

n.º 397-READISCH



**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA NA  
BACIA DO RIO PIRACICABA /SP  
ATRAVÉS DE TESTES DE TOXICIDADE  
COM INVERTEBRADOS**

**Ana Lúcia Fonseca**

DEDALUS - Acervo - EESC



31100052369

Tese apresentada à Escola de Engenharia  
de São Carlos, da Universidade de São  
Paulo, como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Doutor em Hidráulica  
e Saneamento

ORIENTADORA: Profa. Dra. Odete Rocha

São Carlos  
1997



Class. T656 - 665C

Cutt. F2241

Tombo T0060198

31100052369

S/S 943938

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento  
da Informação do Serviço de Biblioteca - EESC-USP

F676a Fonseca, Ana Lúcia  
Avaliação da qualidade da água na Bacia do Rio  
Piracicaba/SP através de testes de toxicidade com  
invertebrados / Ana Lúcia Fonseca. -- São Carlos,  
1997.

Tese (Doutorado). -- Escola de Engenharia  
de São Carlos-Universidade de São Paulo, 1997.  
Área: Hidráulica e Saneamento.  
Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Odete Rocha.

1. Bacia do Rio Piracicaba. 2. Qualidade da  
Água. Testes de toxicidade. I. Título.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

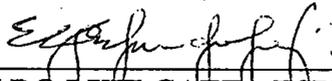
Candidata: Licenciada ANA LUCIA FONSECA

Tese defendida e aprovada em 19-12-1997  
pela Comissão Julgadora:



---

Profa. Titular **ODETE ROCHA (Orientadora)**  
(Universidade Federal de São Carlos - UFSCar)



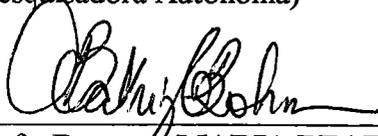
---

Prof. Doutor **EVALDO LUIZ GAETA ESPÍNDOLA**  
(Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo)



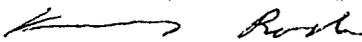
---

Doutora **MARIA BERNADETE AMÂNCIO VARESCHE**  
(Pesquisadora Autônoma)



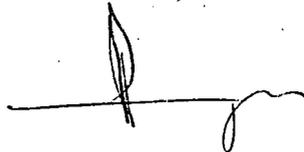
---

Profa. Doutora **MARIA BEATRIZ CAMINO BOHRER**  
(Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS)



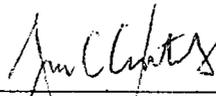
---

Prof. Doutor **KENNEDY FRANCIS ROCHE**  
(Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS)



---

Prof. Titular **FAZAL HUSSAIN CHAUDHRY**  
Coordenador da Área de Hidráulica e Saneamento



---

**JOSE CARLOS A. CINTRA**  
Presidente da Comissão de Pós-Graduação

*Aos meus pais  
Alcino e Iracema,  
pela grandeza da família*

## AGRADECIMENTOS

À Profª. Dra. Odete Rocha do Departamento de Biologia e Ecologia Evolutiva - DEBE - UFSCar, pela orientação e demonstração de confiança.

À Profª Dra. Maria do Carmo Calijuri, diretora do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada - CRHEA, pela oportunidade e facilidades concedidas para realização de parte do trabalho neste Centro.

À Profª Dra. Suzana Strixino do Departamento de Hidrobiologia da UFSCar, pela identificação da espécie *Chironomus xanthus* e pelas inúmeras sugestões quanto ao cultivo desta espécie em laboratório.

À Profª Dra. Alaíde Fonseca Gessner do Departamento de Hidrobiologia da UFSCar, pelo fornecimento de bibliografia sobre a biologia dos Chironomidae e por se mostrar sempre disposta a ajudar.

Ao Dr. Carlos Fregadolli por ter me apresentado uma desova de quironomídeo e ensinado a forma de coleta no campo, bem como algumas dicas na manutenção destes em laboratório.

Ao Biólogo Eduardo Bertolletti, chefe do laboratório de bioensaios da CETESB e a pesquisadora Sandra Valéria Buratini, pelo fornecimento dos inóculos de *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*.

As Biólogas Maria de Lourdes Lorenzetti (Ude) e Rosalina Pereira de Araújo da CETESB, pelas sugestões no decorrer do trabalho e fornecimento de bibliografia. Acima de tudo, pela amizade constante.

A Flávia Gomes de Barros coordenadora de projetos do Consórcio Intermunicipal das Bacias dos Rios Piracicaba e Capivari e ao João Jerônimo Monticelli, pelas sugestões iniciais do trabalho, e pelo fornecimento de dados relacionados à bacia do rio Piracicaba.

Ao Paulo César Meletti e ao técnico Airton Soares por ter tornado o trabalho de campo muito mais agradável, além das constantes trocas de favores durante os ensaios de laboratório.

À Dra. Arnola Cecília Riezler pelo apoio durante todo o trabalho além das inúmeras sugestões nos momentos de incerteza. Acima de tudo, pela amizade sincera.

Ao estagiário Caio Augusto de Almeida pelo auxílio durante os ensaios de laboratório e na manutenção dos organismos.

Aos técnicos e funcionários do CRHEA e do DEBE pelo apoio durante o trabalho de laboratório.

Ao William (Caco) pela ajuda inestimável na confecção dos gráficos, pela convivência sempre muito divertida. Um super amigo.!

À Clarice Paschoal pelas sugestões na redação e leitura do manuscrito.

Ao Werner e ao Cláudio, meus consultores de informática, pela ajuda na redação final.

À FAPESP pela concessão do auxílio para viabilização do projeto e ao CNPq pela bolsa de estudos.

Aos meus amigos, por terem tornado a permanência em São Carlos muito mais agradável e divertida. Que bom tê-los!

À minha família, pelo apoio constante e pela tolerância nos momentos de ausência.

## SUMÁRIO

	Pag
DEDICATÓRIA.....	i
AGRADECIMENTOS.....	ii
SUMÁRIO.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xx
RESUMO.....	xxi
ABSTRACT.....	xxii
1) INTRODUÇÃO.....	1
2) OBJETIVOS.....	5
2.1 - Objetivo Geral.....	5
2.2 - Objetivos Específicos.....	5
3) REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
3.1 - Considerações gerais.....	6
3.2 - Testes de Toxicidade.....	16
3.2.1 - Aspectos gerais.....	16
3.2.2 - Testes de Toxicidade com Sedimento.....	21
3.2.3 - Toxicologia Aquática no Brasil.....	26
4) MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
4.1 - Área de Estudo - BACIA DO RIO PIRACICABA.....	28
4.1.1 - Caracterização.....	28
4.1.2 - Pontos de Amostragem.....	32
4.1.3 - Coleta e preparo das amostras.....	32
4.2 - Coleta e manutenção dos organismos-teste.....	35
4.2.1 - <i>Chironomus xanthus</i> .....	35
a) -Manutenção.....	35
b) - Determinação da influência da qualidade do alimento na duração no tempo de desenvolvimento de <i>C. xanthus</i> .....	35
4.2.2 - <i>Daphnia similis</i> e <i>Ceriodaphnia dubia</i> .....	39

a) Manutenção.....	39
4.2.3 - <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .....	40
a) Manutenção.....	40
4.3 - Testes de toxicidade aguda com as amostras de sedimento.....	41
a) - <i>Chironomus xanthus</i> .....	41
b) - <i>Daphnia similis</i> e <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .....	42
4.4 - Testes de toxicidade crônica com as amostras de sedimento.....	42
a) <i>Chironomus xanthus</i> .....	42
b) <i>Daphnia similis</i> e <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .....	43
4.5 - Testes de toxicidade aguda com as amostras de água.....	44
a) <i>Daphnia similis</i> , <i>Ceriodaphnia dubia</i> e <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .....	44
4.6 - Testes de toxicidade crônica com as amostras de água.....	45
a) <i>Daphnia similis</i> , <i>Ceriodaphnia dubia</i> e <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .....	45
4.7- Testes de sensibilidade das larvas de <i>C. xanthus</i> ao KCl.....	46
4.8- Análises químicas da água.....	47
a) - Análise simultânea de fósforo e nitrogênio total.....	47
b) - Nitrato, nitrito e íon amônio.....	48
c) - Fosfato total dissolvido e fosfato inorgânico dissolvido.....	48
d) - Metais.....	49
e) - Material em suspensão.....	50
4.9 - Análises física e química do sedimento.....	50
a) Concentração de matéria orgânica.....	50
b) Granulometria.....	51
b.1 - Extração da matéria orgânica.....	51
b.2 - Sifonação.....	52
b.3 - Determinação das frações granulométricas.....	52
4.10 - Análise Estatística.....	53
a) Avaliação da toxicidade aguda das amostras de água e sedimento.....	53
b) Avaliação da toxicidade crônica das amostras de água e sedimento.....	53
5) - RESULTADOS.....	54
5.1 - Ciclo de vida de <i>Chironomus xanthus</i> .....	54

5.1.1 - Determinação da influência da qualidade do alimento na duração no tempo de desenvolvimento de <i>C. xanthus</i> .....	58
5.2 - Testes de toxicidade aguda com as amostras de sedimento.....	58
a) - <i>Chironomus xanthus</i> .....	58
b) <i>Daphnia similis</i> e <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .....	62
5.3 - Testes de toxicidade crônica com as amostras de sedimento.....	66
5.3.1 - <i>Chironomus xanthus</i> .....	66
5.3.2 - Testes crônicos com <i>Daphnia similis</i> e <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> ... ..	69
5.3.2.1 - <i>Daphnia similis</i> .....	69
a) Crescimento do corpo.....	70
b) Fecundidade.....	74
c) Sobrevivência.....	75
d) Variáveis físicas e químicas das soluções teste.....	76
5.3.2.2.- <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .....	77
a) Crescimento do corpo.....	77
b) Fecundidade.....	81
c) Sobrevivência.....	82
d) Variáveis físicas e químicas das soluções teste.....	84
5.4 - Testes de toxicidade aguda com as amostras de água.....	85
5.4.1 - <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> .....	85
5.4.2 - <i>Daphnia similis</i> e <i>Ceriodaphnia dubia</i> .....	86
5.5 - Testes de toxicidade crônica com as amostras de água.....	88
5.5.1 - <i>Daphnia similis</i> .....	88
a) Crescimento do corpo.....	88
b) Crescimento populacional.....	93
c) Fecundidade.....	98
d) Sobrevivência.....	99
e) Longevidade.....	100
f) Porcentagem de efípios produzidos por <i>D. similis</i> durante os testes. ...	101
.....	101
g) Variáveis físicas e químicas das soluções teste.....	102

5.5.2 - Testes crônicos com <i>C. silvestrii</i> .....	103
a) Crescimento do corpo.....	103
b) Crescimento populacional.....	108
c) Fecundidade.....	113
d) Sobrevivência.....	114
e) Longevidade.....	115
f) Variáveis físicas e químicas das soluções teste.....	116
5.5.3 - Testes crônicos com <i>Ceriodaphnia dubia</i> .....	117
a) Crescimento do corpo.....	117
b) Crescimento populacional.....	119
c) Fecundidade.....	121
d) Sobrevivência.....	122
e) Longevidade.....	123
f) Variáveis físicas e químicas das soluções teste.....	123
g) - Testes de sensibilidade das larvas de <i>Chironomus xanthus</i> ao KCl.....	126
5.1 - Variáveis físicas e químicas das amostras de água.....	126
5.7.1 - Resultados de campo.....	126
5.7.2 - Concentração das formas nitrogenadas na água do rio Piracicaba... 128	
5.7.3 - Concentração das formas fosfatadas na água do rio Piracicaba..... 130	
5.7.4 - Material em suspensão.....	130
5.7.5 - Metais.....	131
5.8 - Variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento.....	138
5.8.1 - Granulometria e concentração de matéria orgânica.....	138
6 - DISCUSSÃO.....	143
6.1 - Aspectos do ciclo de vida de <i>Chironomus xanthus</i> .....	145
6.2 - A toxicidade do sedimento. ....	153
6.3 - A toxicidade da água.....	163
6.4 - Testes de sensibilidade das larvas de <i>Chironomus xanthus</i> ao KCl.....	166
6.5 - A qualidade da água na bacia do rio Piracicaba.....	168
7 - CONCLUSÃO.....	178

8 - RECOMENDAÇÕES.....	181
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	182
ANEXOS.....	192
APÊNDICES.....	185

## LISTA DE FIGURAS

pag.

- FIGURA 4.1 - Pontos de amostragem na bacia do rio Piracicaba e principais indústrias poluidoras.....33
- FIGURA 4.2 - Pontos de amostragem na bacia do rio Piracicaba: 1- Represa do Tatu (Ribeirão dos Pinhais - Controle), 2- Rio Jaguari, capt de Limeira, 3- Rio Piracicaba, capt de Americana, 4 - Rio Piracicaba, capt. de Santa Bárbara D'Oeste, 5- Rio Piracicaba,capt Piracicaba, 6- Rio Atibaia, capt de Campinas, 7 - Rio Atibaia, capt de Sumaré.....34
- FIGURA 4.3 - Desenho esquemático para coleta de quironomídeos no campo.....35
- FIGURA 4.4 - Bandeja de cultivo de *C.xanthus* em circuito fechado.....37
- FIGURA 4.5 -Bandeja de cultivo de *C.xanthus* em laboratório.....38
- FIGURA 4.6 - Porção do corpo ilustrando como são tomadas as medidas de comprimento total do corpo para os cladoceros.....45
- FIGURA 5.1 - Fêmeas de *Chironomus xanthus* emergidas em laboratório (5,2 - 4,4 mm de comprimento total) .....55
- FIGURA 5.2 - Machos de *Chironomus xanthus* emergidos em laboratório (4,8 - 5,3 mm de comprimento total) .....55
- FIGURA 5.3- Desova de *Chironomus xanthus* obtida em laboratório ( $\pm 15$ mm de comprimento) .....56
- FIGURA 5.4 -Larvas recém-nascidas de *Chironomus xanthus* ( $0,099 \pm 0,005$  mm de largura da cápsula cefálica) .....56
- FIGURA 5.5 - Larva de *Chironomus xanthus* no 2<sup>o</sup> ínstar ( $0,150 \pm 0,161$  mm de largura da cápsula cefálica) .....57
- FIGURA 5.6 - Estágio de pupa de *Chironomus xanthus* (5,0-6,0mm) .....57
- FIGURA 5.7 - Curvas ajustadas de crescimento individual de *D. similis* cultivada em amostras de sedimento dos diferentes locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba , coletadas nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).....71
- FIGURA 5.8 - Curvas que representam o crescimento individual de *D. similis* cultivada em amostras de sedimento provenientes dos pontos de amostragem da bacia do rio Piracicaba, nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).....73

- FIGURA 5.9 - Curvas ajustadas de crescimento individual para *C. silvestrii* cultivadas em amostras de sedimento dos diferentes pontos de amostragem da bacia do rio Piracicaba, coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).....78
- FIGURA 5.10 - Curvas que representam o crescimento individual de *C. silvestrii* cultivadas em amostras de sedimento proveniente de 6 pontos de amostragem da bacia do rio Piracicaba, nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2). .....80
- FIGURA 5.11.- Curvas de crescimento individual de *D. similis* cultivada em amostras de água dos locais de coleta nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2), da Bacia do Rio Piracicaba.....90
- FIGURA 5.12 - Curvas de crescimento individual de *D. similis* cultivada em água do local Controle (Represa do Tatu) e dos pontos de captações de Campinas e Sumaré, coletadas no dia 17/10/96.....91
- FIGURA 5.13 - Curvas que representam o crescimento individual de *D. similis* quando cultivada em amostras de água coletadas nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2), de 7 pontos da Bacia do Rio Piracicaba. ....92
- FIGURA 5.14- Curvas de crescimento populacional de *D. similis* cultivada em água dos diferentes locais amostrados , nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).....95
- FIGURA 5.15- Curvas de crescimento populacional de *D. similis* cultivada em água das captações de Campinas e de Sumaré no dia 17/10/96 (2).....96
- FIGURA 5.16. Curvas de crescimento populacional de *D. similis* cultivada em água de 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, coletadas nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2) .....97
- FIGURA 5.17- Efeito em *D. similis* obtido nos testes de toxicidade crônica em laboratório.....102
- FIGURA 5.18 - Curvas de crescimento individual de *C. silvestrii* cultivada em água dos locais de amostragem da Bacia do Rio Piracicaba, coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2) .....105
- FIGURA 5.19 - Curvas ajustadas de crescimento do corpo de *C. silvestrii* cultivada em água proveniente de 7 pontos da Bacia do Rio Piracicaba, coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2). .....107
- FIGURA 5.20 - Curvas de crescimento populacional de *C. silvestrii* cultivada em água dos diferentes locais de amostragem, coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2), da bacia do rio Piracicaba.....109

- FIGURA 5.21. Curvas de crescimento populacional de *C. silvestrii* cultivada em água proveniente de 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2) . .....112
- FIGURA 5.22 - Curvas de crescimento individual de *C. dubia* cultivada em água proveniente de 5 pontos da Bacia do Rio Piracicaba, coletadas no dia 12/04/96). .....118
- FIGURA 5.23- Curvas de crescimento do corpo de *C. dubia* cultivada em água de 5 pontos da Bacia do Rio Piracicaba, coletadas no dia 12/04/95.....118
- FIGURA 5.24- Curvas de crescimento populacional de *C. dubia* cultivada em amostras de água, coletadas no dia 12/04/95, em 5 pontos da bacia do rio Piracicaba. ....120
- FIGURA 5.25- Curvas de crescimento populacional de *C. dubia* cultivada em amostras de água de 5 pontos da bacia do rio Piracicaba, coletadas no dia 12/04/95 .....121
- FIGURA 5.26 - Valores de nitrogênio inorgânico total, nitrito, nitrato e amônia total das amostras de água, coletadas nos pontos de amostragem na bacia do rio Piracicaba nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96.....129
- FIGURA 5.27 - Valores de fósforo total, fosfato total, fosfato orgânico e fosfato inorgânico das amostras de água coletadas nos pontos de amostragem da bacia do rio Piracicaba nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96.....132
- FIGURA -5.28 - Valores de material em suspensão, fração orgânica e inorgânica das amostras de água coletadas nos pontos de amostragem da bacia do rio Piracicaba nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96.....133
- FIGURA 5.29 - Concentrações de metais encontrados nas amostras de água coletadas nos dias 12/02/95, 19/01/96 e 17/10/96, nos diferentes locais da bacia do rio Piracicaba.....134
- FIGURA 5.30- Teores de matéria orgânica e granulometria das amostras de sedimento coletadas em 5 pontos da bacia do rio Piracicaba no dia 12/04/95. ....139
- FIGURA 5.31 - Teores de Matéria Orgânica e granulometria das amostras de sedimento coletadas em 7 pontos da bacia do Rio Piracicaba no dia 19/01/96. ....140
- FIGURA 5.32 - Teores de Matéria Orgânica e granulometria das amostras de sedimento coletadas em 7 pontos da bacia do Rio Piracicaba no dia 17/10/96 . ....141

- FIGURA 6.1 - Valores de IQA (Índice de qualidade da água) e vazão ( $m^3/s$ ), nos últimos dez anos em alguns pontos da rede de monitoramento na bacia do rio Piracicaba, segundo CETESB, 1996.....173
- FIGURA 6.2 - Índice de qualidade de água (IQA), ano de 1995 (Fonte CETESB, 1996 com modificações).....175

## LISTA DE TABELAS

	pag
TABELA 3.1 - Classificação da qualidade da água conforme valor do IQA.....	15
TABELA 3.2- Lista de alguns invertebrados de água doce utilizados em testes de toxicidade .....	18
TABELA 3.3 - Espécies de água doce comumente utilizadas em testes de toxicidade com sedimento.....	24
TABELA 4.1- Relação dos maiores consumidores individuais por sub-bacia e por vazão de captação e de despejo (em m <sup>3</sup> /h).....	29
TABELA 4.2 - Principais indústrias poluidoras -Classificação segundo a carga residual (Kg DBO/dia) na Bacia do rio Piracicaba.....	31
TABELA 4.3 - Granulometria do substrato utilizado no cultivo de <i>C. xanthus</i> .....	37
TABELA 4.4 - Composição básica das rações.....	40
TABELA 5.1 - Comprimento total do corpo (mm), largura e comprimento total da cápsula cefálica e duração máxima (em dias) de cada ínstar de <i>C. xanthus</i> cultivados com dois tipos de alimento.....	58
TABELA 5.2 - Teste de toxicidade aguda (96h) para o 2 <sup>o</sup> ínstar de <i>C. xanthus</i> e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 19/01/95.....	60
TABELA 5.3 - Teste de toxicidade aguda (96h) para o 3 <sup>o</sup> ínstar de <i>C. xanthus</i> e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 19/01/95.....	60
TABELA 5.4 - Teste de toxicidade aguda (96h) para o 4 <sup>o</sup> ínstar de <i>C. xanthus</i> e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 19/01/95.....	61
TABELA 5.5 - Teste de toxicidade aguda (96h) para o 2 <sup>o</sup> ínstar de <i>C. xanthus</i> e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 17/10/96.....	61
TABELA 5.6 - Teste de toxicidade aguda (96h) para o 3 <sup>o</sup> ínstar de <i>C. xanthus</i> e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 17/10/96.....	61

- TABELA 5.7 - Teste de toxicidade aguda (96h) para o 4<sup>o</sup> ínstar de *C. xanthus* e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 17/10/96.....62
- TABELA 5.8- Teste de toxicidade aguda (48 horas) com amostras de sedimento para *D. similis* e variáveis físicas e químicas, no dia 12/04/95.....63
- TABELA 5.9- Teste de toxicidade aguda (48 horas) com amostras de sedimento para *D. similis* e variáveis físicas e químicas, no dia 17/10/96.....63
- TABELA 5.10 - Teste de toxicidade aguda (48 horas) com amostras de sedimento para *C. silvestrii* e variáveis físicas e químicas, no dia 19/01/96.....63
- TABELA 5.11- Teste de toxicidade aguda (48 horas) com amostras de sedimento para *C. silvestrii* e variáveis físicas e químicas, no dia 17/10/96.....64
- TABELA 5.12 - Resultados de toxicidade aguda (%) das amostras de sedimento para diferentes instares de *C. xanthus*, *C. silvestrii* e *D. similis*.....65
- TABELA 5.13- Valores de sobrevivência (%) no final do teste de toxicidade crônica (8 dias de exposição) realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, no dia 17/10/96, (teste 1).....67
- TABELA 5.14- Porcentagem de emergência de adultos (%) no final do teste de toxicidade crônica realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, no dia 17/10/96, (teste 2).. .....68
- TABELA 5.15- Valores de sobrevivência (%) no final do teste de toxicidade crônica (10 dias de exposição) realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, no dia 19/01/95.....68
- TABELA 5.16- Variáveis físicas e químicas durante o teste de toxicidade crônica realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, no dia 17/10/96, (teste 1).....68
- TABELA 5.17- Variáveis físicas e químicas durante teste de toxicidade crônica realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, no dia 17/10/96, (teste 2).....69
- TABELA 5.18- Variáveis físicas e químicas durante teste de toxicidade crônica (10 dias) realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, no dia 19/01/96 .....69

- TABELA 5.19 -. Valores da equação de Von Bertalanffy e do coeficiente de correlação linear de Pearson (r) para as curvas que descrevem o crescimento do corpo para *D. similis* durante o teste de toxicidade crônica realizado com amostras de sedimento coletada em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem.....74
- TABELA 5.20. - Comprimento das primíparas (mm) de *D. similis* expostas em amostra de sedimento coletadas em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem.....74
- TABELA 5.21 - Número total de neonatas de *D. similis* durante os testes de toxicidade crônica (14 dias), para as datas de amostragem.....74
- TABELA 5.22 - Sobrevivência (em %) de fêmeas de *D. similis* durante os testes de toxicidade crônica com amostras de sedimento na bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem.....75
- TABELA 5.23 - Variáveis físicas e químicas analisadas durante os testes de toxicidade crônica realizados com *D. similis*, para as amostras de sedimento.....76
- TABELA 5.24-. Valores da equação de Von Bertalanffy e do coeficiente de correlação linear de Pearson (r) para as curvas que descrevem o crescimento do corpo para *C. silvestrii* durante o teste de toxicidade crônica realizado com amostras de sedimento coletadas em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, para os dias 19/01/96 e 17/10/96.....81
- TABELA 5.25- Comprimento das primíparas (mm) de *C. silvestrii* cultivadas em amostras de sedimento coletado em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, nos dias 19/01/96 e 17/10/96.....81
- TABELA 5.26- Número total de neonatas de *C. silvestrii* expostas às amostras de sedimento de 7 locais da bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem, durante os testes de toxicidade crônica (14 dias).....82
- TABELA 5.27 - Sobrevivência (em %) de fêmeas de *C. silvestrii* durante os testes de toxicidade crônica com às amostras de sedimento na bacia do rio Piracicaba, para as datas amostradas.....83
- TABELA 5.28- Variáveis físicas e químicas analisadas durante os testes de toxicidade crônicos realizados com *C. silvestrii*, para às amostras de sedimento.....84
- TABELA 5.29 - Resultados dos testes de toxicidade crônica com as amostras de sedimento para *C. xanthus*, *D. similis* e *C. silvestrii*.....85

- TABELA 5.30 - Número de organismos vivos e valores das principais variáveis físicas e químicas no teste de toxicidade aguda (48h) para *C. silvestrii* com as amostras de água coletadas em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, no dia 19/01/96.....86
- TABELA 5.31 - Número de organismos vivos e valores das principais variáveis físicas e químicas no teste de toxicidade aguda (48h) para *C. silvestrii* com as amostras de água coletadas em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, no dia 17/10/96.....86
- TABELA 5.32- Número de organismos vivos e valores das principais variáveis físicas e químicas no teste de toxicidade aguda (48h) para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* com as amostras de água coletadas em 5 pontos na bacia do rio Piracicaba, no dia 12/04/95.....87
- TABELA 5.33- Número de organismos vivos e valores das principais variáveis físicas e químicas no teste de toxicidade aguda (48h) para *Daphnia similis* com as amostras coletadas em 5 pontos na bacia do rio Piracicaba, no dia 17/10/96.....87
- TABELA 5.34- Valores da equação de Von Bertalanffy e do coeficiente de correlação linear de Pearson ( $r$ ) para as curvas que descrevem o crescimento do corpo para *D. similis* durante o teste crônico realizado com amostras de água coletadas em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem.....93
- TABELA 5.35.- Comprimento das primíparas (mm) de *D. similis* cultivada à amostras de água coletadas em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem.....93
- TABELA 5.36- Valores de  $r$  (taxa intrínseca de aumento natural), número inicial ( $N_0$ ) e final de organismos ( $N_t$ ) obtidos para *D. similis* testada com amostras de água proveniente de 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, coletadas nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2) .....98
- TABELA 5.37. - Número total de neonatas de *D. similis* durante os testes crônico (14 dias), realizados com amostras de água coletadas nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2). .....99
- TABELA 5.38 - Sobrevivência (em %) de fêmeas de *D. similis* durante os testes crônicos para amostras de água coletadas em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).....100

- TABELA 5.39- Valores médios (DP), máximo e mínimo de longevidade (dias) para *D. similis* cultivada em água de 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, coletada nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).....101
- TABELA 5.40 - Valores médios e desvio padrão (DP) da %de efipios ocorridos durante teste de toxicidade crônica realizado com *D. similis* , para as amostras coletadas no dia 12/04/95.....102
- TABELA 5.41- Variáveis físicas e químicas analisadas durante os testes crônicos para *D. similis* com água coletadas em 7 locais na bacia do rio Piracicaba, nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).....103
- TABELA 5.42 Valores da equação de Von Bertalanffy e do coeficiente de correlação linear de Pearson (r) para as curvas que descrevem o crescimento do corpo para *C. silvestrii* durante o teste de toxicidade crônica realizado com amostras de água coletada em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, para amostras coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).....108
- TABELA 5.43- Comprimento das primíparas (mm) de *C. silvestrii* cultivada em amostras de água coletada em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).....108
- TABELA 5.44 - Valores de r (taxa intrínseca de aumento natural), número inicial ( $N_0$ ) e final de organismos ( $N_t$ ) obtidos para *C. silvestrii* cultivada em amostras de água coletadas em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).....111
- TABELA 5.45 - Número total de neonatas durante os testes de toxicidade crônica (14 dias) realizados com *C. silvestrii* , para as datas de amostragem...113
- TABELA 5.46 - Sobrevivência (em %) de fêmeas de *C. silvestrii* durante os testes de toxicidade crônica para as amostras coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).....114
- TABELA 5.47 - Valores médios (DP), máximo e mínimo de longevidade (dias) de *C. silvestrii* obtidos em testes de toxicidade crônica com água de 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, para amostras coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2) .....115
- TABELA 5.48 - Variáveis físicas e químicas analisadas durante os testes de toxicidade crônica com *C. silvestrii*. para amostras de água coletadas em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2) .....116
- TABELA 5.49 -Valores da equação de Von Bertalanffy e coeficiente de correlação linear de Pearson (r) para as curvas que descrevem o crescimento do

- corpo de *C. dubia* durante o teste de toxicidade crônica com amostras de água coletada em 5 pontos na bacia do rio Piracicaba, no dia 12/04/95.....119
- TABELA 5.50- Comprimento médio das primíparas (mm) obtidas em teste de toxicidade crônica com *C. dubia* em água coletada de 5 pontos na bacia do rio Piracicaba, no dia 12/04/95. ....119
- TABELA 5.51 - Valores de r (taxa intrínseca de aumento natural), número inicial ( $N_0$ ) e final de organismos ( $N_t$ ) obtidos para *C. dubia* durante teste de toxicidade crônica com amostras de água proveniente de 5 pontos na bacia do rio Piracicaba, coletadas no dia 12/04/95.....121
- TABELA 5.52- Número total de neonatas de *C. dubia* produzidas durante teste de toxicidade crônica, com amostras de água coletada no dia 12/04/95, nos diferentes pontos de amostragem na bacia do rio Piracicaba.....122
- TABELA 5.53- Valores de sobrevivência, em porcentagem (%) das fêmeas de *C. dubia* durante teste crônico, com amostras de água coletada no dia 12/04/95.....122
- TABELA 5.54- Valores médios, desvio padrão (DP), máximo e mínimo de longevidade (dias) obtidos durante teste de toxicidade crônica com *C. dubia* em água de 5 pontos na bacia do rio Piracicaba, coletadas no dia 12/04/95.....123
- TABELA 5.55 - Valores de pH, temperatura, condutividade e dureza da água durante o teste de toxicidade crônica realizado com *C. dubia* para as amostras de água coletadas em 5 pontos da bacia do rio Piracicaba, no dia 12/04/95.....124
- TABELA 5.56-Resultados dos testes de toxicidade crônica com as amostras de água coletadas na bacia do rio Piracicaba para *D. similis*, *C. dubia* e *C. silvestrii*. ....125
- TABELA 5.57-Valores de CE50-96 g/l KCl para os instares II, III e IV de *Chironomus xanthus*. ....126
- TABELA 5.58 - Variáveis físicas e químicas realizadas com o sensor múltiplo no momento das coletas das amostras de água e de sedimento, nos dias 12/04/95 (1), 19/01/96 (2) e 17/10/96 (3).....127
- TABELA 6.1 - Valores de comprimento da cápsula cefálica (mm) para *C. tepperi*, *C. sancticaroli* (*C. xanthus*) e *C. xanthus*.....149

**TABELA 6.2 - Classificação da qualidade da água nos pontos de amostragem, pela CETESB 1995, segundo o IQA e classificação obtida no presente trabalho através do IPCA, proposto pela CETESB 1997.....177**

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnica
- APHA - American Public Health Association
- ASTM - American Society for Testing and Materials
- CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
- CE50 - Concentração Efetiva a 50% da população
- CENO - Concentração do Efeito não Observado
- CEO - Concentração do Efeito Observado
- CL50 - Concentração Letal a 50% da população
- CQA - Critério de Qualidade da Água
- CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente
- DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio
- FAO - Food and Agriculture Organization
- IQA - Índice de Qualidade de Água
- OECD - Organization for Economic Development and Cooperation
- OD - Oxigênio Dissolvido
- SETAC - Society Environmental Toxicology and Chemistry
- UNEP - United Nations Environment Programme
- USEPA - United States Environmental Protection Agency
- VC - Valor Crônico

## RESUMO

A utilização de testes de toxicidade como ferramenta para o biomonitoramento na avaliação da qualidade da água e sedimento, é reconhecida atualmente bastante <sup>↙ ↘</sup> como eficaz, principalmente quando comparada ao monitoramento físico e químico. Visando fornecer um diagnóstico da qualidade da água nos pontos de captação de água de abastecimento das cidades de Campinas, Sumaré (rio Atibaia), Americana, Santa Bárbara D'Oeste, Piracicaba (rio Piracicaba), Limeira (rio Jaguari) e ribeirão dos Pinhais - represa do Tatu (local controle) foram realizados testes de toxicidade aguda e crônica com amostras de água e sedimento. Os ensaios com as amostras de sedimento foram realizados com *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia silvestrii* e o organismo bentônico *Chironomus xanthus*. A avaliação da toxicidade do sedimento permitiu identificar um local altamente contaminado, a captação de Sumaré; locais contaminados, como as captações de Americana, Piracicaba e Limeira, e levemente contaminados como as captações de Santa Bárbara D'Oeste e de Campinas. Permitiu também avaliar o grau de sensibilidade de diferentes espécies a qual variou segundo a sequência: *C. silvestrii* > *D. similis* > *C. xanthus*. Não foi constatada toxicidade aguda para os cladóceros *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii* quando expostos às amostras de água, e sim toxicidade crônica, sendo Santa Bárbara D'Oeste o local mais comprometido, e *Daphnia similis* o melhor indicador. Foram detectados níveis de cádmio, chumbo e manganês, acima do limite permitido, para uma amostra de água coletada na captação de Sumaré, e valor de zinco bem próximo ao limite, na captação de Limeira. Os resultados indicaram uma maior toxicidade do sedimento do que da água, sendo portanto, os testes com sedimento mais adequados para uma avaliação da real condição de toxicidade do sistema. Observou-se que *Chironomus xanthus* é uma espécie de fácil manutenção em laboratório, fácil obtenção em quantidade, recomendado-se assim a sua utilização como espécie-teste.

Palavras-chave: Bacia do rio Piracicaba; qualidade da água; testes de toxicidade

## ABSTRACT

The use of toxicity tests in the biomonitoring of water and sediment quality is more efficient than physycal and chemical analyses. In order to provide a diagnosis on the quality of sediment and water, chronic and acute toxicity tests were performed with water and sediment samples near water supplies in Campinas, Sumaré (Atibaia river), Americana, Santa Bárbara D'Oeste and Piracicaba (Piracicaba river), Limeira (Jaguari river) and Tatu reservoir (Control ). Tests with sediment samples were carried out with *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia silvestrii* and the benthic organism *Chironomus xanthus* as test organism. Sediment toxicity assessment identified Sumaré as highly contaminated, Americana, Piracicaba and Limeira as contaminated, and Santa Bárbara and Campinas as slightly contaminated localities. The results indicated that the sensibility of the species followed the sequence: *C.silvestrii*>*D.similis*>*C.xanthus*. Only chronic toxicity was detected with water samples by testing *D. similis* and *C. silvestrii*. From these tests it appears that Santa Bárbara D'Oeste is the most jeopardized local and *D. similis* the best indicator. Detected levels of cadmium, lead and manganese were above the level allowed by legislation in Sumaré water, and the level of zinc was close to the limit in Limeira water. Such results indicated a higher sediment toxicity than water toxicity, and for this reason, sediment toxicity tests are indicated for toxicity assessment of the system. The *C. xanthus* is a specie that can be easily maintained in laboratory, and is recommented as test organism .

Keywords: Piracicaba watershed river, water quality, toxicity tests

## 1 - INTRODUÇÃO

A preocupação por parte da sociedade em geral com a degradação dos recursos hídricos tem aumentado nos últimos tempos, dada a importância da água para a vida do planeta.

Segundo a USEPA (United States Environmental Protection Agency, 1989), tanto as águas superficiais quanto as subterrâneas têm sido amplamente deterioradas, quer seja pela adição de novos produtos químicos ou por contaminação biológica.

As águas naturais são os recipientes da maioria das substâncias tóxicas geradas pelas atividades industrial, agrícola e doméstica. Embora os ecossistemas aquáticos possam ter um série de mecanismos físicos, químicos e biológicos para a assimilação das substâncias tóxicas, prevenindo danos à biota, quando estas atingem níveis acima da capacidade assimilativa do corpo receptor, podem afetar a sobrevivência, o crescimento, a reprodução ou o comportamento dos organismos (ANDERSON & D'APOLLONIA, 1978 apud COONEY, 1995).

As atividades agrícolas causam danos à biota aquática através da introdução de agrotóxicos e nutrientes em excesso, enquanto as industriais geralmente são prejudiciais pelo lançamento de quantidades consideráveis de produtos tóxicos persistentes, tais como os metais pesados. Todas estas atividades, além de alterarem as comunidades biológicas, afetam a qualidade da água para o consumo humano, irrigação ou recreação.

A função dos sedimentos nos ecossistemas aquáticos é bem conhecida, quanto a atuarem como locais de armazenagem de materiais orgânicos e inorgânicos e muitos contaminantes encontram-se em maior concentração no sedimento quando

comparados à coluna d'água. Certos compostos orgânicos, tais como os de alto peso molecular (DDT, PCBs, etc ), permanecem no sedimento por vários anos após a sua entrada no curso d'água. Organismos bentônicos são os mais afetados, pois vivem no sedimento e estão diretamente expostos aos contaminantes (WARWICK, 1990), além de apresentarem baixa mobilidade.

Considerando este tipo de problema, o desenvolvimento de tecnologias de tratamento e disposição de efluentes têm progredido, juntamente com extensos programas de monitoramento, sejam estes de caráter analítico ou biológico, ou ainda de forma combinada, visando a preservação da biota aquática e melhorias na qualidade da água para consumo humano.

O estudo da sensibilidade de certas espécies a determinados tipos de poluição, pôde fornecer informações relevantes para os programas de biomonitoramento, os quais podem ser complementados por meio do uso de testes de toxicidade ou bioensaios.

A decisão por um programa de testes de toxicidade aquática vem corrigir as limitações encontradas nas análises químicas de compostos, cujas concentrações às vezes são menores que os limites de detecção dos métodos analíticos . Além disso, eles fornecem informações adicionais sobre o perigo potencial dos efeitos de uma substância tóxica aos organismos aquáticos, tais como carcinogênese, mutagênese, teratogênese, desordens comportamentais, efeitos fisiológicos cumulativos antagonísticos e sinérgicos (BAUDO, 1987).

Nos testes de toxicidade, os organismos aquáticos representativos das comunidades biológicas , são submetidos a diferentes concentrações do efluente ou da substância tóxica a ser testada, avaliando-se os efeitos agudos (letalidade ou imobilidade) e crônicos (alterações no crescimento, reprodução e sobrevivência).

Os testes de toxicidade com sedimento podem fornecer informações sobre os contaminantes tóxicos presentes no sedimento e nas águas intersticiais (ROSIU et al 1989).

A abordagem ecotoxicológica, associada às análises químicas, têm permitido que as indústrias desenvolvam programas de tratamento de seus efluentes, de modo a

reduzir ou eliminar os efeitos tóxicos ao qual estão sujeitas as comunidades aquáticas presentes nos corpos receptores.

Normas para a avaliação da toxicidade com organismos de água doce têm sido desenvolvidas e implementadas em diversos países, inclusive no Brasil (ABNT, 1992, 1993a, 1993b).

No Estado de São Paulo, testes de toxicidade têm sido realizados pela CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental para avaliar a qualidade das águas de diferentes regiões, bem como fornecer parâmetros em relação aos padrões de emissão de substâncias tóxicas geradas pelas indústrias nos corpos receptores. Diversas indústrias (Ex. Rhodia/SP, Ripasa/SP,) possuem laboratórios e realizam testes de toxicidade rotineiramente com intuito de avaliar a qualidade dos efluentes gerados.

Dentre as regiões industrializadas no Estado de São Paulo, a bacia do rio Piracicaba vem sendo monitorada pela CETESB desde 1974, quanto à qualidade das águas superficiais, justamente porque grande parte das suas águas é utilizada para abastecimento público. O monitoramento é realizado com bases nas análises físicas e químicas de alguns parâmetros de qualidade de água, com objetivo de estabelecer o Índice de Qualidade de Água - IQA. Desde 1992, a companhia introduziu os testes de toxicidade em alguns pontos considerados prioritários da rede de monitoramento para o abastecimento público, bem como para a preservação da biota, visando uma melhor avaliação da qualidade da água (CETESB, 1996).

Existem vários procedimentos padrão quanto aos testes de toxicidade com espécies consideradas organismos-teste. Dentre estas espécies, *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea - Cladocera) são amplamente utilizadas pela CETESB na avaliação da toxicidade aguda e crônica, com efluentes industriais e amostras de águas superficiais. Estas mesmas espécies, por possuírem características epibênticas também tem sido utilizadas na avaliação da qualidade dos sedimentos.

A CETESB tem utilizado recentemente, o macroinvertebrado *Hyalella azteca* (Amphipoda) como organismo teste, na avaliação da toxicidade de sedimento. A metodologia para este organismo-teste já se encontra padronizada pela USEPA e

APHA (American Public Health Association) (USEPA, 1994; PERSOONE & JANSEN, 1995).

Dentre os organismos bentônicos, espécies dos grupos dos Chironomidae e Oligochaeta, têm sido utilizados em testes de toxicidade com sedimento, pois são considerados bons indicadores, justamente por serem os mais abundantes da fauna bentônica. Eles são extremamente importantes na cadeia alimentar e por viverem e se alimentarem de partículas do sedimento, estão diretamente expostos aos contaminantes através do contato do corpo e indiretamente pela alimentação.

Certas espécies de Chironomidae, por exemplo *Chironomus tentans* (USA) e *Chironomus riparius* (Europa), têm sido utilizadas nos ensaios de toxicidade com sedimento justamente por possuírem alta sensibilidade à substâncias tóxicas consideradas persistentes, tais como os metais pesados e os agrotóxicos, além de desempenharem um importante papel na cadeia alimentar e serem de fácil manutenção em laboratório (GIESY & HOKE 1989). Para estas espécies, existem procedimentos padronizados pela APHA, ASTM (American Society for Testing and Materials) e FAO (Food and Agriculture Organization) para os testes de toxicidade agudos e crônicos com amostras de sedimento (USEPA, 1994; REYNOLDSON & DAY 1995).

No Brasil, os organismos da família Chironomidae ainda não são utilizados na avaliação da toxicidade dos sedimentos devido à escassez de estudos relativos à biologia de espécies nativas. A utilização de espécies nativas evita a introdução acidental de espécies exóticas e é um processo mais simples de obtenção de inóculos. Neste sentido grande esforço tem sido feito com intuito de se encontrar espécies nativas de diferentes níveis da cadeia trófica que possam ser utilizadas como organismos-teste tanto para avaliação da toxicidade em sedimentos como em água (FONSECA, 1991; BOHRER, 1995).

Pretendeu-se com este trabalho, avaliar a toxicidade da água e sedimento em alguns pontos estratégicos da Bacia do Rio Piracicaba como subsídios para o monitoramento da qualidade da água nesta região, bem como estabelecer um procedimento para utilização de organismos bentônicos característicos da fauna local, em ensaios de toxicidade com sedimento.

## 2- OBJETIVOS

### 2.1 - OBJETIVO GERAL

Avaliar a qualidade da água da Bacia do Rio Piracicaba através de testes de toxicidade aquática com invertebrados.

### 2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Viabilizar a cultura da espécie bentônica *Chironomus xanthus* (espécie nativa) em laboratório para uso como organismo teste e estudar a sensibilidade do mesmo à substância de referência cloreto de potássio.
- Submeter *Chironomus xanthus*, *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii* às amostras de sedimento de 7 pontos de amostragem, avaliando a toxicidade aguda e crônica.
- Avaliar a toxicidade aguda e crônica das amostras das águas superficiais nos 7 pontos de amostragem utilizando como organismos teste, os Cladocera planctônicos, *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis* (organismos padrão) e *Ceriodaphnia silvestrii* (espécie nativa).
- Comparar a sensibilidade entre as espécies testadas, para os ensaios com as amostras de água e sedimento
- Determinar o grau de toxicidade da água e do sedimento com base nos resultados obtidos em todos os ensaios biológicos e informações da literatura sobre variáveis físicas e químicas, e classificar as águas da Bacia do Rio Piracicaba através da comparação com os índices estabelecidos pela legislação vigente.

## **3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **3.1 - Considerações Gerais**

Os agentes tóxicos atingem os ecossistemas aquáticos contaminando solo, água e sedimento através do escoamento superficial contendo os pesticidas agrícolas, da drenagem urbana, e da precipitação de partículas radioativas da atmosfera, além da chuva ácida. Os ecossistemas também são atingidos pelas fontes pontuais, tais como as descargas de efluentes industriais contendo resíduos nocivos ou de estações de tratamento de efluentes. De uma forma ou de outra, os corpos d'água funcionam como receptores finais de todas as substâncias lançadas no ar, no solo ou diretamente na água (RAND et al, 1995).

Os autores acrescentam que, um tóxico é um agente que produz um efeito adverso no sistema biológico, alterando a sua estrutura ou função, ou pode também provocar a morte. Podem ser introduzidos deliberadamente ou acidentalmente nos ecossistemas aquáticos, prejudicando a qualidade da água e tornando-a desfavorável a preservação da vida aquática e à saúde humana.

Segundo SELL (1992), independente de sua origem ou natureza, os poluentes no ecossistema aquático podem ser agrupados em 3 categorias principais:

- Material flutuante - representado pelos óleos e graxas, os quais são inflamáveis e são tóxicos para os peixes.
  
- Material em suspensão - que pode ser de origem mineral ou orgânica. O mineral é responsável pela formação de lodo e o orgânico pela diminuição dos níveis de oxigênio dissolvido e pela formação de gases e odores desagradáveis.

- Material em solução - representado pelos ácidos, álcalis, metais pesados e pesticidas. De um modo geral eles destroem a vida aquática e tornam a água imprópria para o consumo humano.

Vários processos podem estar envolvidos na disponibilidade biológica de um composto em ambientes aquáticos e na alteração de taxas metabólicas que influenciam sua incorporação. Pode haver interação com outras substâncias e/ou características da água, como por exemplo temperatura, pH ( que afetam a dissociação de ácidos e bases), ácidos húmicos (que formam complexos), nível de oxigenação, quantidade de matéria orgânica dissolvida, quantidade e qualidade do material em suspensão (CALHEIROS, 1993).

Muitas vezes as substâncias tóxicas são lançadas no corpo receptor em um curto período de tempo e em altas concentrações. Tal situação representa um mecanismo de "pulso" no transporte de substâncias tóxicas afetando diretamente a biota local. Estes poluentes podem também agir indiretamente alterando os ciclos naturais de matéria e energia, provocando a desestabilização dos ecossistemas aquáticos, reduzindo significativamente a capacidade de reestruturação desses sistemas (RAND & PETROCELLI, 1985).

Os efeitos tóxicos podem se manifestar imediatamente durante a exposição, após o término do lançamento do produto, ou podem ainda se manifestar após um determinado tempo depois da exposição. Isto é determinado pelas propriedades do produto, pelo modo de ação do tóxico e pela habilidade do organismo em metabolizar ou biotransformar o produto. Alguns efeitos tóxicos são reversíveis, enquanto outros são irreversíveis e podem provocar a morte. Em muitos casos, os efeitos são reversíveis somente se os organismos puderem escapar do meio tóxico e encontrar um ambiente livre deste (RAND et al, 1995).

Certos efluentes industriais podem conter concentrações elevadas de metais tóxicos tais como mercúrio, chumbo, cádmio, zinco e cobre e outros que tendem a se acumular nos sedimentos dos corpos receptores. Dependendo das condições físicas e químicas do sedimento, esses íons metálicos poderão formar complexos, mudar de

forma, ou serem translocados através dos diversos elos da cadeia trófica (RAND & PETROCELLI, 1985).

De acordo com WESTMAN (1985, apud PASCHOAL, 1996) as substâncias tóxicas (metais pesados, compostos orgânicos sintéticos e radionuclídeos) apesar das diferenças químicas, apresentam algumas semelhanças em relação ao ciclo biogeoquímico dos elementos mais comuns no meio aquático. De um modo geral, elas se adsorvem no material particulado orgânico e são assimiladas pelos organismos detritívoros e/ou pelo fitoplâncton através do qual chegam aos peixes e ao homem. Durante o ciclo de assimilação, excreção e reassimilação na cadeia alimentar, os tóxicos se concentram e acumulam ao longo da mesma, em níveis superiores aos encontrados na água, fenômeno este denominado de bioconcentração ou magnificação biológica (WARWICK, 1990).

Os sedimentos são um importante componente do ecossistema aquático, pois fornecem substrato para uma grande variedade de organismos e funcionam como um reservatório dos inúmeros contaminantes aquáticos de baixa solubilidade. Constituem uma fonte primária de contaminação para os organismos bentônicos e secundária para a coluna d'água (ADAMS et al, 1992).

Grande parte das substâncias de origem antropogênica como os pesticidas, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos -PAH e os hidrocarbonetos clorados, tendem a se concentrar nos sedimentos (BURTON & MCPHERSON, 1995).

Estes mesmos autores relatam que a contaminação dos sedimentos pode provocar efeitos drásticos aos ecossistemas, como por exemplo, o desaparecimento da comunidade bentônica ou a substituição de espécies sensíveis por espécies tolerantes à poluição. Estas espécies tolerantes processam uma variedade de materiais e seus produtos metabólicos podem interferir significativamente no funcionamento do ecossistema, alterando o fluxo de energia, principalmente os processo de produtividade e decomposição. Citam, por exemplo, que se a comunidade bentônica for alterada, o ciclo do nitrogênio também poderá ser modificado, causando alterações nas formas de nitrogênio necessárias para as espécies fitoplanctônicas. Poderia, por exemplo, ocorrer uma substituição de algas de outros grupos por cianofíceas, as quais são capazes de fixar o nitrogênio, mas por outro lado produzem

neuro e hepatotoxinas que afetam os peixes herbívoros e consumidores da água como o gado e o homem.

De um modo geral, muito pouco se sabe a respeito dos efeitos das inúmeras substâncias tóxicas sobre a saúde humana. De acordo com a United Nations Environment Programme - UNEP (1992) existem cerca de 11 milhões de substâncias químicas relatadas na literatura, mas pouco mais de 500 tem sido testada quanto à toxicidade aos organismos aquáticos. Além disso, estas substâncias são modificadas e integradas através de processos físicos, químicos e biológicos (GIESY & HOOKE, 1991 apud LINDEGAARD, 1995). A maioria dos poluentes apresenta efeito crônico e não agudo sobre a saúde humana e alguns deles podem ser carcinogênicos (SELL, 1992; STANLEY, 1993).

Leis Nacionais e Internacionais têm sido propostas para detecção, monitoramento e controle da poluição química, baseadas na precisão e acuracidade das análises físicas e químicas. Entretanto, estabelecer parâmetros químicos para um ecossistema aquático muitas vezes não é suficiente para proteger a biota pois muitos mecanismos de toxicidade letal e sub-letal não são compreendidos (BAUDO, 1987).

Na verdade os objetivos de controle da poluição da água estão diretamente relacionados com os diferentes usos, podendo ser realizados em diferentes níveis de precisão. Pela legislação americana são definidos 2 objetivos principais: o uso humano e a manutenção da vida aquática. As ações de controle com base no uso humano (irrigação, potabilidade, pesca, lazer e processos industriais) visam a manutenção da qualidade da água de acordo com o uso mais nobre, através dos padrões de qualidade de água e dos padrões de emissão. Pôr outro lado, as ações de controle com base na integridade ecológica (biomonitoramento), visam a restauração e a manutenção do corpo d' água em condições saudáveis e adequadas para a preservação da biota aquática, e para a recreação humana, através da eliminação ou do controle das descargas (WESTMAN, 1985 apud PASCHOAL, 1996).

O conceito de biomonitoramento pode ser definido como o uso sistemático das respostas biológicas para avaliar as mudanças ambientais de origem antropogênica, com a intenção de usar estas informações em programas de controle de qualidade (MATTHEUS, 1982 apud ROSENBERG & RESH, 1993).

De acordo com HERRICKS et al (1989) o biomonitoramento pode ser dividido em duas categorias: bioensaios e a bioavaliação.

Bioensaios são testes laboratoriais que seguem um rigoroso protocolo experimental, sendo os mais comuns os testes de toxicidade, enquanto a bioavaliação engloba a descrição dos organismos presentes na comunidade ou ecossistema, medidas das propriedades e processos nos ecossistemas, ou seja, são análises realizadas em campo sem um rigoroso controle ambiental.

De acordo com CHAPMAN (1989), os organismos tem um ambiente preferencial no qual eles vivem e se reproduzem. Muitos fatores contribuem para a adequação do ambiente, e a variação de um ou mais fatores pode levar ao "estresse" dos indivíduos e possível redução no número total de organismos. Em situações extremas de mudanças nas condições ambientais, algumas espécies não serão capazes de tolerá-la e desaparecerão completamente da área atingida, seja por morte ou por migração. Este tipo de abordagem proporciona, como resultado prático o surgimento de espécies indicadoras, através da presença ou ausência, e da utilização de certos índices através das análises quali e/ou quantitativa, caracterizando assim a qualidade do ambiente estudado.

Os bioensaios são experimentos no qual os organismos-teste são expostos , em laboratório, a amostras coletadas em campo, as quais contém um ou mais contaminantes, cujo objetivo é medir os possíveis efeitos biológicos destes contaminantes. Por outro lado, nos testes de toxicidade, os organismos teste são expostos a diferentes concentrações de uma determinada substância. O objetivo destes experimentos é medir o grau de resposta associada com uma concentração específica da substância teste (Society Environmental Toxicology and Chemistry - SETAC,1993)

De acordo com CALOW (1993), os testes de toxicidade seriam classificados como testes antecipatórios ou preventivos, já que existem agentes tóxicos cujos efeitos no ambiente ainda são desconhecidos, enquanto os bioensaios seriam denominados testes de avaliação, pois são avaliadas as mudanças que estes produtos provocam nos sistemas ecológicos após sua liberação no ambiente.

Estudos de toxicologia aquática têm sido realizados nos últimos 120 anos, tanto nos EUA como na Europa, os quais foram expandidos a partir de duas disciplinas, a Biologia da Poluição da Água e a Limnologia, e pode ser definida como o estudo dos efeitos dos agentes tóxicos nos organismos aquáticos a níveis celular, individual, populacional e nas comunidades (ADAMS, 1995).

Os primeiros estudos nesta área, incluíram pesquisas básicas para definir e identificar a biologia e morfologia dos lagos, riachos e rios, incluindo investigações sobre como plantas, animais e microrganismos interagem biologicamente no esgoto tratado e reduz a poluição orgânica. Por exemplo, o papel das bactérias no processo de nitrificação foi demonstrado em 1877 por SHOESING & MUNTZ (ADAMS, op.cit)

FORBES (1887) foi um dos primeiros pesquisadores a realizar um estudo integrado, classificando os rios em zonas de poluição baseadas nas espécies tolerantes e sua presença ou ausência nos ecossistemas aquáticos. Esta visão tem nos mostrado, atualmente ser um indicativo mais real das condições ambientais, do que simplesmente as medidas físicas e químicas. Como consequência, esforços no sentido de se pesquisar organismos sensíveis às mudanças ambientais têm sido feitos em paralelo aos estudos sobre cultivo, manutenção e utilização desses organismos sensíveis em testes de toxicidade. Acredita-se que os resultados destes testes podem fornecer subsídios para se avaliar os efeitos observados nos ecossistemas naturais prevendo-se os efeitos futuros causados por perturbações provocadas pelo homem (ADAMS, op. cit).

Os primeiros testes de toxicidade aguda consistiam na exposição por um curto período (2 a 4 dias) de produtos químicos ou efluentes a um número limitado de espécies. Alguns destes testes foram realizados por PENNY & ADAMS (1863) e WEIGELT, SAARE & SCHWAB (1885), os quais analisaram a toxicidade dos produtos contidos nas águas residuárias industriais. Em 1924, CARPENTER publicou os primeiros de toxicidade de chumbo e zinco das minas, em peixes. Isto estendeu-se com o trabalho de JONES (1939) e em várias publicações ao longo dos anos, com uma ampla variedade de metais e organismos (ADAMS, op. cit).

ELLIS (1937) começou usando *D. magna* como uma das espécies para avaliar a poluição dos rios. ANDERSON (1944, 1946) expandiu o trabalho de ELLIS elaborando um procedimento padrão para os testes de toxicidade com esta espécie. DOUDOROFF (1951) elaborou o primeiro procedimento padrão utilizando peixe como organismo teste, o qual foi incluído no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (ADAMS, op. cit).

Esforços para padronização de métodos foram reiterados e neste sentido a USEPA organizou um workshop, que teve como resultado final um documento intitulado Standard Methods for Acute Toxicity Test for Fish and Invertebrates (1972). Esta publicação tem sido aprimorada com outros procedimentos e tem sido amplamente utilizada (ADAMS, op.cit).

A expansão industrial e também agrícola, principalmente após a segunda guerra mundial, levou a um exagerado aumento no uso de produtos sintéticos. Em função disso, o governo federal americano reconheceu o risco potencial dessas atividades, e ao surgimento de novos produtos passou a aplicar ações legislativas mais sérias. Os critérios estabelecidos nessas leis forçou o crescimento da toxicologia ambiental. Durante os últimos 15 anos, as agências reguladoras têm desenvolvido e orientado programas de avaliação da qualidade da água, fundando laboratórios- base de toxicidade (LA POINT, 1995).

O conceito de critério de qualidade da água (CQA) foi formulado após a segunda guerra mundial. MCKEE (1952) publicou um trabalho intitulado "Water Quality Criteria" contendo um guia de limites de concentrações químicas, as quais protegem a vida aquática para o Estado da Califórnia. Em seguida, em 1963, juntamente com WOLF, o autor expandiu a lista dos produtos incluindo dados de toxicidade (ADAMS, op.cit). Esta necessidade surgiu em função do aumento na industrialização dos produtos tóxicos que são lançados no meio ambiente (LEVIN et al, 1989).

Os Critérios de Qualidade da Água - CQA são definidos como dados científicos utilizados para julgar os limites de variações ou alterações da água que não provoquem efeitos adversos ao uso da água pelo homem ou organismos aquáticos. Este conceito refere-se a uma concentração química de produtos na água que não

interfira na manutenção da vida aquática. Padrões de qualidade da água impõem limites (concentrações na água) que não podem ser ultrapassados e que são adotados pelos estados e aprovados pelo governo federal (ADAMS, op. cit).

Em 1976, a USEPA publicou guias para estabelecimento dos CQA para preservação da vida aquática, os quais foram revisados em 1985. Em princípio foi derivado de uma série de dados disponíveis de testes de toxicidade agudo e crônico e de supostos critérios que protegem a vida aquática. Neste documento estão relacionados 129 tipos de poluentes (ADAMS, op. cit).

Em alguns casos, os critérios de qualidade de água (CQA) foram estabelecidos sem os dados de toxicidade crônica. Somente com os valores de CL50 fazia-se uma previsão dos níveis crônicos, aplicando-se um fator, ou seja, dividia-se o CL50 por dez para assegurar que naquelas concentrações não ocorreria toxicidade crônica. O uso deste fator iniciou-se na década de 50 e estendeu-se até 1960, época em que houve um avanço nas metodologias dos testes crônicos. A incorporação dos dados de toxicidade como parte dos programas de controle da poluição nacional americana têm criado a necessidade de se obter informações adicionais sobre a toxicologia aquática (ADAMS, op. cit).

O autor acrescenta que os testes de toxicidade foram incluídos em várias leis de controle, tais como, a Ação das Águas Limpas, a Ação de Controle de Substâncias Tóxicas, Ação Federal dos Inseticidas, Fungicidas e Rodenticidas e Ação Federal de Alimento, Drogas e Cosméticos. Para cada lei existe uma série de testes os quais devem ser realizados para verificar que produtos ou substâncias acarretariam danos ambientais e riscos à saúde humana. Esta mesma atitude foi tomada pela Comunidade Européia.

A extrapolação dos resultados dos bioensaios ou testes de toxicidade realizados em laboratório para prever os reais efeitos no campo, pode ser às vezes inadequados, mas por outro lado, isto tem sido compensado pela facilidade e economia na aplicação destes testes, além de uma gama de informações e experiências que se tem sobre os mesmos. Através destes tem sido possível avaliar o efeito de um grande número de produtos em relação a um número substancial de espécies. Apesar

das limitações, esta prática tem melhorado muito a qualidade da água e a proteção dos ecossistemas (MOUNT et al, 1982, apud LEVIN et al, 1989).

No Brasil, vigora atualmente a Resolução CONAMA nº 20 de 18/8/1986, em que, dependendo do uso da água, é estabelecido o controle sobre 11 parâmetros indicadores de qualidade e mais 66 substâncias potencialmente prejudiciais, cujas formas de detecção são estritamente analíticas. Para elaboração desta resolução não foram considerados dados de toxicidade, apesar de na época já existirem alguns resultados elaborados pela CETESB (PORTO, 1991).

No Estado de São Paulo o programa de monitoramento realizado pela CETESB baseia-se no cumprimento dos Decretos Estaduais nº 8468/76 (classifica as águas em 4 classes de acordo com seus usos e fixa os padrões de qualidade de água e de emissão) e o nº 10.775/77 (enquadra os corpos d'água nas 4 classes estabelecidas) e na Resolução CONAMA nº 20/86, a qual classifica as águas doces salobras e salinas do Território Nacional em 9 classes (CETESB, 1996). Para tanto, são utilizados 33 parâmetros físicos, químicos e microbiológicos, que constituem-se nos indicadores de qualidade de água, definidos com base na sua representatividade e significado sanitário, visando a utilização da água para consumo humano. São eles: temperatura da água e do ar, pH, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), coliformes totais e fecais, nitrogênio, fosfato, resíduo total, resíduo não filtrável, turbidez, condutividade, cor, surfactantes, fenol, cloreto, ferro total, manganês, bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo total, níquel, mercúrio e zinco. Os resultados obtidos para cada um desses parâmetros são comparados com os valores estabelecidos pelos padrões (CETESB, op. cit).

Para padronizar e facilitar a interpretação e a divulgação dos dados sobre qualidade de água, a CETESB utiliza um índice de qualidade de água - IQA, determinado pelo produto ponderado das qualidades de água correspondentes a 9 parâmetros selecionados entre os indicadores de qualidade de água. Para cada um desses parâmetros (temperatura, pH, OD, DBO, coliformes fecais, nitrogênio total, resíduo total e turbidez) são estabelecidas curvas de variação da qualidade da água de acordo com a sua condição, dentro de uma escala de 0 a 100. Conforme o valor do

IQA, a água é classificada para abastecimento público, de acordo com a escala apresentada na Tabela 3.1 (CETESB, op. cit).

TABELA 3.1 - Classificação da qualidade da água conforme valor do IQA.

ÍNDICE DE QUALIDADE	CLASSIFICAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA
80 - 100	Ótima
52 - 79	Boa
37 - 51	Aceitável
20 - 36	Ruim
0 - 19	Imprópria

Fonte: CETESB, 1996

Considerando a presença dos inúmeros poluentes tóxicos que não são considerados pelo IQA, a CETESB adotou um índice de toxicidade - IT, que corresponde a uma variável binária que assume o valor de 0 a 1, sendo 0 sempre que pelo menos um dos parâmetros avaliados (bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo total, níquel, mercúrio, zinco e fenol) ultrapassar os padrões mais restritivos estabelecidos para a classe 1 pela Resolução CONAMA nº 20, ou para a classe 2 do Decreto Estadual nº 8.468 (CETESB, op. cit).

Apesar do índice de toxicidade considerar a condição de toxicidade das águas, ele contempla apenas algumas das substâncias tóxicas potencialmente presentes na água. Em função da limitação apresentada por este índice no que se refere à proteção da biota aquática e à saúde humana, a CETESB passou a utilizar a partir de 1992, bioensaios com organismos aquáticos em 24 pontos considerados prioritários dentro da rede de monitoramento. Foram escolhidos locais próximos às captações de água para abastecimento público, assim como outros locais cuja qualidade esteja comprometida pela presença de poluentes (CETESB, op. cit).

Atualmente esforços têm sido realizados para estabelecer uma padronização de procedimentos de testes com espécies consideradas bons indicadores e de real reprodutibilidade em laboratório, além de padrões de qualidade de água, temperatura, pH etc, enfim todos os parâmetros os quais são conhecidos como modificadores da toxicidade (PASCOE, 1987).

Os testes de toxicidade podem ser realizados "in situ", ou em laboratório. Os ensaios em laboratório são favorecidos porque as condições experimentais podem ser controladas e as respostas dos organismos- teste podem ser observadas . Por outro lado, os ensaios "in situ" representa a real condição do ambiente, a qual os organismos estão expostos (CONNELL & MILLER, 1984).

## **3.2 - TESTES DE TOXICIDADE**

### **3.2.1 - Aspectos Gerais**

Um teste de toxicidade aquática é um procedimento no qual as respostas dos organismos são usadas para detectar ou medir a presença ou efeito de uma ou mais substâncias, resíduos ou fatores ambientais, sozinhos ou em combinação (GOLDSTEIN et al, 1983). Por meio destes testes determinam-se o tempo e a concentração em que o agente é potencialmente prejudicial. Para qualquer produto, o contato com a membrana celular ou sistema biológico pode não produzir um efeito adverso se a concentração do produto for baixa, ou o tempo de contato for insuficiente. Concentração e tempo de exposição estão diretamente relacionados e, portanto, altas concentrações poderão ter efeitos prejudiciais em tempos de exposição extremamente curtos (RAND et al, 1995).

A susceptibilidade a um composto é específica da espécie testada. Para uma mesma espécie a toxicidade é influenciada pelo tamanho, idade do organismo e quantidade de substâncias tóxicas que recebe. Idade e tamanho, aparentemente, são os fatores mais importantes que influenciam a susceptibilidade (MATSUMURA, 1975 apud CALHEIROS, 1993 ).

Os testes de toxicidade realizados em laboratório incluem diversas modalidades tais como os testes de toxicidade aguda, crônica, de bioacumulação e biodegradação, além dos testes sub-letais que podem ser reunidos em 4 grupos básicos: bioquímicos , fisiológicos, comportamentais e histológicos. Existem ainda os testes realizados em campo, nos quais os organismos são expostos dentro de gaiolas nas águas do rio ou lago que eventualmente estejam contaminadas (RAND & PETROCELLI, 1985)

Os invertebrados e macroinvertebrados bentônicos ocupam uma posição chave como consumidores tanto na região pelágica como na cadeia alimentar bêntica nos ecossistemas aquáticos. Na região pelágica os rotíferos e microcrustáceos atuam como consumidores primários (herbívoros), enquanto que na região bentônica e cadeia de detritos, as larvas de insetos e também os microcrustáceos desempenham um papel importante como convertidores tanto dos organismos vivos, como da biomassa morta. Portanto, para o desenvolvimento de métodos padrão para testes com Crustacea (Copepoda e Cladocera) e Rotífera, com crustáceos Amphipoda e larvas de insetos (principalmente Plecoptera, Ephemeroptera e Diptera) deve-se considerar principalmente à posição destes na cadeia trófica (PERSOONE & JANSSEN, 1993).

Na Tabela 3.2 encontram-se algumas espécies de invertebrados de água doce utilizadas em teste de toxicidade nos EUA e Europa. Quanto aos peixes, as espécies *Pimephales promelas*, *Oncorhynchus mykiss* e *Brachydanio rerio* são as mais utilizadas tanto em testes agudos como em crônicos, nos denominados testes embriolarvais.

Em testes agudos e crônicos, os efeitos da substância-teste sobre os organismos podem ser quantificados através das respostas dos mesmos avaliando-se assim os efeitos letais e sub-letais de um contaminante ambiental.

O objetivo principal de um teste de toxicidade aguda é determinar a concentração do material teste (produtos químicos ou efluentes industriais) que produz um efeito deletério em um grupo de organismos teste durante curto período de exposição, sob condições controladas.

Os organismos são geralmente expostos aos agentes tóxicos durante 24 e 96 horas para dafnídeos e peixes, respectivamente, e o efeito observado é a letalidade ou imobilidade (CL50, CE50) ou seja, determina-se a concentração do agente tóxico presente no ambiente aquático que causa 50% de letalidade ou imobilidade à espécie-teste (RAND & PETROCELLI, op.cit).

TABELA 3.2- Lista de alguns invertebrados de água doce utilizados em testes de toxicidade

		Recomendado ou listado por
<b>Protozoários</b>	<b>Ciliados</b>	
	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	APHA
<b>Vermes</b>	<b>Platyhelminthes</b>	
	<i>Dugesia tigrina</i>	ASTM
	<b>Annelida</b>	
	<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	APHA, FAO
	<i>Tubifex tubifex</i>	APHA, FAO
	<i>Branchiura sowerbyi</i>	APHA, FAO
	<i>Stylodrilus heringianus</i>	APHA
<b>Moluscos</b>	<b>Gastropoda</b>	
	<i>Physa integra</i>	ASTM
	<i>Physa heterostropha</i>	ASTM
	<i>Annicola limosa</i>	ASTM
<b>Crustaceos</b>	<b>Branchiopoda</b>	
	<i>Daphnia magna</i>	APHA, , FAO, USEPA, OECD
	<i>Daphnia pulex</i>	ASTM, USEPA, OECD
	<i>Daphnia pulicaria</i>	ASTM
	<i>Daphnia spp</i>	OECD
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	USEPA
	<b>Amphipoda</b>	
	<i>Gammarus lacustris</i>	APHA, ASTM, FAO, USEPA
	<i>Gammarus pseudolimnaeus</i>	APHA, ASTM, FAO, USEPA
	<i>Gammarus fasciatus</i>	APHA,ASTM,FAO, USEPA
	<i>Hyaella azteca</i>	APHA, FAO
	<i>Pontoporeia affinis</i>	APHA
	<i>Hyaella sp</i>	USEPA
	<b>Decapoda</b>	
	<i>Orconectes spp</i>	USEPA, ASTM
	<i>Pacifastacus lenisculus</i>	ASTM, USEPA
	<i>Gammarus spp</i>	APHA, USEPA, FAO, ASTM
	<i>Procambarus spp</i>	ASTM
	<i>Pacifastascus lenisculus</i>	ASTM, USEPA
<b>Rotifera</b>	<i>Brachionus calyciflorus</i>	ASTM
<b>Larvas de Insetos</b>	<b>Plecoptera</b>	
	<i>Pteronarcys dorsata</i>	APHA

Tab. 3.1 - Continuação

	Listado ou recomendado por
<i>Pteronarcys californica</i>	APHA
<i>Hesperoperla lycorias</i>	APHA
<i>Hesperoperla pacifica</i>	APHA
<i>Isogenus frontalis</i>	APHA
<i>Perlesta placida</i>	APHA
<i>Paragnetina media</i>	APHA
<i>Phasganophora capitata</i>	APHA
<i>Acroneuria californica</i>	APHA
<b>Ephemeroptera</b>	
<i>Hexagenia bilineata</i>	APHA, ASTM, USEPA
<i>Hexagenia limbata</i>	APHA, ASTM, USEPA
<i>Hexagenia rigida</i>	APHA
<i>Ephemerella subvaria</i>	APHA
<i>Ephemerella cornuta</i>	APHA
<i>Ephemerella grandis</i>	APHA
<i>Stenonema ithaca</i>	APHA
<i>Baetis spp</i>	ASTM, USEPA
<b>Tricoptera</b>	
<i>Brachycentrus americanus</i>	APHA
<i>Brachycentrus occidentalis</i>	APHA
<i>Clistoronia magnifica</i>	APHA
<i>Hydropsyche bettini</i>	APHA
<i>Hydropsyche bifida</i>	APHA
<i>Macronemum zebratum</i>	APHA
<b>Diptera</b>	
<i>Chironomus plumosus</i>	APHA
<i>Chironomus attenuatus</i>	APHA
<i>Chironomus tentans</i>	APHA
<i>Chironomus spp</i>	ASTM, FAO, USEPA
<i>Glyptochironomus labiferus</i>	APHA
<i>Goeldichironomus holoprasinus</i>	APHA
<i>Tanypus grodhausi</i>	APHA

Fonte: PERSOONE & JANSSEN, 1995, modificado: USEPA- United States Environmental Protection Agency, APHA - American Public Association, ASTM - Association Society for Testing and Materials, FAO - Food and Agriculture Organization of the United States, OECD - Organization for Economic Development and Cooperation.

Qualitativamente, os efeitos letais podem ser definidos como as respostas obtidas quando os agentes tóxicos interferem nos processos celulares dos organismos, estendendo-se até a morte. Em casos severos, esta ação pode alterar os movimentos para obtenção de alimento (CONNELL & MILLER, 1984).

Embora os testes de toxicidade com os organismos aquáticos possam ser conduzidos administrando-se o material teste diretamente por injeção ou incorporação no alimento, a maioria destes são conduzidos expondo-se os organismos a várias concentrações do material teste, as quais são misturadas na água ou no sedimento. Neste tipo de exposição a morte é facilmente detectada como o efeito deletério principal (RAND & PETROCELLI, op. cit).

Os testes de toxicidade aguda são realizados utilizando-se cinco concentrações e um controle, e em caso de produtos que não se dissolvem em água, utiliza-se um solvente. São utilizados de dez a vinte organismos por concentração, em réplicas e as variáveis pH, dureza, oxigênio dissolvido e condutividade são medidas no início e final dos testes (ADAMS, op. cit).

Nos testes de toxicidade crônica todos os organismos, exceto o controle, são expostos continuamente aos produtos tóxicos por um período de tempo significativo do ciclo de vida. Nestes estudos avalia-se os efeitos da substância tóxica em doses sub-letais, sobre a reprodução e crescimento, podendo incluir também efeitos comportamentais, fisiológicos e bioquímicos. Normalmente para os microcrustáceos como os dafnídeos, *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia* a duração é 7 e 21 dias respectivamente, ou até a produção da 3ª reprodução (RAND & PETROCELLI op. cit).

Estudos realizados com parte do ciclo de vida dos organismos referem-se também a estudos crônicos. Entretanto, são utilizados somente os estágios mais sensíveis do ciclo de vida e portanto não são crônicos verdadeiros e sim crônicos parciais ou subcrônicos. Um exemplo deste tipo de teste são aqueles em que se expõem embriões de peixes ou jovens recém-nascidos durante 30 a 60 dias (ADAMS, op. cit).

Outro exemplo de testes com parte do ciclo de vida são realizados com Chironomidae e Amphipoda, em que se avalia o efeito tóxico sobre a sobrevivência,

crescimento (medidos através do peso ou comprimento do corpo) e comportamento, mas não reprodução. A duração destes testes é de 2/3 de todo o ciclo de vida (LEE et al, 1980).

Em geral pelo menos 5 concentrações sub-letais são testadas. As doses sub-letais são estimadas baseando-se nos valores dos testes de toxicidade aguda de máxima exposição, por exemplo, CE50 -96h. Portanto, as doses estabelecidas para os testes crônicos são inferiores a este intervalo de concentração letal.

Por intermédio dos testes crônicos, podem-se estabelecer os valores de CENO (Concentração do efeito não observado), CEO (Concentração do efeito observado) e o VC (Valor crônico, definido como a média aritmética entre o CENO e CEO).

### **3.2.2 - Testes de Toxicidade com Sedimento**

Atualmente existe grande preocupação quanto à toxicidade dos sedimentos contaminados no que se refere aos organismos aquáticos principalmente os bentônicos, e também sobre o risco potencial à saúde humana pelo consumo de alimentos provenientes de áreas contaminadas, uma vez que grande número de contaminantes tem sido encontrados nos sedimentos de lagos e rios em concentrações superiores aos limites estabelecidos. Apesar de sua importância, são recentes os estudos sobre contaminação de sedimentos bem como dos mecanismos e dos fatores de transferência entre sedimento e biota. A grande variabilidade e complexidade da composição dos sedimentos naturais dificultam o entendimento das interações entre sedimento/coluna d'água e sedimento/biota e o estabelecimento das relações entre as respostas dos organismos indicadores de toxicidade com as concentrações das substâncias tóxicas (GIESY & HOKE, 1989).

A liberação para a coluna d'água ou a absorção pelo sedimento de um composto tóxico depende de muitos fatores, incluindo solubilidade, pH, potencial redox, afinidade do sedimento ao carbono orgânico ou ao carbono dissolvido, tamanho da partícula do sedimento, dos constituintes minerais do sedimento (óxidos

de ferro, manganês e alumínio) e a quantidade de ácidos sulfetos voláteis contidos no sedimento (USEPA, 1992 apud INGERSOLL, 1995).

Os critérios de qualidade de água foram desenvolvidos para proteger os organismos constituintes da coluna d'água e não os organismos do sedimento (INGERSOLL, 1995).

O controle de qualidade dos sedimentos é mais complexo quando comparado ao controle de qualidade das águas, pois envolve alguns parâmetros específicos, tais como biodisponibilidade, bioturvação e características do sedimento. No entanto, a extensão da contaminação dos sedimentos tem mostrado a necessidade de se desenvolver um critério de qualidade. Nos últimos 10 anos, tem sido desenvolvidas várias metodologias de avaliação da qualidade de sedimentos (ADAMS et al, 1992).

Historicamente, a avaliação da qualidade do sedimento tem-se limitado à caracterização química. Entretanto, quantificar as concentrações isoladas—dos isoladamente, não fornece informações suficientes para avaliar adequadamente os efeitos adversos, as interações entre os produtos ou o tempo necessário para que estes compostos alterem os organismos aquáticos bentônicos (INGERSOLL, 1995).

A USEPA desenvolveu recentemente um inventário nacional sobre a qualidade dos sedimentos e conseqüentemente desenvolveu metodologias visando a prevenção, remediação e o manejo dos sedimentos contaminados. Esta mesma instituição listou várias formas de avaliação da qualidade dos sedimentos, visando o estabelecimento de critérios de qualidade de sedimento. Estas avaliações podem ser classificadas como numéricas (Ex. frações do contaminante contidas na água intersticial, coluna d'água e sedimento), descritivas (Ex: testes de toxicidade, análise da comunidade bentônica) e combinadas (contaminação química, testes de toxicidade e comunidade bentônica) (USEPA, 1994; INGERSOLL, 1995).

Segundo GIESY & HOKE (1989), os estudos sobre contaminação de sedimentos podem ser realizados por observação em campo através da presença/ausência de organismos bentônicos, ou por meio de bioensaios. Cada um desses procedimentos apresentam vantagens e desvantagens. Por exemplo, os ensaios de presença/ausência têm como desvantagens o fato de não diferenciar os fatores tóxicos dos fatores de estresse, tais como pH e temperatura, e de não informar sobre

a toxicidade de sedimentos profundos não colonizados pelos organismos bentônicos. Os bioensaios medem os efeitos adversos causados por um ou vários compostos químicos presentes em um local determinado. São relativamente simples, de baixo custo e podem ser realizados com uma grande variedade de organismos em diferentes estágios de vida. A principal desvantagem é não indicar qual é o contaminante ou contaminantes responsáveis pela toxicidade.

Os testes de toxicidade com sedimento tem-se expandido rapidamente nos últimos 5 anos (ADAMS, op. cit). Os resultados destes podem ser usados para comparar a sensibilidade de diferentes espécies em relação a diferentes substâncias-teste (NELSON et al, 1989).

Os bioensaios têm sido utilizados rotineiramente no controle de descarte de sedimentos dragados em mares abertos ou águas continentais, no monitoramento de locais contaminados com descargas tóxicas e na triagem de áreas prioritárias para posterior caracterização química ou remediação (GIESY & HOKE, 1989; ADAMS et al, 1992).

Vários métodos têm sido desenvolvidos para avaliar a toxicidade dos sedimentos. Estes procedimentos incluem os testes de curta duração (24-96 horas), cujo objetivo é avaliar a letalidade em espécies individuais de um contaminante isolado, e os testes denominados crônicos, cuja duração é  $\leq$  a 10 dias de exposição (INGERSOLL, 1995).

Os bioensaios com sedimento podem ser conduzidos com o sedimento total, sedimento suspenso, com o elutriado ou com a água intersticial (BURTON, 1992) e a quantidade de sedimento testado pode variar de poucos milímetros até 800 ml (LAMBERSON & SWARTZI, 1988 apud INGERSOLL, op. cit).

Os organismos teste incluem algas, macrófitas, peixes, organismos bentônicos, epibênticos e invertebrados pelágicos (BURTON, 1992). As espécies mais comuns de água doce estão listadas na Tabela 3.3. A escolha de um organismo teste tem uma maior influencia quando se considera sua relevância ecológica, pois nenhuma espécie é indicada para se avaliar uma ampla faixa de tipos de sedimento, nem tão pouco sensível a vários tipos de contaminantes. As espécies poderão ser selecionadas baseadas na sensibilidade ao contaminante testado, ou contido no sedimento, no

hábito alimentar, na relevância ecológica, na distribuição geográfica, na relação taxonômica, com as espécies nativas, ou por já existir um procedimento padrão (USEPA, 1994).

TABELA 3.3 - Espécies de água doce comumente utilizadas em testes de toxicidade com sedimento.

Organismos	Parâmetros de avaliação	Duração do Teste (dia)	Habitat	Habito alimentar
<i>Hyalella azteca</i> Amphipoda) <sup>a</sup>	S, C, R	28	toca, epibentico	detritivoro
<i>Diporeia</i> sp (Amphipoda) <sup>b</sup>	S	28	toca, infaunal	detritivoro
<i>Chironomus riparius</i> Chironomidae) <sup>a</sup>	S,C,E	14	tubos	detritivoro e material em suspensão
<i>Chironomus tentans</i> (Chironomidae) <sup>a</sup>	S,C	10	tubos	detritivoro e material em suspensão
<i>Hexagenia limbata</i> (mayfly) <sup>c</sup>	S, C, M	10	tubos	detritivoro e material em suspensão
<i>Ceriodaphnia dubia</i> (Cladocera) <sup>a,d</sup>	S,R	7	Coluna d'água	material em suspensão
<i>Daphnia magna</i> (Cladocera) <sup>e</sup>	S,C,R	10	Coluna d'água	material em suspensão
<i>Lumbriculus variegatus</i> <sup>e</sup>	S,C,R	28	toca, infaunal, epibentica	detritivoro
<i>Tubifex tubifex</i> <sup>f</sup>	S	28	toca, infaunal/epibentica	detritivoro

Fonte: Ingersoll, 1995.

<sup>a</sup> ASTM (1995); Ingersoll & Nelson (1990), apud , Ingersoll, op. cit

<sup>b</sup> Landrum (1989); Landrum et al. (1989); ASTM (1995), apud , Ingersoll, op. cit

<sup>c</sup> Neberker et al. (1984); ASTM (1995); Balhnick et al (1981), apud , Ingersoll, op. cit

<sup>d</sup> Burton et al (1989); ASTM (1995), apud , Ingersoll, op. cit

<sup>e</sup> Phipps et al (1992); ASTM (1995), apud , Ingersoll, op. cit

<sup>f</sup> Reynoldson et al (1991); ASTM (1995), apud , Ingersoll, op. cit

S = sobrevivência; C = crescimento; R= reprodução; E= emergência dos adultos

Os organismos podem ser contaminados por meio de três fontes: água intersticial, coluna d'água ou pelo próprio sedimento. O hábito alimentar, incluindo o tipo de alimento e a taxa de alimentação, poderá controlar a dose do contaminante. Os invertebrados bentônicos selecionam partículas com altas concentrações de carbono orgânico, os quais podem conter altas concentrações de contaminantes

(ADAMS, 1984 apud INGERSOLL, op. cit). Portanto, o hábito alimentar dos organismos bentônicos deve ser levado em consideração na escolha destes para utilização em testes de toxicidade. Recomenda-se então, que a avaliação da toxicidade do sedimento deva ser feita com organismos de diferentes níveis da cadeia trófica (BURTON, op. cit), os quais podem ser obtidos de culturas de laboratório, ou coletados de populações naturais provenientes de locais não impactados (INGERSOLL, op. cit).

É reconhecido que os sedimentos são acumuladores e conseqüentemente uma fonte de produtos nos sistemas naturais. Isto tem estimulado o interesse em se desenvolver técnicas de testes- padrão com os organismos vivos em sedimentos. Até há pouco tempo, a maioria dos testes eram agudos, mas atualmente certa ênfase tem sido dada ao desenvolvimento de testes de toxicidade mais longos, envolvendo estágios do ciclo de vida por um período representativo deste. Neste sentido testes com 2/3 do ciclo de vida são realizados com *Chironomus tentans* (Chironomidae) e *Hyalella azteca* (Amphipoda). Também são realizados testes com parte do ciclo de vida com as espécies epibênticas *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia* (ADAMS, op. cit).

Os sedimentos nos sistemas naturais são conhecidos por reduzirem a biodisponibilidade das substâncias tóxicas. Esta biodisponibilidade refere-se a fração do produto tóxico que está disponível aos organismos aquáticos. A fração não ligada é que é responsável pela toxicidade, a qual é totalmente dependente das propriedades físicas e químicas da substância tóxica e das características do sedimento. Estudos revelaram que uma dada concentração de um produto químico que produz efeito num tipo de sedimento, pode não produzir em um outro tipo, mesmo que a concentração seja 10 vezes maior. Esta diferença é devido à biodisponibilidade (ADAMS, 1995).

Além disso, um grande progresso tem sido feito para estimar a fração tóxica disponível. É amplamente reconhecido que o conteúdo de carbono orgânico no sedimento é o fator responsável pela biodisponibilidade e produtos orgânicos não iônicos. Este conceito tem sido considerado pela USEPA para o estabelecimento de critérios de qualidade dos sedimentos, incluindo-o como um dos parâmetros a serem avaliados (ADAMS, op. cit).

As abordagens integradas envolvendo análises físicas, químicas e biológicas parecem ser as mais adequadas considerando-se que os bioensaios são essenciais quando se visa a proteção dos organismos no ecossistema e que os parâmetros físicos e químicos são fatores que podem influenciar de forma determinante na toxicidade. Dentre as diferentes abordagens integradas, a tríade, que envolve análises da contaminação química, dos níveis de toxicidade e da comunidade bentônica, tem sido bastante utilizada em avaliações de qualidade de sedimentos. As principais vantagens de sua utilização são a possibilidade de ser aplicada para qualquer tipo de sedimento e a integração dos dados de campo, de laboratório, tanto biológicos quanto químicos. (ADAMS et al, 1992).

### 3.2.3 -Toxicologia aquática no Brasil

Apenas no final da década de 70, com a implantação do Laboratório de Bioensaios da CETESB, São Paulo, é que os testes de toxicidade com organismos aquáticos foram mais difundidos no Brasil. No final desta década houve a implantação de normas tendo por base os trabalhos desenvolvidos em instituições internacionais de controle ambiental como, Environment Canada, United States Environmental Protection Agency, Association Française de la Qualité d'eau, e American Public Health Organization (DAMATO, 1997).

Entre os cladoceros a CETESB tem utilizado como organismos-teste *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* para avaliação da toxicidade aguda e crônica respectivamente (ABNT, 1993a, CETESB,1991b).Vários foram os trabalhos empregando estes organismos na avaliação da toxicidade de efluentes industriais. Por exemplo, GALLHARDO (1993, apud DAMATO, 1997) determinou a toxicidade de efluentes em indústrias de papel e celulose para ambas as espécies, e concluiu que este tipo de efluente provocou toxicidade crônica para *Ceriodaphnia dubia*.

BOHRER (1995) realizou testes de toxicidade aguda para *Daphnia similis* e crônica para *Ceriodaphnia dubia* com afluentes do Sistema de Tratamento Terciário dos Efluentes Líquidos Industriais (SITEL) do Pólo Petroquímico do Sul, Triunfo, RS. Os resultados obtidos foram a não toxicidade para todas as amostras testadas.

DAMATO (op. cit) utilizou *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* para avaliação da toxicidade aguda e crônica, respectivamente, para efluentes de algumas unidades do sistema de tratamento de refinaria de petróleo. O autor constatou que os sistemas de flotação e de lodos ativados foram muitos eficientes na remoção da toxicidade aguda, e que ao se comparar o sistema de lodos ativados com uma lagoa aerada em escala laboratorial, o primeiro se mostrou mais eficiente na remoção da toxicidade crônica.

Quanto à toxicidade de amostras ambientais, PRINTEZ (1996) utilizou *Ceriodaphnia dubia* na avaliação da toxicidade crônica de amostras de água e sedimento, e *Daphnia similis* para avaliação da toxicidade aguda de amostras de água, em 3 sub-bacias da região carbonífera do Baixo Jacuí -RS. A autora constatou toxicidade aguda e crônica para as amostras de água em duas sub-bacias e efeitos tóxico agudo e crônico para as amostras de sedimento provenientes de uma sub-bacia.

Esta mesma autora, implantou o cultivo e determinou a faixa de sensibilidade à substância de referência NaCl para *Hyaella azteca* (Amphipoda) visando a utilização deste organismo na avaliação da toxicidade de sedimentos no Brasil. Atualmente a CETESB também tem utilizado este organismo-teste na avaliação da toxicidade de sedimentos na região metropolitana de São Paulo (PEREIRA ARAÚJO, comunicação pessoal). Cabe ressaltar que este organismo é amplamente utilizado nos EUA como organismo - teste (Tabela 3.3).

Como já mencionado, desde 1992 a CETESB vem utilizando testes de toxicidade aguda e crônica com *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* em alguns pontos da rede de monitoramento de qualidade de água considerados críticos para abastecimento público (CETESB, 1996).

Atualmente, esforços têm sido realizados no país com o objetivo de desenvolver metodologias de testes de toxicidade utilizando espécies nativas, tanto nos ambientes de água doce, como marinho. Neste sentido, FONSECA (1991) utilizou a espécie nativa *Ceriodaphnia silvestrii*, de ampla distribuição no país, na avaliação da toxicidade de efluentes das indústrias têxteis e destilaria de açúcar e álcool. Apesar de não terem sido realizados testes com substâncias de referência, a espécie parece ser um bom organismo-teste para ambientes de água doce no Brasil.

## **4 - MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 - ÁREA DE ESTUDO - BACIA DO RIO PIRACICABA**

#### **4.1.1 - Caracterização**

Com uma superfície de 12.746 km<sup>2</sup> e com sentido geral de escoamento Leste-Oeste e Noroeste, a Bacia do Rio Piracicaba tem suas nascentes em Minas Gerais, nas cabeceiras do Rio Jaguari e em território paulista onde os Rios Atibainha e Cachoeira dão origem ao Rio Atibaia. Os Rios Jaguari e Atibaia são os principais constituintes e formadores do próprio Piracicaba. Os Rios Camanducaia, afluente paulista do Jaguari, e o Corumbataí, contribuinte direto do Piracicaba, também fazem parte da bacia. A maior parte (90%) de sua área está localizada no Estado de São Paulo (cerca de 40 municípios) e 10% em terras mineiras, compreendendo 4 municípios (Programa de Investimento para Recuperação e Proteção das Bacias dos Rios Piracicaba e Capivari - P.I.R.P, 1992; Secretaria do Meio Ambiente - SMA, 1994).

Quanto ao uso e ocupação do solo, 57% da área da bacia é coberta por pastagens (40% cultivadas) para rebanho de corte e leite. Possui uma extensa área agrícola, onde predomina as culturas de cana - de - açúcar e café, seguidos pela fruticultura e milho (CETESB, 1996).

Os corpos hídricos da bacia são responsáveis pelo abastecimento de 42 municípios, sendo que 33 deles utilizam-se de águas superficiais, 4 de mananciais subterrâneos e 3 de sistema misto. Além disso, as águas represadas em suas cabeceiras são revertidas para outras regiões para abastecimento público (Sistema Cantareira, Jundiaí, Campinas e bacia do rio Capivari) (CETESB, op. cit).

A disponibilidade hídrica média na bacia do Piracicaba é de 165m<sup>3</sup>/s, mas durante as estiagens cai cerca de 24% desse valor (40m<sup>3</sup>/s). Este quadro é ainda

mais crítico nos meses mais secos, visto que a bacia exporta  $31\text{m}^3/\text{s}$  para o abastecimento da Região Metropolitana de São Paulo. Nesta época a disponibilidade hídrica atinge a vazão média de  $128\text{m}^3/\text{s}$ . Nas estiagens mais severas a vazão mínima chega a  $34\text{m}^3/\text{s}$ . Porém a vazão disponível é superior a  $50\text{m}^3/\text{s}$  em cerca de 95% do tempo, e inferior somente em 5% (SMA, op. cit).

Quanto às indústrias, o maior consumidor individual de água é a Rhodia Indústria Química, a qual é responsável pelo montante de  $2,92\text{m}^3/\text{s}$  ou 23% da vazão industrial captada. As usinas de açúcar e álcool somadas representam 33% do total equivalentes a  $4,26\text{m}^3/\text{s}$ . Na Tabela 4.1 são relacionados os maiores consumidores individuais por sub-bacia e por vazão de captação e de despejo (em  $\text{m}^3/\text{h}$ ) (JAAKKO POYRY ENGENHARIA, 1992).

TABELA 4.1. Relação dos maiores consumidores individuais por sub-bacia e por vazão de captação e de despejo (em  $\text{m}^3/\text{h}$ ).

Nº de Ordem	INDÚSTRIA	LOCALIZAÇÃO		VAZÕES ( $\text{m}^3/\text{h}$ )	
		Município	Sub-bacia	Captação	Despejo
1	União São Paulo S.A. Agric. Ind. E Com.	Rafard	Cap B	5000	4526
2	União Açucareira Santa Cruz S.A.	Capivari	Cap B	2657	2111
3	Fábrica de Papel Santa Terezinha	Brag. Paulista	Jag MS	432	200
4	Petrobrás REPLAN	Paulínia	Jag B/ Ati	2000	1230
5	Usina Açucareira Ester S.A.	Cosmópolis	Jag B	3900	3200
6	Ajinomoto Interamericana Ind. e Com. Ltda	Limeira	Jag B	4167	3750
7	Papirus Indústria de Papel S.A.	Limeira	Jag B/Pir A	840	724
8	Rhodia Indústria Química	Paulínia	Ati A	10500	10005
9	Shell Química S.A.	Paulínia	Ati B	600	608
10	J. Bresseler S.A. Indústria de Papel	Paulínia	Ati B	600	500
11	Usina Costa Pinto S.A. - Açúcar e Alcool	Piracicaba	Cor B	1700	700
12	S.A. Indústria Química Butilamil	Piracicaba	Cor B	750	640
13	Ripasa S.A. Celulose e Papel	Limeira	Pir A	3600	3186
14	Fibra S.A.	Americana	Pir A	1150	1115
15	Limeira S.A. Indústria de Papel e Cartolina I/II	Limeira	Pir A	680	744
16	Usina Santa Bárbara S.A. - Açúcar e Alcool	S <sup>ta</sup> Barbd'Oeste	Pir A	1610	640
17	Usina São José S.A. - Açúcar e Alcool	Rio das Pedras	Pir A	923	733
18	Cia. Industrial Agrícola Ometto/Usina Iracema	Iracemápolis	Pir A	1062	4
19	Indústria de Papel Piracicaba	Piracicaba	Pir A	752	700
20	Usina Modelo S.A.	Piracicaba	Pir A	3500	3324
21	Antarctica Paulista	Jaguariúna	Jag MI	404	-
<b>TOTAL</b>				<b>46423</b>	<b>38640</b>

(Fonte: Plano Diretor JPE, 1992)

Legenda:

Cor = Rio Corumbataí      Pir = Rio Piracicaba      A = alto      MI = médio inferior  
Ati = Rio Atibaia      Jag = Rio Jaguari      Cap = Rio Capivari      B = baixo      MS = médio superior

De acordo com a CETESB (op. cit) , a carga de despejos urbanos, lançada diariamente nos rios das Bacias do Piracicaba e Capivari, para o ano de 1995, foi de 121,64 toneladas de DBO/dia (Demanda Bioquímica de Oxigênio). Menos de 5% desse volume recebeu algum tipo de tratamento. O índice de tratamento foi maior (mais de 70%) no caso das 157 ton/dia de despejo industrial. A água residuária originada do setor de açúcar e álcool (952 ton/dia de DBO) teve um índice de tratamento ainda maior, da ordem de 98%.

Na bacia do rio Piracicaba concentra-se uma área urbana densamente povoada (projeção de 3.086.000 habitantes para o ano 2000), abrigando importante parque industrial diversificado, constituído de fábricas de papel e celulose, alimentícia, indústrias do ramo sucro-alcooleira, têxtil, curtumes, metalúrgicas, químicas e refinaria de petróleo (Paulínia) (CETESB, op. cit).

Na Tabela 4.2 estão listadas as principais indústrias poluidoras, juntamente com a carga residual. A análise desses dados revela que os ramos industriais de alimentos, têxtil, químico, de papel e tinturaria são os que mais poluem os corpos d'água da bacia, representando 79,8% da carga total e 86,6% da carga residual das indústrias não-alcooleiras. Os índices de redução dos ramos industriais de alimento (44%), têxtil (45,5%), tinturaria (16,6%) e bebidas (0%) estão bem abaixo dos 80% previstos na legislação. Isto se deve ao fato de que muitas indústrias possuem sistemas inadequados ou insuficientes de controle da poluição (SMA, op. cit). A localização destas indústrias encontram-se na Figura 4.1.

Os compartimentos ambientais Tatu/Quilombo (63%), Pinheiros/Anhumas (16%) e Piracicaba (8%) são os que mais contribuem para a poluição industrial da bacia, concentrando 87% das cargas industriais lançadas (SMA, op. cit).

TABELA 4.2 - Principais indústrias poluidoras - Classificação segundo a carga residual (Kg DBO/dia) na Bacia do rio Piracicaba.

Código	Município	Indústria	Ramo	Carga total (kg DBO/dia)	Carga residual (kg DBO/dia)	% de redução	Corpo receptor
01	Paulínia	Rhodia S.A	Química	33.380	7.035	79	Rio Atibaia
02	Limeira	Ripasa S.A Celulose e Papel	Papel	24.608	2.460	90	Rio Piracicaba
03	Americana	Fibra Indústrias Têxteis S. A	Têxtil	16.872	1.680	90	Rio Piracicaba
04	Paulínia	Rhodiaco Indústrias Químicas Ltda	Química	16.057	1.606	90	Rio Atibaia
05	Nova Odessa	Tecelagem Wiesel	Têxtil	1.952	1.464	25	Rio Quilombo
06	Campinas	Ceralit S. A .Ind.Com	Química	1.609	1.288	20	Cor.Boa Vista
07	Valinhos	Indústrias Gessy Lever Ltda	Química	10.804	1.114	90	Cor Invernada
08	Americana	Tasa Tinturaria Americana S.A	Tinturaria	1.459	1.094	25	Rib. Quilombo
09	Sumaré	Mínasa TVP Alimentos e Proteínas S.A	Fecularia	2.476	990	60	s/n, afl Rib. Quilombo
10	Americana	Tecelagem Jacira Ltda	Têxtil	1.235	926	25	Rib. Quilombo
11	Americana	Fábrica de Tecidos Tatuapé S.A	Têxtil	4.312	886	79	Rio Piracicaba
12	Americana	Indústria Têxtil Dharuj S.A	Têxtil	888	666	25	Rib. Quilombo
13	Limeira	Citrosuco Paulista S.A Ind.Com	Alimentícia	5.473	608	89	Rib. Pinhal
14	Itatiba	Têxtil Elizabeth S.A Fab 2	Têxtil	2.405	607	75	Rib. Pinhalzinho
15	Sumaré	Texcolor S.A	Têxtil	1.469	587	60	Rib. Quilombo
16	Americana	União Fabril de Americana Ltda	Têxtil	730	548	25	Rib. Quilombo
17	Americana	Tinturaria Ind. Wal Man Ltda	Tinturaria	526	526	0	Rib. Quilombo
18	Americana	Tecelagem Jolitex Ltda	Têxtil	494	494	0	Rib. Quilombo
19	Americana	Anhanguera Beneficiadora de Tecidos Ltda	Têxtil	487	487	0	Rib. Quilombo
20	Campinas	Ashland Resinas Sintéticas Ltda	Química	474	474	0	Rib. Quilombo
21	Nova Odessa	Sociedade Anônima Têxtil Nova Odessa	Têxtil	629	471	25	Rib. Quilombo
22	Campinas	Companhia Antártica Paulista	Bebida	358	358	0	Rib. Anhumas
23	Piracicaba	Ind. de Papel Simão S.A	Papel	3.546	345	90	Rio Piracicaba
24	Itatiba	Pabreu Cia. Ind. de Tecidos Finos	Têxtil	1.106	310	72	Rib. Pinhalzinho
25	Paulínia	Bann Química S.A	Química	1.010	280	72	Infiltra no solo
26	Paulínia	Petróleo Brasileiro S.A- Petrobrás -Replan	Petroquímica	2.693	271	90	Rio Atibaia
27	Americana	Tinturaria e Estamparia Primor Ltda	Tinturaria	326	244	25	Rib. Quilombo
28	Itatiba	Têxtil Elizabeth Fab.1	Têxtil	563	216	62	Rib. Pinhalzinho
29	Campinas	Companhia Leco de Produtos Alimentícios	Alimentícia	190	190	0	Af. Rib. Anhumas
30	Valinhos	Rigesa S.A Papel Papelão e Embalagens	Papel	1.252	138	89	Rib. Pinheiros
31	Paulínia	J. Bresler S.A Ind de Papel e Papelão	Papel	484	109	77	Rio Atibaia
32	Itatiba	Têxtil Duomo S.A	Têxtil	419	108	74	Cor Barra Funda af do Rib. Pinheiros
Total				140.286	28.580		

Fonte: CETESB (1991, apud SMA, 1994).

#### 4.1.2 - Pontos de Amostragem

Os pontos de captação de água de abastecimento das principais cidades da bacia foram escolhidos como locais para a amostragem de água superficial e sedimento. Foram escolhidos três pontos no rio Piracicaba (captações de Americana, Piracicaba e futura captação de Santa Bárbara D'Oeste), dois no rio Atibaia (captações de Campinas e Sumaré), um no rio Jaguari (captação de Limeira) e um local considerado Controle (Ribeirão dos Pinhais -Represa do Tatu) que desemboca no rio Jaguari, próximo à captação de Limeira. Estes locais podem ser visualizados nas Figuras 4.1 e 4.2.

#### 4.1.3 - Coleta e preparo das amostras

As amostras de água foram coletadas nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96, nos canais de captação das estações de tratamento de água. Estas foram transportadas para o laboratório em galões de 20 litros e mantidas sob refrigeração até o início dos testes. Para análise da concentração de nutrientes, uma parte destas amostras foi acondicionada em frascos de polietileno e congelada até o momento da análise. Quanto à análise de metais, as amostras também foram acondicionadas em frascos de polietileno, fixadas com ácido nítrico concentrado (5ml/1000ml de amostra) e conservadas em geladeira a 4<sup>o</sup>C para posterior análise.

Para as coletas das amostras de sedimento foram escolhidas áreas de remanso, locais estes onde ocorre maior acumulação de material.

As amostras de sedimento foram obtidas com auxílio de uma draga Van Veen, acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em caixas de isopor para transporte até o laboratório, onde foram mantidas em geladeira a 4<sup>o</sup>C até o início dos testes.

O período de armazenamento das amostras de sedimento não ultrapassou uma semana após a coleta, conforme recomendado pela literatura (HILL et al, 1993).

Com auxílio de um sensor de qualidade de água (Horiba-U-10), foram realizadas medidas "in situ" de pH, condutividade, turbidez, oxigênio dissolvido e temperatura para as amostras de água e pH do sedimento dos diferentes locais.

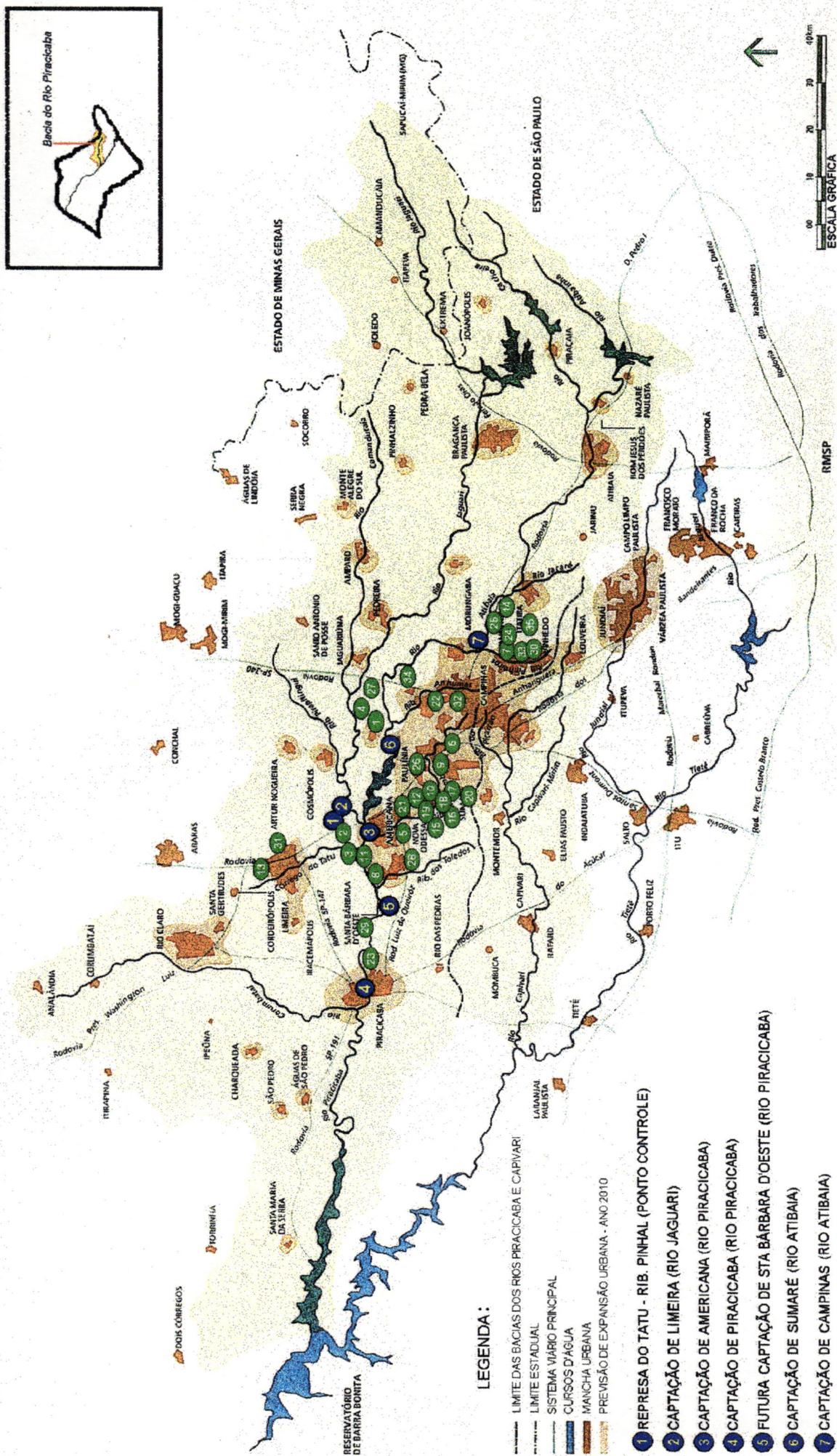


FIGURA 4.1- Pontos de amostragem na bacia do rio Piracicaba e principais indústrias poluidoras (●)  
 Fonte: P.I.R.P,1992 ; SMA, 1994

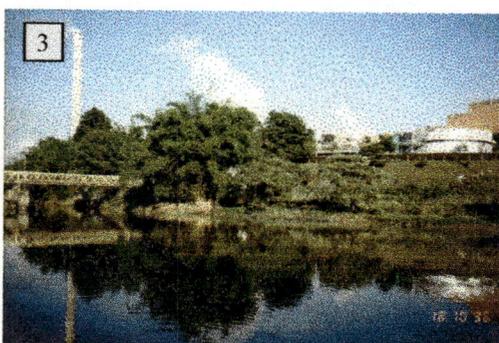
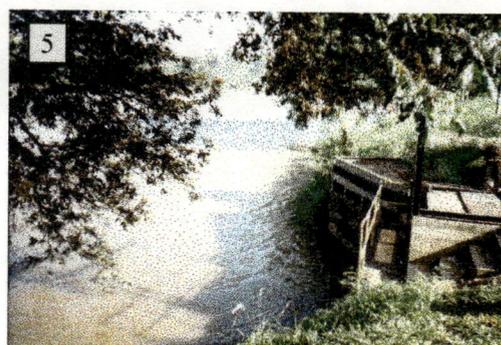


FIGURA 4.2 - Pontos de amostragem na bacia do rio Piracicaba: 1- Represa do Tatu (Ribeirão dos Pinhais - Controle), 2- Rio Jaguari, capt de Limeira, 3- Rio Piracicaba, capt de Americana, 4 - Rio Piracicaba, capt. de Santa Bárbara D'Oeste, 5- Rio Piracicaba, capt Piracicaba, 6- Rio Atibaia, capt de Campinas, 7 - Rio Atibaia, capt de Sumaré.

## 4.2 - Coleta e manutenção dos organismos teste

### 4.2.1 - *Chironomus xanthus*

#### a) Manutenção

As primeiras desovas de *C. xanthus* foram provenientes de tanques de piscicultura (CEPTA-IBAMA, Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura, Pirassununga) conforme observações e testes realizados por FREGADOLLI (1996). O autor desenvolveu o método de captura das desovas com objetivo de utilizar as larvas como alimento para peixes.

Um viveiro de cerca de 350m<sup>2</sup> de área útil, foi adubado com esterco de galinha e preenchido com água até um nível de 30 a 40 cm. Segmentos de bambu seco de aproximadamente 50 a 60cm de comprimento foram colocados no viveiro de forma que uma parte destes ficassem em contato com a superfície da água. Estes segmentos funcionaram como substrato para ovoposição das fêmeas de *C. xanthus*. (Figura 4.3) . Esta operação foi realizada durante a tarde e na manhã seguinte, os segmentos de bambu foram retirados juntamente com as desovas agregadas sobre eles. As desovas foram então transportadas para o laboratório.

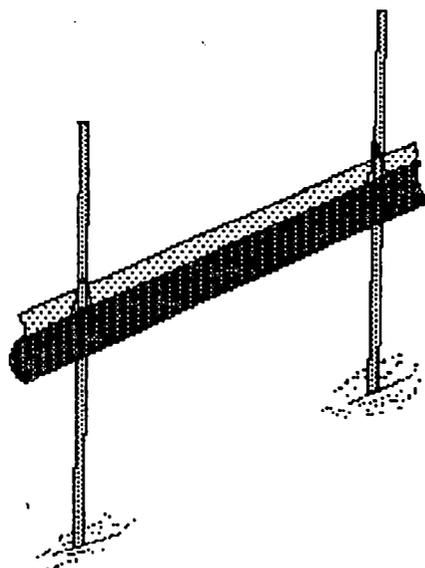


FIGURA 4.3 - Desenho esquemático para coleta de quironomídeos no campo

Inicialmente, após a eclosão em laboratório, as larvas foram transferidas para bandejas plásticas com sedimento esterilizado em autoclave do próprio local de coleta, e mantidas sob circuito fechado, em sala com temperatura variando de 22 a 25°C, em regime claro/escuro com fotoperíodo de 12 horas (Figura 4.4).

Os organismos foram alimentados com esterco de galinha fermentado, até que emergissem os primeiros adultos, os quais se acasalaram e deram origem a novas desovas. As primeiras desovas obtidas em laboratório foram individualizadas e acompanhadas até a emergência dos adultos, os quais foram utilizados para identificação taxonômica da espécie.

A partir destes resultados, a metodologia de manutenção dos organismos adotada no presente trabalho, baseou-se principalmente em estudos realizados por STRIXINO (1980) e STRIXINO & STRIXINO (1982), dos quais foram obtidas informações, tais como o tamanho das bandejas, a forma de captura dos adultos, o número adequado de organismos a serem mantidos por bandeja, o volume de água adequado e sistema de aeração contínua.

As modificações adotadas no presente estudo incluem a introdução de uma camada de areia no fundo das bandejas e a adoção da ração Tetramin e algas como alimento para o primeiro ínstar. A granulometria deste substrato é apresentada na Tabela 4.3.

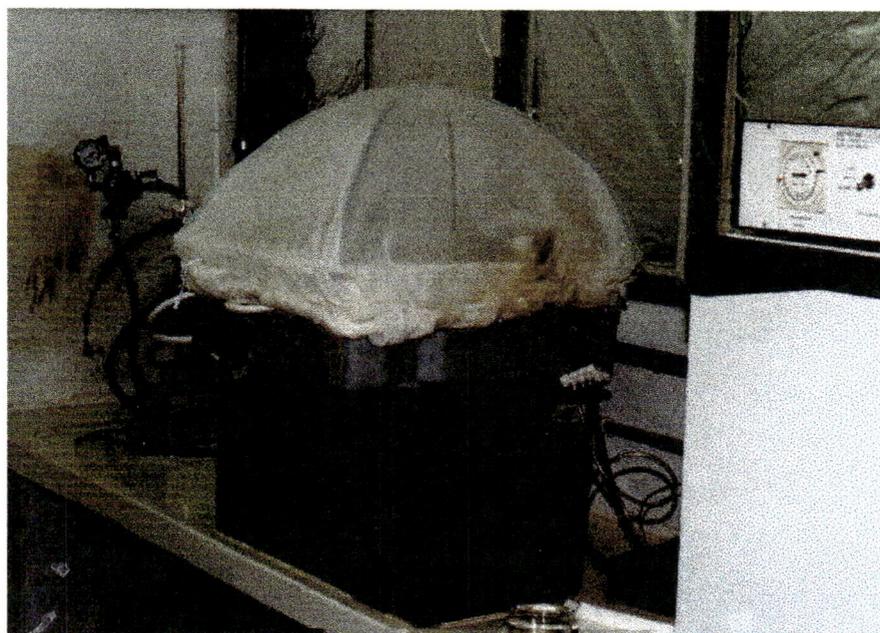
Para cultivo, as desovas foram depositadas em placas de petri contendo água de manutenção até a eclosão das larvas e posterior abandono da mucilagem gelatinosa. Em seguida, um total de 100 larvas recém-eclodidas foram transferidas para bandejas plásticas de 45x35x6 cm de tamanho, contendo uma camada de areia esterilizada e 4 litros de água de manutenção.

Como alimento são adicionadas  $10^5$  céls/ml de uma mistura de algas (somente no primeiro dia) e a ração de peixes TETRAMIN na proporção de 0,04 mg/ml SSV/dia (sólidos suspensos voláteis). Esta proporção de ração é a mesma utilizada na manutenção de *Chironomus tentans* (espécie utilizada como organismo-teste pela USEPA).

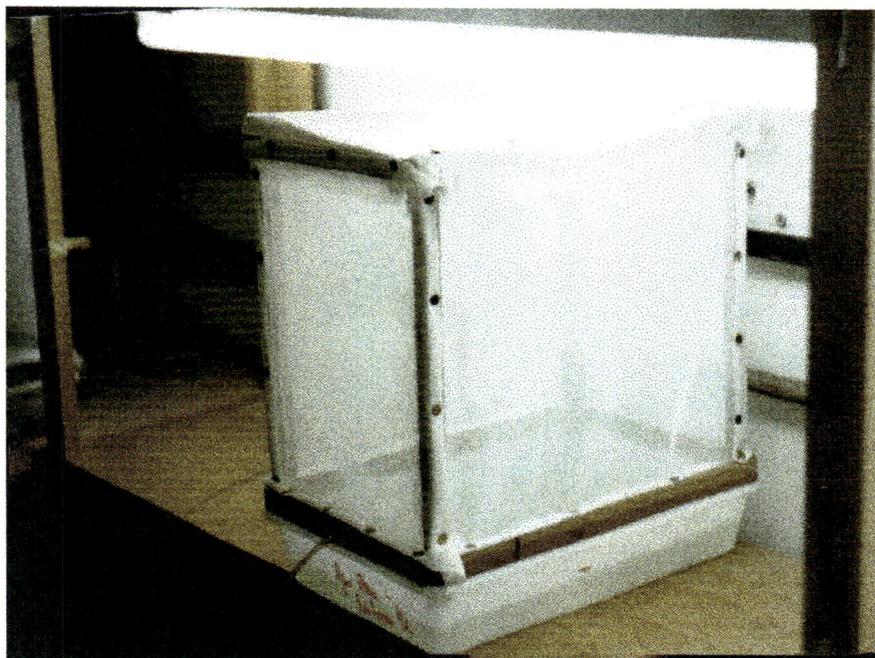
O sistema foi mantido sob aeração contínua em sala com temperatura variando de 23 a 25 °C, fotoperíodo de 12 horas sendo coberto por gaiolas de nylon para retenção dos adultos ao final do desenvolvimento larval (Figura 4.5).

TABELA 4.3 - Granulometria do substrato utilizado no cultivo de *C. xanthus*

Peneira (mm)	Porcentagem (%)
1,000	1,0
0,500	8,0
0,250	50,0
0,105	40,0
0,053	0,5
Silte e Argila	0,5



**FIGURA 4.4-** Bandeja de cultivo de *C. xanthus* em circuito fechado



**FIGURA. 4.5 -Bandeja de cultivo de *C. xanthus* em laboratório**

**b) - Determinação da influência da qualidade do alimento na duração do desenvolvimento de *Chironomus xanthus***

Visando a otimização na manutenção desta espécie em laboratório e o estabelecimento do tempo de desenvolvimento de cada ínstar, foram testados dois tipos de rações, uma para aves e a outra para peixes (TETRAMIN). Com base nos trabalhos realizados por STRIXINO (1980) e STRIXINO & STRIXINO (1982) inicialmente testou-se também um outro tipo de ração para aves contendo o antibiótico Avemicina, mas esta metodologia foi descartada, visto que o objetivo da manutenção dos organismos de *C.xanthus* seria a utilização destes em ensaios de toxicidade e o uso do antibiótico poderia alterar o resultado dos testes, já que não se conhece a ação deste sobre os organismos. A composição básica destas rações encontra-se na Tabela 4.4.

A partir de uma única desova foram separadas, em réplicas, 100 larvas recém-eclodidas para cada experimento, as quais foram mantidas em bandejas contendo 4 litros de água de manutenção (Represa do Broa),  $10^5$  cels/ml de algas , 1,0g da ração

de aves/semana , e 0,04mg/ml SSV/dia de TETRAMIN, e estas foram mantidas sob aeração contínua.

Diariamente foram retirados 3 exemplares de cada bandeja e fixados em álcool 70% para posterior realização das medidas de comprimento total do corpo, largura e comprimento da cabeça. Este procedimento foi efetuado durante aproximadamente 15 dias, ou até o início da emergência dos adultos.

#### 4.2.2 - *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*

##### a) Manutenção

Os exemplares iniciais para o cultivo destas espécies foram obtidos no laboratório da Companhia Estadual de Tecnologia e Saneamento Básico de São Paulo- CETESB/SP, as quais são mantidos rotineiramente.

A manutenção destes organismos nos laboratórios de Ecotoxicologia - Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA/USP) e Laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Biologia e Ecologia Evolutiva (DEBE) da UFSCar, seguiu basicamente a metodologia utilizada pela CETESB, diferindo apenas em alguns aspectos, tais como a fonte de água de manutenção e a adição de *Chlamydomonas reinhardi* e *Monoraphidium pusillum*, além de *Selenastrum capricornutum* como fonte alimentar. A água de manutenção foi obtida de um poço artesiano na UFSCar.

Estas metodologias encontram-se descritas nas normas ABNT, NBR 12 713/1993a (*D. similis*) e CETESB, 1991b, (*C. dubia*).

TABELA 4.4 - Composição básica das rações

Ração para Aves	Ração para peixes - TETRAMIN
Proteína bruta - 13,0%	Farinha de algas marinhas
Extrato etéreo - 2,0%	Farinha de soja
Matéria fibrosa - 9,0%	Lecitina de soja
Matéria mineral - 12,0%	Óleo de soja degomado
Cálcio - 1,5%	Arroz quebrado
Fósforo - 0,4%	Etoxiquin
Vitamina A - 4000 UI/Kg	Farinha de camarão
Vitamina B <sub>12</sub> - 8 mcg/Kg	Gordura animal estabilizada
Vitamina D <sub>3</sub> - 900UI/Kg	Farinha de peixe
Vitamina E - 5UI/Kg	Germen de trigo
Vitamina K - 800 mcg/Kg	Levedo seco de tórula
Antioxidante - 100 mcg/Kg	Proteína de batata
Ácido pantotênico - 4mg/Kg	Farinha de aveia
Colina - 200 mg/Kg	Sortitol
Ácido fólico - 180 mcg/Kg	Gelatina
Niacina - 5mg/Kg	Enriquecimento por Kg do produto: Vitamina C 440mg
Riboflavina - 2mg/kg	
Cobre - 20mg/Kg	
Manganês - 80mg/Kg	
Zinco - 60mg/kg	
Iodo - 1300 mcg/Kg	
Furazolidona - 50 mg/Kg	

#### 4.2.3 - *Ceriodaphnia silvestrii*

##### a) Manutenção

Os organismos desta espécie foram coletados nos tanques de cultivo de plâncton do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da UFSCar.

A manutenção em laboratório foi realizada utilizando-se a mesma água do local de coleta (poço artesiano, isento de contaminantes), e a alimentação a mesma utilizada para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*.

### 4.3 - Testes de toxicidade aguda com as amostras de sedimento

#### a) *Chironomus xanthus*

Os testes de toxicidade com sedimento realizados em laboratório tiveram por finalidade estimar o efeito de substâncias tóxicas contidas no sedimento, as quais podem estar disponíveis aos organismos-teste.

Com amostras de sedimento pode-se avaliar este efeito submetendo os organismos às amostras de elutriado, à água intersticial ou mesmo ao sedimento total. Para os testes realizados no presente trabalho, adotou-se a metodologia do sedimento total.

A metodologia utilizada nos testes agudos com *Chironomus xanthus*, foi a recomendada pela USEPA, (1994), em que se utiliza a proporção de 1:4 sedimento/água.

As combinações utilizadas para os diferentes ínstares larvais foram as seguintes:

2<sup>o</sup> ínstar - 60g sedimento e 240 ml de água do próprio local de coleta e  
10 organismos por béquer, em trélicas.

3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> ínstares - 60g sedimento e 240 ml de água do próprio local de coleta e  
6 organismos por béquer com trélicas.

Estas combinações foram preparadas um dia antes de se introduzirem os organismos, para que ocorresse a sedimentação.

A duração dos testes foi de 96 horas, sem aeração, com alimentação somente no primeiro dia e sem renovação da água. Os frascos foram mantidos em sala com temperatura variando de 22 a 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

Decorrido este período, foi feita a contagem dos organismos vivos, com auxílio de peneiras de 0,053mm e 0,50mm de abertura de malha. Medidas de pH, temperatura, condutividade e dureza foram realizadas no início e final dos experimentos.

#### **b) *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii***

A metodologia empregada para os testes agudos e crônicos com estes organismos foi a utilizada pela USEPA (1994), em que se utiliza a proporção de 1:4 de sedimento/água de diluição.

Um dia antes de iniciar os testes, foram pesados 20g de sedimento, adicionando-se 80ml de água do próprio local de coleta. Este procedimento é essencial para que ocorra a sedimentação do material. Os béqueres foram colocados em câmara incubadora com variação de temperatura de 22 a 25<sup>0</sup>C e fotoperíodo de 12 horas.

Após 24 horas, foram introduzidos 5 organismos por béquer com 4 réplicas. A duração do teste foi de 48 horas, sem renovação da solução, efetuando-se a contagem dos organismos vivos após este período.

Foram realizadas medidas de pH, condutividade, dureza e temperatura no início e no término dos experimentos.

### **4.4 - Testes de Toxicidade crônica com as amostras de sedimento**

#### **a) *Chironomus xanthus***

A metodologia utilizada foi baseada no procedimento utilizado para os testes realizados com *Chironomus tentans* por GIESY et al (1988) e NEBEKER et al, (1984).

Um dia antes de iniciar os testes, em béqueres de 1000ml de volume, foram pesados, em réplicas, 200g de sedimento e adicionados 800ml de água do próprio

local de coleta. Os béqueres foram mantidos em sala com temperatura variando de 22 a 25<sup>o</sup>C, fotoperíodo de 12 horas e sob aeração contínua.

Após 24 horas, foram introduzidos 10 organismos do 2<sup>o</sup> instar por béquer.

Diariamente adicionava-se ração Tetramin na proporção de 0,04mg/ml SSV/dia e a cada dois dias, efetuava-se medidas dos parâmetros físicos e químicos (oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, pH e temperatura) com auxílio de um sensor de qualidade de água (Horiba-U-10).

A duração dos testes variou entre 10- 13 dias dependendo do parâmetro de avaliação final adotado, ou seja, para análise de sobrevivência a duração dos testes foi de 10 dias. Entretanto para o parâmetro porcentagem de emergência a duração do teste foi maior, pois houve variação no tempo para cada amostra testada.

#### **b) *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii***

Os testes de toxicidade crônica foi preparado pesando-se 20g de sedimento e adicionando-se 80ml de água do próprio local de coleta. Após 24 horas, foram adicionados 5 organismos de *C. silvestrii* e 4 de *D. similis* por béquer, com idade entre 6 e 24 horas. Os experimentos foram realizados em réplicas.

A renovação de 1/3 da água dos béqueres foi efetuada a cada 2 dias, tomando-se o cuidado de não revolver o sedimento. A cada troca de água foram feitas medidas de comprimento do corpo dos cladóceros com auxílio de câmara clara da forma apresentada na Figura 4.6.

Foram obtidos também os valores de pH, temperatura, condutividade e dureza da água no início e final dos testes.

A duração dos testes foi a do período necessário para a obtenção da 3<sup>a</sup> ninhada, isto é, três reproduções sucessivas.

Os organismos foram alimentados com uma suspensão de algas clorofíceas na concentração de 10<sup>5</sup> céls/ml incluindo *Monoraphidium pusillum*, *Chlamydomonas reinhardi* e *Selenastrum capricornutum* e um alimento composto, constituído de extrato de levedura e ração de peixe fermentado em uma proporção de 13mg SSV/ml.

Todos os frascos foram mantidos em câmara incubadora com temperatura variando de 22 a 25<sup>o</sup>C, e regime de 12 horas.

Os parâmetros de avaliação analisados nestes testes foram crescimento do corpo, fecundidade e sobrevivência dos organismos.

As curvas de crescimento do corpo foram obtidas segundo a expressão de VON BERTALANFFY, cujos parâmetros foram determinados através da transformação FORD-WALFORD, com auxílio do programa Excel Versão 7.0. Esta expressão é representada da seguinte forma:

$$L = L_{\infty} [ 1 - e^{-k(t-t_0)} ]$$

onde: L = comprimento em um determinado tempo t, expresso em mm

$L_{\infty}$  = comprimento máximo que em média, os indivíduos podem atingir e para o qual a curva tende assintoticamente

k = constante relacionada com a taxa de crescimento

e = base de logaritmo neperiano

$t_0$  = incremento de crescimento normalizado

#### 4.5 - Testes de toxicidade aguda com as amostras de água

##### a) *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Ceriodaphnia silvestrii*

A finalidade de um teste de toxicidade aguda é avaliar a letalidade ou imobilidade dos organismos submetidos a um curto período de exposição. Ao se testar uma substância ou efluente qualquer considerado potencialmente tóxico, estabelece-se uma faixa inicial de concentrações dentro da qual obtém os valores de CE50.

Nos ensaios realizados com a água superficial dos diferentes locais de amostragem, os organismos foram expostos à água sem diluição, ou seja 100%.

Fêmeas ovadas de *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii* mantidas em culturas e alimentadas com uma proporção de algas na

concentração de  $10^5$  céls/ml , foram separadas no dia anterior aos testes, para obtenção de neonatas com idade entre 6 e 24 horas.

Para os testes agudos foram utilizados 10 organismos, com duas réplicas, em béqueres ou tubos de ensaio contendo 20 ml de solução para cada amostra. A duração dos testes foi de 48 horas, efetuando-se a contagem dos organismos vivos após este período. Medidas de pH, temperatura, condutividade e dureza foram realizadas no início e final dos testes.

Os organismos foram mantidos sem alimentação, à temperatura variando de 22 a 25<sup>o</sup>C, com fotoperíodo de 12 horas.

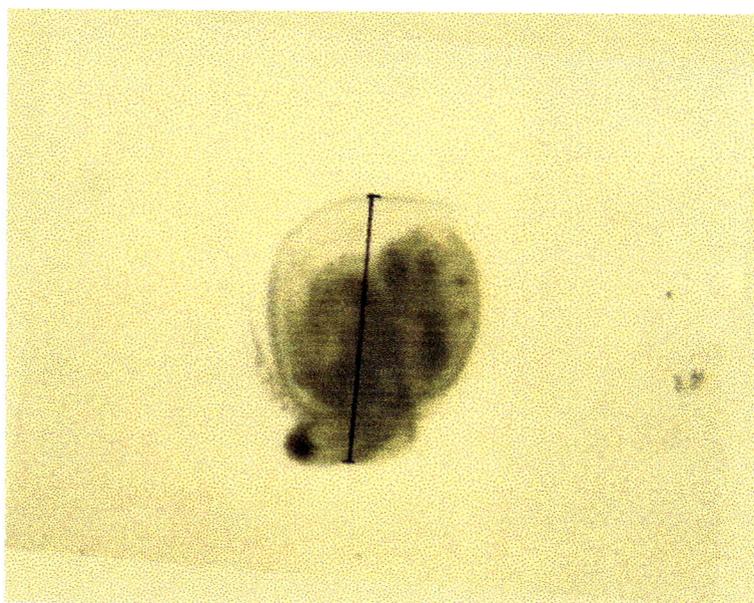


FIGURA 4.6 - Porção do corpo ilustrando como foram tomadas as medidas de comprimento total do corpo para os cladoceros.

#### 4.6 - Testes de toxicidade crônica com as amostras de água

##### a) *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Ceriodaphnia silvestrii*

Quanto aos testes crônicos com as amostras de água, 5 neonatas de *D similis* e 10 de *C. dubia* e *C. silvestrii* entre 6 e 24 horas de idade, foram colocadas em réplicas em frascos erlenmeyer contendo 200 ml de solução sem diluição,

(considerada como 100%), de cada local de amostragem. <sup>A cada dois dias</sup> Diariamente efetuou-se a troca da solução teste, tendo sido obtidas medidas do comprimento do corpo dos organismos utilizando-se o mesmo procedimento descrito para os testes com as amostras de sedimento, para posterior ajuste das curvas de crescimento do corpo utilizando a equação de Von Bertalanffy.

A alimentação dos organismos foi a mesma adotada para os testes de toxicidade com as amostras de sedimento

Os testes foram realizados em câmara incubadora mantidos à temperatura variando de 22 a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas.

Assim como para o sedimento a duração do teste foi de aproximadamente 14 dias, período necessário para a produção da 3ª ninhada tendo sido registrado o número de neonatas produzidas ao longo do experimento. As neonatas foram mantidas em cultura para o estabelecimento da curva de crescimento populacional. Esta variável biológica foi determinada através do cálculo da taxa intrínseca de crescimento populacional simbolizada por  $r$ , considerado como coeficiente instantâneo de crescimento populacional (ODUM, 1985). Este parâmetro foi calculado através da seguinte expressão:

$$r = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t}$$

onde:  $N_t$  = Número de indivíduos no tempo  $t$

$N_0$  = Número de indivíduos iniciais

$t$  = duração do experimento

Os dados de longevidade foram obtidos acompanhando-se a mortalidade dos organismos até o final do experimento.

As variáveis pH, condutividade e dureza total foram obtidas no início e final dos testes, segundo Standard Methods (1992), 18ª edição. Esporadicamente, foram realizadas medidas para estas variáveis no decorrer dos experimentos.

#### 4.7 - Testes de Sensibilidade das larvas de *Chironomus xanthus* ao KCl

A substância de referência empregada nestes testes foi o KCl, por ser a substância de referência comumente utilizada para outras espécies de Chironomidae já padronizadas, como por exemplo *Chironomus tentans*.

Todos os instares larvais foram testados, exceto o 1<sup>o</sup>, por ser de hábito planctônico. Com base em valores de CE50 obtidos em diferentes laboratórios nos EUA para *Chironomus tentans*, foi escolhida a faixa de concentração a ser inicialmente testada para esta substância.

As concentrações foram preparadas a partir de uma solução estoque, mantendo-se a proporção de 10 organismos/300ml de solução. A água de manutenção dos organismos foi a mesma utilizada como água de diluição (água da Represa do Broa)

Organismos dos 2<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> instar foram adicionados às diferentes concentrações da solução teste e mantidos por 96 horas e alimentados somente no primeiro dia. Os frascos foram mantidos em sala com temperatura variando de 22 a 25<sup>o</sup>C e fotoperíodo de 12 horas.

Após este período foi registrado o número de organismos mortos em cada concentração. Com estes resultados foram estabelecidos os valores de CE50, calculados através do programa computacional Trimmed Spearman - Karber. Para o estabelecimento das faixas de sensibilidade foi utilizado o modelo proposto pela USEPA (1994), o qual consiste na utilização dos valores médios de CE50 obtidos para cada instar, mais ou menos dois desvios padrão.

Neste modelo, calcula-se a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação para cada grupo de testes. Com estes dados estabelece-se o limite superior ( $x + 2.DP$ ) e o inferior ( $x - 2.DP$ ). Portanto, os valores de CE50 compreendidos dentro desta faixa são aproveitados, e conseqüentemente os que estiverem fora serão descartados.

Medidas de pH, condutividade e dureza foram realizadas no início e término dos experimentos para as diferentes concentrações testadas.

#### **4.8 - Análises químicas da água**

### **a) Análise simultânea de fósforo e nitrogênio total**

A técnica utilizada foi a proposta por VALDERRAMA (1981). Para permitir que os compostos nitrogenados sejam oxidados, é necessário utilizar um meio alcalino, para que o nitrato seja formado em conteúdo quantificável. Por outro lado, a oxidação de compostos fosfatados deve ser realizada em amostra acidificada. Na oxidação simultânea, a reação inicia-se em pH 9,7 e termina em pH entre 5 e 6. Estas condições são obtidas através de um sistema ácido bórico- hidróxido de sódio.

### **b) Nitrato, nitrito e íon amônio**

O nitrato é uma forma oxidada de nitrogênio, sendo um nutriente essencial para os seres autótrofos. Em alguns casos pode ser limitante para o crescimento do fitoplâncton. O princípio do método está baseado na redução do nitrato para nitrito através do cádmio amalgamado (MACKERETH et al, 1978).

O nitrito é uma substância de certa instabilidade na água, sendo um estado intermediário da oxidação do amônio a nitrato e da redução do nitrato a amônio. O método de análise é baseado no fato de que, em meio fortemente ácido, o  $\text{HNO}_2$  reage com sulfanilamida para formar um composto diazônico. Este reage com bicloridrato -N-(1-naftil)-etilonodiamina para formar um composto de coloração rósea, no qual será medida a absorbância por leitura em espectrofotômetro a 543nm (GOLTERMAN et al, 1978).

Quanto ao íon amônio, ou nitrogênio amoniacal, este é produzido pela desaminação dos compostos orgânicos que contêm nitrogênio, pela hidrólise da uréia ou pela redução do nitrato em condições de anaerobiose. O método utilizado é o descrito por KOROLEF (1976, apud GOLTERMAN et al, 1978), em que o amônio reage com fenol e hipocloreto de sódio em uma solução alcalina para formar uma solução de cor azul. A reação é catalizada pelo nitroprussiato de sódio. A absorbância resultante é proporcional ao amônio presente e é medida em espectrofotômetro a 630nm.

### c) Fosfato total dissolvido e fosfato inorgânico dissolvido

O fosfato total ocorre na água sob várias formas, basicamente os fosfatos orgânicos, os ortofosfatos e os fosfatos ácidos hidrolisáveis. Podem ocorrer de forma solúvel, em detritos particulados ou no corpo de organismos aquáticos. O princípio do método está descrito em GOLTERMAN et al, (1978), o qual resumidamente consiste na seguinte forma: em solução extremamente ácida, o ortofosfato forma um complexo amarelo com íons molibdato, no qual é reduzido para um complexo de coloração azulada. Se o ácido ascórbico é usado como agente redutor, a formação da cor azul é estimulada pelo antimônio. O fosfato ligado à substâncias orgânicas e os polifosfatos não reagem com o molibdato. Devem sofrer uma digestão com persulfato de potássio em altas temperaturas (120°C) e pressão (1 atm). O composto formado terá sua absorbância lida em espectrofotômetro a 882 nm.

O fosfato inorgânico, sob a forma de  $\text{PO}_4^{3-}$ , apresenta-se em pequena quantidade constituindo apenas uma porcentagem do fósforo total. O princípio do método, descrito por GOLTERMAN et al (1978) é o seguinte: em solução acidificada, o fosfato reage com molibdato para formar ácido fosfórico, o qual é então reduzido para um complexo de coloração azul cuja absorbância é determinada em espectrofotômetro a 882 nm.

### d) Metais

Para a determinação das concentrações dos metais ferro, chumbo, cobre, zinco, níquel, cádmio, manganês e cromo, utilizou-se a metodologia da digestão com ácido nítrico concentrado, segundo a metodologia descrita no Standard Methods - 18ª edição.

Para tanto tomou-se inicialmente 1 litro de amostra de água de cada ponto de amostragem, adicionou-se 5 ml de  $\text{HNO}_3$  e iniciou-se a digestão em capela até atingir um volume final de 20 a 30 ml, tomando-se o cuidado de não deixar secar as amostras. Em seguida este volume foi transferido para um frasco de menor volume e armazenadas para posterior leitura em espectrofotometria de absorção atômica.

### **e) Material em suspensão**

O material em suspensão na água compõe-se de duas frações: material inorgânico e orgânico. O método baseia-se na filtração de um volume conhecido de água em filtros MILIPORE (GFC), previamente calcinados em mufla a 480°C durante 30 minutos para eliminação de resíduos orgânicos.

Após a filtração a vácuo das amostras, os filtros são secos em estufa a 60°C até atingir um peso constante (aproximadamente 24 horas) e são novamente pesados. O peso final (constante) menos o peso inicial dos filtros corresponde ao material em suspensão, expresso em mg/l. Em seguida, os filtros são calcinados em mufla a 480°C por 2 horas e após resfriarem em dessecadores, são novamente pesados. A diferença dos valores encontrados, estima-se o conteúdo de matéria orgânica, uma vez que esta é totalmente consumida pelo calor durante a calcinação, restando apenas o material inorgânico, também expresso em mg/l. Esta técnica (gravimétrica) está descrita em TEIXEIRA et al (1965), TUNDISI (1969), com modificações baseadas em WETZEL & LIKENS (1991).

## **4.9 - Análises física e química do sedimento**

Quanto às amostras de sedimento, após a coleta de campo, alíquotas foram separadas em potes plásticos de 300ml de capacidade, as quais foram colocados para secar à temperatura ambiente. Posteriormente foram realizadas análises do teor de matéria orgânica e granulometria. Estas metodologias estão descritas a seguir:

### **a) Concentração de matéria orgânica**

As porcentagens de matéria orgânica e inorgânica do sedimento foram obtidas através do método de incineração. (Standard Methods, 18ª ed, 1992). Este consiste em se transferir 10g de sedimento seco para cápsulas de porcelana previamente

incineradas a 600°C (P<sub>0</sub>). O sedimento é levado à estufa mantida a 100°C durante 24 horas (P<sub>1</sub>) e depois incinerado a 600°C por duas horas (P<sub>2</sub>).

Os cálculos são expressos em porcentagem utilizando-se as seguintes equações.

$$\%MO = \frac{(P_1 - P_2) * 100}{PS}$$

$$\%MI = \frac{(P_2 - P_0) * 100}{PS}$$

onde: PS = peso seco em gramas (P<sub>1</sub>-P<sub>0</sub>)

P<sub>0</sub> = peso do cadinho vazio em gramas

P<sub>1</sub> = peso do cadinho com sedimento seco após estufa mantida a 100°C

P<sub>2</sub> = peso do cadinho com sedimento após incineração a 600°C

%MO = porcentagem de matéria orgânica

%MI = porcentagem de matéria inorgânica

## **b) Granulometria**

A análise granulométrica determina a distribuição percentual das partículas primárias, servindo assim, como um importante ensaio na identificação e classificação dos solos e sedimentos ( FERNANDES Jr, 1989).

No presente estudo a metodologia considerou-se uma das metodologias utilizadas no laboratório de Geociências da UFSCar, a qual consiste das seguintes etapas:

### **b.1 - Extração da matéria orgânica**

Em um frasco de peso conhecido, foram adicionados 10g de sedimento, e aproximadamente 100ml de água destilada (50% do volume dos frascos) e aquecidos em banho maria. A medida que a amostra sofria fervura adicionava-se H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogênio) até que toda a matéria orgânica fosse eliminada, tomando-se

o cuidado das amostras não secarem. Após a digestão, o volume do frasco foi completado com água destilada, e as amostras foram deixadas em repouso até a etapa posterior.

### **b.2 - Sifonação**

Após a completa decantação do sedimento, foi feita a sifonação do sobrenadante com auxílio de uma seringa (20ml). Durante este processo tomou-se o cuidado de não revolver o mesmo. A lavagem do sedimento com água destilada, foi repetida por várias vezes até que o sobrenadante se apresentasse bem límpido (indicativo de que todas as impurezas foram eliminadas).

### **b.3 - Determinação das frações granulométricas**

Após sifonação, as amostras foram levadas para a estufa e mantidas entre  $100^{\circ}\text{C}$  -  $110^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas para secagem e posterior pesagem. Após pesagem foram umedecidas e transferidas para o copo do homogeneizador, com água destilada, com sucessivas lavagens no frasco. Em seguida adicionou-se 10ml de NaOH -1N e agitou-se por 15 minutos. As amostras foram então transferidas para peneiras de 0,053mm (Granutest) para separação das frações maiores e menores que a malha da peneira.

A fração grosseira retida na peneira de 0,053mm foi transferida para um frasco de peso conhecido e levado para secar em estufa a  $100^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. A fração fina retida no fundo foi transferida para uma proveta de 1000ml e deixada em repouso também por 24 horas. Posteriormente foi homogeneizado com auxílio de um bastão de vidro durante 58 segundos, retirando-se imediatamente um volume correspondente a 20cm, marcado em uma pipeta volumétrica de 25ml o qual foi transferido para um frasco de peso conhecido e mantido em estufa a  $100^{\circ}\text{C}$  para secagem por 24 horas. Em seguida efetuou-se a pesagem para cálculo das porcentagens dos teores de silte e argila.

#### **4.10 - Análise Estatística**

##### **a) Avaliação da toxicidade aguda das amostras de sedimento**

Com a finalidade de se comparar o desempenho dos organismos-teste nos diferentes tratamentos, com o desempenho dos organismos do local Controle, o número médio de sobreviventes em cada tratamento, obtido nos testes agudos com as amostras de sedimento foram inicialmente testados quanto à normalidade e à homogeneidade. Para tanto utilizou-se os testes Q-quadrado e Hartley, respectivamente. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) - testes de Dunnett e Tukey (testes paramétricos), quando os dados apresentavam uma distribuição normal, e quando não, aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

O teste de Tukey realiza comparações entre os tratamentos, enquanto o teste de Dunnett compara o desempenho dos organismos dos diferentes tratamentos, com o desempenho dos organismos do local Controle. Esta metodologia foi baseada nas recomendações da USEPA (1985).

Para aplicação destes testes, foi utilizado o programa computacional "TOXSTAT 3.4" (GULLEY et al, 1994).

##### **b) Avaliação da toxicidade crônica das amostras de água e sedimento**

Os parâmetros de avaliação obtidos nos testes crônicos, ou seja, crescimento final do corpo, crescimento populacional, fecundidade, sobrevivência/emergência e longevidade, foram também testados quanto à normalidade e à homogeneidade. Para tanto utilizou-se o mesmo procedimento utilizado na avaliação da toxicidade aguda.

## 5- RESULTADOS

### 5.1 - Ciclo de vida de *Chironomus xanthus*

Com aproximadamente dois dias de vida após a emergência, os adultos de *C. xanthus* (Figuras 5.1 e 5.2) copulam e as fêmeas grávidas depositam os ovos reunidos numa massa gelatinosa na parede da bandeja, presas por um pedúnculo, mas em contato com a água. Cada fêmea deposita em média 500 - 600 ovos dispostos em forma de espiral. A ovoposição ocorre geralmente no início da manhã.

A matriz gelatinosa que envolve os ovos, em contato com a água, se expande, dando à massa ovígera um aspecto tubular recurvado. (Figura 5.3).

Decorridos um período aproximado de 44 a 48 horas, em incubação a 22 a 25°C, ocorre a eclosão das larvas (Figura 5.4), que medem em torno de  $0,099 \pm 0,005$  mm de largura da cabeça.

As larvas de *C. xanthus* iniciam a construção dos casulos a partir do 2º estágio de vida, pois durante o 1º permanecem entre as partículas do substrato, alimentando-se das bactérias geradas pela fermentação aeróbia. Este estágio é predominantemente planctônico. Na Figura 5.5 está representado o 2º estágio larval.

A Figura 5.6 ilustra o estágio de pupa já em fase de transformação em adulto, pois nota-se a extremidade da cabeça bem diferenciada.



FIGURA 5.1 - Fêmeas de *Chironomus xanthus* emergidas em laboratório  
(4,4 - 5,2 mm de comprimento total)



FIGURA 5.2 - Machos de *Chironomus xanthus* emergidos em laboratório  
(4,8 - 5,3 mm de comprimento total)

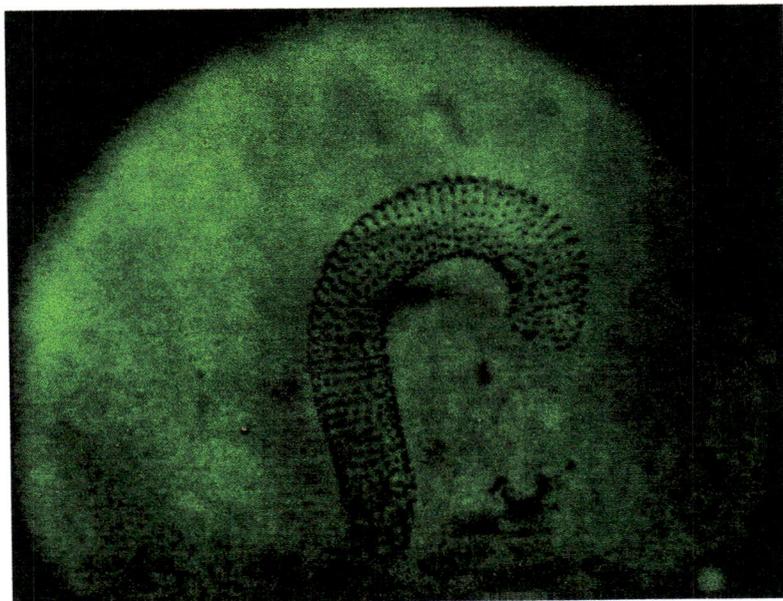


FIGURA 5.3- Desova de *Chironomus xanthus* obtida em laboratório ( $\pm 15\text{mm}$  de comprimento)



FIGURA 5.4 -Larvas recém-nascidas de *Chironomus xanthus* ( $0,099\pm 0,005$  mm de largura da cápsula cefálica)



FIGURA 5.5 - Larva de *Chironomus xanthus* no 2<sup>o</sup> ínstar ( $0,150 \pm 0,161$  mm de largura da cápsula cefálica)



FIGURA 5.6 - Estágio de pupa de *Chironomus xanthus* (5,0-6,0mm)

### 5.1.1 - Determinação da influência da qualidade do alimento no tempo de desenvolvimento de *Chironomus xanthus*

Na Tabela 5.1 pode-se notar que praticamente não houveram diferenças marcantes quanto à largura e comprimento total da cápsula cefálica entre os organismos cultivados nos dois tipos de alimento. Estas variáveis são as mais utilizadas para o estabelecimento da duração de cada ínstar. Nota-se também que a duração do ínstar II foi maior (1 dia) para os organismos cultivados com a ração de aves.

Quanto ao comprimento total do corpo, alguns organismos cultivados com Tetramin, apresentaram um tamanho final do corpo maior, para todos os instares. No entanto este parâmetro não reflete o real estágio de desenvolvimento destes organismos, e sim o comprimento e largura da cápsula cefálica.

TABELA 5.1 - Comprimento total do corpo (mm), largura e comprimento total da cápsula cefálica e duração máxima (em dias) de cada ínstar de *C. xanthus* cultivados com dois tipos de alimento.

	Ração para Aves				Tetramin			
	Lt	W	L	Dias	Lt	W	L	Dias
Ínstar I	0,82 - 1,47	0,085-0,097	0,088 - 0,096	4	0,82 - 1,57	0,085 -0,10	0,088 -0,094	4
Ínstar II	2,58 - 3,57	0,15 -0,156	0,160 - 0,166	3	2,87 - 4,31	0,150 -0,161	0,157 -0,159	2
Ínstar III	4,33 - 6,18	0,25 -0,26	0,26 - 0,27	2	5,12 - 6,60	0,258- 0,266	0,26 - 0,27	2
Ínstar IV	10,18 -12,7	0,43 - 0,46	0,43 - 0,45	5	9,37 - 15,1	0,42 - 0,46	0,43 - 0,46	5

W = Largura da cápsula cefálica

L = Comprimento total da capsula cefálica

Lt = Comprimento total do corpo

### 5.2 - Testes de toxicidade aguda com as amostras de sedimento

#### a) *Chironomus xanthus*

Nas Tabelas 5.2 a 5.7 estão representados os resultados dos testes de toxicidade aguda (96h) para *C. xanthus* nos diferentes instares do ciclo de vida, nas datas de amostragem, juntamente com os níveis de significância encontrados nos

testes estatísticos de Tukey e Dunnett. Os resultados destes testes encontram-se no Anexo A. A validação do teste é obtida quando considera-se uma sobrevivência mínima de 90% para os organismos do controle (USEPA, 1994).

Os resultados mostram que, os organismos expostos às amostras de sedimento coletadas no dia 17/10/96, apresentaram maior letalidade, para alguns pontos, do que para as amostras coletadas no dia 19/01/96. Por exemplo, organismos do 2<sup>o</sup> ínstar apresentaram 27,7% de sobrevivência, quando expostos ao sedimento do rio Atibaia proveniente das captações de Campinas e Sumaré coletados no dia 17/10/96, e no entanto apresentaram 100% e 99,3% de sobrevivência, respectivamente, quando expostos às amostras do dia 19/01/96. Evidencia-se ainda, que os organismos dos 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> ínstars também apresentaram letalidade para as amostras coletadas no dia 17/10/96 provenientes das captações de Campinas e Sumaré, mostrando assim que os pontos amostrados no rio Atibaia, foram os mais críticos nesta época do ano, causando até à letalidade total, como foi observado para o 3<sup>o</sup> ínstar, quando submetidos ao sedimento da captação de Campinas, e para o 4<sup>o</sup> ínstar quando expostos ao sedimento coletado na captação de Sumaré.

Ainda em relação às amostras coletadas no dia 17/10/96, nota-se que os organismos do 4<sup>o</sup> ínstar, quando expostos ao sedimento coletado nas captações de Piracicaba e Americana apresentaram sobrevivência de 44,4%, e 55,5% respectivamente, mostrando assim serem locais críticos nesta época do ano. Por outro lado, organismos do ínstar II quando expostos à amostra coletada na captação de Piracicaba, também nesta data, apresentaram 39% de mortalidade, indicando assim indicio de toxicidade também para este estágio do ciclo de vida.

Quanto aos ensaios realizados com as amostras coletadas no dia 19/01/96, somente os organismos do ínstar IV, quando submetidos às amostras coletadas nas captações de Limeira e Sumaré apresentaram toxicidade aguda, validados inclusive pelos testes estatísticos.

Ainda em relação aos ensaios realizados no dia 19/01/96, os organismos compreendidos no ínstar II, quando submetidos à amostra coletada na captação de Limeira apresentaram 56,6% de sobrevivência, podendo-se dizer que houve toxicidade aguda, porém este resultado não foi validado pelos testes estatísticos

justamente porque houve 30% de mortalidade para os organismos submetidos à amostra do local Controle. Estes resultados estão sumarizados na Tabela 5.12.

Ao se comparar as respostas entre as fases de desenvolvimento, pode-se dizer que os organismos do 4<sup>o</sup> e ínstar foram os mais sensíveis, pois apresentaram menor sobrevivência, quando comparados com as outras fases do ciclo de vida, para os ensaios realizados com amostras dos dois períodos de coleta. Isto talvez possa ser justificado, pelo fato de que nesta fase os organismos já estão se preparando para uma mudança de fase mais brusca, que é a fase de pupa.

Quanto às variáveis físicas e químicas houve um aumento nos valores de dureza e condutividade para quase todas as amostras nas duas datas de amostragem no término do teste, indicando que houve a liberação de íons do sedimento para a coluna d'água. A dureza foi bastante variável, ora aumentando, ora diminuindo

TABELA 5.2 - Teste de toxicidade aguda (96h) para o 2<sup>o</sup> ínstar de *C. xanthus* e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 19/01/96, na bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	Nº de Organismos		% Sobreviventes	pH		Condutivi. $\mu\text{S/cm}$		Temp. °C		Dureza mg/lCaCO <sub>3</sub>	
	i	f		i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	30	21	70	6,7	7,1	50	60	22	23	16	10
Limeira	30	17	56,6 **	6,2	6,1	120	210	22	23	22	61
Americana	30	23	76,6	6,5	6,4	160	154	22	23	22	16
Sta Bárbara	30	22	73,3	6,3	6,4	250	250	22	23	32	32
Piracicaba	30	30	100	6,0	6,3	240	240	22	23	38	29
Campinas	30	30	100	7,3	7,4	80	132	22	23	19	19
Sumaré	30	28	93,3	6,8	7,1	132	442	22	23	30	100

Legenda: i = inicial, f= final

\*\* = indicio de toxicidade

TABELA 5.3 - Teste de toxicidade aguda (96h) para o 3<sup>o</sup> ínstar de *C. xanthus* e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 19/01/96 na bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	Nº de Organismos		% Sobreviventes	pH		Condutivi. $\mu\text{S/cm}$		Temp. °C		Dureza mg/lCaCO <sub>3</sub>	
	i	f		i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	12	12	100	6,5	7,1	50	60	22	23	16	10
Limeira	12	11	91,6	6,5	6,7	120	170	22	23	22	48
Americana	12	12	100	6,5	7,0	174	180	22	23	22	30
Sta Bárbara	12	11	91,6	6,4	7,0	260	280	22	23	32	25
Piracicaba	12	12	100	6,6	7,0	240	240	22	23	38	29
Campinas	12	12	100	7,3	7,5	80	132	22	23	19	19
Sumaré	12	11	91,6	6,8	7,0	132	442	22	23	30	100

Legenda: i = inicial , f= final

TABELA 5.4 - Teste de toxicidade aguda (96h) para o 4<sup>o</sup> ínstar de *C. xanthus* e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 19/01/96 na bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	N <sup>o</sup> de Organismos		% Sobreviventes	pH		Condutivi. $\mu\text{S/cm}$		Temp. °C		Dureza mg/1CaCO <sub>3</sub>	
	i	f	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	12	11	91,6	6,7	6,9	60	70	22	23	15	13
Limeira	12	8	66,6 *	7,0	6,4	90	151	22	23	19	38
Americana	12	10	83,3	6,4	6,7	160	140	22	23	25	16
Sta Bárbara	12	11	91,6	6,2	6,5	250	250	22	23	33	26
Piracicaba	12	10	83,3	6,6	6,4	240	230	22	23	34	38
Campinas	12	12	100	7,3	7,3	80	132	22	23	16	19
Sumaré	12	6	50 *	6,8	7,2	132	447	22	23	25	99

Legenda: i = inicial, f= final

\* = diferença significativa encontrada nos testes estatísticos, em relação ao local Controle.

TABELA 5.5 - Teste de toxicidade aguda (96h) para o 2<sup>o</sup> ínstar de *C. xanthus* e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 17/10/96 na bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	N <sup>o</sup> de Organismos		% Sobreviventes	pH		Condutivi. $\mu\text{S/cm}$		Temp. °C		Dureza mg/1CaCO <sub>3</sub>	
	i	f	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	18	18	100	6,8	7,1	70	90	22	23	16	19
Limeira	18	18	100	7,1	7,4	250	280	22	23	22	85
Americana	18	17	94,4	6,7	6,9	180	170	22	23	22	35
Sta Bárbara	18	18	100	6,7	7,0	230	220	22	23	32	41
Piracicaba	18	11	61	6,7	7,1	250	240	22	23	32	54
Campinas	18	5	27,7 *	7,3	7,5	410	450	22	23	22	16
Sumaré	18	5	27,7 *	7,0	7,5	720	860	22	23	32	16

Legenda: i = inicial, f= final

\* = diferença significativa encontrada nos testes estatísticos, em relação ao local Controle.

TABELA 5.6 - Teste de toxicidade aguda (96h) para o 3<sup>o</sup> ínstar de *C. xanthus* e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 17/10/96 na bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	N <sup>o</sup> de Organismos		% Sobreviventes	pH		Condutivi. $\mu\text{S/cm}$		Temp °C		Dureza mg/1CaCO <sub>3</sub>	
	i	f	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	18	18	100	6,8	7,1	70	90	22	23	16	19
Limeira	18	14	77,7	7,1	7,4	250	280	22	23	22	85
Americana	18	15	83,3	6,7	6,9	180	170	22	23	22	35
Sta Bárbara	18	18	100	6,7	7,0	230	220	22	23	32	41
Piracicaba	18	17	94,4	6,7	7,1	250	240	22	23	32	54
Campinas	18	0	0 *	7,3	7,5	410	450	22	23	22	16
Sumaré	18	8	44,4 *	7,0	7,5	720	860	22	23	32	16

Legenda: i = inicial, f= final

\* = diferença significativa encontrada nos testes estatísticos, em relação ao local Controle.

TABELA 5.7- Teste de toxicidade aguda (96h) para o 4<sup>o</sup> ínstar de *C. xanthus* e variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento, no dia 17/10/96, na bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	N <sup>o</sup> de Organismos		% Sobreviventes	pH		Condutivi. $\mu$ S/cm		Temp.°C		Dureza mg/lCaCO <sub>3</sub>	
	i	f	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	18	18	100	6,8	7,1	70	90	22	23	16	19
Limeira	18	17	94,4	7,1	7,4	250	280	22	23	22	85
Americana	18	10	55,5 *	6,7	6,9	180	170	22	23	22	35
Sta Bárbara	18	17	94,4	6,7	7,0	230	220	22	23	32	41
Piracicaba	18	8	44,4 *	6,7	7,1	250	240	22	23	32	54
Campinas	18	8	44,4 *	7,3	7,5	410	450	22	23	22	16
Sumaré	18	0	0 *	7,0	7,5	720	860	22	23	32	16

Legenda: i = inicial, f= final

\* = diferença significativa encontrada nos testes estatísticos, em relação ao local Controle.

#### b) *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii*

Os testes de toxicidade aguda com as amostras de sedimento, utilizando os microcrustáceos *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii* como organismos-teste, foram realizados com as amostras coletadas nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96.

Nas Tabelas de 5.8 a 5.11 encontram-se os resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda (48horas) para *D. similis* e *C. silvestrii* expostas ao sedimento dos diferentes pontos na bacia do rio Piracicaba para as duas datas de amostragem, juntamente com os parâmetros físicos e químicos monitorados no início e final dos testes. Nestas tabelas encontram-se também os níveis de significância obtidos por meio do teste estatístico de Kruskal-Wallis. O resultado deste teste encontra-se no Anexo A.

Os resultados indicam que a maioria das amostras de sedimento testadas, não causou toxicidade aguda para os organismos testados. Evidencia-se porém 100% de letalidade de *C. silvestrii* para ambas as datas amostradas (19/01/96 e 17/10/96) e de *D. similis* no dia 17/10/96, quando expostas ao sedimento coletado na captação de Sumaré. Nota-se também que organismos de *C. silvestrii* apresentaram 70% de sobrevivência quando expostos à amostra de sedimento da captação de Limeira coletada no dia 17/10/96, indicando ser também um ponto crítico nesta data de amostragem. Estes valores estão sumarizados na Tabela 5.12.

Os valores de dureza e condutividade variaram ao término dos testes, ora aumentando ora diminuindo provavelmente devido a liberação de íons do sedimento para a coluna d'água, ou captação pelo sedimento. Também para os valores de pH, observaram-se variações, ora aumentando, ora diminuindo em relação ao inicial.

TABELA 5.8 - Teste de toxicidade aguda (48 horas) com amostras de sedimento para *D. similis* e variáveis físicas e químicas, no dia 12/04/95 na bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	Nº de organismos		% Sobrevivência	pH		Temp. (°C)		Condutivi. (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	i	f		i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	10	10	100	7.2	6,8	22	23	42	63	16	43
Limeira	10	10	100	7.2	6,7	22	23	62	189	14	88
Americana	10	10	100	7.2	7,3	22	23	93	142	19	67
Sta Bárbara	10	10	100	7.1	7,1	22	23	113	210	23	64
Piracicaba	10	10	100	7.1	7,1	22	23	111	240	25	70

TABELA 5.9 - Teste de toxicidade aguda (48 horas) com amostras de sedimento para *D. similis* e variáveis físicas e químicas, no dia 17/10/96 na bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	Nº de organismos		% de Sobrevivência	pH		Temp. (°C)		Condutivi. (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	i	f		i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	10	10	100	6,8	6,9	23	25	69	58	16	13
Limeira	10	10	100	7,0	7,5	23	25	86	142	22	35
Americana	10	10	100	6,7	7,1	23	25	144	178	22	34
Sta Bárbara	10	10	100	6,6	7,5	23	25	175	241	32	39
Piracicaba	10	10	100	7,1	7,6	23	25	180	338	32	76
Campinas	10	10	100	6,9	7,5	23	25	89	223	22	38
Sumaré	10	0	0 *	6,6	7,6	23	25	230	510	32	57

\* = diferença significativa encontrada nos testes estatísticos, em relação ao local Controle.

TABELA 5.10 - Teste de toxicidade aguda (48 horas) com amostras de sedimento para *C. silvestrii* e variáveis físicas e químicas, no dia 19/01/96 na bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	N <sup>o</sup> de organismos		% de Sobrevivência	pH		Temp. (°C)		Condutiv. (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	i	f	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	10	10	100	7,2	7,7	22	23	81	56	16	13
Limeira	10	10	100	7,0	6,5	22	23	92	146	16	51
Americana	10	10	100	7,0	6,9	22	23	157	92	16	30
Sta Bárbara	10	10	100	7,1	6,6	22	23	240	184	19	54
Piracicaba	10	10	100	7,1	7,0	22	23	232	162	19	48
Campinas	10	10	100	7,3	7,1	22	23	80	144	16	30
Sumaré	10	0	0 *	6,8	6,9	22	23	132	475	25	125

\* = diferença significativa encontrada nos testes estatísticos, em relação ao local Controle.

TABELA 5.11- Teste de toxicidade aguda (48 horas) com amostras de sedimento para *C. silvestrii* e variáveis físicas e químicas, no dia 17/10/96 na bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	N <sup>o</sup> de organismos		% de Sobrevivência	pH		Temp. (°C)		Condutiv. (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	i	f	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	20	18	90	6,9	6,0	23	24	50	50	16	16
Limeira	20	14	70	6,8	7,1	23	24	190	160	22	38
Americana	20	19	95	6,6	6,3	23	24	150	130	22	21
Sta Bárbara	20	19	95	6,8	7,2	23	24	180	200	32	34
Piracicaba	20	20	100	6,8	7,0	23	24	200	250	32	70
Campinas	20	18	90	6,9	7,5	23	24	340	400	22	8
Sumaré	20	0	0*	6,9	7,6	23	24	600	790	32	184

\* = diferença significativa encontrada nos testes estatísticos, em relação ao local Controle.

TABELA 5.12 - Resultados de toxicidade aguda (% de mortalidade) das amostras de sedimento para diferentes instares de *C. xanthus*, *C. silvestrii* e *D. similis*

Local	Toxicidade aguda												
	<i>C. xanthus</i>						<i>C. silvestrii</i>			<i>D. similis</i>			
	instar II		instar III		instar IV		1	2	1	1	2	1	2
Controle	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Limeira	43,4% **	NT	NT	33,4%*	NT	NT	NT	30% **	NT	NT	NT	NT	NT
Americana	NT	NT	NT	NT	44,5%*	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Sta Bárbara	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Piracicaba	NT	39% **	NT	NT	55,6%*	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
Campinas	NT	72,3%*	NT	100%*	55,6%*	NT	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT
Sumaré	NT	72,3%*	NT	55,6%*	100%*	50%*	100%*	100%*	100%*	100%*	-	100%*	100%*

Legenda: 1 = 19/01/96,

2 = 17/10/96

NT = Não tóxica

\* = diferença significativa comprovada pelos testes de Tukey e Dunnet

\*\* = indicio de toxicidade

### 5.3 - Testes de toxicidade crônica com as amostras de sedimento

#### 5.3.1 - *Chironomus xanthus*

Foram realizados três testes crônicos com as amostras de sedimento dos locais de amostragem, sendo um com amostras coletadas no dia 19/01/96 e dois com as amostras coletadas no dia 17/10/96. Os resultados destes testes encontram-se nas Tabelas 5.13 a 5.15, juntamente com os resultados dos testes estatísticos, os quais encontram-se no Anexo B. Os valores referentes as variáveis e físicas e químicas monitoradas durante os ensaios são apresentados nas Tabelas de 5.16 a 5.18.

Para os dois testes realizados com as amostras coletadas no dia 17/10/96, foram adotados diferentes parâmetros finais de avaliação, bem como diferentes tempos de exposição, ou seja, no teste 1 os organismos ficaram expostos ao sedimento durante 8 dias, e o parâmetro final de avaliação foi a sobrevivência. Este resultado pode ser visualizado na Tabela 5.13, na qual nota-se que os organismos expostos nas amostras coletadas nas captações de Piracicaba e Sumaré apresentaram sobrevivência de 50% e 65% respectivamente. Através dos testes estatísticos pode-se confirmar estes resultados, indicando assim toxicidade crônica para estes organismos. Por outro lado os organismos expostos à amostra proveniente da captação de Campinas apresentaram 70% de sobrevivência, o que pode indicar indício de toxicidade crônica, já que este valor não foi significativo quando aplicado o teste estatístico (ANEXO B- testes de Dunnett e Tukey). Porém cabe ressaltar que os organismos da amostra Controle apresentaram 85% de sobrevivência, o que pode justificar a não confirmação deste indício através da análise estatística.

Por outro lado, os resultados obtidos no teste 2 (Tabela 5.14), mostraram que os organismos não sofreram alterações em nenhum dos tratamentos, quando se estabeleceu a emergência como parâmetro final de avaliação. O que houve foi um retardamento de 2 dias na duração do desenvolvimento dos organismos mantidos na amostra de sedimento coletado na captação de Sumaré em relação aos outros tratamentos, ou seja, a maioria dos organismos emergiram após 11 dias de exposição, e os mantidos em sedimento deste local após 13 dias. Este retardamento não foi considerado como uma diferença significativa (ANEXO B - Teste de Kruskal-Wallis).

Quanto ao teste realizado com as amostras coletadas no dia 19/01/96 (Tabela 5.15), os resultados não foram muito satisfatórios, pois os organismos mantidos em sedimento do local controle, apresentaram alta mortalidade (55%), juntamente com aqueles mantidos em amostras de sedimento das captações de Piracicaba, Santa Bárbara e Sumaré. Vale ressaltar também que este teste foi realizado com organismos mantidos em laboratório no período em que não se tinha ainda estabelecido uma boa metodologia de manutenção, isto é, com o uso de uma camada de areia no fundo das bandejas e a adição da ração Tetramin como alimento.

Evidencia-se através dos dados listados nas Tabelas de 5.16 a 5.18, que os valores de condutividade e dureza foram alterados no final dos testes dada a liberação de íons do sedimento ou pelos produtos de excreção dos organismos. No entanto, não houve limitação quanto aos valores de oxigênio dissolvido, devido à aeração contínua adotada durante os testes.

TABELA 5.13- Valores de sobrevivência (%) no final do teste de toxicidade crônica (8 dias de exposição) realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba/SP, no dia 17/10/96, (teste 1).

Local	Número de Organismos		% Sobrevivência
	inicial	final	
Controle	20	17	85
Limeira	20	20	100
Americana	20	17	85
Sta Bárbara	20	18	90
Piracicaba	20	10	50 **
Campinas	20	14	70 •
Sumaré	20	13	65 **

\*\* = resultado considerado significativo através dos testes de Tukey e Dunnett

• = indicio de toxicidade

TABELA 5.14- Porcentagem de emergência de adultos (%) no final do teste de toxicidade crônica realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, no dia 17/10/96, (teste 2).

Local	Número de Organismos		Duração do desenvolvimento (dias)	% Emergência
	inicial	final	final	
Controle	20	20	11	100
Limeira	20	20	11	100
Americana	20	20	11	100
Sta Bárbara	20	16	11	80
Piracicaba	20	19	11	95
Campinas	20	18	11	90
Sumaré	20	20	13	100

TABELA 5.15- Valores de sobrevivência (%) no final do teste de toxicidade crônica (10 dias de exposição) realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, no dia 19/01/96.

Local	Número de Organismos		% Sobrevivência
	inicial	final	
Controle	20	11	55
Limeira	20	12	60
Americana	20	14	70
Sta Bárbara	20	11	55
Piracicaba	20	7	35
Campinas	20	13	65
Sumaré	20	11	55

TABELA 5.16- Variáveis físicas e químicas durante o teste de toxicidade crônica realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, no dia 17/10/96, (teste 1).

Local	Oxigênio Dissolvido (mg/l)		pH		Temperatura (°C)		Condutividade (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
Controle	6,4	6,6	6,9	7,5	22	21	61	104	16	51
Limeira	5,7	6,6	7,4	7,6	22	21	148	185	22	95
Americana	5,8	6,3	7,2	7,5	22	21	116	150	22	47
Sta Bárbara	5,6	6,4	7,1	7,4	22	21	168	195	32	47
Piracicaba	5,6	6,6	7,1	7,5	22	21	166	197	32	92
Campinas	4,4	6,2	7,5	7,7	22	21	241	274	22	120
Sumaré	5,0	5,4	7,6	8,0	22	21	498	600	32	225

TABELA 5.17- Variáveis físicas e químicas durante teste de toxicidade crônica realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, no dia 17/10/96, (teste 2).

Local	Oxigênio Dissolvido (mg/l)		pH		Temperatura (°C)		Condutividade (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
Controle	7,2	6,5	6,4	6,4	20	21	43	79	16	25
Limeira	6,7	6,4	7,2	6,6	20	21	94	100	22	47
Americana	6,6	8,0	6,6	6,4	20	21	108	139	22	66
Sta Bárbara	6,9	6,2	6,8	6,7	20	21	173	193	32	35
Piracicaba	7,5	8,0	6,3	7,0	20	21	176	231	32	92
Campinas	8,3	6,7	7,6	7,0	20	21	238	212	22	76
Sumaré	5,0	4,5	7,6	7,8	20	21	445	592	32	95

TABELA 5.18- Variáveis físicas e químicas durante teste de toxicidade crônica (10 dias) realizado com *C. xanthus* para o sedimento de 7 locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, no dia 19/01/96.

Local	Oxigênio Dissolvido (mg/l)		pH		Temperatura (°C)		Condutividade (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
Controle	6,3	6,0	7,2	8,3	22	23	81	42	16	7
Limeira	5,8	6,2	7,0	7,0	22	23	92	210	16	45
Americana	6,8	6,8	7,0	7,0	22	23	157	154	16	25
Sta Bárbara	5,6	6,6	7,1	6,7	22	23	240	250	19	35
Piracicaba	6,4	6,5	7,1	7,2	22	23	232	240	19	54
Campinas	5,8	7,4	7,3	6,6	22	23	80	132	16	51
Sumaré	5,3	5,5	6,8	6,8	22	23	132	442	25	128

### 5.3.2 - Testes crônicos com *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii*

Com as amostras de sedimento coletadas nos dias 12/04/95, 19/01/92<sup>5</sup> e 17/10/96, foram realizados os testes de toxicidade crônica com os organismos *D. similis* (organismo padrão) e *C. silvestrii* (organismo nativo). A realização destes testes justifica-se porque estes organismos apesar de serem tipicamente planctônicos, possuem características epibênticas em um certo período do dia.

As variáveis biológicas analisadas nestes testes foram : crescimento do corpo, fecundidade e sobrevivência dos organismos.

#### 5.3.2.1 - *Daphnia similis*

Para esta espécie não foi possível a realização dos ensaios com as amostras de sedimento das captações de Campinas e Sumaré no dia 12/04/95, devido a problemas de amostragem.

#### **a) Crescimento do corpo**

Na Figura 5.7 estão representadas as curvas de crescimento do corpo (ajustadas) para *D. similis* quando submetidas às amostras de sedimento provenientes dos locais de amostragem, para ambas as datas de amostragem. Nota-se que para as duas datas de amostragem, os organismos expostos ao sedimento coletado nas captações de Santa Bárbara e Piracicaba do dia 12/04/95 sofreram uma redução no tamanho do corpo em relação aos testados em sedimento do local Controle (Represa do Tatu). Estas alterações foram estatisticamente significativas pelo teste de Dunnett, os quais estão representados no ANEXO C.

Os organismos expostos à amostra proveniente da captação de Limeira, coletada no dia 12/04/95 também sofreram redução no tamanho do corpo, porém os dados não foram significativos, podendo-se dizer que neste caso houve indício de toxicidade crônica.

Em relação ao teste realizado com amostra coletada no dia 17/10/96 os organismos expostos à amostra de sedimento coletada na captação de Campinas sofreram redução no tamanho do corpo do 2<sup>o</sup> ao 10<sup>o</sup> dia (aproximadamente) de desenvolvimento, porém no final do ensaio os organismos atingiram tamanho próximo ao alcançado por aqueles submetidos à amostra do local Controle.

Quanto aos organismos expostos ao sedimento da captação de Sumaré, no dia 17/10/96, estes não sobreviveram, pois como mencionado, houve letalidade total neste local.

Na Figura 5.8, pode-se observar que, ao analisar todos os tratamentos, o maior crescimento ocorreu para os organismos mantidos no sedimento coletado na captação de Americana e o menor para os testados com o sedimento proveniente da captação de Santa Bárbara, do dia 12/04/95. Quanto as amostras coletadas no dia 17/10/96, os organismos mais afetados quanto ao crescimento do corpo foram os

expostos à amostra coletada na captação de Campinas. Porém a análise estatística mostrou que esta alteração não foi significativa, quando comparada aos organismos da amostra Controle (represa do Tatu). O resultado do teste de Dunnett encontra-se no ANEXO C.

A Tabela 5.19 mostra os valores da equação de Von Bertalanffy para ambos os testes. Evidencia-se uma diferença marcante entre os valores para ambos os ensaios. Isto pode ser justificado pelo fato de que, especificamente para os testes com as amostras do dia 17/10/96, os valores brutos obtidos não representam um ajuste do tipo logístico, e portanto a aplicação do modelo neste caso, não seria adequado, principalmente porque não foram obtidos os valores exatos de inflexão das curvas para a maioria dos tratamentos, daí o aspecto de reta nos gráficos.

Quanto aos valores em comprimento alcançados na primeira maturação, (Tabela 5.20) nota-se que ao se comparar os ensaios entre as datas de amostragem, os organismos em geral, mantidos em sedimento coletado no dia 17/10/96 reproduziram mais cedo, mas por outro lado cresceram menos, do que os cultivados em amostras de sedimento coletado no dia 12/04/95.

Os dados utilizados para a elaboração da curvas encontram-se no Apêndice 1a e 1b.

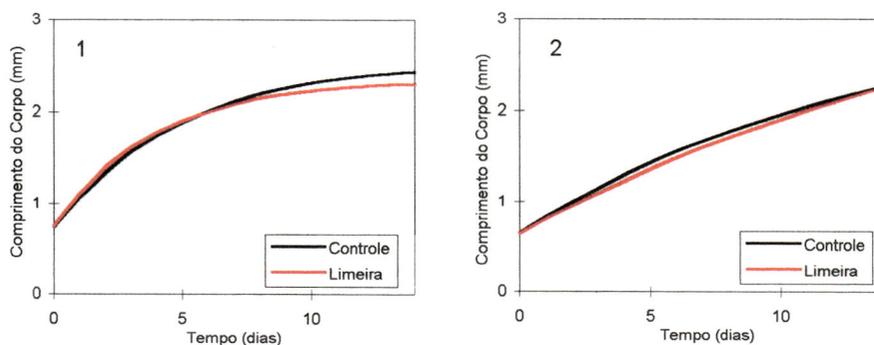


FIGURA 5.7 - Curvas ajustadas de crescimento individual de *D. similis* cultivada em amostras de sedimento dos diferentes locais de amostragem na bacia do rio Piracicaba, coletadas nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).

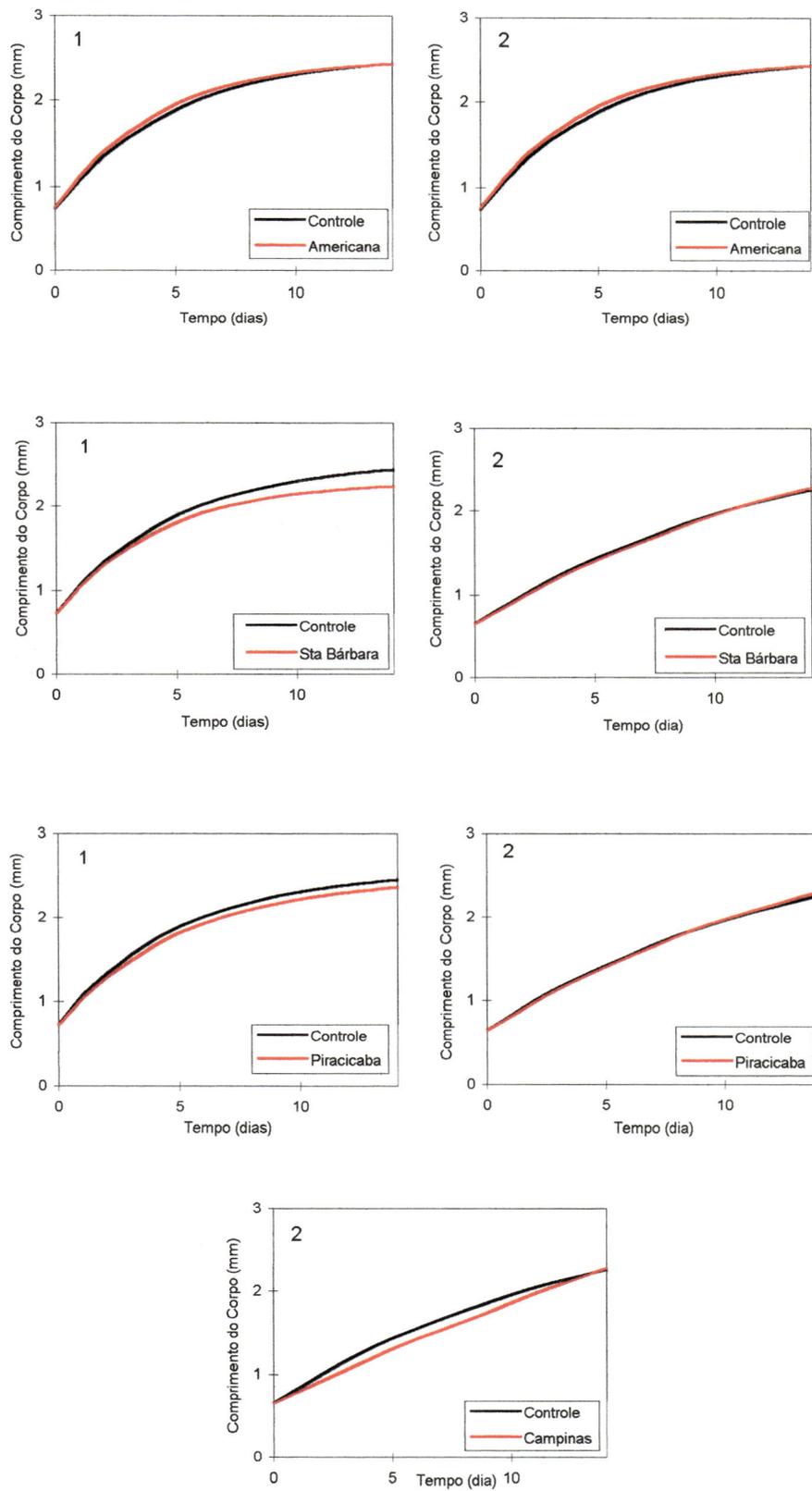


FIGURA 5.7. - Continuação.

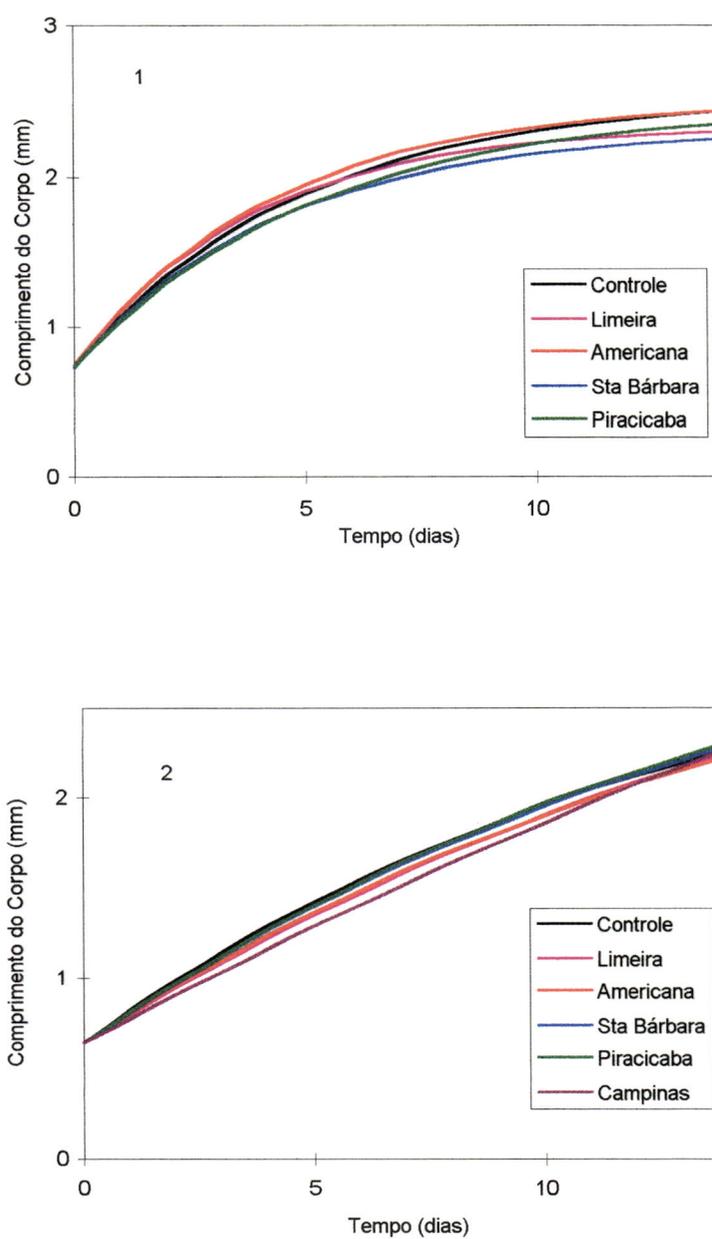


FIGURA 5.8 - Curvas que representam o crescimento individual de *D. similis* cultivada em amostras de sedimento provenientes dos pontos de amostragem da bacia do rio Piracicaba, nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).

TABELA 5.19 - Valores da equação de Von Bertalanffy e do coeficiente de correlação linear de Pearson (r) para as curvas que descrevem o crescimento do corpo para *D. similis* durante o teste de toxicidade crônica realizado com amostras de sedimento coletada em 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem.

Local	L <sub>∞</sub>		L <sub>0</sub>		K		T <sub>0</sub>		r	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Controle	2,54	2,85	0,73	0,64	0,20	0,09	-1,66	-3,19	0,994	0,984
Limeira	2,34	3,26	0,74	0,64	0,26	0,07	-1,46	-3,24	0,989	0,984
Americana	2,51	3,26	0,74	0,64	0,23	0,06	-1,51	-3,29	0,988	0,994
Sta Bárbara	2,31	3,14	0,73	0,64	0,23	0,07	-1,67	-3,02	0,996	0,988
Piracicaba	2,47	3,25	0,73	0,64	0,19	0,07	-1,81	-3,05	0,991	0,992
Campinas	-	4,52	-	0,64	-	0,04	-	-3,92	-	0,985
Sumaré	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: 1= 12/04/95

2 = 17/10/96

TABELA 5.20. - Comprimento médio das primíparas (mm) de *D. similis* cultivadas em amostra de sedimento coletadas em 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem.

Local	Tempo (dias)		Comprimento (mm) (±desvio padrão)	
	1	2	1	2
Controle	6	5	1,91±0,05	1,31±0,01
Limeira	4	5	1,55±0,13	1,20±0,01
Americana	6	5	1,98±0,10	1,20±0,02
Sta Bárbara	6	5	1,82±0,09	1,25±0,05
Piracicaba	6	5	1,86±0,11	1,26±0,05
Campinas	-	5	-	1,05±0,02
Sumaré	-	-	-	-

Legenda: 1= 12/04/95

2 = 17/10/96

## b) Fecundidade

Na Tabela 5.21 está representado o número total de neonatas produzidas durante os ensaios crônicos com as amostras de sedimento, para as datas de coleta. Evidencia-se que os organismos testados com as amostras coletadas nas captções de Limeira e Piracicaba do dia 17/10/96 e das captções de Limeira e Americana do dia 12/04/95, sofreram um redução na fecundidade quando comparados aos organismos testados em amostra de sedimento do local Controle. Estes resultados foram

estatisticamente significativos através do teste de Dunnett, os quais encontram-se listados no ANEXO C.

Particularmente para o ensaio com a amostra do dia 17/10/96, coletada na captação de Campinas, os organismos apresentaram uma fecundidade bem maior do que aquela apresentada para os expostos ao sedimento do local Controle (Represa de Tatu).

TABELA 5.21 - Número total de neonatas de *D. similis* durante os testes de toxicidade crônica (14 dias), para as datas de amostragem.

Local	ni	14 <sup>o</sup> dia	
		1	2
Controle	10	188	268
Limeira	10	80 **	138 **
Americana	10	99 **	238
Santa Bárbara	10	196	270
Piracicaba	10	210	142 **
Campinas	10	-	483
Sumaré	-	-	-

Legenda: 1= 12/04/95

2 = 17/10/96

ni = número de fêmeas no início do experimento

\*\* = diferenças de fecundidade estatisticamente significativas através do teste de Dunnett (ANOVA)

### c) Sobrevivência

A porcentagem de sobrevivência das fêmeas de *D. similis* durante os testes crônicos com as amostras de sedimento é apresentada na Tabela 5.22. Nota-se que esta variável não sofreu alteração para os ensaios realizados com as amostras de sedimento coletadas no dia 12/04/95. No entanto os organismos expostos às amostras coletadas nas captções de Limeira e Piracicaba no dia 17/10/96, apresentaram uma redução da sobrevivência, em valores considerados como letais (50 e 40% respectivamente de letalidade). Como consequência direta, houve uma redução na fecundidade (Tabela 5.21). Estes resultados foram significativos através dos testes estatísticos de Dunnett (amostras do dia 17/10/96) e teste de comparação múltipla de Kruskal-Wallis (amostra do dia 12/04/95), os quais estão representados no ANEXO C.

TABELA 5.22 - Sobrevivência (em %) de fêmeas de *D. similis* durante os testes de toxicidade crônica com amostras de sedimento da bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem.

Local	14 <sup>o</sup> dia				
	ni	n	lx(%)		n
			1	2	
Controle	10	8	80	9	90
Limeira	10	8	80	5	50 **
Americana	10	8	80	10	100
Santa Bárbara	10	9	90	10	100
Piracicaba	10	10	100	4	60 **
Campinas	10	-	-	9	90
Sumaré	10	-	-	0	-

Legenda: 1= 12/04/95, 2 = 17/10/96, ni = número inicial de indivíduos, n = número de sobreviventes, lx (%) = Porcentagem de sobreviventes

\*\* = valores significativos através do teste de Dunnett (ANOVA)

#### d) Variáveis físicas e químicas das soluções teste

Na Tabela 5.23 encontram-se os valores iniciais e finais de pH, condutividade, temperatura e dureza obtidos durante os testes crônicos com as amostras de sedimento, para as datas de amostragem. Durante os testes houve 4 renovações de água superficial, tomando-se sempre o cuidado de não revolver o sedimento. Nota-se que houve ora um aumento ora um decréscimo nos valores de condutividade, dureza e pH entre o início e final dos testes, para a maioria das amostras, fato este possivelmente decorrente da liberação ou da captação de íons do sedimento para a coluna d água.

TABELA 5.23 - Variáveis físicas e químicas analisadas durante os testes de toxicidade crônica realizados com *D. similis*, para as amostras de sedimento.

LOCAL	pH				TEMP. (°C)				CONDUTL. (µS/cm)				DUREZA (mg/l CaCO <sub>3</sub> )			
	1		2		1 e 2		1		2		1		2			
	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f		
Controle	7,3	6,9	6,8	6,9	230	25,0	42	81	69	58	16	31	16	13		
Limeira	7,3	7,0	7,0	7,5	23,0	25,0	62	206	86	142	14	96	22	35		
Americana	7,1	7,1	6,7	7,1	23,0	25,0	93	174	144	178	19	80	22	34		
Sta Bárbara	7,1	7,0	6,6	7,5	23,0	25,0	113	267	175	241	23	82	32	39		
Piracicaba	7,1	7,0	7,1	7,6	23,0	25,0	111	229	180	338	25	66	32	76		
Campinas	-	-	6,9	7,5	23,0	25,0	-	-	89	223	-	-	22	38		
Sumaré	-	-	6,6	7,6	23,0	25,0	-	-	230	510	-	-	32	57		

Legenda: 1= 12/04/95, 2 = 17/04/96

### 5.3.2.2 - *Ceriodaphnia silvestrii*

#### a) Crescimento do corpo

As curvas ajustadas para o crescimento do corpo de *C. silvestrii* quando expostas às amostras de sedimento dos locais amostrados, para ambas as datas de coleta, encontram-se ilustradas na Figura 5.9.

Os organismos expostos às amostras de sedimento coletadas na capturação de Sumaré foram os mais afetados em relação ao crescimento do corpo, já que todos os organismos morreram após o 5<sup>o</sup> dia de exposição, havendo portanto toxicidade aguda, e não sendo possível o estabelecimento das curvas de crescimento.

Para os ensaios realizados com *C. silvestrii* para as amostras de sedimento coletadas nas capturações de Americana, Santa Bárbara e Campinas foi observado um maior crescimento de corpo, quando comparados aos organismos do sedimento do local Controle (Represa do Tatu), até o 8<sup>o</sup> dia de exposição, para as amostras do dia 19/01/96. A partir deste período, e até o final do teste, os organismos expostos à amostra do local Controle tiveram um maior crescimento em relação aos cultivados com a água e sedimento das demais localidades (Figura 5.10).

Quanto aos ensaios realizados com amostras obtidas no dia 17/10/96, os organismos cultivados em sedimento e água coletados nas capturações de Limeira, Americana e Piracicaba, apresentaram redução no crescimento do corpo a partir do 5<sup>o</sup> dia de experimento.

Pode-se dizer que, para as amostras coletadas no dia 19/01/96, os cultivos realizados com as amostras de sedimento e água das capturações de Santa Bárbara, Campinas e Americana, e Piracicaba, Limeira e Americana no dia 17/10/96, sofreram alterações quanto ao crescimento do corpo. Estas alterações podem ser visualizadas através da Figura 5.10, as quais foram estatisticamente significativas através do teste de Dunnett (ANOVA). Os resultados destes testes encontram-se no ANEXO D.

Os valores da equação de Von Bertalanffy, encontram-se na Tabela 5.24, e o comprimento das primíparas na Tabela 5.25. Observa-se que não houve alterações entre os dois ensaios nem para os valores de  $L_{\infty}$  nem na idade da primeira

reprodução. Os dados utilizados na confecção de tais curvas encontram-se no Apêndice 1c e 1d.

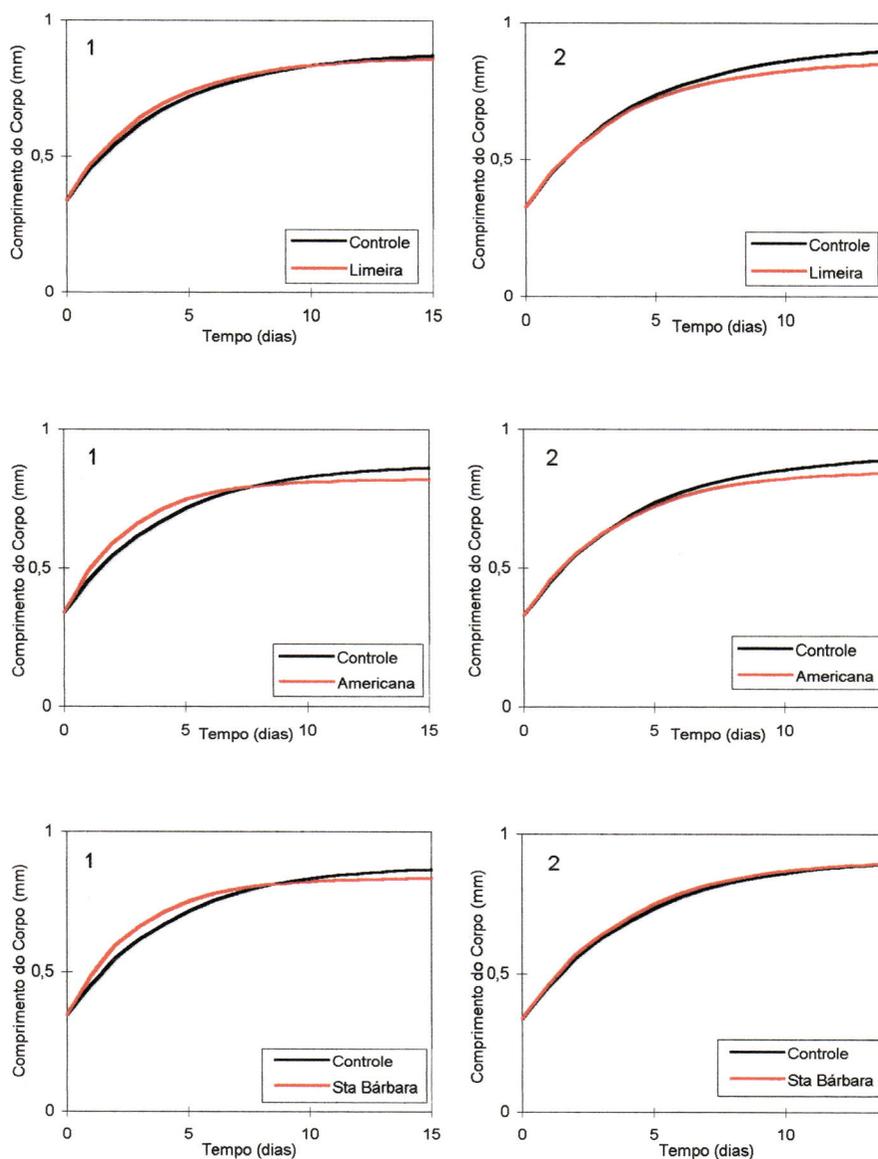


FIGURA 5.9 - Curvas ajustadas de crescimento individual para *C. silvestrii* cultivadas em amostras de sedimento dos diferentes pontos de amostragem da bacia do rio Piracicaba, coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).

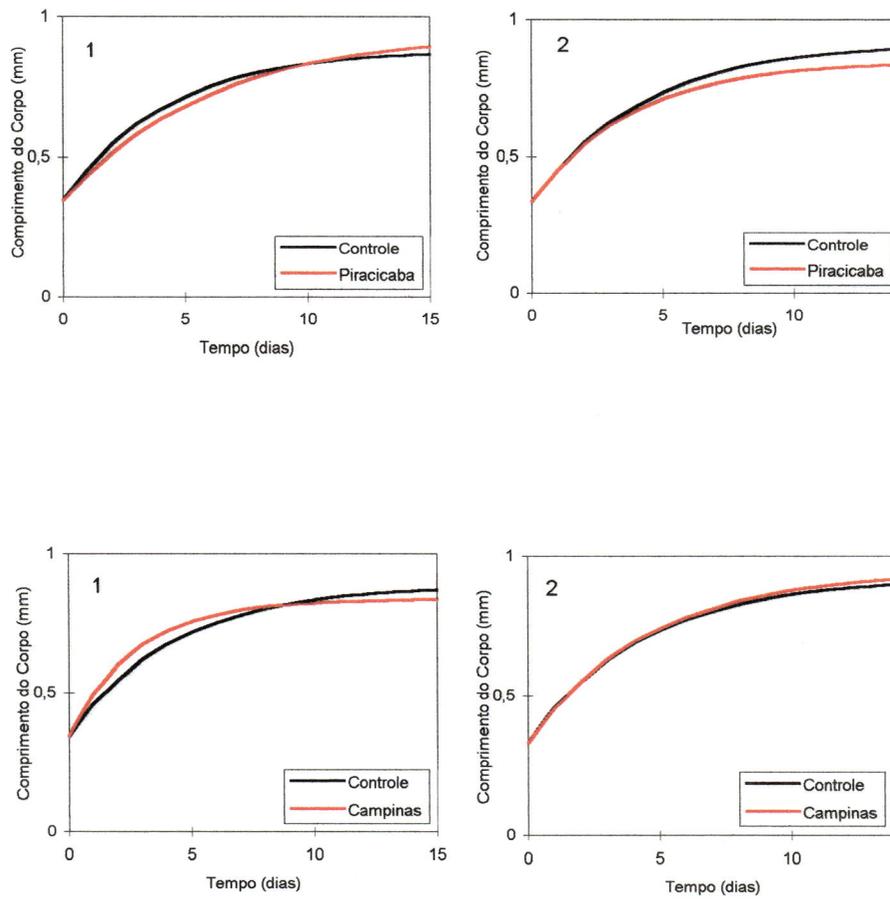


FIGURA 5.9.- Continuação

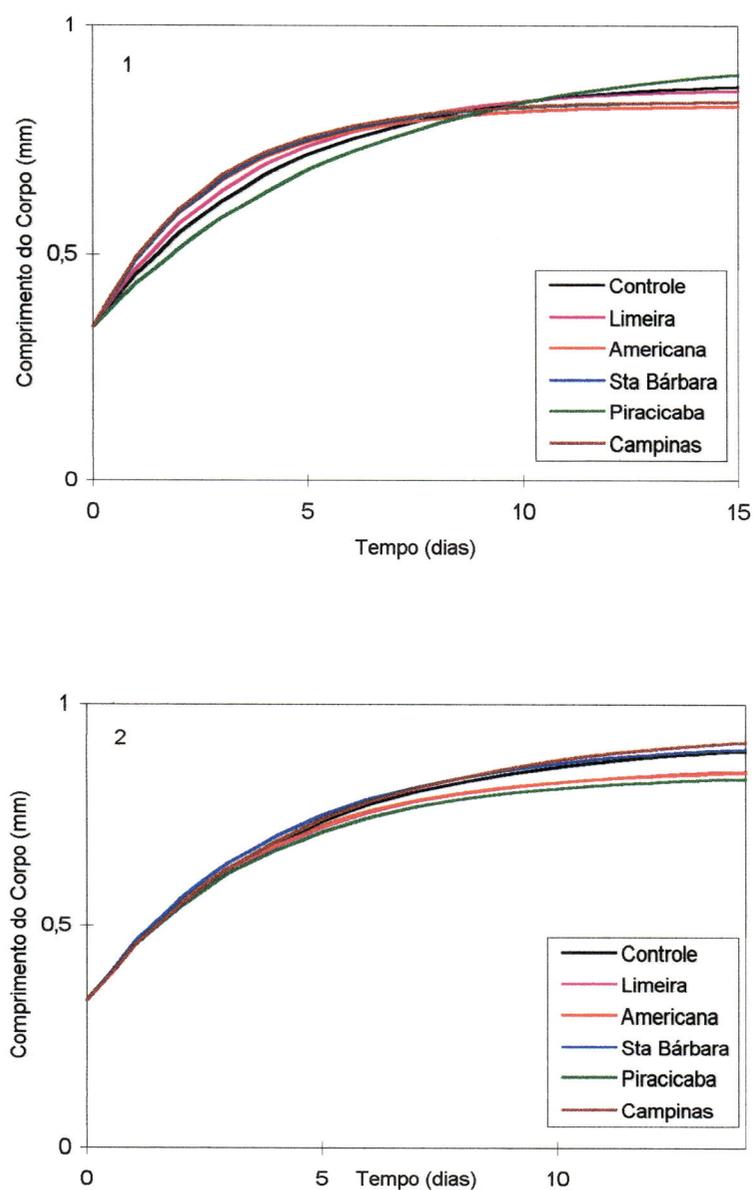


FIGURA 5.10 - Curvas que representam o crescimento individual de *C. silvestrii* cultivadas em amostras de sedimento proveniente de 6 pontos de amostragem da bacia do rio Piracicaba, nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).

TABELA 5.24-. Valores da equação de Von Bertalanffy e do coeficiente de correlação linear de Pearson (r) para as curvas que descrevem o crescimento do corpo para *C. silvestrii* durante o teste de toxicidade crônica realizado com amostras de sedimento coletadas em 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, para os dias 19/01/96 e 17/10/96.

Local	$L_{\infty}$		$L_0$		K		$T_0$		r	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Controle	0,88	0,91	0,34	0,33	0,23	0,23	-2,06	-1,92	0,984	0,989
Limeira	0,86	0,86	0,34	0,33	0,28	0,26	-1,79	-1,83	0,992	0,990
Americana	0,82	0,86	0,34	0,33	0,36	0,27	-1,47	-1,77	0,942	0,995
Sta Bárbara	0,83	0,91	0,34	0,33	0,35	0,25	-1,48	-1,79	0,887	0,985
Piracicaba	0,94	0,84	0,34	0,33	0,16	0,27	-2,69	-1,85	0,955	0,992
Campinas	0,83	0,94	0,34	0,33	0,37	0,22	-1,43	-1,96	0,979	0,993
Sumaré	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: 1= 19/01/96

2 = 17/10/96

TABELA 5.25- Comprimento médio das primíparas (mm) de *C. silvestrii* cultivadas em amostras de sedimento coletado em 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, nos dias 19/01/96 e 17/10/96.

Local	Tempo (dias)		Comprimento (mm) ( $\pm$ desvio padrão)	
	1	2	1	2
Controle	5	5	0,71 $\pm$ 0,03	0,69 $\pm$ 0,02
Limeira	5	5	0,72 $\pm$ 0,03	0,68 $\pm$ 0,03
Americana	5	5	0,72 $\pm$ 0,01	0,69 $\pm$ 0,02
Sta Bárbara	5	5	0,74 $\pm$ 0,03	0,74 $\pm$ 0,02
Piracicaba	5	5	0,69 $\pm$ 0,01	0,69 $\pm$ 0,02
Campinas	5	5	0,72 $\pm$ 0,01	0,71 $\pm$ 0,03
Sumaré	-	-	-	-

Legenda: 1= 19/01/96

2 = 17/10/96

### b) Fecundidade

Na Tabela 5.26 estão representados o número total de neonatas nascidas até a 3ª reprodução dos organismos de *C. silvestrii* expostos às amostras de sedimento de 7 pontos de amostragem na bacia do rio Piracicaba, para ambas as datas de amostragem.

Evidencia-se que para todos os locais testados, nos testes crônicos com as amostras coletadas no dia 17/10/96, ocorreu uma maior fecundidade, quando comparados aos testes com as amostras coletadas no dia 19/01/96. Nota-se também

que nos testes realizados com as amostras coletadas na captação de Campinas, para as duas coletas, ocorreu uma maior fecundidade em relação aos organismos da amostra do local Controle (Represa do Tatu).

Pode-se dizer que apenas os organismos expostos ao sedimento coletado na captação de Americana no dia 19/01/96 apresentaram alterações na fecundidade. Porém, a análise estatística (ANOVA - teste de Dunnett) mostrou que estes dados não foram significativamente diferentes daqueles encontrados para os organismos do local Controle. Pode-se dizer que houve um indício de toxicidade crônica, pois o valor de "T" para os organismos da captação de Americana foi próximo ( $T = 1.828$ ) ao valor crítico de Dunnett (2.83). Os resultados dos testes estatísticos encontram-se no ANEXO D.

TABELA 5.26- Número total de neonatas de *C. silvestrii* expostas às amostras de sedimento de 7 locais da bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem, durante os testes de toxicidade crônica (14 dias).

Local	ni	14 <sup>o</sup> dia	
		1	2
Controle	10	229	334
Limeira	10	195	374
Americana	10	123 •	313
Santa Bárbara	10	210	462
Piracicaba	10	189	347
Campinas	10	328	542
Sumaré	10	-	-

Legenda: 1= 19/01/96

2 = 17/10/96

ni = número de fêmeas no início do experimento

• = indício de toxicidade crônica

### c) Sobrevivência

Na Tabela 5.27 encontram-se os dados de sobrevivência dos organismos quando expostos às amostras de sedimento dos locais de amostragem para as duas datas de coleta.

Quanto aos testes com as amostras do dia 19/01/96, os organismos expostos às amostras de sedimento das captações de Americana e Limeira morreram durante o teste, nas proporções de 50% e 60%, respectivamente. Os resultados dos testes de

Dunnett mostraram que houve diferenças significativas para os organismos expostos à amostra da captação de Americana, e valores próximos ao crítico para os organismos da captação de Limeira, quando comparados aos do local Controle. O teste com a amostra da captação de Limeira pode ser considerado próximo a valores considerados crônicos, quanto à sobrevivência durante este tipo de teste.

Os resultados da análise estatística estão representados no ANEXO D, em que evidencia-se também a toxicidade crônica para os organismos expostos ao sedimento da captação de Sumaré.

Entretanto, no teste com as amostras do dia 17/10/96, apenas o teste com a amostra da captação de Sumaré apresentou diferença significativa, quanto à análise estatística. Para esta mesma data de amostragem os organismos expostos ao sedimento das captções de Americana e do local Controle morreram durante o teste, nas proporções (50% e 60% respectivamente), indicando assim serem estes locais também críticos quanto a toxicidade crônica.

Nota-se ainda que, para ambas as datas amostradas, a maior sobrevivência foi observada para os organismos expostos às amostras coletadas na captação de Campinas.

TABELA 5.27 - Sobrevivência (em %) de fêmeas de *C. silvestrii* durante os testes de toxicidade crônica com as amostras de sedimento da bacia do rio Piracicaba, para as datas amostradas.

Local	14 <sup>o</sup> dia				
	ni	n	lx(%)		lx(%)
			1	2	
Controle	10	9	90	6	60●
Limeira	10	6	60	9	90
Americana	10	5	50 **	5	50●
Santa Bárbara	10	7	70	8	80
Piracicaba	10	9	90	8	80
Campinas	10	10	100	9	90
Sumaré	10	0	- **	0	- **

Legenda: 1= 19/01/96, 2 = 17/10/96

ni = número inicial de indivíduos, n = número de sobreviventes lx (%) =  
Porcentagem de sobreviventes

\*\* = valores significativos de toxicidade crônica encontrados pelo teste de Dunnett

● = índice de toxicidade crônica

#### d) Variáveis físicas e químicas das soluções teste

Os valores das variáveis físicas e químicas monitoradas durante os testes crônicos com as amostras de sedimento estão representadas na Tabela 5.28. Foram realizadas 4 trocas de água, tomando-se sempre o cuidado de não revolver o sedimento.

As alterações nos valores de condutividade e dureza no final dos testes são devidas principalmente às liberações dos sais do sedimento para a coluna d água, e deve-se salientar que, para alguns tratamentos houve decréscimo desses valores no final do teste, fato este que poderá estar relacionado com a troca contínua de água (processo de lavagem do sedimento), ou mesmo com as características físicas do próprio sedimento, que pode captar íons da água.

Na Tabela 5.29 encontram-se sumarizados os resultados, dos testes de toxicidade crônica para os organismos testados, juntamente com os valores das variáveis biológicas utilizadas como parâmetros de avaliação. Observa-se que as amostras provenientes da captação de Sumaré foram as mais problemáticas, pois como apresentaram toxicidade aguda para os Cladocera, influenciaram todos os parâmetros de avaliação dos testes crônicos.

TABELA 5.28- Variáveis físicas e químicas analisadas durante os testes de toxicidade crônicos realizados com *C. silvestrii*, para as amostras de sedimento.

LOCAL	pH				TEMP. (°C)				CONDUTL. (µS/cm)				DUREZA (mg/l CaCO <sub>3</sub> )			
	1		2		1 e 2		1 e 2		1		2		1		2	
	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	7,2	7,9	6,9	7,3	230	23,0	81	53	50	51	16	16	16	16	18	18
Limeira	7,0	6,7	6,8	7,2	23,0	23,0	92	162	190	163	16	38	22	37	37	37
Americana	7,0	7,1	6,6	7,4	23,0	23,0	157	96	150	143	16	27	22	28	28	28
Sta Bárbara	7,1	6,8	6,8	7,3	23,0	23,0	240	177	180	195	19	56	32	37	37	37
Piracicaba	7,1	7,0	6,8	7,5	23,0	23,0	232	203	200	242	19	47	32	50	50	50
Campinas	7,3	7,3	6,9	7,5	23,0	23,0	80	143	340	404	16	34	22	45	45	45
Sumaré	6,8	7,1	6,9	-	23,0	-	132	474	600	-	26	124	32	-	-	-

Legenda: 1= 19/01/96, 2 =17/10/96

i= inicial, f= final

TABELA 5.29 - Resultados dos testes de toxicidade crônica com as amostras de sedimento para *C. xanthus*, *D. similis* e *C. silvestrii*.

Organismos	Toxicidade crônica														
	Crescimento do corpo				Fecundidade				Sobrevivência/Emergência						
	<i>D.similis</i>		<i>C.silvestrii</i>		<i>D.similis</i>		<i>C.silvestrii</i>		<i>D.similis</i>		<i>C.silvestrii</i>		<i>C.xanthus</i>		
Local	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2	2	
	(1) (2)														
Controle															•
Limeira				**	**	**			**	•					
Americana			**	**	**		•			**	•				
Sta Bárbara	**		**												
Piracicaba	**			**		**			**					**	
Campinas			**											**	
Sumaré	**	**	**	**	**	**	**	**	-	**	**	**	**	**	**

Legenda: 1= 19/01/96 e 12/04/95

2 =17/10/96

- teste não realizado

\*\* Locais que apresentaram toxicidade crônica, estatisticamente significantes.

• = indício de toxicidade crônica (não estatisticamente significativos)

#### 5.4 - Testes de toxicidade aguda com as amostras de água

Os testes de toxicidade aguda e crônica com as amostras de água utilizando os microcrustáceos *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* (espécies padrão) e *Ceriodaphnia silvestrii* (espécie nativa) como organismos teste, foram realizados com as amostras coletadas nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96.

##### 5.4.1 - *Ceriodaphnia silvestrii*

Os resultados dos testes de toxicidade aguda (48horas) para *Ceriodaphnia silvestrii* com as amostras de água, estão representados nas Tabelas 5.30 e 5.31 para os dias 19/01/96 e 17/10/96, respectivamente, juntamente com os valores das variáveis físicas e químicas monitoradas no início e final dos testes. Observa-se que não houve efeito tóxico agudo aos organismos-teste para as condições dos ensaios, pois nota-se uma sobrevivência maior que 50% para todas as amostras testadas, pois para validação de testes agudos utiliza-se o critério de no mínimo 90% de sobrevivência.

Observa-se também que não houve alterações quanto às variáveis físicas e químicas monitorados.

TABELA 5.30 - Número de organismos vivos e valores das principais variáveis físicas e químicas no teste de toxicidade aguda (48h) para *C. silvestrii* com as amostras de água coletadas em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba, no dia 19/01/96.

Local	Nº de organismos		% de Sobrevivência	pH		Temp.°C		Condutiv. (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	i	f	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	20	20	100	7,0	7,4	21,5	23,0	92	91	19	19
Limeira	20	20	100	7,1	7,0	21,5	23,0	113	115	19	19
Americana	20	20	100	6,7	7,5	21,0	23,0	170	185	29	32
S <sup>ta</sup> Bárbara	20	20	100	6,8	6,8	22,0	23,0	102	105	22	19
Piracicaba	20	20	100	6,8	6,8	22,0	23,0	287	265	45	45
Campinas	20	20	100	6,9	6,9	22,0	23,0	80	88	19	16
Sumaré	20	20	100	6,8	6,6	22,0	23,0	132	134	13	13

Legenda: i= inicial, f= final

TABELA 5.31 - Número de organismos vivos e valores das principais variáveis físicas e químicas no teste de toxicidade aguda (48h) para *C. silvestrii* com as amostras de água coletadas em 7 pontos na bacia do rio Piracicaba/SP no dia 17/10/96

Local	Nº de organismos		% de Sobrevivência	pH		Temp.(°C)		Condutiv. (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	i	f	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	20	20	100	6,8	7,8	21,5	23,0	69	73	19	19
Limeira	20	20	100	7,0	7,2	21,5	23,0	86	94	28	28
Americana	20	18	90	6,7	7,3	21,0	23,0	144	126	22	25
S <sup>ta</sup> Bárbara	20	19	95	6,6	7,0	22,0	23,0	175	183	32	32
Piracicaba	20	18	90	7,1	7,2	22,0	23,0	180	198	28	35
Campinas	20	20	100	6,9	7,8	22,0	23,0	89	99	19	22
Sumaré	20	20	100	6,6	7,4	22,0	23,0	230	240	28	32

Legenda: i= inicial, f= final

#### 5.4.2 - *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*

Os resultados dos testes de toxicidade aguda (48horas) para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* com as amostras de água coletadas no dia 12/04/95 e para *Daphnia similis* com as amostras do dia 17/10/96, estão representados nas Tabelas

5.32 e 5.33, juntamente com as variáveis físicas e químicas. Não foi possível a realização dos ensaios com as amostras provenientes da captação de Campinas e de Sumaré, no dia 12/04/95, com *Daphnia similis*, bem como para *Ceriodaphnia dubia* no dia 17/10/96, devido a problemas de amostragem.

Observa-se que não houve efeito tóxico agudo aos organismos-teste para as condições dos ensaios, pois os organismos apresentaram 100% de sobrevivência ao final dos testes para ambas as espécies.

TABELA 5.32- Número de organismos vivos e valores das principais variáveis físicas e químicas no teste de toxicidade aguda (48h) para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* com as amostras de água coletadas em 5 pontos na bacia do rio Piracicaba/SP, no dia 12/04/95.

Local	Nº de organismos		% de Sobrevivência	pH		Temp. (°C)		Condutiv. (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	i	f	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	20	20	100	6,5	6,9	21,5	23,0	46	51	14	16
Limeira	20	20	100	6,5	7,3	21,5	23,0	62	66	14	16
Americana	20	20	100	6,5	6,9	21,0	23,0	93	97	19	21
S <sup>ta</sup> Bárbara	20	20	100	6,3	7,0	22,0	23,0	122	128	21	25
Piracicaba	20	20	100	6,5	7,0	22,0	23,0	121	123	24	27

Legenda: i = inicial, f = final.

TABELA 5.33- Número de organismos vivos e valores das principais variáveis físicas e químicas no teste de toxicidade aguda (48h) para *Daphnia similis* com as amostras de água coletadas em 5 pontos na bacia do rio Piracicaba/SP, no dia 17/10/96.

Local	Nº de organismos		% de Sobrevivência	pH		Temp. (°C)		Condutiv. (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	i	f	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	20	20	100	6,8	7,8	21,5	23,0	69	73	19	19
Limeira	20	20	100	7,0	7,2	21,5	23,0	86	94	28	28
Americana	20	20	100	6,7	7,3	21,0	23,0	144	126	22	25
S <sup>ta</sup> Bárbara	20	20	100	6,6	7,0	22,0	23,0	175	183	32	32
Piracicaba	20	20	100	7,1	7,2	22,0	23,0	180	198	28	35
Campinas	20	20	100	6,9	7,8	22,0	23,0	89	99	19	22
Sumaré	20	20	100	6,6	7,4	22,0	23,0	230	240	28	32

## 5.5 - Testes de toxicidade crônica com as amostras de água

Nos testes de toxicidade crônica com as amostras de água foram determinados como parâmetros de avaliação, as variáveis biológicas: crescimento do corpo, crescimento populacional, fecundidade, longevidade e sobrevivência para as amostras testadas.

### 5.5.1 - *Daphnia similis*

#### a) Crescimento do corpo

O crescimento do corpo foi obtido através de medidas diárias nas alterações no tamanho do corpo dos organismos.

Nas Figuras de 5.11 e 5.12 estão representadas as curvas ajustadas de crescimento individual para *D. similis*, segundo o modelo de Von Bertalanffy.

Evidencia-se que os organismos sofreram uma redução no crescimento do corpo para todos os testes realizados com as amostras dos locais de captação coletadas no dia 17/10/96 quando comparados com o teste realizado com a amostra de água coletada no local Controle (Represa do Tatu). Estas diferenças são estatisticamente significativas, como verificado através da aplicação de testes estatísticos (ANEXO E).

Quanto ao teste realizado com as amostras coletadas no dia 12/04/95, os organismos testados com as amostras de água provenientes das captações de Limeira e Americana sofreram uma ligeira redução na taxa de crescimento apenas nos últimos dias do experimento. Já aqueles expostos à água das captações de Santa Bárbara e Piracicaba sofreram um redução a partir do 8<sup>o</sup> dia de idade. Porém os dados dos testes estatísticos (teste de Dunnett - ANEXO E) revelaram valores significativos para todas as amostras, quando comparadas a do local Controle (represa do Tatu).

Estas observações são ressaltadas na Figura 5.13 e da Tabela 5.34, em que os menores valores de  $L_{\infty}$  obtidos no teste com as amostras do dia 12/04/95, corresponderam justamente aos testes realizados com as amostras provenientes das

captações de Santa Bárbara e Piracicaba. Para as amostras coletadas no dia 17/10/96, o menor valor de  $L_{\infty}$  foi para o teste realizado com a amostra de água coletada na captação de Piracicaba. Na Tabela 5.34, encontram-se também os valores dos coeficientes de correlação linear de Pearson ( $r$ ), obtidos através da transformação Ford - Walford.

Cabe ressaltar que, devido a problemas de amostragem, não foi possível a realização dos testes crônicos com as amostras de água das captações de Campinas e Sumaré, coletadas no dia 12/04/95, porém a realização destes apenas com as amostras do dia 17/10/96, indicou que os organismos mantidos em teste com as águas destes locais sofreram uma redução no tamanho do corpo. No entanto é provável que a utilização do modelo de Von Bertalanffy para o ajuste das curvas destes locais não seja o melhor indicado, dado o valor de  $L_{\infty}$  obtido, especificamente para a amostra da captação de Campinas (valor muito elevado considerando o ciclo de vida destes organismos).

Na Tabela 5.35, encontram-se os valores em comprimento das primíparas, em que se observa que não houve diferenças marcantes quanto ao tamanho dos organismos quando testados com a água dos diferentes locais, para as datas amostradas.

Os valores relativos a estas curvas, encontram-se no Apêndice 2a e 2b.

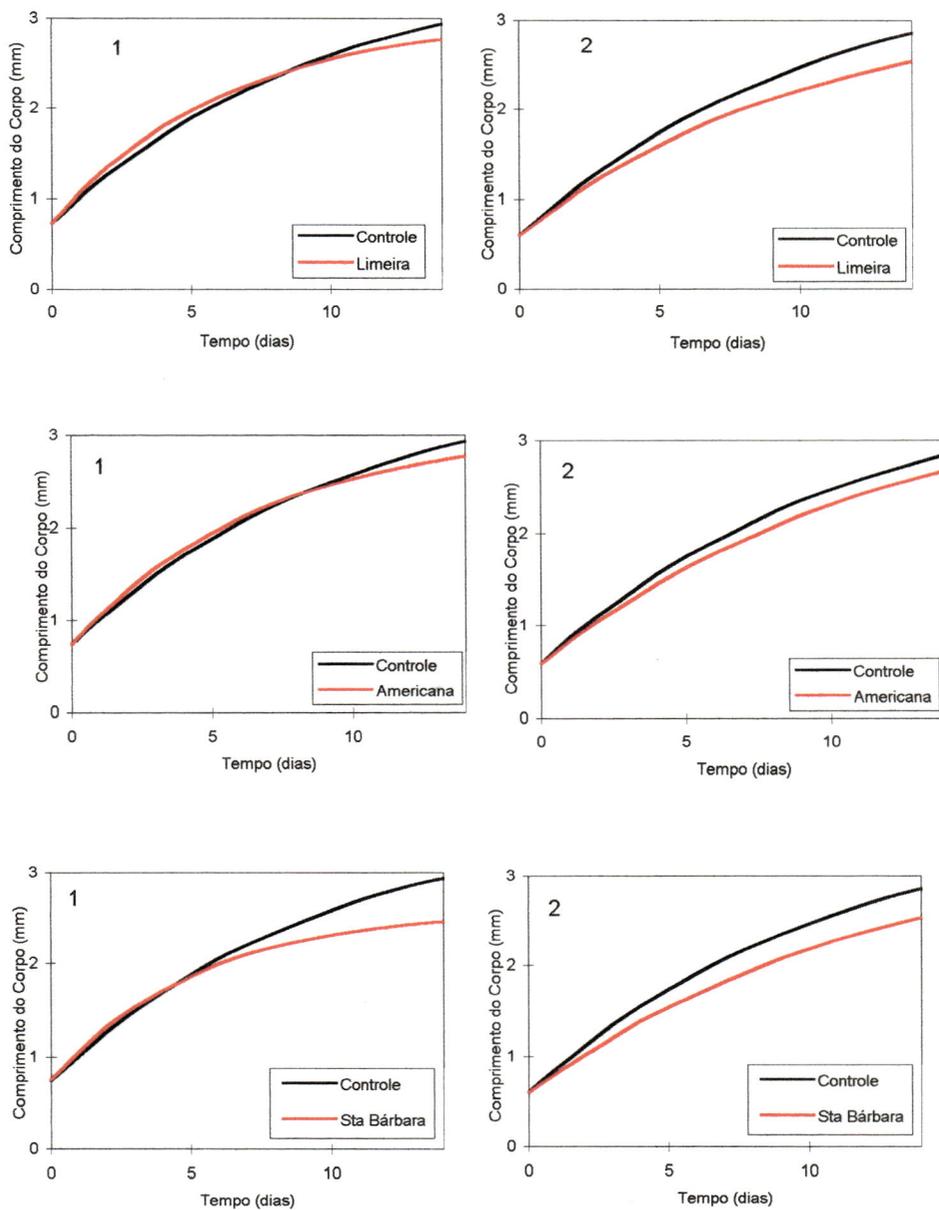


FIGURA 5.11.- Curvas de crescimento individual de *D. similis* cultivada em amostras de água dos locais de coleta nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2), da Bacia do Rio Piracicaba,

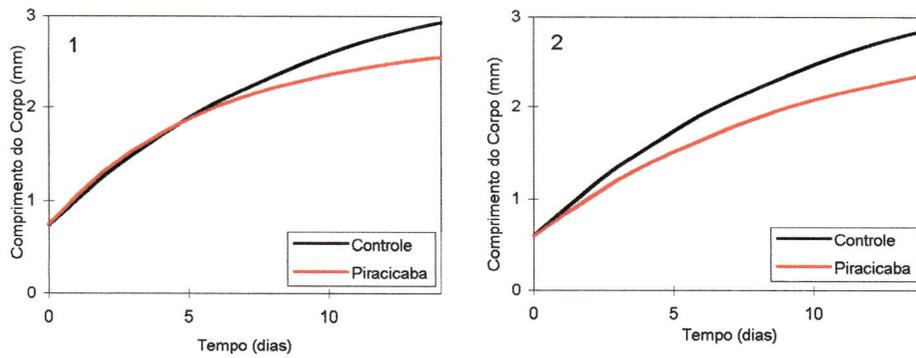


FIGURA 5.11 - Continuação

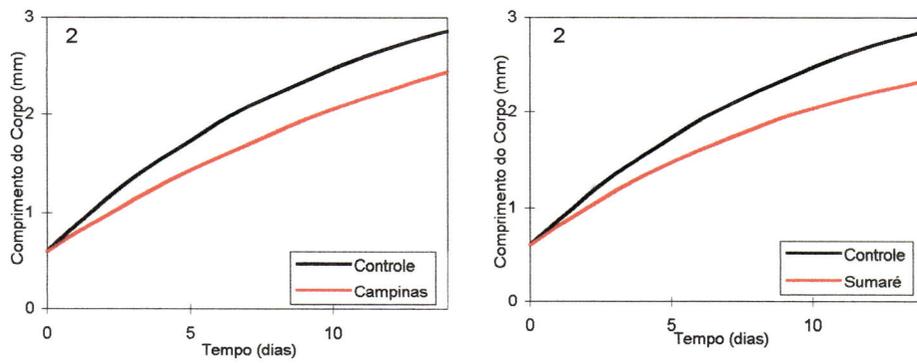


FIGURA 5.12 - Curvas de crescimento individual de *D. similis* cultivada em água do local Controle (Represa do Tatu) e dos pontos de captações de Campinas e Sumaré, coletadas no dia 17/10/96.

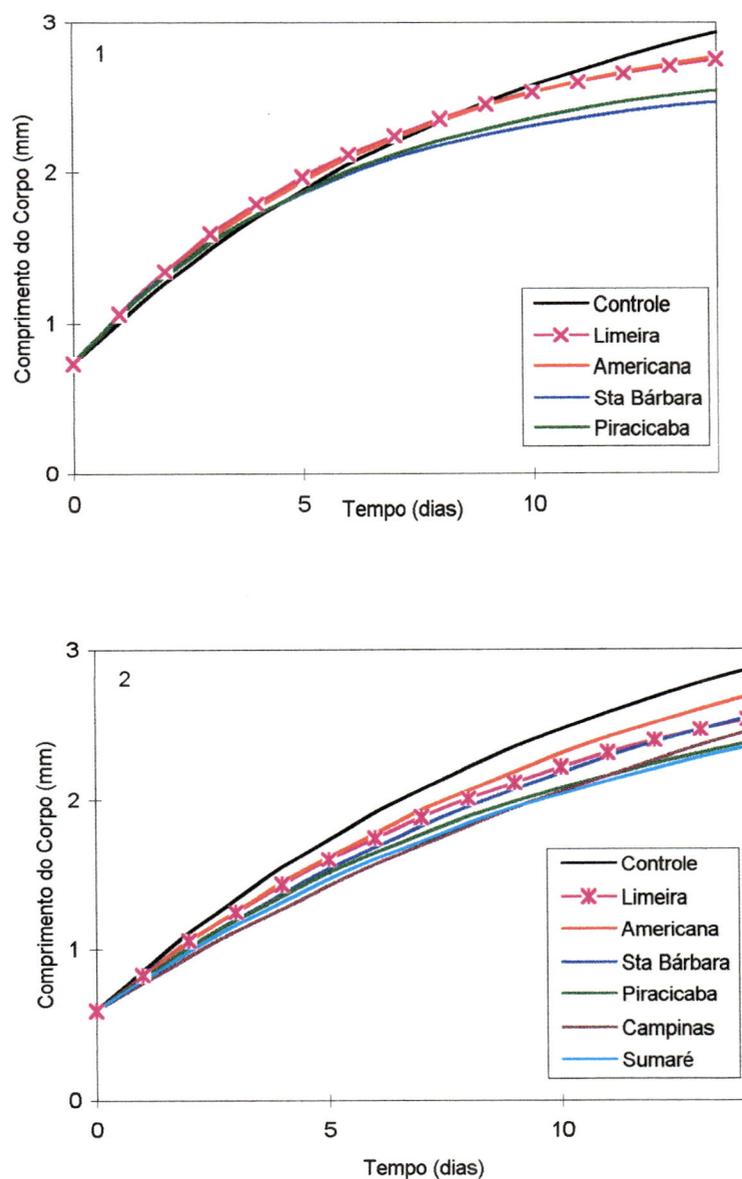


FIGURA 5.13 - Curvas que representam o crescimento individual de *D. similis* quando cultivada em amostras de água coletadas nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2), de 7 pontos da Bacia do Rio Piracicaba.

TABELA 5.34 . Valores da equação de Von Bertalanffy e do coeficiente de correlação linear de Pearson (r) para as curvas que descrevem o crescimento do corpo para *D. similis* durante o teste crônico realizado com amostras de água coletadas em 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem.

Local	L <sub>∞</sub>		L <sub>0</sub>		K		T <sub>0</sub>		r	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Controle	3,63	3,72	0,73	0,59	0,10	0,09	-2,20	-1,88	0,988	0,988
Limeira	3,01	3,17	0,73	0,59	0,15	0,09	-1,77	-2,07	0,991	0,990
Americana	3,08	3,66	0,73	0,59	0,14	0,08	-1,86	-2,15	0,968	0,989
Sta Bárbara	2,61	3,53	0,74	0,59	0,18	0,07	-1,80	-2,35	0,993	0,991
Piracicaba	2,73	2,96	0,74	0,59	0,17	0,09	-1,87	-2,25	0,996	0,984
Campinas	-	3,97	-	0,59	-	0,05	-	-2,83	-	0,991
Sumaré	-	3,06	-	0,59	-	0,08	-	-2,42	-	0,986

Legenda: 1= 12/04/95

2 = 17/10/96

TABELA 5.35.- Comprimento médio das primíparas (mm) de *D. similis* cultivada em água coletada em 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, para as datas de amostragem.

Local	Tempo (dias)		Comprimento (mm) (± Desvio padrão)	
	1	2	1	2
Controle	6	6	1,90±0,10	1,88±0,07
Limeira	6	6	1,99±0,20	1,85±0,07
Americana	6	6	2,08±0,22	1,78±0,03
Sta Bárbara	7	6	1,99±0,15	1,82±0,06
Piracicaba	6	6	1,86±0,14	1,85±0,09
Campinas	-	6	-	1,83±0,08
Sumaré	-	6	-	1,74±0,08

Legenda: 1= 12/04/95

2 = 17/10/96

### b) Crescimento Populacional

O crescimento populacional de *D. similis* foi quantificado através da determinação da taxa intrínseca de aumento natural (r). Através deste parâmetro podem ser feitas previsões sobre o tamanho de uma determinada população num certo período de tempo, sob condições ambientais específicas.

As Figuras 5.14 e 5.15 representam os valores experimentais, juntamente com as curvas ajustadas obtidas durante os testes crônicos, com os organismos de *D.*

*similis*, quando expostos às amostras de água provenientes dos locais de amostragem, para as duas datas amostradas.

Para o teste realizado com as amostras do dia 12/04/95, os organismos expostos em água coletada na captação de Americana e na de Limeira apresentaram um maior crescimento, em relação aos organismos mantidos na água do local Controle (Represa do Tatu). Em contrapartida, os organismos cultivados em água proveniente da captação de Santa Bárbara, foram os mais afetados quanto ao crescimento populacional. Porém os dados estatísticos revelaram que estas diferenças não são estatisticamente significativas, daquela observada para os organismos expostos à amostra do local Controle (represa do Tatu) . O resultado do teste de Dunnett encontra-se no ANEXO E.

Quanto ao teste realizado com as amostras coletadas no dia 17/10/96, todos os organismos de *D. similis* testados com as amostras de água de todos os locais amostrados, sofreram redução na fecundidade, quando comparados com aqueles expostos em água do local Controle (Represa do Tatu). Estes resultados foram estatisticamente significativos, apesar de que nem todos os valores considerados críticos tenham revelado níveis de significância para todos os locais, pode-se considerar que todos os locais sofreram redução quanto ao crescimento populacional, pois os valores considerados não significativos, foram bem próximos ao valor crítico. Estas diferenças estão representadas no ANEXO E (ANOVA - teste de Dunnett).

Nota-se também, que o número final de organismos no final do teste com as amostras de água coletada no dia 17/10/96, foi bem superior ao encontrado para os testes realizados com as amostras do dia 12/04/95, para o mesmo tempo de exposição (14 dias). Isto pode ser consequência das alterações na própria composição química das amostras de água.

Ainda com relação aos testes realizados com as amostras do dia 17/10/96, verifica-se que o ajuste exponencial não seria o mais recomendado, visto os valores encontrados nos experimentos, principalmente para os organismos mantidos em água das captações de Sumaré e de Limeira. A aplicação de um ajuste sigmoidal representaria melhor o desempenho dos organismos, do que o ajuste exponencial.

Porém, isto pode estar relacionado com a composição química das amostras de água deste período, alterando assim o comportamento dos organismos.

Na Tabela 5.36, pode-se verificar todas estas observações através dos valores de  $r$  (taxa intrínseca de aumento natural) obtidos para os diversos tratamentos nas duas datas de amostragem, juntamente com a Figura 5.16.

Os dados utilizados para o ajuste das curvas, encontram-se no Apêndice 3a e 3b.

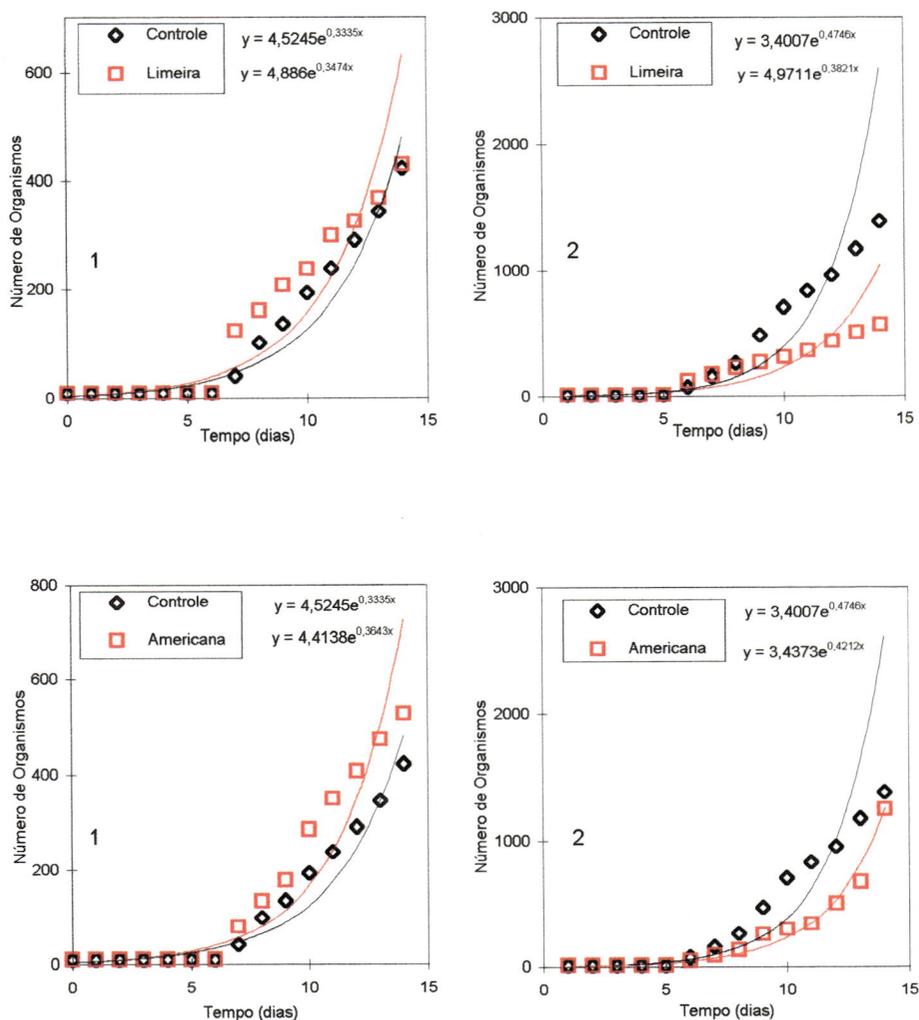


FIGURA 5.14- Curvas de crescimento populacional de *D. similis* cultivada em água dos diferentes locais amostrados, nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).

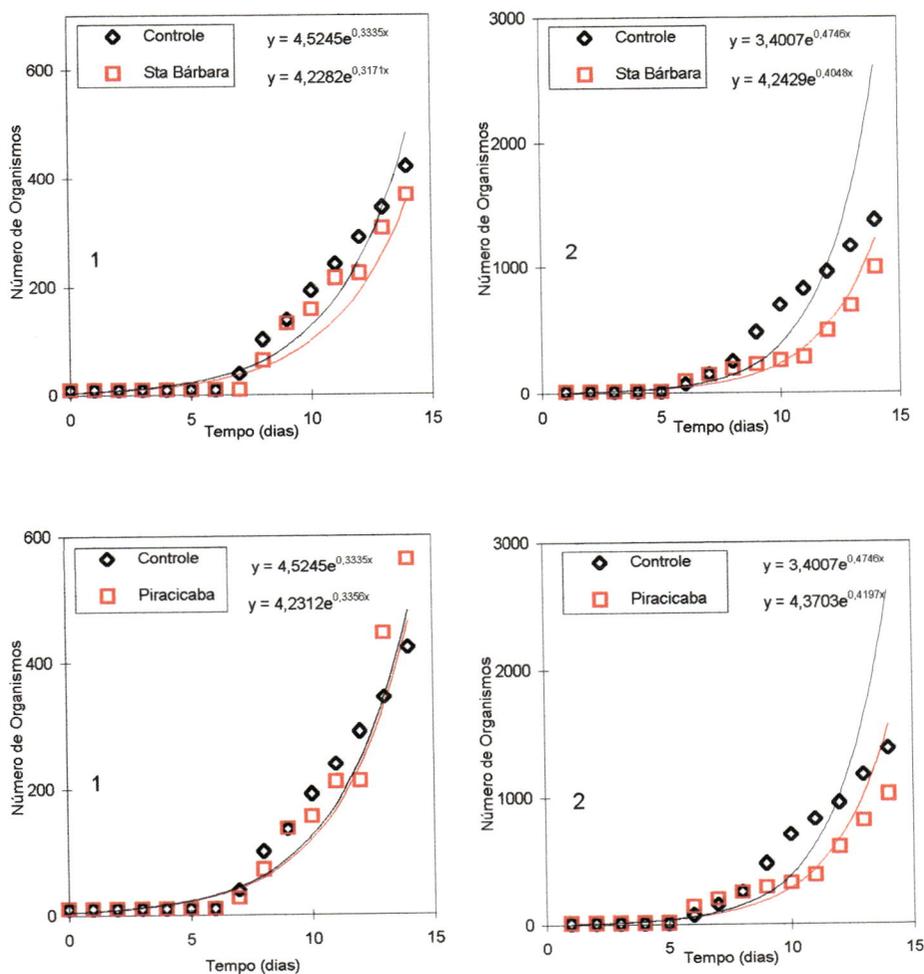
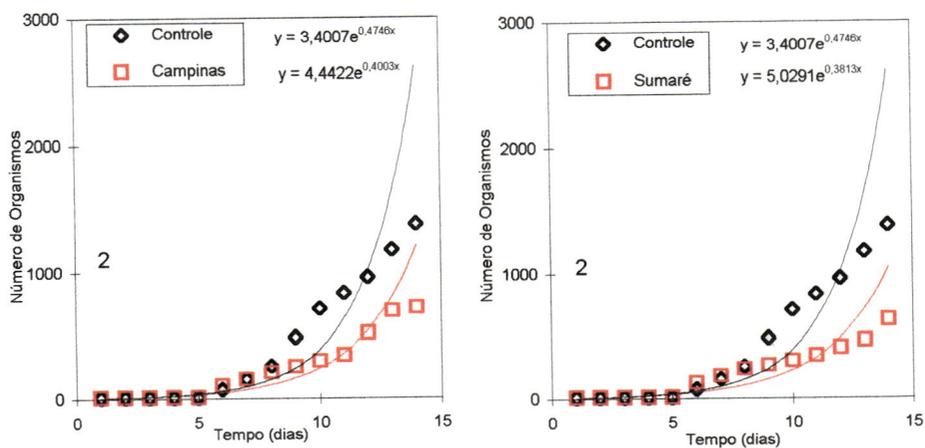


FIGURA 5.14- Continuação.

FIGURA 5.15- Curvas de crescimento populacional de *D. similis* cultivada em água das captações de Campinas e de Sumaré no dia 17/10/96 (2)

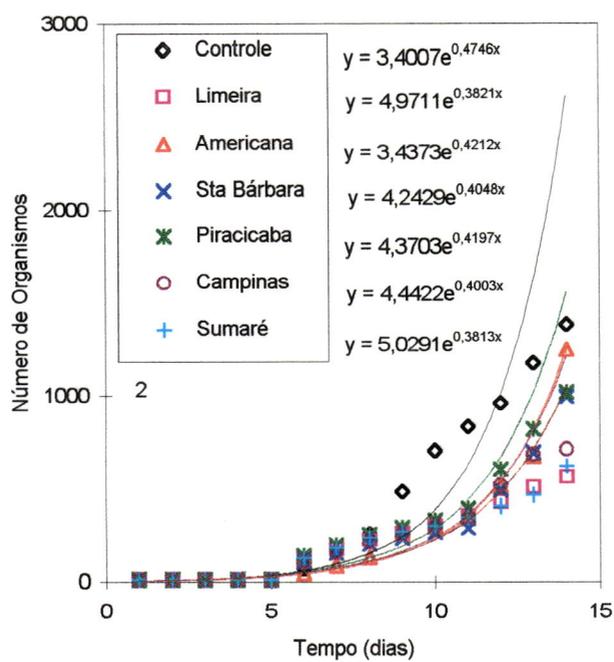
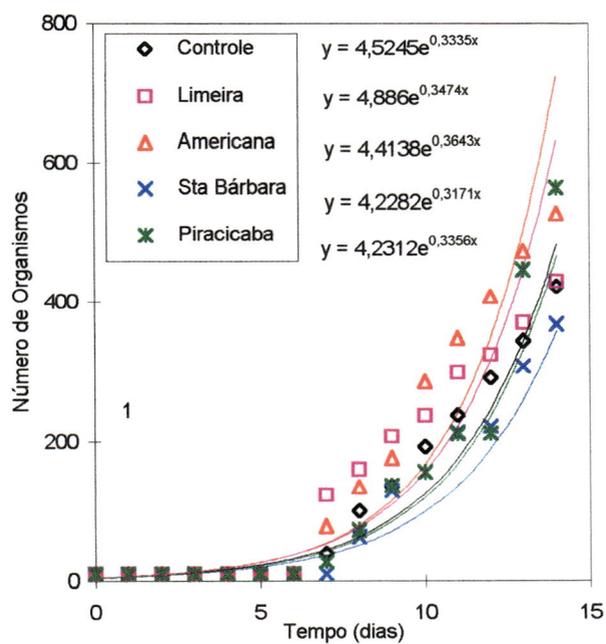


FIGURA 5.16. Curvas de crescimento populacional de *D. similis* cultivada em água de 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, coletadas nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).

TABELA 5.36- Valores de r (taxa intrínseca de aumento natural), número inicial ( $N_0$ ) e final de organismos ( $N_t$ ) obtidos para *D. similis* testada com amostras de água proveniente de 7 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, coletadas nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).

Local	N <sub>t</sub>		N <sub>0</sub>		Tempo (dias)		r (dias)	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Controle	422	1380	10	10	14	14	0,27	0,35
Limeira	561	561	10	10	14	14	0,27	0,28
Americana	527	1241	10	10	14	14	0,28	0,34
Sta Bárbara	991	991	10	10	14	14	0,26	0,33
Piracicaba	563	1015	10	10	14	14	0,29	0,33
Campinas	-	710	-	10	-	14	-	0,30
Sumaré	-	621	-	10	-	14	-	0,29

### c) Fecundidade

A Tabela 5.37 representa o número total de neonatas produzidas durante os testes para todos os locais nas duas datas de coleta. Observa-se que, para as amostras do dia 12/04/95, os menores valores de fecundidade encontrados durante o teste foram para os organismos cultivados em água da captação de Santa Bárbara e Limeira, embora para os outros ensaios (captações de Americana e Piracicaba) tenham sido observados valores inferiores ao do local Controle, o que pode ser considerado com indício de toxicidade crônica.

Quanto ao teste realizado com as amostras de água coletadas no dia 17/10/96, foram registradas uma menor fecundidade para todas as amostras testadas, quando comparadas à do local Controle (Represa do Tatu).

A análise estatística realizada através do teste de Dunnett, mostrou que estas diferenças de fecundidade são estatisticamente significativas (ANEXO E).

TABELA 5.37. - Número total de neonatas de *D. similis* produzidas durante os testes crônicos (14 dias), com amostras de água coletadas nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).

Local	ni	14 <sup>o</sup> dia	
		1	2
Controle	10	699	729
Limeira	10	515 **	444 **
Americana	10	568	528 **
Santa Bárbara	10	495 **	378 **
Piracicaba	10	531	409 **
Campinas	10	-	404 **
Sumaré	10	-	403 **

Legenda: n= número de fêmeas no início do experimento

\*\* = diferenças de fecundidade estatisticamente significantes pelo teste de Dunnett

#### d) Sobrevivência

Os valores de sobrevivência para *D. similis* até o final dos testes (14<sup>o</sup> dia ) para os indivíduos expostos às amostras dos diferentes pontos de amostragem nas duas datas de coleta, encontram-se listados na Tabela 5.38. Nota-se que para ambos os testes, a maior porcentagem de sobrevivência ocorreu para os organismos cultivados em água da captação de Piracicaba , e a menor para o teste com a água da captação de Americana para as amostras do dia 17/10/96 e do local Controle (Represa do Tatu) para aquelas do dia 12/04/95. Porém os resultados da análise estatística revelaram que não houve diferenças significativas quanto a sobrevivência entre as amostras, quando comparadas a do local Controle. Pode-se dizer que especificamente para o teste realizado no dia 17/10/96, os organismos da captação de Americana sofreram indícios de toxicidade crônica, ao se estabelecer este parâmetro como avaliação final. Os resultados dos testes estatísticos encontram-se no ANEXO E.

Apesar deste resultado, cabe ressaltar que para os organismos expostos à amostra de água do local Controle (Represa do Tatu), a porcentagem de sobrevivência não se enquadrou dentro da faixa estabelecida pela USEPA (1989) para validação dos testes crônicos, ou seja, no mínimo 80% de sobrevivência para os indivíduos do controle, quando estes são cultivados em água de qualidade

monitorada. No entanto neste estudo, o local escolhido como controle, é um local dentro da bacia do rio Piracicaba, que em comparação com os outros locais de amostragem seria um local menos impactado. Contudo, este local também está sujeito a modificações antropogênicas, e conseqüentemente não é um controle com total ausência de substâncias adversas, as quais talvez influenciem as condições fisiológicas dos organismos. Apesar da baixa sobrevivência dos organismos iniciais, a fecundidade não foi reduzida até o término do teste. (Tabela 5.37).

TABELA 5.38 - Sobrevivência (em %) de fêmeas de *D. similis* nos testes crônicos com amostras de água coletadas em 7 pontos da bacia do rio Piracicaba, nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).

Local	14 <sup>o</sup> dia				
	ni	n	lx(%)		lx(%)
			1	2	
Controle	10	7	70	9	90
Limeira	10	8	80	8	80
Americana	10	9	90	6	60
Santa Bárbara	10	9	90	9	90
Piracicaba	10	10	100	10	100
Campinas	10	-	-	9	90
Sumaré	10	-	-	9	90

Legenda: ni = número inicial de indivíduos, n = número de sobreviventes

### e) Longevidade

Os dados de longevidade foram obtidos efetuando-se a troca das soluções teste, e acompanhando os organismos oriundos dos experimentos realizados para verificar o efeito da toxicidade da água sobre o crescimento do corpo. Estes valores estão expressos na Tabela 5.39. Observa-se que para as amostras coletadas no dia 12/04/95, o maior valor médio de longevidade obtido foi para os organismos mantidos na água do local Controle (Represa do Tatu) e o menor para aqueles mantidos na água coletada nas captações de Santa Bárbara e Piracicaba. Através dos dados estatísticos (teste de Dunnett) pode-se considerar que estes locais sofreram indícios de toxicidade crônica, pois os valores de T estatístico encontrados (1.807 e 1.427) foram próximos ao valor crítico ( $P = 2.47$ ). Estes resultados estão no ANEXO E.



Quanto ao teste realizado com as amostras coletadas no dia 17/10/96, o maior valor de longevidade foi encontrado para os organismos cultivados em água da captação de Piracicaba e o menor para aqueles cultivados em água da captação de Americana e local Controle. Porém, o resultado da análise estatística revelou que não houve diferenças significativas entre as amostras testadas, quando comparadas à do local Controle (represa do Tatu) (ANEXO E).

Evidencia-se também que a maioria dos organismos expostos às amostras do dia 17/10/96 tiveram uma menor longevidade, quando comparados com os cultivos do dia 12/04/95.

TABELA 5.39- Valores médios (DP), máximo e mínimo de longevidade (dias) para *D. similis* cultivada em água de 7 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, coletada nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).

Local	Média(DP)		Máxima		Mínima	
	1	2	1	2	1	2
Controle	40 ± 18	19 ± 6	62	30	10	14
Limeira	32 ± 13	24 ± 7	48	33	11	14
Americana	36 ± 16	11 ± 5	54	15	11	5
Sta Bárbara	21 ± 8	22 ± 7	30	33	9	14
Piracicaba	25 ± 4	26 ± 8	30	39	21	16
Campinas	-	22 ± 5	-	30	-	14
Sumaré	-	24 ± 8	-	33	-	10

#### f) Porcentagem de efípios produzidos por *D. similis* durante os testes

O aparecimento de efípios revela uma condição de estresse aos organismos, o qual pode estar relacionado à qualidade do alimento, à temperatura, à alta densidade populacional, ou mesmo à presença de substâncias adversas na água testada.

A Tabela 5.40 apresenta a produção de efípios em porcentagem (%), ocorridos durante o teste crônico somente para as amostras coletadas no dia 12/04/95. Estes valores apesar de terem sido bastante elevados para algumas condições (águas provenientes das captções de Americana e Limeira), não influenciaram a reprodução total dos organismos testados nestas águas. A Figura 5.17 ilustra este fenômeno.



FIGURA 5.17- Efípio em *D. similis* obtido nos testes de toxicidade crônica em laboratório

TABELA 5.40 - Valores médios e desvio padrão (DP) da porcentagem (%) de efípios ocorridos durante teste de toxicidade crônica realizado com *D. similis*, para as amostras coletadas no dia 12/04/95.

Local	14 <sup>o</sup> dia
Controle	11.8 ± 0.7
Americana	14.1 ± 3.54
Limeira	20.5 ± 3.45
Piracicaba	-
S <sup>ta</sup> Bárbara	-

#### g) Variáveis físicas e químicas das soluções teste

Na Tabela 5.41 encontram-se os valores iniciais e finais de temperatura, pH, condutividade e dureza da água utilizada para os testes crônicos com *D. similis* para as amostras coletadas nos dias 12/04/95 e 17/10/96.

Nota-se que apenas a variável pH sofreu um aumento no final do teste, o que pode ser proveniente do acúmulo de alimento (algas), ou mesmo da própria excreção dos organismos. Para as demais variáveis não houve variações bruscas no início e

final dos testes para ambas as amostras, provavelmente pelo tipo de técnica escolhida, ou seja, a da renovação diária das soluções - teste.

TABELA 5.41- Variáveis físicas e químicas analisadas durante os testes crônicos para *D. similis* com água coletadas em 7 locais da bacia do rio Piracicaba, nos dias 12/04/95 (1) e 17/10/96 (2).

LOCAL	pH				TEMP. (°C)				COND. (µS/cm)				DUREZA (mg/l CaCO <sub>3</sub> )			
	1		2		1 e 2		1 e 2		1		2		1		2	
	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	6,1	7,1	6,8	8,1	22,0	23,0	42	52	69	63	16	16	16	19		
Limeira	6,5	7,1	7,0	8,1	22,0	23,0	62	66	86	85	14	16	22	19		
Americana	6,5	7,1	6,7	8,3	22,0	23,0	93	103	144	116	19	20	22	22		
Sta Bárbara	6,8	6,8	6,6	8,1	22,0	23,0	113	160	175	176	23	26	32	32		
Piracicaba	6,8	7,0	7,1	8,3	22,0	23,0	111	170	180	184	25	26	32	28		
Campinas	-	-	6,9	8,2	22,0	23,0	-	-	89	90	-	-	22	19		
Sumaré	-	-	6,6	8,1	22,0	23,0	-	-	230	230	-	-	32	28		

### 5.5.2 - Testes crônicos com *Ceriodaphnia silvestrii*

#### a) Crescimento do corpo

Na Figura 5.18 estão representadas as curvas ajustadas de crescimento individual para *C. silvestrii* exposta as amostras de água provenientes dos diferentes locais de amostragem, coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).

Evidencia-se que, apenas os organismos testados em amostra da captação de Limeira no dia 19/01/96, sofreram uma redução no crescimento do corpo quando comparados aos expostos em água do local Controle (Represa do Tatu) durante todo o período do teste. Porém esta diferença não foi considerada significativa quando aplicado o teste de Dunnett, portanto pode-se dizer que neste caso houve um indício de toxicidade crônica. Os resultados da análise estatística encontram-se no ANEXO F.

Quanto aos organismos testados em água coletada nas captações de Campinas e Santa Bárbara no dia 19/01/96, estes sofreram uma redução no tamanho do corpo até o 11<sup>o</sup> dia de duração do teste, ultrapassando até os valores obtidos para os organismos cultivados em água proveniente do local Controle nos últimos dias de exposição. Houve também um maior crescimento dos organismos até o 8<sup>o</sup> dia de duração do teste para aqueles expostos em água proveniente da captação de Sumaré, nesta mesma data de amostragem. Entretanto, houve uma pequena alteração no tamanho do corpo entre os tratamentos do teste realizado com *C. silvestrii* com as amostras de água coletadas nas captações de Sumaré, Santa Bárbara e Piracicaba no dia 17/10/96, as quais foram consideradas como não estatisticamente significantes pelo teste de Dunnett (ANEXO F).

Todas estas observações podem ser melhor evidenciadas através da Figura 5.19, a qual representa todas as curvas de crescimento do corpo para os testes realizados com as amostras das duas datas de coleta.

Os parâmetros obtidos através da aplicação do modelo de Von Bertalanffy para os ajustes das curvas de crescimento do corpo estão representados na Tabela 5.42, a qual confirma os resultados apresentados, em que somente os testes realizados com as amostras de água coletadas no dia 19/01/96 apresentaram alterações, pois o menor valor de  $L_{\infty}$  corresponde aos organismos cultivados em água coletada na captação de Limeira (indício de toxicidade crônica) e os maiores para aqueles testados em água das captações de Campinas e Santa Bárbara.

Na Tabela 5.43, encontram-se os valores em comprimento das primíparas em que se observa que o menor valor obtido ocorreu também para os organismos cultivados em água proveniente da captação de Limeira, coletada no dia 19/01/96.

Os dados utilizados para o estabelecimento de tais curvas encontram-se no apêndice 3c e 3d.

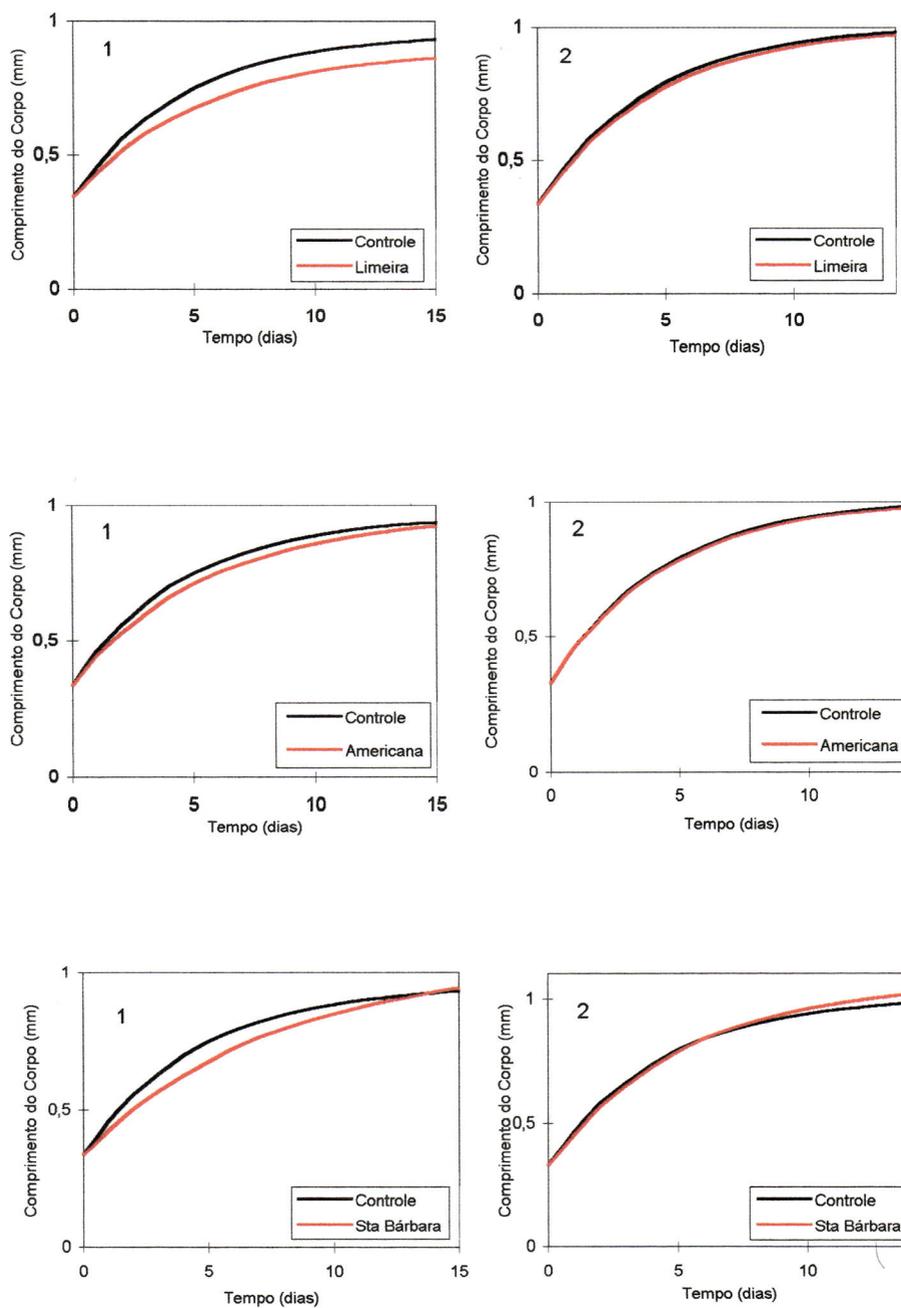


FIGURA 5.18 - Curvas de crescimento individual de *C. silvestrii* cultivada em água dos locais de amostragem da Bacia do Rio Piracicaba/SP, coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).

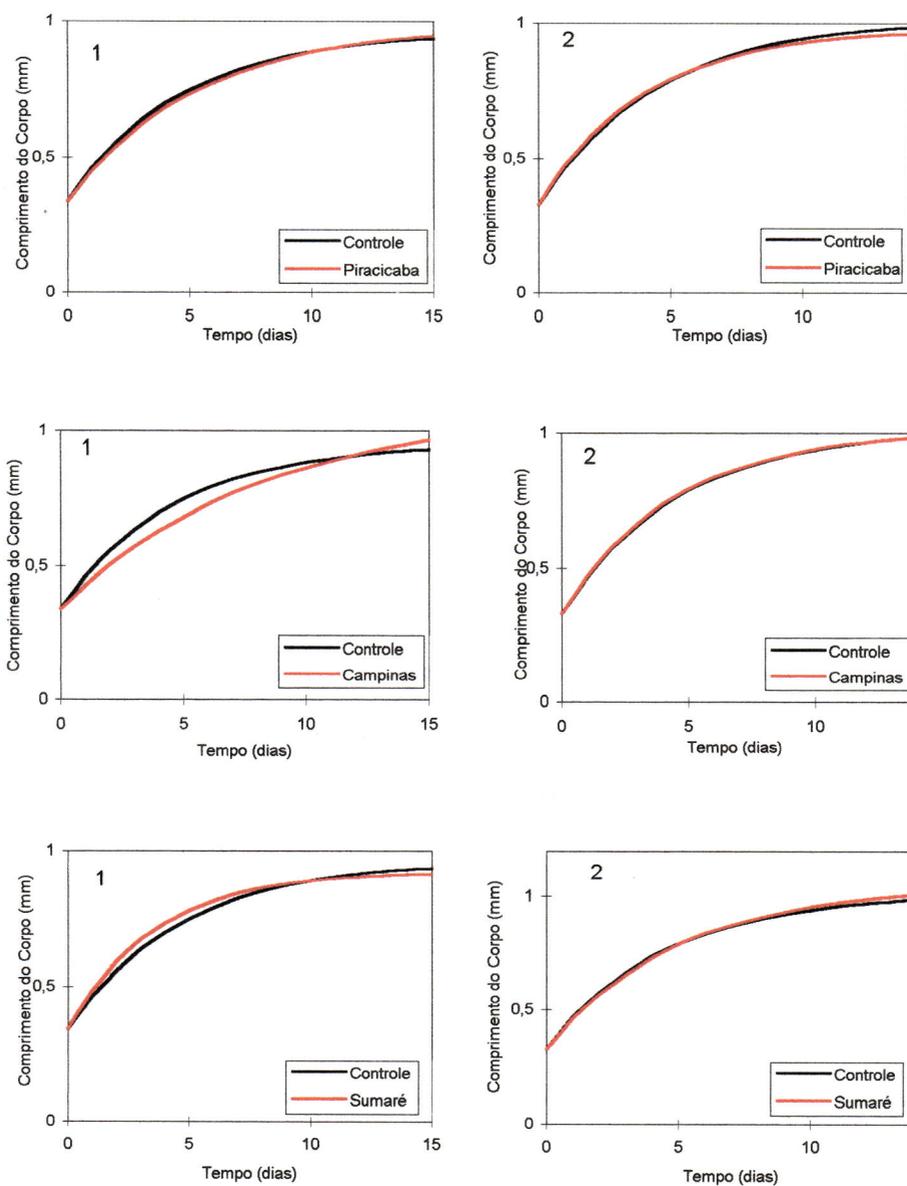


FIGURA-5.18. Continuação.

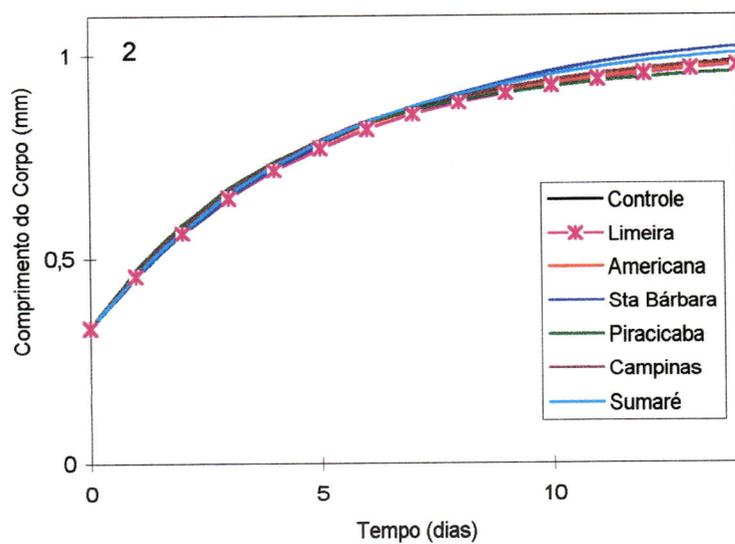
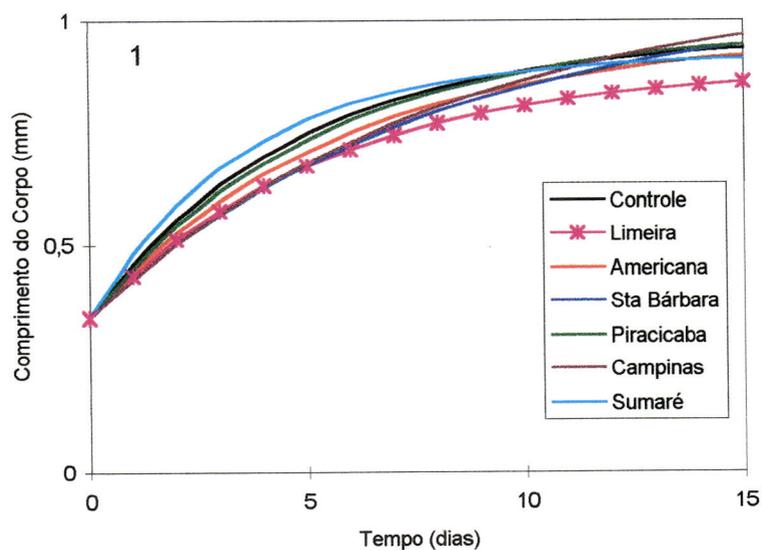


FIGURA 5.19 - Curvas ajustadas de crescimento do corpo de *C. silvestrii* cultivada em água proveniente de 7 pontos da Bacia do Rio Piracicaba/SP coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).

TABELA 5.42 Valores da equação de Von Bertalanffy e do coeficiente de correlação linear de Pearson (r) para as curvas que descrevem o crescimento do corpo para *C. silvestrii* durante o teste de toxicidade crônica realizado com amostras de água coletada em 7 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, para amostras coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).

Local	L <sub>∞</sub>		L <sub>0</sub>		K		T <sub>0</sub>		r	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Controle	0,95	1,01	0,34	0,33	0,21	0,22	-2,03	-1,76	0,987	0,991
Limeira	0,89	1,00	0,34	0,33	0,18	0,21	-2,59	-1,86	0,973	0,990
Americana	0,96	1,00	0,34	0,33	0,18	0,22	-2,44	-1,78	0,977	0,992
Sta Bárbara	1,04	1,07	0,34	0,33	0,13	0,19	-3,01	-1,93	0,994	0,988
Piracicaba	0,98	0,98	0,34	0,33	0,19	0,25	-2,23	-1,64	0,968	0,991
Campinas	1,08	1,01	0,34	0,33	0,12	0,23	-3,05	-1,73	0,990	0,989
Sumaré	0,92	1,04	0,34	0,33	0,28	0,20	-1,64	-1,84	0,996	0,982

TABELA 5.43- Comprimento das primíparas (mm) de *C. silvestrii* cultivadas em água coletada em 7 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).

Local	Tempo (dias)		Comprimento (mm) (± Desvio padrão)	
	1	2	1	2
Controle	5	5	0,71±0,02	0,77±0,01
Limeira	5	5	0,65±0,03	0,72±0,02
Americana	5	5	0,67±0,05	0,76±0,01
Sta Bárbara	5	5	0,69±0,04	0,72±0,02
Piracicaba	5	5	0,70±0,04	0,77±0,01
Campinas	4	5	0,72±0,04	0,72±0,05
Sumaré	5	5	0,68±0,04	0,77±0,01

### b) Crescimento Populacional

Na Figura 5.20 estão representadas as curvas de crescimento populacional ajustadas e também os valores experimentais obtidos para *C. silvestrii* durante os testes crônicos, com as amostras de água coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2). Evidencia-se que apenas os organismos testados em água proveniente da captação de Limeira, na amostragem do dia 19/01/96 apresentaram redução na taxa de crescimento populacional. Esta diferença foi estatisticamente significativa através do teste de Dunnett, cujo resultado encontra-se no ANEXO F.

Por outro lado os organismos cultivados em água proveniente da captação de Sumaré apresentaram um maior crescimento populacional quando comparado aos

organismos expostos em água do local Controle, também para a amostra do dia 19/01/96.

Quanto aos testes realizados com as amostras coletadas no dia 17/10/96, não houve diferenças quanto à taxa reprodutiva, para todas as amostras testadas, resultado este estatisticamente significativo (ANEXO F). A Figura 5.21, mostra as curvas de crescimento populacional obtidas para os dois testes.

Através da Tabela 5.44, pode-se confirmar as observações, de que o menor valor de  $r$  obtido nos experimentos ocorreu para os organismos cultivados em água da captação de Limeira, e o maior valor para aqueles testados em água da captação de Sumaré, para as amostras coletadas no dia 19/01/96.

Os dados utilizados para a elaboração das curvas encontram-se listados no Apêndice 3c e 3d.

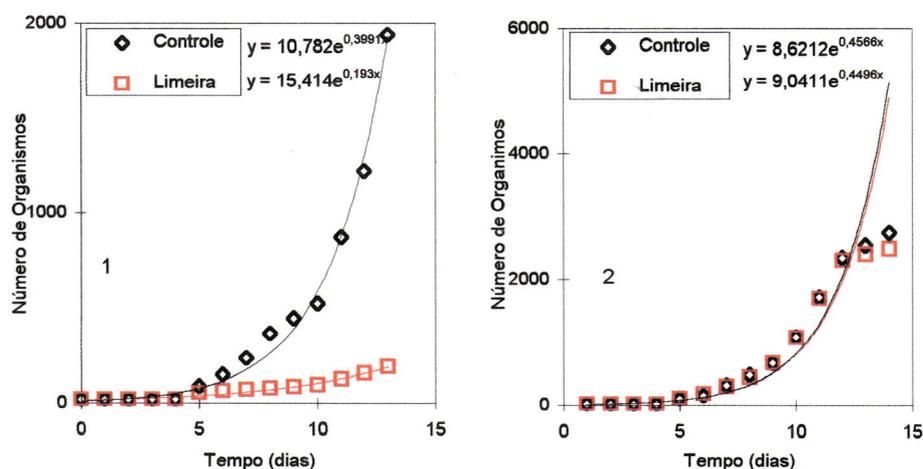


FIGURA 5.20 - Curvas de crescimento populacional de *C. silvestrii* cultivada em água dos diferentes locais de amostragem, coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2), da bacia do rio Piracicaba/SP.

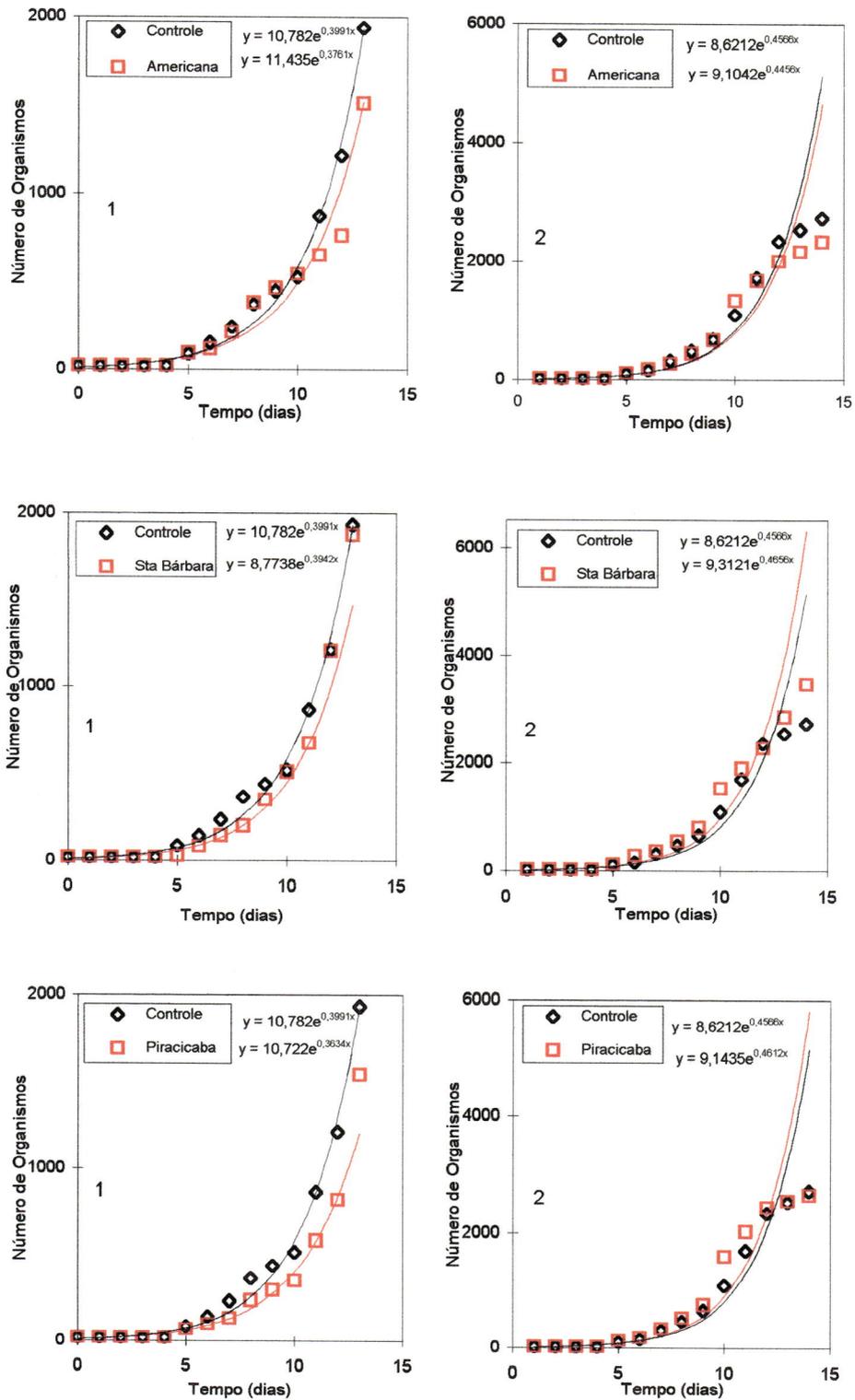


FIGURA 5.20- Continuação.

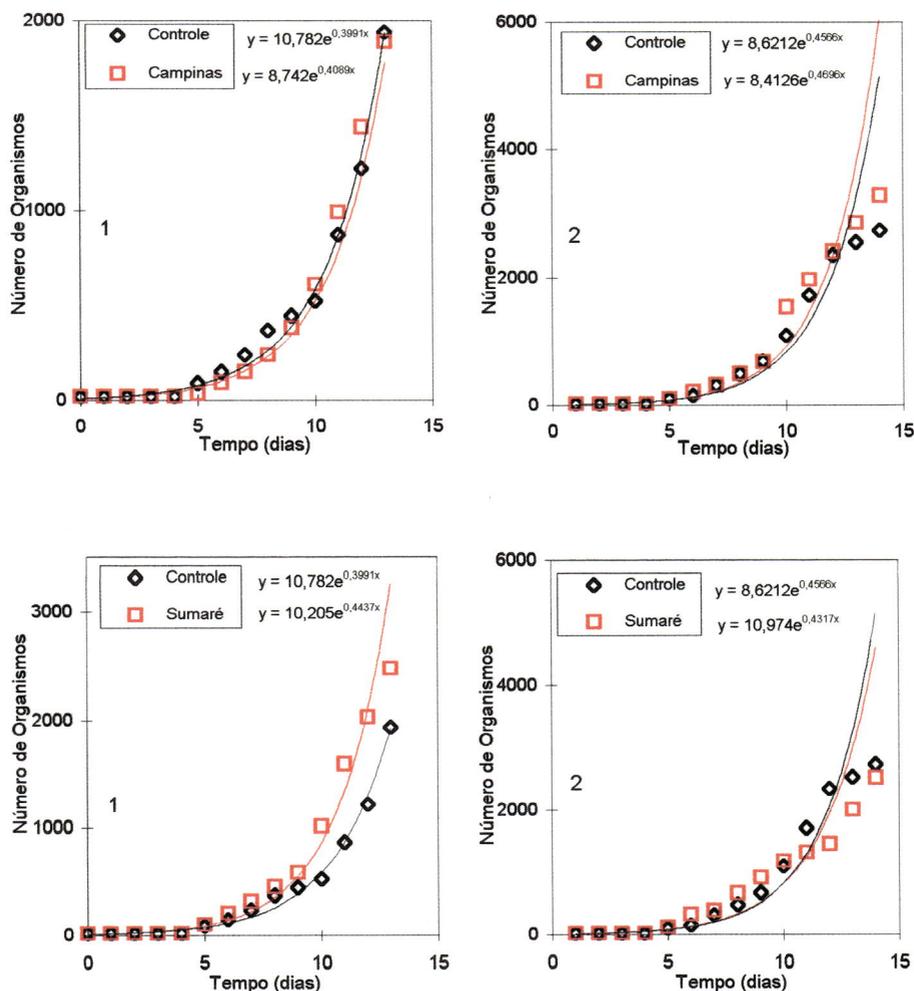


FIGURA 5.20 - Continuação.

TABELA 5.44 - Valores de  $r$  (taxa intrínseca de aumento natural), e número inicial ( $N_0$ ) e final de organismos ( $N_t$ ) obtidos para *C silvestrii* cultivada em água proveniente de 7 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).

Local	$N_t$		$N_0$		Tempo (dias)		$r$ (dias)	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Controle	1935	2731	20	20	14	14	0,33	0,35
Limeira	192	2488	20	20	14	14	0,16	0,34
Americana	1511	2334	20	20	14	14	0,31	0,34
Sta Bárbara	1881	3438	20	20	14	14	0,32	0,37
Piracicaba	1543	2660	20	20	14	14	0,31	0,35
Campinas	1884	3288	20	20	14	14	0,32	0,36
Sumaré	2522	2529	20	20	14	14	0,34	0,34

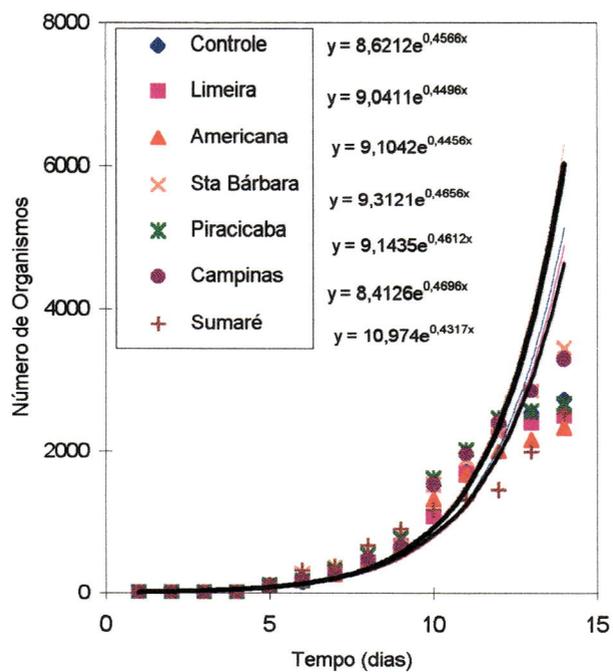
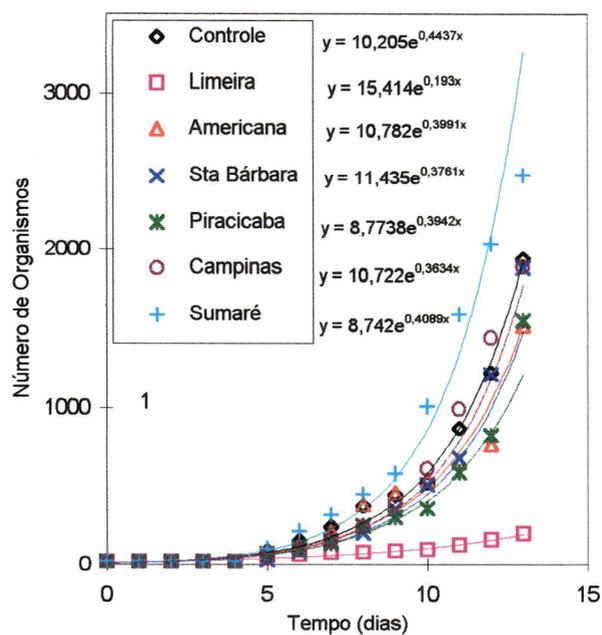


FIGURA 5.21. Curvas de crescimento populacional de *C. silvestrii* cultivada em água proveniente de 7 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).

### c) Fecundidade

Na Tabela 5.45 está representado o número total de neonatas produzidas durante o período dos testes (14 dias) para as fêmeas de *C. silvestrii* cultivadas em água coletada nos dias 19/01/96 e 17/10/96. Observa-se que o menor valor ocorreu quando os organismos foram testados em água proveniente da captação de Limeira, com a amostra coletada no dia 19/01/96.

No entanto a análise estatística evidenciou que para a amostra de água coletada no dia 19/01/96, além da amostra da captação de Limeira, houve diferenças significativas quanto ao número de neonatas produzidas no final dos testes para os organismos expostos às amostras das captações de Americana, Sta Bárbara, Piracicaba, Campinas e Sumaré, quando comparadas ao ensaio realizado com a amostra do local Controle (represa do Tatu). Por outro lado não houve diferenças estatisticamente significativas para os ensaios realizados com as amostras do dia 17/10/96. Os resultados dos testes de Dunnett (amostras do dia 19/01/96) e de Kruskal-Wallis (amostras do dia 17/10/96) estão representados no ANEXO F.

TABELA 5.45 - Número total de neonatas durante os testes de toxicidade crônica (14 dias) realizados com *C. silvestrii*, para as datas de amostragem.

Local	ni	14 <sup>o</sup> dia	
		1	2
Controle	20	906	1095
Limeira	20	147**	1181
Americana	20	908	1061
Santa Bárbara	20	668**	1329
Piracicaba	20	689**	1093
Campinas	20	707**	1078
Sumaré	20	748**	1405

Legenda: 1= 19/01/96, 2 = 17/10/96

n= número de fêmeas no início do experimento

\*\* = diferenças de fecundidade estatisticamente significantes, pelo teste de Dunnett

#### d) Sobrevivência

Os valores de sobrevivência de *C. silvestrii* para ambos os testes crônicos encontram-se na Tabela 5.46. Nota-se que os organismos mantidos na água proveniente da captação de Limeira, coletada no dia 19/01/96 foram os mais afetados. Esta diferença na sobrevivência foi estatisticamente significativa pelo teste de Dunnett, cujo resultado é apresentado no ANEXO F. Por outro lado os organismos testados em água da captação de Sumaré atingiram a maior porcentagem de sobrevivência registrada durante o teste, também para a mesma data de amostragem.

Quanto às amostras coletadas no dia 17/10/96, observou-se para os organismos testados em água da captação de Piracicaba uma menor sobrevivência durante o teste, mas este resultado não interferiu na produção total de neonatas no final do teste, quando comparado aos organismos testados em água do local Controle (Represa do Tatu) (Tabela 5.45). O resultado do teste estatístico mostra que esta diferença não foi estatisticamente significativa, podendo ser considerada como indicio de toxicidade crônica, pois o resultado do T estatístico (2.80), foi bem próximo ao do valor crítico (2.82) (ANEXO F).

TABELA 5.46 - Sobrevivência (em %) de fêmeas de *C. silvestrii* durante os testes de toxicidade crônica para as amostras coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2), na bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	14 <sup>o</sup> dia				
	ni	n	lx(%)	n	lx(%)
	1			2	
Controle	20	12	60	12	60
Limeira	20	4	20**	12	60
Americana	20	14	70	12	60
Santa Bárbara	20	15	75	14	70
Piracicaba	20	10	50	6	30•
Campinas	20	15	75	10	50
Sumaré	20	18	90	14	70

Legenda: ni = número inicial de indivíduos, n = número de sobreviventes

\*\* = diferença significativa obtida pelo teste de Dunnett

• indicio de toxicidade crônica (não estatisticamente significativo)

### e )Longevidade

Os valores de longevidade foram obtidos prolongando-se os experimentos realizados para verificar o efeito da toxicidade da água sobre o crescimento do corpo de *C. silvestrii* até a morte dos organismos. Estes resultados encontram-se na Tabela 5.47.

No teste realizado com as amostras coletadas no dia 19/01/96, o menor valor (5 dias) foi obtido para os organismos expostos à água da captação de Limeira, e o maior para aqueles mantidos em água das captações de Americana e Piracicaba (32 dias).

Quanto aos testes realizados com as amostras coletadas no dia 17/10/96, o menor valor de longevidade (6 dias) encontrado foi obtido para os organismos testados em água proveniente da captação de Americana e o maior para os organismos expostos em água da captação de Santa Bárbara (48 dias). Porém os resultados dos testes estatísticos revelaram que estas diferenças não foram estatisticamente significativas, quando comparadas ao ensaio com a amostra do local Controle. Os resultados do teste de Dunnett estão no ANEXO F.

TABELA 5.47 - Valores médios (DP), máximo e mínimo de longevidade (dias) de *C. silvestrii* obtidos em testes de toxicidade crônica com água de 7 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, para amostras coletadas nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).

Local	Média(DP)		Máxima		Mínima	
	1	2	1	2	1	2
Controle	17±8,0	24± 10	28	39	7	9
Limeira	17±9,0	18±6,0	30	27	5	9
Americana	19±7,0	20±7,0	32	30	8	6
Sta Bárbara	16±8,0	28± 14	25	48	6	11
Piracicaba	20±8,0	17± 10	32	39	8	8
Campinas	16±8,0	19±6,0	25	27	6	8
Sumaré	19±6,0	19±7,0	25	30	9	8

### f) Variáveis físicas e químicas das soluções teste

Assim como para os testes agudos, não houve alterações marcantes para os valores das variáveis físicas e químicas da água durante os testes crônicos com *C. silvestrii*, para as amostras de água coletadas nas duas datas. Isto deve-se principalmente à técnica de renovação de água a cada dois dias adotada para este teste. Estas observações podem ser evidenciadas na Tabela 5.48

TABELA 5.48 - Variáveis físicas e químicas analisadas durante os testes de toxicidade crônica com *C. silvestrii*. para amostras de água coletadas em 7 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, nos dias 19/01/96 (1) e 17/10/96 (2).

LOCAL	pH				TEMP. (°C)				COND. (µS/cm)				DUREZA(mg/l CaCO <sub>3</sub> )			
	1		2		1 e 2		1 e 2		1		2		1		2	
	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Controle	7,2	7,1	6,8	8,1	22,0	23,0	81	67	69	63	16	16	16	19		
Limeira	7,0	7,1	7,0	8,1	22,0	23,0	92	91	86	85	16	19	22	19		
Americana	7,0	7,2	6,7	8,3	22,0	23,0	157	88	144	116	16	16	22	22		
Sta Bárbara	7,1	6,8	6,6	8,1	22,0	23,0	240	105	175	176	22	19	32	32		
Piracicaba	7,1	7,4	7,1	8,3	22,0	23,0	232	225	180	184	32	32	32	28		
Campinas	7,3	6,9	6,9	8,2	22,0	23,0	80	88	89	90	19	16	22	19		
Sumaré	6,8	6,9	6,6	8,1	22,0	23,0	132	134	230	230	13	13	32	28		

Legenda: i = inicial, f= final.

### 5.5.3 - Testes crônicos com *Ceriodaphnia dubia*

Com *Ceriodaphnia dubia* (espécie padrão) foi realizado apenas um teste crônico com algumas amostras coletadas no dia 12/04/96, com o intuito de se comparar os resultados com aqueles obtidos no teste realizado com *Ceriodaphnia silvestrii* (espécie nativa). No entanto não foi possível a repetição dos mesmos com as amostras do dia 17/10/96 em função de problemas na manutenção dos organismos, além do que optou-se por fazer comparações com *D. similis*, ou seja, outra espécie padrão, cuja manutenção foi mais viável.

Neste teste foi avaliada a taxa de crescimento individual, a de crescimento populacional medido através da taxa intrínseca, a fecundidade e a longevidade para testes realizados com as amostras de água provenientes das captações de Limeira, Americana, Santa Bárbara, Piracicaba e do local Controle (Represa do Tatu).

#### a ) Crescimento do corpo

Na Figura 5.22 estão representadas as curvas ajustadas para o crescimento do corpo de *C. dubia* quando testada em água coletada nos pontos de amostragem e também no local denominado de Controle (Represa do Tatu).

Nota-se que os organismos expostos em água proveniente das captações de Santa Bárbara e Piracicaba apresentaram um maior crescimento do corpo quando comparados aos do Controle, até o 5<sup>o</sup> e 6<sup>o</sup> dia de desenvolvimento, respectivamente. No entanto, para ambos os testes, após o 8<sup>o</sup> dia de desenvolvimento houve uma marcante redução no tamanho do corpo. Porém os resultados do teste de Dunnett mostraram que estas alterações não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, quando comparadas ao ensaio realizado com a amostra do local Controle. Estas alterações podem ser consideradas como indício de toxicidade crônica. Os resultados destes testes estão representados no ANEXO G.

Os organismos de *C. dubia* testados em água proveniente da captação de Americana apresentaram um pequeno aumento no tamanho do corpo em relação aos testados em água do local Controle apenas na fase intermediária do teste (entre o 5<sup>o</sup> e o 11<sup>o</sup> dia de experimento) Todas estas observações podem ser melhor visualizadas através da Figura 5.23.

Nas Tabelas 5.49 e 5.50 estão representados os valores da equação de Von Bertalanffy, e o comprimento da primípara (mm) respectivamente. Observa-se que os menores valores de  $L_{\infty}$  foram os obtidos para os organismos testados em água da captação de Piracicaba e de Santa Bárbara, assim como um retardamento no período da 1<sup>a</sup> reprodução para os organismos destes cultivos.

Os dados utilizados para o ajuste das curvas encontram-se no apêndice 2e.

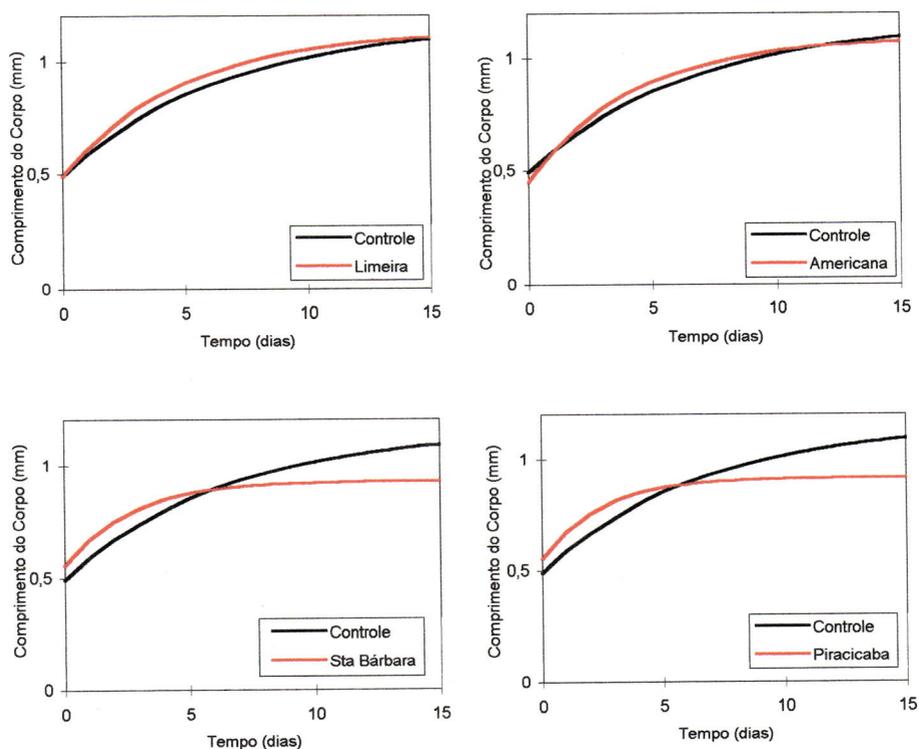


FIGURA 5.22 - Curvas de crescimento individual de *C. dubia* cultivada em água proveniente de 5 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, coletadas no dia 12/04/96.

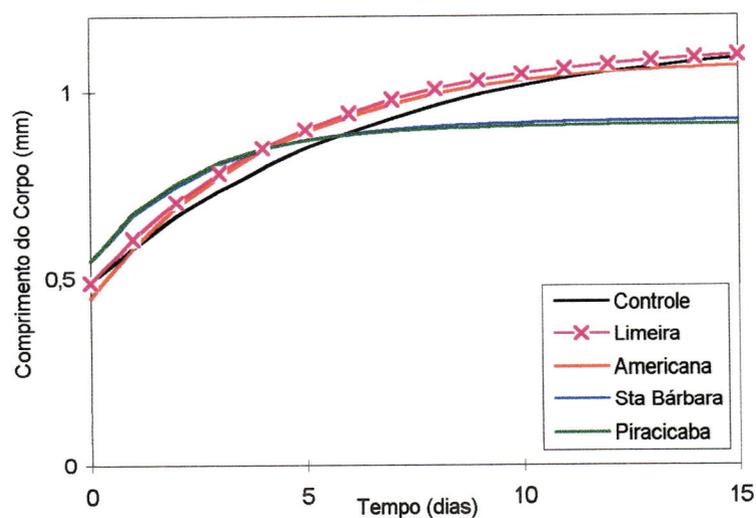


FIGURA 5.23- Curvas de crescimento do corpo de *C. dubia* cultivada em água de 5 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, coletadas no dia 12/04/95.

TABELA 5.49 - Valores da equação de Von Bertalanffy e coeficiente de correlação linear de Pearson ( $r$ ) para as curvas que descrevem o crescimento do corpo de *C. dubia* durante o teste de toxicidade crônica com amostras de água coletada em 5 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, no dia 12/04/95..

Local	$L_{\infty}$	$L_0$	K	$T_0$	$r$
Controle	1,15	0,49	0,15	-3,54	0,993
Limeira	1,12	0,49	0,20	-2,74	0,988
Americana	1,08	0,45	0,24	-2,23	0,984
Sta Bárbara	0,93	0,55	0,38	-2,35	0,900
Piracicaba	0,91	0,55	0,42	-2,17	0,918

TABELA 5.50- Comprimento médio das primíparas (mm) obtidas em teste de toxicidade crônica com *C. dubia* em água coletada de 5 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, no dia 12/04/95.

Local	Tempo (dias)	Comprimento (mm) ( $\pm$ desvio padrão)
Controle	4	0.73 $\pm$ 0,01
Limeira	4	0.78 $\pm$ 0,06
Americana	4	0.81 $\pm$ 0,05
Santa Bárbara	5	0.80 $\pm$ 0,12
Piracicaba	5	0.81 $\pm$ 0,12

### b) Crescimento populacional

Esta variável foi monitorada através da determinação da taxa intrínseca de aumento natural ( $r$ ), cujos resultados podem ser observados pela Tabela 5.51. Nota-se que os menores valores de  $r$  foram obtidos para os organismos de *C. dubia* testados em água coletada nas captações de Piracicaba e de Santa Bárbara, comparados aos demais pontos de amostragem. Nota-se também que os valores de  $r$  obtidos para os outros locais de amostragem (Americana e Limeira) não apresentaram diferenças marcantes quando comparados aos valores obtidos para os organismos com água do local Controle (Represa do Tatu). Estas diferenças foram estatisticamente significativas, diferindo apenas para o ensaio realizado com a amostra de Santa Bárbara, o qual não foi considerado significativo, mas o valor de  $T$  estatístico (2.764) foi bem próximo ao valor considerado crítico (2.85). Neste caso pode-se considerar que os organismos sofreram indicio de toxicidade crônica

avaliada através do crescimento populacional. Os resultados dos testes de Dunnett estão representados no ANEXO G.

Estes resultados são também evidenciados através das Figuras 5.24 e 5.25, as quais apresentam as curvas ajustadas para o crescimento populacional.

A Figura 5.25 revela que os organismos expostos em águas provenientes das captações de Santa Bárbara e de Piracicaba apresentaram um menor crescimento populacional.

Os dados experimentais utilizados para o ajuste das curvas encontram-se no Apêndice 3e.

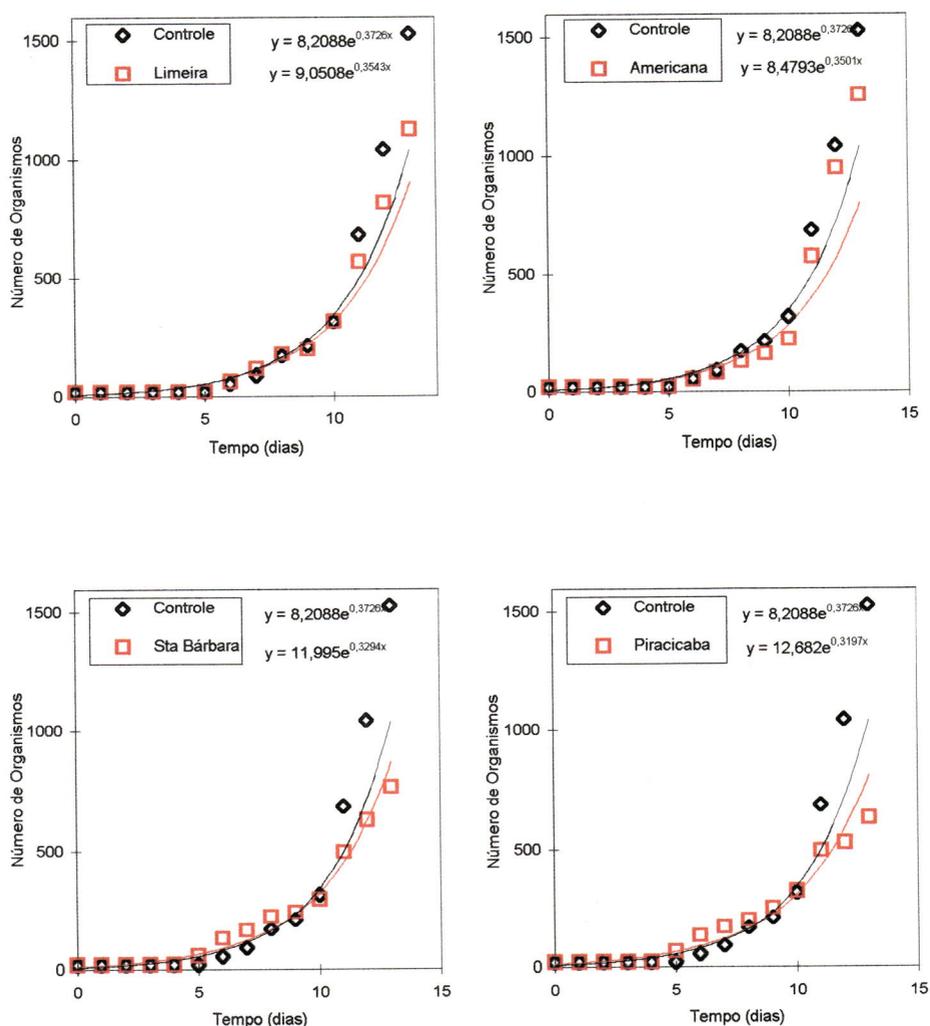


FIGURA 5.24- Curvas de crescimento populacional de *C. dubia* cultivada em amostras de água, coletadas no dia 12/04/95, em 5 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP.

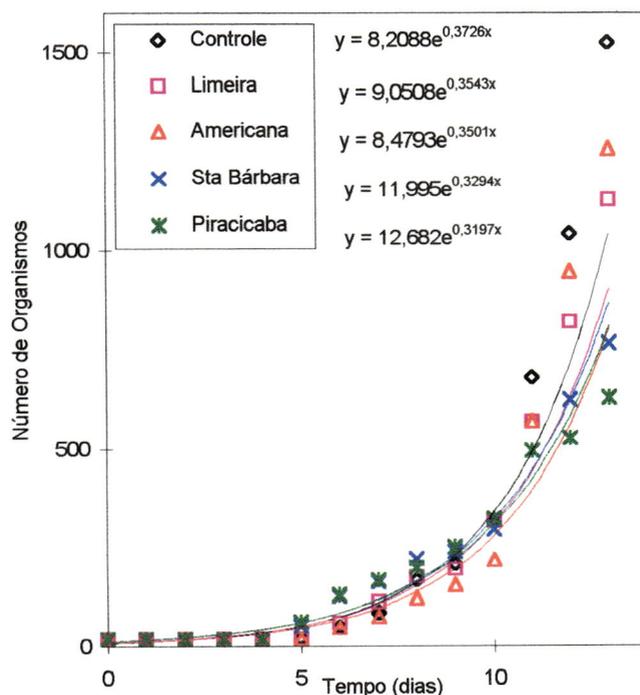


FIGURA 5.25- Curvas de crescimento populacional de *C. dubia* cultivada em amostras de água de 5 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, coletadas no dia 12/04/95.

TABELA 5.51 - Valores de  $r$  (taxa intrínseca de aumento natural), número inicial ( $N_0$ ) e final de organismos ( $N_t$ ) obtidos para *C. dubia* durante teste de toxicidade crônica com amostras de água proveniente de 5 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, coletadas no dia 12/04/95.

Local	$N_t$	$N_0$	Tempo	$r$ (dias)
Controle	1527	20	13	0,33
Limeira	1127	20	13	0,31
Americana	1256	20	13	0,32
Santa Bárbara	766	20	13	0,28
Piracicaba	628	20	13	0,26

### c) Fecundidade

Através da Tabela 5.52 pode-se observar que os organismos expostos em águas coletadas nas captações de Santa Bárbara e Piracicaba foram os mais afetados quanto à fecundidade, durante o teste crônico.

O resultado da análise estatística mostrou diferenças significativas para estes ensaios quando comparados ao do local Controle, além daquele em que os organismos foram expostos à água coletada na captação de Americana. O resultado do teste de Dunnett está representado no ANEXO G.

TABELA 5.52- Número total de neonatas de *C. dubia* produzidas durante teste de toxicidade crônica, com amostras de água coletada no dia 12/04/95, nos diferentes pontos de amostragem da bacia do rio Piracicaba/SP.

Local	n <sub>i</sub>	14 <sup>o</sup> dia	
		n	I x (%)
Controle	20	494	
Limeira	20	435	
Americana	20	343 **	
Santa Bárbara	20	216 **	
Piracicaba	20	279 **	

\*\* = diferenças de fecundidade estatisticamente significantes, pelo teste de Dunnett.

#### d) Sobrevivência

Os valores de sobrevivência das fêmeas de *C. dubia* no final do teste crônico, são apresentados na Tabela 5.53, sendo que os organismos mais afetados foram aqueles testados em águas coletadas nas captções de Americana e Santa Bárbara. Este resultado foi considerado estatisticamente significativo, além do ensaio realizado com a amostra da captação de Piracicaba, a qual apresentou alteração na sobrevivência considerada como indicio de toxicidade, pois o valor de T estatístico (2.79) foi bem próximo ao valor crítico (2.85). O resultado do teste de Dunnett encontra-se no ANEXO G.

TABELA 5.53- Valores de sobrevivência, em porcentagem (%) das fêmeas de *C. dubia* durante teste crônico, com amostras de água coletada no dia 12/04/95.

Local	n <sub>i</sub>	14 <sup>o</sup> dia	
		n	I x (%)
Controle	20	20	100
Limeira	20	16	80
Americana	20	12	60**
Santa Bárbara	20	13	65 **
Piracicaba	20	15	75●

\*\* = diferença de sobrevivência estatisticamente significativa, pelo teste de Dunnett

● = indicio de toxicidade crônica (não estatisticamente significativo)

### e) Longevidade

Os organismos de maior longevidade média foram justamente aqueles que sofreram uma redução do tamanho do corpo e da reprodução, ou seja, aqueles testados em água proveniente das captações de Piracicaba e Santa Bárbara. (Tabela 5.54). No entanto ao se comparar estes resultados com o obtido pelo organismos submetidos à amostra do local Controle, não houve diferenças estatisticamente significativas. O resultado do teste estatístico encontra-se no ANEXO G.

TABELA 5.54- Valores médios, desvio padrão (DP), máximo e mínimo de longevidade (dias) obtidos durante teste de toxicidade crônica com *C dubia* em águas de 5 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP, coletadas no dia 12/04/95.

Local	Média ( $\pm$ DP)	Máxima	Mínima
Controle	24 $\pm$ 3	28	19
Limeira	14 $\pm$ 8	24	5
Americana	16 $\pm$ 7	26	5
Santa Bárbara	34 $\pm$ 14	53	10
Piracicaba	38 $\pm$ 18	60	9

### f) Variáveis físicas e químicas das soluções teste

Na Tabela 5.55 pode-se verificar que em geral não houve grandes alterações quanto às variáveis físicas e químicas monitoradas durante os testes crônicos. Isto se deve provavelmente à renovação diária das soluções - teste, mantendo condições mais homogêneas. Exceção a regra são os valores de condutividade que sofreram considerável aumento no decorrer do teste.

TABELA 5.55 - Valores de pH, temperatura, condutividade e dureza da água durante o teste de toxicidade crônica realizado com *C. dubia* para as amostras de água coletadas em 5 pontos da bacia do rio Piracicaba/SP no dia 12/04/95.

Local	pH		Temperatura (°C)		Condutividade (µS/cm)		Dureza (mg/l CaCO <sub>3</sub> )	
	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
Controle	6,8	7,0	22,0	23,0	43	52	15	16
Limeira	6,7	7,1	22,0	23,0	52	62	15	16
Americana	6,8	7,1	22,0	23,0	82	103	19	20
Santa Bárbara	6,8	6,8	22,0	23,0	116	160	23	26
Piracicaba	6,8	7,0	22,0	23,0	110	170	25	26

Na Tabela 5.56 encontram-se sumarizados os resultados dos testes de toxicidade crônica com as amostras de água, dos diferentes pontos de amostragem.

TABELA 5.56-Resultados dos testes de toxicidade crônica com as amostras de água coletadas na bacia do rio Piracicaba/SP para *D.similis*, *C.dubia* e *C.silvestrii*.

Parâmetros	Toxicidade crônica																		
	Crescimento do corpo			Crescimento populacional			Fecundidade			Sobrevivência			Longevidade						
	<i>D.similis</i>	<i>C.dubia</i>	<i>C.silvestrii</i>	<i>D.similis</i>	<i>C.dubia</i>	<i>C.silvestrii</i>	<i>D.similis</i>	<i>C.dubia</i>	<i>C.silvestrii</i>	<i>D.similis</i>	<i>C.dubia</i>	<i>C.silvestrii</i>	<i>D.similis</i>	<i>C.dubia</i>	<i>C.silvestrii</i>				
Organismos	1	2	1	1	1	2	1	2	1	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Controle	*	*					*	*											
Limeira	*	*	●	*			*	*	*			*	*						*
Americana	*	*			*		*	*				*	*						
Sta Bárbara	*	*	●	*		●	*	*	*			*	*						●
Piracicaba	*	*	●	*		*	*	*	*			*	*						●
Campinas	*	*		*		*	*	*	*			*	*						●
Sumaré	*	*		*		*	*	*	*			*	*						●

Legenda: 1= 12/04/95=*D.similis* e *C.dubia*, e 19/01/96 = *C.silvestrii*

2= 17/10/96

\* = Locais que apresentaram toxicidade crônica, estatisticamente significantes  
 ● = indício de toxicidade crônica (não estatisticamente significativos)

## 5.6 - Testes de Sensibilidade das larvas de *Chironomus xanthus* ao KCl

Na Tabela 5.57 encontram-se os valores de CE50- 96h com os respectivos intervalos superiores e inferiores obtidos para os ínstars II, III e IV de *Chironomus xanthus* quando submetidos a diferentes concentrações de KCl.

TABELA 5.57 Valores de CE50-96 g/l KCl para os ínstars II, III e IV de *Chironomus xanthus*.

Número do teste	ÍNSTAR II	ÍNSTAR III	ÍNSTAR IV
1	4.22 (4.84 -3.68)	5.04 (5.67 -4.49)	4.25 (5.02 -3.61)
2	4.33 (4.74 -3.96)	5.73 (6.59 -4.98)	5.01 (5.69 -4.43)
3	3.53 (4.37 -2.85)	4.4 (4.83 -3.56)	4.31 (5.35 -3.48)
4	3.97 (4.53 -3.48)	4.15 (4.83 -2.07)	4.14 (5.08 -3.39)
5	4.62 (4.20 -5.09)	3.03 (4.43 -2.07)	4.35 (5.14 -3.69)
6	4.38 (4.80 -4.0)	3.18 (4.25 -2.39)	4.88 (5.50 -4.33)
7	3.74 (4.16 -3.37)	4.99 (5.35 -4.65)	4.99 (5.18 -4.81)
8	4.95 (5.19 -4.72)	3.30 (4.35 -2.51)	6.48 (7.12 -5.89)
9	3.17 (3.56 -2.83)	3.69 (5.02 -2.71)	4.13 (5.29 -3.22)
10	3.02 (3.80 -2.40)	5.20 (4.68 -5.79)	4.78 (5.98 -3.83)
11	-	5.17 (8.88 -3.02)	3.93 (4.91 -3.15)
12	-	5.54 (5.96 -5.16)	4.47 (5.48 -3.65)
13	-	5.09 (6.05 -4.28)	-

Aplicando-se o modelo utilizado pela USEPA, as faixas de sensibilidade obtidas variaram de 2,7 a 5,2 g/l (CV=16%), 2,6 a 6,4 g/l (CV=21%) e de 3,3 a 6,0 g/l KCl (CV=15%) para os ínstars II, III e IV respectivamente. Evidencia-se, então que apenas os organismos do teste n<sup>o</sup>8, do instar IV estão fora da faixa estabelecida, não devendo portanto ser utilizados nos testes de toxicidade.

O resultado do teste ANOVA Kruskal-Wallis, comparando-se diferentes ínstars, foi de  $P = 0,1315$ , valor este considerado não significativo. Portanto, qualquer dos ínstars de *Chironomus xanthus* testados, poderá ser utilizado nos testes de toxicidade para esta substância de referência.

## 5.7 - Variáveis físicas e químicas das amostras de água

### 5.7.1 - Resultados de campo

Os valores das variáveis físicas e químicas da água das diferentes localidades, obtidos com o auxílio do sensor múltiplo no momento das coletas estão representados na Tabela 5.58.

TABELA 5.58 - Variáveis físicas e químicas medidas com o sensor múltiplo no momento das coletas das amostras de água e de sedimento, nos dias 12/04/95 (1), 19/01/96 (2) e 17/10/96 (3).1

12/04/95 -	hora	pH (da água)	Condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Turbidez (UT)	O.D. (mg/L O <sub>2</sub> )	Temperatura (°C)
Controle	10:00	6,5	36	64	5,8	25
Limeira	13:00	6,7	50	247	7,6	24
Americana	14:50	6,7	77	128	5,3	24
S <sup>ta</sup> Bárbara	11:10	7,1	107	8	5,5	24
Piracicaba	8:40	6,6	102	15	4,7	24

Obs.: • tempo parcialmente nublado, coleta realizada após dia de chuva

2

19/01/96	hora	pH da água	pH do sedimento	Cond.( $\mu\text{S}/$ cm)	Turbidez (UT)	O.D. (mg/L O <sub>2</sub> )	Temp. (°C)
Controle	13:30	6,6	6,8	45	78	4,6	25
Limeira	14:35	7,0	6,9	44	131	7,5	25
Americana	15:35	6,7	6,7	61	35	5,8	25
S <sup>ta</sup> Bárbara	10:20	6,8	6,5	83	259	5,4	25
Piracicaba	08:30	6,6	6,5	90	27	4,8	25
Campinas	09:20	6,7	6,8	124	127	5,9	26
Sumaré	18:45	7,1	6,8	70	—	6,9	25

Obs.: • céu nublado e água barrenta em todos os pontos.

3

17/10/96	hora	pH da água	pH do sedimento	Cond. ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Turbidez (UT)	O.D. (mg/L O <sub>2</sub> )	Temp. (°C)
Controle	15:10	7,0	6,8	47	93	5,4	23
Limeira	12:17	7,3	6,9	65	2	7,6	23
Americana	07:45	7,0	6,7	90	3	6,0	23
S <sup>ta</sup> Bárbara	10:00	6,5	6,8	141	46	4,3	23
Piracicaba	07:55	6,5	6,8	148	30	3,3	23
Campinas	09:45	7,0	7,0	68	4	7,8	22
Sumaré	12:00	6,9	6,4	190	12	5,5	24

Obs.: • céu limpo, ensolarado em todos os pontos. Água limpa (não barrenta) em todos os pontos.

### **5.7.2 - Concentração das formas nitrogenadas da água na bacia do rio Piracicaba**

Na Figura 5.26 são apresentados os valores de nitrogênio inorgânico total, amônia, nitrito e nitrato para as amostras de água coletadas nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96.

Evidencia-se que, para a amostra coletada no dia 12/04/96, os maiores valores de nitrogênio inorgânico total, quando comparados ao local escolhido como Controle (Represa do Tatu), foram obtidos para as amostras provenientes das captações de Piracicaba e Santa Bárbara e para a amostra da captação de Sumaré no dia 19/01/96.

Quanto às amostras do dia 17/10/96, os maiores valores foram os obtidos também para estes três locais, além da amostra coletada na captação de Americana.

Segundo CONAMA/86 os limites estabelecidos para os rios de Classe 2 em relação à amônia não ionizável ( $\text{NH}_3$ ), nitrito ( $\text{NO}_2$ ) e nitrato ( $\text{NO}_3$ ) são 0,02mg/l, 1,0mg/l e 10mg/l, respectivamente. Portanto ao se comparar os valores obtidos com os estabelecidos por lei, todos estes encontram-se abaixo dos limites permissíveis.

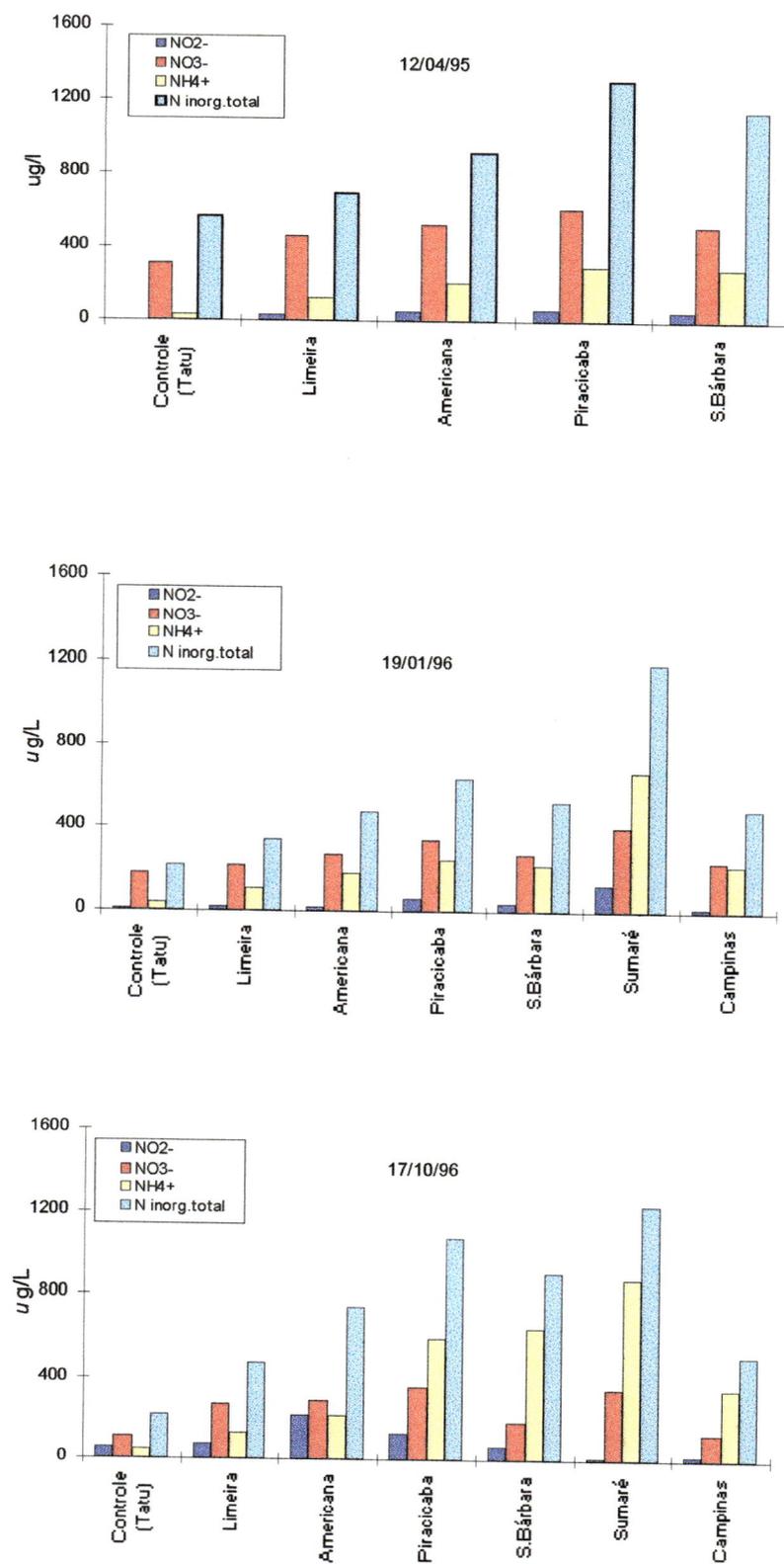


FIGURA 5.26 - Valores de nitrogênio inorgânico total, nitrito, nitrato e amônia total das amostras de água, coletadas nos pontos de amostragem na bacia do rio Piracicaba/SP nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96.

### **5.7.3 - Concentração das formas fosfatadas da água na bacia do rio Piracicaba**

Através das Figura 5.27 pode-se observar que nas amostras de água coletadas nos dias 19/01/96 e 17/10/96 foram encontrados valores mais elevados de fósforo total, e formas fosfatadas, do que na amostra do dia 12/04/96, apesar de neste dia não ter sido amostrada água das captações de Campinas e Sumaré.

A Resolução CONAMA/86 estabelece um limite de 0,025mg/l de fosfato total para os rios de classe 2, como são enquadrados os rios Piracicaba, Atibaia e Jaguari. Portanto ao se comparar o valor estabelecido por lei com os obtidos nas análises observa-se que para as amostras coletadas no dia 12/04/95, apenas para os locais de captação de Piracicaba e futura captação de Santa Bárbara D'Oeste, foram registrados níveis um pouco acima do permitido. Entretanto para as amostras coletadas no dia 19/01/96 as captações de Piracicaba, Santa Bárbara D'Oeste (rio Piracicaba), Limeira (rio Jaguari) e Sumaré (rio Atibaia) apresentaram valores superiores aos estabelecidos por lei.

Por outro lado, os níveis de fosfato total encontrados para as amostras coletadas no dia 17/10/96 foram superiores ao estabelecido pelo CONAMA, para todos os locais de amostragem, com exceção do local controle (Represa do Tatu - ribeirão dos Pinhais), sendo a captação de Sumaré o local de maior concentração.

### **5.7.4 - Material em suspensão**

Na Figura 5.28 encontram-se os valores de material em suspensão, subdivididos nas frações orgânica e inorgânica, para as amostras de água coletadas nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96. Observa-se que os maiores valores foram aqueles obtidos para as amostras coletadas no dia 19/01/96, justamente por ter sido um período de maior precipitação, o que provoca um maior aporte alóctone e uma maior ressuspensão de partículas na água. Entretanto todos os valores obtidos encontram-se abaixo do limite estabelecido pelo CONAMA/96 que é de 500mg/l de

sólidos dissolvidos totais. Observa-se que este valor não foi ultrapassado em nenhum dos locais em que foram quantificados os sólidos totais em suspensão.

#### **5.7.5 - Metais**

Na Figura 5.29 encontra-se os valores de metais (mg/l) para as amostras de água. Nota-se que ao se comparar com os limites estabelecidos pelo CONAMA/86, para os rios de classe 2, em que os rios Piracicaba, Jaguari e Atibaia se enquadram, os valores de chumbo, cádmio e manganês encontrados na amostra de água coletada na captação de Sumaré no dia 19/01/96, são superiores ao limite permissível. Quanto aos teores de ferro, evidencia-se que para todas as amostras, em todos os locais amostrados, os valores encontrados foram superiores ao limite estabelecido.

Evidencia-se também que o valor de zinco encontrado na amostra de água coletada na captação de Limeira no dia 19/01/96 foi bem próximo ao limite permissível, indicando ser este também um ponto crítico.

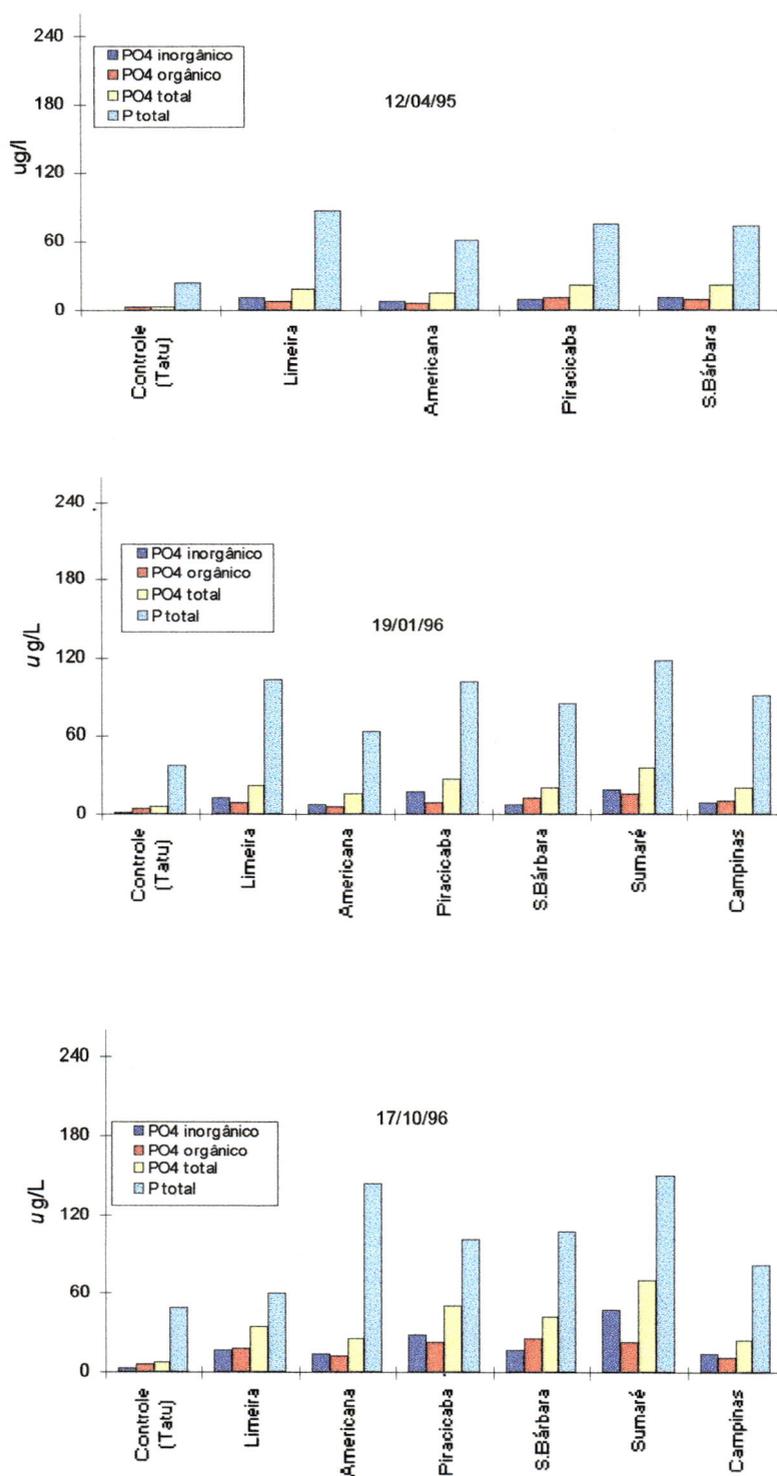


FIGURA 5.27 - Valores de fósforo total, fosfato total, fosfato orgânico e fosfato inorgânico das amostras de água coletadas nos pontos de amostragem da bacia do rio Piracicaba/SP nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96.

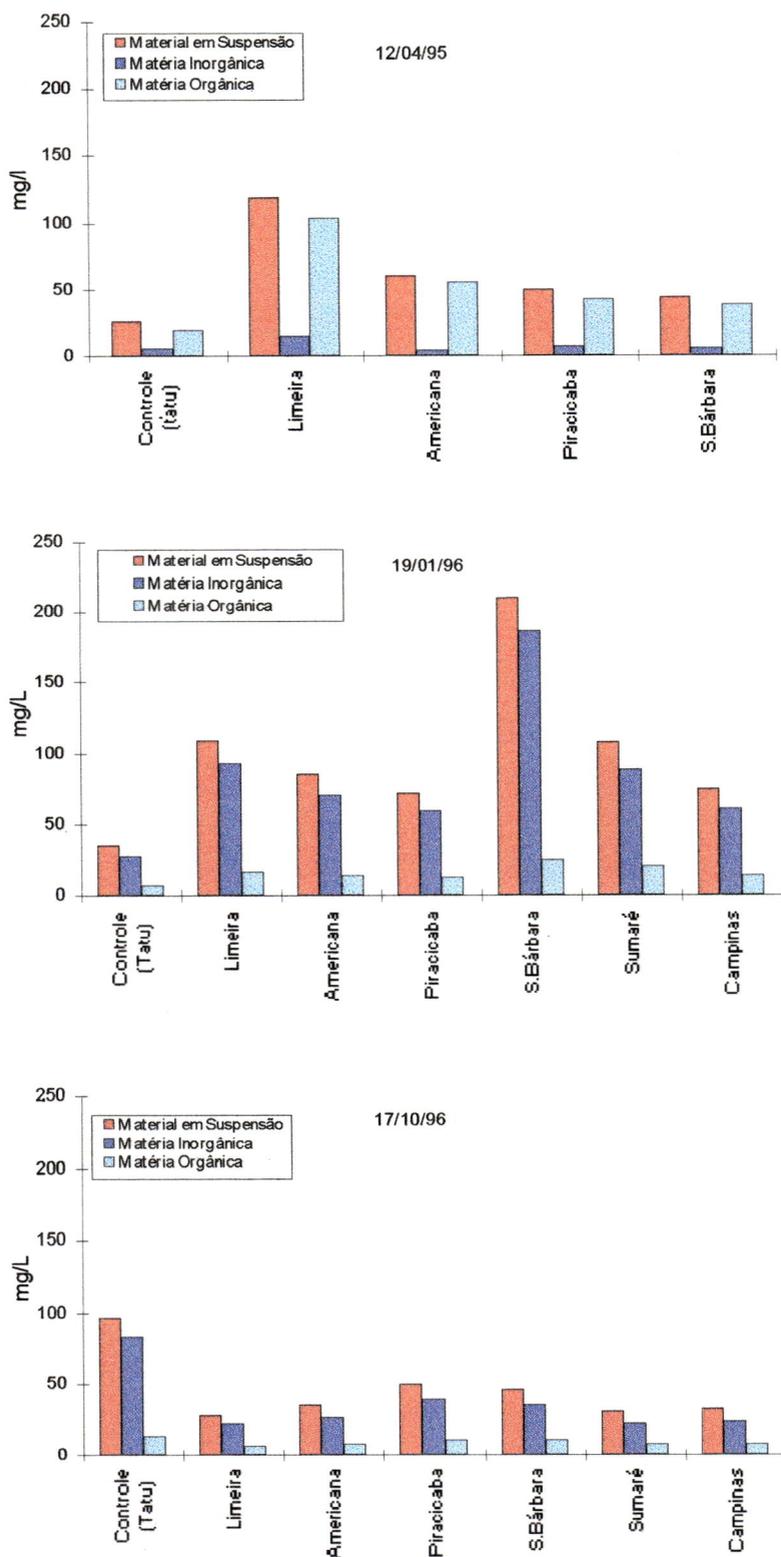


FIGURA -5.28 - Valores de material em suspensão, fração orgânica e inorgânica das amostras de água coletadas nos pontos de amostragem da bacia do rio Piracicaba/SP nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96.

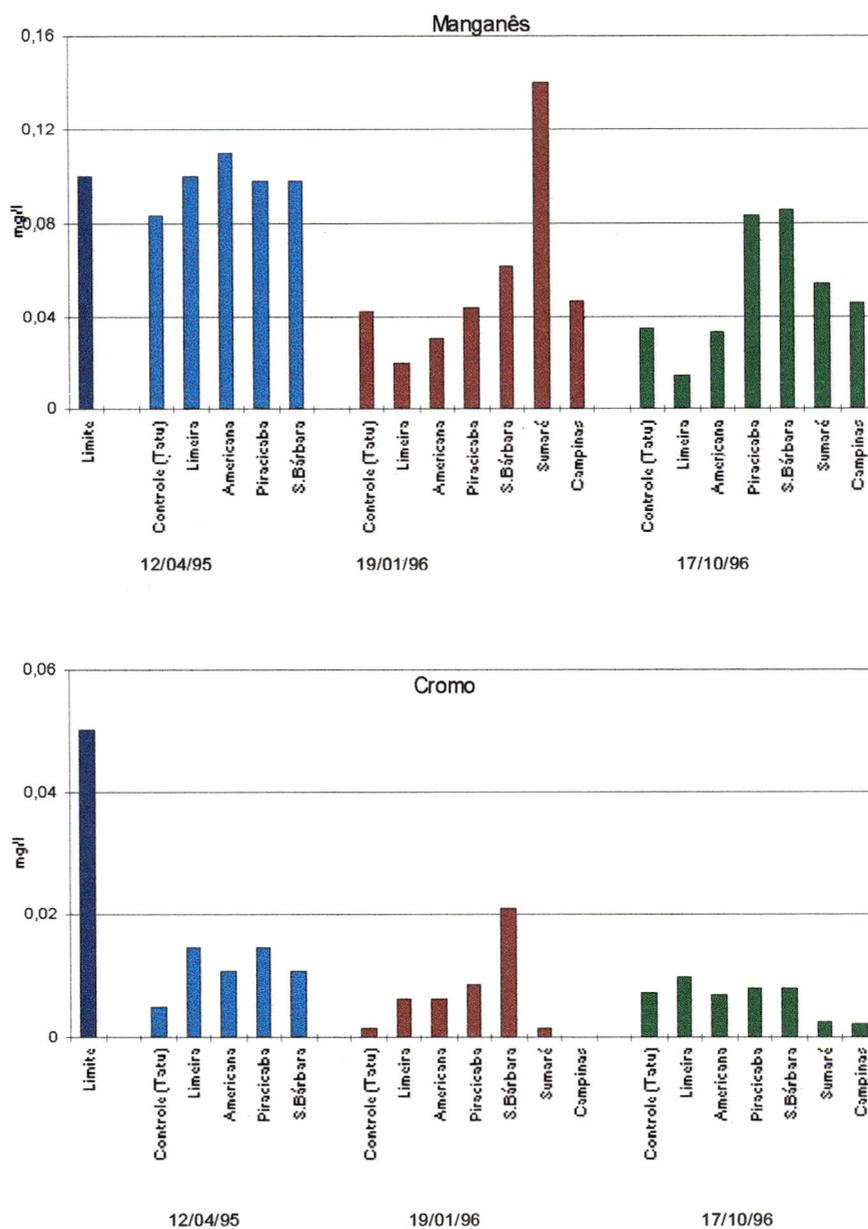


FIGURA 5.29 - Concentrações de metais encontrados nas amostras de água coletadas nos dias 12/02/95, 19/01/96 e 17/10/96, nos diferentes locais da bacia do rio Piracicaba/SP.

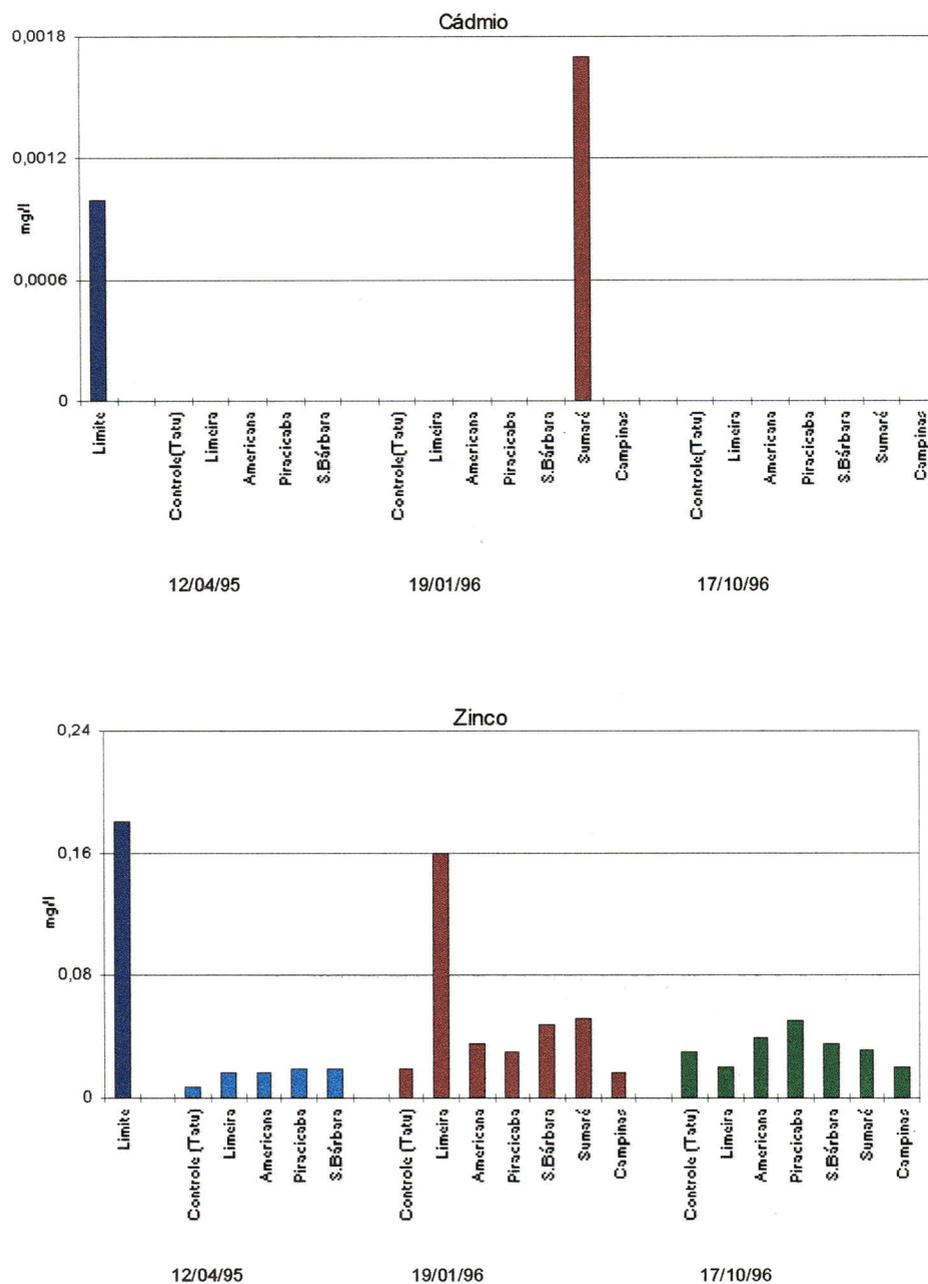


FIGURA 5.29- Continuação.

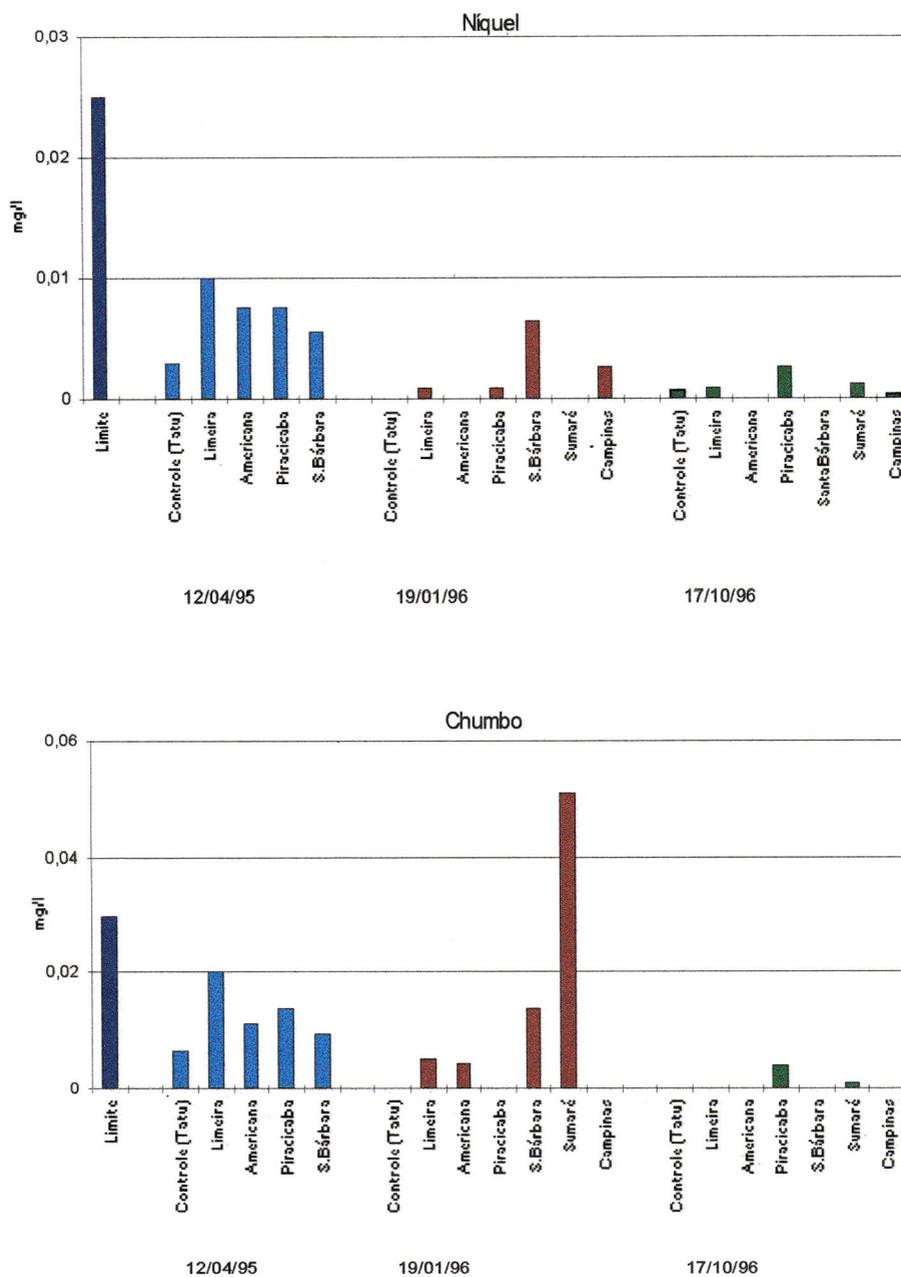


FIGURA 5.29 - Continuação.

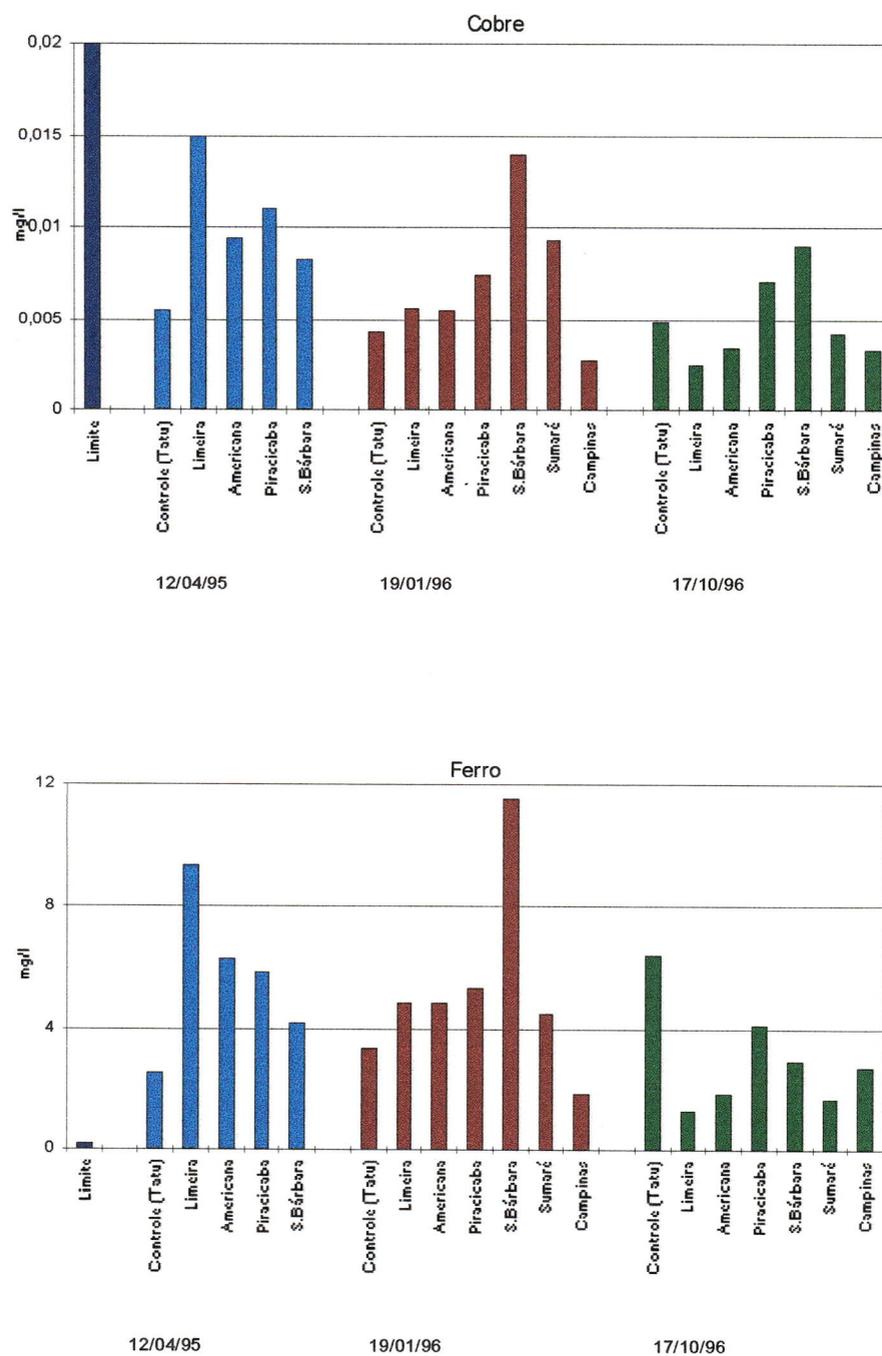


FIGURA 5.29 - Continuação.

## **5.8 - Variáveis físicas e químicas das amostras de sedimento**

### **5.8.1 - Granulometria e Concentração de matéria orgânica**

O resultado da análise granulométrica e os teores de matéria orgânica das amostras de sedimento coletadas nos dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/10/96 estão representados nas Figuras 5.30, 5.31 e 5.32 respectivamente.

Os resultados mostraram a predominância da fração argila no local escolhido como controle (Represa do Tatu) para as três datas amostradas e especificamente para as amostras das captações de Campinas e Sumaré coletadas nos dias 19/01/96 e 17/10/96. Por outro lado, houve a predominância da fração grosseira (areia) para as amostras de sedimento provenientes da captação de Piracicaba, para todas as datas amostradas.

Quanto aos teores de matéria orgânica contida nas amostras de sedimento, as maiores porcentagens foram encontradas para as amostras do local Controle (Represa do Tatu) na coleta do dia 12/04/95 e nas outras datas de amostragem. Além do local Controle, a concentração de matéria orgânica foi também elevada nos pontos amostrados no rio Atibaia (Captações de Campinas e Sumaré).

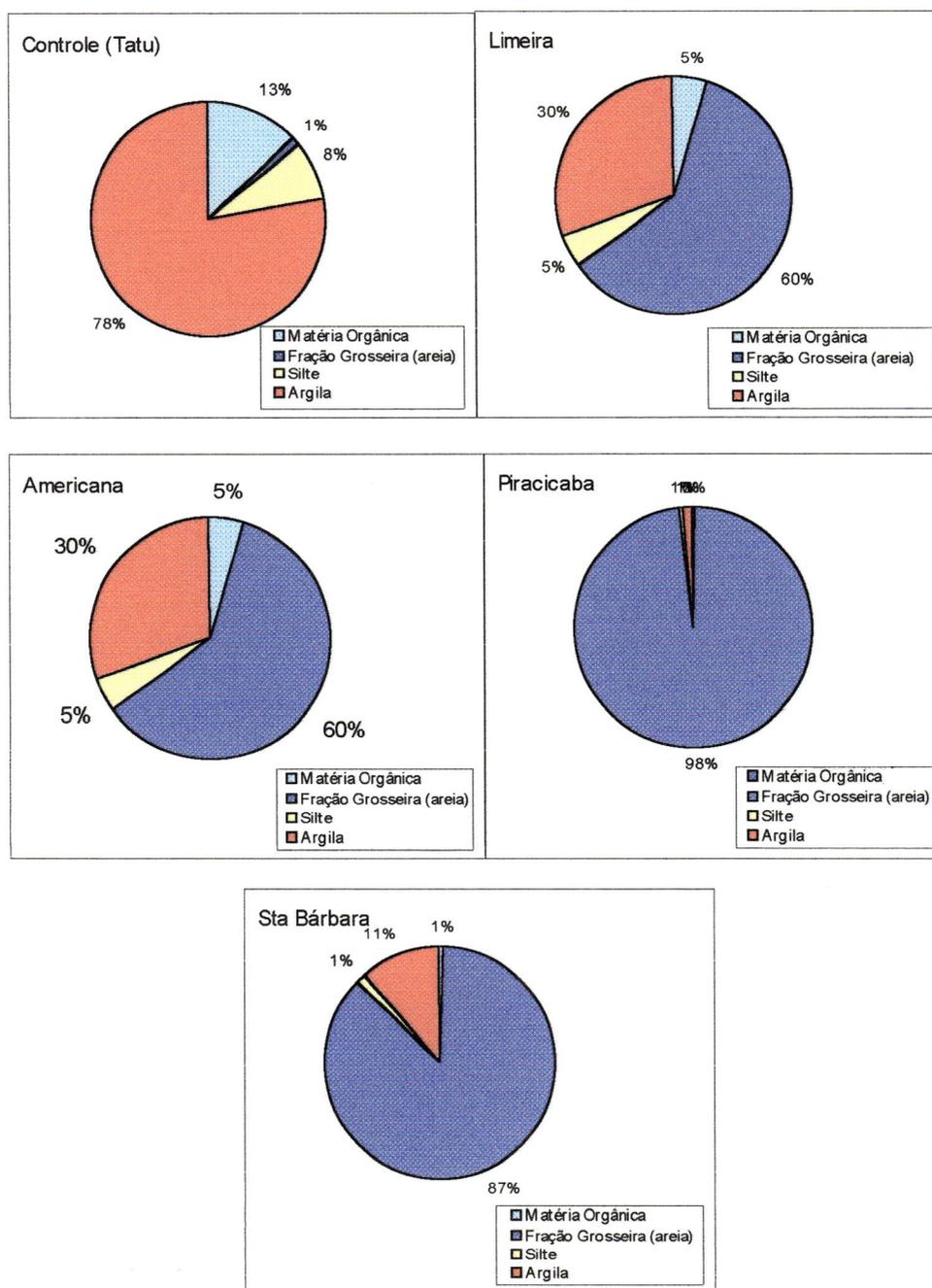


FIGURA 5.30- Teores de matéria orgânica e granulometria das amostras de sedimento coletadas em 5 pontos da bacia do rio Piracicaba no dia 12/04/95.

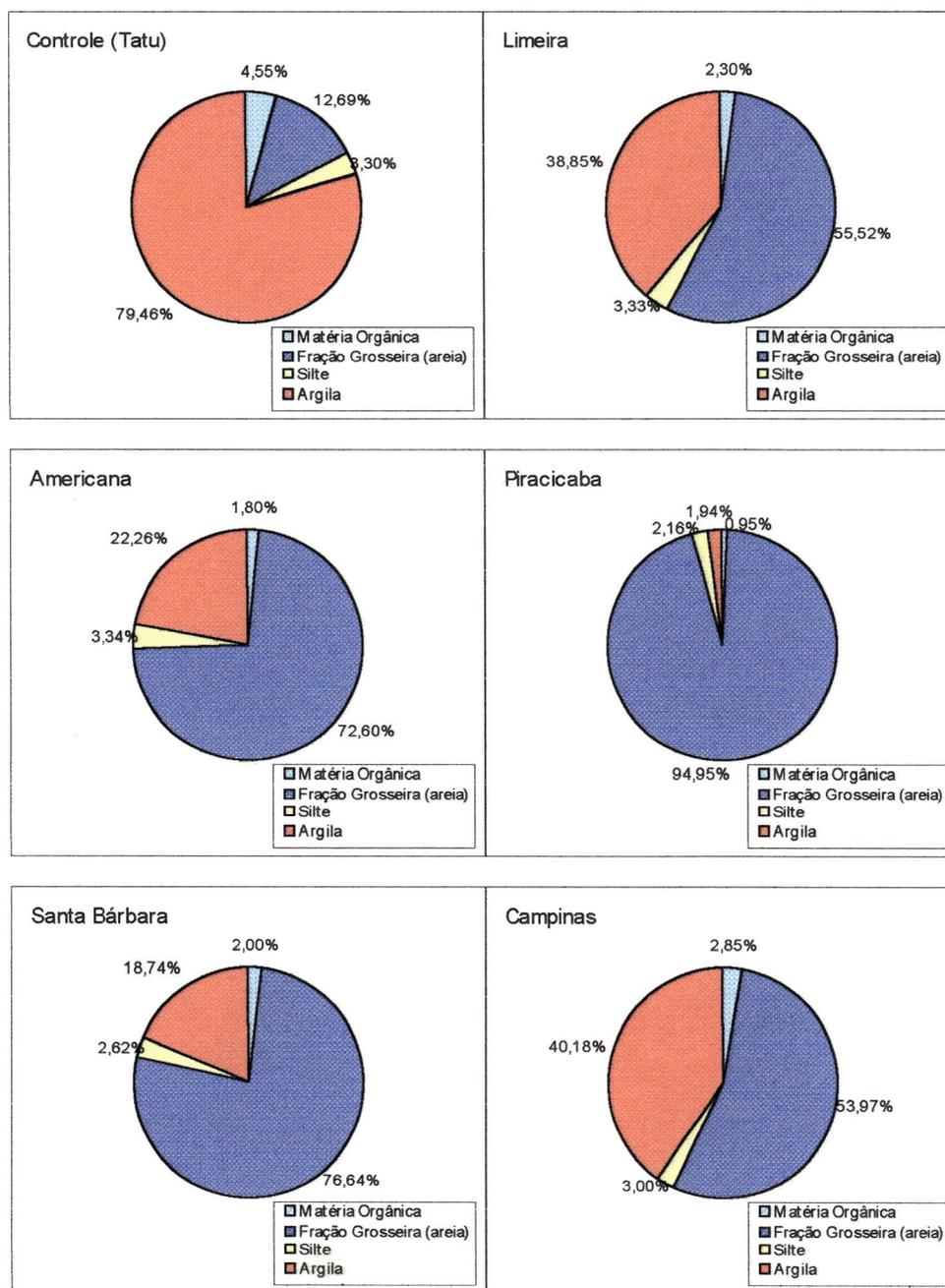


FIGURA 5.31 - Teores de Matéria Orgânica e granulometria das amostras de sedimento coletadas em 7 pontos da bacia do Rio Piracicaba no dia 19/01/96.

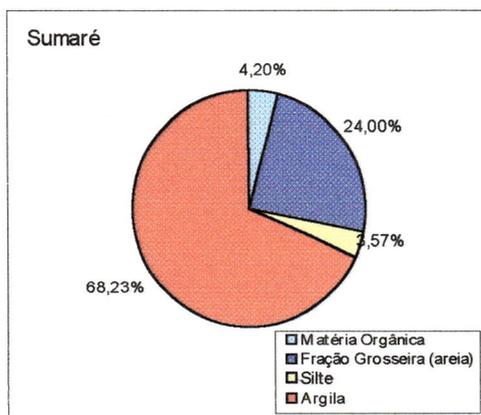


FIGURA 5.31- Continuação.

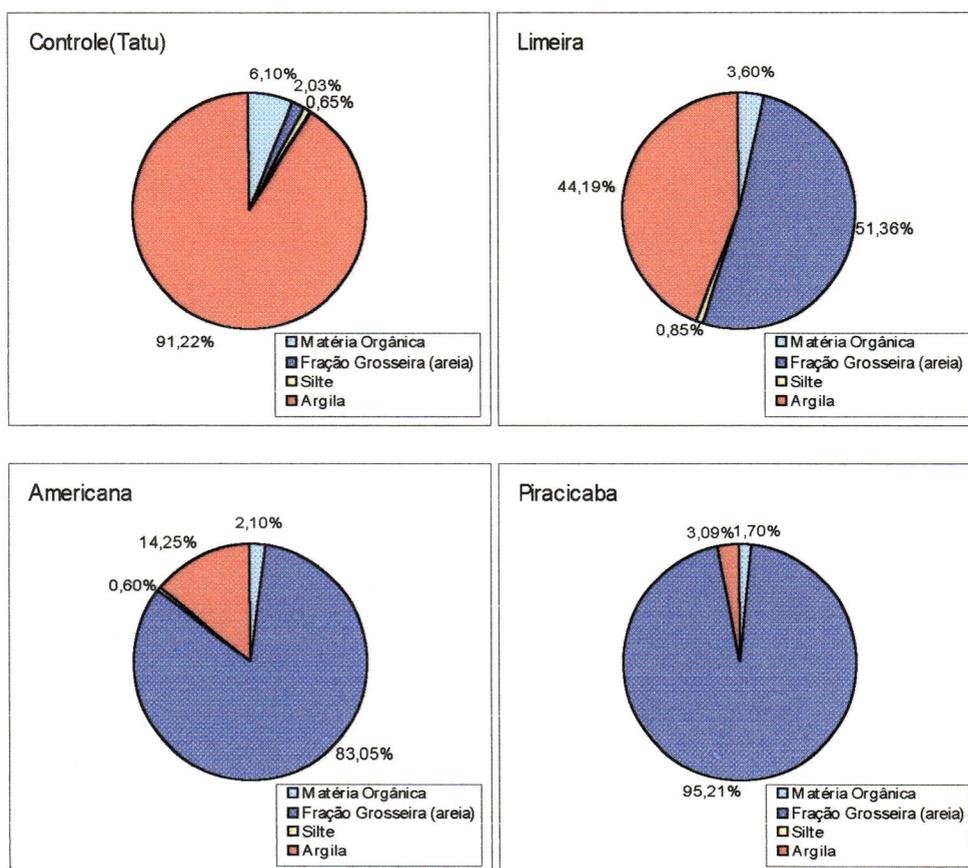


FIGURA 5.32 - Teores de Matéria Orgânica e granulometria das amostras de sedimento coletadas em 7 pontos da bacia do Rio Piracicaba no dia 17/10/96.

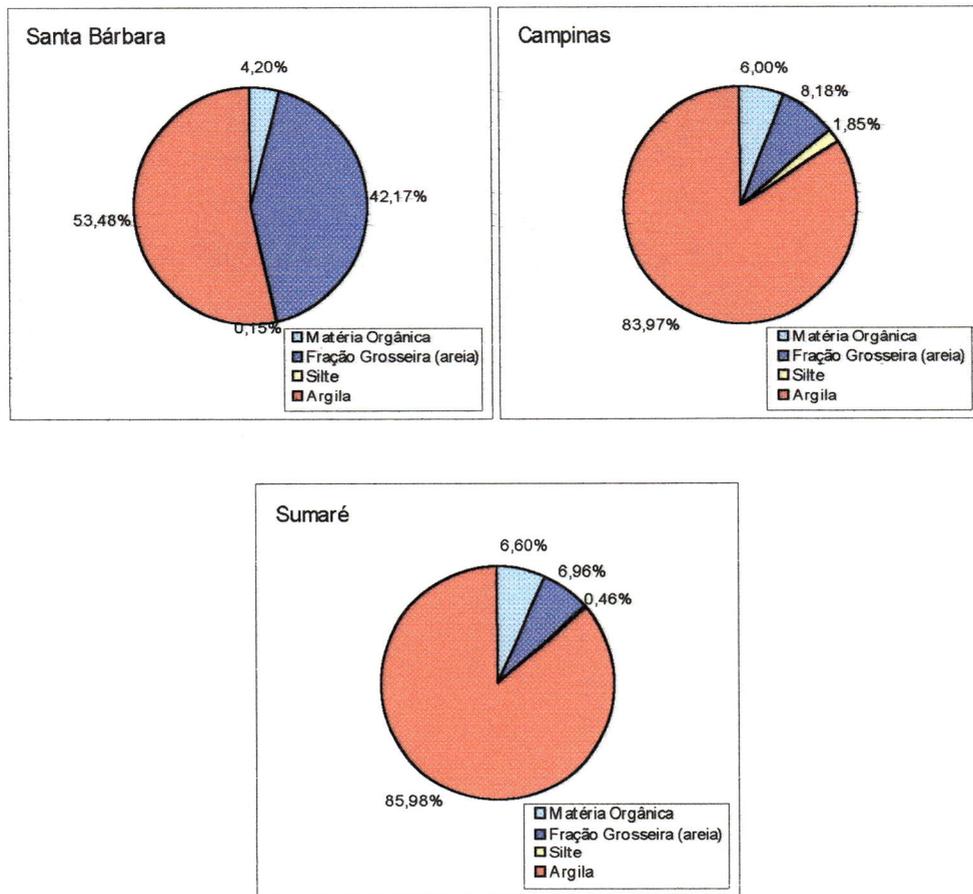


FIGURA 5.32- Continuação.

## 6 - DISCUSSÃO

O teste de toxicidade é um tipo de monitoramento biológico que pode ser utilizado para identificar os possíveis efeitos dos contaminantes tóxicos, mostrando como alguns organismos respondem a estes contaminantes sob certas condições. Normalmente os testes complementam as informações fornecidas pelas análises químicas, visto que estas não incluem medidas de todos os possíveis agentes tóxicos que podem ocorrer no sistema, nem avaliam de forma integrada a ação de uma combinação de contaminantes sobre os organismos aquáticos (ELDER, 1990).

SOARES (1990) acrescenta que os testes ecotoxicológicos complementam e reduzem os custos dos mecanismos tradicionais de controle da poluição e que, quando integrados num programa multidisciplinar, são um instrumento essencial para uma política correta de gestão dos recursos naturais.

A característica mais importante, no que se refere à escolha de um procedimento de um teste de toxicidade, é justamente a seleção da espécie que deverá ser utilizada como indicador dos efeitos dos contaminantes, pois a resposta deste teste com um, ou um pequeno grupo de organismos, geralmente é usada para representar um comunidade inteira (ELDER, 1990). Este mesmo autor menciona que a seleção da espécie teste normalmente é baseada em vários critérios, dos quais alguns são mencionados a seguir:

- Sensibilidade: o organismo deverá responder a uma ampla variedade de contaminantes, em concentrações que podem ser encontradas no ambiente natural.
- Fácil manutenção em laboratório: o organismo deverá ser adaptável as condições de cultivo em laboratório.

- Reprodutibilidade dos resultados: a repetição dos experimentos deverá fornecer resultados uniformes, com limites de erros aceitáveis.
- Relevância: o organismo deverá ter um significado ecológico ou econômico, devido a sua abundância, importância econômica ou importância na cadeia alimentar.
- Ciclo de vida de curta duração: esta característica facilita o tempo de duração do teste.

Várias espécies de água doce têm sido selecionadas como organismos-teste justamente por apresentarem as características acima mencionadas. Algumas estão listadas nas Tabelas 3.2 e 3.3 .

Dentre os insetos aquáticos, organismos da família Chironomidae são extremamente adaptáveis a todos os tipos de ambientes, apresentando uma grande riqueza de espécies . Devido a estes fatores, dentre outros, os quironomídeos têm sido utilizados como organismos-teste na avaliação da toxicidade de sedimento (ELDER, 1990).

Como já mencionado, as duas espécies mais freqüentemente utilizadas em testes de toxicidade com amostras de sedimento, e que possuem protocolos e procedimentos padrão pela USEPA e ASTM, são *Chironomus tentans* e *Chironomus riparius*. As vantagens do uso destas espécies incluem o curto tempo de geração, a alta fecundidade, vários estágios larvais e a fácil manutenção em laboratório. *C. tentans* é amplamente utilizada nos Estados Unidos, enquanto que *C. riparius* é a espécie escolhida pelos laboratórios europeus (REYNOLDSON & DAY, 1995).

Informações sobre o ciclo de vida, particularmente para estes organismos, são de fundamental importância para qualquer estudo ecológico. Neste sentido a escolha de *Chironomus xanthus* como organismo-teste, no presente trabalho, deveu-se ao fato de se tratar de uma espécie com ocorrência na região de estudo, portanto de relevância ecológica. Além disso, estudos sobre sua biologia, realizados por STRIXINO & STRIXINO (1981, 1982), mostraram ser esta uma espécie de fácil manutenção em laboratório e com ciclo de vida bastante curto.

### 6.1 - Aspectos do ciclo de vida de *Chironomus xanthus*

Organismos da família Chironomidae são insetos (Ordem Diptera) com uma ampla distribuição geográfica, grande riqueza de espécies e também os mais abundantes nos ambientes de água doce. São componentes comuns de lagos, riachos e rios de correnteza e possuem portanto um amplo espectro quanto aos requisitos ambientais. Alguns são característicos de ambientes lênticos ou lóticos, águas frias ou quentes, águas ricas ou pobres em oxigênio (LINDEGAARD, 1995).

Estes organismos possuem capacidade de tolerar níveis reduzidos de oxigênio, pois dentre os insetos aquáticos, somente certas larvas de quironomídeos e alguns percevejos possuem hemoglobina. A hemoglobina destes organismos possui uma alta afinidade ao oxigênio. A saturação ocorre através de ondulações do corpo dentro dos casulos, promovendo assim um fluxo de água oxigenada ao redor do corpo. O oxigênio é descarregado quando as ondulações cessam, ou quando a respiração é anaeróbia (CRANSTON, 1995).

Por muito séculos, na Europa Central, em lagoas de carpas, tem se intensificado a produção de larvas de quironomídeos como fonte de alimento para os peixes. Recentemente estas larvas tem sido utilizadas como principal alimento para peixes de aquários (CRANSTON, 1995).

PRAT & RIERAEDEVALL (1995), em um estudo sobre o ciclo de vida e a produção anual das 8 espécies mais abundantes de Chironomidae no Lago Banyoles (NE Espanha), puderam constatar que estas espécies constituíam 98% da densidade larval das zonas sublitorâneas e profundas do lago. Além disso, estas mesmas espécies foram encontradas nos estômago de carpas e *Rutilus rutilus* (rã), mostrando portanto a importância deste item alimentar.

Os quironomídeos vivem em casulos a poucos centímetros do sedimento, e constituem freqüentemente a proporção mais significativa da biomassa bentônica (GIESY et al, 1988). Possuem papel importante na reciclagem de nutrientes do sedimento e são importantes na dieta de pássaros e peixes de água doce (BAUDIN & NUCHO, 1992).

*Chironomus tentans* e *Chironomus riparius* foram utilizados em testes de toxicidade com amostras de sedimento por NEBEKER et al, (1984); GIESY et al, (1988); ROSIU et al, (1989); BENOIT et al, (1997), LEE et al, (1980); WILLIAMS et al (1986); DAY et al, (1994); NAYLOR et al, (In press). Como já mencionado, vários fatores tem contribuído para a utilização destes organismos em programas de monitoramento de qualidade de água, tais como: a facilidade na manutenção e manuseio em laboratório (o tamanho e a coloração vermelha dos organismos, facilita a separação destes após o teste (NEBEKER et al, 1984), o ciclo de vida curto ( 25 a 30 dias, a 23°C , BENOIT et al, 1997) e um série de estudos já realizados com estes organismos, os quais permitiu o estabelecimento de uma metodologia padrão para testes agudos e crônicos (USEPA, 1994).

O desenvolvimento das culturas de Chironomidae em condições de laboratório tem sido realizado por vários autores com diversas finalidades. DOWNE & CASPARY (1973) cultivaram *Chironomus riparius* com o intuito de estudar o comportamento de enxameamento dos adultos, fenômeno este essencial para o acasalamento e posterior ovoposição. HARVEY (1971, apud STRIXINO 1982) estabeleceu técnicas de cultivo de *Chironomus spp* para uso em bioensaios.

No presente trabalho, alguns aspectos do ciclo de vida de *Chironomus xanthus* foram observados, com o intuito de viabilizar a manutenção destes organismos em laboratório, para uso em testes de toxicidade.

*Chironomus xanthus* foi inicialmente descrito por REMPEL,(1939) e possui sinonímia com *Chironomus domizzi* (PAGGI, 1977) e *Chironomus sancticaroli* (STRIXINO & STRIXINO, 1982). Sua distribuição geográfica até o momento restringe-se ao Brasil e a Argentina. O holótipo foi encontrado no Brasil em Campina Grande, Paraíba (SPIES & REISS, 1996). STRIXINO & STRIXINO, (1981) relataram a ocorrência desta espécie na região de São Carlos, Estado de São Paulo.

CALOW (1978, apud BUTLER, 1984) define ciclo de vida como a seqüência de estágios morfológicos e processos fisiológicos que unem uma geração à outra.

O ciclo de vida dos Chironomidae é dividido em quatro estágios distintos: ovo, larva, pupa e adulto, sendo os dois últimos estágios de duração muito curta. O estágio adulto requer apenas um abrigo para acasalamento, maturação dos ovos e

ovoposição. Em contraste, grande parte do ciclo de vida destes organismos ocorre no período larval, pois é neste estágio que se adquire toda energia necessária para completar o desenvolvimento, já que os adultos não se alimentam (OLIVER, 1971).

Os ovos são depositados dentro de uma matriz gelatinosa arranjados helicoidalmente, a qual se expande várias vezes na água à medida que ocorre o desenvolvimento embrionário. Os ovos são periféricos ou dispersos por toda a matriz. Estes são deixados imediatamente após a copulação, ocorrendo em seguida a morte das fêmeas. Todo este processo pode ocorrer em torno de 10 minutos (TOKESHI, 1995).

A massa ovígera de *Chironomus xanthus* (*C. sancticaroli*) é depositada no período da manhã ou no final da tarde. Durante a postura, a fêmea permanece imóvel próximo da água, com a parte terminal do abdômem ligeiramente recurvada para baixo. À medida que progride a eliminação do pacote ovígero, ela executa movimentos laterais do corpo. Após a extrusão do pacote de ovos ocorre um vôo curto, seguido da deposição nas paredes do recipiente, mas em contato com a água. A massa ovígera tem os ovos dispostos em fileiras paralelas helicoidalmente STRIXINO & STRIXINO (1989). Estes mesmos autores relataram que, de acordo com o número de ovócitos presentes em cada ovariolo, pode-se admitir que *C. xanthus* apresenta 3 posturas. Entretanto, nos cultivos em laboratório, somente 36% das fêmeas analisadas efetuaram unicamente uma postura e só 6% atingiram o potencial admitido (terceira postura). No presente estudo, este comportamento foi também observado principalmente quanto ao horário das posturas (manhã e ao entardecer) e ao aparecimento de duas ou mais posturas, efetuadas pelas mesmas fêmeas. Apenas a primeira postura continha um número elevado de ovos (500 a 600), enquanto as outras duas continham um número bastante inferior ( $\pm 100$ ).

A duração do estágio embrionário normalmente não é relatada na literatura para dados de campo, pois só é obtida em laboratório. No entanto, sabe-se que a duração deste está diretamente relacionada com a temperatura, a qual influencia todo o ciclo de vida. Altas temperaturas proporcionam um desenvolvimento mais rápido, resultando num decréscimo na duração de cada estágio larval (SWEENEY, 1984).

WILLIAM (1981, apud PINDER, 1995) observou que a duração dos ovos de *Thienemanniella vittata* (Chironomidae) foi no mínimo de quatro dias, quando mantidos a 20°C, de seis dias a 15°C, de treze dias a 10°C e de 31 dias a 5°C.

O período de desenvolvimento embrionário de *Chironomus xanthus* teve uma duração de 3 dias e 3/4 a 15°C, de 2 dias aproximadamente para culturas mantidas na faixa de 19 a 22°C, e de 1 dia e 1/4 a partir de 30°C (STRIXINO & STRIXINO 1989).

Pelos resultados obtidos no presente estudo o desenvolvimento embrionário de *Chironomus xanthus* foi de 40 a 48 horas para 23°C de temperatura.

As larvas cultivadas em laboratório freqüentemente se alimentam da massa gelatinosa que envolve os ovos. HINTON (1980 apud PINDER, 1995) considera que a gelatina consiste principalmente de carboidratos e acredita que esta fonte de nutrição é importante para sustentar a larva durante a fase de dispersão.

As larvas deixam a massa gelatinosa e permanecem planctônicas até encontrarem um habitat adequado, sendo que a energia necessária para a natação é obtida alimentando-se de algas em suspensão e de detritos (OLIVER, 1971).

A ocorrência de quatro ínstaes é provavelmente universal para os Chironominae, sendo que cada instar pode ser facilmente identificado pela largura ou comprimento da cápsula cefálica.

Na Tabela 6.1 encontram-se os valores de comprimento da cápsula cefálica bem como as condições de cultivo no presente trabalho, comparados aos obtidos por STRIXINO & STRIXINO (1982) para *C. xanthus* (*Chironomus sancticaroli*) e por STEVENS (1993) para *Chironomus tepperi*. Observa-se que, para a mesma espécie, os valores obtidos no presente trabalho foram maiores do que os obtidos por STRIXINO & STRIXINO (1982), podendo indicar que as modificações na manutenção da cultura possam ter contribuído para melhores condições, tais como a introdução de uma camada de substrato (areia), bem como a alimentação oferecida (algas e Tetramin). É possível que parte destas diferenças sejam também consequência das diferenças de temperatura.

TABELA 6.1 - Valores de comprimento da cápsula cefálica (mm) para *C. tepperi*, *C. sancticaroli* (*C. xanthus*) e *C. xanthus*.

Organismo	Condições de cultivo (alimento/T <sup>o</sup> )	Valores de comprimento da cápsula cefálica L(mm)				Autores
		instar I	instar II	instar III	instar IV	
<i>C. tepperi</i>	k9 - ração para peixes, 25°C	0,069-0,080	0,119-0,133	0,207-0,230	0,292-0,362	STEVENS - 1993
<i>C. sancticaroli</i> ( <i>xanthus</i> )	Avemicina- ração de aves, 19 - 26°C	0,060	0,105	0,181	0,302	STRIXINO 1982
<i>C. xanthus</i>	Tetramin - ração para peixes, 23°C	0,088-0,094	0,157 - 0,159	0,26 - 0,27	0,43-0,46	Presente Trabalho

Muitos estudos tem identificado que a natureza do substrato, bem como o tamanho da partícula é um fator importante que influencia a distribuição dos quironomídeos e estrutura das comunidades bentônicas. Enquanto certas espécies possuem uma preferência específica, outras utilizam uma ampla variedade de substratos.

MCLACHLAN (1969, apud PINDER, 1995), em estudos de laboratório, mostrou que larvas de *Kiefferulus brevibuca* evitam areia, areia fina ou uma mistura de diferentes tamanhos de partículas e apresentam uma preferência clara por silte.

Todos os Chironomidae constroem um casulo com o substrato no qual eles vivem. Este casulo consiste de partículas do próprio substrato unidos por uma secreção similar a fios de seda, liberada pelas glândulas salivares. As larvas normalmente penetram a poucos centímetros do substrato, normalmente acima de 10 centímetros (OLIVER, 1971).

A utilização de areia com granulometria entre 0,25 e 0,105mm como substrato adotada nas culturas de *Chironomus xanthus* no presente trabalho, mostrou ser bastante favorável à fixação dos organismos, com posterior construção dos casulos, sendo provavelmente responsável pelos altos valores de sobrevivência dos adultos (90%).

Os principais fatores abióticos que influenciam o ciclo de vida destes organismos são: a temperatura, a nutrição e o fotoperíodo.

Muitos parâmetros do ciclo de vida, especificamente o crescimento larval, o tamanho do adulto e a fecundidade são afetados significativamente pela temperatura e pela qualidade e concentração de alimento. A temperatura pode afetar o desenvolvimento larval influenciando as taxas de alimentação, de assimilação e de respiração, e também a eficiência de conversão alimentar (alteração nos processos enzimáticos). Pode alterar também de forma indireta a quantidade e qualidade do alimento (densidade da população microbiana associada aos detritos (SWEENEY,1984).

Dentro de certos limites, quanto mais alta a temperatura, mais rápida será a taxa de crescimento. Entretanto, uma larva desenvolvida a alta temperatura poderá ser menor do que aquela mantida a baixas temperaturas. No entanto, esta situação é mais complexa, pois o tamanho na qual a larva é fisiologicamente madura e capaz de impupar, é também influenciada pelo sexo OLIVER, (1971). FORD (1959, apud OLIVER, 1971) observou que o tamanho de várias estruturas da cápsula cefálica de larvas do último instar que se tornaram fêmeas, eram mais largas. HILSENHOFF (1966, apud OLIVER,1971) relatou que larvas maduras de *Chironomus plumosus* pesando acima de 60mg tornaram-se fêmeas e, abaixo de 60mg tornaram-se machos. O tamanho das fêmeas é freqüentemente um bom indicador de fecundidade (BUTLER,1984). Conclui-se assim que o tamanho dos adultos, bem como a fecundidade estão diretamente relacionados com as condições encontradas durante o estágio larval (SWEENEY, 1984).

Os quironomídeos exibem diversos modos de alimentação e podem ingerir uma ampla variedade de alimentos. Pode-se considerar cinco categorias: algas, detritos e microrganismos associados, macrófitas, detritos de madeira e invertebrados. É geralmente através do estudo do conteúdo intestinal que se determina a categoria de alimento ingerido (BERG, 1995).

A ingestão de algas verdes em suspensão como fonte de alimento é importante na dieta dos quironomídeos, principalmente para os organismos classificados como filtradores. ALI (1990, apud BERG,1995) encontrou no conteúdo intestinal de

*Chironomus crassicaudatus* 68% das cianofíceas dos gêneros *Gloeocapsa*, *Lyngbya*, e *Merismopedia*.

Embora muitos estudos relatem a importância dos detritos na dieta dos quironomídeos, o valor nutricional de componentes não vivos tem sido questionado, visto que muito do material ingerido não é digerível (celulose, lignina e cinzas) e rapidamente passam pelo intestino. Por outro lado, os componentes microbianos possuem um valor nutricional muito elevado e podem ser importantes na síntese de vitaminas essenciais utilizadas pelos quironomídeos. Microrganismos como bactérias, fungos e protozoários podem servir como fonte alimentar direta para os quironomídeos, ou podem executar o papel de transformar detritos refratários em formas mais nutricionais e digestivas (MCLACHLAN et al, 1979; WARD & WILLIAMS, 1986, apud BERG, 1995).

No presente trabalho a utilização de algas clorofíceas somente no início da cultura e da ração Tetramin como alimento para *Chironomus xanthus* mostrou-se bastante eficiente, pois a taxa de sobrevivência dos organismos foi satisfatória (90 - 95%). Apesar de não ter sido efetuada a análise do conteúdo intestinal dos organismos mantidos em cultura, houve uma grande proliferação de bactérias e fungos proveniente da fermentação aeróbia da ração, sendo estes portanto uma possível fonte alimentar para os organismos.

CREDLAND (1993) também utilizou a ração Tetramin e algas para cultura permanente de *Chironomus riparius* em laboratório, e relatou um bom desenvolvimento das larvas, quando mantidas sob aeração contínua a 25°C de temperatura. Paralelamente, as larvas de *C. tentans*, mantidas em laboratório para uso em testes de toxicidade, também são alimentadas com este tipo de ração e algas (USEPA, 1994).

O estágio de pupa ocorre dentro do casulo nas larvas de último instar, e comparável ao estágio larval, a duração é muito breve, variando de poucas horas a poucos dias. Quando a pupa está madura e recebendo estímulo próprio, esta se move até a superfície da água e ocorre a emergência dos adultos. Este evento é muito rápido, ocorrendo de 10 a 30 segundos, e em vários minutos o adulto é capaz de voar (OLIVER, 1971; LANGTON, 1995).

Um dos mais freqüentes hábitos dos adultos é o de formar enxames, que podem ser compostos só de machos, machos de várias espécies, ou mistura de machos e fêmeas. Os machos são atraídos pelo som do vôo das fêmeas (ROMER & ROSIN, 1969 apud OLIVER, 1971).

A duração dos diferentes instares varia de uma espécie para outra, sendo o 4º instar mais longo do que os anteriores. Espécies que levam um ano ou mais para completar o ciclo de vida gastam um período maior no 4º instar, como por exemplo, *Chironomus anthracinus* (ocorre no Norte da Irlanda) passa do 1º ao 3º instar entre maio e julho e gasta os outros 9 meses no 4º instar (CARTER, 1980 apud TOKESHI, 1995).

A longa duração do 4º instar é devido ao aumento geométrico no tamanho do corpo, em relação aos outros instares (TOKESHI, 1995).

No presente trabalho os organismos de *Chironomus xanthus* mantidos nas condições de cultura, ou seja, 23°C de temperatura, ração Tetramin e algas como alimento apresentaram também uma maior duração do 4º instar (5 dias) em relação aos outros (2 dias).

STRIXINO (1980), aponta que o êxito das culturas compreende vários fatores tais como:

- a) O fornecimento de quantidades adequadas de alimento acoplado à suficiente oxigenação da água, para evitar fermentação intensa.
- b) O dimensionamento dos recipientes de criação, de acordo com a quantidade de larvas.
- c) O dimensionamento adequado das gaiolas, de maneira a permitir a formação do enxame e acasalamento dos adultos, possibilitando desta forma, posterior ovoposição.

O tamanho das gaiolas parece ser um fator importante, pois de acordo com HILSENHOFF & NARF (1967, apud STRIXINO, 1980), algumas espécies como *Chironomus plumosus* reproduzem-se normalmente em grandes enxames e, portanto necessitam de muito espaço.

Neste aspecto, a dimensão das gaiolas elaborada por STRIXINO, (1980) e também utilizadas no presente estudo, foi bastante satisfatória. Estas permitiram a captura dos adultos de *Chironomus xanthus*, bem como o acasalamento dos pares e a deposição de novas massas ovíferas.

Como já mencionado, a temperatura constitui o principal fator controlador do crescimento larval. Por exemplo, MENZIE (1981), relatou que em cultivo de laboratório, *Cricotopus sylvestris* completou o desenvolvimento larval em 28 dias a 15°C e em 10 dias em 22 a 29°C, enquanto que KONSTANTINOV (1958) documentou para esta mesma espécie um tempo de desenvolvimento de 21 dias a 18°C e 14 dias a 22°C (TOKESHI, 1995).

STRIXINO & STRIXINO (1985) obtiveram que para os cultivos de *Chironomus xanthus* (*C. sancticaroli*) mantidos em temperaturas de 15°C, a duração do ciclo de vida foi de 40 dias e de 15 dias para os cultivos mantidos a 25°C.

A duração do ciclo de vida para *Chironomus xanthus* no presente estudo foi em média de 15 dias, quando mantidos a 23°C de temperatura, indicando portanto um elevado número de gerações por ano, o que implica numa total viabilidade do cultivo em laboratório, podendo ser utilizado como organismo teste para avaliação de toxicidade em sedimentos contaminados.

## 6.2 - A Toxicidade do Sedimento

O caráter heterotrófico dos rios pode chegar ao limite em função do efeito da civilização. A água carrega todos os tipos de materiais e, portanto os rios constituem um meio para se dispor facilmente dos resíduos. As práticas agrícolas e a erosão contribuem para aumentar a carga orgânica dos rios, e as atividades industriais têm provocado contaminação com materiais orgânicos e inorgânicos de vários tipos. Muitos destes contaminantes acumulam-se nos sedimentos afetando diretamente a comunidade bentônica (MARGALEF, 1994 apud LAGE FILHO, 1996).

Várias são as propostas de avaliação da qualidade dos sedimentos. Inicialmente esta avaliação se limitava às análises químicas das concentrações de metais e compostos orgânicos do sedimento total e da água intersticial. Atualmente,

dentre outras formas, a realização de testes de toxicidade tem sido bastante utilizada (BURTON et al, 1989).

O principal argumento que explica a realização de testes de toxicidade com sedimento é o fato de ser este um importante depósito para muitos contaminantes que podem ser lenta ou bruscamente liberados para a coluna d'água.

Os testes de toxicidade com sedimento realizados em laboratório, podem fornecer informações ecológicas importantes que podem ser utilizadas para identificar a toxicidade dos sedimentos, bem como os locais mais contaminados, e conseqüentemente requerer mecanismos de ação (ROSIU et al, 1989).

Estes testes avaliam o impacto ou o efeito tóxico, que amostras inteiras, extratos do sedimento ou água intersticial exercem sobre os organismos, sejam bentônicos ou não (ELDER, 1990). Este mesmo autor acrescenta que existem poucos trabalhos de avaliação da toxicidade por meio de testes, principalmente para sistemas de água doce, e portanto são poucos os dados disponíveis. BURTON et al (1989), complementa que devido à escassez de dados, não existe um ensaio mais sensível que possa ser utilizado para classes particulares de sedimentos contaminados, por exemplo, um ensaio específico para os sedimentos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos polinucleares - HPAs.

ROSIU et al (1989) utilizou *Chironomus tentans*, uma espécie padronizada pela USEPA, para avaliação do perfil de toxicidade dos sedimentos do canal de Trenton do rio Detroit, Michigan, EUA. Os resultados dos ensaios foram também comparados com a distribuição horizontal e vertical da macrofauna bentônica, visando mapear e estimar os locais mais comprometidos pela toxicidade. O local é conhecido por apresentar concentrações dos contaminantes superiores aos critérios estabelecidos por lei, em conseqüência da grande concentração de indústrias e resíduos urbanos. Os autores classificaram dois locais como muito tóxicos, três como tóxicos, três como moderadamente tóxicos e quatro como de qualidade boa. Com estes resultados, os autores propuseram medidas de remediação, bem como calcularam o volume de sedimento que deverá ser removido, caso se opte por utilizar a dragagem como forma de controle, e de possível restabelecimento da fauna bentônica.

Através dos testes agudos de toxicidade (96 horas de exposição) com *Chironomus xanthus*, realizados no presente trabalho, foram observadas respostas diferentes entre os instares testados. Embora os organismos dos instares II e III tenham sido sensíveis, os do IV instar foram os mais sensíveis, pois apresentaram menor sobrevivência quando expostos ao sedimento das captações das cidades de Americana, Piracicaba, Campinas e Sumaré (Tabela 5.12).

BENOIT et al (1997) em um estudo em que propõem a avaliação da toxicidade do sedimento utilizando todo o ciclo de vida, observaram também um decréscimo na sobrevivência do IV instar de *C. tentans* durante testes com sedimento de rios de vários locais dos EUA. Os autores mencionam, que existem poucas explicações para esta alta mortalidade durante este período do desenvolvimento larval, mas sugerem que esta fase está associada a uma série de mudanças bioquímicas e fisiológicas envolvidas na preparação da fase de pupa, como por exemplo a mobilização de lipídios durante a metamorfose, o que poderia também liberar compostos tóxicos, que antes estavam armazenados, tornando portanto os organismos mais suscetíveis.

Para os instares II e IV de *C. xanthus* expostos à amostra de sedimento coletada na captação de Limeira no dia 19/01/96 foi observada uma redução na sobrevivência de 43,4% e 33,4% respectivamente. Isto poderia estar relacionado com a concentração de zinco na amostra de água, pois constatou-se 0,16 mg/l, concentração próxima ao limite estabelecido pela legislação CONAMA/86, que é de 0,18 mg/l.

SIBLEY et al (1996 apud BENOIT et al, op. cit) observaram uma alta mortalidade na fase de pupa (> 90%) e nas larvas (>85%) quando na presença de zinco.

Vários são os parâmetros de avaliação final utilizados em testes crônicos com *Chironomus*. De acordo com BENOIT et al, (op. cit) estes podem ser agrupados em quatro categorias: a) sobrevivência (de cada estágio larval), b) crescimento (peso seco ou fresco das larvas ou adultos), c) emergência (tempo da primeira emergência) e d) reprodução (tempo de ovoposição, proporção de fêmeas que efetuam a ovoposição, porcentagem por sexo, produção de ovos e porcentagem de eclosão).

A sobrevivência é o parâmetro de avaliação mais comumente utilizado em testes de toxicidade com sedimento, pois é facilmente detectável tanto para concentrações letais como subletais (TRAUNSPURGER & DREWS, 1996). Este parâmetro juntamente com o crescimento, medido por meio de peso seco ou comprimento do corpo, são os mais utilizados em testes de toxicidade com *C. tentans* e *C. riparius* (ASTM, 1994 apud USEPA 1994 ; TRAUNSPURGER & DREWS, 1996).

No presente estudo foram utilizadas a sobrevivência e a porcentagem de emergência dos adultos nos dois testes de toxicidade crônica realizados com *C. xanthus* para uma mesma amostra (17/10/96), e foram obtidos resultados diferentes (Tabela 5.29).

A sobrevivência, como mencionado, foi escolhida por ser o parâmetro mais fácil de ser observado, e a emergência pelo fato de *C. xanthus* apresentar um ciclo de vida muito curto, nas condições de cultivo adotadas. Inicialmente tentou-se utilizar o parâmetro crescimento, medido por meio do peso seco, como parâmetro de avaliação. Para tanto os organismos foram expostos às amostras do sedimento dos locais de amostragem durante 8 dias, iniciando-se o teste no instar II (medido através da largura da cápsula cefálica). No entanto, no término do teste, devido ao rápido crescimento dos organismos, estes já se encontravam na fase de pupa, impossibilitando a comparação entre os pesos das larvas. Acredita-se que esta aceleração ocorreu em função do próprio metabolismo e da quantidade de alimento adicional contida na própria amostra.

O crescimento, medido por meio de diferenças de peso seco entre as larvas do controle e das amostras, é um parâmetro padrão de avaliação para *C. tentans*. Esta espécie completa todo o ciclo de vida em 25 dias, quando cultivada a 25°C. Portanto o período de exposição adotado para esta espécie (10 dias) é adequado para se adotar este parâmetro como indicador de um efeito adverso entre os organismos testados.

ROSIU et al (1989) mencionam que o instar II (4 dias de vida) de *C. tentans* pesou inicialmente 0,210 mg em peso seco médio, e ao final de 10 dias de exposição em sedimento controle, apresentou um peso médio de 4,41 mg (22 dias de vida). No entanto, os experimentos realizados no presente trabalho indicaram que este período

não é recomendável para *C. xanthus*, cujo ciclo de vida é muito rápido. Um período mais curto deverá ainda ser estabelecido em trabalhos futuros.

A redução no crescimento é sempre considerada um efeito adverso e é um parâmetro muito utilizado nos testes crônicos. Entretanto esta interpretação deve ser cautelosa e devem ser considerados outros fatores, tais como as diferenças nutricionais entre as amostras testadas. Portanto, será necessário um maior número de pesquisas para elucidar o papel destes fatores interferentes, paralelamente aos testes de toxicidade, visando uma melhor interpretação do parâmetro crescimento em testes de toxicidade crônica com sedimento (TRAUNSPURGER & DREWS, 1996).

O dia da primeira emergência dos adultos tem sido uma medida alternativa para as espécies que apresentam crescimento larval acima de 10 dias. Entretanto, existe uma desvantagem na utilização deste parâmetro como efeito adverso subletal, visto que a taxa de emergência é altamente variável. Este comportamento foi relatado por DAY et al (1994), em cultivo de *C. riparius*, cuja emergência ocorreu entre 14 a 30 dias após a eclosão dos ovos. Através das observações em laboratório notou-se que *C. xanthus* iniciava a emergência dos adultos entre 13-20 dias, as condições de cultivo adotadas.

BENOIT et al (op. cit) relataram que não houveram diferenças no total de emergência dos adultos de *C. tentans* entre os testes realizados com sedimento do rio Mississipi, mas encontraram um decréscimo significativo no número total de adultos emergidos e no período da emergência, à medida em que se aumentavam as concentrações de zinco.

PASCOE et al (1989) observaram um decréscimo na taxa de emergência dos adultos, principalmente para os machos de *C. riparius* quando expostos à concentração de 0,15 mg/l de cádmio, e comentam que embora esta observação possa ser de pouca importância, isto poderá afetar diretamente o sucesso de enxameamento e conseqüente acasalamento dos adultos.

Apesar destes resultados e de todas as implicações, pode-se dizer que o sedimento mais tóxico para *C. xanthus* quanto à toxicidade aguda e crônica, foi aquele coletado na captação de Sumaré, pois para ambos os testes os organismos sofreram redução na sobrevivência. Observou-se pelos resultados de teor de matéria

orgânica e granulometria do sedimento, que este local, para a amostra testada, continha 85,98% de argila e 6,6% de matéria orgânica, o que pode proporcionar, dependendo do tipo de matéria orgânica, um ambiente favorável à adsorção de metais. Embora não se tenha determinado o teor de metais presentes na água intersticial, o que teoricamente corresponderia a concentração biodisponível, foram detectados na água, valores de cádmio, chumbo e manganês acima do permitido pela legislação. Portanto, a presença destes metais na água, pode indicar uma possível causa da toxicidade do sedimento neste local.

A exposição de larvas de *C. tentans* em sedimento contaminados por cádmio, zinco e cromo foi realizada por WENTSEL et al ( 1978, apud PASCOE et al, 1989). O resultado foi um retardamento de dois dias no tempo de emergência dos adultos, em 30% das larvas, quando comparadas ao sedimento controle.

A escolha de organismos não bentônicos para avaliação da toxicidade em sedimentos, justifica-se pelo fato de existir uma forte interação entre os compartimentos água e sedimento. Os contaminantes associados aos sedimentos afetam a comunidade não bentônica por meio de vários caminhos tais como: dragagem, ressuspensão, bioturvação, adsorção, ou por ingestão de sedimentos por espécies que ocasionalmente agem como epibênticas (BURTON, 1992).

Os cladoceros *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia* são duas espécies zooplânctônicas amplamente utilizadas em bioensaios com sedimento. Ambos os testes foram inicialmente desenvolvidos para testes com efluentes e com água, existindo assim uma série de dados quanto a respostas destes organismos a uma ampla faixa de contaminantes. Existe um protocolo estabelecido pelas agências ambientais (ex. ASTM, USEPA), para o uso destas espécies na avaliação da toxicidade dos sedimentos. O freqüente uso destas espécies é devido à sensibilidade das mesmas a vários tipos de tóxicos e também devido ao fácil cultivo em laboratório (REYNOLDSON & DAY, 1995). Apesar de serem organismos tipicamente planctônicos, dispõem parte do tempo alimentando-se sobre a superfície do sedimento. Além disso, a maioria das espécies constituem filtradores não seletivos, ingerindo partículas tanto suspensas como as depositadas no sedimento (BURTON, 1992).

Os testes agudos com sedimento para avaliar substâncias isoladas são similares aos testes com água, ou seja, pelo menos 5 concentrações, além do controle, são escolhidas. Utilizam-se 2 a 3 réplicas, contendo de 10 a 30 organismos/béquer, 2 a 6cm de sedimento e 100 a 1000ml de volume d'água. Quanto aos testes crônicos, estes diferem-se apenas quanto ao tempo de exposição, já que o objetivo é avaliar alterações nos parâmetros reprodutivos. Nos testes com amostras de campo não se utiliza várias concentrações e sim o sedimento total e um sedimento controle, o qual é escolhido por ser livre de contaminantes e proporcionar uma boa sobrevivência e crescimento aos organismos testes.

Os testes de toxicidade aguda e crônica com *D. magna* e *C. dubia* são normalmente realizados com elutriado, água intersticial e também com o sedimento total. O uso de testes agudos, particularmente para *D. magna* foi recomendado por GIESY & HOKE (1989) como ideal para o "screening" da qualidade do sedimento, devido à rapidez, e o crônico com *C. dubia* para se avaliar os efeitos na reprodução, pois esta espécie possui menor tamanho e produz várias ninhadas num período menor de tempo. Ambos os testes devem no entanto ser incorporados posteriormente a uma bateria de testes.

A toxicidade aguda de sedimentos contaminados por altos níveis de hidrocarbonetos polinucleares aromáticos (HPAs) e níveis moderados de metais foi observada por STEMMER et al (1990), utilizando como organismos-teste *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia* num aflente do rio Scioto, região norte do estado de Ohio, EUA. O local está localizado numa bacia hidrográfica dominada pela agricultura, e que também recebe efluentes de oito indústrias, além do efluente da estação de tratamento de esgoto doméstico. O principal objetivo do trabalho foi avaliar a variação espacial da toxicidade aguda com amostras de sedimento total. Os resultados obtidos indicaram uma variação na sobrevivência (48 horas de exposição) de 0 a 100% para *D. magna* e *C. dubia* quando expostas às amostras de 21 e 23 locais, respectivamente. Os autores recomendam a utilização destes organismos na avaliação de sedimentos contaminados.

PRINTES (1996), utilizou *Ceriodaphnia dubia* para avaliar a toxicidade dos sedimentos da Microregião Carbonífera do Baixo Jacuí, RS. Os testes foram

realizados com amostras inteiras e indicaram toxicidade crônica em relação à reprodução para um dos pontos de amostragem na Sub-bacia do Arroio Grande. Neste mesmo local, a autora observou um efeito tóxico agudo (redução na sobrevivência), associado aos baixos valores de pH (inferiores a 5,0).

No presente trabalho, os organismos não bentônicos *Ceriodaphnia silvestrii* (espécie nativa) e *Daphnia similis* (organismo padrão) foram utilizados na avaliação da toxicidade do sedimento para os locais amostrados. Os resultados indicaram toxicidade aguda (48 horas de exposição) para ambas as espécies somente quando expostas à amostra da captação de Sumaré coletada no dia 17/10/96. O mesmo aconteceu com *C. silvestrii* para a amostra do dia 19/01/96 neste mesmo local de amostragem (Tabela 5.12).

MELETTI (1997, em preparação) realizou, com estas mesmas amostras de sedimento, testes de toxicidade aguda com peixes. O autor submeteu a espécie *Prochilodus scrofa*, às amostras do dia 19/01/96 e também encontrou toxicidade aguda para os organismos expostos à amostra da captação de Sumaré. Por outro lado, o autor relatou indício de toxicidade aguda, quando expôs os organismos à amostra de sedimento proveniente da captação de Piracicaba, fato este que não ocorreu para os organismos não bentônicos testados no presente trabalho, ou seja, *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii*. Estes resultados mostram claramente a diferença de sensibilidade entre as espécies testadas.

Quanto às amostras de sedimento coletadas no dia 17/10/96, o autor testou as espécies de peixes *Poecilia reticulata*, *Cheirodon stenodon* e *Hyphessobrycon bifasciatus*, e encontrou toxicidade aguda para todos os organismos, com exceção de *P. reticulata*, quando submetidos às amostras da captação de Sumaré, resultado este também obtido no presente trabalho, pois *D. similis* e *C. silvestrii* apresentaram toxicidade aguda para amostra deste local de coleta, indicando assim ser este um local bastante crítico, quando comparado aos outros pontos de amostragem.

Os testes de toxicidade crônica realizados com *D. similis* e *C. silvestrii* indicaram alterações quanto ao crescimento do corpo, fecundidade e sobrevivência dos organismos em todos e/ou alguns locais de amostragem. Os resultados permitem dizer que este tipo de teste fornece resultados mais consistentes, comparados aos

testes agudos, quando se pretende avaliar a qualidade da água, visando a preservação da biota aquática e manutenção desta para o consumo humano. O uso de vários parâmetros finais de avaliação fornece maiores subsídios para um diagnóstico preciso da condição do ambiente.

A toxicidade crônica medida por meio de alterações no crescimento do corpo, foi observada em ambos os organismos quando expostos às amostras (ambas/ou uma/ou outra) de sedimento coletadas nas captções de Santa Bárbara, Piracicaba, Americana e Campinas. Apenas *Ceriodaphnia silvestrii* sofreu alterações quando exposta às amostras provenientes da capturação de Limeira (Tabela 5.29).

Por outro lado, o efeito crônico observado pelas alterações na reprodução, o que caracteriza um efeito mais drástico em termos de manutenção da biota, foi observado para *Daphnia similis*, (ambos os testes/ou um/ou outro), quando submetidos às amostras das captções de Limeira, Americana, Piracicaba e Sumaré. *Ceriodaphnia silvestrii* também sofreu modificações na reprodução quando submetida ao sedimento coletado somente na capturação de Americana (Tabela 5.29).

A diminuição na sobrevivência durante os testes foi observada para os organismos expostos às amostras de sedimento das captções de Limeira, Americana e Piracicaba (Tabela 5.29).

Os resultados dos testes crônicos, do presente trabalho, indicaram locais de toxicidade não apresentados pelos testes agudos, justificando assim a importância deste tipo de teste num trabalho de monitoramento.

[O uso de várias espécies na avaliação da contaminação dos sedimentos dos ecossistemas, é importante porque a sensibilidade das espécies varia conforme o agente tóxico e as condições ambientais (REYNOLDSON & DAY, 1995). Estudos revelaram que nenhuma espécie é a mais sensível para todos os tóxicos. Isto embasa a premissa de que o uso de uma bateria de testes utilizando várias espécies, e considerando diferentes parâmetros finais de avaliação, é essencial na avaliação dos ecossistemas aquáticos e da qualidade dos sedimentos (BURTON, 1992).]

Neste sentido, GIESY et al (1988) utilizaram *Daphnia magna*, *Photobacterium phosphoreum* (Microtox) e *Chironomus tentans* em ensaios de toxicidade com água intersticial e sedimento total do rio Detroit. Embora todos os

três ensaios tenham demonstrado a toxicidade de alguns locais identificando locais mais ou menos tóxicos, o ensaio com *D. magna*, baseado na letalidade, foi o menos sensível e discriminatório, enquanto que o Microtox foi o mais sensível. Também em relação à letalidade, o ensaio com *C. tentans* foi menos sensível do que o com *D. magna*, mas a inibição do crescimento do corpo destes organismos, foi mais pronunciada e discriminatória entre os três ensaios.

Da mesma forma, BURTON et al (1989) avaliaram a toxicidade das amostras de sedimento coletadas em três pontos no porto de Waukegan (Norte de Chicago), dois no porto de Indiana (Sul de Chicago) e um local controle (Lago Homer - centro de Illinois), utilizando vários organismos tais como *D. magna* (48 horas), *C. dubia* (48 horas), *Hyaella azteca* (48 horas) e *Selenastrum capricornutum* (48 horas, inibição no crescimento), além de ensaios de atividade enzimática da comunidade microbiana dos próprios locais de coleta. Todos os ensaios, com exceção de *S. capricornutum* foram conduzidos com o sedimento total e o elutriado. Os resultados mostraram poucas variações entre os ensaios da atividade microbiana e os realizados com os organismos da macrofauna, mas revelaram que *C. dubia* foi o organismo mais sensível e, *Hyaella azteca* o mais resistente. As respostas dos testes de toxicidade aguda permitiram verificar locais de altos níveis de contaminação no porto de Waukegan e contaminação no porto de Indiana. Os autores mencionam que a utilização de testes com várias espécies fornecem melhores subsídios na avaliação da qualidade dos sedimentos.

No presente trabalho, a utilização de *D. similis*, *C. silvestrii* e *C. xanthus* como organismos-teste, na avaliação da toxicidade do sedimento para os locais de amostragem permitiu identificar um local altamente contaminado, a captação de Sumaré, locais contaminados, como as captções de Americana, Piracicaba e Limeira, e levemente contaminados como as captções de Santa Bárbara D'Oeste e de Campinas. Estes resultados basearam-se de acordo com o número de incidências, comprovados pela análise estatística apresentados na Tabela 5.29, que também permitiu dizer que o grau de sensibilidade variou segundo a seqüência: *C. silvestrii* > *D. similis* > *C. xanthus*.

### 6.3 - A Toxicidade da água

O gerenciamento da qualidade da água exige que sejam estabelecidas formas de acompanhamento da variação de indicadores de qualidade de água, permitindo avaliar as condições de poluição e alteração de um corpo hídrico. Estes indicadores são estabelecidos baseados em critérios de qualidade de água, os quais especificam as concentrações e os limites que interferem na manutenção do ecossistema aquático e na proteção da saúde humana. As variáveis físicas e químicas são as mais utilizadas, mas atualmente o biomonitoramento, através dos bioensaios, tem sido utilizado como uma ferramenta bastante precisa (PORTO, 1991).

Recentes discussões sobre os problemas de toxicidade da água dos corpos naturais, levou os pesquisadores a concluir que a resposta dos organismos aquáticos, às substâncias tóxicas, é muito mais sensível e pode ser considerada como um indicador global da toxicidade de um dado corpo receptor (SHCHERBAN, 1982).

Vários são os organismos aquáticos utilizados na avaliação da qualidade da água e efluentes, os quais possuem protocolos padronizados (Tabela 3.2).

Neste sentido, SZTRANTOWICZ & KANIEWSKA-PRUS (1985) monitoraram a qualidade da água do rio Vistula (Polônia) e os subsequentes estágios da estação de tratamento de água para abastecimento público, da cidade de Wasaw, durante dois anos, utilizando como "sensores" a mortalidade e a reprodução de *Paramecium aurelia*, *Paramecium caudatum* (Protozoa) e *Daphnia magna*. Os autores encontraram correlação positiva, principalmente para os protozoários, entre as variações na qualidade da água e a mortalidade dos organismos. Os autores recomendam a utilização destes organismos na avaliação de ambientes com alto grau de poluição química.

BURTON et al (1987) realizou testes de toxicidade crônica, com *Ceriodaphnia dubia* juntamente com testes de atividade enzimática com amostras de água coletadas em 9 pontos no rio Whitewood Creek, localizado ao sul de Dakota, EUA. Este local recebe efluentes de mineração e da cidade de Deadwood, e há muito tempo tem apresentado redução na população de trutas em decorrência destes lançamentos. Foi encontrada toxicidade crônica para *C. dubia* com alterações na

reprodução e sobrevivência em duas estações, sendo uma localizada a 6 km do lançamento da mineradora e próximo ao lançamento da cidade, e a outra a 14km do ponto de lançamento da mineradora. Os autores atribuíram esta toxicidade aos altos níveis de cromo e níquel encontrados na água, pois estes dois metais apresentaram correlação positiva com o aumento da mortalidade e a redução do número de jovens produzidos durante os testes.

As águas superficiais da região carbonífera do Baixo Jacuí- RS foi avaliada quanto à toxicidade aguda para *Daphnia similis* e crônica para *Ceriodaphnia dubia*, por PRINTES (1996). A autora observou toxicidade aguda para ambas as espécies em amostras de uma sub-bacia que apresentava pH ácido (inferior a 5,0), atribuindo a esta variável a causa da toxicidade. Por outro lado a toxicidade crônica, somente para *C. dubia*, foi encontrada em amostras de três locais de amostragem, sendo associada às altas taxas de precipitação observadas durante a coleta, o que proporcionou a drenagem de elementos característicos de minas de carvão, tais como: ferro, magnésio, manganês e níquel.

No presente trabalho não foi detectada toxicidade aguda para os organismos de *D. similis*, *C. dubia* e *C. silvestrii* quando expostos à água proveniente dos diferentes locais de captação. Entretanto foi detectada toxicidade crônica, quando observados vários parâmetros de avaliação (Tabela 5.56).

Através dos dados apresentados na referida tabela, pode-se afirmar que *D. similis* foi mais sensível, comparada à *C. silvestrii*, para as amostras de água de todos os locais, coletadas no dia 17/10/96, quando analisados os parâmetros crescimento do corpo, crescimento populacional e fecundidade. Esta observação é bastante evidente para os testes realizados com as amostras coletadas na futura captação de Santa Bárbara D'Oeste, pois foi detectado alterações nos organismos para ambos os testes somente para *D. similis*, enquanto que *C. silvestrii* nada sofreu. A observação de que *D. similis* foi mais sensível do que *C. silvestrii* é evidenciada por meio do número de incidências comprovadas estatisticamente, os quais são apresentados na Tabela 5.56.

O número de incidências também revela que as amostras de água coletadas na futura captação de Santa Bárbara D'Oeste foram as mais tóxicas quanto à toxicidade

crônica, seguidas por Piracicaba, Limeira, Americana, e por último Campinas e Sumaré.

Os resultados dos testes de toxicidade crônica revelaram possíveis locais de contaminação por substâncias tóxicas, que não foram identificados pelos testes agudos. Portanto a realização destes testes é de suma importância em trabalhos de monitoramento de qualidade de água.

A importância dos testes de toxicidade crônica também foi documentada por SHCHERBAN (1982). O autor avaliou a toxicidade da água do rio Danúbio, utilizando *Daphnia magna* como organismo-teste, e constatou que a água deste local não apresentou toxicidade aguda aos organismos e sim toxicidade crônica, indicada através do retardamento da primípara, um prolongado desenvolvimento pós-embrionário, e um grande decréscimo na fecundidade.

Os teores de metais encontrados nas amostras de água, podem indicar a possível causa da toxicidade crônica apresentada aos organismos, embora deve-se sempre lembrar que quando um organismo está exposto a um conjunto de substâncias, pode existir uma combinação das mesmas, e essa combinação pode ser antagonica, aditiva ou sinérgica, dependendo das substâncias e do ambiente em questão.

Particularmente no que refere à resposta do teste crônico realizado para *C. silvestrii* com a amostra proveniente da captação de Limeira coletada no dia 19/01/96, esta poderia estar relacionada com o teor de zinco encontrado, pois o valor obtido (0,16 mg/l) está próximo ao limite recomendável pela legislação CONAMA/86, (0,18 mg/l). Esta suposição baseou-se no fato de que a faixa de sensibilidade de *D. magna* estabelecida pela USEPA (1987, apud DAMATO, op. cit) para o zinco é de uma CE50 entre 0,1 e 0,5 mg/l. Portanto, o valor encontrado situa-se próximo a esta faixa considerada letal, o que poderia ser um dos fatores a se considerar como causador destas alterações. Por outro lado, *D. similis* nada sofreu quando submetida a esta mesma amostra, revelando assim a diferença de sensibilidade entre as espécies testadas. Deve-se também lembrar que a toxicidade a metais tem relação direta com a dureza, pH, temperatura e teores de matéria orgânica.

#### 6.4 - Testes de sensibilidade das larvas de *Chironomus xanthus* ao KCl

Os testes agudos com substâncias de referência fazem parte de uma prática de rotina, como garantia da qualidade dos resultados. A USEPA (1994) recomenda que estes testes devem ser conduzidos mensalmente com os organismos mantidos em cultura. Além disso, devem ser realizados em conjunto com os testes com o sedimento a ser avaliado. Se o valor obtido no teste encontrar-se fora da faixa de sensibilidade estabelecida, o mesmo deverá ser invalidado, indicando que aquele lote de organismos não poderá ser utilizado, bem como os procedimentos de cultivo devem ser revisados.

Além disso a avaliação rotineira da sensibilidade permite determinar a precisão dos testes realizados dentro do laboratório (intralaboratorial), como também entre os laboratórios (interlaboratorial) USEPA(op. cit).

Os testes com substâncias de referência, ou testes de sensibilidade, permitem avaliar o estado fisiológico dos organismos. Fatores como qualidade da água de cultivo, qualidade e quantidade do alimento fornecido, temperatura, fotoperíodo e oxigênio, são fundamentais na manutenção dos organismos para os testes de toxicidade. A alteração de qualquer um destes fatores, pode afetar a variabilidade dos resultados. Portanto, um controle rígido das condições de cultivo diminui esta variabilidade, enquanto que a utilização de substâncias de referência para avaliar a sensibilidade, permite que os resultados obtidos nos testes sejam mais confiáveis (USEPA, 1989)

LEE (1980, apud USEPA op. cit) recomenda que uma boa substância de referência deve conter as seguintes características: solúvel em água, tóxica a baixas concentrações, com letalidade rápida, com toxicidade não específica para peixes e invertebrados e estável, isto é, não volátil, não biodegradável ou transformável, sendo que sua toxicidade deve permanecer inalterada. O autor acrescenta que nenhuma substância de referência deve ser utilizada para se medir a condição de um organismo quando exposto a um outro tóxico com modo de ação diferente.

Para que os testes de toxicidade com sedimento possam ser implantados é de fundamental importância que se estabeleça a faixa de sensibilidade a uma substância de referência, para as condições de cultivo utilizadas.

As substâncias de referência tais como o cloreto de sódio (NaCl), o cloreto de potássio (KCl), o cloreto de cádmio (CdCl<sub>2</sub>) e o sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>) têm sido recomendadas como tóxicos de referência. O cloreto de potássio tem sido utilizado para se avaliar a sensibilidade de *Hyalella azteca* e *Chironomus tentans* (USEPA, op. cit), razão pela qual esta mesma substância foi escolhida no presente trabalho.

No presente trabalho os resultados dos testes de sensibilidade ao KCl para os diferentes instares de *Chironomus xanthus* mostraram que não houve diferenças significativas entre eles, no entanto uso dos instares III ou IV ( $\pm$  6 e 8 dias de idade, para as condições de cultura apresentada) podem ser os mais indicados, em testes de rotina, devido ao tamanho total dos organismos (5,12-6,60 e 9,37-15,1 mm para os instares III e IV, respectivamente), o que permite fácil visualização, evitando assim o uso de lupa para separação dos mesmos, como é o caso do instar II (2,87 a 4,31 mm).

Estudos de calibração interlaboratorial realizados entre 8 laboratórios da USEPA em maio de 1993, mostraram um valor médio de CL50 de 5,4 g/l e faixa de sensibilidade de 3,6 a 6,6 (CV= 17,9%) ao KCl para o instar III de *Chironomus tentans* (BURTON et al, 1996). Estes resultados indicam uma similaridade com os obtidos no presente trabalho, pois o CL50 médio para o instar III de *Chironomus xanthus* foi de 4,5 g/l e faixa de sensibilidade de 2,6 a 6,4 g/l (CV= 21%).

A precisão analítica dos testes de toxicidade, dentre os quais os testes de sensibilidade, é avaliada através da variação entre os resultados medida pelo valor do coeficiente de variação. De acordo com a USEPA (1991), o coeficiente de variação entre os resultados dos testes de toxicidade aguda, considerado ótimo para dados intralaboratoriais, está compreendido na faixa de 8 a 41%. Para análises físicas e químicas, o intervalo aceitável é de 5 a 25% (BERTOLETTI et al, 1992 apud PRINTES, op. cit).

No presente trabalho os valores dos coeficientes de variação para os instares II, III e IV de *C. xanthus* foram de 16%, 21% e 15%, respectivamente, os quais são considerados ótimos. Estes valores indicam que a manutenção dos organismos foi

realizada em condições uniformes, bem como houve pouca variabilidade entre os organismos, visto a eliminação de apenas um lote de organismos após o estabelecimento da faixa de sensibilidade.

Os resultados dos testes com a substância de referência KCl, mostraram uma constância nas respostas, fato este de suma importância na seleção de uma espécie-teste.

Em função destes resultados pode-se dizer que *Chironomus xanthus* pode ser utilizado como organismo teste para avaliação de toxicidade em sedimentos, podendo-se utilizar os instares III ou IV dependendo da disponibilidade de organismos no laboratório.

### 6.5 - A Qualidade da Água na Bacia do Rio Piracicaba

A política de desenvolvimento implantada a partir da década de 70, com o objetivo maior de gerar energia e produtos para exportação, favoreceu a expansão de determinados setores industriais na região, notadamente o agro-industrial. Esse crescimento econômico produziu significativa transformação no parque industrial e nas áreas agrícolas e urbanas, acentuando as alterações ambientais dos municípios da bacia e as diferenças regionais (SMA, op. cit).

As informações do relatório *Controle de Poluição Ambiental na Bacia do Piracicaba* (CETESB, 1991a) revelam que poucas indústrias contribuem com expressiva carga residual. Apenas 20 delas lançam diariamente 56.458 kg/DBO, ou seja 75% de toda a carga industrial residual na bacia, equivalente à carga produzida por uma população de 1,05 milhão de habitantes.

A carga poluidora industrial de origem orgânica lançada nos corpos d'água, representa 47,2% do total, enquanto que a carga residual urbana representa 52,8%. No entanto, a carga potencial industrial representa 94,6%, contra apenas 5,4% da carga urbana, revelando os riscos iminentes dessa atividade à biota e à saúde pública (CETESB, op. cit).

Tem-se dado prioridade ao monitoramento industrial, mas existe falta de informações mais precisas quanto ao impacto na qualidade das águas oriundo de cargas difusas de origem urbana ou agrícola (P.I.R.P, 1992).

Utilizando-se uma metodologia simplificada (USEPA, Areawide assessment procedures manual, 1989) a SMA, (op. cit) fez-se uma estimativa das cargas difusas na bacia, a qual consistiu na aplicação de taxas médias de liberação de poluentes nas áreas determinadas para cada tipo de uso do solo. O resultado deste trabalho foi que em termos globais, a carga difusa representa 13% da carga poluidora urbano-industrial.

A intensificação do uso de agrotóxicos compromete a qualidade dos rios, pois parte é carregada pelas chuvas para os cursos d'água. Também a prática da ferti-irrigação ou seja, a disposição do vinhoto sobre o solo contribui para aumentar o volume da carga difusa. De acordo com o relatório da Tecnosan, a porcentagem de estabelecimentos que empregam fertilizantes e agrotóxicos é relativamente alta; 80% das propriedades rurais aplicam fertilizantes nas suas lavouras e 83% combatem pragas e moléstias com pesticidas (SMA/CPLA, 1989).

A Resolução CONAMA nº 20/86 separou as águas doces em cinco classes preponderantes. Para cada uma delas foram estabelecidos limites e/ou condições de quantidade e qualidade de substâncias e materiais que podem ser encontrados nos corpos d'água (SMA, op. cit). Os rios da bacia do rio Piracicaba são enquadrados como classe 2.

O relatório publicado pela CETESB (1996), referente a análise da qualidade das águas para o ano de 1995, indicou a presença de 0,0006 mg/l de mercúrio no mês de maio, o que significa um índice duas vezes maior que o padrão estabelecido pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) que é de 0,0002mg/l. A CETESB também encontrou 0,007 mg/l de fenol, ou seis vezes o padrão CONAMA, de 0,001mg/l. Estes valores foram encontrados em amostras coletadas na ponte do rio Atibaia, na Rodovia Campinas-Cosmópolis. Em relatórios anteriores (1986) a CETESB encontrou, neste mesmo local, altas concentrações, de cádmio e chumbo. O cádmio é um metal cancerígeno, e o chumbo ataca o sistema nervoso central (REVISTA TEMPO, 1995).

No presente trabalho foram encontrados, na captação de Sumaré (rio Atibaia), valores de cádmio, chumbo e manganês em níveis superiores ao estabelecidos pela legislação CONAMA. Este dados assemelham-se aos emitidos pela CETESB em anos anteriores, indicando ser este um ponto crítico dentro da rede de monitoramento.

Por outro lado a CETESB em relatório da qualidade da água de 1995, detectou teores de zinco bem inferiores ao limite permitido por lei ( $<0,01 - 0,03$  mg/l Zn) no ponto monitorado no rio Jaguari. No entanto, no presente trabalho, o valor de zinco encontrado neste ponto de amostragem (0,16 mg/l Zn) foi bem próximo ao permitido por lei (0,18 mg/l Zn).

De acordo com algumas análises, os teores de oxigênio dissolvido no rio Piracicaba situaram-se abaixo de 5,0mg/l em 90% do total das amostras recolhidas. Para o rio Atibaia, nas seções próximas a Paulínia o OD, esteve em níveis inferiores a 5,0 mg/l em 67% dos casos e os teores de fenol encontrados foram superiores ao limite permissível (CONAMA = 0,001 mg/l) em 83% das análises realizadas (CETESB, op. cit.).

As análises realizadas no presente trabalho "in situ" com o sensor múltiplo, também revelaram valores de oxigênio dissolvido inferiores a 5,0 mg/l para os pontos amostrados no rio Piracicaba, ou seja, as captações de Americana e Piracicaba e a futura captação de Santa Bárbara D'Oeste, nas três campanhas realizadas (Tabela 5.58).

A SMA (op. cit) avaliou a qualidade da águas na bacia a partir das informações do perfil sanitário dos principais rios (1985/1990) e de uma campanha de amostragem realizada de agosto a outubro de 1990, ambas realizadas pela CETESB. Os resultados dessa avaliação, em relação aos teores de metais pesados, indicou que em 17 dos 21 pontos amostrados, os valores observados estavam acima dos padrões estabelecidos pela resolução, devido aos lançamentos industriais.

Além disso, este estudo permitiu a avaliação da qualidade da água com base na série histórica dos perfis sanitários elaborados pela CETESB, e da utilização de um modelo matemático. A análise dos dados mostrou que principalmente o rio Piracicaba apresenta na maior parte de sua extensão níveis de DBO e OD que, se aplicados os

padrões estabelecidos na resolução, o enquadrariam na condição de classe 3 ou 4, apesar de estar legalmente enquadrado na classe 2.

A qualidade das águas na bacia do Rio Piracicaba vem sendo monitorada pela CETESB desde 1974. Atualmente são monitorados 13 pontos, sendo 3 no rio Atibaia, 1 no rio Corumbataí, 1 no rio Jaguari, 1 no rio Camanducaia e 7 no rio Piracicaba. São analisados 35 parâmetros, nove dos quais (pH, OD, DBO, coliformes fecais, sólidos totais, temperatura, turbidez, nitrogênio total e fósforo total) são utilizados para o cálculo de Índice de Qualidade de Água - IQA, e nove (bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel, mercúrio, zinco e fenol) são utilizados para o cálculo do Índice de Toxicidade - IT (CAMPOS, 1994; CETESB, 1996).

Na Figura 6.1 estão representados os valores de IQA, juntamente com os dados de vazão, elaborados pela CETESB para o ano de 1995, e a tendência nos últimos 10 anos de 6 pontos da rede de monitoramento na bacia, os quais alguns são os mesmos, ou pelo menos próximos aos locais de amostragem escolhidos no presente trabalho.

A análise das figuras indica que para os pontos do rio Atibaia, a qualidade da água do rio foi mantida, variando entre boa e aceitável. Quanto ao rio Jaguari os valores de IQA mostraram um rio de qualidade boa, enquanto que para os pontos de amostragem no rio Piracicaba a qualidade da água foi considerada entre aceitável e ruim. Na Figura 6.2 encontram-se representados os níveis de qualidade de água em termos de IQA dos principais rios das bacias dos rios Piracicaba e Capivari, para o ano de 1995.

Com vistas ao aprimoramento das informações referentes à toxicidade das águas, em novembro de 1992 a CETESB iniciou a realização de testes de toxicidade com organismos aquáticos em 7 pontos da rede de monitoramento na bacia do rio Piracicaba (CETESB, 1996). Neste testes são utilizados os organismos *D. similis* e *C. dubia*, para avaliação da toxicidade aguda e crônica, respectivamente.

De acordo com os resultados apresentados pela CETESB, nos relatórios de qualidade de água dos anos de 1994 e 1995 (anos de 1992 e 1993 não foram realizados testes na bacia do rio Piracicaba), considerando todos os pontos monitorados em cada rio, no rio Atibaia detectou-se toxicidade crônica no mês de

maio nos anos de 1994 e 1995, e aguda no mês de setembro de 1994. Quanto ao rio Jaguari, as amostras de água testadas não revelaram toxicidade nestes dois anos de monitoramento, mas para o rio Piracicaba foi detectada a existência de toxicidade crônica no mês de maio de 1995.

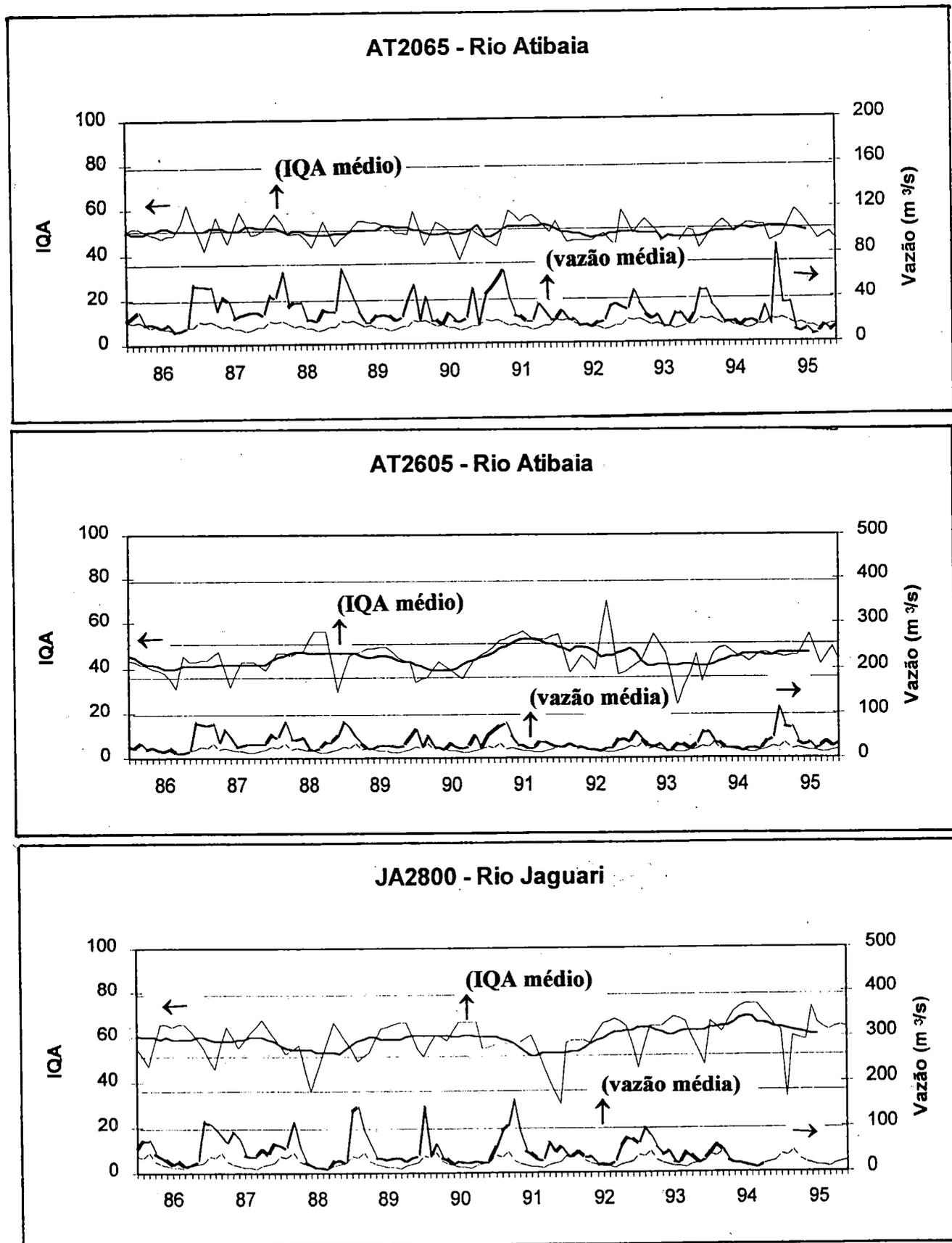


FIGURA 6.1 - Valores de IQA (Índice de Qualidade da Água) e vazão (m<sup>3</sup>/s), nos últimos dez anos em alguns pontos da rede de monitoramento, na bacia do rio Piracicaba, segundo CETESB, 1996.

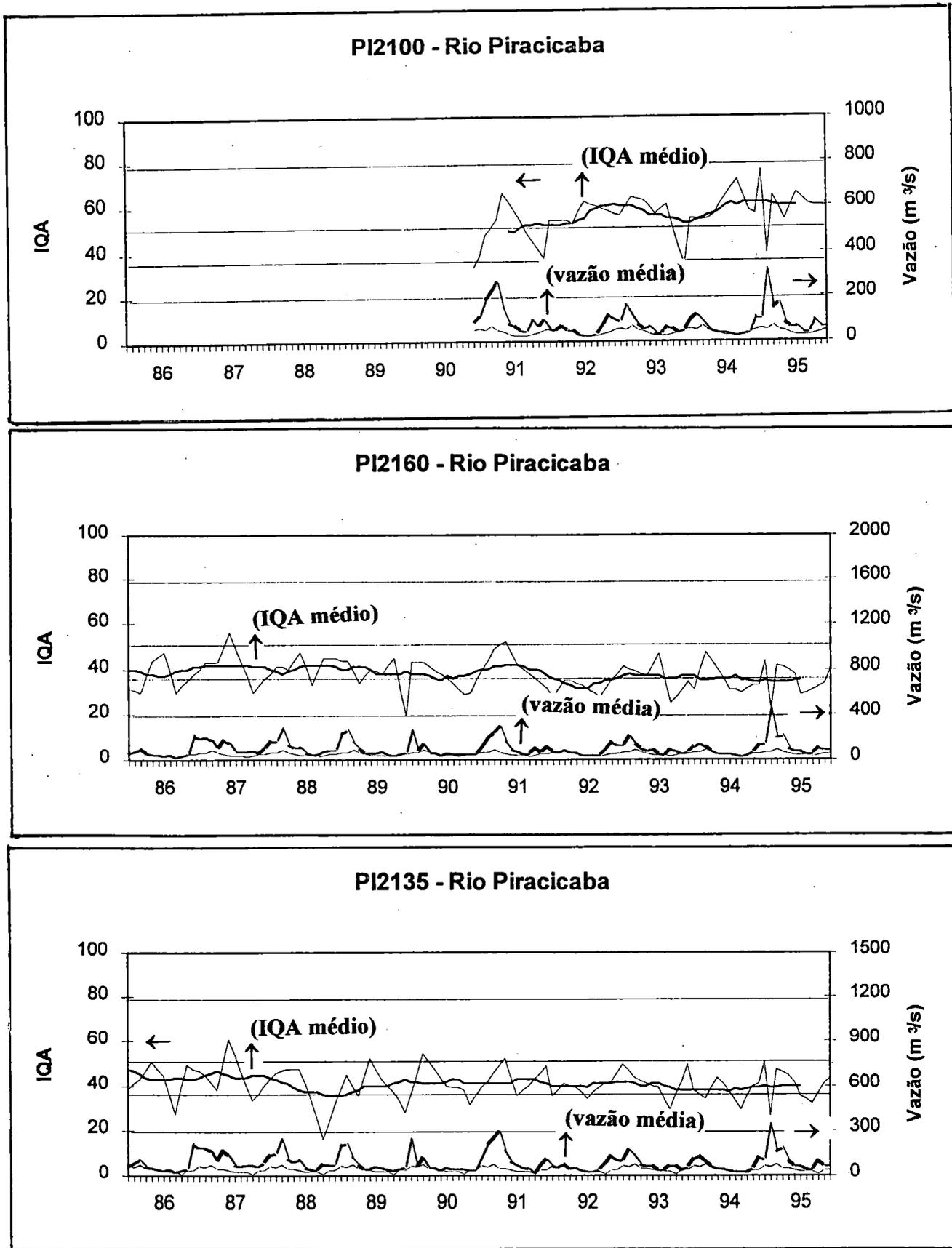
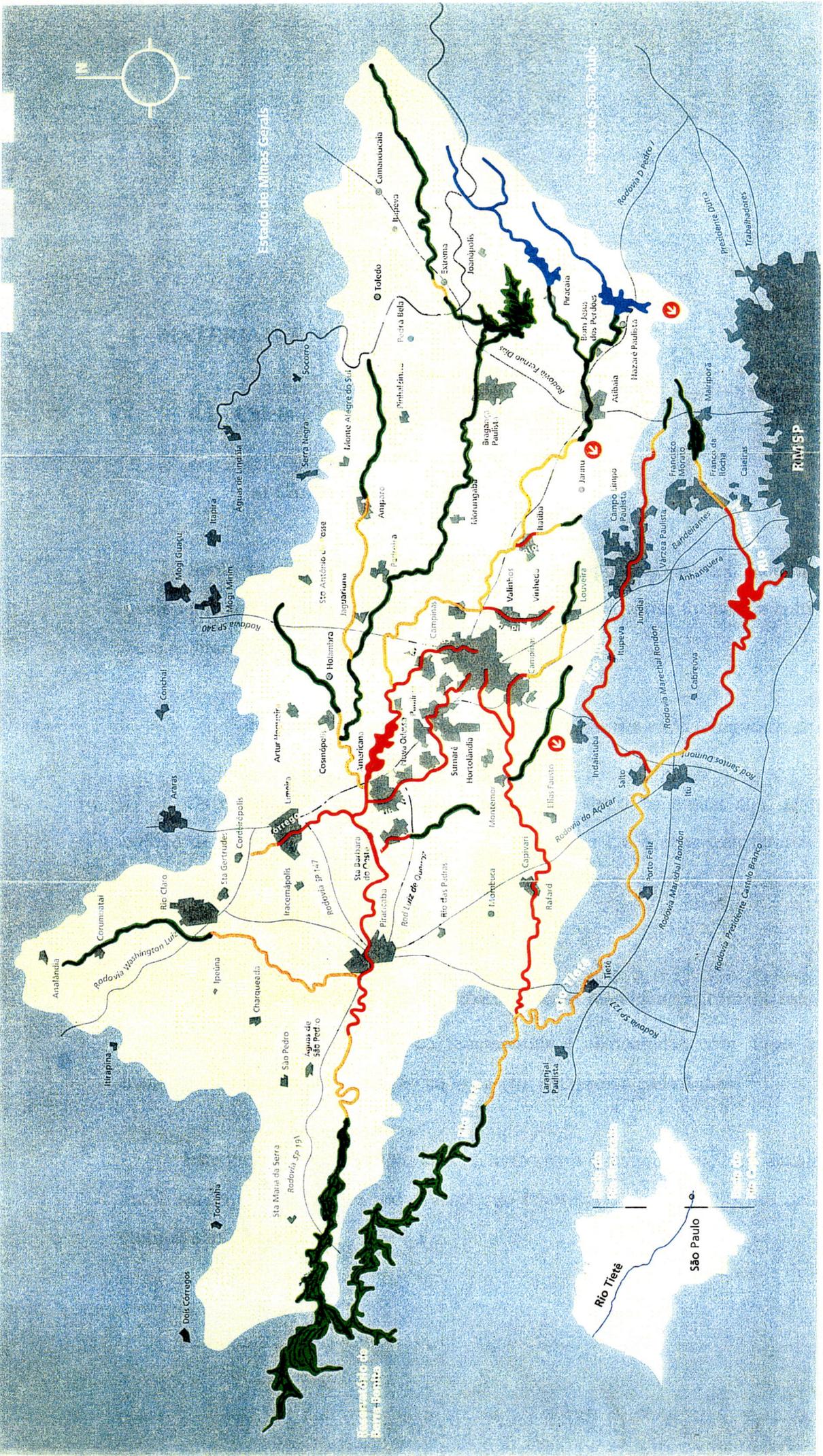


FIGURA 6.1 - Continuação



Bacia dos Rios Piracicaba e Capivari  
 Qualidade das águas superficiais  
 CONSÓRCIO INTERMUNICIPAL  
 DAS BACIAS DOS RIOS  
 PIRACICABA E CAPIVARI

FIGURA 6.2- Índice de qualidade de água (IQA), ano de 1995 (Fonte CETESB, 1996, com modificações).

Os resultados obtidos no presente trabalho deixam evidente que somente a realização de testes de toxicidade com as amostras de água, não fornece uma avaliação precisa da qualidade da água do local. Existe portanto, a necessidade de se realizar os ensaios com sedimento, pois são muito mais informativos, visto o caráter acumulador de contaminantes que este compartimento desempenha nos ecossistemas aquáticos.

Esta avaliação foi clara para as amostras coletadas na captação de Sumaré, pois não foi detectada toxicidade aguda para todos os cladoceros testados com as amostras de água, mas houve toxicidade quando submetidos às amostras de sedimento (100% de mortalidade). Através dos testes realizados com sedimento, este local foi denominado como de qualidade ruim, altamente tóxico, enquanto que se fossem considerados somente os ensaios com água, a qualidade da água não teria esta classificação, pois neste local somente se verificou toxicidade crônica para *D. similis* no teste realizado com a amostra coletada no dia 17/10/96. Portanto, estes resultados confirmam a importância dos testes de toxicidade com sedimento na avaliação, e posterior classificação da qualidade da água em trabalhos de monitoramento.

A CETESB (no prelo e NAVAS PEREIRA, 1997 - informação pessoal) propõe, a utilização de um novo índice de qualidade de água, com o objetivo de assegurar a preservação das comunidade aquáticas. Para tanto a metodologia de cálculo deste novo índice leva em consideração as análises de metais, fenol, surfactantes, OD, pH e a toxicidade crônica para *C. dubia*.

O novo índice tem a denominação de IPCA - Índice para Preservação das Comunidades Aquáticas. No cálculo são considerados como parâmetros essenciais os valores de pH, OD e toxicidade, e como um grupo de substâncias tóxicas, as análises de cobre, zinco, chumbo, cromo, mercúrio, níquel, cádmio, surfactantes e fenol. A CETESB está propondo este novo índice em substituição ao IQA, de forma a garantir uma melhor avaliação da qualidade da água na rede de monitoramento.

Esta proposta classifica as águas na seguintes categorias:

- Adequada: águas com características necessárias para manter a sobrevivência e a reprodução dos organismos aquáticos.

- Regular: Águas com características para a sobrevivência dos organismos aquáticos, porém a reprodução pode ser afetada a longo prazo

- Inadequada: Águas com características que podem comprometer a sobrevivência dos organismos.

Acredita-se que caso fosse aplicado este novo índice utilizando os resultados obtidos no presente trabalho, ou seja, levando em consideração a toxicidade aguda e crônica obtida para os organismos aquáticos, a classificação da qualidade da água dos locais amostrados seria alterada. Esta suposição está ilustrada na Tabela 6.2

Porém, cabe também lembrar que esta possível alteração na qualidade da água, com base somente nos resultados de toxicidade do presente trabalho, não é satisfatória, pois tanto o número de testes realizados, bem como os pontos de amostragem, foram insuficientes para se fazer uma classificação confiável. No entanto a suposição mostra a importância da utilização dos ensaios de toxicidade com diferentes organismos aquáticos, como ferramenta para uma melhor avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba .

TABELA 6.2 - Classificação da qualidade da água nos pontos de amostragem, pela CETESB 1995, segundo o IQA e classificação obtida no presente trabalho através do IPCA, proposto pela CETESB 1997.

	RIOS		IQA/ 1995- CETESB	IPCA - Proposta CETESB, 1997	
		dos		Água	Sedimento
Controle	Córrego	dos	Boa	Adequada	Adequada
	Pinhais				
Cap. de Limeira	Jaguari		Boa	Adequada	Regular
Cap. de Americana	Piracicaba		Aceitável / ruim	Regular	Inadequada
Cap. de Sta Bárbara	Piracicaba		Aceitável / ruim	Regular	Inadequada
Cap. de Piracicaba	Piracicaba		Aceitável / ruim	Regular	Inadequada
Cap. de Campinas	Atibaia		Boa / Aceitável	Regular	Inadequada
Cap. de Sumaré	Atibaia		Boa / Aceitável	Regular	Inadequada

## 7- CONCLUSÕES

- Existem diferenças de sensibilidade na avaliação da qualidade do sedimento entre as espécies utilizadas como organismos-teste no presente trabalho. Para as espécies testadas foi estabelecida a seguinte seqüência: *C. silvestrii* > *D. similis* > *C. xanthus*.
- O resultado dos testes de toxicidade aguda e crônica realizados com as amostras de sedimento dos locais de amostragem com *D. similis*, *C. silvestrii* e *C. xanthus* como organismos-teste, permitiram identificar a captação de Sumaré como um local altamente contaminado; as captações de Americana, Piracicaba e Limeira como locais contaminados, e as captações de Santa Bárbara D'Oeste e de Campinas como levemente contaminados.
- A toxicidade crônica, avaliada através de alterações no crescimento do corpo, na fecundidade e sobrevivência/emergência permitiu identificar locais também comprometidos pela toxicidade, que não foram identificados nos testes agudos, por exemplo a captação de Limeira. Apesar de mais trabalhosos e mais demorados, os testes de toxicidade crônica devem ser incluídos no biomonitoramento de rotina.
- As análises de metais realizadas com as amostras de água revelaram índices acima do permissível de cádmio, chumbo e manganês para amostra da captação de Sumaré, e de zinco para a captação de Limeira, revelando

assim o comprometimento destes locais por contaminação com metais em níveis capazes de provocar danos à biota aquática.

- Os altos níveis de fosfato total nos locais amostrados indicam a tendência destes corpos de água à eutrofização, bem como níveis de oxigênio dissolvido inferiores a 5,0 mg/l nas captações de Piracicaba e Santa Bárbara D'Oeste, mostrando a deterioração do sistema em termos de níveis de carga orgânica oriunda dos efluentes industriais.
- O organismo mais sensível nos testes crônicos com amostras de água foi *Daphnia similis*, recomendando - se que o mesmo seja preferencialmente utilizado como organismo-teste no biomonitoramento.
- Os organismos planctônicos *D. similis* e *C. dubia* (organismos padrão) e *C. silvestrii* não sofreram toxicidade aguda quando expostos às amostras de água dos diferentes locais de coleta, porém sofreram toxicidade crônica, razão pela qual os testes de toxicidade crônica devem ser incluídos nos testes de toxicidade com água.
- Com base nos testes de toxicidade crônica com a água, avaliados através das diferenças no crescimento do corpo, crescimento populacional, fecundidade, sobrevivência e longevidade foi estabelecida a seguinte seqüência em termos de toxicidade : futura captação de Santa Bárbara D'Oeste > Piracicaba e Limeira > Americana > Campinas e Sumaré.
- A espécie *Chironomus xanthus*, pela primeira vez utilizada em testes de toxicidade, é de fácil obtenção em quantidade e fácil manutenção em laboratório, recomendando-se assim sua utilização como espécie-teste.
- Conclui-se, com base nos testes realizados e nas análises físicas e químicas que tanto a água como o sedimento dos locais próximos às captações de

água para abastecimento das seis cidades da bacia do rio Piracicaba, não tem a qualidade necessária para a preservação da biota de água doce em virtude da toxicidade aguda e crônica detectadas.

## 8- RECOMENDAÇÕES

- Dar continuidade às investigações sobre a toxicidade da água e do sedimento do rio Piracicaba e seus afluentes, ampliando-se o número de testes agudos e crônicos com organismos padronizados.
- Realizar testes “in situ” que permitam avaliar as respostas de diferentes organismos (microcrustáceos, larvas de quironomídeos, anfípodas, peixes, etc...) sob condições mais próximas da realidade dos ambientes naturais.
- Ampliar os estudos de toxicidade aguda e crônica com os estágios larvais de *Chironomus xanthus*, estabelecendo - se com maior acuracidade a faixa de sensibilidade a diferentes substâncias de referência, tais como o KCl, o CdCl<sub>2</sub>, o CuSO<sub>4</sub>, etc...
- Estabelecer o tempo ideal de exposição das larvas nos testes de toxicidade crônica com *Chironomus xanthus*, de forma a poder utilizar o crescimento, medido na forma de peso seco, como parâmetro final de avaliação.

## 9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, W.J.; KIMERLE, R.A; BARNETT JÚNIOR, J.W. (1992) Sediment quality and aquatic life assessment. *Environ.Scienc and Tecnol*, v.26, n.10, p.1865-1873.
- ADAMS, W.J (1995) *Aquatic toxicology testing methods* In: In: HOFFMAN, D.J. RATTNER, G.A. BURTON Jr, J.CAIRNS, Jr eds, Handbook of Ecotoxicology ,Lewis Publishers, Boca Raton Fl, Cap 3, p.25-46.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA (1992) American Water Works Association, Water Pollution Control Federation- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18<sup>a</sup> ed, New York, 10 cap.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (1992). NBR 12648  
Água - Ensaio de toxicidade com *Chorella vulgaris* (Chlorophyceae) .Rio de Janeiro, 8p
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS.(1993a).NBR 12713  
Água - Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 16p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. (1993b). NBR 12714  
Água - Ensaio de toxicidade aguda com peixes. Parte I - Sistema estático. Rio de Janeiro,15p.
- BAUDO, R. (1987). Ecotoxicological testing with *Daphnia*. In PETERS, R.H &DE BERNARDI, R., eds *Daphnia*. Memorie Dell Instituto Italiano Di Idrobiologia Dr. Marco de Marchi, Consiglio Nazionale Delle Ricerche, Verbania, Pallanza, v. 45,p.461-482.
- BAUDIN, J.P & NUCHO, R (1992) <sup>60</sup>Co accumulation from sediment and planktonic algae by midge larvae *Chironomus luridus*. *Environ Pollution*, v.76, p.133-140, june.

- BENOIT, D.A ; SIBLEY, P.K ; JUENEMANN, J.L ; ANKLEY, G.T (1997) *Chironomus tentans* life-cycle test; design and evaluation for use in assessing toxicity of contaminated sediments. *Environ Toxicol.Chem.* v.16,n.6, p.1165-1176.
- BERG, M.B. (1995). Larval food and feeding behaviour. In ARMITAGE,P ;CRANSTON,P.S ; PINDER, L.C.V eds. *The Chironomidae - The biology and ecology of non-biting midges*. London, Chapman & Hall. Cap.7,p.136 -168.
- BOHRER, M.B.C (1995) *Biomonitoramento das lagoas de tratamento terciário do Sistema de Tratamentos dos Efluentes Líquidos Industriais (SITEL) do Pólo Petroquímico do Sul, Triunfo, RS, através da comunidade zooplanctônica*. São Carlos, 469p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos.
- BURTON, G.A Jr. (1992) *Plankton, macrophyte, fish, and amphibian testing of freshwater sediments* In: BURTON, G.A Jr .ed *Sediment toxicity assessment*, Lewis Publishers, Cap.8, p.167-176.
- BURTON,G.A Jr & MACPHERSON C. (1995) . *Sediment toxicity testing issues\_and methods..* In: HOFFMAN, D.J. RATTNER, G.A. BURTON Jr, J.CAIRNS, Jr eds, *Handbook of Ecotoxicology* ,Lewis Publishers, Boca Raton Fl , Cap 5, p.70-103.
- BURTON,G.A Jr ; NIMMO,D ; MURPHEY,D ; PAYNE,F (1987). Stream profile determinations using microbial activity assays and *Ceriodaphnia*. *Environ Toxicol.Chem.* v.6, p. 505-513.
- BURTON,G.A Jr ; STEMMER, B.L ; WINKS, K.L; ROSS,P.E; BURNETT,L.L (1989) A multitrophic level evaluation os sediment toxicity in Waukegan and Indiana Harbors. *Environ Toxicol.Chem.* v.8, p. 1057-1066.
- BURTON,G.A Jr et al (1996) Interlaboratory study of precision: *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans* freshwater sediment toxicity assays. *Environ Toxicol.Chem.* v.15, p. 1335-1343.
- BUTLER, M.G. (1984). Life histories of aquatic insects. In RESH, V.H & ROSENBERG, P.M eds. *The ecology of aquatic insects*. New York, Chapman & Hall. Cap 3, p. 24 -55.
- CALOW, P (1995) ed. *Handbbook of Ecotoxicology*, Vol 1, Blackwell Science Ltda, Oxford, 471p.
- CALHEIROS, D. F. (1993). *Ecotoxicologia de compostos organoclorados persistentes em um ecossistema eutrófico. Represa de Barra Bonita (Médio Tietê)*. São Carlos.198p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

- CAMPOS, J.R (1994) *Alternativas para tratamento de esgotos - pré-tratamento de águas para abastecimento*. Consórcio Intermunicipal das Bacias dos Rios Piracicaba e Capivari, nº 9, 112p.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL- CETESB (1991a). *Controle da poluição ambiental na bacia do rio Piracicaba*, Dez.,46p.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB (1991b) *Avaliação da toxicidade crônica utilizando Ceriodaphnia dubia Richard 1864 (Cladocera, Crustacea)*. São Paulo, 25p.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL- CETESB (1995).*Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo*, 269p.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL- CETESB (1996).*Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo*, 285p.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL- CETESB (1997) .*Proposta de um novo índice de qualidade de água/ no prelo*.
- COMITÊ DAS BACIAS HIDROGRÁFICAS DOS RIOS PIRACICABA, CAPIVARI E JUNDIAÍ - CBH-PCJ (1996). *Relatório de situação dos recursos hídricos de 1995*. Agosto, 47p.
- CHAPMAN, D.V. (1989) *Concepts and strategies for biological monitoring* London: GEMS Monitoring and Assessment Research Center, 25p.
- COONEY, J.D.(1995). Freshwater tests. In RAND,G.M. ed. *Fundamentals of aquatic toxicology.2ª edition, Effects, environmental fate, and risk assessment*. Taylor & Francis, Cap. 2, p.71-102.
- CONNELL, D.W & MILLER, G.J (1984). *Chemistry and ecotoxicology of pollution*, John Wiley & Sons, 444p.
- CRANSTON, P.S. (1995). Introduction. In ARMITAGE,P; CRANSTON,P.S; PINDER, L.C.V eds. *The Chironomidae - The biology and ecology of non-biting midges*. London, Chapman & Hall.,p.1-5.
- CREDLAND, P.F. (1993). A new method for establishing a permanent laboratory culture of *Chironomus riparius* Meigen (Diptera: Chironomidae). *Freshwater Biol*, v.3, p.45-51.

- DAMATO, M (1997). *Estudo da influência do nível de tratamento de efluentes de refinaria de petróleo na sua toxicidade, empregando diferentes espécies indicadoras*. São Paulo, 614p, Tese (Doutorado). Escola Politécnica, Universidade de São Paulo.
- DAY, K.D; SCOTT KIRBY, R; REYNOLDSON, T. B (1994). Sexual dimorphism in *Chironomus riparius* (Meigen): impact on interpretation of growth in whole-sediment toxicity tests. *Environ Toxicol.Chem.* v.13, p.35-39.
- DOWNE, A .E.R & CASPARY, V.G (1973). The swarming behaviour of *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) in the laboratory. *Can. Ent.*, v.105, p.165-171.
- ELDER, J.F (1990). *Applicability of ambient toxicity testing to national or regional water-quality assessment*. U.S. Geological Survey Circular :1049, Denver, 49 p.
- FERNADES Jr, J.L (1989) *Análise crítica e experimental do ensaio de granulometria pelo método do densímetro*. São Carlos 150p Dissertação (Mestrado)- Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- FONSECA, A.L (1991). *A biologia das espécies Daphnia laevis, Ceriodaphnia silvestrii (Crustacea, Cladocera) e Poecilia reticulata (Pisces, Poeciliidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais*. São Carlos, 210p Dissertação (Mestrado)- Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- FREGADÓLLI, C.H (1996). *Efeito da disponibilidade de alimento e da predação por ninfas de Odonata no crescimento e sobrevivência de larvas de tambaqui, Colossoma macropomum (Cuvier 1818)*. São Carlos, 152p Tese (Doutorado)- Universidade Federal de São Carlos.
- GIESY, J.P & HOKE, R.A. (1989) Freshwater sediment toxicity bioassessment rationale for species selection and test design. *J.Great.Lakes.Res.* v.15, n.4, p.539 - 569.
- GIESY, J.P ; GRANNEY, R.L ; NEWSTED, J.L ; ROSIU, C.J; BENDA, A; KREIS, R.G.JR; HORVATH, F.J (1988). Comparison of three sediment bioassay methods using Detroit river sediments. *Environ Toxicol.Chem.* v.7, p.483-498.
- GOLDSTEIN, E.G ; ZAGATTO, P.A; ALMEIDA ARAUJO, R.P ; BERTOLETTI, E. (1983). Avaliação da toxicidade dos principais despejos industriais da região de E,R,Q - Suzano, através de ensaios biológicos. *Rev.Dae.* v .132,p. 42-47.
- GOLTERMAN, H.L. ; CLYMO, R.S. ; OHNSTAD, R. (1978). *Methods for physical and chemical analysis of freshwater*. 2<sup>a</sup> ed. IBP. Handbook, 8, Blackwell .Sci.Publ., Oxford.

- HERRICKS, E.E ; SHAEFFER, D.J ; PERRY, J.A ( 1989). In: LEVIN, S.A ; HARWELL, M. A ; KELLY, J.R ; KIMBALL, K.D (1989) eds. *Ecotoxicology: Problems and Approaches*, Springer- Verlag,, New York, cap. 13, p.351-364.
- HILL, I.R ; MATTHIESSEN,P ; HEIMBACH, F (ed) (1993). Guidance document on sediment toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environments . Society of Environment Toxicology and Chemistry , Europe, 105p., November.
- INGERSOLL, C.G (1995). *Sediment tests* In: RAND,G.M (ed) *Fundamentals os aquatic toxicology 2<sup>a</sup> edition, Effects, environmental fate, and risk assessment*. Taylor & Francis, Cap.8, p.231-255.
- JAAKKO ENGENHARIA LTDA (1992) . *Plano Diretor de Captação de Água para Abastecimento Público nas Bacias dos Rios Piracicaba e Capivari - Convênio Intermunicipal das Bacias dos Rios Piracicaba e Capivari e Departamento de águas e Energia Elétrica*. 194p.
- LAGE FILHO, A . L (1996). *Características ecológicas e limnológicas da bacia hidrográfica do Ribeirão das Antas, no período de menores precipitações, Poços de Caldas, M.G* .São Carlos 192p Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- LA POINT, T.W (1995). *Signs and measurements of ecotoxicity in the aquatic environment* In: HOFFMAN, D.J. RATTNER, G.A. BURTON Jr, J.CAIRNS, Jr eds, *Handbook of Ecotoxicology* ,Lewis Publishers, Boca Raton Fl , Cap.1, p.13-24.
- LANGTON, P.H. (1995).The pupa and events leading to eclosion. In ARMITAGE,P ;CRANSTON,P.S ; PINDER, L.C.V eds. *The Chironomidae - The biology and ecology of non-biting midges*. London, Chapman & Hall., Cap 8, p.169-193.
- LEE,C.M ; FULLAND,J.F ; HUNTINGTON,E. (1980). Development of a chronic toxicity tests using *Chironomus riparius* and the sublethal effects trisodium carbaxymethyloxysuccinate. *Journal of Testing and Evaluation* J.T.E.V.A, v. 8, n 6, p.282 - 287.
- LEVIN, S.A ; HARWELL, M. A ; KELLY, J.R ; KIMBALL, K.D (1989). eds. *Ecotoxicology: Problems and Approaches*, Springer- Verlag,, New York, 541p.
- LINDEGAARD, C. (1995). Classification of water-bodies and pollution. In ARMITAGE,P ;CRANSTON,P.S ; PINDER, L.C.V eds. *The Chironomidae - The biology and ecology of non-biting midges*. London, Chapman & Hall., Cap 15,p.385-404.
- MACKERETH, S.J.H.; HERON, J; TALLING, J.S.(1978). Water analysis some revised methods for limnologists, Kendal, Freshwater Biol Assoc., *Sci.Publ.*36., Wilson & Sons,117p.

- MELETTI, P. C (1997). *Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade com peixes.* no prelo.
- NAYLOR, C ; RODRIGUES, C.M ; CALOW, P. ( in press) The use of artificial sediment in tests with *Chironomus riparius*. 17p.
- NEBEKER, A .V; CAIRNS, M.A; WISE, C .M (1984) Relative sensitivity of *Chironomus tentans* life stages to copper. *Environ Toxicol.Chem.* v.3, p.151-158.
- NELSON, M.K; INGERMOLL, C.G; DWYER, F.J.(1989). ASTM - DRAFT 44.
- ODUM, E. P (1985). *Ecologia*, Ed Interamericana, Rio de Janeiro, 434p.
- OLIVER, D.R (1971). Life history of the Chironomidae. *Ann. Review .Entomol*, v.16,p.211-30.
- PASCOE, D. (1987). *Episodic pollution incidents: experimental studies in the field and laboratory* .In YASUNO, M & WHITTON, B.A. ed. Bioindicators of the environment, Tokyo: 145 - 156.
- PASCOE, D.; WILLIAMS, K.A ; GREEN, D.W.J ( 1989). Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* Meigen - effects upon larval development and adult emergence. *Hydrobiol.*v.175,p. 109-115.
- PASCHOAL, C.M.R.B (1996). *Avaliação da qualidade ambiental de Cubatão*. São Paulo. 155p. Dissertação (Mestrado)- Universidade de São Paulo.
- PERSOONE, G ; JANSSEN, C.R (1995). Freshwater invertebrate toxicity tests . In: CALOW, P (ed) *Handbbook of Ecotoxicology*, Cap 4 ,p.51 - 65.
- PINDER ,L.C.V (1995). The habitats of chironomid larvae. In ARMITAGE, P ; CRANSTON, P.S ; PINDER, L.C.V eds. *The Chironomidae - The biology and ecology of non-biting midges*. London, Chapman & Hall., Cap 6,p.107-135.
- PRAT, N ; RIERADEVALL, M (1995). Life cycle and production of Chironomidae (Diptera) from Lake Banyoles (NE Spain). *Fresh. Biol*, v.33, p. 511-24.
- PRINTES, L.B (1996). *Biomonitoramento da microregião carbonífera do baixo jacuí, RS, através de testes de toxicidade com Cladocera e implantação de cultivos e definição da faixa de sensibilidade de Hyaella azteca (Crustacea; Amphipoda) ao cloreto de sódio (NaCl)*. Porto Alegre, 253p, Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul

- P.I.R.P - *Programa de investimentos para recuperação e proteção das bacias dos rios Piracicaba e Capivari* (1992). Consórcio intermunicipal das bacias dos Rios Piracicaba e Capivari, Governo de São Paulo. Cobrepe. 98p.
- PORTO, M.F.A. (1991). Estabelecimento de parâmetros de controle da poluição. IN PORTO, R. La Laina org, *Hidrologia Ambiental*, São Paulo, Edusp, Associação Brasileira dos Recursos Hídricos, Coleção ABRH de recursos hídricos, v 3, p. 27-65.
- RAND, G.M ; PETROCELLI, S.R. eds. (1985). *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*, Washington USA, Hemisphere Publishing 666p.
- RAND, G.M; WELLS, P.G ; McCARTY, L.S (1995). *Introduction to aquatic toxicology*. In: RAND, G.M (ed) *Fundamentals os aquatic toxicology 2ª edition, Effects, environmental fate, and risk assessment*. Taylor & Francis, Cap. 1, p.3-67.
- REMPEL, J.G. (1939). Neue Chironomiden aus Nordostbrasilien *Zool Anz* , v.127, p. 209-16.
- REVISTA TEMPO (1995). Consórcio intermunicipal das bacias dos rios Piracicaba e Capivari, Nº 14, ano 2, Abril, 34p.
- REYNOLDFSON, T.B & DAY, K.E (1995). *Freshwater sediments*. In CALOW, P (ed). *Handbook of Ecotoxicology*, Blackwell Sci.Publi, Oxford: p.83-100.
- ROSENBERG, D.M ; RESH, V.H. eds (1993). *Freswater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*, New York, London, Chapman & Hall, 488p.
- ROSIU, C.J; GIESY, J. P; KREIS Jr, R.G. (1989). Toxicity of vertical sediments in the Treton Channel, Detroit River, Michingan, to *Chironomus tentans* (Insecta: Chironomidae) *J.Great Lakes Res.*, v.15, n. 4, p. 570 - 580.
- SHCHERBAN, E.P (1982). Experimental estimate os the toxicity of Danube water for *Daphnia magna* Straus. *Hydrobiol.Journal*, v. 18, n. 2, p. 81-87.
- SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE - SMA (1994) *Bacia do Rio Piracicaba, estabelecimento de metas ambientais e reenquadramento dos corpos d'água*. São Paulo (Estado), Série relatórios, ISSN 0103-4103, 81p.
- SMA/ CPLA. (1989) - *Bacia do Rio Piracicaba. Diretrizes para planejamento*. Relatório técnico número 1 . Análise dos estudos existentes e proposta para discussão. Governo Est. São Paulo. 71p.
- SELL, N.J. (1992) *Industrial pollution control: issues anda techniques*. New York, Van nostran Reinhold. P.1-25.

- SETAC - SOCIETY OF ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND CHEMISTRY - Europe (1993). *Guidance document on sediment toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environments*. In: HILL, J.R.; MATTHIESSEN, P. & HEIMBACH, F. Workshop on sediment toxicity assessment, 8-10 nov., Renesse, The Netherlands.
- SOARES, A. M. V. M. (1990). *Ecotoxicologia e determinação de riscos ecológicos. Prática e Perspectivas*. 2ª Conferência Nacional sobre a Qualidade do Ambiente, v.1, 4-6 abril, b.41 - b.52.
- SPIES, M & REISS, F. (1996). Catalog and bibliography of neotropical and mexican Chironomidae, *Spixiana, Supplement*. München. v.22, p. 61 - 119.
- STANLEY, E.M. (1993) *Fundamentals of environmental chemistry*. Michigan, Lewis. P.373-392, 415-423.
- STEMMER, B.L. ; BURTON, A.G. Jr; SASSON-BRICKSON, G. (1990). Effect of sediment spatial variance and collection method on cladoceran toxicity and indigenous microbial activity determinations. *Environ Toxicol Chem.* 9, p. 1035 - 1044.
- STEVENS, M.M. (1993). Larval development in *Chironomus tepperi* (Diptera: Chironomidae) under laboratory conditions. *Environ. Entomol.* v.22, n.4, p.776-80, Aug.
- STRIXINO, S. (1980). *Estudos sobre a fecundidade de Chironomus sancarlensis sp* (Diptera: Chironomidae). São Paulo. 157p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo.
- STRIXINO, T.S & STRIXINO, G. (1981). Nova espécie do gênero *Chironomus* meigen do sul do Brasil (Diptera: Chironomidae). *Rev. Bras. Ent.*, v.25, n.4, p.333-340.
- STRIXINO, T.S & STRIXINO, G. (1982). Ciclo de vida de *Chironomus sancticaroli* Strixino & Strixino, (Diptera, Chironomidae). *Revta Bras. Ent.*, v. 26, n.2, p. 183-89.
- STRIXINO, T.S & STRIXINO, G. (1985). A temperatura e o desenvolvimento larval de *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae). *Revta. Bras. Ent.*, v.3, n.4, p.177-80.
- STRIXINO, S.T & STRIXINO, G. (1989). Observações sobre a biologia da reprodução de um quironomídeo da região neotropical (Diptera, Chironomidae). *Revta. Bras. Ent.* v.33, n.2, p. 207-16.

- SZTRANTOWICZ, H & KANIEWSKA-PRUS, M (1985). Indicatory role of some invertebrates for quality of water in the Vistula river and in subsequent stages of its treatment. *Pol.Arch.Hydrobiol*, v.32,n.1,p. 71-95.
- SWEENEY,B.W.(1984). Factors influencing life-history patterns of aquatic insects. In RESH, V.H & ROSENBERG, P.M eds. *The ecology of aquatic insects*. New York, Chapman & Hall. Chap. 4,p. 56-99.
- TEIXEIRA, C. ; TUNDISI, J.G; KUTNER, M.B. (1965). Plankton studies in magrove environmental .II. The standing stock and some ecological factors. *Bolm. Ins. Oceanogr. USP*, v.24,p. 23-41.
- TUNDISI, J.G (1969).*Produção primária, "Standing stock"e fracionamento do fotoplankton na região lagunar de Cananéia*. São Paulo. 131p. Tese (Doutorado), Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo.
- TOKESHI,M. (1995). Life cycles and population dynamics. In ARMITAGE,P ;CRANSTON,P.S ; PINDER, L.C.V eds. *The Chironomidae - The biology and ecology of non-biting midges*. London, Chapman & Hall., Chap.10,p.225-68.
- TRAUNSPURGER, W & DREWS, C. (1996) Toxicity analysis of freshwater and marine sediments with meio-and macrobenthic organisms: a review. *Hidrobiol*, v.328,p.215-261.
- UNEP - UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMMEE (1992) *Chemical pollution: a global overview*. Geneva.105p.
- USEPA - UNITED STATES ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY (1985). USEPA/600/4 -85/014. *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms*. Cincinnati, Ohio.,162p
- USEPA - UNITED STATES ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY. (1989) USEPA/570/9 - 89 - 005. *Is your drinking water safe?* Washington, D.C. :.25p.
- USEPA - UNITED STATES ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY (1994). USEPA/600/R -94/024. *Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment associated contaminants with freshwater invertebrates*. Washington.D.C.,133p.
- VALDERRAMA, J.C (1981). The similtaneous analisis of the TN and TP in natural water. *Mar.Che*, v.10, p.109-112.
- WARWICK, W. F. (1990). The use of morphological deformities in chironomid larvae for biological effects monitoring.*National Hydrology Research Institute* nº 43, série 173, 34p.

WESTMAN, W.E (1985) *Ecology, impact assessment and environmental planning*. New York, John Wiley. p.29-81, 269-319.

WETZEL, R.G & LIKENS, G.E (1991). *Limnological analysis*. New York, Springer-Verlag, 391p.

WILLIAMS, K.A ; GREEN, D.W.J ; PASCOE, D ; GOWER, D.E (1986). The acute toxicity of cadmium to different larval stages of *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) and its ecological significance for pollution regulation. *Oecol*, v.70,p.362-366.

**ANEXOS**

**ANEXO A - 1- Resultados dos testes de Dunnett obtidos para os testes de toxicidade aguda (96h) com o 2º instar de *Chironomus xanthus* para as amostras de sedimento da bacia do rio Piracicaba/SP.**

**a ) Teste 1 - 19/01/96**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	70.000	70.000		
2	Limeira	56.667	56.667	0.914	
3	Americana	76.667	76.667	-0.457	
4	Sta Bárbara	73.333	73.333	-0.229	
5	Piracicaba	100.000	100.000	-2.057	
6	Campinas	100.000	100.000	-2.057	
7	Sumaré	93.333	93.333	-1.600	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**b) - Teste 2 - 17/01/96**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	100.000	100.000		
2	Limeira	100.000	100.000	0.000	
3	Americana	94.433	94.433	0.246	
4	Sta Bárbara	100.000	100.000	0.000	
5	Piracicaba	61.100	61.100	1.720	
6	Campinas	27.767	27.767	3.195	*
7	Sumaré	27.733	27.733	3.196	*

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**ANEXO A - 2- Resultados dos testes de Dunnett e Kruskal - Wallis obtidos para os testes de toxicidade aguda (96h) com o 3<sup>o</sup> instar de *Chironomus xanthus* para as amostras de sedimento da bacia do rio Piracicaba/SP.**

**a) Teste 1 - 19/01/96**

DUNN'S MULTIPLE COMPARISON - KRUSKAL - WALLIS - TABLE 2 OF 2 (p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP								
				0	0	0	0	0	0	0		
2	Limeira	91.650	91.650	\								
4	Sta Bárbara	91.650	91.650	.	\							
7	Sumaré	91.650	91.650	.	.	\						
1	Controle	100.000	100.000	.	.	.	\					
5	Piracicaba	100.000	100.000	.	.	.	.	\				
6	Campinas	100.000	100.000	.	.	.	.	.	\			
3	Americana	100.000	100.000	.	.	.	.	.	.	\		

\* = significant difference (p=0.05)

Table q value (0.05,7) = 3.038

. = no significant difference

SE = 3.118

**b) - Teste 2 - 17/01/96**

GROUP	IDENTIFICATION	MEAN	ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	100.000	100.000		
2	Limeira	88.867	88.867	1.040	
3	Americana	83.300	83.300	1.560	
4	Sta Bárbara	100.000	100.000	0.000	
5	Piracicaba	94.433	94.433	0.520	
6	Campinas	0.000	0.000	9.344	*
7	Sumaré	47.733	47.733	4.884	*

Dunnett table value = 2.53

(1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**ANEXO A - 3 - Resultados dos testes de Dunnett e Tukey obtidos para os testes de toxicidade aguda (96h) com o 4<sup>o</sup> instar de *Chironomus xanthus* para as amostras de sedimento da bacia do rio Piracicaba/SP.**

**a) Teste 1 - 19/01/96**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho: Control < Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	91.650	91.650		
2	Limeira	65.000	65.000		
3	Americana	82.500	82.500	3.583	*
4	Sta Bárbara	91.650	91.650	1.230	
5	Piracicaba	82.500	82.500	0.000	
6	Campinas	100.000	100.000	1.230	
7	Sumaré	50.000	50.000	-1.123	
				5.600	*

Dunnnett table value = 2.46 (1 Tailed Value, P=0.05, df=20,6)

**b) - Teste 2 - 17/01/96**

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP								
				0	0	0	0	0	0	0		
7	Sumaré	0.000	0.000									
6	Campinas	44.400	44.400	.								
5	Piracicaba	44.400	44.400	.	.							
3	Americana	53.333	53.333	*	.	.						
4	Sta Bárbara	94.433	94.433	*	*	*	.					
2	Limeira	94.433	94.433	*	*	*	.	.				
1	Controle	100.000	100.000	*	*	*	*	.	.	.		

\* = significant difference (p=0.05)

Tukey value (7,14) = 4.83

. = no significant difference  
s = 256.217

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho: Control < Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	100.000	100.000		
2	Limeira	94.433	94.433	0.426	
3	Americana	53.333	53.333	3.571	*
4	Sta Bárbara	94.433	94.433	0.426	
5	Piracicaba	44.400	44.400	4.254	*
6	Campinas	44.400	44.400	4.254	*
7	Sumaré	0.000	0.000	7.651	*

Dunnnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

ANEXO A - 4 - Resultado do teste de Kruskal -Wallis para os testes de toxicidade aguda (486h) com *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii* , para os dias 12/04/95, 19/01/96 e 17/01/96.

DUNN'S MULTIPLE COMPARISON - KRUSKAL - WALLIS - TABLE 2 OF 2 (p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP								
				0 7	0 2	0 3	0 4	0 5	0 6	0 1		
7	Sumaré	0.000	0.000	\								
2	Limeira	100.000	100.000	*	\							
3	Americana	100.000	100.000	*	.	\						
4	Sta Bárbara	100.000	100.000	*	.	.	\					
5	Piracicaba	100.000	100.000	*	.	.	.	\				
6	Campinas	100.000	100.000	*	.	.	.	.	\			
1	Controle	100.000	100.000	*	.	.	.	.	.	\		

\* = significant difference (p=0.05)

Table q value (0.05,7) = 3.038

. = no significant difference

SE = 3.528

**ANEXO B - Resultados dos testes de Dunnett e Kruskal -Wallis para os testes de toxicidade crônica com *Chironomus xanthus*, obtidos com as amostras de sedimento no dia 17/01/96, na bacia do rio Piracicaba/SP.**

## a) teste 1

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	85.000	85.000		
2	Limeira	100.000	100.000	-2.121	
3	Americana	85.000	85.000	0.000	
4	Sta Bárbara	90.000	90.000	-0.707	
5	Piracicaba	50.000	50.000	4.950	*
6	Campinas	70.000	70.000	2.121	
7	Sumaré	65.000	65.000	2.828	*

Dunnnett table value = 2.82 (1 Tailed Value, P=0.05, df=7,6)

## b) teste 2

DUNN'S MULTIPLE COMPARISON - KRUSKAL - WALLIS - TABLE 2 OF 2 (p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP							
				2	3	4	5	6	1	7	
2	Limeira	11.000	11.000	\							
3	Americana	11.000	11.000	.	\						
4	Sta Bárbara	11.000	11.000	.	.	\					
5	Piracicaba	11.000	11.000	.	.	.	\				
6	Campinas	11.000	11.000	.	.	.	.	\			
1	Controle	11.000	11.000	.	.	.	.	.	\		
7	Sumaré	13.000	13.000	.	.	.	.	.	.	\	

\* = significant difference (p=0.05)

Table q value (0.05,7) = 3.038

. = no significant difference

SE = 2.542

**ANEXO C - Resultados dos testes de Dunnett e Kruskal - Wallis para os testes de toxicidade crônica com *Daphnia similis*, obtidos com as amostras de sedimento dos dia 12/04/95 (teste 1) e 17/01/96 (teste 2), na bacia do rio Piracicaba/SP.**

**a) Teste 1**

**a .1- Comprimento do Corpo**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	2.450	2.450		
2	limeira	2.340	2.340	2.252	
3	americana	2.440	2.440	0.205	
4	sta. Barbara	2.220	2.220	4.708	*
5	Piracicaba	2.300	2.300	3.070	*

Dunnett table value = 2.47 (1 Tailed Value, P=0.05, df=10,4)

**a .2 - Fecundidade**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	94.000	94.000		
2	Limeira	40.000	40.000	5.543	*
3	Americana	49.500	49.500	4.568	*
4	Sta Bárbara	98.000	98.000	-0.411	
5	Piracicaba	105.000	105.000	-1.129	

Dunnett table value = 2.85 (1 Tailed Value, P=0.05, df=5,4)

**a .3 - Sobrevivência**

DUNNETT'S MULTIPLE COMPARISON - KRUSKAL - WALLIS - TABLE 2 OF 2 (p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP				
				0	0	0	0	0
2	Limeira	80.000	80.000	\				
3	Americana	80.000	80.000	.	\			
1	Controle	80.000	80.000	.	.	\		
4	Sta Bárbara	90.000	90.000	.	.	.	\	
5	Piracicaba	100.000	100.000	.	.	.	.	\

= significant difference (p=0.05)  
table q value (0.05,5) = 2.807

. = no significant difference  
SE = 2.667

**b) Teste 2****b.1 - Comprimento do Corpo**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	2.250	2.250		
2	Limeira	2.240	2.240	0.463	
3	Americana	2.240	2.240	0.463	
4	Sta Bárbara	2.270	2.270	-0.926	
5	Piracicaba	2.300	2.300	-2.315	
6	Campinas	2.270	2.270	-0.926	

Dunnett table value = 2.50 (1 Tailed Value, P=0.05, df=12,5)

**b.2 - Fecundidade**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	134.000	134.000		
2	Limeira	69.000	69.000	3.713	*
3	Americana	119.000	119.000	0.857	
4	Sta Bárbara	140.000	140.000	-0.343	
5	Piracicaba	71.000	71.000	3.599	*
6	Campinas	241.500	241.500	-6.141	

Dunnett table value = 2.83 (1 Tailed Value, P=0.05, df=6,5)

**b.3 - Sobrevivência**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	90.000	90.000		
2	Limeira	50.000	50.000	5.292	*
3	Americana	100.000	100.000	-1.323	
4	Sta Bárbara	100.000	100.000	-1.323	
5	Piracicaba	40.000	40.000	6.614	*
6	Campinas	90.000	90.000	0.000	
7	Sumaré	0.000	0.000	11.906	*

Dunnett table value = 2.82 (1 Tailed Value, P=0.05, df=7,6)

**ANEXO D - Resultados dos testes de Dunnett para os testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia silvestrii*, obtidos com as amostras de sedimento dos dias 19/01/96 (teste 1) e 17/01/96 (teste 2), na bacia do rio Piracicaba/SP.**

**a) Teste 1**

**a.1- Comprimento do Corpo**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	0.850	0.850		
2	Limeira	0.840	0.840	0.866	
3	Americana	0.800	0.800	4.330	*
4	Sta Bárbara	0.820	0.820	2.598	*
5	Piracicaba	0.850	0.850	0.000	
6	Campinas	0.820	0.820	2.598	*

Dunnett table value = 2.50 (1 Tailed Value, P=0.05, df=12,5)

**a.2 - Fecundidade**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	114.500	114.500		
2	Limeira	97.500	97.500	0.586	
3	Americana	61.500	61.500	1.828	
4	Sta Bárbara	105.000	105.000	0.328	
5	Piracicaba	94.500	94.500	0.690	
6	Campinas	164.000	164.000	-1.707	

Dunnett table value = 2.83 (1 Tailed Value, P=0.05, df=6,5)

**a.3 - Sobrevivência**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	90.000	90.000		
2	Limeira	60.000	60.000	2.121	
3	Americana	50.000	50.000	2.828	*
4	Sta Bárbara	70.000	70.000	1.414	
5	Piracicaba	90.000	90.000	0.000	
6	Campinas	100.000	100.000	-0.707	
7	Sumaré	0.000	0.000	6.364	*

Dunnett table value = 2.82 (1 Tailed Value, P=0.05, df=7,6)



**b) Teste 2****b.1 - Comprimento do Corpo**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	0.900	0.900		
2	Limeira	0.840	0.840	4.243	*
3	Americana	0.830	0.830	4.950	*
4	Sta Bárbara	0.880	0.880	1.414	
5	Piracicaba	0.820	0.820	5.657	*
6	Campinas	0.900	0.900	0.000	

Dunnett table value = 2.50 (1 Tailed Value, P=0.05, df=12,5)

**b.2 - Fecundidade**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	167.000	167.000		
2	Limeira	187.000	187.000	-0.783	
3	Americana	156.500	156.500	0.411	
4	Sta Bárbara	231.000	231.000	-2.505	
5	Piracicaba	173.500	173.500	-0.254	
6	Campinas	270.500	270.500	-4.051	

Dunnett table value = 2.83 (1 Tailed Value, P=0.05, df=6,5)

**b.3 - Sobrevida**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	60.000	60.000		
2	Limeira	90.000	90.000	-2.806	
3	Americana	50.000	50.000	0.935	
4	Sta Bárbara	80.000	80.000	-1.871	
5	Piracicaba	80.000	80.000	-1.871	
6	Campinas	90.000	90.000	-2.806	
7	Sumaré	0.000	0.000	5.612	*

Dunnett table value = 2.82 (1 Tailed Value, P=0.05, df=7,6)

**ANEXO E - Resultados dos testes de Dunnett para os testes de toxicidade crônica com *Daphnia similis* com as amostras de água dos dias 12/04/95 (teste 1) e 17/01/96 (teste 2), na bacia do rio Piracicaba/SP.**

**a) Teste 1**

**a.1- Comprimento do Corpo**

DUNNETT'S TEST		TABLE 1 OF 2		Ho:Control<Treatment	
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	2.900	2.900		
2	Limeira	2.740	2.740	3.602	*
3	Americana	2.750	2.750	3.377	*
4	Sta Bárbara	2.460	2.460	9.905	*
5	Piracicaba	2.540	2.540	8.104	*
Dunnett table value = 2.47		(1 Tailed Value, P=0.05, df=10,4)			

**a.2 - Crescimento Populacional**

DUNNETT'S TEST		TABLE 1 OF 2		Ho:Control<Treatment	
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	197.333	197.333		
2	Limeira	240.000	240.000	-0.585	
3	Americana	271.333	271.333	-1.014	
4	Sta Bárbara	164.667	164.667	0.448	
5	Piracicaba	204.333	204.333	-0.096	
Dunnett table value = 2.23		(1 Tailed Value, P=0.05, df=40,4)			

**a.3 - Fecundidade**

DUNNETT'S TEST		TABLE 1 OF 2		Ho:Control<Treatment	
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	349.500	349.500		
2	Limeira	257.500	257.500	3.044	*
3	Americana	284.000	284.000	2.167	
4	Sta Bárbara	247.500	247.500	3.375	*
5	Piracicaba	265.500	265.500	2.779	
Dunnett table value = 2.85		(1 Tailed Value, P=0.05, df=5,4)			

**a . 4 - Sobrevivência**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	70.000	70.000		
2	Limeira	80.000	80.000	-0.913	
3	Americana	90.000	90.000	-1.826	
4	Sta Bárbara	90.000	90.000	-1.826	
5	Piracicaba	100.000	100.000	-2.739	

Dunnett table value = 2.85 (1 Tailed Value, P=0.05, df=5,4)

**a . 5 - Longevidade**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	40.000	40.000		
2	Limeira	32.000	32.000	0.761	
3	Americana	36.000	36.000	0.380	
4	Sta Bárbara	21.000	21.000	1.807	
5	Piracicaba	25.000	25.000	1.427	

Dunnett table value = 2.47 (1 Tailed Value, P=0.05, df=10,4)

**b) Teste 2****b.1 - Comprimento do Corpo**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	2.840	2.840		
2	Limeira	2.520	2.520	8.671	*
3	Americana	2.660	2.660	4.878	*
4	Sta Bárbara	2.530	2.530	8.400	*
5	Piracicaba	2.340	2.340	13.549	*
6	Campinas	2.460	2.460	10.297	*
7	Sumaré	2.330	2.330	13.820	*

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**b.2 - Crescimento Populacional**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	1169.000	1169.000		
2	Limeira	497.667	497.667	3.804	*
3	Americana	807.000	807.000	2.051	
4	Sta Bárbara	725.667	725.667	2.512	
5	Piracicaba	809.667	809.667	2.036	
6	Campinas	635.667	635.667	3.022	*
7	Sumaré	495.333	495.333	3.817	*

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**b.3 - Fecundidade**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	364.500	364.500		
2	Limeria	222.000	222.000	7.493	*
3	Americana	264.000	264.000	5.285	*
4	Sta Bárbara	189.000	189.000	9.229	*
5	Piracicaba	204.500	204.500	8.414	*
6	Campinas	202.000	202.000	8.545	*
7	Sumaré	201.500	201.500	8.571	*

Dunnett table value = 2.82 (1 Tailed Value, P=0.05, df=7,6)

**b.4 - Sobrevivência**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	90.000	90.000		
2	Limeira	80.000	80.000	0.935	
3	Americana	60.000	60.000	2.806	
4	Piracicaba	100.000	100.000	-0.935	
5	Sta Bárbara	90.000	90.000	0.000	
6	Campinas	90.000	90.000	0.000	
7	Sumaré	90.000	90.000	0.000	

Dunnett table value = 2.82 (1 Tailed Value, P=0.05, df=7,6)

## b.5 - Longevidade

DUNNETT'S TEST

- TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	19.000	19.000		
2	Limeira	24.000	24.000	-0.917	
3	Americana	11.000	11.000	1.468	
4	Sta Bárbara	22.000	22.000	-0.550	
5	Piracicaba	26.000	26.000	-1.284	
6	Campinas	22.000	22.000	-0.550	
7	Sumaré	24.000	24.000	-0.917	

Dunnett table value = 2.53

(1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**ANEXO F - Resultados dos testes de Dunnett para os testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia silvestrii* com as amostras de água dos dias 19/01/96 (teste 1) e 17/01/96 (teste 2), na bacia do rio Piracicaba/SP.**

**a) Teste 1**

**a.1- Comprimento do Corpo**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	0.930	0.930		
2	Limeira	0.870	0.870	1.470	
3	Americana	0.920	0.920	0.245	
4	Sta Bárbara	0.920	0.920	0.245	
5	Piracicaba	0.940	0.940	-0.245	
6	Campinas	0.940	0.940	-0.245	
7	Sumaré	0.900	0.900	0.735	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**a.2 - Crescimento Populacional**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	1338.667	1338.667		
2	Limeira	158.000	158.000	3.092	*
3	Ammericana	973.333	973.333	0.957	
4	Sta Bárbara	1254.000	1254.000	0.222	
5	Piracicaba	984.667	984.667	0.927	
6	Campinas	1436.333	1436.333	-0.256	
7	Sumaré	2033.000	2033.000	-1.819	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**a.3 - Fecundidade**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	453.000	453.000		
2	Limeira	73.500	73.500	13.695	*
3	Americana	454.000	454.000	-0.036	
4	Sta Bárbara	334.000	334.000	4.294	*
5	Piracicaba	344.500	344.500	3.915	*
6	Campinas	353.500	353.500	3.591	*
7	Sumaré	374.000	374.000	2.851	*

Dunnett table value = 2.82 (1 Tailed Value, P=0.05, df=7,6)

**a . 4 - Sobrevivência**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	60.000	60.000		
2	Limeira	20.000	20.000	3.742	*
3	Americana	70.000	70.000	-0.935	
4	Sta Bárbara	75.000	75.000	-1.403	
5	Piracicaba	50.000	50.000	0.935	
6	Campinas	75.000	75.000	-1.403	
7	Sumaré	90.000	90.000	-2.806	

Dunnnett table value = 2.82 (1 Tailed Value, P=0.05, df=7,6)

**a . 5 - Longevidade**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	17.000	17.000		
2	Limeira	17.000	17.000	0.000	
3	Americana	19.000	19.000	-0.315	
4	Sta Bárbara	16.000	16.000	0.158	
5	Piracicaba	20.000	20.000	-0.473	
6	Campinas	16.000	16.000	0.158	
7	Sumaré	19.000	19.000	-0.315	

Dunnnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**b) Teste 2****b.1 - Comprimento do Corpo**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	0.970	0.970		
2	Limeira	0.970	0.970	0.000	
3	Americana	0.960	0.960	0.676	
4	Sta Bárbara	1.020	1.020	-3.378	
5	Piracicaba	0.940	0.940	2.027	
6	Campinas	0.970	0.970	0.000	
7	Sumaré	0.990	0.990	-1.351	

Dunnnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**b.2 - Crescimento Populacional**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	2539.333	2539.333		
2	Limeira	2399.333	2399.333	0.475	
3	Americana	2167.000	2167.000	1.264	
4	Sta Bárbara	2849.000	2849.000	-1.052	
5	Piracicaba	2556.000	2556.000	-0.057	
6	Campinas	2846.000	2846.000	-1.041	
7	Sumaré	1995.000	1995.000	1.849	

Dunnnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**b.3 - Fecundidade**

DUNN'S MULTIPLE COMPARISON - KRUSKAL - WALLIS - TABLE 2 OF 2 (p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP								
				0	0	0	0	0	0	0		
3	Americana	530.500	530.500	\								
6	Campinas	539.000	539.000	.	\							
5	Piracicaba	546.500	546.500	.	.	\						
5	Controle	547.500	547.500	.	.	.	\					
2	Limeira	590.500	590.500	.	.	.	.	\				
4	Sta Bárbara	664.500	664.500	.	.	.	.	.	\			
7	Sumaré	702.500	702.500	.	.	.	.	.	.	\		

= significant difference (p=0.05)  
table q value (0.05,7) = 3.038

. = no significant difference  
SE = 4.086

**b.4 - Sobrevivência**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	60.000	60.000		
2	Limeira	60.000	60.000	0.000	
3	Americana	60.000	60.000	0.000	
4	Sta Bárbara	70.000	70.000	-0.935	
5	Piracicaba	30.000	30.000	2.806	
6	Campinas	50.000	50.000	0.935	
7	Sumaré	70.000	70.000	-0.935	

Dunnnett table value = 2.82 (1 Tailed Value, P=0.05, df=7,6)

## b.5 - Longevidade

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	24.000	24.000		
2	Limeira	18.000	18.000	0.837	
3	Americana	20.000	20.000	0.558	
4	Sta Bárbara	28.000	28.000	-0.558	
5	Piracicaba	18.000	18.000	0.837	
6	Campinas	19.000	19.000	0.698	
7	Sumaré	19.000	19.000	0.698	

Dunnett table value = 2.53

(1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

**ANEXO G - Resultados dos testes de Dunnett para os testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* com as amostras de água do dia 12/04/95 na bacia do rio Piracicaba/SP.**

**a.1- Comprimento do Corpo**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	1.060	1.060		
2	Limeira	1.090	1.090	-0.317	
3	Americana	1.060	1.060	-0.000	
4	Sta Bárbara	0.960	0.960	1.056	
5	Piracicaba	0.950	0.950	1.162	

Dunnett table value = 2.47 (1 Tailed Value, P=0.05, df=10,4)

**a.2 - Crescimento Populacional**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	1285.000	1285.000		
2	Limeira	973.000	973.000	1.460	
3	Americana	1100.500	1100.500	0.864	
4	Sta Bárbara	694.500	694.500	2.764	
5	Piracicaba	577.500	577.500	3.311	*

Dunnett table value = 2.85 (1 Tailed Value, P=0.05, df=5,4)

**a.3 - Fecundidade**

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	247.000	247.000		
2	Limeira	217.500	217.500	1.722	
3	Americana	171.500	171.500	4.407	*
4	Sta Bárbara	108.000	108.000	8.114	*
5	Piracicaba	139.500	139.500	6.275	*

Dunnett table value = 2.85 (1 Tailed Value, P=0.05, df=5,4)

**a. 4 - Sobrevivência**

DUNNETT'S TEST

TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	100.000	100.000		
2	Limeira	80.000	80.000	2.236	
3	Americana	60.000	60.000	4.472	*
4	Sta Bárbara	65.000	65.000	3.913	*
5	Piracicaba	75.000	75.000	2.795	

Dunnett table value = 2.85 (1 Tailed Value, P=0.05, df=5,4)

**a. 5 - Longevidade**

DUNNETT'S TEST

TABLE 1 OF 2

Ho:Control&lt;Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	24.000	24.000		
2	Limeira	14.000	14.000	1.081	
3	Americana	16.000	16.000	0.865	
4	Sta Bárbara	34.000	34.000	-1.081	
5	Piracicaba	38.000	38.000	-1.513	

Dunnett table value = 2.47 (1 Tailed Value, P=0.05, df=10,4)

## APÊNDICES

Apêndice 1 - Dados de comprimento do corpo (em mm) com amostras de sedimento coletadas nos dias de amostragem.

a) *Daphnia similis* (12/04/95)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba
1	0,73±0,08	0,73±0,08	0,73±0,08	0,73±0,08	0,73±0,08
2	1,03±0,04	1,16±0,10	1,07±0,10	1,01±0,09	0,98±0,07
3	1,36±0,01	1,38±0,11	1,38±0,13	1,30±0,12	1,24±0,08
4	1,59±0,08	1,55±0,13	1,60±0,12	1,52±0,10	1,45±0,10
5	1,80±0,04	1,76±0,11	1,88±0,09	1,72±0,10	1,74±0,11
6	1,91±0,05	1,88±0,13	1,98±0,10	1,82±0,09	1,86±0,11
7	2,01±0,06	2,00±0,14	2,07±0,10	1,93±0,09	2,00±0,10
8	2,07±0,05	2,07±0,15	2,08±0,10	1,99±0,10	2,09±0,08
9	2,14±0,08	2,08±0,12	2,23±0,11	2,03±0,06	2,14±0,07
10	2,18±0,07	2,12±0,11	2,26±0,11	2,12±0,08	2,17±0,07
11	2,23±0,07	2,17±0,09	2,29±0,10	2,15±0,07	2,22±0,07
12	2,32±0,05	2,23±0,07	2,35±0,08	2,18±0,06	2,26±0,07
13	2,38±0,04	2,28±0,07	2,39±0,08	2,22±0,06	2,30±0,06
14	2,45±0,03	2,34±0,07	2,44±0,07	2,22±0,06	2,30±0,06

b) *Daphnia similis* (17/10/96)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba	Campinas	Sumaré
1	0,64 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,64 ± 0,03
2	0,85	0,81	0,84	0,84	0,87	0,81	0,68
3	0,96	0,89	0,94	0,94	0,98	0,89	0,70
4	1,07	0,98 ± 0,02	1,04 ± 0,08	1,04 ± 0,02	1,10	0,98 ± 0,12	0,73
5	1,31	1,20	1,20	1,25	1,26	1,05	0,84
6	1,55 ± 0,04	1,43 ± 0,05	1,37	1,46 ± 0,01	1,42	1,12 ± 0,04	0,95
7	1,61	1,55	1,47	1,56	1,54	1,37	1,16
8	1,68 ± 0,02	1,68	1,58	1,66	1,66	1,63	1,37
9	1,76	1,74	1,71	1,76	1,75	1,76	1,60
10	1,84	1,80 ± 0,01	1,84	1,87 ± 0,01	1,84	1,89 ± 0,03	1,84
11	2,04 ± 0,02	2,03 ± 0,02	2,01 ± 0,01	2,08 ± 0,04	2,05	2,03 ± 0,02	1,97
12	2,08	2,07	2,08	2,11	2,09	2,08	2,18
13	2,12 ± 0,05	2,11 ± 0,04	2,15 ± 0,02	2,15 ± 0,03	2,14 ± 0,05	2,14 ± 0,04	
14	2,18	2,17	2,18	2,21	2,22	2,20	
15	2,25 ± 0,02	2,24	2,22 ± 0,02	2,27 ± 0,05	2,30 ± 0,01	2,27 ± 0,02	

c) *Ceriodaphnia silvestrii* (19/01/96).

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba	Campinas	Sumaré
1	0,34±0,01	0,34±0,01	0,34±0,01	0,34±0,01	0,34±0,01	0,34±0,01	0,34±0,01
2	0,45±0,01	0,36±0,01	0,38±0,05	0,35±0,02	0,38±0,01	0,47±0,04	0,46±0,02
3	0,54±0,01	0,47±0,07	0,44±0,05	0,45±0,05	0,44±0,05	0,60±0,03	0,50±0,01
4	0,61±0,03	0,56±0,03	0,57±0,02	0,53±0,01	0,56±0,02	0,70±0,01	0,63±0,01
5	0,71±0,03	0,66±0,01	0,72±0,02	0,74±0,03	0,69±0,02	0,72±0,01	0,74±0,02
6	0,73±0,02	0,72±0,03	0,75±0,02	0,77±0,02	0,76±0,02	0,74±0,02	
7	0,75±0,02	0,75±0,03	0,78±0,04	0,78±0,03	0,77±0,04	0,78±0,01	
8	0,78±0,01	0,77±0,01	0,78±0,01	0,78±0,03	0,78±0,03	0,81±0,01	
9	0,80±0,03	0,80±0,03	0,79±0,02	0,78±0,01	0,79±0,03	0,81±0,01	
10	0,81±0,01	0,81±0,01	0,79±0,03	0,79±0,03	0,81±0,04	0,82±0,01	
11	0,82±0,01	0,82±0,01	0,80±0,01	0,81±0,02	0,82±0,03	0,82±0,01	
12	0,85±0,01	0,84±0,02	0,80±0,01	0,82±0,02	0,85±0,01	0,82±0,01	
13	0,85±0,01	0,84±0,02	0,80±0,01	0,82±0,02	0,85±0,01	0,82±0,01	

d) *Ceriodaphnia silvestrii* (17/10/96)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba	Campinas	Sumaré
1	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01
2	0,44 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,43 ± 0,02	0,43 ± 0,03	0,43 ± 0,01	0,39 ± 0,01
3	0,55 ± 0,02	0,55 ± 0,02	0,55 ± 0,01	0,54 ± 0,04	0,54 ± 0,05	0,54 ± 0,02	0,45 ± 0,02
4	0,62 ± 0,02	0,61 ± 0,02	0,62 ± 0,01	0,64 ± 0,03	0,61 ± 0,03	0,62 ± 0,02	0,51 ± 0,01
5	0,69 ± 0,02	0,68 ± 0,03	0,69 ± 0,02	0,74 ± 0,02	0,69 ± 0,02	0,71 ± 0,03	0,57 ± 0,01
6	0,75 ± 0,02	0,75 ± 0,02	0,74 ± 0,02	0,77 ± 0,01	0,73 ± 0,01	0,75 ± 0,02	0,61 ± 0,03
7	0,77 ± 0,01	0,76 ± 0,02	0,77 ± 0,01	0,81 ± 0,01	0,75 ± 0,02	0,79 ± 0,01	0,65 ± 0,02
8	0,81 ± 0,01	0,77 ± 0,01	0,80 ± 0,01	0,82 ± 0,02	0,77 ± 0,01	0,82 ± 0,02	0,67 ± 0,02
9	0,83 ± 0,03	0,80 ± 0,01	0,82 ± 0,01	0,83 ± 0,02	0,80 ± 0,01	0,84 ± 0,01	0,69 ± 0,02
10	0,84 ± 0,01	0,82 ± 0,01	0,83 ± 0,02	0,87 ± 0,02	0,81 ± 0,01	0,85 ± 0,02	0,70 ± 0,01
11	0,84 ± 0,01	0,83 ± 0,02	0,83 ± 0,02	0,88 ± 0,01	0,81 ± 0,02	0,89 ± 0,02	0,71 ± 0,01
12	0,85 ± 0,01	0,84 ± 0,02	0,83 ± 0,02	0,88 ± 0,01	0,82 ± 0,02	0,90 ± 0,02	
13	0,85 ± 0,01	0,84 ± 0,02	0,83 ± 0,02	0,88 ± 0,01	0,82 ± 0,02	0,90 ± 0,02	
14	0,90 ± 0,01	0,84 ± 0,02	0,83 ± 0,02	0,88 ± 0,01	0,82 ± 0,02	0,90 ± 0,02	
15	0,90 ± 0,01	0,84 ± 0,02	0,83 ± 0,02	0,88 ± 0,01	0,82 ± 0,02	0,90 ± 0,02	

Apêndice 2 - Dados de comprimento do corpo (mm) com amostras de água para as diferentes datas de amostragem.

a) *Daphnia similis* (12/04/95)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba
1	0,73±0,09	0,73±0,09	0,73±0,09	0,74±0,07	0,74±0,07
2	0,85±0,01	1,02±0,16	0,84±0,08	1,02±0,04	1,01±0,05
3	1,09±0,13	1,22±0,16	1,06±0,19	1,25±0,06	1,29±0,08
4	1,47±0,04	1,62±0,25	1,61±0,20	1,56±0,09	1,56±0,08
5	1,71±0,10	1,80±0,24	1,93±0,22	1,80±0,18	1,78±0,13
6	1,90±0,10	1,99±0,20	2,08±0,22	1,90±0,11	1,86±0,14
7	2,20±0,06	2,19±0,15	2,26±0,16	1,99±0,15	1,99±0,13
8	2,33±0,07	2,30±0,16	2,32±0,17	2,08±0,17	2,13±0,13
9	2,44±0,07	2,42±0,17	2,38±0,17	2,20±0,08	2,22±0,07
10	2,55±0,08	2,53±0,14	2,48±0,10	2,25±0,09	2,29±0,05
11	2,66±0,04	2,57±0,13	2,54±0,08	2,30±0,04	2,37±0,04
12	2,77±0,02	2,60±0,12	2,61±0,06	2,39±0,09	2,44±0,06
13	2,83±0,03	2,65±0,10	2,69±0,05	2,43±0,09	2,49±0,06
14	2,87±0,02	2,68±0,09	2,72±0,05	2,44±0,08	2,51±0,04
15	2,90±0,03	2,74±0,07	2,75±0,05	2,46±0,07	2,54±0,04

b) *Daphnia similis* (17/10/96)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba	Campinas	Sumaré
1	0,59 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,59 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,64 ± 0,03
2	0,73 ± 0,06	0,75 ± 0,05	0,71 ± 0,03	0,76 ± 0,03	0,77 ± 0,03	0,76 ± 0,06	0,75 ± 0,05
3	0,92 ± 0,07	0,94 ± 0,05	0,88 ± 0,03	0,90 ± 0,03	0,91 ± 0,03	0,86 ± 0,06	0,94 ± 0,05
4	1,31 ± 0,06	1,28 ± 0,07	1,26 ± 0,07	1,11 ± 0,04	1,09 ± 0,04	1,06 ± 0,04	1,09 ± 0,04
5	1,59 ± 0,06	1,49 ± 0,08	1,44 ± 0,08	1,32 ± 0,06	1,28 ± 0,06	1,26 ± 0,02	1,25 ± 0,03
6	1,88 ± 0,07	1,71 ± 0,09	1,63 ± 0,18	1,57 ± 0,06	1,56 ± 0,07	1,45 ± 0,02	1,49 ± 0,05
7	2,05 ± 0,04	1,85 ± 0,07	1,78 ± 0,03	1,82 ± 0,06	1,85 ± 0,09	1,65 ± 0,19	1,74 ± 0,08
8	2,18 ± 0,04	1,99 ± 0,06	1,94 ± 0,07	2,01 ± 0,03	1,97 ± 0,04	1,83 ± 0,08	1,89 ± 0,07
9	2,26 ± 0,07	2,13 ± 0,04	2,12 ± 0,03	2,13 ± 0,05	2,04 ± 0,05	1,95 ± 0,02	1,95 ± 0,04
10	2,32 ± 0,04	2,21 ± 0,06	2,31 ± 0,03	2,25 ± 0,04	2,12 ± 0,06	2,09 ± 0,06	2,03 ± 0,05
11	2,45 ± 0,07	2,30 ± 0,09	2,45 ± 0,01	2,31 ± 0,05	2,26 ± 0,03	2,11 ± 0,08	2,23 ± 0,04
12	2,59 ± 0,05	2,35 ± 0,05	2,56 ± 0,02	2,42 ± 0,05	2,28 ± 0,07	2,29 ± 0,04	2,26 ± 0,04
13	2,70 ± 0,05	2,43 ± 0,02	2,60 ± 0,01	2,47 ± 0,04	2,31 ± 0,06	2,33 ± 0,07	2,29 ± 0,05
14	2,82 ± 0,06	2,52 ± 0,06	2,62 ± 0,05	2,53 ± 0,04	2,34 ± 0,06	2,46 ± 0,03	2,33 ± 0,06
15	2,84 ± 0,03	2,52 ± 0,06	2,66 ± 0,01	2,53 ± 0,04	2,34 ± 0,06	2,46 ± 0,03	2,33 ± 0,06

c) *Ceriodaphnia silvestrii* (19/01/96)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba	Campinas	Sumaré
1	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
2	0,44	0,42	0,43	0,43	0,43	0,41	0,48
3	0,54	0,51	0,52	0,48	0,51	0,47	0,58
4	0,67	0,63	0,65	0,54	0,67	0,53	0,68
5	0,71	0,65	0,67	0,61	0,70	0,62	0,73
6	0,76	0,66	0,70	0,69	0,73	0,72	0,78
7	0,78	0,68	0,72	0,73	0,75	0,76	0,81
8	0,81	0,71	0,74	0,78	0,78	0,80	0,85
9	0,84	0,74	0,78	0,81	0,84	0,83	0,87
10	0,86	0,76	0,81	0,85	0,85	0,86	0,89
11	0,88	0,79	0,85	0,87	0,87	0,88	0,90
12	0,89	0,81	0,87	0,90	0,89	0,91	0,90
13	0,90	0,82	0,89	0,91	0,92	0,92	0,90
14	0,91	0,84	0,90	0,92	0,93	0,94	0,90
15	0,93	0,87	0,92	0,92	0,94	0,94	0,90

Os valores de desvio padrão permaneceram entre 0,01 e 0,05

d) *Ceriodaphnia silvestrii* (17/10/96)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba	Campinas	Sumaré
1	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01
2	0,44 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,43 ± 0,01
3	0,55 ± 0,01	0,56 ± 0,02	0,55 ± 0,02	0,56 ± 0,03	0,57 ± 0,02	0,58 ± 0,02	0,53 ± 0,01
4	0,68 ± 0,01	0,68 ± 0,01	0,67 ± 0,02	0,68 ± 0,02	0,68 ± 0,01	0,72 ± 0,05	0,69 ± 0,01
5	0,77 ± 0,01	0,72 ± 0,02	0,76 ± 0,01	0,72 ± 0,02	0,77 ± 0,01	0,81 ± 0,01	0,77 ± 0,01
6	0,82 ± 0,02	0,79 ± 0,02	0,82 ± 0,02	0,80 ± 0,01	0,80 ± 0,01	0,86 ± 0,01	0,81 ± 0,01
7	0,86 ± 0,01	0,82 ± 0,02	0,85 ± 0,01	0,84 ± 0,01	0,86 ± 0,02	0,88 ± 0,02	0,86 ± 0,02
8	0,88 ± 0,01	0,84 ± 0,02	0,87 ± 0,01	0,87 ± 0,02	0,89 ± 0,01	0,89 ± 0,01	0,88 ± 0,01
9	0,90 ± 0,01	0,87 ± 0,02	0,89 ± 0,01	0,91 ± 0,01	0,90 ± 0,01	0,93 ± 0,01	0,91 ± 0,01
10	0,92 ± 0,01	0,89 ± 0,01	0,92 ± 0,01	0,92 ± 0,01	0,92 ± 0,01	0,94 ± 0,01	0,92 ± 0,02
11	0,93 ± 0,01	0,92 ± 0,01	0,93 ± 0,01	0,95 ± 0,01	0,93 ± 0,01	0,97 ± 0,01	0,95 ± 0,01
12	0,95 ± 0,02	0,95 ± 0,02	0,96 ± 0,01	0,96 ± 0,01	0,93 ± 0,01	0,97 ± 0,01	0,96 ± 0,01
13	0,97 ± 0,01	0,97 ± 0,01	0,96 ± 0,01	0,97 ± 0,01	0,94 ± 0,01	0,97 ± 0,01	0,96 ± 0,01
14	0,97 ± 0,01	0,97 ± 0,01	0,96 ± 0,01	1,02 ± 0,03	0,94 ± 0,01	0,97 ± 0,01	0,99 ± 0,03

2d) *Ceriodaphnia dubia* (12/04/95)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba
1	0,49±0,01	0,49±0,02	0,45±0,05	0,55±0,07	0,55±0,07
2	0,56±0,01	0,61±0,04	0,57±0,07	0,72±0,10	0,71±0,10
3	0,64±0,01	0,68±0,06	0,68±0,06	0,77±0,11	0,78±0,11
4	0,73±0,01	0,78±0,06	0,81±0,05	0,78±0,11	0,80±0,12
5	0,80±0,01	0,88±0,04	0,84±0,05	0,80±0,12	0,81±0,12
6	0,87±0,01	0,90±0,03	0,87±0,03	0,81±0,12	0,82±0,12
7	0,91±0,01	0,94±0,01	0,94±0,04	0,84±0,12	0,85±0,13
8	0,96±0,01	0,98±0,01	0,98±0,01	0,85±0,13	0,86±0,13
9	0,99±0,01	1,01±0,01	0,99±0,02	0,88±0,15	0,86±0,13
10	1,05±0,01	1,04±0,01	1,0±0,03	0,92±0,13	0,88±0,14
11	1,03±0,01	1,04±0,01	1,04±0,01	0,92±0,14	0,90±0,16
12	1,05±0,01	1,07±0,01	1,06±0,03	0,93±0,15	0,93±0,17
13	1,06±0,02	1,07±0,01	1,06±0,03	0,96±0,17	0,95±0,19
14	1,06±0,02	1,09±0,03	1,06±0,03	0,96±0,17	0,95±0,19
15	1,06±0,02	1,09±0,03	1,06±0,03	0,96±0,17	0,95±0,19

Apêndice 3- Dados de crescimento populacional para as amostras de água coletadas nas datas de amostragem.

a) *Daphnia similis* (12/04/95)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba
1	10	10	10	10	10
2	10	10	10	10	10
3	10	10	10	10	10
4	10	10	10	10	10
5	10	10	10	10	10
6	10	10	10	10	10
7	41	124	80	10	28
8	101	161	136	65	74
9	137	207	177	130	138
10	192	238	285	157	157
11	239	298	348	214	211
12	290	324	407	222	212
13	344	369	472	307	446
14	422	429	527	367	563

b) *Daphnia similis* (17/10/96)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba	Campinas	Sumaré
1	10	10	10	10	10	10	10
2	10	10	10	10	10	10	10
3	10	10	10	10	10	10	10
4	10	10	10	10	10	10	10
5	10	10	10	10	10	10	10
6	71	119	44	100	137	101	122
7	153	170	85	149	196	154	178
8	258	221	127	198	255	208	234
9	480	260	253	231	292	253	267
10	702	300	297	265	329	298	300
11	830	353	342	290	390	345	344
12	958	428	507	492	601	514	403
13	1169	504	673	694	813	683	462
14	1380	561	1241	991	1015	710	621

c) *Ceriodaphnia silvestrii* (19/01/96)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba	Campinas	Sumaré
1	20	20	20	20	20	20	20
2	20	20	20	20	20	20	20
3	20	20	20	20	20	20	20
4	20	20	20	20	20	20	20
5	88	54	90	27	71	35	104
6	148	63	116	87	104	91	210
7	236	72	206	147	137	148	314
8	368	77	379	202	241	235	446
9	444	85	458	349	297	383	579
10	520	94	538	511	354	606	1008
11	867	125	649	674	588	989	1587
12	1214	157	760	1207	823	1436	2033
13	1935	192	1511	1881	1543	1884	2479

d) *Ceriodaphnia silvestrii* (17/10/96)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba	Campinas	Sumaré
1	20	20	20	20	20	20	20
2	20	20	20	20	20	20	20
3	20	20	20	20	20	20	20
4	20	20	20	20	20	20	20
5	105	117	107	126	129	100	122
6	156	184	183	287	188	210	334
7	319	301	274	373	348	310	390
8	484	441	441	566	542	490	666
9	674	670	661	802	766	665	908
10	1092	1080	1331	1531	1609	1534	1184
11	1711	1695	1665	1895	2030	1969	1322
12	2348	2311	2001	2260	2452	2404	1461
13	2539	2399	2166	2849	2556	2846	1995
14	2731	2488	2334	3438	2660	3288	2529

e) *Ceriodaphnia dubia* (12/04/95)

Dia	Controle	Limeira	Americana	Sta Bárbara	Piracicaba
1	20	20	20	20	20
2	20	20	20	20	20
3	20	20	20	20	20
4	20	20	20	20	20
5	20	20	20	54	64
6	51	61	49	127	131
7	86	112	77	162	168
8	167	176	122	223	200
9	210	195	155	241	252
10	315	315	219	296	322
11	681	569	572	494	494
12	1043	819	945	623	527
13	1527	1127	1256	766	628