contribuem para a manutenção de metais na fase dissolvida, permitindo a interação com os organismos da coluna d'água (BURTON; MACPHERSON, 1995). Os pHs registrados durante os testes *in situ* (entre 5,47 e 6,88) podem ter contribuído para a disponibilidade de metais para os organismos, contribuindo para as respostas dos organismos nestes (sobrevivência *D. rerio*  $\leq 83,33\%$  e *P. reticulata*  $\leq 68,97\%$ ), especialmente em janeiro de 2008.

Em julho de 2007, para *D. rerio* não foram observados efeitos na sobrevivência dos organismos, mas os indivíduos tiveram o peso e o comprimento alterados em todos os pontos de coleta. Além disso, foram verificadas a proliferação de células epiteliais, dilatação das extremidades das lamelas e o desprendimento de células do epitélio respiratório das lamelas secundárias, alterações de primeiro grau, em todos os pontos avaliados. Em J1 e J3, também foram observadas congestões vasculares. Para *P. reticulata* foram observados efeitos na sobrevivência em dois dos três pontos avaliados, J1 e J3, e os efeitos sobre o crescimento foram observados em J1. Alterações histológicas de primeiro grau também foram observadas nos juvenis em todos os pontos de coleta, indicando toxicidade em J5,

que até então, não tinha apresentado efeitos na sobrevivência ou crescimento. Juntamente com as alterações de primeiro grau, foram notadas fusão total de lamelas em J1 e congestão vascular em J5.

Os juvenis de ambas as espécies expostos nos testes *in situ* em janeiro de 2008, tiveram a sobrevivência significativamente alterada em todos os pontos de coleta. Alterações no peso dos indivíduos de *P. reticulata* foram notados em J1. As alterações observadas em *D. rerio* foram dilatação das extremidades das lamelas em todos os pontos. Em J1 também foram observados a proliferação de células e aneurisma e, em J3, congestão vascular. As alterações nos juvenis de *P. reticulata* expostos nos testes *in situ* em janeiro de 2008 foram hiperplasia de células, desprendimento de células do epitélio das lamelas e dilatação das extremidades das lamelas, que ocorreram em todos os pontos de coleta, e a produção de muco em J1.

Fracácio et al. (2009), avaliando a qualidade do rio Monjolinho com testes em laboratório e *in situ*, utilizando juvenis das espécies *D. rerio* e *P. reticulata*, verificaram alterações histológicas em *P. reticulata* nos organismos expostos nos testes *in situ*, mas não em *D. rerio*. Já no presente estudo, as alterações na morfologia de brânquias em julho de 2007 foram mais severas que em janeiro de 2008. As alterações em ambas as espécies foram semelhantes em grau e intensidade, não havendo espécie mais sensível para essa variável.

Fracácio et al. (2009), avaliando a toxicidade *in situ* no rio Monjolinho, associaram as alterações metabólicas e na sobrevivência dos organismos à combinação das concentrações de compostos orgânicos, metais e das condições limnológicas no rio.

Comparando os resultados dos testes *in situ* com os testes em laboratório, apesar das diferenças na duração dos mesmos, ocorreram algumas similaridades entre estes. Em julho de 2007, os juvenis de *D. rerio* não apresentaram efeitos sobre a sobrevivência em nenhum dos testes, mas quanto ao crescimento, este foi negativamente afetado nos testes *in situ*, mesmo sendo expostos durante um período menor de tempo. Já para *P. reticulata*, a sobrevivência foi significativamente alterada em J1 para ambos os testes, mas quanto às demais variáveis, os resultados ou foram sentidos nos testes *in situ* ou nos testes em laboratório. Em janeiro de 2008, os testes *in situ* demonstraram efeitos mais severos em relação à

sobrevivência, ao contrário do que foi verificado nos testes em laboratório. O peso dos organismos foi afetado apenas em J1 nos juvenis de *P. reticulata* e J3 em *D. rerio*. Essas similaridades também foram encontradas por Fracácio et al. (2009) e os autores mencionam que as abordagens em laboratório e *in situ* são complementares na avaliação ecotoxicológica.

Efeitos negativos resultantes da exposição nos testes *in situ* foram mais intensos do que em laboratório, mesmo estes tendo uma duração mais curta. Resultados semelhantes foram obtidos na avaliação do rio Monjolinho em testes *in situ* e em laboratório para *D. rerio*, *P. reticulata* e *Chironomus xanthus* (DORNFELD et al, 2006; FRACÁCIO et al., 2009).

Fracácio (2006) atenta para o fato do tamanho das armadilhas interferirem nos resultados dos testes *in situ*. Considerando os tamanhos médios dos juvenis utilizados nos testes, a relação recomendada de 1 g de organismo por litro de água (ABNT, 2007) foi seguida no presente estudo. Além desse aspecto, a autora também menciona a abertura da malha utilizada nas câmaras, que pode reter material particulado, e prejudicar a circulação de água dentro das câmaras, afetando o resultado dos testes. A malha utilizada no presente estudo também foi adequada na manutenção da circulação de água na câmara-teste, garantindo que esta variável não influenciou no resultado dos mesmos.

A manipulação das amostras durante os experimentos em laboratório, o controle de variáveis como a luminosidade e a aeração constante, que tornam as reações químicas diferentes do ambiente natural, e o fato das amostras de água representarem um determinado momento do sistema e que algumas condições intermitentes do mesmo não serem avaliadas podem explicar a ausência da toxicidade em laboratório em relação aos testes *in situ* (FRACÁCIO, 2006).

Os testes *in situ* apresentam diversas vantagens, entre elas, a não necessidade de extrapolações do laboratório para o campo, a redução dos efeitos de métodos de amostragem, por permitem que as concentrações de poluentes flutuem naturalmente no sistema e apresentarem custo adequado. Quando utilizado em combinação com testes em laboratório e caracterização física e química dos sistemas, podem refletir de maneira mais realista efeitos de fontes de poluição não-pontuais (TUCKER; BURTON, 1999).

## 6. Conclusões

A bacia do Alto Jacaré-Guaçu apresentou condições inadequadas à proteção da vida aquática considerando os efeitos na sobrevivência dos juvenis de *D. rerio* e *P. reticulata*, nas alterações biométricas e na morfologia de brânquias, tanto nos testes com amostras de água em laboratório quanto *in situ*. O uso de duas espécies na avaliação ecotoxicológica da água em laboratório e *in situ* no rio Jacaré-Guaçu foi importante, já que a toxicidade foi observada para ambas as espécies e não foi possível observar uma maior sensibilidade de uma espécie, de modo que elas atuaram de forma complementar. As análises histológicas das brânquias evidenciaram efeitos negativos sobre os organismos em amostras onde não haviam sido notados efeitos sobre a sobrevivência ou o crescimento dos organismos, sendo considerada uma ferramenta importante na avaliação da toxicidade. Os efeitos negativos resultantes da exposição nos testes *in situ* foram mais intensos do que em laboratório, considerando o tempo de exposição. Os testes de toxicidade *in situ* são ferramentas importantes para avaliar o potencial de toxicidade do ambiente de forma mais ampla, sendo os testes laboratoriais e *in situ* complementares na avaliação ambiental.

## CAPÍTULO 4

### Utilização de sedimentos sintéticos na avaliação da toxicidade do cádmio

#### 1. Introdução

As diversas e intensas atividades antropogênicas que se desenvolvem nas bacias hidrográficas, associadas ao aumento populacional, geram poluentes que, em ltima análise, atingem os corpos d'água e sedimentos, promo endo modificações na estruturação da biota aquática e desencadeando um processo de desequilíbrio nos sistemas aquáticos (BOUDOU; RIBEYRE, 1989). O sedimento é um componente importante do sistema aquático e suporta uma variedade de habitats e ambientes, funcionando, inclusive, como a principal fonte de nutrientes para a biota residente e indiretamente para os organismos de níveis tróficos mais elevados na cadeia alimentar (CAMPAGNA, 2010).

Além da função ecológica, os sedimentos desempenham papel tanto como depósito quanto fonte de contaminantes, que podem se tornar biodisponíveis à coluna de água dependendo das condições ambientais, das propriedades dos poluentes e dos sedimentos (BARRON, 2002; BURTON, 2002; CHEN et al., 2000; CLÉMENT; CADIER, 1998; INGERSOLL, 1995; PLETTE et al., 1999; SILVA, 2002). Desse modo, podem apresentar efeitos diretos e adversos sobre os organismos nectônicos e bentônicos, tratando-se, portanto, de uma fonte de poluição difusa em potencial dentro do ecossistema aquático (ADAMS, 1995; BAUDO; MUNTAU, 1990; BETTINETTI; GIAREI; PROVINI, 2003; MUNAWAR et al., 1999; SOARES et al., 1999).

iante dos processos de degrada ão dos corpos d'água, houve necessidade do desenvolvimento e do estabelecimento de métodos de análise ambiental mais efetivos na avaliação dos impactos, garantindo, dessa forma, a manutenção qualitativa e quantitativa dos recursos hídricos (FRACÁCIO et al., 2000). A determinação da concentração de contaminantes presentes no sedimento por meio de análises químicas oferece poucas informações sobre os possíveis efeitos para as

comunidades biológicas, devido aos fatores abióticos e bióticos que interferem na disponibilidade dos mesmos (ARAÚJO et al., 2006).

Desse modo, a partir de 1995, testes de toxicidade com sedimentos passaram a ser utilizados, uma vez que representam a base de reações químicas, inclusive com a coluna d'água, são depósitos e fontes de poluentes para o sistema aquático e apresentam relação direta com a fauna bentônica e com organismos da coluna d'água. Além disto, apresentam potencial toxicidade para os organismos bentônicos e podem ser responsáveis pela transferência de contaminantes para os organismos da coluna d'água, comprometendo a saúde humana, uma vez que estes podem consumir organismos aquáticos contaminados (BURTON; MACPHERSON, 1995).

Para avaliações da qualidade de sedimentos, organismos bentônicos são os mais indicados, uma vez que vivem em contato direto com o sedimento (BETTINETTI et al., 2002; BURTON, 1992). Porém, outros organismos aquáticos que vivem na coluna d'água também podem ser utilizados, já que existe forte interação entre os compartimentos do sistema aquático. Os contaminantes associados aos sedimentos afetam diretamente a comunidade bentônica e a não bentônica sofre os efeitos pelos processos indiretos como: dragagem, ressuspensão, bioturbação, adsorção ou mesmo ingestão de sedimentos por espécies epibênticas (BURTON, 1992).

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

A avaliação do potencial tóxico de metais em sedimentos naturais apresenta grande dificuldade, dado que suas características físicas e químicas variam amplamente e as rotas de absorção e eliminação dos poluentes pelos organismos aquáticos são as mais diversificadas possíveis (EDWARDS; SIMKISS, 2005). Nesse

sentido, a quantidade de experimentos utilizando sedimentos artificiais em laboratório tem aumentado nos últimos anos, permitindo avaliar efeitos de diversos poluentes em organismos aquáticos diante de condições controladas (CLÉMENT; CADIER, 1998; KEMBLE et al., 1999; NAYLOR; RODRIGUES, 1995; RIBEIRO et al., 1999; ROMAN et al., 2007; VERRHIEST et al., 2002).

Entre as vantagens de se utilizar sedimentos sintéticos em relação aos sedimentos naturais, pode-se citar: a possibilidade de ter uma situação controlada, com características e propriedades conhecidas (tamanho e proporção de partículas) para avaliar e prever como os sedimentos naturais reagiriam em contato com diversos poluentes; são desprovidos de macrofauna nativa e contaminantes prévios; apresentam considerável reprodutibilidade; proporcionam a sobrevivência e crescimento de diversos organismos; facilitam a comparação interlaboratorial; podem ser estocados sem maiores problemas (SUEDEL; RODGERS, 1994), além de fornecer informações a respeito do comportamento de diversas substâncias individualmente ou em misturas complexas em função da composição do substrato (CAMPAGNA, 2010).

Para um melhor entendimento da relação entre os contaminantes presentes no sedimento e efeitos adversos à biota, valores-guia de sedimentos tem sido utilizados para avaliar os riscos de contaminação. Os valores-guia são ferramentas que sintetizam efeitos adversos em diferentes organismos frente a concentrações de poluentes em sedimentos e tem sido estabelecidos por agências ambientais da América do Norte. Estes valores são gerados a partir de concentrações basais nos sedimentos, testes de toxicidade com a fortificação de sedimentos, critérios de qualidade para outras matrizes (água, solos e tecidos) e avaliação da comunidade bentônica (CCME, 1999).

Entre os valores-guias utilizados tem-se o Canadian Environmental Quality Guidelines, gerados a partir de informações químicas e toxicológicas disponíveis na América do Norte, de acordo com o Conselho Canadense de Ministérios do Meio Ambiente (CCME, 2003). No Brasil, o único documento legal que se refere à contaminação de sedimentos é a Resolução CONAMA nº344 de 2004 que, na realidade, foi elaborada para estabelecer diretrizes gerais e procedimentos para a avaliação do material a ser dragado, que trata-se, na essência, de sedimento

(ARAÚJO et al., 2006). Vale ressaltar que os valores orientadores descritos na resolução nacional são os mesmos descritos em publicações internacionais, inclusive a do Canadian Environmental Quality Guidelines. Os valores apresentados nestas publicações são divididos em dois níveis: nível 1, limiar abaixo do qual se prevê baixa probabilidade de efeitos adversos à biota (ou TEL) e nível 2, limiar acima do qual se prevê provável efeito adverso à biota (ou PEL).

Desse modo, é necessário gerar um banco de dados a respeito da toxicidade de poluentes adicionados a sedimentos naturais e artificiais em organismos aquáticos, buscando avaliar os efeitos tóxicos frente a diferentes composições e características dos sedimentos em ambientes tropicais. Os sedimentos artificiais podem auxiliar na interpretação da toxicidade de substâncias a organismos aquáticos, redução dos custos com coleta e acondicionamento de sedimentos naturais; rapidez e facilidade na preparação dos sedimentos e, conseqüente facilidade na realização dos testes e a possibilidade de comparação de resultados entre laboratórios, bem como sedimentos naturais (CAMPAGNA, 2010).

## **Cádmio**

O cádmio (Cd) é um metal extensamente distribuído na crosta terrestre. Altas concentrações são encontradas junto às áreas de depósitos de minérios de zinco, chumbo e cobre. Essas áreas são freqüentemente caracterizadas pela contaminação local do solo e água. A mineração desses minérios tem aumentado consideravelmente a contaminação pelo cádmio. Em áreas distantes de fontes naturais desse metal, a sua concentração no solo varia de 0,1 a 0,4 mg.Kg<sup>-1</sup> e na água doce são inferiores a 0,01 a 0,06 ng.L<sup>-1</sup> (WHO, 1992).

Este metal apresenta excelente resistência à corrosão, possui uma baixa temperatura de derretimento e condutividade térmica e elétrica. Seus compostos apresentam alta resistência a estresses e altas temperaturas, detendo, inclusive, a degradação de alguns plásticos e, por possuírem propriedades semi-condutoras, são utilizados em baterias e outros componentes eletrônicos. Pigmentos contendo

cádmio produzem cores intensas de amarelo, laranja e vermelho, sendo utilizados em plásticos, vidros, cerâmicas e tintas (ICdA, 2009).

O consumo de cádmio varia de acordo com o país, dependendo das restrições ambientais, do desenvolvimento industrial, das fontes naturais e dos níveis comerciais (CARDOSO; CHASIN, 2001). Mas, devido às suas diversas propriedades, o metal cádmio e seus compostos, são utilizados como pigmentos, estabilizadores, recobrimentos, ligas, componentes eletrônicos e, principalmente, baterias recarregáveis de níquel-cádmio. Dados de 2003 indicam o perfil do consumo desse metal: 79% em baterias, 11% em pigmentos, 7% em recobrimento, 2% em estabilizadores e 1% em outros usos (ICdA, 2009).

O cádmio ocorre naturalmente no ambiente, sendo resultado do processo de erosão de solos e rochas e a atividade vulcânica (ICdA, 2009; WHO, 1992). É um subproduto da produção do zinco e, portanto, segue os níveis de produção deste. Uma pequena produção mundial ocorreu na década de 1920 sendo seguida de um rápido aumento devido ao desenvolvimento da utilização do cádmio na eletrodeposição. A produção mundial alcançou uma estabilização em 1970 e voltou a aumentar na década de 1980 (WHO, 1992).

As atividades humanas resultam em lançamentos de significativas quantidades de cádmio para o ambiente. Entre elas estão as atividades relacionadas à mineração, produção, consumo e disposição de produtos que utilizam cádmio, já mencionadas e as atividades nas quais o cádmio é um constituinte natural do material que está sendo processado ou consumido, como metais não-ferrosos, ligas de zinco, chumbo e cobre, emissões de indústrias de ferro e aço, combustíveis fósseis, cimento e fertilizantes fosfatados (WHO, 1992).

Para o ambiente aquático, as principais fontes antropogênicas de contaminação por cádmio são a mineração de metais não-ferrosos, a extração de rochas fosfatadas e manufatura e uso indevido de fertilizantes fosfatados, a acidificação de solos e lagos e a corrosão de soldas de juntas ou tubos de zinco galvanizados. Grande parte do cádmio que entra nos ecossistemas de água doce é rapidamente adsorvida à matéria orgânica e depositada no sedimento (WHO, 1992).

A forma como o cádmio encontra-se no sedimento é muito importante para que se determine a sua disponibilidade e remobilização: o cádmio co-precipitado com óxido de ferro hidratado é menos passível de ser mobilizado por ressuspensão dos sedimentos ou atividade biológica. Por outro lado, quando adsorvido a superfícies minerais como argila e a materiais orgânicos é mais facilmente bioacumulado e liberado quando há distúrbios ambientais, como modificação de pH, salinidade ou potencial redox (ATSDR, 1997).

A toxicidade do cádmio para organismos aquáticos depende de fatores associados às variáveis ambientais, bem como a forma química do metal. A dureza, salinidade, pH, agentes quelantes e a presença de matéria orgânica estão relacionados com a redução do cádmio livre na água e, conseqüentemente, na diminuição da sua toxicidade (SUEDEL; RODGERS; DEEVER, 1997).

O cádmio se acumula em organismos aquáticos com fatores de bioacumulação bastante elevados. Os efeitos em algas e invertebrados estão relacionados com o aumento do volume celular e inibição do fluxo de cálcio. Em peixes, os efeitos estão relacionados com inibição de vários sistemas enzimáticos, como os envolvidos na neurotransmissão, transporte transepitelial, metabolismo intermediário e atividades antioxidantes (OLIVEIRA-NETO, 2000). Novelli (2005) verificou a diminuição da fecundidade de *Ceriodaphnia dubia* expostas em concentrações de 10 e 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$  de cádmio. Dornfeld (2006) verificou a redução da sobrevivência, menor tamanho de corpo e cápsula cefálica e atraso da emergência em *Chironomus xanthus* expostos a concentrações de 70 $\mu\text{g.L}^{-1}$  de cádmio. Fracácio (2006) observou efeitos na sobrevivência, crescimento e morfologia de brânquias em *Danio rerio* expostos a concentrações a partir de 6 $\mu\text{g.L}^{-1}$  de cádmio.

### **Organismos-teste**

A escolha de um organismo-teste envolve uma série de critérios, entre os quais pode-se citar: a sensibilidade, na qual o organismo deverá responder a uma ampla variedade de contaminantes, em concentrações que podem ser encontradas no ambiente natural; a fácil manutenção em laboratório, em que o organismo deverá

ser adaptável às condições de cultivo; repetibilidade dos resultados, em que a repetição dos experimentos deverá fornecer resultados uniformes, com limites de erros aceitáveis; relevância, na qual o organismo deverá ter significado ecológico ou econômico; e ciclo de vida de curta duração, que facilita o tempo de duração dos testes (RAND; PETROCELLI, 1985).

No entanto, é praticamente impossível encontrar uma espécie com todas essas características ideais. Por isso, muitas espécies com normas padronizadas podem ser utilizadas nos testes em laboratório, no entanto, ressalta-se a extrema importância da realização de bioensaios com espécies nativas, que responderão melhor às condições encontradas nos ambientes naturais onde vivem (ADAMS; ROWLAND, 2002; DOMINGUES et al., 2007).

Na maioria dos testes realizados no Brasil são utilizados organismos-teste que não ocorrem em nossos ecossistemas ou que não possuem nenhuma relevância ecológica, aumentando a dificuldade para a avaliação de impactos de agentes químicos na qualidade de água para esses sistemas. Além disso, as condições de teste não retratam fielmente as condições dos ecossistemas tropicais e subtropicais que apresentam características diferentes como, por exemplo, condutividade, temperatura e matéria orgânica, entre outras variáveis que modificam as respostas dos organismos-teste. Desse modo, a extrapolação dos resultados obtidos em laboratório, bem como a predição de impactos baseados nesses testes perdem em qualidade (OLIVEIRA-NETO; BOTTA-PASCHOAL, 2000).

A utilização de espécies nativas para avaliação da toxicidade vem se tornando uma prática em diversos Centros de Pesquisa, pois possibilita maior representatividade quando se extrapolam os dados de ensaios em laboratório às condições de campo, aumentando a eficiência e confiabilidade das avaliações ecotoxicológicas, e promovem o conhecimento da sensibilidade de nossa biota a agentes tóxicos, permitindo a definição de critérios mais realistas para a legislação ambiental local (JACONETTI, 2005; OLIVEIRA-NETO; BOTTA-PASCHOAL, 2000). Além disso, o uso de espécies nativas evita a introdução acidental de espécies exóticas, que tem sido um problema em diversas regiões do mundo (FONSECA; ROCHA, 2004a; FREITAS; ROCHA, 2010).

*Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera, Daphnidae) é uma espécie de alta distribuição geográfica pela América do Sul, abundante, com ciclo de vida curto e facilmente cultivada em laboratório (FONSECA; ROCHA, 2004b; SANTOS, 2004). Sua alimentação constitui-se principalmente de algas, bactérias e detritos orgânicos (SANTOS, 2004).

As espécies de Chironomidae estão entre as mais abundantes na comunidade bentônica. No Brasil, a espécie de Chironomidae mais utilizada em testes de toxicidade é *Chironomus xanthus* (Diptera, Chironomidae) (DORNFELD, 2006). *C. xanthus* tem sua distribuição geográfica restrita ao Brasil e Argentina e é facilmente cultivada em laboratório e possui ciclo de vida curto (FONSECA; ROCHA, 2004a).

*Danio rerio* (Cypriniformes, Ciprinidae), apesar de não ser uma espécie nativa, atende aos critérios de seleção para um organismo-teste, é sensível e é recomendada pelas normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas para utilização em testes toxicológicos (ABNT, 2004; 2007). Estudos realizados com amostras ambientais nos capítulos anteriores demonstraram sua sensibilidade semelhante à espécie *P. reticulata*.

## **2. Objetivo Geral**

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a toxicidade de sedimentos sintéticos simples fortificados com cádmio utilizando *Ceriodaphnia silvestrii*, *Chironomus xanthus* e *Danio rerio*, como organismos-teste.

### **2.1. Objetivos específicos**

- Verificar a adequabilidade dos sedimentos artificiais sem fortificação em garantir a sobrevivência dos organismos-teste;

- Avaliar a toxicidade aguda dos sedimentos artificiais fortificados com cádmio para as espécies *C. silvestrii*, *C. xanthus* e *D. rerio* em concentrações determinadas em testes preliminares;
- Avaliar a toxicidade crônica dos sedimentos artificiais fortificados com cádmio para as espécies *C. silvestrii*, *C. xanthus* e *D. rerio* em concentrações-limite recomendadas pela legislação nacional (CONAMA 344/04) e internacional (CCME, 2003);
- Comparar a sensibilidade dos diferentes organismos-teste aos sedimentos artificiais fortificados com cádmio;
- Avaliar a influência de pequenas variações na concentração de matéria orgânica adicionada aos sedimentos artificiais sobre a toxicidade do cádmio aos organismos-teste em testes de toxicidade aguda e crônica;

### **3. Material e Métodos**

#### **3.1. Formulação dos sedimentos artificiais**

Os sedimentos artificiais foram formulados com areia grossa (aproximadamente 90%), argila caulinita (10%) e matéria orgânica (0; 0,25; 0,5 e 1%) e foram denominados Sed 0, Sed 0,25%, Sed 0,5% e Sed 1%, respectivamente. Inicialmente, buscou-se utilizar concentrações de matéria orgânica (MO) semelhantes àsquelas encontradas na bacia do Alto Jacaré-Guaçu (vide Capítulo 2), em torno de 3%. Porém, testes preliminares demonstraram que concentrações de matéria orgânica acima de 1% eram inviáveis para a utilização no estudo, uma vez que comprometiam a qualidade da água. Assim, os sedimentos foram formulados de maneira a conter concentrações de MO até 1%.

A areia foi adquirida em comércio especializado de materiais para a filtragem de água (Mineração Jundu LTDA) e apresentava granulometria conhecida (0,4-1mm), sendo isenta de contaminantes e matéria orgânica (ANEXO 1). A argila caulinita também foi obtida comercialmente (Synth), isenta de matéria orgânica e contaminantes (ANEXO 2).

A MO foi obtida a partir da preparação da macrófita aquática *Scirpus cubensis*. A macrófita foi coletada na Lagoa do Óleo, localizada na Estação Ecológica do Itaí, no município de Iguape, SP (21°35'14''S; 47°50'34''O), considerada um ambiente com baixa interferência humana (Irineu Bianchini Júnior e Odete Rocha, comunicação pessoal). Depois da coleta, a espécie foi seca em estufa (40°C), triturada e pulverizada para obtenção de partículas menores que 1 mm (OECD, 2004).

As frações de areia, argila e MO foram misturadas secas e, posteriormente, foram realizados os experimentos de capacidade de campo para a determinação dos volumes das soluções a serem adicionadas aos sedimentos, de forma a garantir uma umidade final de 60% do ponto de saturação dos sedimentos. Para os experimentos sem fortificação, foi adicionada apenas água destilada, enquanto que nos experimentos fortificados, foi adicionada uma solução de cloreto de cádmio ( $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (OECD, 2004).

Depois de umedecidos, os sedimentos foram mantidos em sala escura com temperatura controlada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) por 24h, visando a homogeneização e equilíbrio do contaminante no substrato. Após esse período, os sedimentos foram distribuídos nos recipientes-teste, quando receberam água de manutenção (com características semelhantes às dos cultivos de cada espécie) na proporção de 1:4 (sedimento:água). A água foi adicionada cuidadosamente a fim de se evitar ressuspensão do sedimento. Somente depois de 24h da adição da água, os organismos foram colocados nos recipientes.

## **3.2. Manutenção dos organismos-teste**

### **3.2.1. *Ceriodaphnia silvestrii***

Os organismos foram cultivados no Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia de Organismos Aquáticos do Núcleo de Estudos em Ecossistemas Aquáticos (NEEA/CRHEA/SHS/EESC/USP). Os exemplares foram mantidos em béqueres contendo 1 litro de água de manutenção com cerca de 70 organismos. Os

béqueres foram mantidos em incubadora com temperatura ( $23\pm 2^\circ\text{C}$ ), fotoperíodo (16h:8h claro:escuro) e intensidade luminosa (1000lux) controlados (ABNT, 2005). A água utilizada no cultivo foi natural, obtida em um poço artesiano isento de contaminantes localizado na Fazenda Sobloco S/A, que foi reconstituída nas condições indicadas pela norma da ABNT (2005) (pH 7,2-7,6; Dureza 40-46mg de  $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ ; Condutividade em torno de  $160\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ).

As trocas de água foram realizadas 3 vezes por semana, separando-se as fêmeas adultas ovadas e descartando-se os organismos jovens (neonatas). A alimentação dos organismos foi realizada após as trocas de água, sendo utilizada uma suspensão de *Pseudokirchneriella subcaptata*, na concentração de  $10^5$  células. $\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$  e alimento composto. Este foi preparado com fermento biológico seco tipo Fleischmann e ração para peixe (Tetramin). O alimento composto foi preparado misturando-se partes iguais de 25 mL de ração para peixe e levedura, sendo utilizado três vezes por semana  $1\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$  deste preparado, junto com a suspensão algal.

Mensalmente as culturas foram avaliadas pela exposição dos organismos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) (testes de sensibilidade), para avaliar a saúde dos organismos, de modo que os efeitos dos testes de toxicidade fossem decorrentes da toxicidade das substâncias testadas e não de problemas intrínsecos dos organismos. Os organismos foram considerados saudáveis para o teste, quando o valor de  $\text{CE}_{50;48\text{h}}$  situou-se entre 0,97 e  $1,37\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  (ABNT, 2005).

### **3.2.2. *Chironomus xanthus***

Os exemplares de *C. xanthus* foram obtidos da cultura mantida no Laboratório de Ecotoxicologia, do Departamento Ecologia e Biologia Evolutiva, da Universidade Federal de São Carlos. O cultivo foi realizado em bandejas cobertas por gaiolas de nylon para a retenção dos organismos adultos. Nessas bandejas foi colocada areia (esterilizado em autoclave a 120 atm, por 20 minutos) e água de manutenção (pH 7-7,6; Dureza 10-16 mg  $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ ), sendo mantido sob constante aeração, em sala com temperatura ( $25\pm 1^\circ\text{C}$ ) e fotoperíodo (12:12h claro:escuro) controlados. Os

organismos foram alimentados três vezes por semana com uma suspensão de Tetramin<sup>®</sup> na proporção de 0,04g.mL<sup>-1</sup> (FONSECA; ROCHA, 2004).

Assim como para *C. silvestrii*, as culturas foram avaliadas mensalmente pela exposição dos organismos a diferentes concentrações de cloreto de potássio, de forma a garantir a saúde dos organismos. Os indivíduos eram considerados adequados para utilização nos testes se os valores de CL50;96h estivessem dentro da faixa de sensibilidade obtida (2,14 a 4,62 g.L<sup>-1</sup>).

### **3.2.3. *Danio rerio***

Os juvenis de *D. rerio* foram obtidos comercialmente e mantidos em laboratório para aclimatação por um período de 15 dias, antes de serem utilizados nos testes de toxicidade. Os organismos foram mantidos em aquário com água reconstituída (Dureza 40-48 mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>; pH 7,0-7,6), com aeração constante e temperatura controlada (25±2°C). Os organismos foram alimentados diariamente com ração comercial (Tetrafin<sup>®</sup>). Cada lote adquirido teve a sensibilidade avaliada por meio de testes com dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) (ABNT, 2004) (Vide Capítulo 3).

### **3.3. Testes de toxicidade aguda**

Os testes de toxicidade aguda foram realizados com os sedimentos artificiais contendo 0 e 1% de matéria orgânica (Sed 0% e Sed 1%, respectivamente), mantendo a proporção de 1:4 (sedimento:água) (BURTON; MACPHERSON, 1994). Testes de toxicidade aguda preliminares foram realizados de forma a serem determinadas as concentrações utilizadas posteriormente, seguindo a mesma metodologia dos testes definitivos para cada espécie.

Nos testes com *C. silvestrii*, os sedimentos foram fortificados com as soluções de cloreto de cádmio de maneira a resultar em cinco concentrações nominais (1,8;

2,4; 3,0; 3,6 e 4,2 mg.Kg<sup>-1</sup>). Para os testes, foi utilizada a norma para bioensaios com *Daphnia similis*, adaptada para a espécie (ABNT, 2004). Os testes foram estáticos, com fotoperíodo (16:8h claro:escuro) e temperatura (23±2°C) controlados. Os testes foram realizados com neonatas (entre 6 e 24 horas de vida) e tiveram 48 horas de duração e não houve alimentação dos organismos. Foram utilizadas 4 réplicas para cada concentração e controle (água reconstituída), com cinco organismos cada. Os testes foram repetidos 4 vezes (TA1, TA2, TA3 e TA4, respectivamente). Ao início dos testes foram avaliados o pH, oxigênio dissolvido (OD), condutividade e dureza da água e, para isso, foram montadas réplicas adicionais, que foram descartadas ao início dos testes. Ao final dos testes, foram medidos o pH e o OD e foram contados os organismos imóveis para o cálculo da CE50;48h pelo programa Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977).

Para *C. xanthus*, os sedimentos foram contaminados com soluções-estoque de cloreto de cádmio de forma a resultar em cinco diferentes concentrações nominais (4; 8; 16; 32 e 64 mg.Kg<sup>-1</sup>). Os testes de toxicidade aguda foram estáticos, com fotoperíodo (12:12h claro:escuro) e temperatura (25±1°C) controlados. Ao início e final dos testes foram medidos o pH, condutividade e dureza da água. Estes foram realizados com indivíduos no 3<sup>o</sup>/4<sup>o</sup> instar de desenvolvimento e tiveram duração de 96h, não havendo alimentação dos organismos durante o período (FONSECA, 1997). Foram utilizadas 3 réplicas com 6 organismos para cada tratamento e controle (areia de cultivo). Os testes foram repetidos 3 vezes (TA1, TA2 e TA3, respectivamente). Ao final dos ensaios foi avaliada a mortalidade dos organismos e calculada a CL50;96h por meio do programa Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977).

Nos testes de toxicidade com *D. rerio*, os sedimentos foram contaminados com soluções de cloreto de cádmio que resultaram em concentrações nominais de 21, 42, 84 e 168 mg.Kg<sup>-1</sup>. Os testes foram estáticos, com fotoperíodo (12:12h claro:escuro) e temperatura (25±1°C) controlados. Ao início e final dos testes foram avaliados o pH, condutividade e dureza da água dos testes. Foram utilizadas 2 réplicas para cada concentração e controle (água reconstituída) contendo 5 juvenis cada, e os testes foram repetidos 3 vezes (TA1, TA2 e TA3, respectivamente), sem alimentação dos organismos. Ao final dos testes foi avaliada a mortalidade dos

organismos e calculada a CL50;48h por meio do programa Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977).

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

Os testes de toxicidade crônica foram realizados com os sedimentos contendo 0; 0,25; 0,5 e 1% de matéria orgânica (Sed 0, Sed 0,25%, Sed 0,5% e Sed 1%, respectivamente), mantendo-se a proporção sedimento:água de 1:4 (BURTON; MACPHERSON, 1994). De forma a garantir que os efeitos tóxicos nos organismos eram resultantes da adição do cádmio aos sedimentos formulados, os mesmos sem contaminação foram avaliados em testes de toxicidade crônica. Nestes, o sedimento foi umedecido com água destilada. Nos experimentos com fortificação, foram adicionados volumes da solução-estoque de cádmio de forma a obter uma concentração nominal de  $0,6\text{mg.Kg}^{-1}$  (peso úmido). Esse valor foi obtido com base no valor do Canadian Interim Sediment Quality Guideline (CCME, 2003) e no valor recomendado pelo CONAMA 344/04, considerado com baixa probabilidade de efeito adverso à biota. A água reconstituída utilizada nos testes tinha as características específicas para a manutenção e cultivo de cada espécie.

#### **3.4.1. *Ceriodaphnia silvestrii***

Nos testes com *C. silvestrii*, a metodologia foi baseada na norma 1002.0 da USEPA (2002) para testes com *Ceriodaphnia dubia*, adaptada para a espécie. Os testes foram semi-estáticos, com fotoperíodo (16:8h claro:escuro) e temperatura ( $23\pm 1^\circ\text{C}$ ) controlados. Os testes foram realizados com neonatas (entre 6 e 24 horas de vida) e tiveram de 7 a 10 dias de duração, período necessário para a produção da terceira ninhada. A contagem e retirada de neonatas foi feita 3 vezes por semana, com o cuidado de não revolver o sedimento. Após, era feita a renovação da água e a alimentação dos organismos. Foram utilizadas 10 réplicas para cada tipo de sedimento e controle (água reconstituída), com uma neonata em cada. Os testes

foram repetidos 3 vezes (TC1, TC2, TC3, respectivamente). Ao início, nas trocas de água e ao final dos testes foram avaliados o pH, oxigênio dissolvido (OD), condutividade e dureza da água.

Os dados de sobrevivência e número de neonatas produzidas foram acompanhados até o final dos testes. Para avaliação da sobrevivência, foi realizado o teste de Fisher com auxílio do BioEstat 3.0 (AYRES et al., 2003). Em relação à reprodução, o valor deverá ser maior que 14 neonatas por fêmea, sendo que 60% das fêmeas deverão alcançar estes valores em 3 posturas até o final do teste, que não deve exceder 10 dias (JACONETTI, 2005).

#### **3.4.2. *Chironomus xanthus***

Nos testes com *C. xanthus*, foi empregado o método descrito na norma 218 da OECD (2004). Os testes foram estáticos, com aeração constante, fotoperíodo (12:12h claro:escuro) e temperatura ( $25\pm 1^\circ\text{C}$ ) controlados. Indivíduos no 1º instar de desenvolvimento foram expostos aos sedimentos contaminados durante sete dias e alimentados com a mesma ração de cultivo, a cada dois dias, totalizando três vezes durante os testes. Para cada tratamento (tipos de sedimento) e controle (areia de cultivo) foram utilizadas 6 réplicas com 10 organismos cada (OECD, 2004). Ao início e final dos testes foram medidos o pH, a condutividade e a dureza da água. Os testes foram repetidos 3 vezes (TC1, TC2, TC3, respectivamente). Ao final dos testes foram avaliados a sobrevivência, a biomassa seca, a morfologia do mento e a acumulação de metais nos tecidos dos organismos. Uma vez contados os organismos sobreviventes, 50% foram utilizados na avaliação da biomassa e, posteriormente, encaminhados para avaliação de cádmio nos tecidos. Os 50% restantes foram encaminhados para a análise da morfologia de mento.

A sobrevivência dos organismos foi comparada utilizando-se o teste de Fisher. Quanto à biomassa seca média, esta foi comparada utilizando-se o teste de Mann-Whitney entre os organismos dos testes sem fortificação e com fortificação com cádmio. Essa mesma comparação foi utilizada para a morfologia de mento e a concentração de cádmio nos tecidos dos organismos.

Para a avaliação da morfologia do mento foram montadas lâminas semi-permanentes com a cápsula cefálica dos organismos, utilizando meio Hoyer. Foram considerados três tipos de deformidade no mento de *Chironomus*: gap (fendas), a falta e o excesso de dentes (KUHLMANN; HAYASHIDA; ARAÚJO, 2000) e a porcentagem de alterações foi comparada àquela encontrada nos experimentos sem fortificação pelo teste exato de Fisher.

Os organismos utilizados para a avaliação da concentração de metais em tecidos foram secos em estufa (50°C) até obtenção de peso constante. Depois receberam 5mL de ácido nítrico concentrado, e permaneceram durante 1 hora em placa aquecedora (76°C). Após a digestão, este volume foi completado para 50 mL com água ultrapura (Mili-Q), sendo posteriormente realizada a leitura em Espectrofotômetro de Absorção Atômica por forno de grafite (Varian SpectrAA 220) (MEYER; BOESE; COLLYARD, 2002).

### **3.4.3. *Danio rerio***

Os testes de toxicidade crônica parcial com *D. rerio* foram realizados com base nas normas da Secretaria Estadual do Meio Ambiente (SEMA, 1988). Apesar de existir uma norma mais recente para testes de toxicidade crônica com peixes (ABNT, 2007), a norma mais antiga foi utilizada, pois os testes com amostras ambientais realizados em 2007 e 2008 tiveram a metodologia baseada nestes, mantendo-se as mesmas para os testes com sedimentos sintéticos.

No início da montagem dos testes, 10% do total de organismos utilizados foram avaliados biometricamente para averiguar a homogeneidade do lote. O peso total e comprimento padrão foram aferidos por meio de balança analítica e paquímetro.

Os testes foram estáticos, com duração de sete dias e contaram com três réplicas, com 10 organismos em cada amostra, inclusive controle (água reconstituída), totalizando 30 organismos. O controle foi mantido com água reconstituída, semelhante à do cultivo. Os testes foram mantidos com aeração constante, temperatura ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e fotoperíodo controlados (12:12h claro: escuro) e

os organismos foram alimentados diariamente. As variáveis pH, condutividade, dureza, oxigênio dissolvido e sobrevivência foram avaliadas a cada 48 horas e os organismos mortos foram retirados. Os testes foram repetidos 3 vezes (TC1, TC2, TC3, respectivamente). Ao final dos testes, os organismos sobreviventes foram contados, sendo 50% avaliados biometricamente com auxílio de paquímetro e balança analítica e, posteriormente, encaminhados para a análise da morfologia de brânquias. Os outros 50% foram encaminhados para a avaliação da concentração de cádmio nos tecidos.

Ao final dos testes, a sobrevivência dos organismos em cada tipo de sedimento foi comparada com o controle pelo teste exato de Fisher, utilizando o BioEstat 3.0 (AYRES et al., 2003). Os sobreviventes foram avaliados biometricamente quanto ao peso e comprimento padrão. Os pesos e comprimentos dos organismos expostos aos sedimentos fortificados com cádmio foram comparados aos pesos e comprimentos dos organismos mantidos no controle com o auxílio do teste estatístico de Mann-Whitney, também utilizando o BioEstat 3.0 (AYRES et al., 2003). A toxicidade crônica foi constatada quando diferenças significativas foram observadas entre os grupos de amostras e o controle, seja na sobrevivência e/ou crescimento dos organismos.

Para a avaliação histológica da morfologia de brânquias, os organismos foram fixados em Bouin por 18 horas e, posteriormente, lavados em água corrente por 24 horas. Em seguida, foram submetidos a uma desidratação prévia em uma série de alcoóis (de 30 a 70%, substituídos a cada 24 horas) para preservação em álcool 70%. Os organismos foram então desidratados em uma bateria de alcoóis, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. A trimagem para a obtenção dos cortes seriados (4 – 6 micrômetros) foi efetuada em micrótomo MICRON HM 340E utilizando-se navalha de aço. Depois, o material foi corado com hematoxilina-eosina (HE) e analisados sob microscópio óptico. A morfologia de brânquias foi analisada e o tipo e grau das alterações encontradas foram classificados conforme os critérios de Ole si e Mitro i -Tutundi i (1994) (Vide Capítulo 3).

#### 3.4.4. Análises físicas e químicas

Nos experimentos sem fortificação, foram realizadas análises de nitrito e nitrato (MACKERETH; HERON; TALLING, 1978), íon amônio (KOROLEFF, 1976), nitrogênio orgânico total, fósforo total, fósforo total dissolvido e fosfato inorgânico (APHA, 1995), silicato reativo (GOLTERMAN; CLYMO; OHNSTAD, 1978), carbono orgânico total e dissolvido na água. No sedimento, foram analisados a matéria orgânica (TRINDADE, 1980), fósforo total (ANDERSEN, 1976), nitrogênio orgânico total (APHA, 1995). Ao início e final dos testes, para todas as espécies, foram retiradas amostras de água e sedimento para análises de cádmio total nas amostras de água (APHA, 1999) e cádmio biodisponível no sedimento (SILVÉRIO et al., 2005).

#### 3.4.5. Extração seqüencial

A extração seqüencial foi realizada em algumas amostras empregando-se frações do método adaptado por Silveira et al. (2006) para solos tropicais, pois não há fracionamento dos óxidos como descrito pelos autores. As frações analisadas foram: (I) trocável (F1); (II) ligada a carbonatos (F2) (devido ao pH elevado das amostras); (III) ligada à matéria orgânica (F3); (IV) ligada a óxidos de Fe, Al e Mn (F4); e residual (F5). Para realizar a extração seqüencial, pesou-se 1g do material seco peneirado a 100 mesh, que foi adicionado a tubos de centrífuga de policarbonato, seguindo-se as extrações seguintes:

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

II) Carbonatos (F2): extraída com 30 mL de NaOAC 1,0 mol.L<sup>-1</sup> (pH 5), com agitação de 5h em agitador horizontal, em temperatura ambiente;

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

IV) Óxidos de Al, Fe e Mn (F4): nessa fração não houve fracionamento dos óxidos e foi obtida com o uso do oxalato de amônio 0,2 mol.L<sup>-1</sup> + ácido oxálico 0,2 mol.L<sup>-1</sup> + ácido ascórbico 0,1 mol.L<sup>-1</sup> ajustado a pH 3 (SCHWERTMANN, 1959). As amostras foram agitadas com 40 mL de solução extratora em banho-maria a 90°C por 30 min. O procedimento de extração foi realizado na ausência de luz para que não houvesse degradação do oxalato;

V) Residual (F5): após F4, o material foi seco em estufa com circulação forçada a 60°C, moído, homogeneizado e pesado. Essa fração foi obtida após digestão total com HNO<sub>3</sub> + HF + água ultrapura em forno de microondas, de acordo com o método 3052 da Environment Protection Agency (1996).

Entre cada extração sucessiva, a amostra foi suspensa com 5,0 mL de NaCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup> para deslocar a solução anterior que possa ter permanecido no tubo e para limitar a readsorção do metal (AHNSTROM; PARKER, 1999). Todas as suspensões foram centrifugadas a 1225 x g por 10 min e filtradas. Os extratos das frações F1, F2 e F3 foram acidificados para evitar o crescimento de microrganismos. Os metais foram determinados em cada fração por Espectrofotometria de Absorção Atômica por forno de grafite (SpectrAA 220, Varian) e, foi calculado o índice de recobrimento utilizado como critério de controle dos resultados obtidos o limite máximo de erro tolerável igual a ±20%, sendo:

$$\text{recuperação (\%)} = \left( \frac{\text{teores metal nas frações}}{\text{teor total}} \right) \times 100.$$

O grau de recuperação (100 ± 20%) foi utilizado como critério de controle de qualidade das análises (SILVEIRA et al., 2006). Os teores totais foram determinados segundo o método 3052 (EPA, 1996) com digestão em forno de microondas com HNO<sub>3</sub> + HF + água ultrapura.

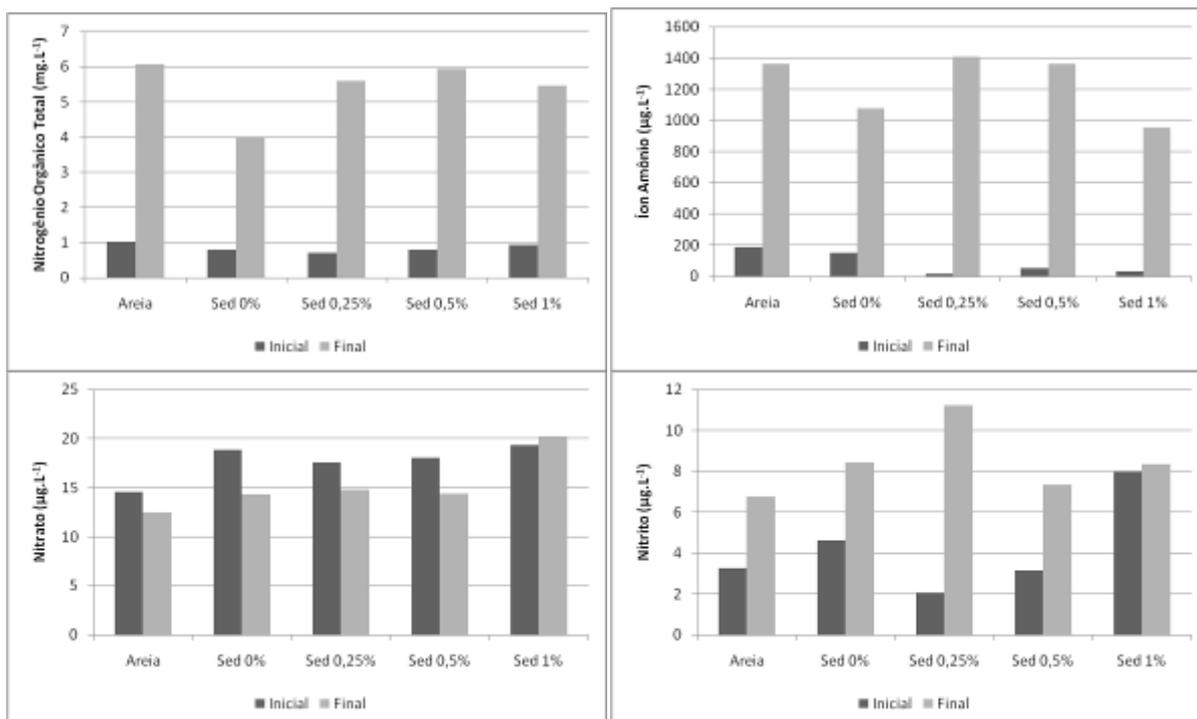
## 4. Resultados

### 4.1. Sedimentos artificiais sem fortificação

#### 4.1.1. Água

##### Compostos nitrogenados

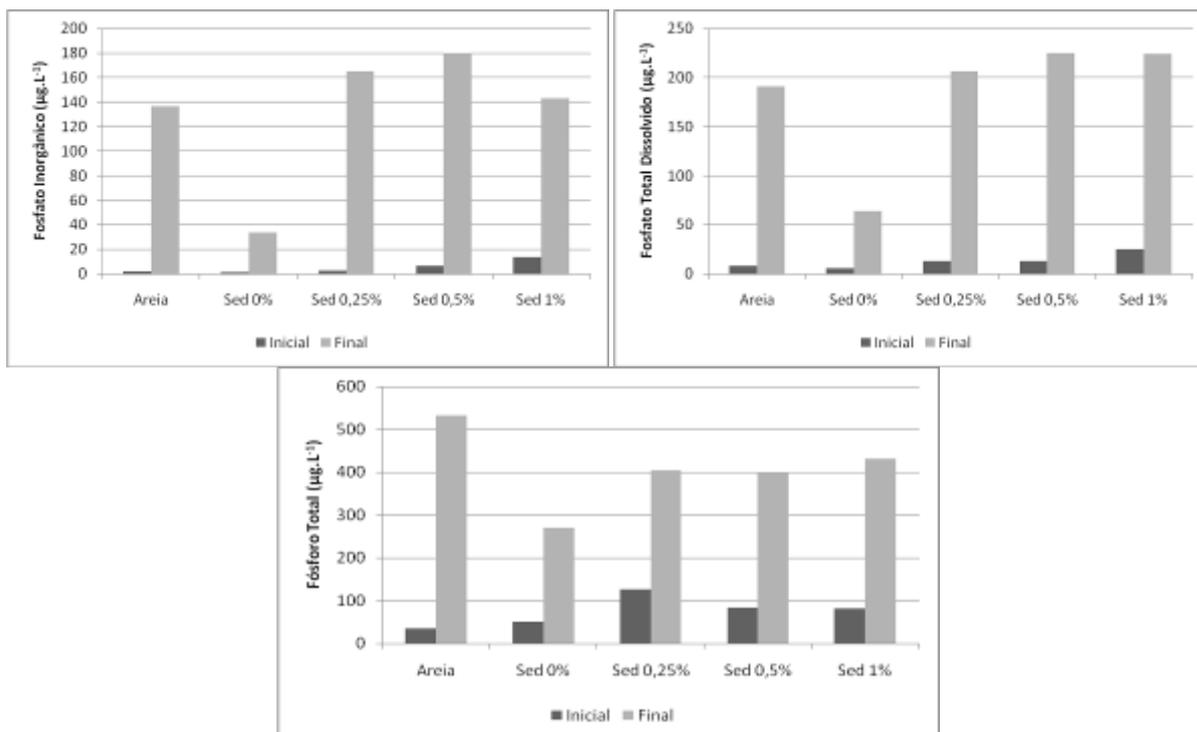
As concentrações de nitrogênio orgânico total estiveram mais elevadas no final do experimento em todos os tratamentos, atingindo valores de  $6,07 \text{ mg.L}^{-1}$  no sedimento somente composto de areia. Tanto as concentrações iniciais quanto as finais não apresentaram grande variabilidade. Com relação ao íon amônio também foi possível verificar concentrações maiores no final do experimento. No início do experimento, as concentrações foram mais elevadas nos tratamentos Areia e Sed 0% ( $188,13 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $148,43 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente), enquanto que no final do experimento os valores mais elevados foram encontrados em Sed 0,25% e 0,5% ( $1408,90 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $1363,30 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente). As concentrações de nitrato tiveram uma leve tendência ao aumento em direção ao sedimento com maior teor de matéria orgânica, sendo possível detectar valores mais elevados no início do experimento. As concentrações estiveram entre  $12,48 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $20,20 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ , em Areia e Sed 1%, respectivamente. Com relação ao nitrito, os valores estiveram mais elevados no final do experimento, exceto para Sed 1%, onde as concentrações foram semelhantes. Não foi possível verificar uma tendência em relação ao teor de matéria orgânica nos sedimentos, sendo os menores e maiores valores encontrados no Sed 0,25% ( $3,17 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $11,23 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ), no início e final do experimento, respectivamente (Figura 4.1).



**Figura 4.1:** Concentração de nitrogênio orgânico total ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), íon amônio ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ), nitrato ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e nitrito ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade.

### Compostos fosfatados

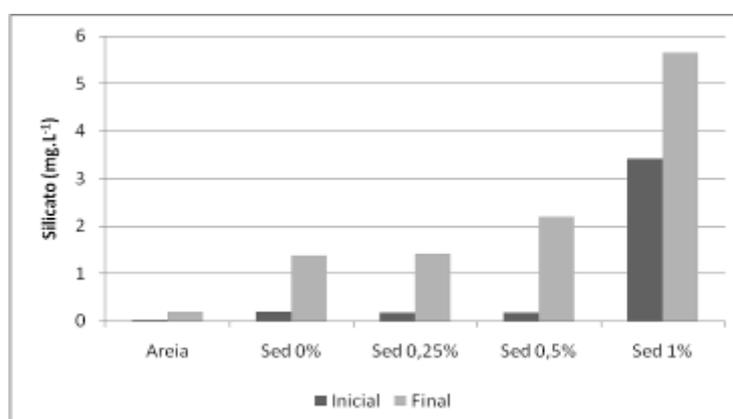
As concentrações de fosfato inorgânico estiveram mais elevadas no final dos testes, atingindo valores em torno de  $180 \mu\text{g.L}^{-1}$  (Sed 0,5%). No início dos testes, o valor mais elevado foi verificado em Sed 1% ( $13,99 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). As concentrações de fosfato total dissolvido estiveram mais elevadas no final dos testes. Foram encontrados valores máximos em torno de  $225 \mu\text{g.L}^{-1}$  (Sed 0,5%) e mínimos em torno de  $6,0 \mu\text{g.L}^{-1}$  (Sed 0%). Com relação ao fósforo total, as concentrações estiveram mais elevadas nos sedimento com maiores teores de matéria orgânica e ao final dos testes, com valores variando entre  $269,69 \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $533,01 \mu\text{g.L}^{-1}$  (Sed 0% e Sed 1%, respectivamente) (Figura 4.2).



**Figura 4.2:** Concentração de fosfato inorgânico, fosfato total dissolvido e fósforo total ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade.

## Silicato

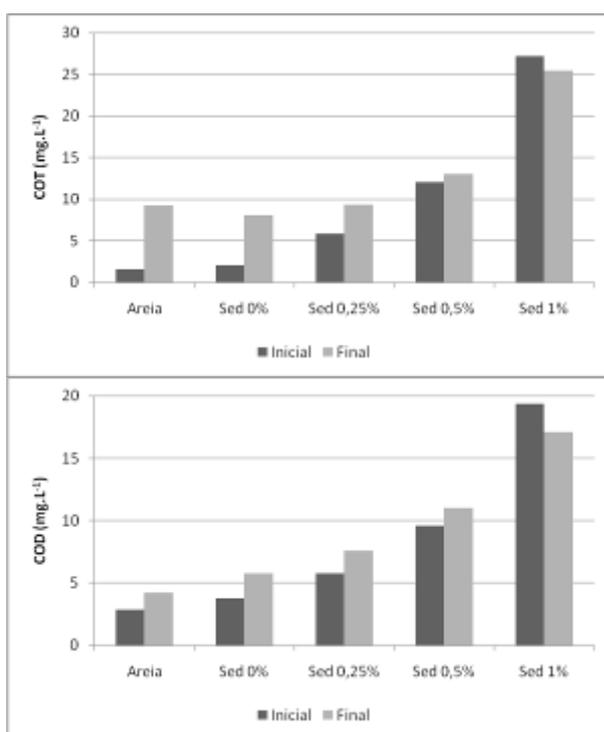
As concentrações de silicato reativo apresentaram uma tendência ao aumento em direção ao sedimento com maior porcentagem de matéria orgânica, sendo os valores mais elevados detectados ao final dos testes de toxicidade ( $5,65 \text{ mg.L}^{-1}$ , em Sed 1%) (Figura 4.3).



**Figura 4.3:** Concentração de silicato reativo nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade.

## Carbono Orgânico Total e Carbono Orgânico Dissolvido (COT e COD)

A concentração de carbono orgânico total nos sedimentos artificiais variou em função da característica do sedimento, apresentando valores mais elevados em sedimentos com maiores quantidades de matéria orgânica. Foi possível verificar uma tendência ao aumento na concentração do mesmo em decorrência do tempo, onde as concentrações iniciais de COT estiveram mais elevadas que as concentrações finais, exceto para Sed 1%. Os valores mais elevados estiveram em torno de  $27,21 \text{ mg.L}^{-1}$  (Sed 1%). A mesma tendência foi verificada para carbono orgânico dissolvido, com valores mais elevados em Sed 1% ( $19,37 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (Figura 4.4).

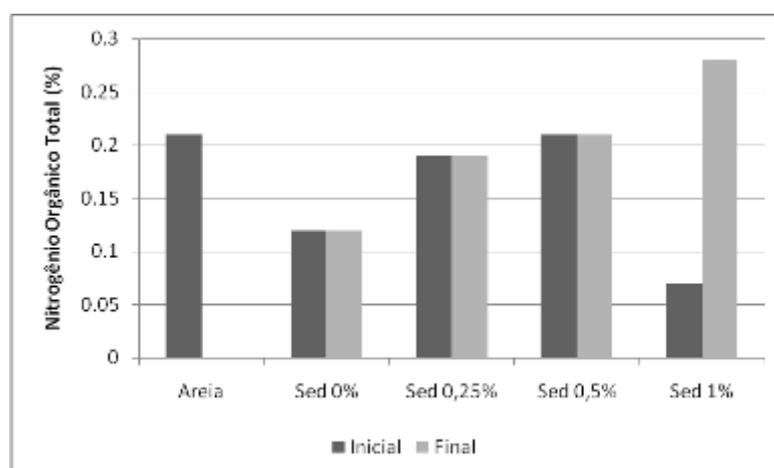


**Figura 4.4:** Concentração de carbono orgânico total e dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade sem fortificação.

### 4.1.2. Sedimento

#### Compostos nitrogenados

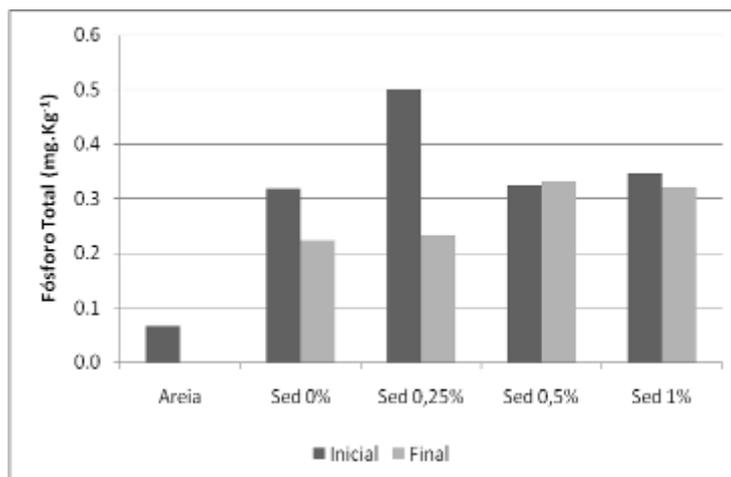
A análise de nitrogênio total no sedimento demonstrou certa tendência ao aumento das concentrações do Sed 0% em direção ao Sed 1%. No entanto, em relação às porcentagens iniciais, esta tendência sofreu uma alteração com relação ao Sed 1%, onde os valores encontrados estiveram mais baixos que nos demais sedimentos (Figura 4.5). Foi possível verificar que as concentrações iniciais estiveram semelhantes às concentrações finais em quase todos os tratamentos, exceto no Sed 1%. Os valores máximos e mínimos foram detectados no Sed 1%, sendo estes 0,28% e 0,07%, respectivamente.



**Figura 4.5:** Concentração de nitrogênio total (%) nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade sem fortificação.

### Compostos fosfatados

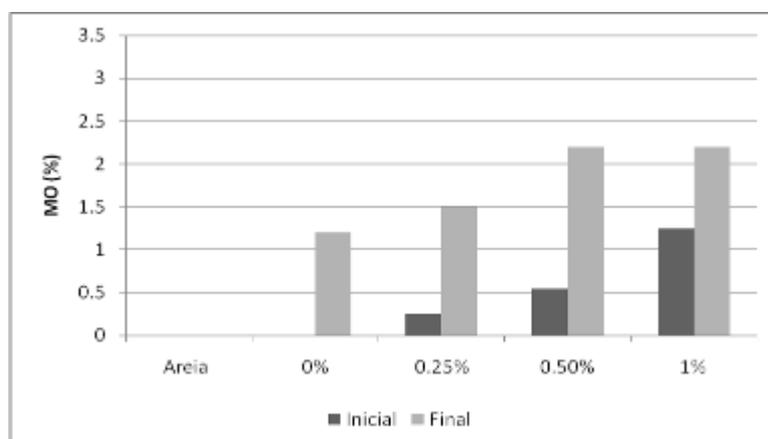
As concentrações de fósforo total nos sedimentos estiveram mais elevadas no início do experimento quando comparadas aos sedimentos finais, exceto no Sed 0,5%. A tendência ao aumento nas concentrações foi verificada no final do experimento, no entanto, no início não foi possível determinar esta situação. O valor mais elevado foi detectado no Sed 0,25% Inicial ( $0,50 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) e o mais baixo no Sed 0% Final ( $0,22 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) (Figura 4.6).



**Figura 4.6:** Concentração de fósforo total nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade sem fertilização.

## Matéria Orgânica

A análise de matéria orgânica no sedimento mostrou que as concentrações no início dos testes de toxicidade estiveram em torno daquelas propostas inicialmente na preparação dos mesmos (0,25; 0,5 e 1%). Com relação aos sedimentos finais, as porcentagens de matéria orgânica apresentaram valores mais elevados em Sed 0,5% e 1% (2,2% cada). Houve uma tendência ao aumento das concentrações de MO com o decorrer dos experimentos (Figura 4.7).



**Figura 4.7:** Porcentagem de matéria orgânica nos sedimentos artificiais sem contaminação no início e final dos testes de toxicidade sem fertilização.

### 4.1.3. Cádmio na água e sedimento

As concentrações de Cd na água e no sedimento dos experimentos sem fortificação ficaram abaixo do valor mínimo de detecção do aparelho,  $1,48\mu\text{g.L}^{-1}$ , sendo consideradas isentas do metal.

## 4.2. Testes de toxicidade com sedimentos sintéticos

### 4.2.1. Sensibilidade dos organismos

Os cultivos de *C. silvestrii* tiveram sensibilidade avaliada pela exposição ao cloreto de sódio (NaCl). A carta controle apresentou valores médios (  $\bar{x}$  ) de CE50;48h de  $1,17\text{ g.L}^{-1}$  de NaCl. O desvio padrão (DP) foi de 0,10, de modo que o limite inferior foi de  $0,97\text{ g.L}^{-1}$  e o limite superior ( $X+2\text{DP}$ ) foi  $1,37\text{ g.L}^{-1}$  (Figura 3 – Apêndice A).

Os cultivos de *C. xanthus* avaliados tiveram a sensibilidade avaliada pela exposição ao cloreto de potássio (KCl). Os valores médios (  $\bar{x}$  ) de CL50;96h da carta controle foram de  $3,38\text{ g.L}^{-1}$  de KCl. O desvio padrão (DP) foi de 0,62, de modo que o limite inferior foi de  $2,14\text{ g.L}^{-1}$  e o limite superior ( $X+2\text{DP}$ ) foi  $4,62\text{ g.L}^{-1}$  (Figura 4 – Apêndice A).

A carta controle de *D. rerio* está apresentada no item 4.2 do Capítulo 3.

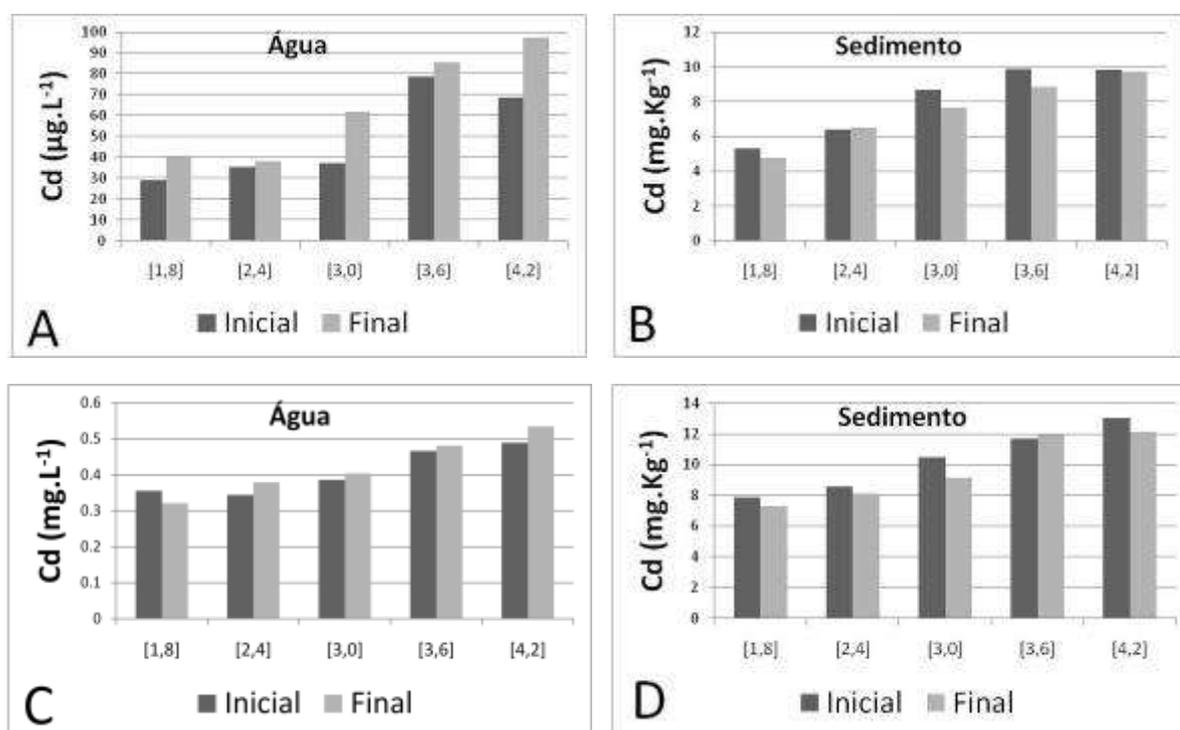
### 4.2.2. Homogeneidade dos lotes de *D. rerio*

Os lotes de *D. rerio* utilizados nos testes de toxicidade com sedimento sintético sem fortificação e fortificados com cádmio apresentaram relação peso-comprimento significativa, indicando homogeneidade dos lotes de organismos (Tabela 1 – Apêndice C).

### 4.2.3. Testes de toxicidade aguda

#### *Ceriodaphnia silvestrii*

As concentrações de Cd na das amostras de água retirada dos testes foi maior no Sed 1% (de 320  $\mu\text{g.L}^{-1}$  na concentração mais baixa de cádmio a 0,53  $\text{mg.L}^{-1}$  na concentração mais elevada) do que no Sed 0% (de 29,28  $\mu\text{g.L}^{-1}$  na concentração mais baixa a 97,37  $\mu\text{g.L}^{-1}$  na concentração mais elevada). Do início para o final dos testes, houve o aumento das concentrações de Cd na água. Nas amostras de sedimento, a concentração de Cd biodisponível nas amostras esteve ligeiramente mais elevadas no Sed 1% (7,28 a 13  $\text{mg.Kg}^{-1}$ ) em relação a Sed 0% (4,20 a 9,60  $\text{mg.Kg}^{-1}$ ). Ao contrário das concentrações de Cd água, a concentração de Cd biodisponível no sedimento tendeu a diminuição com o decorrer dos testes (Figura 4.8).



**Figura 4.8:** Concentração de Cd na água e sedimento ao início e final dos testes de toxicidade aguda com *C. silvestrii* em Sed 0% (A e B) e Sed 1% (C e D) fortificados com Cd.

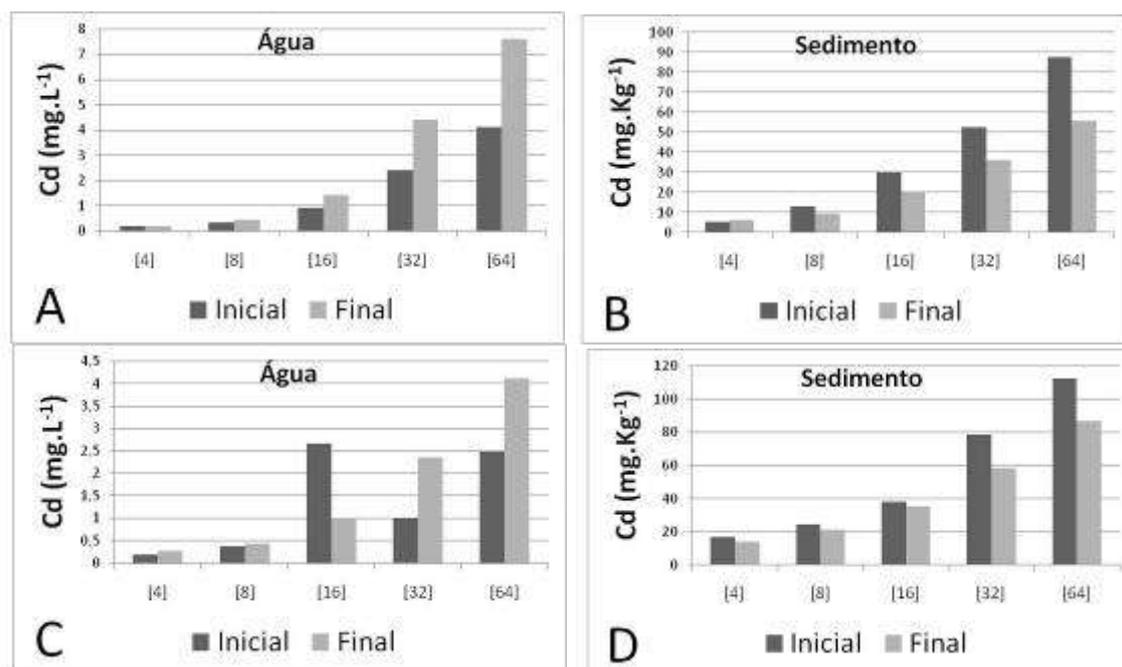
Os resultados dos testes de toxicidade aguda com *C. silvestrii* variaram pouco tanto nos mesmos sedimentos, como entre os sedimentos avaliados. No Sed 0%, a média da CE50;48h foi de 3,09 mg.Kg<sup>-1</sup> de cádmio, enquanto que no Sed 1%, a média foi de 2,98 mg.Kg<sup>-1</sup> de cádmio (Tabela 4.1).

**Tabela 4.1:** Valores de CE50;48h para os sedimentos fortificados com cádmio para os sedimentos 0 e 1% para *C. silvestrii*. Valores expressos em mg.Kg<sup>-1</sup> de Cd no sedimento.

<b>Teste de toxicidade aguda</b>	<b>Sed 0% CE50;48h (Intervalo de confiança)</b>	<b>Sed 1% CE50;48h (Intervalo de confiança)</b>
TA1	3,14 (3,03 – 3,26)	2,97 (2,58 – 3,19)
TA2	2,99 (2,84 – 3,15)	3,06 (2,81 – 3,33)
TA3	3,17 (2,98 – 3,36)	3,10 (2,94 – 3,26)
TA4	3,07 (2,86 – 3,29)	2,89 (2,70 – 3,08)
<b>Média (±DP)</b>	<b>3,09 (±0,08)</b>	<b>2,98 (±0,12)</b>
<b>Coefficiente de Variação</b>	<b>2,59%</b>	<b>4,02%</b>

### ***Chironomus xanthus***

Assim como para *C. silvestrii*, as concentrações de Cd nas amostras de água dos testes de toxicidade aguda com *C. xanthus* aumentaram com o decorrer dos mesmos. As concentrações de Cd nas amostras de água do Sed 0% (0,17 a 7,59 mg.L<sup>-1</sup>) foram cerca de 2 vezes maiores nas amostras de água do Sed 1% (0,18 a 4,11 mg.L<sup>-1</sup>). Já a concentração de Cd biodisponível nas amostras de sedimento dos testes com o Sed 0% (5,25 a 87,40 mg.Kg<sup>-1</sup>) foram cerca de 2 vezes menores do que nas amostras dos sedimentos dos testes com Sed 1% (13,88 a 112,53 mg.Kg<sup>-1</sup>) (Figura 4.9).



**Figura 4.8:** Concentração de Cd na água e sedimento ao início e final dos testes de toxicidade aguda com *C.xanthus* em Sed 0% (A e B) e Sed 1% (C e D) fortificados com Cd.

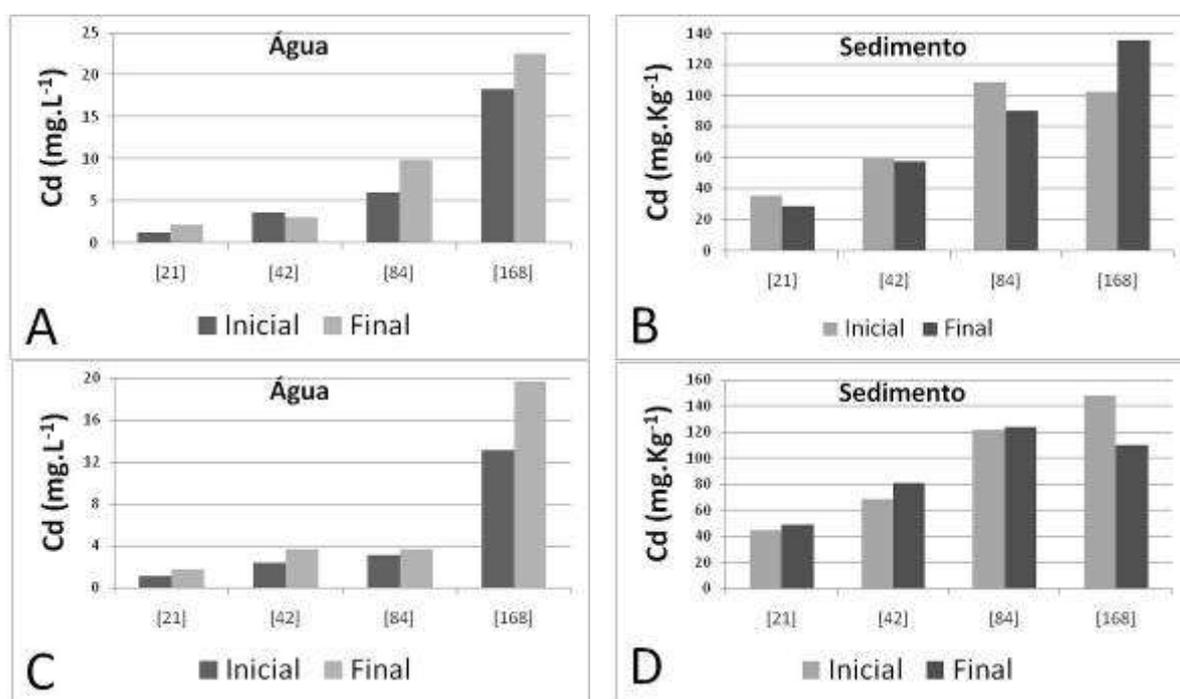
Os resultados dos testes de toxicidade aguda com sedimento fortificado com cádmio utilizando *C. xanthus* variaram pouco entre as repetições. No Sed 0% contaminado com cádmio a CL50;96h média encontrada foi de 18,67 mg.Kg<sup>-1</sup>. Já no Sed 1% o valor da CL50;96h média foi cerca de 4 vezes menor, de 4,93 mg.Kg<sup>-1</sup> (Tabela 4.2).

**Tabela 4.2:** Valores de CL50;96h para os sedimentos fortificados com cádmio para os sedimentos 0 e 1% para *C. xanthus*.

Teste de toxicidade aguda	Sed 0% CL50;96h (Intervalo de confiança)	Sed 1% CL50;96h (Intervalo de confiança)
TA1	20,86 (17,05 – 25,51)	4,33 (4,01 – 5,82)
TA2	17,20 (13,32 – 22,20)	5,34 (4,66 – 6,11)
TA3	17,96 (14,32 – 22,52)	5,12 (NC)
<b>Média</b>	<b>18,67 (±1,93)</b>	<b>4,93 (±0,53)</b>
<b>Coefficiente de Variação</b>	<b>10,34%</b>	<b>10,75%</b>

### *Danio rerio*

Assim como para as demais espécies avaliadas, as concentrações de Cd nas amostras de água dos testes de toxicidade agudos utilizando *D. rerio* aumentaram do início para o final dos testes. As concentrações de Cd nas amostras de água dos testes no Sed 0% (1,23 a 22,55 mg.L<sup>-1</sup>) foram ligeiramente mais elevadas que em Sed 1% (1,14 a 19,69 mg.L<sup>-1</sup>). Nos sedimentos, as concentrações de Cd biodisponível tenderam a diminuir com o decorrer dos testes e, os valores em Sed 1% (44,18 a 147,58 mg.Kg<sup>-1</sup>) estiveram um pouco mais elevados que os verificados no Sed 0% (28,75 a 135,70 mg.Kg<sup>-1</sup>) (Figura 4.10).



**Figura 4.9:** Concentração de Cd na água e sedimento ao início e final dos testes de toxicidade aguda com *D. rerio* em Sed 0% (A e B) e Sed 1% (C e D) fortificados com Cd.

O valor médio de CL50;48h para *D. rerio* no Sed 1% ficou abaixo do valor encontrado para o Sed 0%, assim como ocorreu para *C. xanthus*. O valor médio de CL50;48h para *D. rerio* no Sed 0% foi de 88,60 mg.Kg<sup>-1</sup> de cádmio, enquanto que no

Sed 1%, o valor médio de CL50;48h encontrado foi de 60,31 mg.Kg<sup>-1</sup> de cádmio (Tabela 4.3).

**Tabela 4.3:** Valores de CL50;96h para os sedimentos fortificados com cádmio para os sedimentos 0 e 1% para *D. rerio*.

<b>Teste de toxicidade aguda</b>	<b>Sed 0% CL50;48h (Intervalo de confiança)</b>	<b>Sed 1% CL50;48h (Intervalo de confiança)</b>
TA1	103,42 (86,78 – 123,24)	59,40 (NC)
TA2	84,00 (67,47 – 104,59)	53,30 (38,45 – 73,88)
TA3	78,37 (63,23 – 97,15)	68,23 (57,26 – 81,31)
<b>Média</b>	<b>88,60 (±13,14)</b>	<b>60,31 (±7,50)</b>
<b>Coefficiente de Variação</b>	<b>14,83%</b>	<b>12,43%</b>

#### 4.2.4. Testes de toxicidade crônica

##### 4.2.4.1. Sedimentos sem fortificação

###### *Ceriodaphnia silvestrii*

A sobrevivência dos organismos de *C. silvestrii* expostos aos sedimentos sintéticos sem fortificação com Cd indicou que a adequabilidade dos mesmo para manter os organismos, uma vez que não foram detectadas diferenças significativas entre a sobrevivência dos organismos no controle e os expostos aos sedimentos sintéticos (Tabela 4.4).

**Tabela 4.4:** Porcentagem de sobrevivência média de *C. silvestrii* e resultados da análise estatística de Fisher, com valores de p.

<b>Amostra</b>	<b>Porcentagem de sobrevivência (Desvio Padrão)</b>	<b>Valor de p</b>
Controle	96,7% (±5,8)	-
Controle X Sed 0%	90,0% (±10,0)	0,0820
Controle X Sed 0,25%	96,7% (±5,8)	0,6395
Controle X Sed 0,5%	93,3% (±11,5)	0,2686
Controle X Sed 1%	100,0% (± 0)	0,0606

A reprodução dos organismos também foi satisfatória, de modo que mais de 60% das fêmeas produziu mais de 14 neonatas em 3 posturas até o final do teste, como estabelecido por Jaconetti (2005). A média de neonatas produzidas nos três testes foi ligeiramente maior no controle ( $16 \pm 2$ ) em relação aos sedimentos sintéticos sem fortificação (Sed 0%,  $14 \pm 1$ ; Sed 0,25%,  $15 \pm 3$ ; Sed 0,5%,  $15 \pm 2$ ; Sed 1%,  $15 \pm 3$ ).

### ***Chironomus xanthus***

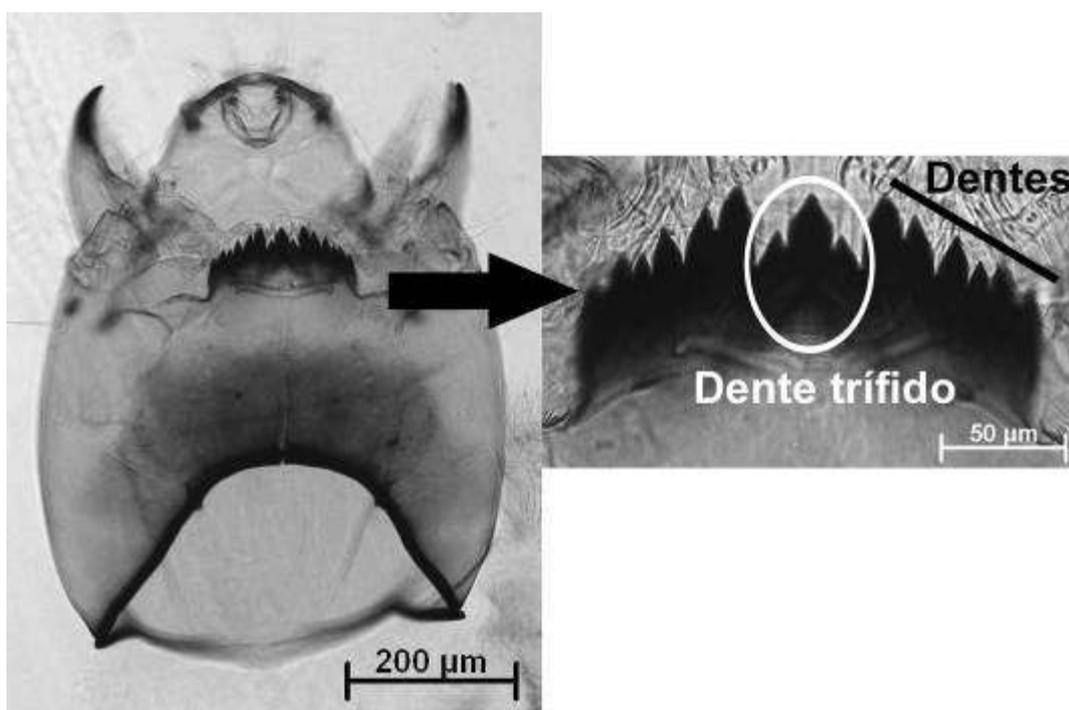
Os sedimentos sintéticos demonstraram-se adequados em garantir a sobrevivência de *C. xanthus*, uma vez que os organismos expostos aos sedimentos em testes de toxicidade crônica apresentaram alta sobrevivência (acima de 87,78%). As porcentagens médias de sobrevivência nos sedimentos artificiais não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle (Tabela 4.5).

**Tabela 4.5:** Porcentagem de sobrevivência média de *C. xanthus* e resultados da análise estatística de Fisher, com valores de p.

<b>Amostra</b>	<b>Porcentagem de sobrevivência (Desvio Padrão)</b>	<b>Valor de p</b>
Controle (Areia)	88,9% ( $\pm 10,5$ )	-
Controle X Sed 0%	87,8% ( $\pm 14,8$ )	0,8158
Controle X Sed 0,25%	94,5% ( $\pm 10,1$ )	0,2693
Controle X Sed 0,5%	95,6% ( $\pm 7,2$ )	0,0983
Controle X Sed 1%	87,8% ( $\pm 10,5$ )	0,8158

A biomassa seca média dos organismos de *C. xanthus* expostos no controle (somente com areia de Cultivo) foi de 0,324 mg, enquanto que em Sed 0% foi de 0,465 mg, em Sed 0,25% de 0,775 mg, em Sed 0,5% de 0,741 mg e em Sed 1% foi de 0,362 mg.

A análise da morfologia de mento de *C. xanthus* expostos nos testes com todos os tipos de sedimentos sintéticos sem fortificação indicou desenvolvimento normal dos indivíduos. Nos mentos dos organismos foi possível observar um dente trífido central acompanhado de seis dentes laterais (à esquerda e direita). Também foi possível observar a estrutura da cápsula cefálica, bem como alguns detalhes do aparato bucal de *C. xanthus* selecionados das lâminas semi-permanentes (Figura 4.11).



**Figura 4.10:** Exemplar de *C. xanthus* exposto ao sedimento artificial (Sed 1%) sem fortificação, mostrando desenvolvimento normal da cápsula cefálica e do mento.

A concentração de Cd nos tecidos de *C. xanthus* expostos aos sedimentos sintéticos sem fortificação revelaram a presença do metal em concentrações entre 4,47 (Sed 0%) e 34,24  $\mu\text{g.g}^{-1}$  (Sed 1%).

### ***Danio rerio***

A sobrevivência dos juvenis de *D. rerio* expostos aos sedimentos artificiais sem fortificação foi acima de 70% e não foram detectadas diferenças significativas entre os organismos expostos aos sedimentos sintéticos e os mantidos no controle,

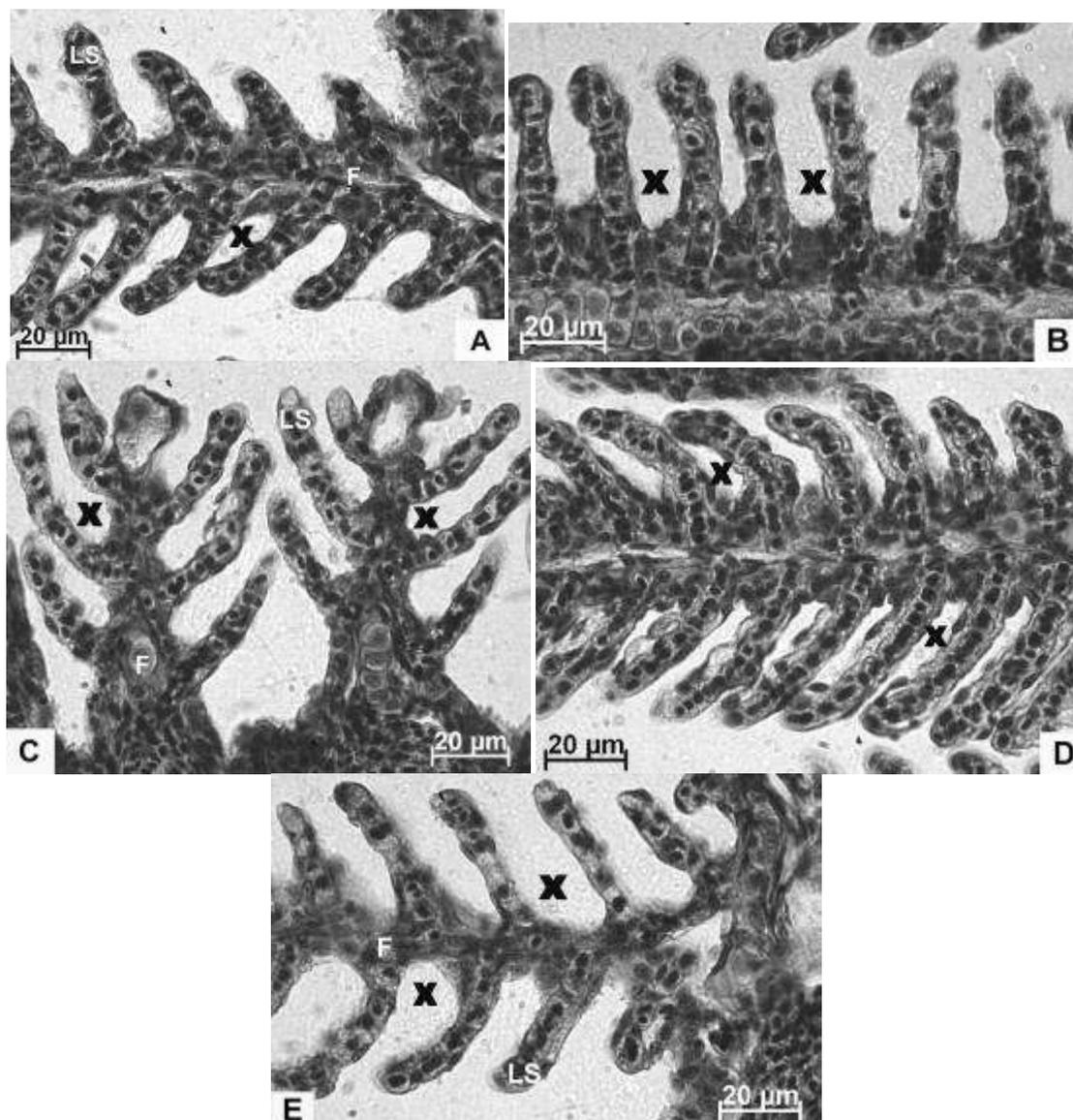
demonstrando a adequabilidade desses sedimentos em garantir a sobrevivência dos indivíduos (Tabela 4.6).

**Tabela 4.6:** Porcentagem de sobrevivência média de *D. rerio* e resultados da análise estatística de Fisher, com valores de p.

<b>Amostra</b>	<b>Porcentagem de sobrevivência (Desvio Padrão)</b>	<b>Valor de p</b>
Controle	93,3% ( $\pm 5,8$ )	-
Controle X Sed 0%	70,0% ( $\pm 0$ )	0,0500
Controle X Sed 0,25%	80,0% ( $\pm 20,0$ )	0,2542
Controle X Sed 0,5%	86,7% ( $\pm 11,5$ )	0,6707
Controle X Sed 1%	85,0% ( $\pm 7,1$ )	0,3772

Em relação ao crescimento, também não foram observados efeitos negativos nos juvenis de *D. rerio* expostos aos sedimentos sem fortificação de cádmio. A análise estatística de Kruskal-Wallis não revelou diferenças significativas no peso ( $p=0,4520$ ,  $p=0,3626$  e  $p=0,8673$ , nos testes TC1, TC2 e TC3, respectivamente) e comprimento padrão ( $p=0,1660$ ,  $p=0,1486$  e  $p=0,2516$ , nos testes TC1, TC2 e TC3 respectivamente) dos organismos ao final dos testes sem fortificação.

A análise da morfologia de brânquias dos organismos expostos aos sedimentos sem contaminação não revelou alterações nas brânquias dos juvenis, com lamelas secundárias desenvolvidas, espaços interlamelares bem definidos, indicando ausência de toxicidade dos sedimentos sintéticos (Figura 4.12).



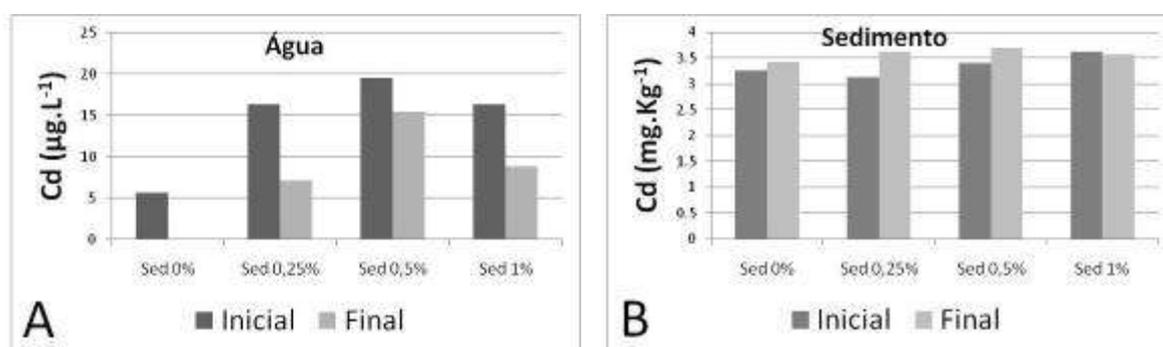
**Figura 4.11:** Brânquias de juvenis de *D. rerio* expostos aos sedimentos sintéticos sem contaminação. Notar os espaços interlamelares bem definidos (X), filamentos (F) e lamelas secundárias (LS) bem desenvolvidas. **A.** Organismos mantidos no controle. **B.** Sed 0%. **C.** Sed 0,25%. **D.** Sed 0,5%. **E.** Sed 1%.

Nos tecidos dos indivíduos de *D. rerio*, foram detectadas concentrações de cádmio entre 11,53 (Sed 0,25%) e 28,24  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (Sed 0,5%).

#### 4.2.4.2. Sedimentos fortificados com Cádmi

##### *Ceriodaphnia silvestrii*

Ao contrário do que ocorreu nos testes de toxicidade aguda, as concentrações de Cd nas amostras de água iniciais e finais dos testes de toxicidade crônica tenderam a diminuir com o decorrer dos testes. As concentrações mais elevadas foram verificadas em Sed 0,5% (19,53 e 15,39  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e as mais baixas foram em Sed 0% (5,69 e 0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ). Quanto ao sedimento, as concentrações de Cd biodisponível aumentaram ao longo do teste, ao contrário do que ocorreu nos testes agudos. As concentrações foram semelhantes em todos os sedimentos, mesmo com a variação das concentração de matéria orgânica (Figura 4.13).



**Figura 4.12:** Concentração de Cd na água (A) e sedimento (B) ao início e final dos testes de toxicidade crônica com *C. silvestrii* nos diferentes tipos de sedimento sintético fortificados com 0,6mg.Kg<sup>-1</sup> de Cd.

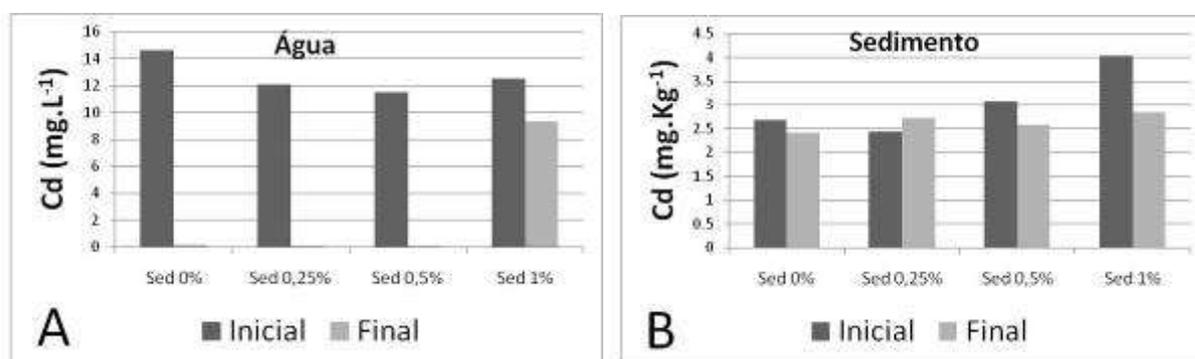
Nos testes de toxicidade crônica com sedimentos fortificados com Cd, a sobrevivência dos organismos foi afetada em todos os sedimentos. A concentração de 0,6 mg.Kg<sup>-1</sup> de Cd nos sedimentos, independente da concentração de matéria orgânica, causou efeitos severos na sobrevivência dos organismos (Tabela 4.7). Em função do comprometimento da sobrevivência, não foi possível avaliar a reprodução dos organismos.

**Tabela 4.7:** Sobrevivência média de *C. silvestrii* expostos aos sedimentos sintéticos sem fortificação e fortificados com  $0,6\text{mg.Kg}^{-1}$  de Cd. Porcentagem média de sobrevivência ( $\pm$  DP). Células destacadas indicam diferença significativa entre os tratamentos sem fortificação e fortificados com Cd, e o valor de p da análise estatística de Fisher ( $\alpha = 0,05$ ).

Amostra	Sem fortificação	Fortificado com Cd
Controle	96,7% ( $\pm 5,8$ )	-
Controle X Sed 0%	90,0% ( $\pm 10,0$ )	<b>20,0% (<math>\pm 17,3</math>) (p=0,0000)</b>
Controle X Sed 0,25%	96,7% ( $\pm 5,8$ )	<b>0% (<math>\pm 0</math>) (p=0,0000)</b>
Controle X Sed 0,5%	93,3% ( $\pm 11,5$ )	<b>0% (<math>\pm 0</math>) (p=0,0000)</b>
Controle X Sed 1%	100,0% ( $\pm 0$ )	<b>0% (<math>\pm 0</math>) (p=0,0000)</b>

### *Chironomus xanthus*

As concentrações de Cd nas amostras de água dos testes de toxicidade crônica com *C. xanthus* decresceram com o decorrer dos testes, assim como para *C. silvestrii*. No início dos testes, as concentrações variaram entre  $11,48$  (Sed 0,5%) e  $14,6$   $\text{mg.L}^{-1}$  (Sed 0%) e, ao final, entre  $0,1$  (Sed 0,25%) e  $9,3$   $\text{mg.L}^{-1}$  (Sed 1%). As concentrações de Cd biodisponível nos sedimentos também apresentaram uma tendência à queda ao longo dos testes, entre  $2,43$  (Sed 0,25%) e  $4,03$   $\text{mg.Kg}^{-1}$  (Sed 1%) no início dos testes e  $2,42$  (Sed 0%) e  $2,85$   $\text{mg.Kg}^{-1}$  (Sed 1%) ao final (Figura 4.14).



**Figura 4.13:** Concentração de Cd na água (A) e sedimento (B) ao início e final dos testes de toxicidade crônica com *C. xanthus* nos diferentes tipos de sedimento sintético fortificados com  $0,6\text{mg.Kg}^{-1}$  de Cd.

A sobrevivência média dos organismos nos testes de toxicidade crônica expostos aos sedimentos fortificados com Cd foi significativamente menor que nos testes com sedimento sintético sem fortificação. A sobrevivência foi menor no Sed 1%, em média, 28,3%, indicando uma maior toxicidade do metal com o aumento da MO (Tabela 4.8).

**Tabela 4.8:** Sobrevivência média de *C. xanthus* expostos aos sedimentos sintéticos sem fortificação e fortificados com 0,6mg.Kg<sup>-1</sup> de Cd. Porcentagem média de sobrevivência ( $\pm$  DP). Células destacadas indicam diferença significativa entre os tratamentos sem fortificação e fortificados com Cd, e o valor de p da análise estatística de Fisher ( $\alpha = 0,05$ ).

Amostra	Sem fortificação	Fortificado com Cd
Controle (Areia)	88,9% ( $\pm 10,5$ )	-
Sed 0%	87,8% ( $\pm 14,8$ )	<b>42,2% (<math>\pm 37,8</math>) (p=0,0000)</b>
Sed 0,25%	94,5% ( $\pm 10,1$ )	<b>30,5% (<math>\pm 45,8</math>) (p=0,0000)</b>
Sed 0,5%	95,6% ( $\pm 7,2$ )	<b>36,7% (<math>\pm 33,3</math>) (p=0,0000)</b>
Sed 1%	87,8% ( $\pm 10,5$ )	<b>28,3% (<math>\pm 30,1</math>) (p=0,0000)</b>

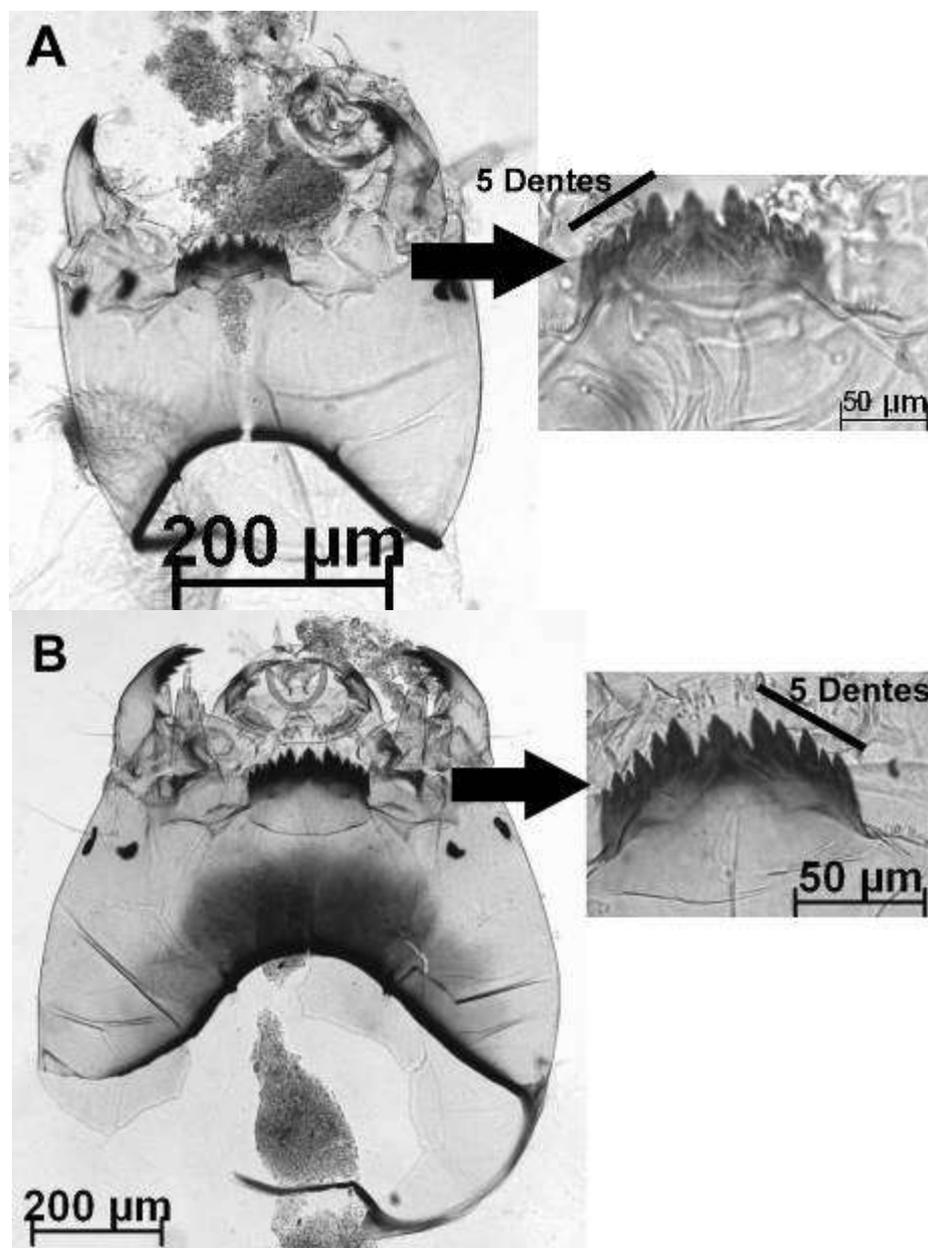
A avaliação da biomassa seca indicou diferença significativa entre os grupos dos organismos expostos nos sedimentos sem fortificação e fortificados com Cd pela análise de Mann-Whitney, com valor de p=0,0105 ( $\alpha = 0,05$ ) (Tabela 4.9).

**Tabela 4.1:** Biomassa seca média final de *C. xanthus* expostos aos sedimentos formulados sem fortificação e fortificados com 0,6mg.Kg<sup>-1</sup> de cádmio. Valores expressos em mg.

Amostra	Sem fortificação	Fortificado com Cd
Controle (Areia)	0,324	-
Sed 0%	0,465	0,191
Sed 0,25%	0,775	0,182
Sed 0,5%	0,741	0,115
Sed 1%	0,362	0,072

A morfologia de mento de *C. xanthus* expostos aos sedimentos fortificados com Cd revelou ausência de dentes em organismos expostos em Sed 0 e 1% em,

aproximadamente, 4 e 6% dos organismos, respectivamente. A porcentagem de alterações dos organismos expostos ao Sed 1% fortificado está significativamente maior em relação aos sedimentos sem fortificação pelo estatística de Fisher ( $p = 0,0145$  (Figura 4.15).



**Figura 4.14:** Exemplos de *C. xanthus* expostos em sedimentos sintéticos fortificados com Cd. **A.** Sed 0%. Notar o tamanho visivelmente menor da cápsula cefálica e ausência de dentes. **B.** Sed 1%. Cápsula cefálica ligeiramente maior que do Sed 0%, porém ainda menor que dos organismos mantidos nos sedimentos sem fortificação.

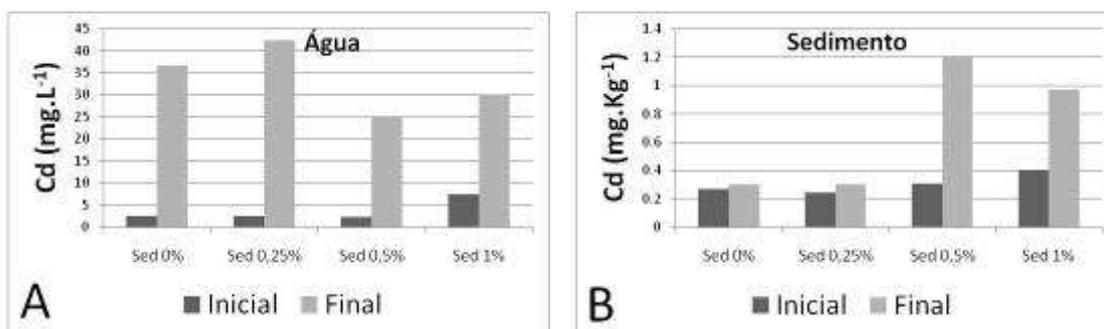
A concentração de metal nos tecidos de *C. xanthus* expostos aos sedimentos fortificados com  $0,6\text{mg.Kg}^{-1}$  de cádmio foi realizada somente em TC3 em função da reduzida sobrevivência dos organismos nos demais ensaios, resultando em massa insuficiente para a análise. Todos os organismos expostos aos sedimentos fortificados apresentaram concentrações de cádmio muito acima do encontrado nos organismos expostos aos sedimentos não fortificados (Tabela 4.10). A análise estatística de Mann-Whitney mostrou diferença significativa entre as concentrações de Cd nos organismos expostos aos sedimentos sem fortificação e fortificados com Cd ( $p=0,0209$ ,  $0,05$ ).

**Tabela 4.2:** Concentração de Cd nos organismos de *C. xanthus* expostos aos sedimentos sintéticos não fortificados e fortificados com  $0,6\text{mg.Kg}^{-1}$  de Cd. Valores expressos em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de peso seco.

Amostra	Sem Fortificação	Fortificado
Sed 0%	4,47	294,84
Sed 0,25%	1,15	323,55
Sed 0,5%	11,79	232,42
Sed 1%	34,24	557,00

### ***Danio rerio***

Ao contrário do que ocorreu com as outras espécies, a concentração de Cd nas amostras de água dos testes de toxicidade crônica com *D. rerio* aumentou ao longo dos testes. Ao início, as concentrações variaram entre 2,36 (Sed 0,5%) e 7,46  $\text{mg.L}^{-1}$  (Sed 1%), enquanto que, ao final dos testes, entre 24,86 (Sed 0,5%) e 42,39  $\text{mg.L}^{-1}$  (Sed 0,25%). As concentrações de Cd biodisponível no sedimento, assim como para *C. silvestrii*, aumentaram com o decorrer dos testes. As concentrações ao início dos testes foram bastante semelhantes, entre 0,24 (Sed 0,25%) e 0,40  $\text{mg.Kg}^{-1}$  (Sed 1%). Ao final dos mesmos, as concentrações foram maiores nos sedimentos com maior teor orgânico, de 0,97 (Sed 1%) e 1,2  $\text{mg.Kg}^{-1}$  (Sed 0,5%) (Figura 4.16).



**Figura 4.15:** Concentração de Cd na água (A) e sedimento (B) ao início e final dos testes de toxicidade crônica com *D. rerio* nos diferentes tipos de sedimento sintético fortificados com  $0,6\text{mg.Kg}^{-1}$  de Cd.

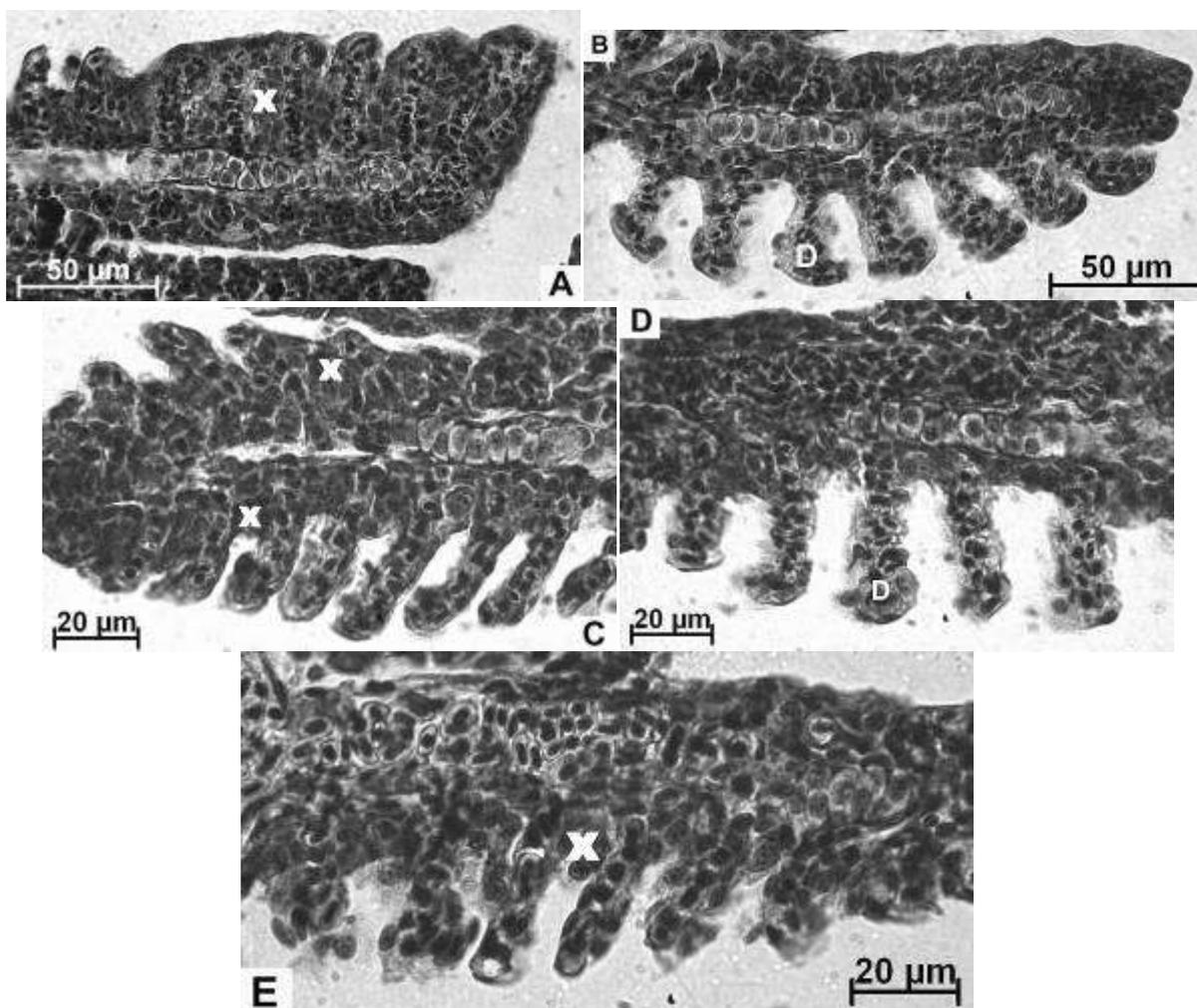
A sobrevivência média dos organismos nos testes de toxicidade crônica-parcial com sedimentos fortificados com Cd variou entre 53,3% (Sed 1%) e 95% (Sed 0,5%), sendo possível verificar diferenças significativas apenas em Sed 1% em relação ao Controle (Tabela 4.11). Com relação ao crescimento dos organismos, foi possível detectar diferenças significativas no comprimento padrão e no peso dos organismos no segundo teste crônico (TC2), no Sed 0,25% (Tabela 2 – Apêndice C).

**Tabela 4.3:** Sobrevivência média de *D. rerio* expostos aos sedimentos sintéticos sem fortificação e fortificados com  $0,6\text{mg.Kg}^{-1}$  de Cd. Porcentagem média de sobrevivência ( $\pm$  DP). Células destacadas indicam diferença significativa entre os tratamentos sem fortificação e fortificados com Cd, e o valor de p da análise estatística de Fisher ( $\alpha = 0,05$ ).

Amostra	Sem fortificação	Fortificado com Cd
Controle	100% ( $\pm 0$ )	-
Sed 0%	100% ( $\pm 0$ )	84,2% ( $\pm 15,3$ ) (p=0,1100)
Sed 0,25%	100% ( $\pm 0$ )	90,0% ( $\pm 14,1$ ) (p=0,3728)
Sed 0,5%	100% ( $\pm 0$ )	95,0% ( $\pm 7,1$ ) (p=0,4643)
Sed 1%	100% ( $\pm 0$ )	<b>53,3% (<math>\pm 66,0</math>) (p=0,0000)</b>

Os resultados da análise da morfologia das brânquias possibilitaram observar a presença de alterações de primeiro estágio em todos os organismos analisados expostos em todos os tratamentos. Alterações como: hiperplasia, fusão de lamelas

secundárias, deslocamento no epitélio das lamelas secundárias e dilatação em capilares sanguíneos. A hiperplasia foi mais intensa em Sed 0% do que nos sedimentos que apresentavam teores de matéria orgânica (Figura 4.17).



**Figura 4.16:** Cortes longitudinais ao filamento braquial de juvenis de *D. rerio* expostos nos testes com sedimentos sintéticos fortificados com Cd. **A e B.** Sed 0%. **C.** Sed 0,25%. **D.** Sed 0,5%. **E.** Sed 1%. Verificar a proliferação de células entre as lamelas (X), dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (D). Coloração: HE.

A análise de Cd nos tecidos dos organismos expostos em sedimentos fortificados permitiu verificar uma tendência dos mesmos em concentrar o metal nos tecidos, uma vez que os valores estiveram muito acima daqueles encontrados nos organismos expostos aos sedimentos sem contaminação, bem como na concentração inicialmente adicionada aos sedimentos (Tabela 4.12). A análise estatística de Mann-Whitney mostrou diferença significativa entre as concentrações

de Cd nos organismos expostos aos sedimentos sem fortificação e fortificados com Cd ( $p=0,0105$ ,  $0,05$ ).

**Tabela 4.4:** Concentração de Cd nos organismos de *D. rerio* expostos aos sedimentos sintéticos não fortificados e fortificados com  $0,6\text{mg.Kg}^{-1}$  de Cd. Valores expressos em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de peso seco.

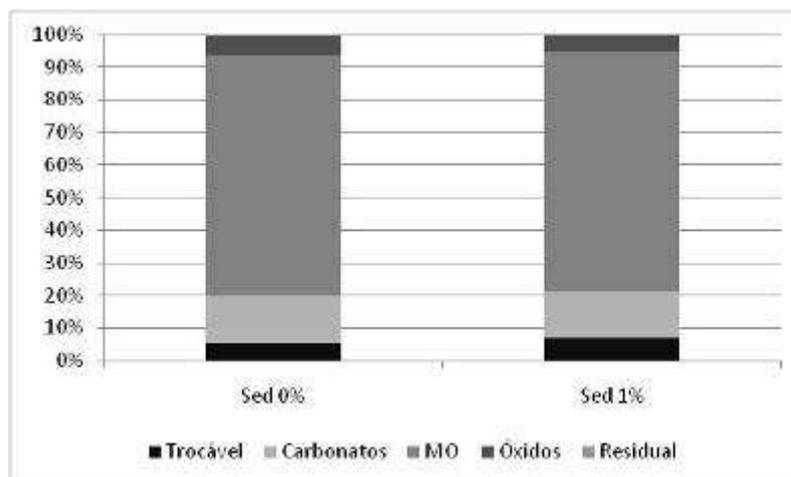
Amostra	Sem Fortificação	Fortificado
Sed 0%	19,46	2522,34
Sed 0,25%	11,53	5109,51
Sed 0,5%	28,24	3878,59
Sed 1%	22,05	3021,54

#### 4.4. Extração seqüencial

O Cd nas amostras de sedimento se concentrou em torno de 73% na matéria orgânica (MO) presente nos mesmos. Apesar do Sed 0% ter sido preparado sem MO em suas formulações, como a análise foi realizada ao final do período dos testes, a sua presença pode ser explicada pelas fezes dos organismos-teste, bem como resquícios de alimentos fornecidos durante os testes. Em seguida, a fração que mais acumulou Cd foi a dos Carbonatos (14% em ambos os sedimentos). Em Sed 0%, segue-se a fração de óxidos (6,3%), a fração trocável (5,3%) e a residual (0,2%). Em Sed 1%, foi a fração trocável (6,8%), seguida da fração dos óxidos (5,2%) e residual (0,1%) (Tabela 4.13; Figura 4.18).

**Tabela 4.5:** Distribuição das concentrações de Cd nas frações dos sedimentos.

Amostra	Trocável	Carbonatos	MO	Óxidos	Residual	Total
Sed 0%	0,108	0,293	1,496	0,127	0,0004	2,029
Sed 1%	0,144	0,304	1,552	0,109	0,003	2,112



**Figura 4.17:** Porcentagens de Cd nas frações de cada um dos sedimentos.

## 5. Discussão

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

A formulação dos sedimentos sintéticos do presente estudo com cerca de 89% de areia grossa, 10% de argila caulinita e 0 a 1% de matéria orgânica biodegradável foi obtida com base na adaptação da norma 218 da OECD (OECD, 2004) às características encontradas no sistema do Alto Jacaré-Guaçu. A composição granulométrica média dos sedimentos da bacia de estudo foi de cerca de 90% de areia, 2% de argila e silte e 3% de matéria orgânica (Capítulo 2), enquanto que na norma, as proporções sugeridas são de 75% de areia, 20% de argila e 5% de matéria orgânica (OECD, 2004).

Outros estudos em rios da região mostram uma grande variabilidade na composição granulométrica dos sistemas, como Rio Piracicaba com 19% de areia, 80% de silte e argila e em torno de 10% de matéria orgânica; Rio Tietê com 18% de areia, 82% de silte e argila e 13% de matéria orgânica (FRACÁCIO et al., 2001); Rio Monjolinho, com 80% de areia, 5% de silte e argila e 1% de matéria orgânica (CAMPAGNA, 2005); Rio Mogi-Guaçu com 80% de areia, 20% de silte e argila e matéria orgânica variando em torno de 10% (SILVA, 2002); Rio Corumbataí com areia em torno de 90%, silte e argila 5% e porcentagens de matéria orgânica até 1% (JARDIM, 2004); Rio Atibaia com 73% de areia, 27% de silte e argila e cerca de

0,37% de matéria orgânica; Rio Jaguari com areia em torno de 45%, 65% de silte e argila e 1,4% de matéria orgânica (SILVA, 2002). Apesar da grande variação na composição, nos sedimentos há uma predominância da composição arenosa e da característica inorgânica dos sedimentos (abaixo de 10% de matéria orgânica).

A norma 218 (OECD, 2004) sugere a utilização de areia fina na formulação dos sedimentos, entretanto, no presente estudo, optou-se pela areia grossa, visando a simplificação da formulação dos sedimentos, uma vez que é mais facilmente obtida, além da areia grossa ter sido utilizada em trabalhos com sedimentos sintéticos anteriores (CASTRO et al., 2003; NAYLOR; RODRIGUES, 1995; RIBEIRO et al., 1999; VERRHIEST et al., 2001; 2002).

Quanto às argilas, nos sedimentos naturais elas podem ser de composições mineralógicas diferentes, podendo conter minerais dos grupos das caulinitas, ilitas, vermiculitas, cloritas e montmorilonitas, que apresentam capacidades de troca catiônicas (CTC) e aniônicas (CTA) variadas. A capacidade de troca aumenta consideravelmente na ordem caulinita < clorita < illita < montmorilonita < vermiculita, e está relacionado à redução do tamanho da partícula e conseqüentemente ao aumento da área de superfície (LEMES, 2001).

A argila no sedimento, assim como o material orgânico, influencia a troca de poluentes entre o os sedimentos e a coluna d'água, já que estes se agregam com maior facilidade nesta fração por existir uma maior área superficial além da capacidade de troca catiônica previamente mencionada (LEMES, 2001). Apesar da limitação da argila caulinita na interação iônica em comparação com sedimentos naturais, sua utilização é sugerida pela norma 218 (OECD, 2004) e é comum seu uso em estudos com sedimentos sintéticos (CLÉMENT; CADIER, 1998; FEILER; et al., 2004; KEMBLE et al., 1999; NAYLOR; RODRIGUES, 1995; RIBEIRO et al., 1999; ROMAN et al., 2007; VERRHIEST et al., 2001; 2002).

A matéria orgânica nos sistemas aquáticos sofre mineralização pelo processo de decomposição por microrganismos, que libera nutrientes e carbono dissolvido para o ambiente. Essa mineralização ocorre por três caminhos, no primeiro, os compostos lábeis (carboidratos, glicosídeos, polifenóis, entre outros) são rapidamente oxidados e dissolvidos; o segundo inclui os processos de solubilização e consumo das frações dissolvidas de matéria orgânica (COD); e finalmente no

terceiro, a oxidação dos detritos particulados refratários (COP) é responsável pela perda de massa (CUNHA; BIANCHINI, 1998).

A determinação dos teores de carbono (orgânico, inorgânico e total) no sedimento permite estimar os processos de mineralização e imobilização da MO e, com isso, avaliar o grau que estes processos possam estar ocorrendo (BEVILACQUA, 1996). O COD natural, resultante do processo de oxidação da matéria orgânica, é composto primariamente de ácidos húmicos e fúlvicos, que são polímeros de alto peso molecular com elevada capacidade de quelar metais, grupos fenólicos e carboxilas e, portanto, reduzir a toxicidade desses compostos aos organismos aquáticos (STUMM; MORGAN, 1996).

A escolha da macrófita *Scirpus cubensis* se deu pela facilidade de coleta e acondicionamento, bem como a espécie fornecer matéria orgânica e nutrientes para o sistema (Irineu Bianchini Júnior, comunicação pessoal). Durante a determinação da formulação dos sedimentos, foram realizados experimentos de lixiviação que determinaram que cerca de 80% da MO permanece sob a forma particulada (MOP) e cerca de 20% é solubilizada na água (MOP) nas primeiras 24 horas dos experimentos. Além disso, fontes de matéria orgânica naturais, como a do presente estudo, respondem de maneira mais próxima a sedimentos naturais do que produtos sintéticos, como a alfa-celulose (FLEMING; HOLMES; NIXON, 1998).

Durante os 20 primeiros dias da decomposição de *Scirpus cubensis*, ocorre um intenso decréscimo nas frações de substâncias húmicas das frações solúveis e particuladas (cerca de 30%), seguida de um lento decréscimo após esse período, chegando a 48% ao final dos experimentos. A lenta mineralização da MO após esse período é decorrente da natureza refratária e pouco reativa dos compostos remanescentes da macrófita (CUNHA; BIANCHINI, 2001). Isto sugere que, durante os testes mais longos do presente estudo, 10 dias, o processo de degradação da MO é apenas inicial, mas com intensa formação de substâncias húmicas das frações solúveis e particuladas.

O aumento das concentrações de COD e COT com o aumento dos teores de matéria orgânica, bem como o aumento das concentrações de carbonos e outros nutrientes do início para o final dos testes de toxicidade, refletem os efeitos da mineralização da matéria orgânica dos sedimentos, no caso, a macrófita adicionada.

Além disso, as concentrações de nutrientes nos sedimentos da bacia de estudo (Capítulo 2) foram semelhantes às encontradas nos sedimentos sintéticos, contribuindo para a similaridade destes aos sedimentos naturais.

Apesar das similaridades entre os sedimentos, deve-se lembrar que em sedimentos naturais há a complexa mistura de poluentes e nutrientes, cuja disponibilidade é influenciada por mecanismos físicos e químicos que variam de acordo com o ambiente, bem como a presença de fauna residente, que interferem nos ciclos biogeoquímicos e mobilização de contaminantes. Desse modo, a extrapolação de resultados de sedimentos sintéticos deve ser feita com cuidado, considerando as limitações físicas, químicas e biológicas destes frente à complexidade dos sedimentos naturais.

## **5.2. Testes toxicidade aguda**

A concentração de Cd nas amostras de água dos testes de toxicidade aguda aumentou com o decorrer dos ensaios com todas as espécies. Isso mostra que, em um curto de período de tempo o Cd adicionado ao sedimento passa para a água dos experimentos. A concentração de Cd nas amostras de água em Sed 0% foi mais alta que em Sed 1%, mostrando o papel da MO em reter metais no sedimento. Esse aumento das concentrações de Cd na água foi acompanhado pela diminuição das mesmas nos sedimentos, indicando o deslocamento do metal para a coluna d'água.

Eimers, Evans e Welbourn (2002) contaminando sedimentos artificiais com Cd e monitorando suas concentrações no sedimento, água e água intersticial, verificaram que inicialmente, as concentrações do metal no sedimento decaem acompanhadas do aumento das concentrações na água, mas no período de 2 a 4 dias, estas tendem a se estabilizar, com as concentrações no sedimento aumentando, indicando o retorno o metal ao sedimento e a manutenção das concentrações na água. Essa tendência também foi observada no presente estudo, nos testes de toxicidade aguda.

Apesar da pequena concentração de MO utilizada nos sedimentos do trabalho, estas são responsáveis por variações de até 50% nas concentrações de

Cd na água e sedimentos dos testes com as diversas espécies. Variações semelhantes nas concentrações de Cd foram observadas por Eimers, Evans e Welbourn (2002) com a adição de 1% de material orgânico em sedimentos artificiais.

Campagna (2010) avaliando o metal cromo nos mesmos sedimentos sintéticos que o presente estudo também notou o aumento das concentrações do metal na água acompanhado da diminuição do Cr no sedimento em testes de toxicidade aguda.

Os resultados de CE50;48h dos testes de toxicidade aguda para *C. silvestrii* variaram pouco entre si. A CE50;48h média foi semelhante nos dois sedimentos avaliados, de 3,09 mg.Kg<sup>-1</sup> para Sed 0% e 2,98 mg.Kg<sup>-1</sup> para Sed 1%, não tendo sido a MO um fator que influenciou fortemente a toxicidade das amostras. Para *C. silvestrii* a CE50;48h estabelecida para o metal cádmio é de 62 µg.L<sup>-1</sup> (OLIVEIRA NETO, 2000), valor encontrado nas amostras de água dos testes de toxicidade agudos no Sed 0% (29,28 a 97,37 µg.L<sup>-1</sup>), porém abaixo dos valores encontrados em Sed 1% (321 a 534 µg.L<sup>-1</sup>).

Para *C. xanthus*, os valores de CL50;96h variaram pouco entre as repetições realizadas, mas apresentaram valores muito diferentes nos dois tipos de sedimentos avaliados. No Sed 0%, a CL50;96h média encontrada foi de 18,67mg.Kg<sup>-1</sup> enquanto que, no Sed 1% foi cerca de 4 vezes menor, de 4,93mg.Kg<sup>-1</sup>. Estes valores estiveram abaixo do encontrado por Milani et al. (2003), que submeteram larvas de *C. riparius* à exposição a sedimentos naturais contaminados com Cd e encontraram valores de CL50(10dias) de 39mg.Kg<sup>-1</sup>, apesar da menor duração dos ensaios do presente estudo, que poderia aumentar a sensibilidade do organismo-teste ao metal (SUEDEL; RODGERS; DEEVER, 1997). Apesar de serem espécies do mesmo gênero, a variação da sensibilidade depende das diferenças genéticas, fatores bióticos (como disponibilidade alimentar e estágio do ciclo de vida) ou variáveis abióticas (como temperatura, pH e dureza) (SUEDEL; RODGERS; DEEVER, 1997).

O valor de CL50;96h para organismos do 4<sup>o</sup> instar de *C. xanthus* é de 0,70mg.L<sup>-1</sup> (DORNFELD, 2006), semelhante ao valor encontrado nas amostras de água em Sed 1% (em torno de 0,5mg.L<sup>-1</sup>) nas concentrações de que causaram mortalidade de 50% dos organismos, porém abaixo das encontradas em Sed 0% (entre 1,5 e 2mg.L<sup>-1</sup>). A concentração de Cd nas amostras de água no Sed 0%

estiveram mais próximas à CL50;96h média de Cd para o segundo ínstar de *Chironomus riparius* e *Chironomus tentans* é de 1,76 e 1,68mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente (WATTS; PASCOE, 2000a). Gillis e Wood (2008a) verificaram que larvas entre o 3º e 4º ínstar de *C. riparius* são extremamente resistentes a Cd na água, sendo a CL50;48h de 331mg.L<sup>-1</sup> em águas com dureza em torno de 10mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>.

A fisiologia dos organismos tem papel importante na sensibilidade do organismo ao Cd. A capacidade de regulação da tomada de metais, associada à proteção oferecida pelas proteínas que se ligam a metais, como as metalotioneínas, são os fatores que contribuem para a tolerância de *Chironomus* ao Cd (SUEDEL; RODGERS; DEEVER, 1997).

Uma maior quantidade de matéria orgânica no sedimento resulta em uma maior quantidade de sítios de ligação para metais, diminuindo a toxicidade para organismos aquáticos em geral (BESSER et al., 2003; HÖSS et al., 2001), mas no presente estudo, resultou em uma maior toxicidade de Cd para *C. xanthus*, que vive em contato direto e se alimenta do sedimento, bem como para *D. rerio*, que vive na coluna d'água.

Campagna (2010) avaliando a toxicidade do cromo a *C. xanthus* em sedimentos sintéticos, encontrou tendência oposta à verificada no presente estudo, em relação à CL50;96h. A autora encontrou valores médios de CL50;96h de 340,56 mg.Kg<sup>-1</sup> para Sed 0% e 1234,43mg.Kg<sup>-1</sup> para Sed 1%, cerca de 4 vezes maior no sedimento com maior teor orgânico.

Em relação a *D. rerio*, a CL50;48h média encontrada para Sed 0% foi de 88,60mg.Kg<sup>-1</sup> e para Sed 1% 60,31mg.Kg<sup>-1</sup>, com tendência semelhante à encontrada para *C. xanthus*, do sedimento com maior porcentagem de MO ser mais tóxico do que o sedimento sem matéria orgânica.

Os valores de CL50;96h para juvenis de *D. rerio* encontrados em literatura foram de 1,89 mg.L<sup>-1</sup> (FRACÁCIO, 2006) e 4,6 mg.L<sup>-1</sup> (BERTOLETTI, 2000). As concentrações de Cd na água dos sedimentos fortificados responsáveis pela CL50;48h do presente estudo, estiveram em concentrações acima das encontradas em estudos anteriores (2,36 a 7,46 mg.L<sup>-1</sup>), mesmo considerando as diferenças nos tempos de exposição.

Em avaliação do metal cromo em sedimentos sintéticos, Campagna (2010) encontrou valores médios de CL50;48h para *D. rerio* de 1731,04mg.Kg<sup>-1</sup> no Sed 0% e de 2263,55mg.Kg<sup>-1</sup> no Sed 1%. A CL50 de *D. rerio* para o cádmio decresceu 25% com o acréscimo de MO ao sedimento, enquanto que para o cromo, ela aumentou em 25%. Comparando os resultados do presente estudo com os de Campagna (2010) verificou-se que o Cd é mais tóxico do que o Cr à *D. rerio*, uma vez que as concentrações de CL50;48h são menores para o Cd do que para o Cr. Carriquiriborde e Ronco (2002), avaliando a sensibilidade de uma espécie neotropical de peixe, *Odonthestes bonariensis*, ao Cr e Cd, também verificaram que o Cd foi mais tóxico do que o Cr.

Organismos bentônicos selecionam como alimento partículas com altas concentrações de matéria orgânica, que podem conter elevadas concentrações de contaminantes (ARAÚJO et al., 2006), e, levando em consideração que, nos ensaios agudos os organismos não foram alimentados, a ingestão de partículas pode ter sido a rota principal de exposição dos indivíduos (BERVOETS et al., 1997, LEE et al., 2000). Martinez et al. (2003), avaliando sedimentos fortificados com Cd com *C. tentans*, uma espécie de hábito detritívoro, também consideraram a rota alimentar como a mais provável dada a presença de metais na forma particulada no sedimento. Höss et al. (2001) encontraram uma alta toxicidade do Cd a *Caenorhabditis elegans* associada à ingestão de partículas do sedimento contaminadas com cádmio e autores sugerem que a ingestão de alimentos ou partículas deve ser considerada uma rota de absorção de cádmio nos ensaios. A diminuição da concentração de metal biodisponível no sedimento também pode confirmar a ingestão de partículas de MO pelas larvas de *C. xanthus* nos experimentos.

Os peixes interagem com o contaminante pelos compostos dissolvidos na água ou particulados no alimento, podendo apresentar contato com o sedimento em função do tipo de alimentação, inclusive peixes da família Cyprinidae, onívoros, podendo inclusive se alimentar de detritos do sedimento (MEFFE; SNELSON, 1989). Como estes organismos também não foram alimentados durante o período dos testes, a rota alimentar pode ser papel importante na toxicidade do Cd para *D. rerio*.

Metais adsorvidos à MO podem tornar-se biodisponíveis no trato gastrointestinal devido às condições químicas do mesmo (ácidas e reduzidas), podendo causar efeitos tóxicos aos organismos (SILVÉRIO, 2003; WELTENS; GOOSSENS; VAN PUymbROECK, 2000).

Além disso, a presença de MO no sedimento promove o crescimento de bactérias e, para a maioria das espécies aquáticas, desde espécies zooplanctônicas a peixes, os componentes de sua dieta, incluindo algas e bactérias, possuem importância na adsorção de poluentes e na disponibilidade destes para os organismos, que pode ocorrer em concentrações maiores que o esperado (VAN DEN BELT; VAN PUymbROECK; WITTERS, 2000). Widenfalk, Lundqvist e Goedkoop (2008) demonstraram que a presença de microrganismos no sedimento, formando biofilmes, aumenta a disponibilidade de clorpirifós para larvas de *Chironomus riparius*. Desse modo, efeito semelhante pode ter ocorrido nos sedimentos, aumentando a toxicidade nos sedimentos onde havia MO.

Desse modo, apesar da MO nos sedimentos desempenhar um papel no controle da disponibilidade de metais na maioria dos casos, como do Cr como no estudo de Campagna (2010), no caso do Cd, isso não ocorreu, devendo-se avaliar mais cuidadosamente os efeitos da MO para outros metais.

### **5.3. Testes de toxicidade crônica**

A variação nas respostas dos organismos aos testes com sedimento pode ocorrer por dois fatores: diferenças no grau de contaminação do sedimento ou variações naturais da composição física e química do sedimento, ou sensibilidade dos organismos. De forma a garantir que as diferenças nas respostas sejam resultado das diferenças de contaminação, a gama de respostas dos organismos a sedimentos não contaminados deve ser avaliada (HÖSS et al., 1999).

Os sedimentos sintéticos sem fortificação garantiram a sobrevivência e a reprodução adequada de *C. silvestrii*, de modo que a sobrevivência dos organismos foi acima de 90% nos testes e a reprodução foi de no mínimo 14 neonatas por fêmea em mais de 60% das fêmeas expostas nos testes de toxicidade crônica, conforme as

recomendações de Jaconetti (2005). Organismos aquáticos filtradores estão entre os consumidores menos seletivos, freqüentemente ingerindo desde algas, bactérias, protozoários até mesmo detritos (BOERSMA; VIJVERBERG, 1996). Boersma e Vijverberg (1996), avaliando os efeitos da quantidade e qualidade da alimentação para *Ceriodaphnia pulchella*, verificaram que o aumento da concentração de alimento aumenta o crescimento e reprodução da espécie. Considerando que a MO presente nos sedimentos sintéticos pode ser usada como fonte de alimento por *C. silvestrii*, o aumento dos teores de MO no sedimento poderia acarretar em taxas maiores de reprodução, mas isso não foi verificado no presente estudo.

Suedel e Rodgers (1994), avaliando a adequabilidade de sedimentos sintéticos com formulações variadas como substrato para testes com *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia*, verificaram sobrevivência adequada para ambas as espécies e a reprodução, avaliada somente em *D. magna*, também não foi alterada pela exposição aos sedimentos sintéticos.

Para *C. xanthus*, os sedimentos sintéticos também se mostraram satisfatórios em relação à sobrevivência, biomassa dos organismos e morfologia de mento. A biomassa seca média dos organismos expostos nos sedimentos sintéticos sem fortificação foi mais elevada que os organismos mantidos no tratamento controle, indicando que a adição partículas menores (como a argila caulinita e a matéria orgânica) aos sedimentos sintéticos favoreceu o crescimento dos organismos. Naylor e Rodrigues (1995), avaliando *Chironomus riparius* com sedimentos sintéticos, mostrou que o crescimento dos organismos em sedimentos com concentrações variadas de MO não era dependente da concentração desse componente em si, mas sim da variedade de tamanhos das partículas, atribuída ao hábito de construir tubos da espécie. *C. xanthus*, que também apresenta o hábito de construir tubos, apresentou biomassa maior nos sedimentos sintéticos, com partículas de diferentes tamanhos, do que no controle, realizado somente com areia de cultivo.

Os sedimentos sintéticos sem fortificação para *D. rerio* também foram satisfatórios em garantir a sobrevivência e crescimento dos organismos. Nenhuma das variáveis apresentou relação com a concentração de MO nos sedimentos. A morfologia das brânquias dos juvenis expostos aos sedimentos sem fortificação

também apresentaram desenvolvimento normal, indicando a adequação nos sedimentos sintéticos para a manutenção dessa espécie.

No estudo de Suedel e Rodgers (1994) avaliando a adequabilidade de sedimentos sintéticos como substrato para testes com espécies de diferentes níveis tróficos, verificaram que o sedimento foi adequado para testes com as diversas espécies, inclusive o peixe *Pimephales promelas*.

Uma vez que os sedimentos sintéticos se mostraram adequados para a manutenção dos organismos-testes, buscou-se avaliar os mesmos como substrato para testes de toxicidade utilizando o metal cádmio, que foi encontrado em concentrações elevadas na bacia do Alto Jacaré-Guaçu (Capítulo 2). De modo a auxiliar na interpretação da toxicidade do cádmio em sedimentos com concentrações diferentes de MO para espécies de diferentes níveis tróficos, foram realizados os testes de toxicidade crônica com concentrações de Cd consideradas seguras para a biota aquática.

A avaliação de efeitos causados por sedimentos contaminados geralmente envolvem avaliações químicas dos sedimentos e, idealmente, estudos laboratoriais e de campo para acessar de forma mais completa os efeitos adversos (CHAPMAN et al., 1999).

Os sedimentos, uma vez fortificados com Cd, passaram por um período de descanso de 24h até a montagem dos testes de toxicidade, que pode ser considerado satisfatório, uma vez que o período de 24 horas é adequado para a estabilização do Cd no sedimento (EIMERS; EVANS; WELBOURN, 2002). Inclusive, a adsorção do Cd à argila caulinita é um processo rápido e, atingido o equilíbrio, se mantém estável (VAN DEN BELT; VAN PUymbROECK; WITTERS, 2000).

Fontes diversas de MO têm sido utilizadas na avaliação de sedimentos sintéticos. Besser et al. (2003), avaliando sedimentos sintéticos utilizando celulose e húmus como fontes de MO, verificaram que a adição de celulose ao sedimento afetou pouco a toxicidade do Cd à *Hyaella azteca*, pois a celulose tem efeitos mínimos na biodisponibilidade do Cd, devido à sua estrutura química, pobre em estruturas envolvidos na complexação de metais (ex.: grupos fenólicos, amino, carboxílicos) como nas MO complexas naturais. Já os sedimentos onde foram

adicionados húmus, uma fonte natural de MO, apresentaram redução significativa da toxicidade para o Cd.

A toxicidade do Cd é influenciada pelas concentrações de Ca, por mimetização iônica com o Cd (BURY; WALKER; GLOVER, 2003), daí se explicar o papel protetor das altas durezas contra a tomada de Cd e a toxicidade (GILLIS; WOOD, 2008b; HOLLIS, MUENCH; PLAYLE, 1997). Além disso, a toxicidade também é influenciada pela concentração de substâncias húmicas (MEINELT et al., 2001; WICKLUND GLYNN, NORRGREN; MÜSSENER, 1994). Um maior conteúdo orgânico oferece mais sítios de ligação a metais, tanto para as fases sólidas como líquidas. Entretanto, uma maior quantidade de metais na fração sólida pode resultar numa maior disponibilidade para organismos que se alimentam do sedimento, dos quais podem assimilar o metal pela digestão das partículas (HÖSS et al., 2001).

Alterações de pH influenciam a partição de diversos metais entre o sedimento e a água (BERVOETS; BLUST, 2000). A acidificação geralmente aumenta a transferência do metal da fase sólida para a líquida, que contribui para o aumento da toxicidade de metais pelo aumento da sua disponibilidade (DE CONTO CINIER et al., 1999; HARRAHY; CLEMENTS, 1997; PLAYLE, 1998).

Nos sedimentos fortificados com  $0,6\text{mg.Kg}^{-1}$  de Cd, a sobrevivência de *C. silvestrii* foi significativamente afetada em intervalos entre 48 e 96 horas, de modo a não ser possível a avaliação dos efeitos do metal na reprodução dos organismos. As concentrações de Cd nas amostras de água variaram entre  $5,69$  e  $19,53 \mu\text{g.L}^{-1}$ , valores abaixo da  $\text{CE}_{50;48\text{h}}$  encontrados por Oliveira-Neto e Botta-Paschoal (2002), de  $62 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

Efeitos crônicos eram esperados nos testes, já que os valores de Cd na água dos testes de toxicidade estiveram acima de  $2,5\mu\text{g.L}^{-1}$ , valor de CEO para a espécie em relação ao Cd (OLIVEIRA-NETO, 2000). Mas efeitos severos na sobrevivência podem ter sido resultado da combinação das concentrações de Cd na água e sedimento. Lembrando que, para organismos filtradores, o sistema digestivo é considerado uma rota de contaminação, uma vez que partículas associadas a contaminantes podem ser filtradas e liberadas no trato digestivo, devido à natureza ácido-redutora do mesmo (FLIEDNER, 1997; TAKENAKA, 2007).

Suedel, Rodgers e Deaver (1997) avaliando efeitos do Cd em *Ceriodaphnia dubia*, verificaram que a variável reprodução foi cerca de 10 vezes mais sensível que a sobrevivência. Sofyan, Price e Birge (2007) também avaliando efeitos da exposição de *C. dubia* ao Cd também verificaram que a reprodução foi a variável mais sensível. Porém, no presente estudo, a reprodução não chegou a ser avaliada devido à baixa sobrevivência dos organismos expostos nos testes. A concentração de Cd na água dos testes de toxicidade crônica ficaram entre 5,69 e 19,53  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e Sofyan, Price e Birge (2007) relatam que a reprodução de *C. dubia* passa a ser significativamente afetada em concentrações de  $5\mu\text{g.L}^{-1}$ , enquanto efeitos sobre a sobrevivência começam em  $10\mu\text{g.L}^{-1}$ , de modo que efeitos na sobrevivência já poderiam ser esperados.

Suedel, Rodgers e Deaver (1997) relatam que a alimentação fornecida aos cladóceros durante os testes de toxicidade pode ter funcionado como proteção adicional contra o metal, mas isso também não foi verificado no presente trabalho. Santos, Melão e Lombardi (2008) verificaram que a MO de origem natural reduziu a toxicidade do Cu à *C. silvestrii*, mas no presente estudo, apesar da fonte natural de MO, esta não foi responsável pela diminuição da toxicidade do Cd à mesma espécie, provavelmente em razão da diferença no tipo de MO utilizada e pela diferença na afinidade dos metais à MO.

Nos testes com sedimento fortificado com Cd, a sobrevivência de *C. xanthus* foi negativamente afetada em todos os sedimentos independente da concentração de MO. O comprometimento da sobrevivência de *Chironomus riparius* e *Chironomus tentans* expostos a sedimentos contaminados com Cd já foi reportado por outros autores (GILLIS et al., 2002; MARTINEZ et al., 2003), porém as concentrações utilizadas estiveram muito acima àquelas utilizadas no presente estudo (24,5 e 39,0  $\text{mg.Kg}^{-1}$ , respectivamente), demonstrando a importância em se avaliar as concentrações consideradas seguras para a biota aquática utilizando-se diferentes espécies.

No estudo de Lacey, Watzin e McIntosh (1999) o conteúdo orgânico de sedimentos não alterou a sobrevivência dos organismos. Porém, Lacey, Watzin e McIntosh (1999) e Suedel e Rodgers (1994) verificaram que conteúdos orgânicos baixos têm impacto negativo na sobrevivência de *C. tentans*, sendo que os últimos

reportaram sobrevivência significativamente menor em sedimentos com CO abaixo de 0,9%. Apesar disso, os organismos no presente estudo não tiveram a sobrevivência afetada em função das baixas concentrações de MO nos sedimentos sem fortificação.

A biomassa seca dos organismos expostos nos sedimentos sintéticos fortificados com Cd foi significativamente menor em relação aos organismos expostos nos sedimentos não fortificados. Assim como para a sobrevivência, os organismos que apresentaram a menor biomassa seca média foram os expostos ao Sed 1%, em torno de 0,000072g. Watts e Pascoe (2000b) verificaram efeitos negativos no crescimento de larvas de *C. tentans* e *C. riparius* expostos a sedimentos artificiais contaminados com Cd durante 10 dias. Sildanchandra e Crane (2000) observaram declínio no peso de larvas de *C. riparius* associada a concentrações crescentes de Cd. Já Gillis et al. (2002) verificaram diferenças no peso de *C. riparius* durante 10 dias em sedimentos contaminados com cádmio em concentrações acima de 15mg.Kg<sup>-1</sup>. No presente estudo, foram utilizadas concentrações menores de Cd nos ensaios, bem como um menor tempo de exposição dos organismos, que também resultaram em alterações na sobrevivência e crescimento dos organismos, indicando efeitos negativos em concentrações consideradas seguras à biota. Efeitos adversos sobre a sobrevivência e comprimento corporal de *C. xanthus* também foram reportados em concentrações de 70µg.L<sup>-1</sup> (DORNFELD, 2006), bem como sobre o crescimento de *C. riparius* em 61µg.L<sup>-1</sup> (TIMMERMANS; PEETERS; TONKES, 1992), concentrações ainda menores que as detectadas na água dos testes de toxicidade crônica do presente estudo.

Suedel, Rodgers e Deaver (1997) relatam que o crescimento, expresso em peso seco, de *C. tentans* é pelo menos cinco vezes mais sensível que a sobrevivência. De maneira semelhante, Postma et al. (1994) verificaram que *C. riparius* apresentaram menor crescimento em larvas expostas a concentrações baixas de Cd (2µg.L<sup>-1</sup>), enquanto a redução na sobrevivência foi verificada apenas nos organismos expostos a altas concentrações (16,2µg.L<sup>-1</sup>). Milani et al. (2003) confirmam que o crescimento em *Chironomus* é mais sensível que a sobrevivência, quando estes organismos são expostos a metais. Entretanto, no presente estudo, a

sobrevivência e o crescimento, expresso como biomassa seca dos organismos, foram sensíveis aos sedimentos fortificados com Cd.

Segundo Vermeulen (1995), o gênero *Chironomus* é bastante susceptível a deformações morfológicas, sendo contaminantes orgânicos e metais os principais compostos responsáveis pelas alterações. Nos organismos expostos aos sedimentos fortificados com Cd, a ausência de dentes foi a alteração mais encontrada, assim como no trabalho de Martinez et al. (2003) com *C. tentans* expostos a Cd. Outra semelhança com o estudo de Martinez et al. (2003), não foi observada relação linear entre a concentração de Cd em sedimentos e a porcentagem de deformidades encontradas. Se a presença de contaminantes pode ter um impacto em um táxon freqüentemente encontrado e tolerante como *Chironomus*, pode-se supor que o efeito deletério em espécies raras e mais sensíveis deva ser consideravelmente maior, podendo causar um grande declínio na diversidade da comunidade (BONANI, 2010).

Com relação à concentração de Cd nos tecidos de *C. xanthus*, todos os organismos expostos aos sedimentos fortificados apresentaram concentrações de Cd muito acima do encontrado nos organismos expostos aos sedimentos não fortificados. Os valores de Cd nos organismos de *C. xanthus* expostos nos sedimentos sem fortificação, entre 4,47 e 34,24  $\mu\text{g.g}^{-1}$  foram semelhantes aos encontrados em outro estudo com a mesma espécie, submetida às condições semelhantes, de 5,47 a 21,11  $\mu\text{g.g}^{-1}$  (DORNFELD, 2006). No mesmo estudo, a autora encontrou concentrações entre 125,41 e 324,67  $\mu\text{g.g}^{-1}$  em *C. xanthus* expostos a 70  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de Cd. As concentrações de Cd nos tecidos dos organismos expostos ao Sed 1% apresentaram valores muito acima daqueles dos demais sedimentos, em torno de 557  $\mu\text{g.g}^{-1}$ . Essa maior acumulação pode ser resultado da maior disponibilidade de metal nesse sedimento, verificada nas análises dos sedimentos.

Postma et al. (1996) também avaliaram a concentração de Cd em *C. riparius* e encontraram valores em torno de 225  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , mas os autores associam a menor acumulação de metal ao fato de terem sido usadas larvas de 4º instar, não havendo crescimento significativo dos organismos durante os testes.

Harrahy e Clements (1997) avaliando a concentração de Cd acumulado por *C. tentans* em sedimentos sintéticos, verificaram que estas concentrações de metal acumulado aumentam com as concentrações do mesmo no sedimento. Essa tendência não foi observada no presente estudo, já que não houve relação com as concentrações de Cd nos sedimentos com a concentração de Cd nos tecidos de *C. xanthus*.

Os sedimentos sintéticos fortificados com Cd foram menos tóxicos aos juvenis de *D. rerio* do que às demais espécies. A sobrevivência foi negativamente afetada apenas em Sed 1%, apesar das concentrações de Cd na água dos testes de toxicidade ficarem bem acima da CL50;96h para a espécie, que varia de 1,89mg.L<sup>-1</sup> (FRACÁCIO, 2006) a 4,6 mg.L<sup>-1</sup> (BERTOLETTI, 2000). A sobrevivência não foi afetada pelas concentrações de MO nos sedimentos. Com relação ao crescimento dos juvenis, este foi negativamente afetado apenas em Sed 0,25%, não havendo relação com os teores de MO nos sedimentos, assim como para a sobrevivência. Campagna (2010) avaliando a toxicidade crônica do Cr nos mesmos sedimentos sintéticos do presente estudo para *D. rerio* não verificou efeitos na sobrevivência ou crescimento dos organismos.

Efeitos na sobrevivência e crescimento eram esperados nos organismos, uma vez que a menor concentração de efeito observado (CEO), determinada para juvenis de *D. rerio*, em relação à sobrevivência e ao crescimento, é de 600µg.L<sup>-1</sup> (FRACÁCIO, 2006) e as concentrações de Cd na água de todos os testes ficaram acima desse valor (Concentrações iniciais de 2,36 a 7,46 mg.L<sup>-1</sup> e finais de 24,86 a 30,04 mg.L<sup>-1</sup>), sem considerar as concentrações de Cd nos sedimentos. Suedel, Rodgers e Deaver (1997) verificaram que a variável sobrevivência foi mais sensível que o crescimento de *Pimephales promelas* expostos ao Cd. Isso não foi observado no presente estudo, dado que as duas variáveis apresentaram efeitos em *D. rerio* expostos em diferentes sedimentos. Brooks et al (2004) avaliando o Cd em *P. promelas* verificaram que a sobrevivência e o crescimento dos organismos foi significativamente alterado em concentrações de 250 µg.L<sup>-1</sup>.

Fracácio (2006), avaliando juvenis de *D. rerio* expostos ao Cd, estabeleceu valor crônico de 189,43µg.L<sup>-1</sup> para o metal, enquanto que Bertoletti (2000) encontrou valor crônico para juvenis da espécie de 348µg.L<sup>-1</sup>, valor a partir do qual, efeitos

deletérios são provavelmente desencadeados em um longo período de exposição dos organismos-teste. Como as concentrações de Cd na água dos testes ficaram acima desses valores, efeitos subletais eram esperados nos organismos.

Entre os outros efeitos subletais avaliados, foram encontrados alterações na morfologia de brânquias em todos os sedimentos fortificados com Cd, sendo a hiperplasia mais intensa em Sed 0%. Campagna (2010) avaliando os mesmos sedimentos sintéticos fortificados com Cr também encontrou lesões de primeiro estágio em todos os organismos expostos aos sedimentos, sendo a hiperplasia mais intensa também em Sed 0%. Fracácio (2006) expondo juvenis de *D. rerio* à concentrações de Cd, verificou alterações de primeiro e segundo grau, as alterações mais graves foram notadas em concentrações de  $600\mu\text{g.L}^{-1}$ , principalmente fusão de algumas lamelas secundárias e dilatação de extremidades das lamelas.

Hirt e Domitrovic (2002) verificaram hipertrofia e fusão parcial de lamelas, além de alguns filamentos com perda da estrutura capilar e edema subepitelial em *Cichlasoma dimerus* expostos durante 96h em concentrações de Cd semelhantes às encontradas nas amostras de água dos testes de toxicidade crônica do presente estudo. Mesmo após 72h do período de recuperação em que os indivíduos foram mantidos, os organismos ainda apresentavam hiperplasia epitelial em algumas lamelas, edema subepitelial e pequenas dilatações.

Em peixes, as brânquias são consideradas os locais principais de tomada de substâncias da água devido às suas propriedades anatômicas e fisiológicas que maximizam a eficiência de absorção (BARRON, 2002). A brânquia tem alta taxa de circulação de sangue e água, superfície alta de absorção, que pode ser de mais da metade da superfície total corpórea do organismo, e distância pequena de difusão entre a água e a corrente sanguínea, (BARRON, 2002; VAN DEN BELT; VAN PUymbroeck; WITTERS, 2000), o que a torna um órgão sensível às agressões externas.

Entre os mecanismos de tolerância de peixes ao Cd estão a ação da metalotioneína e a atuação da brânquia como barreira ao influxo de Cd no organismo, de modo a restringir os efeitos deletérios em órgãos internos considerados alvo, como o fígado e rins (WICKLUND GLYNN, 1996). A hiperplasia

da lamela secundária resulta num aumento da distância entre o sangue e a água, na tentativa de dificultar a entrada de contaminantes no organismo, que pode resultar na insuficiência do suprimento de oxigênio do organismo (PAWERT; MÜLLER; TRIEBSKORN, 1998).

As concentrações de Cd nos tecidos de *D. rerio* expostos aos sedimentos fortificados com o metal foram mais elevadas do que nos indivíduos expostos nos sedimentos sem fortificação. Campagna (2010) avaliando as concentrações de Cr em *D. rerio* expostos em sedimentos sintéticos fortificados com o metal, também apresentou concentrações elevadas de Cr nos tecidos, principalmente nos sedimentos com menores teores de MO. Burninson et al. (2006) avaliando a concentração de Cd em ovos de *D. rerio*, verificaram que o aumento das concentrações nos ovos com o aumento das concentrações de Cd no meio onde os ovos foram expostos e essa acumulação de Cd foi significativamente menor na presença de MO. Wicklund Glynn (1996) avaliando *D. rerio* expostos a Cd verificou que a acumulação do metal nas brânquias é proporcional à concentração de Cd na água. Porém, a concentração de Cd em *D. rerio* no presente estudo não esteve relacionada ao conteúdo orgânico ou à disponibilidade do metal nos sedimentos.

Para peixes, um dos mecanismos de tomada de Cd se dá pela entrada passiva dos íons  $Cd^{2+}$  pelos canais de  $Ca^{2+}$ , de modo que o aumento da dureza promove uma menor entrada de Cd no organismo, como verificado por Wicklund Glynn, Norrgren e Müssener (1994). Hollis et al (2000) verificaram que a acumulação de Cd por *Oncorhynchus mykiss* diminuiu com o aumento da concentração de Ca na água. Porém, o efeito protetor de altas durezas contra a toxicidade do Cd no presente estudo não foi verificado, já que a dureza aumentou com o aumento da MO nos sedimentos.

Masutti (2004), avaliando efeitos do Cr e Cu a diferentes espécies, verificou que organismos bentônicos acumulam mais metal que as espécies de peixes, assim como no estudo de Campagna (2010), avaliando sedimentos sintéticos com Cr, valores mais elevados de metal foram observados na espécie bentônica do que nas espécies de peixe. Entretanto, no presente estudo, concentrações mais elevadas de Cd foram observadas na espécie de peixe e menores valores foram encontrados na espécie bentônica.

Comparando os valores acumulados de Cr e Cd nos tecidos de *C. xanthus* e *D. rerio* do estudo de Campagna (2010) e deste trabalho, o Cd acumulou em maior concentração do que o Cr, apesar dos organismos terem sido expostos a concentrações mais baixas. No trabalho de Carriquiriborde e Ronco (2008), o Cd também se acumulou mais intensamente em *Odontesthes bonariensis* do que o Cr. Inclusive, os autores relataram concentrações mais elevadas de Cd nas brânquias dos organismos do que no fígado, reforçando a tendência das brânquias como uma barreira contra a tomada de Cd do meio.

Os peixes concentram metais em seus tecidos devido à habilidade que apresentam de captá-los e acumulá-los principalmente nas brânquias e paredes intestinais, onde as concentrações encontradas freqüentemente suplantam às do próprio meio. O cádmio se acumula essencialmente nas brânquias, fígado e rins dos peixes, sendo que a presença do metal leva à síntese da metalotioneínas, proteínas de baixo peso molecular, que seqüestram o metal (CARDOSO; CHASIN, 2001).

Apesar das altas concentrações de Cd acumulado nos tecidos dos organismos expostos ao metal nos testes de toxicidade, Schlekot, Decho e Chandler (2000) lembram que organismos expostos em laboratório podem não acumular tanto metal quanto em ambientes naturais, pois são supridos com alimentos artificialmente, não ficando tão expostos quanto aos de locais naturais que vivem em sedimentos contaminados ou que convivem com a introdução contínua de metais pela sedimentação do fitoplâncton ou outro material em suspensão.

A alta tolerância de *D. rerio* às concentrações de Cd pode ser uma consequência da persistência do Cd no tecido epitelial da brânquia, resultado da indução intracelular da metalotioneína, que controla a cinética de bioacumulação e a manifestação de efeitos tóxicos pela redução da disponibilidade do metal (DE LA TORRE; SALIBIÁN; FERRARI, 2000). Apesar da tolerância ao Cd, os mesmos autores postulam que uma possível consequência da exposição ao Cd é o comprometimento da osmoregulação, uma vez que os autores verificaram a inibição da Na/K-ATPase em *Cyprinus carpio*, cuja atividade não foi recuperada mesmo após um período em que os indivíduos foram mantidos em meio livre de Cd.

Suedel, Rodgers e Deaver (1997) avaliando a toxicidade do Cd a diversas espécies, entre elas *Ceriodaphnia dubia*, *Chironomus tentans* e *Pimephales*

*promelas*, verificaram que *P. promelas* foi a espécie mais sensível, seguida por *C. dubia* e, a menos sensível, *C. tentans*. Masutti (2004) avaliando diferentes espécies com Cr e Cu verificou que as espécies zooplanctônicas foram as mais sensíveis enquanto os peixes os menos sensíveis e os organismos bentônicos apresentaram sensibilidade intermediária. Campagna (2010) avaliando o Cr em sedimentos sintéticos semelhantes aos do presente estudo com três espécies, verificou que *C. xanthus* foi mais sensível que as espécies de peixes avaliadas, *D. rerio* e *P. reticulata*. No presente estudo, o cladóceros foi a espécie mais sensível, seguida do organismo bentônico e, por fim, a espécie de peixe foi a menos sensível.

Em águas doces, o cádmio está presente na forma de  $Cd^{2+}$ , hidróxido de cádmio e complexos de carbonato de cádmio. Em águas com altos teores de MO, boa parte está sob a forma de complexos orgânicos. Compostos como sulfito, carbonato e óxidos de cádmio são praticamente insolúveis em água, porém na presença de ácidos, luz ou oxigênio, podem ser transformados em sais solúveis (CARDOSO; CHASIN, 2001).

A composição do sedimento sintético, formulado com argila caulinita, que possui baixa capacidade de troca cationica (1-3 meq/100g) (SUEDEL; RODGERS, 1994), e areia, que também não contribui significativamente para a adsorção de cátions no sedimento, não era esperado que contribuísse significativamente para a ligação de metais no sedimento, de modo que a adsorção do Cd era esperada no conteúdo de MO. Além disso, metais em sedimentos oxidados tendem a se associar a componentes particulares do sedimento, como a MO e óxidos de ferro e manganês (TESSIER et al., 1993).

Segundo Alomary e Belhadj (2007), a ordem das concentrações de Cd nas fases químicas é trocável < carbonatos < óxidos < residual < matéria orgânica. Desse modo, o Cd nos sedimentos sintéticos se portou somente como o esperado em relação à MO. Boa parte do Cd (74%) esteve ligado à fração orgânica, seguida dos carbonatos (15%), óxidos trocáveis (5-7%) e residual (>1%). Inclusive, a alta concentração de Cd nas frações orgânicas pode reforçar a exposição pela rota alimentar para os organismos estudados, que contribuiu para a maior toxicidade dos sedimentos com maiores teores orgânicos.

Diante dos resultados expostos, é possível verificar que as concentrações de Cd consideradas com baixa probabilidade de efeito adverso à biota pela legislação brasileira, que é baseado nos valores de referência do Canadian Environmental Quality Guidelines, causaram efeitos nas espécies avaliadas. Efeitos mais severos foram verificados na espécie *C. silvestrii*, seguidas por *C. xanthus*, ambas as espécies amplamente distribuídas no Brasil. Apesar de *D. rerio* apresentar uma menor sensibilidade às concentrações de Cd nos sedimentos, os organismos também apresentaram efeitos negativos subletais, que podem comprometer a sobrevivência dos organismos em períodos mais longos de exposição.

A adoção de valores orientadores de qualidade de sedimentos no Brasil deve ser baseada em estudos realizados em situações semelhantes às encontradas em ambientes tropicais e não somente baseadas em valores-guia internacionais. A importância da avaliação de sedimentos em condições próximas a ambientes tropicais reside no fato da temperatura influenciar diversos processos no ambiente e nos próprios organismos. A temperatura afeta organismos peclotérmicos provavelmente mais do que qualquer outro fator ambiental, pois com o aumento da temperatura, há um aumento nas taxas metabólicas dos organismos (AIRAS; LEPPÄNEN; KUKKONEN, 2008; CUSHING; ALLAN, 2001; HEUGENS et al., 2003), influenciando inclusive o estado fisiológico do organismo-teste (HEUGENS et al., 2003). Para o Cd, em especial, De Conto Cinier et al. (1999) e Heugens et al. (2003) comentam que o aumento da temperatura acelera os mecanismos de tomada do metal do meio, sendo os efeitos do Cd amplificados com o aumento da temperatura.

Os estudos com sedimentos artificiais não substituem aqueles com sedimentos naturais, pois se tratam de uma simplificação desses sistemas, que apresentam uma série de relações complexas. Ressalta-se que a extrapolação dos resultados é limitada e deve ser feita com cuidado. No entanto, os sedimentos artificiais podem ser considerados válidos para a avaliação da toxicidade de metais, tanto em exposições agudas como crônicas, já que efeitos negativos foram detectados em ambas avaliações e são preocupantes para as espécies avaliadas.

Apesar das limitações na extrapolação dos resultados, os sedimentos sintéticos formulados no presente estudo podem ser considerados adequados e viáveis para serem utilizados em testes de toxicidade, pois apresentaram

propriedades e características físicas e químicas consistentes e bem caracterizadas, foram adequados para a sobrevivência de organismos de diferentes níveis tróficos, foram adequados para a avaliação de efeitos de metais, em avaliações agudas e crônicas.

## 6. Conclusões

Os sedimentos sintéticos formulados no presente estudo apresentam características adequadas à manutenção de organismos zooplanctônicos, bentônicos e nectônicos e são adequados para avaliar a toxicidade de metais para diferentes espécies. Além disso, os sedimentos sintéticos simples, utilizados no presente estudo são recomendados para avaliação da toxicidade de diferentes compostos, pois são facilmente obtidos e preparados, oferecendo respostas rápidas e confiáveis, bem como sua repetibilidade e reprodutibilidade facilitam nas comparações intra e interlaboratoriais.

Em relação à CL50 determinada em testes de toxicidade aguda, *C. silvestrii* foi a espécie mais sensível, seguida por *C. xanthus* e a menos sensível foi *D. rerio*. Os valores de CL50 nos sedimentos testados foi semelhante para *C. silvestrii*, enquanto que, para *C. xanthus* e *D. rerio*, os valores de CL50 foram menores nos sedimentos com mais MO.

Nos testes de toxicidade crônica, *C. silvestrii* também foi mais sensível à concentração de Cd adicionada aos sedimentos, com efeitos adversos mais severos na sobrevivência dos organismos. *C. xanthus* também apresentou efeitos na sobrevivência, no crescimento dos organismos e na acumulação de metal em todos os sedimentos e alteração da morfologia do mento em Sed 0 e 1%. *D. rerio* apresentou efeitos na sobrevivência em Sed 1% e no crescimento em Sed 0,25%, mas alterações na morfologia de brânquias em todos os sedimentos. As concentrações de Cd nos tecidos de *C. xanthus* e *D. rerio* indicam potencial de bioacumulação do metal, que diferem com as espécies.

As variações nos teores de MO nos sedimentos influenciaram os resultados dos testes de toxicidade aguda somente para *C. xanthus* e *D. rerio*, que

apresentaram maior sensibilidade com o aumento da MO nos sedimentos. Porém os resultados dos testes de toxicidade crônica não foram influenciados pelo conteúdo orgânico dos sedimentos.

Os efeitos observados nos organismos em concentrações consideradas seguras para a biota sugerem que os valores adotados não são adequados para a proteção da vida aquática em condições tropicais, sendo necessária uma avaliação mais cuidadosa dos valores orientadores de qualidade de sedimentos para outros metais e espécies.

## CAPÍTULO 5

### Considerações finais e Recomendações

A caracterização limnológica da bacia do Alto Jacaré-Guaçu revelou a degradação do sistema, resultante das diversas atividades humanas que se desenvolvem no entorno da bacia. Os impactos na bacia foram verificados pelas altas concentrações de metais nas amostras de água, especialmente Cd e Cr, em valores acima dos estabelecidos pelo CONAMA 357/05, em determinados pontos e épocas. Nos sedimentos, apesar das concentrações de metais não estarem, em sua maioria, acima dos valores estabelecidos pela legislação nacional (CONAMA 344/04) e internacional (CCME, 2003), as concentrações de Cd e Cr apresentaram grande influência na qualidade dos sedimentos, demonstrada pela análise multivariada.

Esse quadro negativo é confirmado pelas condições inadequadas às espécies de peixes tanto em exposições às amostras de água em laboratório quanto *in situ*. O uso de diferentes espécies nas avaliações ecotoxicológicas atuou de forma complementar e, embora a toxicidade não possa ter sido explicada pela concentração de uma substância específica, é preciso considerar os efeitos sinérgicos que podem advir da mistura de compostos, bem como a presença de outros poluentes que não foram avaliados no presente estudo que são encontrados em sistemas aquáticos, como outros metais, agrotóxicos e hidrocarbonetos aromáticos.

De forma a contribuir para determinar os efeitos do metal Cd, encontrado em concentrações elevadas no sistema estudado, para espécies de diferentes níveis tróficos, foram realizados experimentos em laboratório com sedimentos sintéticos fortificados com esse metal, uma vez que não foi possível localizar um sedimento na bacia que fosse isento de contaminação prévia para tal avaliação.

Os sedimentos sintéticos formulados no presente estudo foram satisfatórios para garantir a sobrevivência e como substrato para testes de toxicidade, já que não foram observados efeitos agudos nem crônicos em *C. silvestrii*, *C. xanthus* e *D. rerio*.

Nos sedimentos fortificados com Cd, tanto para toxicidade aguda como crônica revelaram maior sensibilidade da espécie planctônica *C. silvestrii*, seguida da espécie bentônica *C. xanthus* e por fim, a espécie nectônica, *D. rerio*. Os valores de CL<sub>50</sub> dos testes de toxicidade aguda com Cd foram mais elevados que as concentrações consideradas seguras para a biota aquática pela legislação nacional e internacional, de 0,6mg.Kg<sup>-1</sup> para esse metal. Porém, essas mesmas concentrações consideradas adequadas para a proteção da vida aquática apresentaram efeitos subletais em todas as espécies avaliadas frente à diferentes concentrações de MO. Os efeitos crônicos observados nos organismos em concentrações consideradas seguras para a biota sugerem que os valores adotados não são adequados para a proteção da vida aquática em condições tropicais, sendo necessária uma avaliação mais cuidadosa dos valores orientadores de qualidade de sedimentos para outros metais e espécies.

Embora a extrapolação de resultados de sedimentos sintéticos seja limitada e complexa, os resultados da toxicidade do Cd verificados para as diferentes espécies sugerem a intensificação desses estudos, para outras espécies, avaliando-se outras respostas subletais, diante de outros cenários de exposição. Os sedimentos também devem ser avaliados com outros contaminantes, metálicos ou orgânicos, bem como utilizando outras fontes de argila e MO, MO em diferentes estágios de degradação e em sistemas com diferentes durezas e temperaturas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, W. J. Aquatic toxicology testing methods. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, G.L., Jr.; CAIRNS, J., Jr. (Eds) **Handbook of Ecotoxicology**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. Cap. 13, p. 25-46.
- ADAMS, W.J.; ROWLAND, C.D. Aquatic Toxicology Test Methods. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON Jr., G.A.; CAIRNS Jr., J. (Eds) **Handbook of Ecotoxicology**. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Lewis Publishing, 2002. p. 16-42.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR) (1997). Draft Toxicological Profile for Cadmium. Atlanta, Public Health Service, U.S. Department of Health & Human Services.
- AHNSTROM, Z.S.; PARKER, D.R. Development and assessment of a sequential extraction procedure for the fractionation of soil cadmium. **Science Society of America Journal**, v. 63, p. 1650-1658. 1999.
- AIRAS, S.; LEPPÄNEN, M.; KUKKONEN, J.V.K. Effects of temperature and oxygen concentration in sediment toxicity testing. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70 (30), p. 475-482. 2008.
- ALOMARY, A.A.; BELHADJ, S. Determination of heavy metals (Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn) by ICP-OES and their speciation in Algerian Mediterranean Sea sediments after a five-stage sequential extraction procedure. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 135, p. 265-280. 2007.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20<sup>th</sup> edition. Washington, DC: American Water Association, Water Environmental Federation. 1999.
- ANDERSEN, J.M. An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. **Water Research**, v.10, p. 329-331. 1976.
- ARAÚJO, R.P.A.; SHIMIZU, G.Y.; BOHRER, M.B.C.; JARDIM, W. Avaliação da qualidade de sedimentos. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (Eds.), **Ecotoxicologia aquática: Princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa Editora, 2006. Cap. 13, p. 293-326.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **Análise granulométrica de solos**. 32p. 1968.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Aguda – Método de Ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea)**. Rio de Janeiro, 21p. 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Aguda – Método de Ensaio com Peixes**. Rio de Janeiro, 19p. 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Crônica – Método de Ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Cladocera, Crustacea)**. Rio de Janeiro, 15p. 2005.

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Crônica de Curta Duração – Método de Ensaio com Peixes**. Rio de Janeiro, 21p. 2007.
- AYRES, M.; AYRES JR., M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. (2003). **BioEstat 3.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Brasília: CNPq, 2003. 290 p.
- BAGGIO, H.; HORN, A.H. Teores totais e distribuição dos metais pesados Cu, Cd, Cr, Ni, Pb e Zn nos sedimentos de corrente e fundo do rio do Formoso - MG. **Geografias**, v. 6(1), p. 107-117. 2010.
- BARBOSA, D.S.; ESPÍNDOLA, E.L.G. Algumas teorias ecológicas aplicadas a sistemas lóticos. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. (Eds) **Limnologia Fluvial: Um estudo no rio Mogi-Guaçu**. São Carlos, RiMa, 2003. p. XV-XXII.
- BARRETO, A.S. **Estudo da distribuição de metais em ambiente lótico, com ênfase na assimilação da das comunidades biológicas e a sua quantificação no sedimento e água**. 1999. 274 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.
- BARRON, M.G. Bioaccumulation and Biomagnification in Aquatic Organisms. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON Jr., G.A.; CAIRNS Jr., J. (Eds) **Handbook of Ecotoxicology**. 2<sup>nd</sup> Ed. Chelsea: Lewis Publishing, 2002. Cap. 32, p. 877-892.
- BAUDO, R. Ecotoxicological testing with *Daphnia*. **Istituto Italiano di Idrobiologia**, v. 45, p. 461-482. 1987.
- BAUDO, R. **Sediments: Chemistry and Toxicity of In-Place Pollutants**. Boca Raton: CRC Press, Inc., 1990. 424 p.
- BAUDO, R.; MUNTAU, H. Lesser known in-place pollutants and diffuse source problems. In: BAUDO, R.; GIESY, J.P.; MUNTAU, H. (Eds) **Sediments: Chemistry and toxicity of in-place pollutants**. Ann Arbor: Lewis Publishers, 1990. p. 1-14.
- BERTOLETTI, E. **Estimativa de efeitos tóxicos crônicos com *Danio rerio* (Pisces, Cyprinidae)**. 2000. 118 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.
- BERTOLETTI, E. Determinação da Ecotoxicidade Crônica para *Danio rerio*. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 4 (1-3) p. 1-7. 2009.
- BERTOLETTI, E. Sensibilidade de Algumas Espécies de Peixes de Água Doce Utilizadas no Brasil. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 4 (1-3) p. 9-13. 2009.
- BERVOETS, L.; BLUST, R. Effects of pH on cadmium and zinc uptake by the midge larvae *Chironomus riparius*. **Aquatic Toxicology**, v. 49, p. 145-157. 2000.
- BERVOETS, L.; BLUST, R.; DE WIT, M.; VERHEYEN, R. Relationships between river sediment characteristics and trace metal concentrations in tubificid worms and chironomid larvae. **Environmental Pollution**, v. 95 (3), p. 345-356. 1997.
- BESSER, J.M.; BRUMBAUGH, W.G.; MAY, T.W.; INGERSOLL, C.G. Effects of organic amendments on the toxicity and bioavailability of cadmium and copper in

- spiked formulated sediments. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22 (3), p. 805-815. 2003.
- BETTINETTI, R.; CUCCATO, D.; GALASSI, S.; PROVINI, A. Toxicity of 4-nonylphenol in spiked sediment to three populations of *Chironomus riparius*. **Chemosphere**, v. 46, p. 201-207. 2002.
- BETTINETTI, R.; GIAREI, C.; PROVINI, A. Chemical analysis and sediment toxicity bioassays to assess the contamination of the river Lambro (Northern Italy). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 45, p. 72-78. 2003.
- BOERSMA, M; VIJVERBERG, J. Food effects on life history traits and seasonal dynamics of *Ceriodaphnia pulchella*. **Freshwater Biology**, v. 35, p. 25-34. 1996.
- BONANI, F. **Avaliação de deformidades morfológicas em larvas de *Chironomus* (Diptera, Chironomidae) na bacia do rio Piracicaba e sua aplicação no biomonitoramento**. 2010. 80 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.
- BOON, P.J. Essential elements in the case for the river conservation. In: BOON, P.; CALOW, J.; PETTS, G.E. **River conservation and management**. New York, John Wiley & Sons, 1992. p. 11-36.
- BOUDOU, A.; RIBEYRE, F. **Aquatic Ecotoxicology**. Boca Raton: CRC Press, 1989. 328 p.
- BRANCO, S.M. Água, meio ambiente e saúde. In: REBOUÇAS, A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. **Águas Doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação**. São Paulo: Ed. Escrituras, 2002. Cap 7, p. 227 - 248.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente – Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução nº 344**, de 25 de março de 2004. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, e dá outras providências. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res04/res34404.xml>
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente – Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: [http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/praias/res\\_conama\\_357\\_05.pdf](http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/praias/res_conama_357_05.pdf).
- BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G.; POVINELLI, J.; ELER, M.N.; SILVA, M.R.C.; DORNFELD, C.B.; NOGUEIRA, A.M. **Avaliação Ambiental do rio Mogi-Guaçu: Resultados de uma pesquisa com abordagem ecossistêmica**. São Carlos: RiMa Editora, 2002. 58p.
- BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G.; POVINELLI, J.; NOGUEIRA, A.M. Caracterização física, química e biológica da água do rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. (Eds) **Limnologia Fluvial: Um estudo no rio Mogi-Guaçu**. São Carlos, RiMa, 2003. Cap. 4, p. 55-76.
- BROOKS, B.W.; STANLEY, J.K.; WHITE, J.C.; TURNER, P.K.; WU, K.B.; LA POINT, T.W. Laboratory and field responses to cadmium: an experimental study in

- effluent-dominated stream mesocosms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23 (4), p. 1057-1064. 2004.
- BURNISON, B.K.; MEINELT, T.; PLAYLE, R.; PIETROCK, M.; WIENKE, A.; STEINBERG, C.E.W. Cadmium accumulation in zebrafish (*Danio rerio*) eggs is modulated by dissolved organic matter (DOM). **Aquatic Toxicology**, v. 79, p. 185-191. 2006.
- BURTON Jr., G.A. **Sediment toxicity assessment**. Chelsea: Lewis Publishers, 1992. 480p.
- BURTON Jr., G.A. Sediment quality criteria in use around the world. **Limnology**, v. 3, p. 65-75. 2002.
- BURTON, G.L., MACPHERSON, C. Sediment toxicity testing issue and methods. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, G.A. Jr.; CAIRNS, J. Jr. **Handbook of ecotoxicology**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. Cap 5, p. 70-103.
- BURY, N.R.; WALKER, P.A.; GLOVER, C.N. Nutritive metal uptake in teleost fish. **The Journal of Experimental Biology**, n. 206, p. 11-23. 2003.
- CAMARGO, M.M.P.; MARTINEZ, C.B.R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical Ichthyology**, v. 5(3), p. 327-336. 2007.
- CAMPAGNA, A.F. **Toxicidade dos sedimentos da bacia hidrográfica do rio Monjolinho (São Carlos – SP): ênfase nas substâncias cobre, aldrin e heptacloro**. 2005. 268 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.
- CAMPAGNA, A.F. **Estudos limnológicos e ecotoxicológicos da bacia do Alto Jacaré-Guaçu com ênfase no desenvolvimento de sedimentos artificiais para avaliação da toxicidade do cromo**. 2010. 175 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.
- CAMPAGNA, A.F.; FRACÁCIO, R.; RODRIGUES, B.K.; ELER, M.N.; FENERICH-VERANI, N.; ESPÍNDOLA, E.L.G. Analyses of the Sediment Toxicity of Monjolinho River, São Carlos, São Paulo State, Brazil, using Survey, Growth and Gill Morphology of Two Fish species (*Danio rerio* and *Poecilia reticulata*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51(1), p.193-201. 2008.
- CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT (CCME). **Summary of existing Canadian Environmental Quality Guidelines** – Summary Table. 2003. 12p.
- CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT (CCME). **Introduction**. 1999. 3p.
- CARDOSO, L.M.N.; CHASIN, A.A.M. **Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos**. Salvador: CRA, 2001. 122p.
- CARRIQUIRIBORDE, P.; RONCO, A.E. Sensitivity of the Neotropical Teleost *Odonthestes bonariensis* (Pisces, Atherinidae) to Chromium(VI), Copper(II), and Cadmium(II). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, p. 294-301. 2002.

- CARRIQUIRIBORDE, P.; RONCO, A.E. Distinctive accumulation patterns of Cd(II), Cu(II), and Cr(VI) in tissue of the South American teleost, pejerrey (*Odontesthes bonariensis*). **Aquatic Toxicology**, v. 86, p. 313-322. 2008.
- CASTRO, B.B.; GUILHERMINO, L.; RIBEIRO, R. In situ bioassay chambers and procedures for assessment of sediment toxicity with *Chironomus riparius*. **Environmental Pollution**, v. 125, p. 325-335. 2003.
- CHAPMAN, D. **Water quality assessment. A guide to the use of biota, sediments and water in environmental monitoring**. 2<sup>nd</sup> Ed. London: Chapman & Hall, 1992. 609 p.
- CHAPMAN, K.K.; BENTON, M.J.; BRINKHURST, R.O.; SCHEUERMAN, P.R. Use of the aquatic oligochaetes *Lumbricus variegates* and *Tubifex tubifex* for assessing the toxicity of copper and cadmium in a spiked-artificial-sediment toxicity test. **Environmental Toxicology**, v. 14, p. 271-278. 1999.
- CHAPMAN, P.M.; WANG, F.; JANSSEN, C.; PERSSONE, G.; ALLEN, H.E. Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.55, p. 2221-2243. 1998.
- CHAPMAN, P.M.; WANG, F.; ADAMS, W.J.; GREEN, A. Appropriate applications of Sediment Quality Values for metals and metalloids. **Environmental Science & Technology**, v. 33 (22), p. 3937-3941. 1999.
- CHAPMAN, P.M. The implications of hormesis to ecotoxicology and ecological risk assessment. **Human & Experimental Toxicology**, v. 20, p. 499-505. 2001.
- CHEN, C.Y.; STEMBERGER, R.S.; KLAUE, B.; BLUM, J.D.; PICKHARDT, P.C.; FOLT, C.L. Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. **Limnology and Oceanography**, v. 45 (7), p. 1525-1536. 2000.
- CLÉMENT, B.; CADIER, C. Development of a new laboratory freshwater/sediment microcosm test. **Ecotoxicology**, v. 7, p. 279-290. 1998.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Água – Teste de toxicidade aguda com peixes – parte II – sistema semi-estático**. São Paulo, 1990. 29p.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). Metodologia para avaliação da toxicidade crônica com o peixe *Brachydanio rerio*. São Paulo, 1994.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relatório de estabelecimento de Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo**. São Paulo, CETESB, São Paulo, 2001. 73p.
- CORBI, J.J.; STRIXINO, S.T.; SANTOS, A.; DEL GRANDE, M. Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de cana-de-açúcar (Estado de São Paulo, Brasil). **Química Nova**, v. 29 (1), p. 61-65. 2006.
- CÔRTEZ, M.R.; RIGHETTO, G.M.; LEONELLU, G.C.V.; FERNANDES, A.C.A. 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 Monjolino**. São Carlos: RiMa, 2000. Cap. 10, p. 114-132.

- CRISCUOLO, C.; VASCONCELOS, C.H.; SILVA, J.S.V. Uso e Ocupação da terra em 1965 e 1968. In: ESPÍNDOLA, E.L.G.; SILVA, J.S.V.; MARINELLI, C.E.; ABDON, M.M. (Eds) **A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho**. São Carlos: RiMa, 2000. Cap. 9, p. 104-113.
- CUNHA, M.B.; BIANCHINI, I.Jr. Mineralização aeróbia de *Cabomba piauhyensis* e *Scirpus cubensis*. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v.10 (1), p. 81-91. 1998.
- CUNHA, M.B.; BIANCHINI, I.Jr. Formação de compostos húmicos a partir da degradação de *Scirpus cubensis* e *Cabomca paiuhyensis*. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 13 (2), p. 35-43. 2001.
- CUSHING, C.E.; ALLAN, J.D. **Streams: Their Ecology and Life**. San Diego: Academic Press, 2001. 366p.
- DE CONTO CINIER, C.; PETIT-RAMEL, M.; FAURE, R.; GARIN, D.; BOUVET, Y. Kinetics of cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* tissues. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 122, p. 345-352. 1999.
- DE LA TORRE, F.R.; SALIBIÁN, A.; FERRARI, L. Long-term in situ toxicity bioassays of the Reconquista river (Argentina) water with *Cyprinus carpio* as sentinel organism. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 121, p. 205-215. 2000.
- DEPARTAMENTO NACIONAL DE ÁGUAS E ENERGIA/ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS (DNAEE/EESC). **Bacia experimental do rio Jacaré-Guaçu**. São Carlos: Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada CRHEA/EESC/USP. 1980, 113p.
- DOMINGUES, D.F.; BERTOLETTI, E. Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismos Aquáticos. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (Eds.), **Ecotoxicologia aquática: Princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa Editora, 2006. Cap. 7, p. 153-184.
- DOMINGUES, I.; GUILHERMINO, L.; SOARES, A.M.V.M.; NOGUEIRA, A.J.A. Assessing dimethoate contamination in temperate and tropical climates: Potential use of biomarkers in bioassays with two chironomid species. **Chemosphere**, v. 69, p. 145-154. 2007.
- DORNFELD, C.B. **Utilização de *Chironomus* sp (Diptera, Chironomidae) para a avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais**. 2006. 211 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- DORNFELD, C.B.; ESPÍNDOLA, E.L.G.; FRACÁCIO, R.; RODRIGUES, B.K.; NOVELLI, A. Comparação de Bioensaios Laboratoriais e “in situ” Utilizando *Chironomus xanthus* na Avaliação da Toxicidade de Sedimentos do Rio Monjolinho (São Carlos, SP). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1 (2), p. 161-165. 2006.
- EDWARDS, P.A.; SIMKISS, K. Dietary Influences on the Bioaccumulation of Pollutants by the Annelid, *Lumbriculus variegatus*: Experiments Comparing Artificial Particles and Natural Sediments. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 74, p. 328-334. 2005.
- EIMERS, M.C.; EVANS, R.D.; WELBOURN, P.M. Partitioning and bioaccumulation of cadmium in artificial sediment systems: application of a stable isotope tracer technique. **Chemosphere**, v. 46, p. 543-551. 2002.

- ESPÍNDOLA, E.L.G.; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C.B. Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. (Eds) **Limnologia Fluvial: Um estudo no rio Mogi-Guaçu**. São Carlos, RiMa, 2003. Cap. 8, p. 129-148.
- ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 602p.
- EWALD, G. Chronic measures of toxicant - induced effects on fish. **Annales Zoologici Fennici**, v. 32, p. 311-316. 1995.
- FEILER, U.; KIRCHESCH, I.; HEININGER, P. A new plant-based bioassay for aquatic sediments. **Journal of Soils & Sediments**, v. 4 (4), p. 261-266. 2004.
- FERRANTE, J.T.E. **Mapeamento geotécnico regional da bacia do Alto jacaré-Guaçu - São Paulo, com base nas aplicações de técnicas de sensoriamento remoto e sistema geográfico de informação. Proposta metodológica**. 1989. 183 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1989.
- FISZMAN, M.; PFEIFFER, W.C.; LACERDA, L.D. Comparison of methods used for extraction and geochemical distribution of heavy metals in bottom sediments from Sepetiba Bay, R.J. **Environmental Technology**, v. 5 (12), p. 567-575. 1984.
- FLEMING, R.J.; HOLMES, D.; NIXON, S.J. Toxicity of permethrin to *Chironomus riparius* in artificial and natural sediments. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 17 (7), p. 1332-1337. 1998.
- FLIEDNER, A. Ecotoxicity of poorly water-soluble substances. **Chemosphere**, v. 35 (1/2), p. 295-305. 1997.
- FONSECA, A.L. **Avaliação da qualidade da água do rio Piracicaba/SP através de testes de toxicidade com invertebrados**. 1997. 211 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 1997.
- FONSECA, A.L.; ROCHA, O. The life-cycle of *Ceriodaphnia silvestrii* Daday, 1902, a neotropical endemic species (Crustacea, Cladocera, Daphnidae). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 16 (4), p. 319-328. 2004a.
- FONSECA, A.L.; ROCHA, O. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus* Rempel, 1939 (Diptera-Chironomidae). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 16 (2), p. 153-161. 2004b.
- FÖRSTNER, U.; WITTMANN, G.T.W. **Metal pollution in the aquatic environment**. 2<sup>nd</sup> Ed. Berlin: Springer-Verlag, 1983. 486p.
- FRACÁCIO, R. **Utilização de bioensaios ecotoxicológicos com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae) e análises limnológicas para a avaliação ambiental dos reservatórios do médio e baixo Tietê (SP)**. 2001. 233 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.
- FRACÁCIO, R. **Estudos limnológicos e ecotoxicológicos (laboratoriais e *in situ*), com ênfase na avaliação da toxicidade de metais e de pesticidas organoclorados em peixes (*Danio rerio* e *Poecilia reticulata*) – Sub-bacia do rio Monjolinho**. 2006. 184 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

- FRACÁCIO, R.; RODGHER, S.; ESPÍNDOLA, E.L.G.; PASCHOAL, C.M.R.B.; LIMA, D.; NASCIMENTO, A.P.; RODRIGUÊS, M.H. Abordagem ecotoxicológica. In: ESPÍNDOLA, E.L.G.; SILVA, J.S.V.; MARINELLI, C.E.; ABDON, M.M. (Eds) **A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho**. São Carlos: RiMa, 2000. Cap.12, p 150-162.
- FRACÁCIO, R.; FENERICH-VERANI, N.; ESPÍNDOLA, E.L.G.; ROCHA, O.; RIGOLIN-SÁ, O.; ANDRADE, C.A. Alterations on Growth and Gill Morphology of *Danio rerio* (Pisces, Ciprinidae) Exposed to the Toxic Sediments. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46 (4), p. 685-695. 2003.
- FRACÁCIO, R.; RODRIGUES, B.K.; CAMPAGNA, A.F.; FENERICH-VERANI, N. In situ and laboratory evaluation of toxicity with *Danio rerio* Buchanan (1822) and *Poecilia reticulata* Peters (1859). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 21 (1), p. 111-122. 2009.
- FREITAS, E.C.; ROCHA, O. Acute Toxicity Tests with the Tropical Cladoceran *Pseudosida ramosa*: The Importance of Using Native Species as Test Organisms. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60 (2), p. 241-249. 2010.
- FRISSELL, C.A.; LISS, W.J.; WARREN, C.E.; HURLEY, M.D. A hierarchical framework for stream habitat classification: Viewing streams in a watershed context. **Environmental Management**, v. 10 (2), p. 199-214. 1986.
- GERNHÖFER, M.; PAWERT, M.; SCHRAMM, M.; MÜLLER, E.; TRIEBSKORN, R. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v. 8, p. 241-260. 2001.
- GILLIS, P.L.; DIENER, L.C.; REYNOLDSON, T.B.; DIXON, D.G. Cadmium-induced production of a metallothionein-like protein in *Tubifex tubifex* (Oligochaeta) and *Chironomus riparius* (Diptera): Correlation with reproduction and growth. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21 (9), p. 1836-184. 2002.
- GILLIS, P.L.; WOOD, C.M. The effect of extreme waterborne cadmium exposure on the internal concentrations of cadmium, calcium, and sodium in *Chironomus riparius* larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71 (1), p. 56-64. 2008a.
- GILLIS, P.L.; WOOD, C.M. Investigating a potential mechanism of Cd resistance in *Chironomus riparius* larvae using kinetic analysis of calcium and cadmium uptake. **Aquatic Toxicology**, v. 89, p. 180-187. 2008b.
- GOLTERMAN, H.L.; CLYMO, R.S.; OHNSTAD, M.A.M. **Methods for physical and chemical analysis of fresh water**. 2 ed. Oxford: Blackweel Scintific Publications, 1978. 213p.
- GUERESCHI, R.M. **Monitoramento biológico da bacia hidrográfica do rio Monjolinho pelo uso de invertebrados bentônicos**. 1995. 43 f. Monografia (Bacharelado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1995.
- HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science Technology**, v. 11 (7), p. 714-719. 1977. Correction v.12 (4), p. 417. 1978.

- HANDY, R.D.; EDDY, F.B.; ROMAIN, G. In vitro evidence for the ionoregulatory role of rainbow trout mucus in acid, acid/aluminum and zinc toxicity, **Journal of Fish Biology**, v. 35, p.373. 1989.
- HARRAHY, E.A.; CLEMENTS, W.H. Toxicity and bioaccumulation of a mixture of heavy metals in *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae) in synthetic sediment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16 (2), p. 317-327. 1997.
- HEATH, A.G. **Water Pollution and Fish Physiology**. Boca Raton: CRC Press, 1987. p. 384p.
- HEATH, A.G. **Water Pollution and Fish Physiology**. Boca Raton, Lewis Publishers, 1995. 359p.
- HEUGENS, E.W.; JAGER, T.; CREYGHTON, R.; KRAAK, M.H.S.; JAN HENDRIKS, A.; VAN STRAALLEN, N.M.; ADMIRAAL, W. Temperature-dependent effects of cadmium on *Daphnia magna*: Accumulation versus Sensitivity. **Environmental Science & Technology**, v. 37, p. 2145-2151. 2003.
- HIRT, L.M.; DOMITROVIC, H.A. Toxicidad y respuesta histopatológica en *Cichlasoma dimerus* (Pisces, Cichlidae) expuestos a cloruro de cadmio en ensayos agudos y subletales. **Revista de Ictiología**, v. 10 (1/2), p. 17-32. 2002.
- HOLLIS, L.; MUENCH, L.; PLAYLE, R.C. Influence of dissolved organic matter on copper binding, and calcium on cadmium binding, by gills of rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, v. 50, p. 703–720. 1997.
- HOLLIS, L.; MCGEER, J.C.; McDONALD, D.G.; WOOD, C.M. Protective effects of calcium against chronic waterborne cadmium exposure to juvenile rainbow trout. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19 (11), p. 2725-2734. 2000.
- HÖSS, S.; HAITZER, M.; TRAUNSPURGER, W.; STEINBERG, C.E.W. Growth and fertility of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in unpolluted freshwater sediments: response to particle size distribution and organic content. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18 (12), p. 2921-2925. 1999.
- HÖSS, S.; HENSCHL, T.; HAITZER, M.; TRAUNSPURGER, W.; STEINBERG, C.E.W. Toxicity of cadmium to *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in whole sediment and pore water - The ambiguous role of organic matter. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20 (12), p. 2794-2801. 2001.
- INGERSOLL, C.G. Sediments tests. In: RAND, G.M. (Ed.) **Fundamentals of Aquatic Toxicology**. Effects, Environmental Fate and Risk Assessment. 2<sup>nd</sup> Edition. London: Taylor and Francis, 1995. p. 231-255.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE (IBAMA). **Manual de testes para avaliação da ecotoxicologia de agentes químicos**. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Brasília, 1990.
- INTERNATIONAL CADMIUM ASSOCIATION (ICdA). All the information on Cadmium. Disponível em: <http://www.cadmium.org>. Acessado em: Nov 2009.
- JACONETTI, P.C.M. **Validação de ensaios ecotoxicológicos com organismos autóctones *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestrii***. 2005. 206 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

- JARDIM, G.M.; **Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do rio Corumbataí, SP.** 2004. 126 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- JURACEK, E.K.; MAU, D.P. Metals, trace elements, and organochlorine compounds in bottom sediment of Tuttle creek Lake, Kansas, USA. **Hydrobiologia**, v. 494, p. 277-282. 2003.
- KEMBLE, N.E.; DWYER, F.J.; INGERSOLL, C.G.; DAWSON, T.D.; NORBERG-KING, T.J. Tolerance of freshwater test organisms to formulated sediments for use as control materials in whole-sediment toxicity tests. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18 (2), p. 222-230. 1999.
- KOHNEM, U.P. **O guppy** – criação e desenvolvimento. São Paulo: Nobel, 1991. p. 09-26.
- KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: GRASSOHOFF, K. (Ed) **Methods of Seawater Analysis**. New York: Verlag Chemie Weinheim, 1976. p. 117-181.
- KUHLMANN, M.L.; HAYASHIDA, C.Y.; ARAÚJO, R.P.A. Using *Chironomus* (Chironomidae: Diptera) mentum deformities in environmental assessment. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 12, p. 55-61. 2000.
- KÜSTER, E. Cholin- and carboxylesterase activities in developing zebrafish embryos (*Danio rerio*) and their potential use for insecticide hazard assessment. **Aquatic Toxicology**, v. 75, p. 76-85. 2005.
- LACEY, R.; WATZIN, M.C.; McINTOSH, A.W. Sediment organic matter content as a confounding factor in toxicity tests with *Chironomus tentans*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18 (2), p. 231-236. 1999.
- LANDRUM, P.F.; ROBBINS, J.A. (1990). Bioavailability of Sediment-Associated Contaminants to Benthic Invertebrates. In: BAUDO, R.; GIESY J.P.; MUNTAU, H. (Eds) **Sediments: chemistry and toxicity of in-place pollutants**. Boca Raton: Lewis Publishers, INC, 1990. Cap. 8, p. 237-263.
- LAWS, E.A. **Aquatic pollution: an introductory text**. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1993. 611 p.
- LEE, B.G.; GRISCOM, S.B.; LEE, J.S.; CHOI, H.J.; KOH, C.H.; LUOMA, S.N.; FISHER, N.S. Influences of dietary uptake and reactive sulfides on metal bioavailability from aquatic sediments. **Science (Wash.)**, v. 287, p. 282-284. 2000.
- LEGENDRE, L.; LEGENDRE, P. **Numerical Ecology**. New York: Elsevier Scientific Company, 1973. 419 p.
- LEMES, M.J.L. **Avaliação de metais e elementos-traço em águas e sedimentos das bacias hidrográficas dos rios Mogi-Guaçu e Pardo, São Paulo**. 2001. 215 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energética e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- LIBER, K.; GOODFELLOW, W.; DEN BESTEN, P.; CLEMENTS, W.; GALLOWAY, T.; GERHARDT, A.; GREEN, A.; SIMPSON, S. In situ-based effects measures: considerations for improving methods and approaches. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 3 (2), 246-258. 2007.

- LIMA, W.P. **Princípios de Hidrologia Florestal para o Manejo de Bacias hidrográficas**. Piracicaba: Departamento de Silvicultura, ESALQ/USP. 24p. 1986.
- LLOYD, R. Assessing the toxicity of Chemicals. In: \_\_\_\_\_. **Pollution and Freshwater Fish**. Cambridge: Blackwell Scientific Publications Inc., 1992. Cap. 3, p. 24-40.
- LUCKENBACH, T.; KILIAN, M.; TRIEBSKORN, R.; OBEREMM, A. Fish early stages tests as a tool to assess embryotoxic potentials in small streams. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v. 8, p. 355-370. 2001.
- MAACK, G.; SEGNER, H. Morphological development of the gonads in zebrafish. **Journal of Fish Biology**, v. 62, p. 895-906. 2003.
- MACKERETH, F. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. **Water Analysis**: some revised methods for limnologists. Freshwater Biological Association Scientific Publication. Kendall: Titus Wilson and Sons Ltd., n. 36, 117p. 1978.
- MARINELLI, C.E.; MORETTO, E.M.; BRUCHA, G.; LUCCA, J.V. Limnologia. In: ESPÍNDOLA, E.L.G.; SILVA, J.S.V.; MARINELLI, C.E.; ABDON, M.M. (Eds) **A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho**. São Carlos, RiMa, 2000. Cap.11, p 133-149.
- MARTINEZ, E.A.; MOORE, B.C.; SCHAUMLOFFEL, J.; DASGUPTA, N. Morphological abnormalities in *Chironomus tentans* exposed to cadmium and copper-spiked sediments. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 55, p. 204-212. 2003.
- MASUTTI, M.B. **Distribuição e efeitos de cromo e cobre em ecossistemas aquáticos: uma análise laboratorial e “in situ” (Experimentos em micro e mesocosmos)**. 2004. 286 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2004.
- MEFFE, G.K.; SNELSON, F.F.Jr. **Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)**. New Jersey: Prentice Hall, 1989. 425p.
- MEINELT, T.; PLAYLE, R.C.; PIETROCK, M.; BURNISON, B.K.; WIENKE, A.; STEINBERG, C.E.W. Interaction of cadmium toxicity in embryos and larvae of zebrafish (*Danio rerio*) with calcium and humic substances. **Aquatic Toxicology**, v. 54, p. 205-215. 2001.
- MELETTI, P.C. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade aguda com peixes**. 1997. 148 f. Dissertação (Mestrado). – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.
- MENDES, A.J.S. **Avaliação dos impactos sobre a comunidade macrozoobentônica, no córrego do Monjolinho (São Carlos, SP)**. 1998. 106 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.
- MEYER, J.S.; BOESE, C.J.; COLLYARD, S.A. Whole-body accumulation of copper predicts acute toxicity to an aquatic oligochaete (*Lumbriculus variegatus*) as pH and calcium are varied. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part C**, v. 133, p. 99-109. 2002.

- MILANI, D.; REYNOLDSON, T.B.; BORGMANN, U.; KOLASA, J. The relative sensitivity of four benthic invertebrates to metals in spiked-sediment exposures and application to contaminated field sediment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22 (4), p. 845-854. 2003.
- MOZETO, A.A.; ZAGATTO, P.A. Introdução de agentes químicos no ambiente. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (Eds.), **Ecotoxicologia aquática**: Princípios e aplicações. São Carlos: RiMa Editora, 2006. Cap. 2, p. 15-38.
- MUNAWAR, M.; DERMOTT, R.; MCCARTHY, L.H.; MUNAWAR, S.F.; VAN STAM, H.A. A comparative bioassessment of sediment toxicity in lentic and lotic ecosystems of the North American Great Lakes. **Aquatic Ecosystem Health and Management**, v. 2, p. 367-378. 1999.
- MYERS, M.S.; FOURNIE, J.W. Histopathological biomarkers as integrators of antropogenic and environmental stressors. In: ADAMS, S.M. (Ed). **Biological indicators of aquatic ecosystem stress**. Bethesda, American Fisheries Society, 2002. Cap. 7, p. 221-287.
- NAYLOR, C.; RODRIGUES, C. Development of a test method for *Chironomus riparius* using a formulated sediment. **Chemosphere**, v. 31 (5), p. 3291-3303. 1995.
- NJIWA, J.R.K.; MÜLLER, P.; KLEIN, R. Life cycle stages and length of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to DDT. **Journal of Health Science**, v. 50, p. 220-225. 2004.
- NOVELLI, A. **Estudo limnológico e ecotoxicológico da água e sedimento do rio Monjolinho – São Carlos (SP), com ênfase nas substâncias de referência cádmio e cobre**. 2005. 212 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
- NUSH, E.A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 14, p.14-36. 1980.
- OLIVEIRA-NETO, A.L. **Toxicidade de alguns metais pesados (Cd, Cr e Pb) em organismos planctônicos lacustres de região subtropical**. 2000. 91 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.
- OLIVEIRA-NETO, A.L.; BOTTA-PASCHOAL, C.M.R. Sensibilidade do Cladocera lacustre planctônico *Ceriodaphnia silvestrii* (Família Daphnidae) aos metais cádmio, cromo e chumbo. In: ESPÍNDOLA, E.L.G.; BOTTA-PASCHOAL, C.M.R.; ROCHA, O.; BOHRER, M.B.C.; OLIVEIRA-NETO, A.L. de (Eds) **Ecotoxicologia: Perspectivas para o Século XXI**. São Carlos, RiMa, 2000. Cap. 38, p. 537-543.
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Guidelines for the testing of chemicals**. Sediment-water Chironomid toxicity test using spiked sediment. 21p. 2004.
- PAWERT, M; MÜLLER, E.; TRIEBSKORN, R. Ultrastructural changes in fish gills as biomarker to assess small stream pollution. **Tissue & Cell**, v. 30 (6), p. 617-626. 1998.
- PELÁEZ-RODRÍGUEZ, M. **Avaliação da qualidade da água da bacia do alto Jacaré Guaçu – SP (Ribeirão do feijão e rio Monjolinho), através de variáveis físicas, químicas e biológicas**. 2001. 138 f. Tese (Doutorado) –

Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

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

PLAYLE, R.C. Modelling metal interactions at fish gills. **The Science of the Total Environment**, v. 219, p. 147-163. 1998.

PLETTE, A.C.C.; NEDERLOF, M.M.; TEMMINGHOFF, E.J.M.; VAN RIEMSDIJK, W.H. Bioavailability of heavy metals in terrestrial and aquatic systems: a quantitative approach. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18 (9), p. 1882-1890. 1999.

POLEKSIĆ, V.; MITROVIĆ-TUTUNDIŽIĆ, V. Fish gills as monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: MULLER, R.; LLOYD, R. **Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish**. United Nation: Fishing News Books, 1994. Cap. 30, p. 339 - 352.

POSTMA, J.F.; BUCKERT-DE JONG, M.C.; STAATS, N.; DAVIDS, C. Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) at different food levels. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 26, p. 143-148. 1994.

POSTMA, J.F.; NUGTEREN, P.V.; BUCKERT-DE JONG, M.C. Increased cadmium excretion in metal-adapted populations of the midge *Chironomus riparius* (Diptera). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15 (3), p. 332-339. 1996.

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

REBOUÇAS, A.C. Água doce no mundo e no Brasil. In: REBOUÇAS, A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. **Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação**. São Paulo, Ed. Escrituras, 2002. Cap. 1, p. 1-37.

REZNICK, D.; ENDLER, J.A. The Impact of Predation on Life History Evolution in Trinidadian Guppies (*Poecilia reticulata*). **Evolution**, v. 36 (1), p. 160-177. 1982.

RIBEIRO, R.; KELLY, L.A.; GONÇALVES, F.; BURTON, G.A.Jr.; SOARES, M.V.M. New artificial sediment for *Chironomus riparius* toxicity testing. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 63, p.691-697. 1999.

ROMAN, Y.E.; DE SCHAMPHELAERE, K.A.C.; NGUYEN, L.T.H.; JANSSEN, C.R. Chronic toxicity of copper to five benthic invertebrates in laboratory-formulated sediment: Sensitivity comparison and preliminary risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 387, p. 128-140. 2007.

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

SÃO PAULO. Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. **DECRETO Nº 10.755**, de 22 de novembro de 1977. Dispõe sobre o enquadramento dos corpos de água receptores na classificação prevista no Decreto nº 8.468, de 8 de setembro de 1976, e dá providências correlatas. Disponível em:

[http://www.cetesb.sp.gov.br/licenciamento/legislacao/estadual/decretos/1997\\_Dec\\_Est\\_10755.pdf](http://www.cetesb.sp.gov.br/licenciamento/legislacao/estadual/decretos/1997_Dec_Est_10755.pdf).

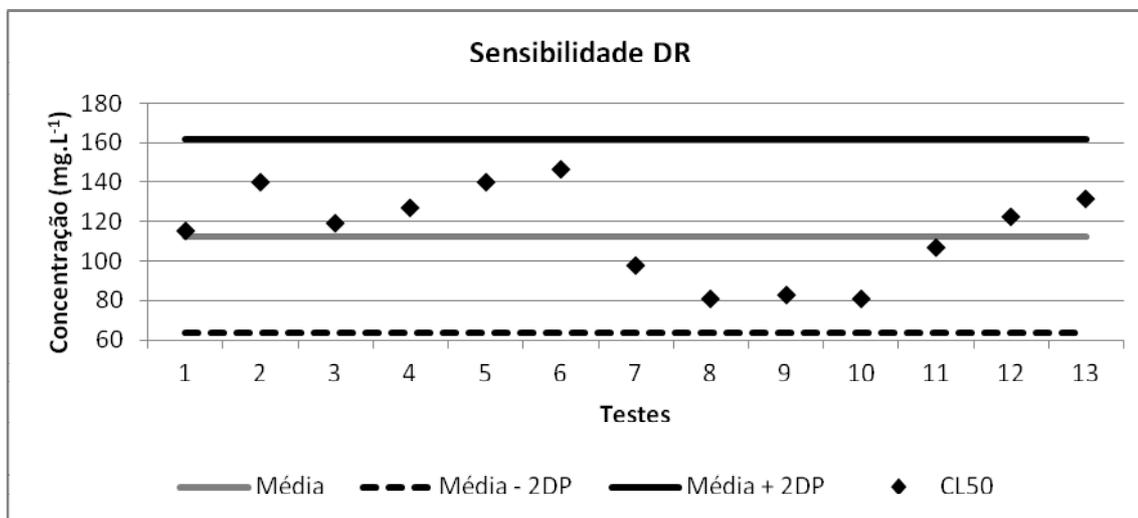
- SANTOS, M.A.P.F. **Influência de substâncias húmicas nas características bionômicas, toxicidade e bioacumulação de cobre por *Ceriodaphnia silvestrii* Daday (Crustacea, Cladocera)**. 2004. 126 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.
- SANTOS, M.F. dos. **Subsídios para o planejamento conservacionista a bacia hidrográfica do Ribeirão do Feijão (São Carlos, Itirapina e Analândia, SP)**. 1993. 222 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.
- SCHLEKAT, C.E.; DECHO, A.W.; CHANDLER, G.T. Bioavailability of particle-associated silver, cadmium, and zinc to the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus* through dietary ingestion. **Limnology and Oceanography**, v. 45(1), p. 11-21. 2000.
- SCHWERTMANN, U. Die fraktionierte extraction der freien eisenoxyde in boden, ihre mineralogischen formen und ihre entstehungsweisen. **Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde**, v. 84, p. 194–204. 1959.
- SÉ, J.A.S. **O rio Monjolinho e sua bacia hidrográfica como integradores de sistemas ecológicos**. 1992. 392 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1992.
- SILVA, A.C.; BATTISTELLE, R.A.G.; CABRAL, N.R.A.J. Clima. In: ESPÍNDOLA, E.L.G.; SILVA, J.S.V.; MARINELLI, C.E.; ABDON, M.M. (Eds) **A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho**. São Carlos, RiMa, 2000. Cap.6, p. 60-76.
- SILVA, M.R.C. **Estudo de sedimentos da bacia hidrográfica do Mogi-guaçu, com ênfase na determinação de metais**. 2002. 113 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.
- SILVA, M.R.; GONÇALVES Jr, A.C.; PINHEIRO, A.; BENVENUTTI, J.; SUSIN, J. Distribuição de nutrientes em sedimentos fluviais do rio Itajaí-Açú, Blumenau, SC, Brasil. **Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 5 (1), p. 102-113. 2010.
- SILVEIRA, M.L.; ALLEONI, L.R.F.; O'CONNOR, G.A.; CHANG, A.C. Heavy metal sequential extraction methods – A modification for tropical soils. **Chemosphere**, v. 64, p. 1929-1938. 2006.
- SILVÉRIO, P.F. **Bases técnico-científicas para a derivação de valores-guias de qualidade de sedimento para metais: experimentos de campo e laboratório**. 2003. 145 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
- SILVÉRIO, P.F., FONSECA, A.L., BOTTA-PASCHOAL, C.M.R., MOZETO, A.A. Release, bioavailability and toxicity of metals in lacustrine sediments: A case study of reservoirs and lakes in Southeast Brazil. **Aquatic Ecosystem Health & Management**, v. 8(3), p. 313-322. 2005.
- SOARES, H.M.V.M.; BOAVENTURA, R.A.R.; MACHADO, A.A.S.C.; ESTEVES DA SILVA, J.C.G. Sediments as monitors of heavy metal contamination in the Ave

- River Basin (Portugal): Multivariate analysis of data. **Environmental Pollution**, v.105, p. 311-323. 1999.
- SOFYAN, A.; PRICE, D.J.; BIRGE, W.J. Effects of aqueous, dietary and combined exposures of cadmium to *Ceriodaphnia dubia*. **Science of the Total Environment**, v. 385, p. 108-116. 2007.
- SORENSEN, E.M.B. **Metal poisoning in fish**. Boca Raton, CRC Press, 1991. 322p.
- SUEDEL, B.C.; RODGERS, J.H. Development of formulated reference sediments for freshwater and estuarine sediment testing. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 13, p. 1163-1175. 1994.
- SUEDEL, B.C.; RODGERS, J.H.; DEEVER, E. Experimental factors that may effect toxicity of cadmium to freshwater organisms. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 33, p. 188-193. 1997.
- STUMM, W.; MORGAN, J.J. **Aquatic chemistry**: chemical equilibria and rates in natural waters. 3<sup>rd</sup> Ed. New York: John Wiley & Sons, 1996. 780p.
- TAKENAKA, R.A. **Avaliação da toxicidade de *Microcystis aeruginosa* e de florações naturais de cianobactérias de reservatórios do rio Tietê, SP**. 2007. 330 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.
- TAVARES, T.M.; CAVALHO, F.M. Avaliação de exposição de populações humanas a metais pesados no ambiente: exemplos do Recôncavo Baiano. **Química Nova**, v. 15 (2), p. 147-154. 1992.
- TEIXEIRA, D. **Caracterização limnológica dos sistemas lóticos e variação temporal e espacial de invertebrados bentônicos na bacia do Ribeirão Feijão (São Carlos – SP)**. 1993. 193 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.
- TEIXEIRA, F.B.; TUNDISI, J.G.; KUTNER, M.B. Plankton studies in mangrove environmental. II. The standing stock and some ecological factors. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, v.24, p.23-41. 1965.
- TESSIER, A.; CAMPBELL, P.G.C.; BISSON, M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. **Analytical Chemistry**, v. 51, p. 844-851. 1979.
- TESSIER, A.; COUILLARD, Y.; CAMPBELL, P.G.C.; AUCLAIR, J.C. Modeling Cd partitioning in oxic lake sediments and Cd concentrations in the freshwater bivalve *Anodonta grandis*. **Limnology and Oceanography**, v. 38 (1), p. 1-17. 1993.
- TIMMERMANS, K.R.; PEETERS, W.; TONKES, M. Cadmium, zinc, lead and copper in *Chironomus riparius* (Meigen) larvae (Diptera, Chironomidae): uptake and effects. **Hydrobiologia**, v. 241, p. 119-134. 1992.
- TONISSI, F.B. **Avaliação ecotoxicológica do reservatório de Salto Grande, Americana (SP), como subsídio para a análise da qualidade ambiental do sistema**. 1999. 130 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.
- TONKES, M.; DEN BESTEN, P.J.; LEVERETT, D. Bioassays and tiered approaches for monitoring surface water quality and effluents. In: DEN BESTEN, P.J.;

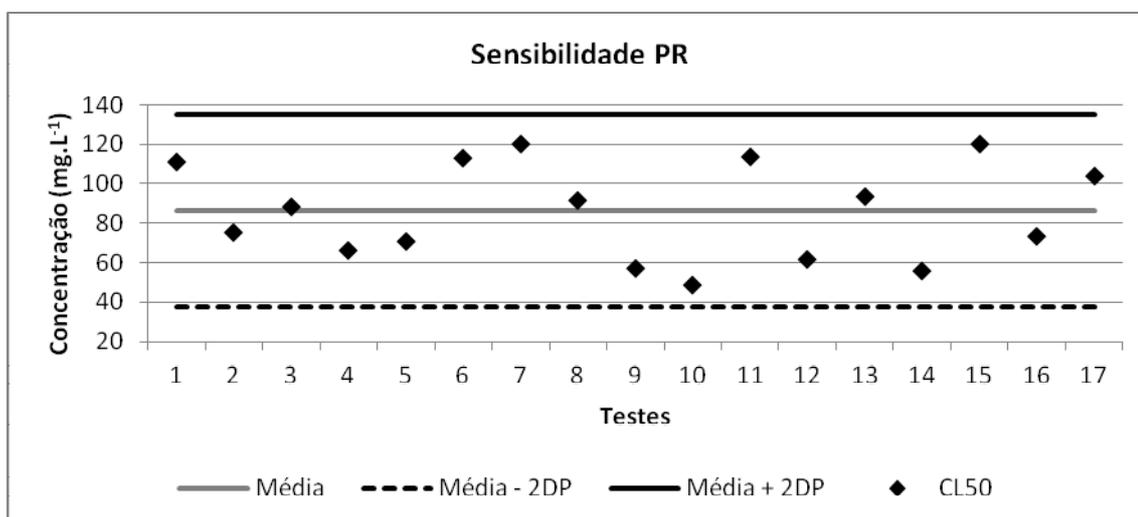
- MUNAWAR, I.F. (Eds) **Ecotoxicological Testing of Marine and Freshwater Ecosystems**. Boca Raton: Taylor and Francis, 2005. p.43-137.
- TOREM, M.L.; CUNHA, F.O.; CASQUEIRA, R.G. Remoção de metais tóxicos e pesados por eletroflotação. **Saneamento Ambiental**, v. 85, p. 46-61. 2002.
- TRINDADE, M. **Nutrientes em sedimentos da represa do Lobo (Brotas - Itirapina)**. 1980. 219 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1980.
- TUCKER, K.A.; BURTON, G.A.Jr. Assessment of nonpoint-source runoff in a stream using in situ and laboratory approaches. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18 (12), p. 2797-2803. 1999.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Quality criteria for water**. Washington, National Technical Information Service, 1995. 98 p.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA) Method 3050. **Acid digestion of sediments, sludges, and soils**. Disponível em: <[www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3050b.pdf](http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3050b.pdf)>. December, 1996.
- VAN DEN BELT, K.; VAN PUymbROECK, S.; WITTERS, H. Toxicity of Cadmium-Contaminated Clay to the Zebrafish *Danio rerio*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 38, p. 191-196. 2000.
- VERMEULEN, A.C. Elaborating chironomid deformities as bioindicators of toxic sediment stress: the potential application of mixture toxicity concepts. **Annales Zoologici Fennici**, v. 32, p. 265-285. 1995.
- VERRHIEST, G.J.; CLÉMENT, B.; BLAKE, G. Single and combined effects of sediment-associated PAHs on three species of freshwater macroinvertebrates. **Ecotoxicology**, v. 10, p. 363-372. 2001.
- VERRHIEST, G.J.; CORTES, S.; CLÉMENT, B.; MONTUELLE, B. Chemical and bacterial changes during laboratory conditioning of formulated and natural sediments. **Chemosphere**, v. 46, p. 961-974. 2002.
- VIVES, L., CAMPOS, H., CANDELA, L., GUARRACINO, L. Modelación del acuífero Guarani. **Boletín Geológico y Mineiro**, v. 112, p. 51-64. 2001.
- WALKER, D.B.; BAUMGARTNER, D.J.; GERBA, C.P.; FITZSIMMONS, K. Surface water pollution. In: PEPPER, I.L.; GERBA, C.P.; BRUSSEAU, M.L. (Eds) **Environmental & Pollution Science**. Amsterdam: Elsevier, 2006. Cap. 18, p. 279-311.
- WARD, J.V. The four dimensional nature of lotic ecosystems. **Journal of the North American Benthological Society**, v.8 (1), p. 2-8. 1989.
- WATTS, M.M.; PASCOE, D. Comparison of *Chironomus riparius* Meigen and *Chironomus tentans* Fabricius (Diptera: Chironomidae) for assessing the toxicity of sediments. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19 (7), p. 1885-1892. 2000.
- WELTENS, R.; GOOSSENS, R.; VAN PUymbROECK, S. Ecotoxicity of Contaminated Suspended Solids for Filter Feeders (*Daphnia magna*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, p. 315-323. 2000.

- WICKLUND GLYNN, A. The concentration dependency of branchial intracellular cadmium distribution and influx in the zebrafish (*Brachydanio rerio*). **Aquatic Toxicology**, v. 35, p. 47-58. 1996.
- WICKLUND GLYNN, A.; NORRGREN, L.; MÜSSENER, A. Differences in uptake of inorganic mercury and cadmium in the gills of the zebrafish, *Brachydanio rerio*. **Aquatic Toxicology**, v. 30, p. 13-26. 1994.
- WIDENFALK, A.; LUNDQVIST, A.; GOEDKOOP, W. Sediment microbes and biofilms increase the bioavailability of chlorpyrifos in *Chironomus riparius* (Chironomidae, Diptera). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, p. 490-497. 2008.
- WISLER, C.O.; BRATER, E.F. **Hidrologia**. Tradução Leonino Junior. Rio de Janeiro: Sedegra, 1964. 484p.
- WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO). **Environmental Health Criteria 134 - Cadmium** International Programme on Chemical Safety (IPCS) Monograph. Geneva, United Nations Environment Programme, 1992. 134 p.
- ZAGATTO, P.A. Ecotoxicologia. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. (Eds.), **Ecotoxicologia aquática**: Princípios e aplicações. São Carlos: RiMa Editora, 2006. Cap. 1, p. 1-13.

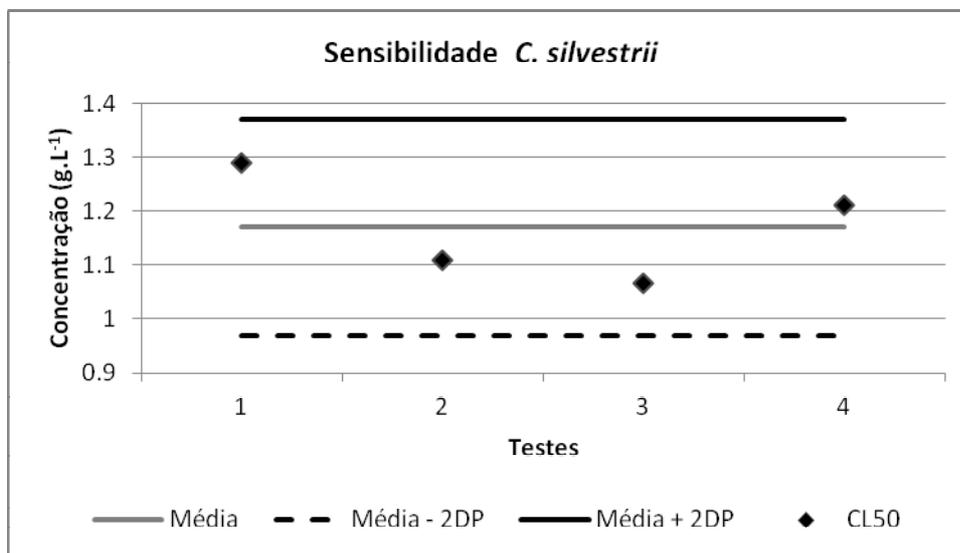
**APÊNDICE A****Cartas-Controlle dos organismos utilizados nos testes de toxicidade.**



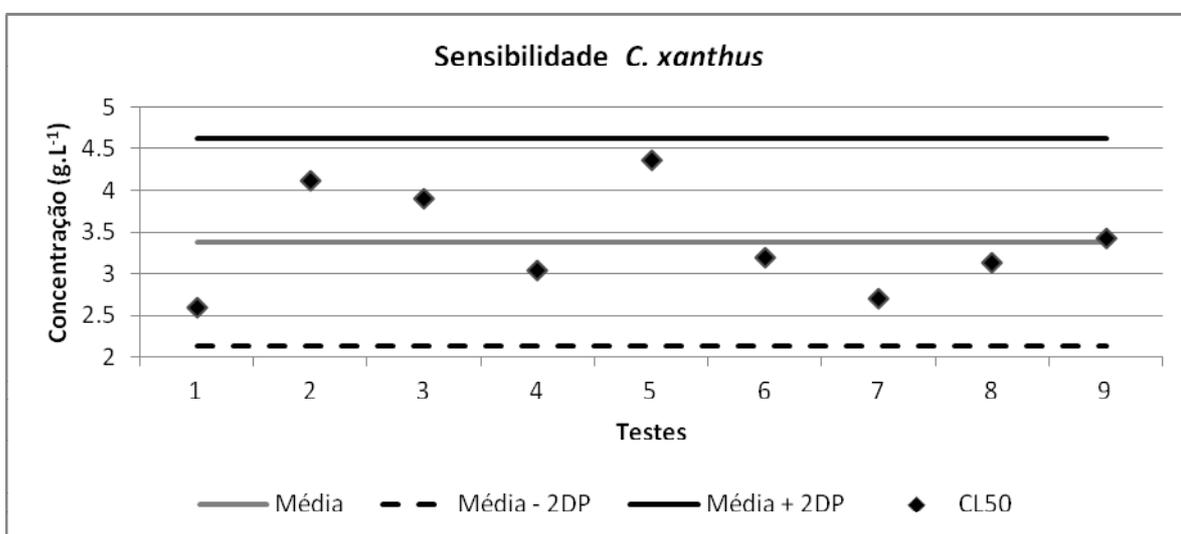
**Figura 1:** Carta controle da sensibilidade dos juvenis de *D. rerio* ao dicromato de potássio.



**Figura 2:** Carta controle da sensibilidade dos juvenis de *P. reticulata* ao dicromato de potássio.



**Figura 3:** Carta controle da sensibilidade de *C. silvestrii* ao cloreto de sódio.



**Figura 4:** Carta controle da sensibilidade de *C. xanthus* ao cloreto de potássio.

## **APÊNDICE B**

### **Avaliação ecotoxicológica da água da Bacia do Alto Jacaré-Guaçu**

**Tabela 1:** Valores médios do comprimento padrão e peso total ( $\pm$  Desvio Padrão) dos lotes de juvenis de *D. rerio*, juntamente com os coeficientes de correlação de Spearman (rs) e os valores de p.

<i>Danio rerio</i>				
Variáveis	Abril/07	Julho/07	Outubro/07	Janeiro/08
Comprimento padrão (cm)	1,48 ( $\pm 0,15$ )	1,61 ( $\pm 0,21$ )	1,56 ( $\pm 0,16$ )	1,01 ( $\pm 0,14$ )
Peso (g)	0,035 ( $\pm 0,013$ )	0,063 ( $\pm 0,026$ )	0,057 ( $\pm 0,020$ )	0,013 ( $\pm 0,010$ )
rs	0,7120	0,9641	0,9250	0,9179
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,1796

**Tabela 2:** Valores médios do comprimento padrão e peso total ( $\pm$  Desvio Padrão) dos lotes de juvenis de *P. reticulata*, juntamente com os coeficientes de correlação de Spearman (rs) e os valores de p.

<i>Poecilia reticulata</i>				
Variáveis	Abril/07	Julho/07	Outubro/07	Janeiro/08
Comprimento padrão (cm)	1,46 ( $\pm 0,18$ )	1,62 ( $\pm 0,14$ )	0,90 ( $\pm 0,24$ )	1,63 ( $\pm 0,27$ )
Peso (g)	0,061 ( $\pm 0,025$ )	0,086 ( $\pm 0,025$ )	0,017 ( $\pm 0,016$ )	0,095 ( $\pm 0,048$ )
rs	0,9675	0,7961	0,9679	0,9741
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

**Tabela 3:** Porcentagem (S) e análise estatística de Fisher (p,  $\alpha=0,05$ ) da sobrevivência de *D. rerio* submetidos aos testes de toxicidade crônica parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle (C).

Ponto	Abril/07		Julho/07		Outubro/07		Janeiro/08	
	S (%)	p	S (%)	P	S (%)	p	S (%)	p
C	93,33		100		96,67		100	
J1	63,33	<b>0,0051</b>	100	1,0000	100	0,5000	90	0,1186
J2	56,67	<b>0,0011</b>	100	1,0000	100	0,5000	96,67	0,5000
J3	50	<b>0,0002</b>	100	1,0000	100	0,5000	100	1,0000
J4	70	<b>0,0210</b>	100	1,0000	100	0,5000	66,67	<b>0,0004</b>
J5	53,33	<b>0,0005</b>	100	1,0000	93,33	0,5000	73,33	<b>0,0023</b>
F1	76,67	0,0727	100	1,0000	100	0,5000	56,67	<b>0,0000</b>
F2	76,67	0,0727	100	1,0000	100	0,5000	96,67	0,5000
F3	80	0,1271	100	1,0000	93,33	0,5000	33,33	<b>0,0000</b>
F4	90	0,5000	100	1,0000	100	0,5000	36,67	<b>0,0000</b>
M1	73,33	<b>0,0399</b>	100	1,0000	100	0,5000	60	<b>0,0001</b>
M2	96,67	0,5000	100	1,0000	100	0,5000	86,67	0,0562
M3	80	0,1271	100	1,0000	100	0,5000	100	1,0000
L	73,33	<b>0,0399</b>	100	1,0000	100	0,5000	46,67	<b>0,0000</b>
I	73,33	<b>0,0399</b>	100	1,0000	100	0,5000	63,33	<b>0,0002</b>

**Tabela 4:** Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de p ( $\alpha=0,05$ ) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de *D. rerio* expostos em testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em Abril de 2007 e Julho de 2007. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle.

Ponto	Abril/07				Julho/07			
	CP (cm)	p	P (g)	p	CP (cm)	p	P (g)	p
Controle	1,34 ( $\pm 0,13$ )	-	0,028 ( $\pm 0,012$ )	-	1,72 ( $\pm 0,17$ )	-	0,082 ( $\pm 0,025$ )	-
J1	1,36 ( $\pm 0,15$ )	0,4226	0,034 ( $\pm 0,014$ )	<b>0,0490</b>	1,65 ( $\pm 0,20$ )	0,1358	0,075 ( $\pm 0,029$ )	0,1262
J2	1,39 ( $\pm 0,14$ )	0,1427	0,030 ( $\pm 0,011$ )	0,1427	1,66 ( $\pm 0,27$ )	0,2092	0,076 ( $\pm 0,035$ )	0,2517
J3	1,47 ( $\pm 0,25$ )	0,0714	0,017 ( $\pm 0,043$ )	<b>0,0099</b>	1,70 ( $\pm 0,22$ )	0,3808	0,081 ( $\pm 0,037$ )	0,2567
J4	1,21 ( $\pm 0,10$ )	<b>0,0428</b>	0,014 ( $\pm 0,015$ )	<b>0,0023</b>	1,66 ( $\pm 0,24$ )	0,1988	0,074 ( $\pm 0,030$ )	0,1201
J5	1,17 ( $\pm 0,21$ )	<b>0,0195</b>	0,016 ( $\pm 0,035$ )	<b>0,0041</b>	1,65 ( $\pm 0,21$ )	0,0727	0,073 ( $\pm 0,027$ )	0,0857
F1	1,37 ( $\pm 0,10$ )	0,1729	0,032 ( $\pm 0,011$ )	0,0760	1,72 ( $\pm 0,18$ )	0,3128	0,083 ( $\pm 0,031$ )	0,4471
F2	1,22 ( $\pm 0,13$ )	<b>0,0295</b>	0,017 ( $\pm 0,014$ )	<b>0,0084</b>	1,69 ( $\pm 0,18$ )	0,2128	0,076 ( $\pm 0,028$ )	0,1897
F3	1,15 ( $\pm 0,16$ )	<b>0,0093</b>	0,014 ( $\pm 0,016$ )	<b>0,0011</b>	1,73 ( $\pm 0,17$ )	0,4588	0,086 ( $\pm 0,031$ )	0,4442
F4	1,18 ( $\pm 0,14$ )	<b>0,0327</b>	0,019 ( $\pm 0,014$ )	<b>0,0060</b>	1,63 ( $\pm 0,19$ )	<b>0,0276</b>	0,070 ( $\pm 0,028$ )	<b>0,0280</b>
M1	1,14 ( $\pm 0,13$ )	<b>0,0097</b>	0,017 ( $\pm 0,013$ )	<b>0,0076</b>	1,63 ( $\pm 0,14$ )	<b>0,0045</b>	0,064 ( $\pm 0,019$ )	<b>0,0023</b>
M2	1,15 ( $\pm 0,16$ )	<b>0,0074</b>	0,016 ( $\pm 0,020$ )	<b>0,0004</b>	1,65 ( $\pm 0,15$ )	<b>0,0297</b>	0,069 ( $\pm 0,021$ )	<b>0,0255</b>
M3	1,38 ( $\pm 0,15$ )	0,1840	0,017 ( $\pm 0,015$ )	<b>0,0071</b>	1,59 ( $\pm 0,17$ )	<b>0,0038</b>	0,066 ( $\pm 0,024$ )	<b>0,0073</b>
L	1,31 ( $\pm 0,16$ )	0,2963	0,020 ( $\pm 0,017$ )	<b>0,0379</b>	1,59 ( $\pm 0,18$ )	<b>0,0037</b>	0,064 ( $\pm 0,025$ )	<b>0,0042</b>
I	1,34 ( $\pm 0,11$ )	0,4384	0,034 ( $\pm 0,013$ )	0,0517	1,60 ( $\pm 0,18$ )	<b>0,0026</b>	0,067 ( $\pm 0,028$ )	<b>0,0061</b>

**Tabela 5:** Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de p ( $\alpha=0,05$ ) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de *D. rerio* expostos em testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em Outubro de 2007 e Janeiro de 2008. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle.

Ponto	Outubro/07				Janeiro/08			
	CP (cm)	p	P (g)	p	CP (cm)	p	P (g)	p
Controle	1,54 ( $\pm 0,16$ )	-	0,061 ( $\pm 0,020$ )	-	1,02 ( $\pm 0,15$ )	-	0,016 ( $\pm 0,010$ )	-
J1	1,52 ( $\pm 0,14$ )	0,3287	0,057 ( $\pm 0,020$ )	0,2311	1,05 ( $\pm 0,16$ )	0,2666	0,035 ( $\pm 0,073$ )	0,0950
J2	1,53 ( $\pm 0,19$ )	0,4933	0,058 ( $\pm 0,023$ )	0,2886	1,01 ( $\pm 0,15$ )	0,2543	0,022 ( $\pm 0,030$ )	0,3356
J3	1,55 ( $\pm 0,24$ )	0,4259	0,062 ( $\pm 0,032$ )	0,3338	0,98 ( $\pm 0,12$ )	0,0850	0,012 ( $\pm 0,006$ )	<b>0,0439</b>
J4	1,50 ( $\pm 0,18$ )	0,1910	0,053 ( $\pm 0,021$ )	<b>0,0488</b>	0,97 ( $\pm 0,09$ )	0,0965	0,011 ( $\pm 0,004$ )	<b>0,0443</b>
J5	1,55 ( $\pm 0,16$ )	0,2748	0,058 ( $\pm 0,020$ )	0,3686	1,05 ( $\pm 0,11$ )	0,1173	0,016 ( $\pm 0,008$ )	0,3800
F1	1,57 ( $\pm 0,13$ )	0,2034	0,059 ( $\pm 0,018$ )	0,2880	1,03 ( $\pm 0,12$ )	0,4728	0,014 ( $\pm 0,007$ )	0,2291
F2	1,44 ( $\pm 0,16$ )	<b>0,0490</b>	0,048 ( $\pm 0,017$ )	<b>0,0126</b>	0,96 ( $\pm 0,12$ )	<b>0,0362</b>	0,014 ( $\pm 0,007$ )	0,2900
F3	1,52 ( $\pm 0,17$ )	0,4110	0,054 ( $\pm 0,024$ )	0,0845	0,98 ( $\pm 0,10$ )	0,2107	0,017 ( $\pm 0,009$ )	0,2084
F4	1,49 ( $\pm 0,18$ )	0,2190	0,057 ( $\pm 0,024$ )	0,2156	0,97 ( $\pm 0,18$ )	<b>0,0032</b>	0,011 ( $\pm 0,018$ )	<b>0,0037</b>
M1	1,45 ( $\pm 0,15$ )	<b>0,0294</b>	0,049 ( $\pm 0,016$ )	<b>0,0085</b>	1,10 ( $\pm 0,17$ )	0,0623	0,020 ( $\pm 0,011$ )	0,0884
M2	1,51 ( $\pm 0,16$ )	0,3712	0,056 ( $\pm 0,019$ )	0,2007	1,05 ( $\pm 0,13$ )	0,2481	0,017 ( $\pm 0,008$ )	0,1941
M3	1,59 ( $\pm 0,18$ )	0,1173	0,064 ( $\pm 0,024$ )	0,3143	1,04 ( $\pm 0,16$ )	0,3947	0,017 ( $\pm 0,010$ )	0,2406
L	1,59 ( $\pm 0,18$ )	0,1836	0,066 ( $\pm 0,024$ )	0,3085	1,04 ( $\pm 0,08$ )	0,3297	0,017 ( $\pm 0,005$ )	0,0929
I	1,55 ( $\pm 0,12$ )	0,3053	0,057 ( $\pm 0,014$ )	0,3506	1,00 ( $\pm 0,14$ )	0,4372	0,016 ( $\pm 0,009$ )	0,3040

**Tabela 6:** Porcentagem (S) e análise estatística de Fisher (p,  $\alpha=0,05$ ) da sobrevivência de *P. reticulata* submetidos aos testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu durante o período de estudo. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle (C).

Ponto	Abril/07		Julho/07		Outubro/07		Janeiro/08	
	S (%)	p	S (%)	p	S (%)	p	S (%)	p
C	80		86,67		80		100	
J1	75	0,5083	41,67	<b>0,0056</b>	86,67	0,3653	93,33	0,2458
J2	83,33	0,5886	25	<b>0,0002</b>	96,67	0,0514	90	0,1186
J3	41,67	<b>0,0214</b>	58,33	0,0579	70	0,2760	86,67	0,0562
J4	75	0,5083	41,67	<b>0,0056</b>	80	0,6260	90	0,1186
J5	50	0,0611	58,33	0,0579	96,67	0,0514	93,33	0,2458
F1	83,33	0,5886	16,67	<b>0,0000</b>	90	0,2358	93,33	0,2458
F2	75	0,5083	66,67	0,1458	80	0,6260	96,67	0,5000
F3	75	0,5083	8,33	<b>0,0000</b>	73,33	0,3805	66,67	<b>0,0004</b>
F4	66,67	0,2960	8,33	<b>0,0000</b>	63,33	0,1258	80	<b>0,0210</b>
M1	66,67	0,2960	16,67	<b>0,0000</b>	76,67	0,5000	100	1,0000
M2	41,67	<b>0,0214</b>	100	0,2448	86,67	0,3653	100	1,0000
M3	91,67	0,3396	58,33	0,0579	90	0,2358	75	<b>0,0073</b>
L	50	0,0611	8,33	<b>0,0000</b>	60	0,0790	65	<b>0,0008</b>
I	33,33	<b>0,0062</b>	58,33	0,0579	50	<b>0,0146</b>	95	0,4000

**Tabela 7:** Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de p ( $\alpha=0,05$ ) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de *P. reticulata* expostos em testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em Abril de 2007 e Julho de 2007. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle.

Ponto	Abril/07				Julho/07			
	CP (cm)	p	P (g)	p	CP (cm)	p	P (g)	p
Controle	1,27 ( $\pm 0,14$ )	-	0,047 ( $\pm 0,015$ )	-	1,65 ( $\pm 0,20$ )	-	0,099 ( $\pm 0,038$ )	-
J1	1,01 ( $\pm 0,19$ )	<b>&lt;0,0001</b>	0,024 ( $\pm 0,023$ )	<b>&lt;0,0001</b>	*	*	*	*
J2	1,38 ( $\pm 0,25$ )	0,0734	0,070 ( $\pm 0,045$ )	0,1687	*	*	*	*
J3	1,27 ( $\pm 0,11$ )	0,3882	0,051 ( $\pm 0,012$ )	0,3425	1,68 ( $\pm 0,27$ )	0,4481	0,094 ( $\pm 0,045$ )	0,2167
J4	1,05 ( $\pm 0,25$ )	<b>0,0166</b>	0,025 ( $\pm 0,039$ )	<b>0,0018</b>	1,65 ( $\pm 0,12$ )	0,4224	0,093 ( $\pm 0,021$ )	0,4481
J5	1,37 ( $\pm 0,21$ )	0,1180	0,027 ( $\pm 0,033$ )	<b>0,0497</b>	1,45 ( $\pm 0,28$ )	<b>0,0486</b>	0,139 ( $\pm 0,061$ )	0,0539
F1	1,08 ( $\pm 0,26$ )	<b>0,0134</b>	0,032 ( $\pm 0,011$ )	<b>0,0143</b>	*	*	*	*
F2	1,37 ( $\pm 0,13$ )	0,0593	0,053 ( $\pm 0,011$ )	0,1701	1,69 ( $\pm 0,26$ )	0,1819	0,102 ( $\pm 0,045$ )	0,3399
F3	1,33 ( $\pm 0,16$ )	0,1880	0,049 ( $\pm 0,020$ )	0,4706	*	*	*	*
F4	1,15 ( $\pm 0,18$ )	<b>0,0010</b>	0,022 ( $\pm 0,038$ )	<b>0,0050</b>	*	*	*	*
M1	1,31 ( $\pm 0,14$ )	0,2277	0,054 ( $\pm 0,019$ )	0,2497	*	*	*	*
M2	1,39 (0,16)	0,0721	0,068 ( $\pm 0,044$ )	0,2087	1,56 ( $\pm 0,25$ )	0,2591	0,082 ( $\pm 0,039$ )	0,1477
M3	1,06 ( $\pm 0,26$ )	<b>0,0291</b>	0,033 ( $\pm 0,045$ )	<b>0,0260</b>	1,67 ( $\pm 0,13$ )	0,4401	0,106 ( $\pm 0,021$ )	0,1345
L	1,14 ( $\pm 0,28$ )	<b>0,0153</b>	0,020 ( $\pm 0,021$ )	<b>0,0325</b>	*	*	*	*
I	1,32 ( $\pm 0,17$ )	0,3132	0,054 ( $\pm 0,023$ )	0,3132	1,49 ( $\pm 0,31$ )	0,0870	0,078 ( $\pm 0,048$ )	0,1678

\* Análise não realizada em função da elevada mortalidade.

**Tabela 8:** Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de p ( $\alpha=0,05$ ) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de *P. reticulata* expostos em testes de toxicidade crônica-parcial com amostras de água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em Outubro de 2007 e Janeiro de 2008. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle.

Ponto	Outubro/07				Janeiro/08			
	CP (cm)	p	P (g)	p	CP (cm)	p	P (g)	p
Controle	0,85 ( $\pm 0,15$ )	-	0,011 ( $\pm 0,008$ )	-	1,45 ( $\pm 0,25$ )	-	0,081 ( $\pm 0,064$ )	-
J1	0,88 ( $\pm 0,18$ )	0,3419	0,015 ( $\pm 0,013$ )	0,1194	1,49 ( $\pm 0,32$ )	0,3065	0,067 ( $\pm 0,045$ )	0,1732
J2	0,90 ( $\pm 0,23$ )	0,3079	0,016 ( $\pm 0,014$ )	0,1166	1,56 ( $\pm 0,30$ )	0,0813	0,087 ( $\pm 0,049$ )	0,2324
J3	0,89 ( $\pm 0,23$ )	0,4934	0,015 ( $\pm 0,017$ )	0,4941	1,42 ( $\pm 0,22$ )	0,4219	0,083 ( $\pm 0,031$ )	0,1853
J4	0,97 ( $\pm 0,20$ )	0,0594	0,020 ( $\pm 0,013$ )	<b>0,0121</b>	1,54 ( $\pm 0,28$ )	0,1337	0,085 ( $\pm 0,048$ )	0,2882
J5	0,99 ( $\pm 0,29$ )	0,1056	0,026 ( $\pm 0,024$ )	<b>0,0369</b>	1,55 ( $\pm 0,30$ )	0,0822	0,115 ( $\pm 0,052$ )	0,2274
F1	0,94 ( $\pm 0,28$ )	0,1884	0,019 ( $\pm 0,018$ )	0,1556	1,50 ( $\pm 0,28$ )	0,2910	0,083 ( $\pm 0,045$ )	0,2152
F2	0,75 ( $\pm 0,29$ )	<b>0,0047</b>	0,006 ( $\pm 0,007$ )	<b>0,0011</b>	1,47 ( $\pm 0,30$ )	0,0666	0,065 ( $\pm 0,052$ )	<b>0,0495</b>
F3	0,92 ( $\pm 0,21$ )	0,1815	0,017 ( $\pm 0,014$ )	0,0649	1,42 ( $\pm 0,24$ )	0,3946	0,075 ( $\pm 0,009$ )	0,4527
F4	0,77 ( $\pm 0,31$ )	<b>0,0151</b>	0,017 ( $\pm 0,016$ )	0,2858	1,38 ( $\pm 0,18$ )	0,2170	0,083 ( $\pm 0,032$ )	0,1801
M1	0,94 ( $\pm 0,24$ )	0,1271	0,019 ( $\pm 0,021$ )	0,1240	1,40 ( $\pm 0,23$ )	0,2712	0,081 ( $\pm 0,032$ )	0,1909
M2	0,83 ( $\pm 0,20$ )	0,2125	0,013 ( $\pm 0,014$ )	0,4320	1,50 ( $\pm 0,23$ )	0,2170	0,081 ( $\pm 0,036$ )	0,1611
M3	0,96 ( $\pm 0,33$ )	0,2778	0,016 ( $\pm 0,015$ )	0,4042	1,49 ( $\pm 0,21$ )	0,3023	0,085 ( $\pm 0,041$ )	0,1801
L	0,86 ( $\pm 0,18$ )	0,0696	0,014 ( $\pm 0,024$ )	0,0836	1,40 ( $\pm 0,16$ )	0,2585	0,078 ( $\pm 0,025$ )	0,2759
I	1,06 ( $\pm 0,35$ )	0,1238	0,035 ( $\pm 0,028$ )	0,0765	1,47 ( $\pm 0,28$ )	0,4918	0,081 ( $\pm 0,048$ )	0,4028

**Tabela 9:** Porcentagem (S) e análise estatística de Fisher (p,  $\alpha=0,05$ ) da sobrevivência de *D. rerio* e *P. reticulata* submetidos aos testes de toxicidade aguda *in situ* em pontos de amostragem da bacia do Alto Jacaré-Guaçu em julho de 2007 e janeiro de 2008.

Ponto	Julho/07				Janeiro/08			
	<i>D. rerio</i>		<i>P. reticulata</i>		<i>D. rerio</i>		<i>P. reticulata</i>	
	S (%)	p	S (%)	p	S (%)	p	S (%)	p
Controle	100	-	86,67	-	100	-	100	-
J1	96,67	0,5000	50	<b>0,0024</b>	80	<b>0,0019</b>	60,71	<b>0,0001</b>
J3	90	0,1186	63,4	<b>0,0358</b>	66,67	<b>0,0004</b>	68,97	<b>0,0008</b>
J5	100	1,0000	66,67	0,0626	83,33	<b>0,0261</b>	53,57	<b>0,0000</b>

**Tabela 10:** Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de p ( $\alpha=0,05$ ) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de *D. rerio* expostos em testes de toxicidade aguda *in situ* na bacia do Alto Jacaré-Guaçu em julho de 2007 e janeiro de 2008. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle.

Ponto	Julho/07				Janeiro/08			
	CP (cm)		P (g)		CP (cm)		P (g)	
	Média ( $\pm$ DP)	p	Média ( $\pm$ DP)	p	Média ( $\pm$ DP)	p	Média ( $\pm$ DP)	P
Controle	1,72 ( $\pm$ 0,17)	-	0,082 ( $\pm$ 0,025)	-	1,02 ( $\pm$ 0,15)	-	0,016 ( $\pm$ 0,010)	-
J1	1,57 ( $\pm$ 0,17)	<b>0,0007</b>	0,061 ( $\pm$ 0,020)	<b>0,0006</b>	1,08 ( $\pm$ 0,18)	0,1105	0,020 ( $\pm$ 0,017)	0,0973
J3	1,61 ( $\pm$ 0,20)	<b>0,0261</b>	0,067 ( $\pm$ 0,026)	<b>0,0192</b>	1,02 ( $\pm$ 0,16)	0,4959	0,016 ( $\pm$ 0,009)	0,3832
J5	1,55 ( $\pm$ 0,17)	<b>0,0001</b>	0,056 ( $\pm$ 0,020)	<b>&lt;0,0001</b>	1,02 ( $\pm$ 0,16)	0,3611	0,016 ( $\pm$ 0,010)	0,3837

**Tabela 11:** Comprimento padrão médio (CP), peso médio (P) e valores de p ( $\alpha=0,05$ ) da análise estatística de Mann-Whitney dos organismos de *P. reticulata* expostos em testes de toxicidade aguda *in situ* na bacia do Alto Jacaré-Guaçu em julho de 2007 e janeiro de 2008. As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle.

Ponto	Julho/07				Janeiro/08			
	CP (cm)		P (g)		CP (cm)		P (g)	
	Média ( $\pm$ DP)	p	Média ( $\pm$ DP)	p	Média ( $\pm$ DP)	p	Média ( $\pm$ DP)	P
Controle	1,65 ( $\pm$ 0,20)	-	0,099 ( $\pm$ 0,038)	-	1,45 ( $\pm$ 0,25)	-	0,081 ( $\pm$ 0,064)	-
J1	1,28 ( $\pm$ 0,22)	<b>0,0006</b>	0,042 ( $\pm$ 0,027)	<b>0,0002</b>	1,36 ( $\pm$ 0,19)	0,0815	0,048 ( $\pm$ 0,017)	<b>0,0182</b>
J3	1,68 ( $\pm$ 0,36)	0,2092	0,114 ( $\pm$ 0,059)	0,1726	1,37 ( $\pm$ 0,14)	0,0859	0,054 ( $\pm$ 0,019)	0,0674
J5	1,79 ( $\pm$ 0,28)	0,0947	0,124 ( $\pm$ 0,063)	0,2524	1,36 ( $\pm$ 0,13)	0,0888	0,052 (0,016)	0,0602

## **APÊNDICE C**

### **Avaliação dos sedimentos sintéticos fortificados com cádmio**

**Tabela 1:** Valores médios do peso total e comprimento padrão dos lotes de juvenis de *D. rerio*, juntamente com os coeficientes de correlação de Spearman (rs) e os valores de p.

<i>Danio rerio</i>					
Variáveis	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5
P (g)	0,0022 ± 0,0067	0,0332 ± 0,0104	0,0110 ± 0,0053	0,0494 ± 0,0079	0,0631 ± 0,0263
CP (cm)	1,37 ± 0,08	1,26 ± 0,13	0,96 ± 0,13	1,47 ± 0,07	1,61 ± 0,21
rs	0,6649	0,9092	0,8498	0,7702	0,9641
p	0,0049	<0,0001	<0,0001	0,0008	<0,0001

**Tabela 2:** Comprimento padrão (CP) e peso (P) médios dos juvenis de *D. rerio* ao final dos testes de toxicidade crônica-parcial com sedimentos sintéticos fortificados com Cd (TC1 e TC2) e Valores de p (p) da análise estatística de Mann-Whitney ( $\alpha=0,05$ ). As células destacadas indicam diferença significativa em relação ao Controle.

Amostra	TC1				TC2			
	CP (cm)	P	P (g)	p	CP (cm)	p	P (g)	p
Controle	1,05 (±0,15)	-	0,0194 (±0,0121)	-	1,44 (±0,08)	-	0,0466 (±0,0098)	-
Sed 0%	1,03 (±0,09)	0,4877	0,0156 (± 0,0068)	0,3675	1,38 (±0,10)	0,0680	0,0415 (±0,0124)	0,1700
Sed 0,25%	1,01 (±0,11)	0,2655	0,0143 (±0,0056)	0,2444	1,36 (±0,09)	<b>0,0099*</b>	0,0368 (±0,0064)	<b>0,0054*</b>
Sed 0,5%	1,01 (±0,18)	0,2685	0,0145 (±0,0079)	0,1840	1,38 (±0,09)	0,0509	0,0433 (±0,0135)	0,1397
Sed 1%	*	*	*	*	1,41 (±0,05)	0,1460	0,0423 (±0,0097)	0,1590

\* Análise não realizada em função da baixa sobrevivência.

**ANEXO 1**

**Certificado de análise da areia quartzosa industrial AG-0410, utilizada na  
formulação dos sedimentos sintéticos.**

Mineração Jundu Ltda.

Página 1

PQE3030  
Controle Qualidade

## Especificação de Expedição - Padrão

12/03/2010 13:16

Número 820 Revisão: 1

Produto : AG - 0410 CONT. Areia Quartzosa Industrial AG - 0410 Cont.

Unidade Produtora : 22 Analândia

Elemento	Mínimo	Máximo	Típico	Unidade	Controle
# 18	0.0	20.0	18.1	%	Especificado
# 20	18.0	30.0	24.1	%	Orientativo
# 30	20.0	35.0	27.7	%	Orientativo
# 40	20.0	30.0	25.0	%	Orientativo
# 50	0.0	10.0	3.6	%	Orientativo
# 70	0.0	2.0	1.4	%	Especificado
Fundo	0.0	0.0	0.0	%	Especificado
Umidade	0.000	0.200	0.100	%	Especificado
Temperatura	0.0	40.0	25.0	°C	Especificado
Perda ao Fogo	0.000	0.250	0.080	%	Especificado
Teor de SiO <sub>2</sub>	99.000		99.540	%	Especificado
Concentração	78.0	100.0	80.4	%	Especificado

## Outras Especificações

FRACÃO GROSSA: ACUMULADO RETIDO NA # 18

CONCENTRAÇÃO: SOMATÓRIA DAS #20.30.40 E 50

FRACÃO FINA: PASSANTE DA # 50

CÓPIA NÃO CONTROLADA

**ANEXO 2**

**Certificado de análise da argila caulinita, utilizada na formulação dos sedimentos sintéticos.**

<b>DEPARTAMENTO DE CONTROLE DE QUALIDADE</b>  <b>BOLETIM TÉCNICO</b>		FAB.: 19/11/2007
		VAL.: 19/11/2012
		Origem Brasilminas
PRODUTO CAULIM U.S.P. 30 (ESTERILIZADO)		LOTE 112107
FORMULA -----	PESO MOLECULAR -----	CHAVE AUTENTICIDADE DESTO-VYRAA-ZIVOU-DSUBN

*Informações Adicionais :*

\* I.O.V.: *excluído por fabricação, manuseio e estocagem.*

TESTES	LIMITES	RESULTADOS
01 CARACTERÍSTICAS	Pó muito fino, lev. amarelado, inodoro	de acordo
02 IDENTIFICAÇÃO	Positiva	Positiva
03 CARBONATOS	Passa o teste	P.T.
04 CHUMBO	máx. 0,001%	< 0,001%
05 FERRO	Passa o teste	P.T.
06 IMPUREZAS ORGANICAS VOLATEIS	*	.
07 PERDA POR IGNICÃO	máx. 15,0%	13,13%
08 SOLUVEL EM ÁCIDO	máx. 2,0%	1,01%
09 LIMITE MICROBIANO:	.	.
10 Escherichia Coli	Ausente	ausente

DATA EMISSAO	ANALISTA	RESPONSAVEL	RESULTADO
17/05/2010	MARIA	IZILDA MORELLI - CRF/SP 9371	APROVADO

CERTIFICADO EMITIDO VIA SISTEMA INTEGRADO COM APROVAÇÃO ELETRÔNICA

Página 01 de 01

*Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda.*