

**TOXICIDADE DE ALGUNS METAIS PESADOS (Cd, Cr
e Pb) EM ORGANISMOS PLANCTÔNICOS
LACUSTRES DE REGIÃO SUBTROPICAL**

Abílio Lopes de Oliveira Neto



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 Ciências
da Engenharia Ambiental

ORIENTADORA: Prof^ª. Dra. Takako Matsumura Tundisi

São Carlos
2000



Class.	TESE-EESC
Curr.	4052
Tombo	065100

31L 00008587

S/S 10 74 856

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

048t Oliveira Neto, Abílio Lopes de
Toxicidade de alguns metais pesados (Cd, Cr e Pb)
em organismos planctônicos lacustres de região
subtropical / Abílio Lopes de Oliveira Neto. -- São
Carlos, 2000.

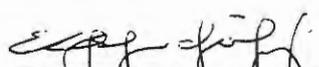
Tese (Doutorado) -- Escola de Engenharia de São
Carlos-Universidade de São Paulo, 2000.
Área: Ciências da Engenharia Ambiental.
Orientador: Prof^a. Dr^a. Takako Matsumura Tundisi.

1. Toxicidade. 2. Cádmio. 3. Chumbo. 4. Cromo.
5. Fitoplâncton. 6. Cladocera I. Título.

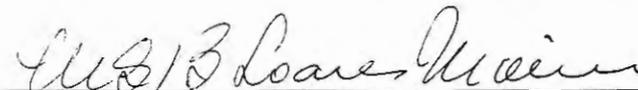
FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidato: Bacharel **ABÍLIO LOPES DE OLIVEIRA NETO**

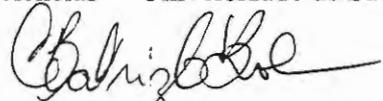
Tese defendida e aprovada em 03-02-2000
pela Comissão Julgadora:



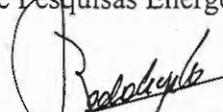
Prof. Doutor **EVALDO LUIZ GAETA ESPÍNDOLA (Substituto)**
(Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo)



Prof. Titular **MARIA DA GLÓRIA BLUMER SOARES MOREIRA**
(Instituto de Biociências - Universidade de São Paulo)



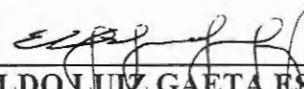
Prof. Doutora **MARIA BEATRIZ CAMINO BOHRER**
(Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN)



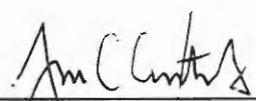
Doutor **PEDRO ANTONIO ZAGATTO**
(CETESB)



Prof. Doutor **PEDRO AMÉRICO CABRAL SENNA**
(Universidade Federal de São Carlos - UFSCar)



Prof. Doutor **EVALDO LUIZ GAETA ESPÍNDOLA**
Coordenador da Área de Ciências da Engenharia Ambiental



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

Dedicado a

Abílio Edegar Lopes e Décia Serafim Lopes ("in memoriam")

Eneida

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão de bolsa

A Prof^a. Dra. Takako Matsumura Tundisi, mentora acadêmica desde o início de meus estudos, tenaz incentivadora e orientadora desta tese.

Ao Prof. José Galizia Tundisi, pelas inúmeras oportunidades e cujo dinamismo e antevisão possibilitaram o desenvolvimento do Laboratório de Ecotoxicologia Aquática no CRHEA/USP

Ao Dr. Marcelo Pereira de Sousa, diretor do CRHEA, pelo incentivo, pronta presteza em quaisquer dificuldades apresentadas e pelo apoio logístico concedido.

A Dra. Maria do Carmo Calijuri, ex-diretora do CRHEA e presidente da CPG, pelo crédito, incentivo e por todo o apoio material e logístico prontamente fornecido para a execução deste trabalho.

Ao Prof. Evaldo Gaeta Espíndola, cujo espírito empreendedor garantiu o estabelecimento, a melhoria e as condições de trabalho no Laboratório de Ecotoxicologia Aquática

A Clarice Maria Rispoli Botta Paschoal, cuja ajuda foi imprescindível na realização do trabalho em todas as suas etapas. Sua enorme experiência e disciplina garantiu a qualidade e confiabilidade dos resultados.

A Prof^a. Dra. Odete Rocha, pela sua constante ajuda e incentivo e pelo incansável trabalho na formação de pesquisadores na área de Ecotoxicologia.

Um laboratório de Ecotoxicologia em particular não é mantido por uma só pessoa e sim por inúmeras que devotam seus finais-de-semana, feriados e horários de descanso para alimentar, repicar culturas, contar células, pesar reagentes, diluir soluções e monitorar as culturas dentro de uma rotina algumas vezes estressante. A todos os colaboradores do Laboratório de Ecotoxicologia do CRHEA o meu muito obrigado.

Ao Engenheiro Angelo Saggio pela providencial ajuda com a aplicação da estatística e ao Biólogo André Cordeiro Alves dos Santos pela imprescindível ajuda com as comunidades fitoplanctônicas e ao Ecólogo Alfredo Lopes Lage Filho.

Ao Dr. Waldemar Tornisiello do Laboratório de Ecotoxicologia do CENA-USP de Piracicaba, que gentilmente realizou a leitura da atividade radioativa em filtros.

A todos os funcionários do Broa, que de uma maneira ou outra auxiliaram em muito a execução deste trabalho.

A todos que de um forma ou de outra deram sua contribuição a este trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	ii
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
1. Introdução.....	1
2. Objetivo.....	12
3. Materiais e Métodos.....	13
4. Resultados & Discussão.....	28
4.1 Toxicidade de Metais na Produção Primária de Comunidades Fitoplanctônicas Naturais.....	28
4.2 Toxicidade de Metais para o Organismo Zooplanctônico <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> (Cladocera).....	47
5. Conclusões.....	75
6. Perspectivas.....	76
7. Referências Bibliográficas.....	77

LISTA DE FIGURAS

	Pg
Figura 1. Abundância relativa da comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 21/01/99.....	39
Figura 2. Valores de Produtividade Primária à diferentes concentrações de Cádmio e Cromo.....	39
Figura 3. Abundância relativa da comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 11/06/99.....	42
Figura 4. Valores de Produtividade Primária à diferentes concentrações de Chumbo.....	42
Figura 5. Abundância relativa da comunidade fitoplanctônica da Lagoa Pedreira (São Carlos/SP) em 18/06/99.....	45
Figura 6. Valores de Produtividade Primária à diferentes concentrações de Cádmio, Cromo e Chumbo.....	45
Figura 7. Sensibilidade do cladócero <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> ao metal Cádmio (Cloreto de Cádmio) em testes de toxicidade de 48 horas.	64
Figura 8. Sensibilidade do cladócero <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> ao metal Cromo (Dicromato de Potássio) em testes de toxicidade de 48 horas.	64
Figura 9. Sensibilidade do cladócero <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> ao metal Chumbo (Nitrato de Chumbo) em testes de toxicidade de 48 horas.....	65
Figura 10. Sensibilidade do cladócero <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> ao metal Chumbo (Acetato de Chumbo) em testes de toxicidade de 48 horas.....	65
Figura 11. Curva de crescimento populacional para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> , em condições em laboratório.....	74

LISTA DE TABELAS

Pg

Tabela 1 - Metais presentes em efluentes industriais em Nova York (segundo Klein <i>et al.</i> , 1974 <i>apud</i> Jackson, 1991)). Valores expressam concentrações médias em $\mu\text{g/L}$	2
Tabela 2. Toxicidade de Cádmio para fitoplâncton lacustre, modificado de Wong, 1987.	30
Tabela 3. Concentrações de nutrientes inorgânicos do Reservatório do Lobo (Itirapina – SP) em 21/01/99.....	37
Tabela 4. Concentrações de carbono orgânico e inorgânico total e clorofila do Reservatório do Lobo (Itirapina – SP) em 21/01/99.....	37
Tabela 5. Abundância relativa e absoluta da comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 21/01/99.....	38
Tabela 6. Abundância relativa e absoluta da comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 21/01/99.....	39
Tabela 7. Valores de Produção Primária das comunidades fitoplanctônicas sob diferentes concentrações de Cádmio e Chumbo. (21/01/99).....	40
Tabela 8. Concentrações de nutrientes inorgânicos do Reservatório do Lobo (Itirapina – SP) em 11/06/99.....	40
Tabela 9. Concentrações de carbono orgânico e inorgânico total e clorofila do Reservatório do Lobo (Itirapina – SP) em 11/06/99.....	40
Tabela 10. Abundância relativa e absoluta da comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 11/06/99.....	41
Tabela 11. Abundância relativa e absoluta da comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 11/06/99.....	42
Tabela 12. Valores de Produção Primária das comunidades fitoplanctônicas sob diferentes concentrações de Chumbo (11/06/99).....	43
Tabela 13. Concentrações de nutrientes inorgânicos da Lagoa Pedreira (São Carlos – SP) em 18/06/99.....	43
Tabela 14. Concentrações de carbono orgânico e inorgânico total e clorofila da	

Lagoa Pedreira (São Carlos – SP) em 18/06/99.....	43
Tabela 15. Abundância relativa e absoluta da comunidade fitoplanctônica da Lagoa Pedreira (São Carlos/SP) em 18/06/99.....	44
Tabela 16. Abundância relativa e absoluta da comunidade fitoplanctônica da Lagoa Pedreira (São Carlos/SP) em 18/06/99.....	45
Tabela 17. Valores de Produção Primária das comunidades fitoplanctônicas sob diferentes concentrações de Cádmio, Cromo e Chumbo (18/06/99).....	46
Tabela 18. Valores de CE _{50;24} e 48h, em mg.L ⁻¹ de Cádmio (Cloreto de Cádmio) para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	60
Tabela 19. Valores de CE _{50;24} e 48h, em mg.L ⁻¹ de Cromo (Dicromato de Potássio) para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	61
Tabela 20. Valores de CE _{50;24} e 48h, em mg.L ⁻¹ Chumbo (Nitrato de Chumbo) para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	62
Tabela 21. Valores de CE _{50;24} e 48h, em mg.L ⁻¹ Chumbo (Acetato de Chumbo) para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	63
Tabela 22. Avaliação da toxicidade crônica (reprodução) com <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> para Cádmio (Cloreto de Cádmio).....	66
Tabela 23. Avaliação da toxicidade crônica (reprodução) com <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> para Cromo (Dicromato de Potássio).....	67
Tabela 24. Avaliação da toxicidade crônica (reprodução) com <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> para Chumbo (Nitrato de Chumbo).....	68
Tabela 25. Valores de CEO, CENO e VC (valor crônico), em mg.L ⁻¹ de Cádmio, Cromo e Chumbo obtidos nos testes de toxicidade crônica com <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	69
Tabela 26. Valores de CE(I)50;48h obtidos nos testes de toxicidade aguda com Cloreto de Sódio (NaCl), para <i>Ceriodaphnia dubia</i>	69
Tabela 27. Valores de CE(I)50;48h obtidos nos testes de toxicidade aguda com Cloreto de Sódio (NaCl), para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	69

Tabela 28. Valores médios de Cálcio e Magnésio em rios em diferentes continentes.....	74
Tabela 29. Toxicidade aguda e crônica de cádmio em microcrustáceos aquáticos.....	70
Tabela 30. Toxicidade aguda e crônica de chumbo em algas emicrocrustáceos Aquáticos	71

RESUMO

OLIVEIRA-NETO, A.L., (1999). *Toxicidade de alguns metais pesados (Cd, Cr e Pb) em organismos planctônicos lacustres de região subtropical*. São Carlos, 1999. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

Os metais pesados cádmio, cromo e chumbo foram testados em comunidades fitoplanctônicas naturais e em populações do microcrustáceo *Ceriodaphnia silvestrii* (Cladocera), organismo presente em grande número de nossos ecossistemas aquáticos interiores e usado com sucesso na avaliação de alguns tipos de efluentes.

Comunidades fitoplanctônicas dos reservatórios do Lobo (Broa), considerado oligotrófico e da Represa da Pedreira, considerado eutrófico, ambos localizados na região de São Carlos, foram coletadas e submetidas à experimento para determinar-se as taxas de produção primária sob a influência de diferentes concentrações destes metais através da técnica do Carbono 14. Os resultados demonstram que os metais afetam negativamente a produção primária das comunidades fitoplanctônicas dependendo de sua especiação, que por sua vez é determinada pelas condições do meio.

Para o cladóceros *Ceriodaphnia silvestrii* foram determinadas a CE(I)50 – 48 hs (toxicidade aguda) e a CENO e CEO (toxicidade crônica) para os três metais. Os valores obtidos demonstram a adequabilidade desta espécie como organismo-teste em testes com substâncias químicas, com valores de sensibilidade próximos aos descritos para organismos similares padronizados em outras regiões, boa repetibilidade de resultados em testes além de facilidade de cultivo.

Palavras-chave: toxicidade; cádmio, cromo, chumbo; fitoplâncton; cladóceros.

ABSTRACT

OLIVEIRA-NETO, A.L., (1999). *Toxicity of some heavy metals (Cd, Cr and Pb) on planktonic fresh water organisms from subtropical region*. São Carlos, 1999. Phd thesis. School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo.

The toxicity of the heavy metals cadmium, chromium and lead, were tested on natural phytoplankton communities and on the population of the microcrustaceon *Ceriodaphnia silvestrii* (Cladocera), a organism abundant in a variety of fresh water ecosystem and that has been success fully used in the evaluation of some effluents.

Phytoplankton communities form Lobo (Broa) Reservoir, considered oligotrophic, and Pedreira Reservoir, considered eutrophic, both located inside São Carlos region, were sampled and submitted to experiments in order to determine changes in the primary production rates under the influence of different metal concentrations, utilizing the C14 technique.

The results indicated that metals negatively influence the primary production of phytoplankton communities depending on its speciation, which in turn is determined by environmental conditions.

The toxicity of the three metals to the cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii* was also tested, determining the CE(I)50-48h (acute toxicity) and the NOEC and NOE (chronic toxicity). The values obtained indicate that this test-organism is adequate for the testing, with sensibility values near to those described for similar standard species in other regions, also with good repeatability.

Key-words: heavy metal toxicity, cadmium, chrome, lead, phytoplankton, cladoceran

1- INTRODUÇÃO

O crescimento das atividades econômicas, notadamente a industrial e agrícola, traz consigo o aumento do uso e descarte para o ambiente de substâncias químicas tóxicas. Até 1990, mais de nove milhões de substâncias químicas foram listadas no "Chemical Abstract Service's Registry of Chemicals", sendo estimado que 76.000 delas possuam uso diário (MATSUI,1991). Entre estas substâncias, encontram-se aquelas que em sua composição contém elementos do grupo dos "metais pesados", também denominado na literatura como "elementos-traço", "metais-traço" e "micronutrientes" (FORSTNER & WITTMANN, 1983).

No presente estudo, em concordância com os argumentos propostos por NIEBOR & RICHARDSON (1980), optou-se pelo uso da palavra "metal pesado" para designar os elementos cádmio (Cd), cromo (Cr) e chumbo (Pb), pois segundo estes autores, o termo é didático e serve como alerta ao perigo que estes elementos representam para o meio. Os metais pesados diferem quimicamente de outros metais por terem afinidade maior com pontes de enxofre e nitrogênio, formadoras da proteína, constituindo-se desta forma em grande perigo para as comunidades biológicas. Ao contrário dos chamados metais pesados, os demais têm maior afinidade com o oxigênio, sendo deste modo, quimicamente correto a divisão dos metais segundo suas afinidades (NIEBOR & RICHARDSON, 1980).

Grande parte dos agentes tóxicos contendo metais pesados tem os ecossistemas aquáticos como destino (NRIAGU, 1988; 1990), sendo transportada através de processos naturais de erosão de rochas e lixiviação (DREVER, 1982; SALOMONS & FÖRSTNER, 1984) ou levada diretamente por despejo de efluentes industriais, agrícolas e domésticos (WHITTON & SAY, 1975; FARQUHAR & McBEAN,1988;

FERNANDES *et al.*, 1994; MASTALA & BALOGH, 1994; BERVOETS *et al.*, 1996). Elevados níveis de chumbo, cádmio, mercúrio e zinco em águas continentais são resultantes de atividades antrópicas (MEYBECK *et al.*, 1989). Uma larga variedade de atividades industriais descartam metais pesados como subproduto de seus processos. Fundições, indústrias automobilísticas, de fertilizantes químicos e produtoras de papel utilizam e liberam para o ambiente os metais pesados anteriormente citados (JACKSON, 1991), juntamente com indústrias têxteis e processadora de alimentos, como pode ser observado através da tabela 1 (KLEIN *et al. apud* JACKSON, 1991).

Tabela 1 - Metais presentes em efluentes industriais em Nova York (segundo Klein *et al.*, 1974 *apud* Jackson, 1991)). Valores expressam concentrações médias em µg/L.

INDÚSTRIAS	Cu	Cr	Ni	Zn	Cd
Processamento de carne	150	150	70	460	11
Processamento de gordura	220	210	280	3.890	6
Processamento de peixe	240	230	140	1.590	14
Panificadora	150	330	430	280	2
Alimentícias (diversas)	350	150	110	1.110	6
Fábricas de cerveja	410	60	40	470	5
Refrigerantes e flavorizantes	2.040	180	220	2.990	3
Sorvetes	2.700	50	110	780	31
Tingimento têxtil	37	820	250	500	30
Tingimento e trata/o do couro	7.040	20.140	740	1.730	115
Diversas substâncias químicas	160	280	100	800	27
Lavanderias	1.700	1.220	100	1.750	134
Lavagem de carros	180	140	190	920	18

Uma vez nos corpos de água, estas substâncias podem causar sérios danos, seja diretamente aos organismos que habitam estes locais ou indiretamente através da ingestão de alimentos. Pelo fato de alguns destes elementos permanecerem por longo período nos organismos, ocorre um aumento da concentração destas substâncias ao longo da cadeia trófica através da "bioacumulação" - definida pela USEPA (1991)

como o processo pelo qual a substância é assimilada por um organismo aquático através da água ou da cadeia trófica (processo passivo) e da "bioconcentração", definida por este mesmo documento como o processo pelo qual estas substâncias tóxicas são absorvidas e concentradas por organismos através de brânquias ou tecidos epiteliais (processo ativo). Como consequência deste aumento ao longo da cadeia trófica, os organismos que se encontram no topo desta cadeia, tais como aves aquáticas e o homem (consumidores finais) são os mais ameaçados pelo perigo representado por altas concentrações destas substâncias contendo metais pesados.

A contaminação de metais pesados, provenientes de atividades antrópicas, em corpos de água tendem a ser maiores em países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil, devido à não observância da legislação e à precária fiscalização, além da ausência de uma indústria estabelecida e desenvolvida de produtos que visem evitar, remediar ou mitigar a poluição causada pelas diversas atividades econômicas. Alguns estudos de metais pesados realizados no país revelam a ocorrência de elevadas concentrações tanto em reservatórios e rios (AULA *et al.*, 1994; LACERDA & SALOMONS, 1992; MALM *et al.*, 1990) como em regiões costeiras e estuarinas (PFEIFFER *et al.*, 1988; BAISCH *et al.*, 1988; LACERDA, 1983; CPRH, 1996 *apud* BRAYNER, 1996).

A região sudeste e sul do Brasil, que concentram a maior parte das atividades industriais e agrícolas, possuem reservatórios rasos e com alta instabilidade térmica, que confere o caráter polimítico a estes ambientes aquáticos. Devido à esta natureza polimítica, estes locais que funcionam como depositários de compostos tóxicos provenientes de atividades antrópicas, têm aumentado o fluxo de poluentes entre os seus diversos compartimentos, notadamente entre o sedimento e a coluna de água. Como resultado deste processo ocorre maior disponibilização destes compostos, que incorporam-se mais efetivamente à cadeia trófica, e maior exportação destas substâncias para ecossistemas contíguos. Entre estes compostos encontram-se principalmente os metais pesados.

Nestes reservatórios ocorre primeiramente a assimilação destas substâncias, entre as quais os metais pesados, por produtores primários, através do processo de troca iônica envolvendo moléculas orgânicas como proteínas por exemplo (BRYAN, 1976). Com o processo de eutrofização a biomassa destes produtores tende a ser muito maior que a de consumidores devido à baixa eficiência ecológica na conversão de biomassa, típica neste tipo de ambiente (MATSUI, 1991), o que faz com que a maior parte destes metais pesados sejam encontrados nos produtores. Outra consequência da eutrofização é o aumento de macrófitas aquáticas, que promovem áreas de intensa atividade bacteriana, em função do fluxo permanente de matéria orgânica oxidável das macrófitas, das elevadas temperaturas e da relativa acidez propiciada por ácidos orgânicos por elas liberados (LACERDA & MENESES, 1995). Além disso, a eutrofização traz consigo o aumento de COD (carbono orgânico dissolvido), que está diretamente relacionado à disponibilidade e aumento da toxicidade de alguns metais, como por exemplo o mercúrio, disponibilizado através da sua metilização que ocorre sob condições de acidificação do meio (WATRAS *et al.*, 1995).

Outra importante particularidade da presença de metais pesados em ecossistemas aquáticos continentais do Brasil (ou de regiões subtropicais) é quanto à composição química da água. Enquanto no hemisfério norte as águas continentais apresentam altos valores de dureza (cálcio e magnésio), devido principalmente ao tipo de solo das bacias hidrográficas, na nossa região estes valores são muito baixos, especialmente em sistemas que ainda não sofreram forte ação antrópica. Geralmente a toxicidade de metais pesados é maior em águas de baixa dureza, tanto para invertebrados (BRKOVIC-POPOVIC & POPOVIC, 1977; BUIKEMA *et al.*, 1974; BELLAVARE & GORBI, 1981) quanto para o fitoplâncton (BURNINSON *et al.*, 1975), devido à:

1. baixa complexação com carbonato;
2. competição de metais com o cálcio, principalmente cádmio (WREN *et al.*, 1995).

Este fato torna mais crítica a ação destes elementos nos ecossistemas aquáticos brasileiros. Infelizmente neste sistemas se dispõe de pouquíssimos dados de toxicidade de metais pesados em organismos endêmicos; na maioria dos casos tais resultados restringem-se aos teores dos metais pesados dos organismos (AMAZZARAY, 1992; BARRETO, 1994; KAREZ *et al.*, 1994).

Outra importante questão a ser considerada em regiões tropicais e sub-tropicais é a temperatura mais elevada, que age como aceleradora de taxa metabólica dos organismos vivos, influenciando deste modo todo o ciclo de vida dos organismos e determinando suas taxas de reprodução, fertilidade, tempo de vida, tamanho, etc., bem como a cinética química de agentes tóxicos nestes organismos e seu grau de toxicidade (ABDEL-LATEIF *et al.*, 1998).

A comunidade fitoplanctônica é afetada em sua estrutura e produtividade pela concentração de vários metais (SORENTINO, 1978; LOEZ *et al.*, 1995), embora sua sensibilidade varie consideravelmente em relação à toxicidade de alguns metais (WONG, 1987). Este elementos podem diminuir sensivelmente a produtividade primária do fitoplâncton (WONG *et al.*, 1979; TAKAMURA *et al.*, 1989), o crescimento populacional (CONWAY & WILLIAMS, 1979), além de diminuir o número de espécies (WÄNGBERG, 1995).

Os organismos zooplanctônicos, particularmente os microcrustáceos, são bastante sensíveis à concentrações de metais pesados. Concentração de apenas 0,04 µg/L de mercúrio é suficiente para provocar toxicidade crônica, causando danos à reprodução de *Daphnia magna* (BIESINGER *et al.*, 1982). Concentrações maiores ou iguais a 56 µg/L de mercúrio reduzem significativamente a sobrevivência de copépodos em ambientes naturais (BORGSMANN *et al.*, 1980). No caso do chumbo, ocorre maior tolerância de invertebrados aquáticos do que para o mercúrio. Segundo SPEHAR & FIANDT (1986), a concentração mínima de chumbo para provocar CE50 (48 horas) em *Ceriodaphnia dubia* é de 248 µg/L, enquanto para *Daphnia magna* esta concentração varia entre 400 e 4.400 µg/L. O grupo dos cladóceros é extremamente

sensível à concentrações de cádmio, exibindo toxicidade crônica sob concentrações entre 0,28 e 3,0 $\mu\text{g/L}$ Cd.

Para avaliar o impacto de substâncias tóxicas em ecossistemas aquáticos não basta simplesmente determinar suas concentrações químicas, pois processos de interações destas substâncias com o meio e a biota não são compreendidos ou são difíceis de precisar. Desta forma, os testes ecotoxicológicos são importantes ferramentas para compreender-se a extensão destes impactos, valendo-se de organismos vivos que operam como verdadeiros "biosensores" que respondem à estas substâncias. Segundo CALOW (1993), além de possibilitar a avaliação das mudanças causadas por este tipo de poluentes, os testes ecotoxicológicos são também necessários para prever possíveis impactos ecológicos por elas causados. Devido à extensibilidade do uso dos resultados de toxicidade de um determinado organismo-teste para um grande número de organismos presentes no meio natural (CAIRNS & PRATT, 1990), estes testes são importantes ferramentas para o gerenciamento, manejo e monitorização de ambientes aquáticos, além de serem extremamente importantes para o planejamento de política ambiental, a criação de legislação referente à emissões de efluentes, o cálculo de riscos ambientais e na geração de informações vitais para o setor de vigilância da saúde pública.

Entre os organismos de ambientes aquáticos mais utilizados na avaliação de substâncias tóxicas e poluentes estão as algas, o zooplâncton e os peixes. As primeiras por constituírem a base da cadeia trófica destes ambientes, através da produção primária. Já o zooplâncton desempenha importante papel nesta cadeia trófica servindo como elo entre os produtores primários, macroinvertebrados e peixes e aves aquáticas, pertencentes ao topo da cadeia trófica, além de serem responsáveis por grande parcela da regeneração de nutrientes e refertilização da coluna de água.

Para a avaliação da toxicidade de metais em organismos planctônicos presentes em ecossistemas aquáticos locais, foram escolhidas comunidades fitoplanctônicas de reservatórios considerados oligotróficos e eutróficos que não sofrem efeitos de metais pesados. A escolha de comunidade naturais de algas e não de culturas

monoalgais para a referida avaliação deveu-se a grande disparidade de respostas à influência de metais pesados encontradas na literatura entre as numerosas espécies fitoplanctônicas, sendo então feita a opção de medir diretamente esta influência com comunidades naturais.

A estrutura e função das comunidades fitoplanctônicas de reservatórios são organizadas segundo o grau de trofia destes ambientes, sendo geralmente dominada por clorofíceas em sistemas oligotróficos e por cianobactérias em ambientes eutróficos. Estes dois grupos do fitoplâncton, com importantes diferenças na organização celular, provavelmente influenciam o destino de metais dentro da cadeia trófica de diferentes maneiras, pois fisiologicamente, respondem de maneira diferente à presença destes elementos. Isto significa que estes elementos tornam-se mais ou menos perigosos dependendo em qual tipo de ambiente eles são encontrados (MATSUI, 1991; JACKSON, 1991).

A produção primária de comunidades fitoplanctônicas naturais foi escolhida como medida final de toxicidade (“end-point”) por ser considerada sensível a ação de metais. Além disso, trata-se de um processo fisiológico bastante estudado em nossos reservatórios (TUNDISI, 1977, 1983; TUNDISI *et al.* 1977; TUNDISI *et al.* 1978; CALIJURI, 1999) cuja metodologia é bem estabelecida, além de tratar-se de experimentos de curtíssima duração e potencialmente utilizável na avaliação de compostos tóxicos como testes de toxicidade aguda (VAN DER HEEVER & GROBBELAAR, 1996).

Para o experimento de toxicidade de metais em zooplâncton, foi escolhido o cladócero *Ceriodaphnia silvestrii*, organismo já satisfatoriamente utilizado para a avaliação de efluentes (FONSECA, 1991) e com significativa representatividade em nossos corpos de água interiores (TUNDISI, *et al.*, 1994; FONSECA, 1998). É proposta, ainda, a possibilidade da utilização desta espécie de microcrustáceo como organismo-teste, já que ele possui significância ecológica em nossa região e índices de sensibilidades semelhantes a outros organismos-teste utilizados em testes ecotoxicológicos em regiões temperadas.

Os metais pesados contemplados neste estudo foram escolhidos devido às suas crescentes emissões em efluentes que atingem os ecossistemas aquáticos brasileiros, particularmente os principais rios e reservatórios do Estado de São Paulo (ESTEVEZ *et al.*, 1981) e ao grau de periculosidade que representam para os organismos aquáticos e principalmente para o homem. Não muito distante no tempo, algumas catástrofes ocorreram provocadas pela emissão indiscriminada destes metais pesados, tais como a doença denominada Itai-itai (cádmio) e Minamata (mercúrio). Tratam-se de metais que não desempenham papel conhecido no metabolismo dos organismos, mesmo em concentrações-traços.

Os metais pesados compreendidos neste estudo, sua origem e importância e toxicológica para o homem (FÖRSTNER & WITTMANN, 1983; O'NEILL, 1985, *apud* FRANCISCATO, 1994) são brevemente descritos a seguir. Os efeitos destes metais em comunidades biológicas aquáticas são tratados no item Resultados & Discussão.

Cádmio: Embora bastante comum na litosfera apresenta-se em baixíssimas concentrações em rochas e solo (entre 100 a 800 ppb, segundo NRIAGU & SPRAGUE, 1987). A extração industrial deste elemento é realizada a partir do sulfato de zinco e sua produção mundial foi de 15.000 toneladas nos anos 70, atingindo 21.000 toneladas no começo da década de 80. O cádmio é empregado em bateria, encapsamento de componentes eletrônicos, pigmentos para plástico, têxteis, borracha, vidro e cerâmicas, impressoras, estabilizadores plásticos, ligas metálicas, indústria nuclear, pesticidas, pneus e combustíveis. Elemento não-essencial e extremamente tóxico, que apresenta propriedades similares ao zinco, competindo com este, da mesma forma que o Mercúrio, em diversas enzimas que contém zinco, deslocando-o e ligando-se aos sítios ativos de forma irreversível. Causa ainda disfunção tubular renal, e osteomalacia com osteoporose (AOSHIMA, *et al.*, 1988a, 1988b).

Calcula-se que as atividades antropogênicas sejam responsáveis por cerca de 7.187 toneladas por ano de emissão de cádmio para a atmosfera e 3.700 toneladas por ano para o mar, contra um fluxo natural de 843 e 5.355 toneladas por ano, respectivamente (NRIAGU, 1980; NRIAGU & SPRAGUE, 1987). Estas atividades são representadas principalmente pela mineração, extração e processamento de zinco, cobre e chumbo.

Um dos principais problemas com cádmio, sob o ponto de vista toxicológico, é que uma vez ingerido sua meia-vida varia entre 16 e 33 anos no corpo humano, sendo portanto extremamente perigoso, uma vez que, mesmo em pequenas quantidades, a sua ingestão pode levar à acumulação deste elemento em níveis tóxicos. Calcula-se que o conteúdo de cádmio no corpo humano seja cerca de 1 µg no nascimento e que seja entre 10 e 30 mg por volta dos 50 anos (GESAMP, 1985 *apud* LAW, 1993).

Chumbo: Entre os metais tóxicos empregados em atividades antropogênicas é o que apresenta maior produção. Apesar de não ser um elemento essencial, está presente em todos os tecidos e órgãos dos mamíferos. Os metabolismos do chumbo e do cálcio são similares, tanto na deposição quanto na mobilização pelos ossos. O chumbo liga-se fortemente a um grande número de moléculas, como aminoácidos, hemoglobina, diversas enzimas, RNA e DNA podendo romper muitas rotas metabólicas. Pode acarretar anemia, afetar o sistema nervoso central, rins, além de causar danos físicos permanentes e comprometer o desenvolvimento mental de crianças.

Graças a facilidade de extração do chumbo por aquecimento à baixas temperaturas, o uso deste metal tem sido verificado em toda a história da humanidade desde civilizações antigas como a dos egípcios (1500 A.C.), a dos gregos e a dos romanos. Curiosa especulação histórica a cerca do chumbo trata da queda do império romano, que teria como uma de suas causas o envenenamento endêmico por chumbo (saturnismo) via alimentos e bebidas contaminados pelos utensílios domésticos (GILFILLAN, 1965 *apud* LAW, 1993).

O chumbo é utilizado largamente nas atividades econômicas, sendo empregado em baterias, na indústria bélica, na indústria elétrica e na de comunicação, além de ser empregado em pigmentos, vidros, produtos cerâmicos, aditivos de combustível, etc. Segundo SETTLE & PATTERSON (1980) *apud* LAW (1993), a emissão de chumbo para a atmosfera creditadas às fontes naturais é menor que 3.100 toneladas/ano, enquanto a emissão antrópica perfaz um total de 408.000 toneladas/ano. Ainda segundo estes autores, a assimilação de chumbo em humanos no período pré-histórico era menor que 185 ng ao passo que no homem urbano contemporâneo é de 26.850 ng. Estudo realizado no Rio de Janeiro (BRANQUINHO & ROBINSON, 1976) mostrou que nas casas que são servidas por encanamentos que possuem componentes com chumbo, as águas apresentam concentrações de chumbo que variam entre 30 a 1.000 mg/L, com uma média de 100 µg/L, enquanto nas casas sem este tipo de encanamento as águas não apresentaram chumbo em níveis detectáveis (<10 µg/L).

Cromo: Elemento largamente utilizado nas indústrias siderúrgica - confere dureza ao aço - de refratários, de tingimento e de couro. Sob o ponto de vista toxicológico, os organismos dos mamíferos podem tolerar de 100 a 200 vezes o conteúdo normal de cromo do corpo sem efeitos deletérios. As formas solúveis (Cr^{6+}) são aproximadamente 100 vezes mais tóxicas que as formas insolúveis (Cr^{3+}). A acidez do estômago leva à redução do Cr^{6+} à Cr^{3+} , nesta forma a absorção gastrointestinal é menor que 1%. Este elemento constitui-se, ainda, em um agente cancerígeno.

Em águas naturais, o cromo apresenta-se principalmente em dois estados de oxidação, o cromo trivalente e hexavalente. Em águas com altas concentrações de oxigênio o cromo hexavalente é a espécie mais termodinamicamente estável, enquanto que o cromo trivalente é cineticamente mais estável, podendo ser isolado como sólido (MOORE & RAMAMOORTHY, 1984 *apud* BARRETOS, 1994). Geralmente a maior parte do cromo trivalente encontra-se na forma particulada (STUM & MORGAN, 1996).

Neste estudo, a acumulação de metais (assimilação, seqüestro e/ou excreção) foi considerada através da concentração total de cada metal analisado, como íons não-complexados. Devido à problemas técnicos não foi possível monitorar os processos químicos (complexação inorgânica, quelação, precipitação e adsorção) que regem as especiações químicas destes metais, embora, tratando-se de experimento com culturas, alguns destes processos possam ser controlados.

2 - OBJETIVOS

2.1. Verificar a influência dos metais pesados cádmio, cromo e chumbo na produtividade primária de populações naturais de fitoplâncton de ambientes lacustres.

2.2. Avaliar em laboratório, a toxicidade aguda e crônica dos metais pesados Pb, Cr e Cd para o cladóceros lacustre *Ceriodaphnia silvestrii* e a sua viabilidade de uso como organismo-teste para substâncias químicas.

2.2. Comparar as concentrações dos metais cádmio, cromo e chumbo causadoras de toxicidade em populações planctônicas e em cladóceros da espécie *Ceriodaphnia silvestrii* às concentrações limites destes metais permitidas pela legislação vigente no país.

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Experimentos para avaliação da toxicidade de metais (Cd, Cr e Pb) na produção primária da comunidade fitoplanctônica:

Para estes experimentos foram utilizadas comunidades naturais de fitoplâncton, coletadas na Represa do Lobo (Itirapina/SP) e na Lagoa Pedreira (São Carlos/SP), consideradas oligomesotrófica (OLIVEIRA-NETO, 1993) e eutrófica (TALAMONI, 1995), respectivamente. Ambos os ambientes foram escolhidos devido à ausência de fontes antropogênicas de metais nas microbacias onde estão inseridos. Apenas para a Represa do Lobo existe estudo realizado sobre a ocorrência de metais (TRINDADE, 1980).

As amostras das comunidades fitoplanctônicas utilizadas nos experimento de produção primária e determinação de suas composições foram realizadas na sub-superfície dos dois lagos (0,5 metro) utilizando-se garrafa de Van Dorn com capacidade de 5 litros e imediatamente levadas ao laboratório.

No laboratório adotou-se os seguintes procedimentos, cujos aparelhos e/ou metodologias são descritas a seguir:

- medida das variáveis físico-químicas (temperatura, pH, condutividade, oxigênio dissolvido)
- filtração das amostras da comunidade fitoplanctônica em diferentes concentrações de metais em condições controladas de luz e temperatura
- filtração de amostras para determinação de nutrientes inorgânicos dissolvidos (nitrogênio, fósforo e sílica), carbono orgânico total e dissolvido e concentração de clorofila. Procedimentos realizados no início e no final dos experimentos.

- Preservação de sub-amostras da comunidade fitoplanctônica com formol (duas sub-amostragens) e lugol (duas sub-amostragens).

3.1.1. Variáveis físico-químicas

Temperatura – Foi medida na profundidade em campo e durante todo o experimento com termistor da marca Toho Dentam cuja acuracidade é de 0,1°C. Em laboratório utilizou-se termômetro com coluna de mercúrio.

pH – Utilizou-se pHmetro da marca Micronal modelo B371.

Condutividade elétrica– Utilizou-se condutivímetro da marca Tecponon modelo CA150

Oxigênio Dissolvido – Esta variável foi determinada utilizando-se oxímetro da marca Minipa, modelo MDO-5509

Luz – Utilizou-se quanta-meter da Biospherical Instruments Inc. modelo QSL-100.

Nutrientes – Foram determinadas as concentrações dos seguintes nutrientes inorgânicos dissolvidos: nitrito, nitrato, amônia, fósforo inorgânico, fosfato e silicato. Os métodos utilizados para as determinações destes nutrientes foram os descritos por GOLTERMANN (1968). As concentrações foram determinadas antes e após os experimentos de produção primária.

3.1.2. Variáveis biológicas

Carbono Orgânico Total - Para a análise de carbono orgânico total e do carbono inorgânico total foi utilizado o analisador de carbono orgânico modelo TOC-5000 da marca Shimadzu.

Clorofila - Para a determinação da concentração de clorofila nas amostras foi utilizada a técnica descrita pela NEDERLANDSE NORM NEN 6.520 (1981), substituindo-se a acetona a 90% por etanol (90%) a 80°C para a extração da clorofila, após prévia maceração. Esta técnica foi implantada pela equipe do CRHEA/USP, após os testes com vários métodos descritos na literatura, por se mostrar mais eficiente na extração de clorofila e minimizar a probabilidade de erro durante este procedimento de extração. As leituras de clorofila foram realizadas em espectrofotômetro da marca MICRONAL tipo B-28.

Produção Primária - A produção primária foi determinada segundo a técnica do ^{14}C , descrita por STEEMANN-NIELSEN (1952) e DOTY & OGURI (1959) que determina a fotossíntese através do metabolismo do CO_2 .

As amostras de plâncton retiradas à sub-superfície foram levadas ao laboratório e incubadas em frascos JENNA contendo 1ml de solução H^{14}CO_3 (atividade de $5\mu\text{Ci}$) e diferentes concentrações dos metais estudados (preparação de soluções descrita abaixo), de forma a estarem com concentrações finais de 0,01; 0,05; 0,10; 1,0 e 5,0 mg.l^{-1} de cada elemento. Além disso foram incubadas amostras controle (sem nenhuma adição de metal) e frascos escuros (para medida de respiração da comunidade fitoplanctônica). Para cada tratamento foram utilizados três frascos, dispostos aleatoriamente na câmara de luz incubadora e trocados de lugar a cada trinta minutos para diminuir possíveis efeitos indesejáveis decorrentes da distribuição não uniforme da intensidade luminosa dentro da câmara de luz incubadora.

O tempo de incubação das amostras na câmara foi de quatro horas, segundo metodologia descrita em VOLLENWEIDER (1974), sob intensidade luminosa de $1.000\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}$, e temperatura mantida a 22 ± 1 °C em água circulante pela câmara de luz. Após o tempo de incubação foram filtradas a vácuo duas alíquotas de 25ml do conteúdo de cada frasco, utilizando-se filtros MILLIPORE-HÁ de $0,45\mu\text{m}$ de porosidade e 25mm de diâmetro. Os filtros foram secados e estocados em dessecador com sílica. Para a leitura da radioatividade destes filtros, os mesmos foram diluídos em solução cintiladora Bray (BRAY, 1960) e as soluções resultantes levadas ao

cintilador BECKMAN-LS100. Para o cálculo do carbono assimilado utilizou-se a equação descrita por GARGAS (1975).

Comunidade fitoplanctônica - Para a classificação do fitoplâncton foram utilizadas as chaves de classificação de SMITH (1920; 1950), PRESCOTT (1962; 1978), BOURRELLY (1966; 1968; 1970), BICUDO & BICUDO (1970) e bibliografias específicas para a identificação das espécies (TRACANNA, 1982; BICUDO *et al.*, 1993; NOVARINO & LUCAS, 1993; KOMÁRKOVÁ-LEGNEROVÁ & CRONBERG, 1994).

A análise quantitativa do fitoplâncton foi feita utilizando-se o método de sedimentação de UTHERMÖHL (1958) conforme descrito em WETZEL & LIKENS (1991). As câmaras de sedimentação utilizadas nas contagens variaram em 2,0, 5,0 e 10 ml, conforme a densidade dos organismos e da quantidade de material em suspensão na amostra.

Foram estabelecidos 150 campos de contagem ou 100 indivíduos da espécie mais freqüente. O número de indivíduos por unidade de volume foi calculado segundo WETZEL & LIKENS (1991), sendo a unidade fundamental de contagem o campo do microscópio.

Para a contagem do fitoplâncton, foi considerado como um indivíduo:

- organismos unicelulares
- pseudofilamentos de diatomáceas
- colônias de clorofíceas
- colônias de cianofíceas e filamentos de cianofíceas.

No caso específico de *Microcystis aeruginosa* foram também contadas as células soltas, porém estas foram contabilizadas junto com as colônias somadas, através do número médio de células por colônia em cada amostra.

A densidade dos organismos fitoplanctônicos foi calculada segundo os critérios descritos em APHA (1985), onde:

$$D = \frac{C \times AT}{AF \times F \times V}$$

onde:

D . = densidade de organismos fitoplanctônicos em Nº de org.ml⁻¹;

C = número de organismos contados;

AT = área total do fundo da câmara de sedimentação em mm²;

AF = área do campo de contagem em mm²;

F = número de campos contados;

V = volume da amostra sedimentada em ml.

Preparo das soluções de metais utilizadas nos experimentos de produção primária de populações fitoplanctônicas naturais

As soluções-mãe de cádmio, cromo e chumbo foram preparadas adicionando-se, respectivamente, 2,0313g de cloreto de cádmio P.A., 2,8288g de dicromato de potássio P.A. e 1.2993g de nitrato de chumbo P.A. em 1000 ml de água destilada (q.s.p.), de forma a obter concentrações de 1,0 g.L⁻¹ de cada um dos elementos. Soluções-estoque de 100, 5,0 e 1,0 mg.L⁻¹ foram preparadas por diluições seriadas em água destilada.

As soluções-teste de 0,01, 0,05, 0,1 1,0 e 5,0 mg.L⁻¹, de cada elemento, foram preparadas diretamente nos frascos de produção primária com alíquotas das amostras de água coletadas nas represas. A água utilizada para a diluição dos metais não foi filtrada, para que não ocorresse alteração do número de células fitoplanctônicas e da concentração de nutrientes presentes no ambiente na hora da coleta. A partir de soluções-estoque de 1,0, 5,0 e 100 mg.L⁻¹, foram preparadas 3 réplicas para cada concentração e o volume de metal acrescido em cada frasco variou de acordo com o volume do frasco para obtenção das concentrações de metais desejadas.

3.2 - Experimentos para a avaliação da toxicidade de metais no zooplâncton:

3.2.1 Determinação da CE50 dos metais Cd, Cr e Pb para o cladócero *Ceriodaphnia silvestrii* - teste de toxicidade aguda

Os testes de toxicidade aguda com os metais (cádmio, cobre e chumbo) foram realizados de acordo com os procedimentos descritos em CETESB (1992). O princípio do método consiste na exposição de organismos jovens (neonatos com 0 a 24 horas) às diferentes concentrações da substância a ser testada durante um período de 48 horas nas condições prescritas do teste.

Após o período de exposição, procedeu-se à contagem dos organismos móveis, sendo considerados imóveis aqueles que não conseguiram nadar dentro de um intervalo de 15 segundos, após leve agitação da amostra.

Os resultados dos testes foram calculados através do método estatístico Trimmed Spearman-Kärber e expressos em CE(I)50-24/48 horas, que corresponde à concentração efetiva inicial média que causa imobilidade a 50% dos organismos em 24/48 horas de exposição nas condições do teste (HAMILTON, et al. 1977).

3.2.2. Teste de toxicidade crônica (7 dias) dos referidos metais para *Ceriodaphnia silvestrii*.

Os testes de toxicidade crônica têm como objetivo avaliar alterações no ciclo de vida tais como reprodução, crescimento, comportamento, desenvolvimento morfológico, mortalidade e outros. Neste estudo as variáveis consideradas foram sobrevivência e fecundidade (número médio de neonatas por fêmea).

Durante o período de exposição de 7 dias os organismos foram mantidos em sala com temperatura de 22 ± 2 °C, fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro), intensidade luminosa de 2000 lux e alimentados diariamente com a alga clorofícea *Selenastrum capricornutum* (10^5 cél/L) e alimento composto (ração para peixe fermentada e

levedura), mantendo-se as mesmas proporções de alimento utilizadas na manutenção. As soluções-teste foram trocadas a cada 48 horas e em cada troca foram realizadas medidas das seguintes variáveis: pH, dureza, condutividade iônica e concentração de oxigênio dissolvido, tanto na solução nova quanto na solução a ser descartada.

Os parâmetros avaliados foram *sobrevivência* ao final dos 7 dias e *fecundidade* (número médio de neonatos por fêmea). Os testes foram considerados válidos quando a sobrevivência no controle foi igual ou maior que 80% e a fecundidade média do controle maior ou igual a 15 neonatos por fêmea e pelo menos 60% do controle tiver dado a 3^a cria (CETESB, 1992).

A análise estatística dos dados de reprodução foi realizada através do teste de Dunett, recomendado pela USEPA (1989) quando o número de réplicas é igual para todas as concentrações testadas. Através deste teste foram determinados os valores de **CEO** (concentração de efeito observável) e **CENO** (concentração de efeito não observável). De acordo com CETESB (1992), entende-se como CEO a menor concentração do agente tóxico, a qual é observada efeitos deletérios estatisticamente significativos na reprodução dos organismos submetidos aos testes durante os sete dias de exposição; CENO significa a maior concentração do agente tóxico, na qual não são observados efeitos deletérios estatisticamente significativos na reprodução dos organismos submetidos aos testes durante os sete dias de exposição. O valor crônico (VC) foi calculado pela média geométrica dos valores de CENO e CEO.

Uma vez que o teste de Dunett é paramétrico, antes da sua aplicação verificou-se se os resultados atendiam aos critérios de normalidade e homogeneidade. Para tanto foram utilizados os testes CHI-quadrado, que analisa a normalidade dos dados de reprodução e o teste de Hartley, que analisa a homogeneidade da variância. Nos casos em que a normalidade não foi verificada os dados foram analisados pelo teste Kruskal-Wallis ao invés da aplicação do teste de Dunett.

A verificação das diferenças significativas na sobrevivência dos organismos teste entre as diferentes concentrações e o controle foi feita através do método Fisher' s

Exact Test. Para a aplicação destes testes foi utilizado o programa computacional TOXSTAT3.3.

3.2.3. Preparo das soluções de metais utilizadas nos testes de toxicidade aguda e crônica com *Ceriodaphnia silvestrii*

- **Solução de cloreto de cádmio (ClCd)**

A solução-mãe foi preparada adicionando-se 2,0313 g de cloreto de cádmio P.A. em 1000 ml de água destilada (q.s.p.), de forma a se obter uma concentração final de 1,0 mg.L⁻¹ de cádmio. As soluções-estoque de 100; 10; 1,0 e 0,1 mg.L⁻¹ foram preparadas em água destilada, por diluições em série.

As soluções-teste foram obtidas, por diluição, a partir da solução-estoque de 0,1 mg.L⁻¹, em água de diluição, de acordo com as concentrações testadas (0,00125; 0,0025; 0,05; 0,01; e 0,02 mg.L⁻¹).

As concentrações das soluções-testes foram definidas com base nos resultados dos testes de toxicidade aguda, considerando-se a menor concentração que apresentou algum efeito deletério definitivo, como a concentração mais alta. A partir desta concentração foram definidas as demais, utilizando-se um fator de divisão igual a 2.

- **Solução de Acetato de Chumbo (Pb (CH₃ COO)₂ .3 H₂O)**

A solução-mãe foi preparada adicionando-se 1,8021g de acetato de chumbo P.A. em 1000 ml de água destilada (q.s.p.), de forma a se obter uma concentração final de 1,0 mg.L⁻¹ de chumbo. As soluções-estoque de 100; 10; 1,0 e 0,1 mg.L⁻¹ foram preparadas em água destilada, por diluições em série. As soluções-mãe e estoques foram acondicionadas em frascos escuros e mantidas em geladeira (4 a 8 °C) por um período máximo de 6 meses.

As soluções-teste foram obtidas por diluição da solução-estoque de 0,1 mg.L⁻¹ em água de diluição de acordo com as concentrações testadas (0,0025; 0,05; 0,01; 0,02 e 0,04 mg.L⁻¹). As concentrações das soluções-teste foram definidas com base nos

resultados dos testes de toxicidade aguda, considerando-se a menor concentração que apresentou algum efeito deletério agudo, como a concentração mais alta. A partir desta concentração foram definidas as demais, utilizando-se um fator de divisão igual a 2.

• **Solução de Nitrato de Chumbo ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$)**

A solução-mãe foi preparada adicionando-se 1,2993g de nitrato de chumbo P.A. em 1000 ml de água destilada (q.s.p.), de forma a se obter uma concentração final de 1,0 g/l de chumbo. As soluções-estoque de 100; 10; 1,0 e 0,1mg/l foram preparadas em água destilada, por diluições em série. As soluções-mãe e estoque foram acondicionadas em frascos escuros e mantidas em geladeira (4 a 8 °C) por um período máximo de 6 meses.

As soluções testes foram obtidas por diluição da solução-estoque de 0,1 mg.L⁻¹, em água de diluição, de acordo com as concentrações testadas (0,0025; 0,05; 0,01; 0,02 e 0,04 mg.L⁻¹). As concentrações das soluções-teste foram definidas com base nos resultados dos testes de toxicidade aguda, considerando-se a menor concentração que apresentou algum efeito deletério agudo como a concentração mais alta. A partir desta concentração, foram definidas as demais, utilizando-se um fator de divisão igual a 2.

• **Solução de Dicromato de Potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)**

A solução-mãe foi preparada adicionando-se 2,8288g de dicromato de potássio P.A. em 1000 ml de água destilada (q.s.p.), de forma a se obter uma concentração final de 1,0 g/l de ^{Cr⁶⁺} chumbo. As soluções-estoque de 100; 10; 1,0 e 0,1mg/l foram preparadas em água destilada por diluições em série. As soluções-mãe e estoque foram acondicionadas em frascos escuros e mantidas em geladeira (4 a 8 °C) por um período máximo de 6 meses.

As soluções-teste foram obtidas por diluição da solução-estoque de 0,1 mg.L⁻¹, em água de diluição, de acordo com as concentrações testadas (0,00125; 0,0025; 0,05; 0,01 e 0,02). As concentrações das soluções-teste foram definidas com base nos

resultados dos testes de toxicidade aguda, considerando-se a menor concentração que apresentou algum efeito deletério agudo, como a concentração mais alta. A partir dessa, foram definidas as demais, utilizando-se um fator de divisão igual a 2.

3.2.4. Manutenção dos organismos-teste utilizados nos testes de toxicidade aguda e crônica

a - Condições de Cultivo dos Organismos Teste

A espécie *Ceriodaphnia silvestrii* foi obtida de cultivo do laboratório de bioensaios do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da UFSCAR, São Carlos e vem sendo mantida no Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do CRHEA/USP, São Carlos desde 1996, de acordo com os procedimentos básicos descritos em CETESB (1992), com algumas modificações.

Os organismos são mantidas em cristalizadores com capacidade para 2 litros (70 organismos/cristalizador), em estufa incubadora com controle de temperatura e luz (fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, intensidade luminosa de aproximadamente 1000 lux e temperatura de $22 \pm 2^{\circ} \text{C}$).

A água de diluição foi preparada misturando-se 1 parte de amostra de água coletada nos tanques de cultivo de zooplâncton da UFSCar, misturada com 6 partes de água destilada. Antes de misturar, a água foi filtrada em rede de plâncton com malha de 300 e 20 μm e fervida para eliminar contaminantes. Após a mistura acertou-se a dureza para a faixa requerida de 40 a 48 mg/L de CaCO_3 , pH para a faixa de 7,2 – 7,6 e condutividade próxima a 160 $\mu\text{S/cm}$.

O acerto da dureza foi feito utilizando-se as soluções 1 e 2 (descritas abaixo), considerando que para cada miligramma de dureza a ser aumentada deve-se acrescentar 0,5 mL da solução 1 e 0,25 ml da solução 2 por litro de água. A medida da dureza da água foi feita por titulação com solução de EDTA (ácido etileno diamino tetracético) (APHA, 1992; CETESB, 1992), de acordo com os procedimentos descritos à seguir:

1. adicionar 50 mL da amostra em um erlenmeyer de 125 mL + 1 mL da solução tampão e o indicador negro de ericromo T.
2. titular com EDTA até o ponto de viragem para o azul.
3. calcular a dureza de acordo com a equação:

$$\text{dureza (mg de CaCO}_3\text{)} = \text{Vol. de EDTA (mL)} \times 1000 \times \text{fator (F)} / \text{Vol. Amostra}$$

- **Preparo das soluções utilizadas na manutenção dos organismos teste.**

Solução 1 (Solução de Sulfato de Cálcio): dissolveu-se 1,5g de sulfato de cálcio ($\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) em 1000 ml de água destilada ou desionizada.

Solução 2 (Solução de Cloreto de Potássio, Bicarbonato de Sódio e Sulfato de Magnésio): dissolveu-se 0,2 g de cloreto de potássio (KCl), 4,80 g de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e 6,10 g de sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) em 1.000 ml de água desionizada ou destilada

Solução Tampão: dissolver 16,9 g de NH_4Cl em 143 mL de NH_4OH ; adiciona 1,25 g de sal de magnésio de EDTA e diluir-se para 250 mL com H_2O destilada. Quando não houver disponibilidade da utilização do sal de magnésio e EDTA, dissolver 1,179 g de sal dissódico de ácido etileno diaminatetracético desidratado (grau analítico) + 780 mg de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ou 644 mg de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 50 mL de H_2O destilada. Adicionar esta solução em 16,9 g de NH_4Cl e 143 mL de NH_4OH concentrado (agitando) e diluir para 250 mL com água destilada.

Solução de EDTA (Preparo e Padronização)

1. Dissolver 3,723 g de EDTA em 1000 mL de água destilada. Armazenar esta solução em frascos de polietileno ou vidro Pyrex.
2. Secar o CaCO_3 a 105 °C por 1 hora, deixar esfriar e pesar 1g em um béquer pequeno. Adicionar HCl 1:1 até a completa dissolução.
3. Após a dissolução, colocar a solução em um Erlenmeyer de 500 mL com 200 mL de água destilada e a ferver para expelir o CO_2 .

4. Após esfriar (temperatura ambiente), adicionar 3 gotas de vermelho de metila. Quando a solução tornar-se avermelhada, adicionar algumas gotas de NH_4OH até que a solução torne-se amarelada ($\text{pH} \cong 6,3$). Obs: cada 1 mL de solução de $\text{CaCO}_3 \cong 1 \text{ mg}$ de CaCO_3
5. Transferir a solução para um balão volumétrico de 1000 mL, completando o volume para 1000 mL com água destilada.
6. Carregar a bureta com EDTA
7. Em um erlenmeyer de 125 mL, adicionar o volume exato da solução de CaCO_3 , 1 mL da solução tampão e o indicador negro de Ericromo T. Ao adicionar-se o indicador a solução torna-se violeta. O ponto final da titulação é indicado pela mudança da cor para azul.
8. Anotar o volume de EDTA gasto.
9. Calcular o fator, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$F = \text{mg CaCO}_3 / \text{mL EDTA}$$

b - Alimentação dos organismos-teste

Como alimento foram utilizadas culturas de *Selenastrum capricornutum* em fase exponencial de crescimento e alimento composto de ração para truta e levedura.

Para utilização como alimento, a suspensão de *Selenastrum capricornutum* foi centrifugada a 3000 rpm durante 10 minutos à temperatura de 15 a 20⁰ C, ou deixada decantar em geladeira para eliminação do sobrenadante e ressuspensa em água de manutenção das culturas.

O número de células da suspensão foi determinado através de contagem em microscópio óptico, utilizando-se câmaras de THOMMAS. A partir do resultado obtido, calculou-se o volume a ser adicionado em cada cultura de *Ceriodaphnia*, de forma que fossem fornecidas 10⁵ células por litro/dia. O cálculo do volume foi feito de acordo com a expressão:

$$V_1 N_1 = V_2 N_2$$

onde:

V_1 = volume da suspensão algácea a ser adicionado na cultura

N_1 = número de células / mL da suspensão algácea

V_2 = 1 litro

N_2 = concentração desejada (10^5 células/litro).

O alimento composto foi preparado misturando-se partes iguais (50 ml) de ração para truta e levedura. Após o preparo, conservou-se em geladeira por um período máximo de uma semana. Utilizado diariamente, junto com a suspensão de algas, esse alimento fornece uma alimentação adequada.

- **Preparo da ração para truta:**

1. Adicionou-se 5g de ração em 1000 mL de água destilada.
2. Manteve-se sob aeração contínua por uma semana. Durante esse período, completou-se o volume de água de modo a compensar a perda de água evaporada.
3. Após aeração, deixou-se sedimentar por algumas horas a solução, filtrando o sobrenadante em rede de plâncton de aproximadamente 45 μm e descartando o material sedimentado.
4. Distribuiu-se em frascos de 200 mL devidamente etiquetados e manteve-se a solução em freezer a -20°C até o momento de uso.

- **Preparo da levedura**

1. Adicionou-se 0,25 g de fermento biológico seco em 50 mL de água destilada.
2. Agitou-se por cerca de 5 minutos até dissolução completa e utilizou-se esta solução imediatamente no preparo do alimento composto.

Para cada lote de ração preparada, calculou-se o peso seco do alimento por mililitro ou o teor de sólidos totais em suspensão e a partir do resultado obtido, calculou-se o volume de alimento a ser adicionado por dia nas culturas, de forma a manter a concentração em suspensão de 14 mg/L.

c - Controle de Qualidade das Culturas de Laboratório

O controle de qualidade das culturas de *Ceriodaphnia silvestrii* foi feito através da avaliação da sensibilidade com solução de referência cloreto de sódio (NaCl), e curva de crescimento.

- **Avaliação da sensibilidade de *C. silvestrii* ao cloreto de sódio**

A avaliação da sensibilidade das culturas de *Ceriodaphnia silvestrii* foi feita mensalmente com solução de cloreto de sódio de acordo com os procedimentos descritos em CETESB (1992). As concentrações testes (1,0; 1,3; 1,6; 2,0 e 2,2 mg.L⁻¹) foram preparadas com água de cultivo a partir de uma solução estoque de 10 mg.L⁻¹ NaCl em água destilada.

Neonatos com idade de 0 a 24 horas foram expostos às diferentes concentrações, além de um controle preparado com água de cultivo. Para cada concentração foram testadas 3 réplicas com 5 organismos cada. Durante o período de teste os organismos foram mantidos a 22 ± 2 °C no escuro e sem alimento. Após o período de exposição de 48h procedeu-se à contagem dos organismos imóveis, sendo considerados imóveis aqueles que não conseguiram nadar dentro de um intervalo de 15 segundos após leve agitação da amostra. A CE(I)50, 48H foi calculada através do método Trimmed Spearman – Karber (HAMILTON et al., 1977).

Foram consideradas adequadas para utilização nos testes de toxicidade com metais as culturas que apresentaram valores de CE(I)50,48H dentro da faixa de sensibilidade estabelecida de 1.33 a 1.82 g.L⁻¹ de NaCl (FONSECA, 1997).

- **Curva de Crescimento populacional de *Ceriodaphnia silvestrii***

Os experimentos foram realizados com 3 réplicas com 10 organismos cada, com idade de 0 a 24 horas. Os organismos, provenientes das culturas mantidas no laboratório foram colocados em frascos erlenmeyers contendo 1000 ml de meio de cultivo (água reconstituída, dureza entre 40 a 48 mg/L de CaCO₃, pH na faixa de 7,2 a 7,6 e condutividade próxima a 160 µs/cm). As réplicas foram mantidas sob as mesmas condições de cultivo, em incubadoras com temperatura controlada de 22 +/- °C e fotoperíodo de 12/12. A cada 2 dias procedeu-se a contagem dos organismos e a renovação de metade do volume do meio de cultivo. Como alimento foi utilizada uma suspensão unialgal de *Selenastrum capricornutum* na concentração de 1.10⁵ célula. ml⁻¹. As taxas de crescimento populacional foram calculadas de acordo com a fórmula descrita em EDMONDSON, (1968) descrita em ESPÍNDOLA & NISELLI, (1996), onde:

$$r = \ln N_t - \ln N_0 / t$$

onde:

N_t = o número de indivíduos no tempo t ,

N_0 = o número de indivíduos iniciais,

t = a duração do experimento (dia),

r = a taxa intrínseca de crescimento (r_{\max}) e corresponde à base do logaritmo neperiano. O parâmetro r pode ser considerado como um coeficiente instantâneo de crescimento populacional (dia⁻¹):

4. RESULTADOS & DISCUSSÃO

4.1. Toxicidade de Metais na Produção Primária de Comunidades Fitoplanctônicas Naturais

Nos ambientes aquáticos lênticos a comunidade fitoplanctônica ocupa função primordial como principal componente da base da cadeia trófica da região, tornando-se, portanto, crítico o estudo dos efeitos de metais pesados nestes organismos (CHRISTENSEN & SCHERFIG, 1979). A toxicidade causada por certos metais no fitoplâncton provocam alterações tanto na estrutura como na produtividade destes ambientes aquáticos (SORENTINO, 1978; KNAUER *et al.*, 1997).

O fitoplâncton incorpora os metais dissolvidos no ambiente na forma de sais através da adsorção em sua membrana, (cuja superfície contém sítios de ligação) e por assimilação, que envolve processos ativos responsáveis pelo transporte destes elementos do meio externo para o meio intracelular (FOLWER, 1982 *apud* ESTEVES, 1981), concentrando-os eficientemente.

A toxicidade de metais pesados para o fitoplâncton é regulada por diversos fatores, tais como: tipos de sítios de assimilação dos elementos, competição por sítios de adsorção, especiação iônica e interações químicas (tais como: complexação e quelação), WARD *apud* RALPH & BURCHETT, (1998); DE FILIPPIS & PALLAGHY, (1994). A disponibilização destes metais para o fitoplâncton, dá-se por:

- solubilização na coluna de água (provenientes de escoamento superficial, despejo direto, entrada de rios, deposição atmosférica, etc.). Medidas da concentração de

metais em populações fitoplanctônicas próximas de locais poluídos são melhor indicadoras da qualidade destas águas que medidas diretas na água (SEIDL *et al.*, 1998).

- redistribuição de metais do sedimento para a coluna de água: pode ocorrer por advecção e difusão através do fluxo direto sedimento-coluna de água em situações de isoterminia ou por organismos bentônicos (bioturbação e produtos de excreção), capazes de redistribuir metais originalmente precipitados e ligados ao sedimento (HARE *et al.*, 1991).

Apesar da larga utilização de algas como organismos indicadores no monitoramento de características limnológicas básicas e na determinação da poluição de lagos e rios, este grupo não tem sido tão freqüentemente empregado em testes ecotoxicológicos. Nestes testes de laboratórios usualmente são utilizados dafnínídeos e peixes (CALLOW, 1993).

A tentativa de estabelecer-se comparações entre a sensibilidade de algas e macrófitas e a sensibilidade de invertebrados e peixes à metais, e a crença que algas e macrófitas são geralmente menos sensíveis que animais para este tipo de estudo, provavelmente contribuíram para o limitado uso do fitoplâncton na avaliação de toxicidade.

Esta crença revelou-se equivocada a partir da realização dos trabalhos que demonstraram que as algas têm a mesma sensibilidade, ou mesmo maior sensibilidade que os animais normalmente utilizados em testes ecotoxicológicos. Esta sensibilidade foi verificada para várias substâncias tais como: surfactantes (PATRICK *et al.*, 1968), pesticidas (MEYERHOFF *et al.*, 1985), orgânicos (KUIVASNIEMI *et al.*, 1985), efluentes industriais (WALSH *et al.*, 1982), lixiviados originados de resíduos sólidos (KLAINÉ, 1985) e metais (THOMAS *et al.*, 1986).

A grande variabilidade de respostas de crescimento (em 96 horas) das diferentes espécies fitoplanctônicas à metais torna-se um empecilho adicional ao emprego

destes organismos em testes ecotoxicológicos. Os diferentes grupos fitoplanctônicos respondem de maneira bastante diferenciada à presença de metais no ambiente, havendo dentro de um mesmo grupo ou gênero, espécies bastante tolerantes e muito sensíveis às mesmas concentrações de um mesmo elemento (CONWAY & WILLIAMS, 1979; KESSLER, 1986). A variação destas respostas podem chegar, por exemplo, a diferenças entre 6 e 3.000 $\mu\text{g/L}$ Cd (Tabela 2) comparando-se apenas 4 espécies de algas, embora em testes de maior duração estas diferenças de respostas não sejam tão acentuadas.

Tabela 2. Toxicidade de Cádmio para fitoplâncton lacustre, modificado de WONG (1987).

Espécies	EC ₅₀ ($\mu\text{g/L}$)		Referência
	96 h	Experimentos de longa duração	
<i>Selenastrum capricornutum</i>	6	-	SEDLACEK <i>et al.</i> , 1983 <i>apud</i> WONG, 1987.
<i>Nitzschia closterium</i>	476	-	RACHLIN <i>et al.</i> , 1982 <i>apud</i> WONG, 1987.
<i>Navicula inserta</i>	3000	-	RACHLIN <i>et al.</i> , 1982 <i>apud</i> WONG, 1987.
<i>Chlorella saccharophila</i>	105	-	RACHLIN <i>et al.</i> , 1982 <i>apud</i> WONG, 1987.
<i>Scenedesmus acuminata</i>	-	110 (13 dias)	HUTCHINSON, 1973 <i>apud</i> WONG, 1987.
<i>Chlorella vulgaris</i>	-	55 (14 dias)	HUTCHINSON, 1973 <i>apud</i> WONG, 1987.
<i>Chlamydomonas eugametos</i>	-	120 (12 dias)	HUTCHINSON, 1973 <i>apud</i> WONG, 1987.
<i>Chlamydomonas vulgaris</i>	-	60 (33 dias)	ROSKO & RACHLIN, 1977 <i>apud</i> WONG, 1987.

Esta larga gama de concentrações efetivas para respostas de toxicidade do fitoplâncton à metais é devido à diferenças morfológicas e fisiológicas tais como capacidade de produzir componentes extra-celulares capazes de modificar a toxicidade de metais (SPENCER & GREENE, 1981), capacidade de acumulação de metais (CONWAY & WILLIAM, 1979), especificidade de sítios na membrana onde ocorrem apenas a adsorção de metais (COSSA, 1976), estruturas celulares internas

(HART & SCAIFE, 1977 *apud* WONG, 1987) e fatores relacionados a filogenia destas diferentes espécies (WÄNBERG & BLACK, 1988).

Outro importante fator que contribui para esta variabilidade de respostas está relacionada às características de planejamento do experimento. Exemplo citado por WONG (1987) relata um experimento em que um número de diferentes espécies foram examinadas sob diferentes condições de exposição e uma variedade de parâmetros foram determinados (taxa de crescimento, mudanças morfológicas, mudança do conteúdo de clorofila e atividade bioquímica). Esta situação foi ainda mais complicada pelo uso de agentes complexantes (EDTA) no meio de cultura (BARTLETT *et al.*, 1974; CAIN *et al.*, 1980 *apud* WONG, 1987) que complexou o cádmio presente mascarando desta forma sua verdadeira toxicidade. Poucos estudos seguiram o protocolo de teste padrão de toxicidade de algas (APHA, 1985) com respeito aos organismos teste, técnicas de cultivo, temperatura, iluminação e parâmetros de medidas (taxa de crescimento) recomendados.

Com base nos resultados obtidos verificou-se que ocorreu grande variabilidade de resposta no crescimento algal (50% em 96 horas) sob a influência de cádmio nas diversas espécies chegando a diferenças entre 6 a 3.000 µg/L Cd para quatro espécies de algas testadas. Para períodos de testes maiores estas respostas são mais uniformes, oscilando entre 55 e 120 µg/L Cd (Tabela 2).

Como já citado anteriormente, a toxicidade de metais está relacionada à assimilação intra ou extracelular. CONWAY & WILLIAMS (1979) relatam que a concentração de 9 µg/L Cd não apresentou efeito sobre o crescimento de *Fragilaria crotonensis* enquanto para outra diatomácea, *Asterionella formosa*, o coeficiente de crescimento foi reduzido para cerca de 50%. Foi determinado que a acumulação de cádmio foi três vezes menor in *F. crotonensis* que em *A. formosa* e que a adsorção passiva de *F. crotonensis* pode ter resultado em menor acumulação do cádmio na sua própria célula. O trabalho de SAKAGUCHI *et al.* (1979) *apud* WONG (1987) enfatiza a importância do local da acumulação. Eles encontraram que concentrações de até 20.000 µg/L Cd teve pequeno efeito no crescimento de *Chlorella regularis*,

aparentemente porque o cádmio foi adsorvido passivamente, isto é, extracelularmente.

Outros parâmetros além do coeficiente de crescimento também mostraram-se dependentes da concentração intracelular do cádmio. Por exemplo, o grau de inibição das taxas de fixação de CO₂ e de produção de O₂ de *Chlorella pyrenoidosa* exposta a concentrações de 250, 500 e 1.000 µ/L Cd. As taxas de produção de O₂ foram correlacionadas com a acumulação intracelular de cádmio (HART & SCAIFES, 1977). O Relatório da USEPA (1980) registra valores entre 1 e 8.000µg/L de chumbo como necessários para causarem toxicidade em clorofíceas.

Os resultados obtidos para as variáveis físico-químicas e biológicas, dos experimentos de toxicidade de metais na produção primária de comunidades fitoplanctônicas naturais encontram-se expostas nas Tabelas 3 a 17 e Figuras 1 a 6.

A comunidade fitoplanctônica proveniente do Reservatório do Lobo, submetida ao experimento com diferentes concentrações de cádmio e cromo, foi amplamente dominada pelo grupo das clorofíceas, com 65% do total de indivíduos (Tabelas 5 e 6 e Figura 1), sendo as desmidiáceas (clorofíceas) responsáveis por 21%. As espécies *Eutetramorus* sp e *Closterium turgidum* e *Monoraphidium tortile* foram as mais abundantes entre as clorofíceas. As diatomáceas, representada principalmente por *Coscinodiscus* sp, responderam por cerca de 26% do total da comunidade fitoplanctônica. Os grupos das cianofíceas, dinofíceas, crisofíceas apresentaram baixas densidade populacionais.

As clorofíceas constituem-se no grupo mais diversificado dentro da divisão das algas. *Eutetramorus* sp e *Monoraphidium tortile* fazem parte do grupo das Chlorococcales que são algas típicas de ambientes com grande penetração de luz. Devido ao seu tamanho grande e ausência de movimentos próprios, estas algas dependem do transporte por turbulência para mantê-las suspensas no epilimnion. Crescem durante curtos períodos e apresentam um crescimento rápido. *Closterium turgidum*, como as demais Desmidiáceas, são algas persistentes em comunidades

fitoplanctônicas e durante muitos anos permanecem em pequeno número. Grandes densidades e abundâncias destas algas são freqüentemente derivadas de populações bênticas ou perifíticas arrastadas pela mistura da coluna de água causada pelo vento (HAPPEY-HOOD, 1988). A presença de Diatomáceas como *Coscinodiscus* e *Cyclotella*, também são indícios de ambientes com grande ação do vento, pois estas algas também são contempladas por períodos de mistura porém com menor penetração de luz (REYNOLDS, 1984).

As curvas respostas da produção primária da comunidade fitoplanctônica à presença dos metais cádmio e cromo foram semelhantes e inversamente proporcionais às concentrações destes elementos (Figura 2). Os maiores valores de produção primária foram obtidos pelas comunidades fitoplanctônicas contidas nos frascos de controle (sem a adição de metais). Amostras com comunidades fitoplanctônicas tratadas com concentrações a partir de 1 mg/L de cádmio ou de cromo exibiram valores de produção primária cerca de 80% menores do que as amostras não tratadas com metais (Tabela 7).

Observando os valores de produção primária obtidos sob diferentes concentrações de chumbo (Figura 4, Tabela 12) não foram encontradas diferenças significativas entre as várias amostras, valores estes próximos a $2 \text{ mgC} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$. As exceções registradas ficam por conta da amostra tratada com a maior concentração de chumbo (5,0 mg/L) e as amostras encubadas no escuro (DF – Pb). Supõe-se que estes altos valores obtidos decorram de erros metodológicos, como a adsorção deste metal em partículas retidas pelo filtro, pois a primeira não possui clorofila suficiente (Tabela 9) para produzir cerca de $50 \text{ mgC} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$, enquanto que os valores de fixação de carbono no escuro da segunda amostra é totalmente irreal.

Analisando a comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo amostrada para o experimento com chumbo (Tabelas 10 e 11 e Figura 3), observa-se que o grupo dominante é o das diatomáceas com cerca de 74% do total de organismos fitoplanctônicos, sendo a espécie mais abundante *Melosira distans*. O grupo das diatomáceas é típica de ambientes com turbulência, pois suportam o constante

transporte através das zonas eufóticas e afóticas (TALLING, 1966; TUNDISI, 1983). As condições necessárias para o predomínio das diatomáceas inclui uma grande relação Si:P e a presença de turbulência em toda a coluna. A turbulência tem duas funções: contribuir para o aumento da concentração de sílica na coluna d'água retirando-a das camadas mais profundas; e manter as algas na coluna d'água pelo constante transporte, impedindo-as de afundar. Em condições hidrodinâmicas estáveis a taxa de afundamento destas algas não permite que elas se mantenham na coluna d'água. Além disso estas algas também tem menor necessidade de luz que os outros grupos, condição esta também intensificada com o aumento da turbulência e transporte (SOMMER, 1988).

Supõe-se que a predominância dos processos de turbulência do Reservatório do Lobo seja a responsável pela não influência do chumbo na produção primária desta amostra do fitoplâncton. O chumbo, ao contrário do cádmio e do zinco, encontra-se principalmente associado com a fração particulada (PRESTON *et al.*, 1972; STUMM & MORGAN, 1996), seja em colóides ou parcialmente adsorvidos em partículas orgânicas e inorgânicas em suspensão. Devido a estas características, em períodos de intensa mistura, o chumbo permanece em baixas concentrações na forma solúvel, diminuindo desta forma sua toxicidade aos organismos.

A maciça presença de cianofícias (cianobactérias) em amostras coletadas na Lagoa Pedreira (Tabelas 15 e 16 e Figura 5) deve-se ao alto grau de eutrofização deste ambiente. As espécies mais abundantes dentro deste grupo são *Microcystis aeruginosa* e *Chroococcus* sp, duas espécies do grupo das Chroococcales. A espécie *M. aeruginosa* é típica de ambientes eutróficos ou hipereutróficos estratificados. A existência de mecanismos de controle de sua posição na coluna de água, através de vacúolos gasosos permite a estas cianobactérias o domínio de ambientes estratificados e com grandes concentrações de nutrientes dissolvidos (REYNOLDS, 1987; PEARL, 1988).

Estas condições provavelmente influenciam a disponibilidade de chumbo, pois uma vez estratificado o lago ou reservatório a quantidade de material em suspensão

diminui e com ela aumenta a oferta de chumbo solúvel. Neste caso o chumbo está disponibilizado em sua maior parte na forma solúvel que é tóxica às algas. Não foi detectada diferença nas respostas às concentrações de cádmio e cromo para as cianobactérias (Tabela 17e Figura 6). No caso do cádmio pode-se especular que uma vez inoculado ele permanece na forma solúvel mas é rapidamente precipitado por carbonatos que se formariam devido às condições alcalinas resultantes da intensa atividade fotossintética da amostra e por polissacarídeos excretados pelo fitoplâncton.

Corroborando a suposição acima descrita, CAMPBELL & STOKES (1985) relatam a influência do pH na especiação de metais e na indução de mudanças na adsorção de metais em superfícies biológicas. Segundo estes autores, o elemento cádmio (além do zinco e do cobre) torna-se mais tóxico com o aumento do pH, ao passo que o chumbo possui comportamento oposto, tal como observado no experimento com a comunidade fitoplanctônica da Lagoa Pedreira. PAWLIK *et al.*, (1993) também relatam a forte dependência do pH no transporte de cádmio para dentro de células de cianofíceas em experimentos de 40 minutos, cujos maiores valores (de transporte) encontram-se em pH alcalino (7,5) e valores consideravelmente reduzidos em baixos pHs. Este transporte de cádmio, segundo os autores, diminui drasticamente a atividade fotossintética e perturba os processos à ela relacionados.

Segundo HART & SACIFE (1977), diferenças na sensibilidade entre diferentes grupos de algas (clorofíceas e cianofíceas) podem estar relacionadas com a estrutura das células individuais. As algas verdes possuem cloroplastos para realizar a fotossíntese enquanto as algas azuis não os possuem. Com a ausência de membranas que isole estes sítios fotossintéticos estes processos nas cianofíceas são realizados no citoplasma. HART (1975) sugere que as clorofíceas têm maior tolerância, provavelmente devido as complexações que metais como cádmio, sofrem no citoplasma, evitando desta maneira que ele alcance o cloroplasto.

No presente estudo não foi possível detectar tais diferenças de sensibilidade a metais como devida exclusivamente à natureza dos diferentes grupos fitoplanctônicos. Para

isto seria necessário o isolamento de espécies e a realização de testes de toxicidade em culturas axênicas. No entanto o estudo sugere que alguns processos tais como estratificação, mistura da coluna de água e produção primária são importantes para determinar-se a especiação de metais e conseqüentemente sua toxicidade.

A Resolução CONAMA 20/86 Decreto 8468 estabelece limites de algumas variáveis para corpos de água destinados ao abastecimento doméstico, proteção às comunidades aquáticas, recreação de contato primário, irrigação de hortaliças e plantas frutíferas e aquicultura (classificados como pertencentes as Classes 1 e 2). Entre estas variáveis estão os três metais testados no presente estudo com os seguintes valores máximos permitidos para os referidos corpos de água:

Cádmio: $0,001 \text{ mg.L}^{-1}$

Cromo: $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$

Chumbo: $0,03 \text{ mg.L}^{-1}$

Utilizando-se os valores máximos estabelecidos pela Resolução CONAMA 20/86 nos testes de toxicidade para o fitoplâncton natural, podemos observar que estas concentrações influenciam um dos aspectos ecológicos mais relevantes do funcionamento da comunidade fitoplanctônica, que é sua produtividade primária.

Na Tabela 7 podemos observar que ocorreu redução de cerca de 25% da produção primária do fitoplâncton da Represa do Lobo para testes cujas concentrações de cádmio foram dez vezes maiores ($0,01 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Cd}$) à concentração permitida para este elemento, enquanto para o cromo a concentração máxima permitida ($0,05 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Cr}$) foi responsável pelo decréscimo de 22% deste mesmo processo. O elemento chumbo apresentou cerca de 30% de redução na produção primária da comunidade fitoplanctônica da Lagoa Pedreira quando presente em concentração um terço menor que a permitida ($0,01 \text{ mg/l}^{-1} \text{ Pb}$), devido à sua provável especiação, como já discutido anteriormente (Tabela 17).

Tabela 3. Concentrações de nutrientes inorgânicos do Reservatório do Lobo (Itirapina – SP) em 21/01/99.

	NO₂ (µg/L)	NO₃ (µg/L)	NH₃ (µg/L)	PO₄ Inorg. (µg/L)	PO₄ Total Dis. (µg/L)	SiO₂ (mg/L)
Dissol. – início	2,24	8,43	28,97	5,29	8,49	1,28
Dissol – final	3,69	8,26	38,00	8,95	16,26	1,77

Tabela 4. Concentrações de carbono orgânico e inorgânico total e clorofila do Reservatório do Lobo (Itirapina – SP) em 21/01/99.

	Carbono Orgânico (mg.L⁻¹)	Carbono Inorgânico (mg.L⁻¹)	Carbono Total (mg.L⁻¹)	Clorofila (µg.L⁻¹)
Total – início	5,918	1,131	7,046	5,98
Total – final	4,656	0,900	5,556	6,67

Tabela 5. Abundância relativa e absoluta da comunidade fitoplancônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 21/01/99.

Taxa	Densidade (Org.L⁻¹)	Abundância Relativa
Diatomaceas		
<i>Aulacoseira granulata</i>	97.796	2,75%
<i>Aulacoseira italica</i>	12.224	0,34%
<i>Coscinodiscus</i>	562.326	15,86%
<i>Cyclotella sp</i>	195.592	5,48%
<i>Fragillaria</i>	36.673	1,02%
<i>Pinnularia biceps</i>	12.224	0,34%
<i>Pinnularia gibba</i>	12.224	0,35%
<i>Synedra</i>	12.224	0,35%
Sub-total	941.285	26,49%
Clorofíceas		
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	36.673	1,03%
<i>Coelastrum scabrum</i>	12.224	0,34%
<i>Crucigenia quadrata</i>	73.347	2,08%
<i>Euastrum inulares</i>	36.673	1,04%
<i>Eutetramorus sp</i>	550.102	15,57%
<i>Gloeocystis ampla</i>	12.224	0,35%
<i>Micrasterias radiosa</i>	12.224	0,34%
<i>Monoraphidium contortum</i>	36.673	1,04%
<i>Monoraphidium tortile</i>	391.184	11,05%
<i>Oocystis lacustris</i>	24.449	0,69%
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	24.449	0,69%
<i>Scenedesmus acutus</i>	12.224	0,34%
<i>Schorederia sp</i>	146.694	4,13%
<i>Selenastrum bibrainum</i>	36.673	1,05%
<i>Sphaerocystis sp</i>	146.694	4,12%
Sub-total	1.552.510	43,85%
Desmidiáceas		
<i>Closterium macilentum</i>	36.673	1,04%
<i>Closterium turgidum</i>	415.633	11,73%
<i>Cosmarium depressum</i>	12.224	0,34%
<i>Cosmarium psedeubroomei</i>	73.347	2,05%
<i>Staurastrum leptocladum</i>	61.122	1,74%
<i>Staurodesmus validus</i>	146.694	4,16%
Sub-total	745.694	21,05%
Cianofíceas		
Cyanofíceas não identificada	12.224	0,35%
<i>Merismopedia tenuissima</i>	24.449	0,68%
<i>Oscillatoria sp</i>	12.224	0,35%
Sub-total	48.898	1,38%
Dinofíceas		
<i>Pseudoperidinium sp</i>	12.224	0,34%
Sub-total	12.224	0,34%
Crisofíceas		
<i>Mallomonas longiseta</i>	48.898	1,39%
<i>Dinobrium cylindricum</i>	24.449	0,00%
Sub-total	73.347	1,39%
Não identificadas	171.143	4,82%
Total	3.545.101	100,00%

Tabela 6. Abundância absoluta da comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 21/01/99.

Taxa	Densidade (Org.L ⁻¹)
Diatomaceas	941.285
Clorofíceas	1.552.510
Desmidiáceas	745.694
Cianofíceas	48.898
Dinofíceas	12.224
Crisofíceas	73.347
Não identificadas	171.143
Total	3.545.101

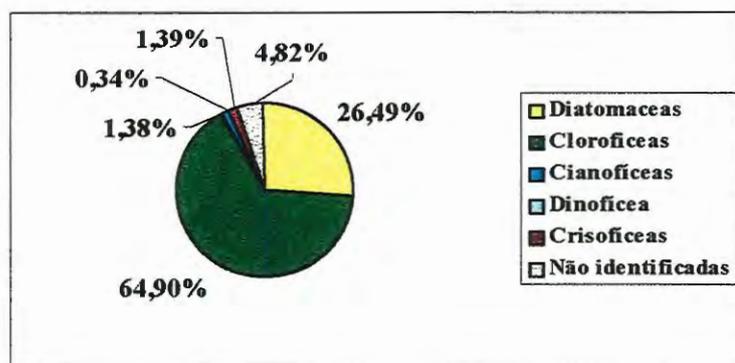


Figura 1. Abundância relativa da comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 21/01/99.

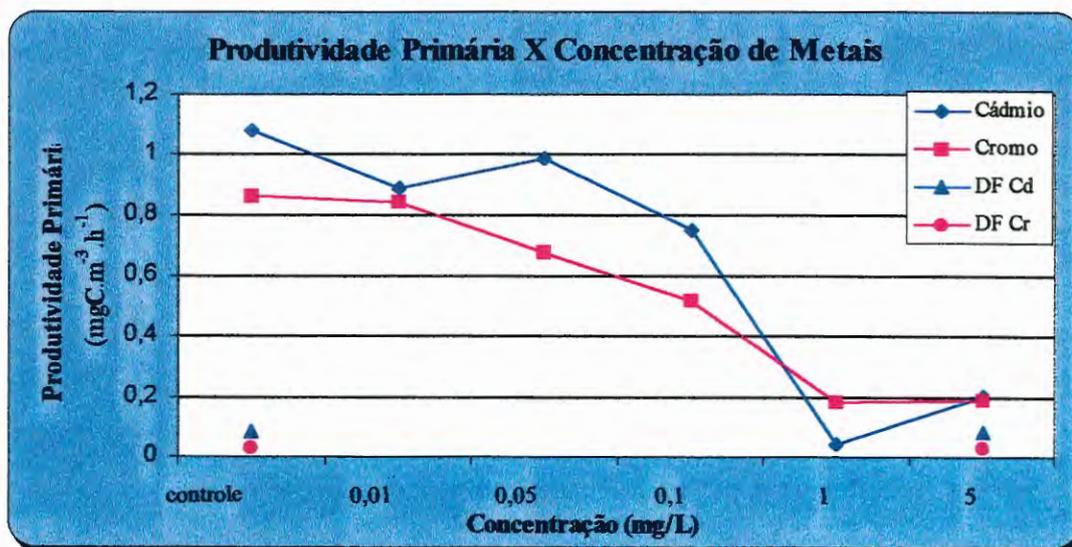


Figura 2. Valores de produtividade primária à diferentes concentrações de cádmio e cromo.
DF- Fixação de carbono no escuro

Tabela 7. Valores de produção primária das comunidades fitoplanctônicas do Reservatório do Lobo sob diferentes concentrações de cádmio e chumbo. (21/01/99).

Metal	Concentração (mg.L⁻¹)	Prod. Primária (mg C.m⁻³.h⁻¹)	%
Cádmio	controle	1,0824	100
	0,01	0,8927	82,41
	0,05	0,9876	91,67
	0,1	0,7542	69,44
	1	0,0473	4,63
	5	0,2038	18,51
Cromo	controle	0,8666	100
	0,01	0,8438	96,55
	0,05	0,6804	78,16
	0,1	0,5211	59,77
	1	0,1819	20,69
	5	0,1901	21,84

Tabela 8. Concentrações de nutrientes inorgânicos do Reservatório do Lobo (Itirapina – SP) em 11/06/99.

	NO₂ (µg/L)	NO₃ (µg/L)	NH₃ (µg/L)	Nitrog. Kjedhal (mg/L)	PO₄ Inorg. (µg/L)	PO₄ Total Dis. (µg/L)	P Total (µg/L)	SiO₂ (mg/L)
Dissol – início	0,26	12,31	13,18	0,61	4,52	2,20	21,52	0,20
Total – início	4,04	135,42	87,05	0,75	10,65	15,52	34,65	1,27

Tabela 9. Concentrações de carbono orgânico e inorgânico total e clorofila do Reservatório do Lobo (Itirapina – SP) em 11/06/99.

	Carbono Orgânico (mg.L⁻¹)	Carbono Inorgânico (mg.L⁻¹)	Carbono Total (mg.L⁻¹)	Clorofila (µg.L⁻¹)
Total – início	6,907	0,748	7,655	6,55
Dissolvido – início	4,993	0,878	5,871	
Total – final	3,638	0,910	4,548	7,01
Dissolvido – final	3,452	0,820	4,272	

Tabela 10. Abundância relativa e absoluta da comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 11/06/99.

Taxa	Densidade (Org.L⁻¹)	Abundância Relativa
Diatomaceas		
<i>Asterionella japonica</i>	13.971	1%
<i>Aulacoseira granulata</i>	139.708	5%
<i>Cymbella sp</i>	6.985	0%
<i>Cyclotella sp</i>	62.869	2%
<i>Fragillaria sp</i>	55.883	2%
<i>Melosira distans</i>	1.585.690	62%
<i>Surirella sp</i>	6.985	0%
<i>Synedra sp</i>	27.942	1%
Sub-total	1.900.034	74%
Clorofíceas		
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	41.913	2%
<i>Coelastrum reticulatum</i>	83.825	3%
<i>Crucigenia excavata</i>	27.942	1%
<i>Clamidomonas sp</i>	76.840	3%
<i>Chlorella vulgares</i>	6.985	0%
<i>Dactyloccopsis sp</i>	6.985	0%
<i>Eutetramorus fotti</i>	55.883	2%
<i>Kirchinella ovata</i>	13.971	1%
<i>Monoraphidium minutum</i>	230.519	9%
<i>Monoraphidium tortile</i>	27.942	1%
<i>Oocystis lacustris</i>	6.985	0%
<i>Pediastrum duplex</i>	6.985	0%
<i>Pyraminomas sp</i>	6.985	0%
Sub-total	593.761	23%
Desmidiáceas		
<i>Closterium turgidum</i>	6.985	0%
<i>Cosmarium depressum</i>	6.985	0%
<i>Staurastrum leptocladum</i>	34.927	1%
Sub-total	48.898	2%
Cianofíceas		
<i>Oscillatoria sp</i>	6.985	0%
Sub-total	6.985	0,3%
Euglenofícias		
<i>Phacus sp</i>	6.985	0%
Sub-total	6.985	0,3%
Crisofíceas		
<i>Mallomonas longiseta</i>	13.971	1%
<i>Dinobrium cylindricum</i>	6.985	0%
Sub-total	20.956	1%
Total	2.577.620	100%

Tabela 11. Abundância absoluta da comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 11/06/99.

Taxa	Densidade (Org.L ⁻¹)
Diatomáceas	1.900.034
Clorofíceas	593.761
Desmidiáceas	48.898
Cianofíceas	6.985
Euglenofíceas	6.985
Crisofíceas	20.956
Total	2.577.620

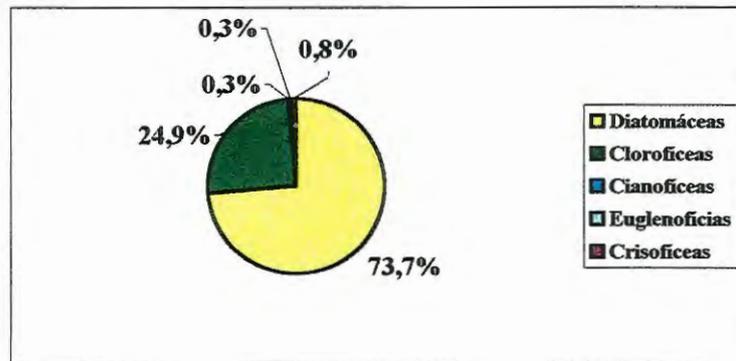


Figura 3. Abundância relativa da comunidade fitoplanctônica do Reservatório do Lobo (Itirapina/SP) em 11/06/99.

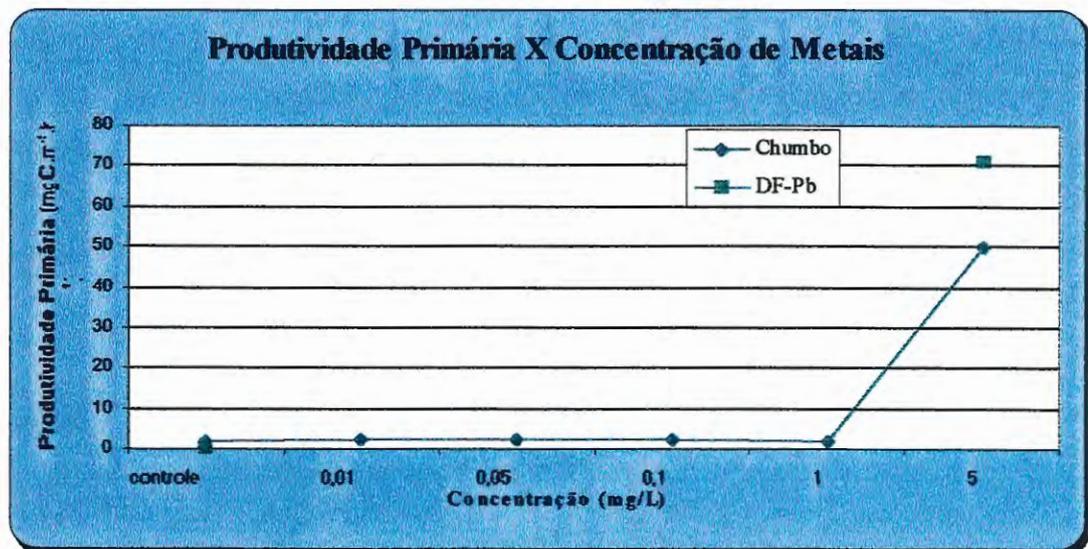


Figura4. Valores de produtividade primária à diferentes concentrações de chumbo. DF- Fixação de carbono no escuro

Tabela 12. Valores de produção primária das comunidades fitoplanctônicas do Reservatório do Lobo sob diferentes concentrações de chumbo (11/06/99).

Metal	Concentração (mg.L⁻¹)	Prod. Primária (mg C.m⁻³.h⁻¹)	%
Chumbo	controle	2,149	100
	0,01	2,305	107,26
	0,05	2,327	108,29
	0,1	2,259	105,11
	1	1,909	88,83
	5	49,918	2.322,85

Tabela 13. Concentrações de nutrientes inorgânicos da Lagoa Pedreira (São Carlos – SP) em 18/06/99.

	NO₂ (µg/L)	NO₃ (µg/L)	NH₃ (µg/L)	Nitrog. Kjedhal (mg/L)	PO₄ Inorg. (µg/L)	PO₄ Total Dis. (µg/L)	P Total (µg/L)	SiO₂ (mg/L)
Dissol – início	1,47	13,51	13,69	0,15	3,60	6,06	26,91	7,20
Total – início	5,65	139,80	97,13	0,25	16,59	21,59	28,51	-

Tabela 14. Concentrações de carbono orgânico e inorgânico total e clorofila da Lagoa Pedreira (São Carlos – SP) em 18/06/99.

	Carbono Orgânico (mg.L⁻¹)	Carbono Inorgânico (mg.L⁻¹)	Carbono Total (mg.L⁻¹)	Clorofila (µg.L⁻¹)
Total – início	16,02	1,53	17,55	26,32
Dissolvido – início	4,688	1,921	6,609	
Total – final	15,78	1,40	17,18	25,40
Dissolvido - final	2,551	0,993	3,544	

Tabela 15. Abundância relativa e absoluta da comunidade fitoplânctônica da Lagoa Pedreira (São Carlos/SP) em 18/06/99.

Taxa	Densidade (Org.L⁻¹)	Abundância Relativa
Diatomaceas		
<i>Aulacoseira italica</i>	13.971	0,3%
<i>Cyclotella sp</i>	41.913	0,8%
<i>Navicula sp</i>	13.971	0,3%
Sub-total	69.854	1,4%
Cloroficeas		
<i>Coelastrum reticulatum</i>	13.971	0,3%
<i>Clamydomonas sp</i>	125.738	2,5%
<i>Chlorella vulgares</i>	27.942	0,6%
<i>Eutetramorus fotti</i>	27.942	0,6%
<i>Kirchinella ovata</i>	13.971	0,3%
<i>Monoraphidium minutum</i>	27.942	0,6%
<i>Monoraphidium tortile</i>	13.971	0,3%
<i>Oocystis lacustris</i>	13.971	0,3%
<i>Pyraminomas sp</i>	13.971	0,3%
Sub-total	279.417	5,6%
Dinoflagelados		
<i>Peridinium sp</i>	27.942	0,6%
Sub-total	27.942	0,6%
Cianoficeas		
<i>Microcystis aeruginosa</i>	2.193.422	44,0%
<i>Chroococcus sp</i>	2.305.189	46,2%
Sub-total	4.498.611	90,2%
Crisoficeas		
<i>Mallomonas longiseta</i>	13.971	0,3%
<i>Dinobrium sertularia</i>	97.796	2,0%
Sub-total	111.767	2,2%
Total	4.987.590	100,0%

Tabela 16. Abundância absoluta da comunidade fitoplanctônica da Lagoa Pedreira (São Carlos/SP) em 18/06/99.

Taxa	Densidade (Org.L-1)
Diatomaceas	69.854
Clorofíceas	279.417
Dinoflagelados	27.942
Cianofíceas	4.498.611
Crisofíceas	111.767
Total	4.987.590

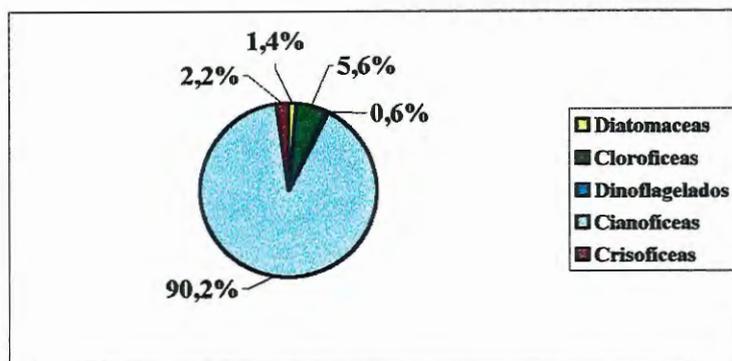


Figura 5. Abundância relativa da comunidade fitoplanctônica da Lagoa Pedreira (São Carlos/SP) em 18/06/99.

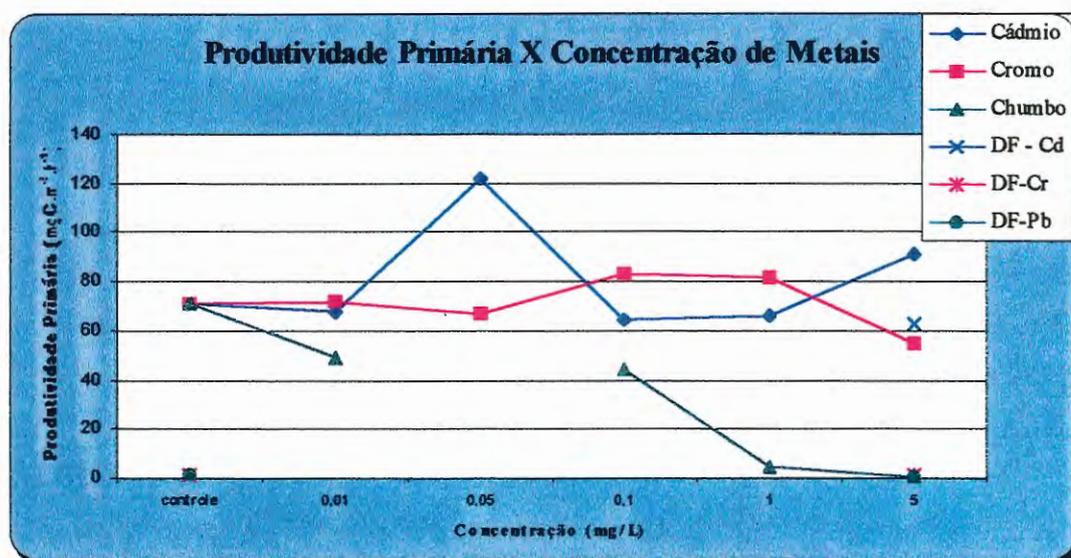


Figura 6. Valores de produtividade primária à diferentes concentrações de cádmio, cromo e chumbo.

DF- Fixação de carbono no escuro

Tabela 17. Valores de produção primária das comunidades fitoplanctônicas da Lagoa Pedreira sob diferentes concentrações de cádmio, cromo e chumbo (18/06/99).

Metal	Concentração (mg.L⁻¹)	Prod. Primária (mg C.m⁻³.h⁻¹)	%
Cádmio	controle	71,12	100,00
	0,01	67,577	95,02
	0,05	121,995	171,54
	0,1	68,844	91,17
	1	66,086	92,92
	5	91,352	128,45
Cromo	controle	71,12	100,00
	0,01	72,368	101,75
	0,05	67,412	94,78
	0,1	83,392	117,26
	1	81,7	114,88
	5	54,822	77,08
Chumbo	controle	71,12	100,00
	0,01	49,368	69,42
	0,05	-	-
	0,1	44,607	61,96
	1	5,138	7,22
	5	0,931	1,3

4.2. Toxicidade de metais para o organismo zooplanctônico *Ceriodaphnia silvestrii* (cladóceras)

Os estudos de ecotoxicologia devem estar atentos as elevadas taxas e tipos de mudanças econômicas em marcha neste fim de século, marcada quase unanimemente por um modelo econômico promotor da economia global, mas com mercados voltados para a produção variada e específica. Segundo CAIRNS (1993) estes fatos parecem indicar, no campo da ecotoxicologia, que o uso de espécies autóctones nos testes de toxicidade gradualmente substituirão as espécies atualmente usadas em testes já padronizados tais como *Ceriodaphnia dubia*, “fathead minnow”, *Selenastrum capricornutum*. O autor argumenta que estas três espécies são freqüentemente utilizadas para determinar a toxicidade de efluentes em ambientes aquáticos nos quais não possuem nenhuma relevância ecológica ou mesmo ocorrência.

A ausência em nossos ecossistemas aquáticos destas espécies utilizadas em testes ecotoxicológicos padronizados em regiões temperadas, aumenta ainda mais o grau de incerteza para a consecução de um dos importantes objetivos da ecotoxicologia que é o estabelecimento eficiente da avaliação da qualidade de água. Segundo BAIRD (1995) este procedimento é dificultado pela complexidade inerente e pela variabilidade dos ecossistemas naturais, além da dificuldade de extrapolar-se resultados obtidos em testes laboratoriais para situações de exposição real destes organismo no seu habitat à estresses antropogênicos.

A região tropical abriga cerca de 75% da biodiversidade do planeta e tem sido rapidamente degradada por uma industrialização desprovida de critérios para proteção ambiental, fiscalização e tecnologia adequada para despoluição ou tratamento de resíduos. O número de pesquisas a respeito dos impactos de contaminantes em ecossistemas de nossa região é muito pequeno; mesmo as particularidades das variáveis físicas e químicas que afetam os processos bióticos continuam pouco estudados (LACHER & GOLDSTEIN, 1997).

O conhecimento existente na região temperada sobre a destinação e transporte de contaminantes não se aplica à região tropical devido as características peculiares, tais como a combinação de altas temperaturas e precipitação (BORDEAU *et al.*, 1989 *apud* LACHER & GOLDSTEIN, 1997). Além disso, por possuir maior biodiversidade, a região tropical tem um número maior de espécies afetadas por compostos tóxicos, inclusive espécies raras, que até nossos dias continuam sendo descritas. Esta maior biodiversidade provavelmente propicia uma interação mais complexa entre as espécies (LACHER & GOLDSTEIN, 1977), tornando o estudo dos efeitos indiretos destas substâncias mais complexo. Segundo estes autores, “a ecotoxicologia em regiões tropicais não é meramente uma extensão dos métodos e técnicas desenvolvidas em latitudes temperadas”, novas abordagens devem ser desenvolvidas para aprofundar-se a compreensão dos efeitos de poluentes em suas biotas.

Desta forma, torna-se de grande relevância os estudos ecotoxicológicos baseados em espécies locais que sejam representativas de nossos ecossistemas valendo-se da sua importância ecológica. A determinação de valores de CE50, CENO, CEO, etc. de substâncias de referência para espécies endógenas não só aprofunda o conhecimento da sensibilidade de nossas biotas à agentes tóxicos como também constitui-se em ferramenta mais realista para definir-se critérios de qualidade de água e lançamentos de efluentes em nossos corpos de água.

Embora o processo de rápida deterioração da qualidade de água de nosso estado não seja objeto principal deste trabalho é relevante a abordagem e discussão deste evento como agente ameaçador de nossas comunidades aquáticas e também para o estabelecimento de procedimentos regionais quantos aos estudos ecotoxicológicos, pois aumenta o número de espécies potencialmente indicadoras e com capacidade preditiva a serem estudadas e utilizadas.

A escolha de espécies como organismos-teste leva em conta, entre outras características, a importância ecológica. A Família Daphnidae, que inclui os gêneros *Daphnia* e *Ceriodaphnia*, são microcrustáceos de água doce, pertencentes à Classe

Crustacea, Ordem Cladocera. Apresentam uma ampla distribuição em ambientes temperados, sendo que, ambos os gêneros, abundantes em lagos e reservatórios, desempenham um papel importante para a transferência de energia de um nível trófico a outro, além de serem alimento para muitas espécies de peixes.

Os dafnídeos são organismos planctônicos, reproduzem-se por partenogênese e durante a maior parte do ano a população natural é constituída apenas de fêmeas. O aparecimento de machos parece estar associado à baixas temperaturas, alta densidade de organismos com acúmulo subsequente de produtos de excreção e baixa disponibilidade de alimentos. Essas condições adversas levam a uma diferenciação das fêmeas com aparecimento de efípios, pelo escurecimento de parte das valvas que cobrem a câmara incubadora e aumento dos tegumentos (FONSECA, 1991; RAND et al., 1995).

O número de ovos partenogenéticos é variável entre e inter espécies e está relacionado com a qualidade e quantidade de alimentos e outros fatores físicos tais como, temperatura, intensidade luminosa, concentração de oxigênio dissolvido, pH e concentração de íons entre outros (FONSECA, 1991).

A proposição do uso de espécies da família Daphnidae como organismos-teste se deve ao fato de apresentarem a maioria dos requisitos exigidos tais como: representatividade dentro de um grupo ecológico em termos de taxonomia ou nível trófico, facilidade de cultivo e de manutenção em laboratório, estabilidade genética, conhecimento da biologia da espécie e sensibilidade a uma grande variedade de contaminantes ambientais (FONSECA, 1991; RAND et al., 1995).

Espécies do gênero *Ceriodaphnia* são morfológicamente semelhantes às espécies do gênero *Daphnia*, só que menores e com ciclo de vida mais curto. Pouco utilizada até 1984, a partir dos últimos 11 anos sua utilização cresceu bastante, principalmente em

testes de toxicidade agudo e crônico com afluentes industriais (BOHRER, 1995; STEWART *et al.*, 1990; STEWART & KONETSKY, 1998; WINNER, 1988).

A espécie *Ceriodaphnia silvestrii* foi escolhida como organismo teste por ser uma espécie autóctone, de ocorrência comum nos lagos, lagoas e reservatórios do Estado de São Paulo (MATSUMURA-TUNDISI, *apud* FONSECA, 1991) além de tanques empregados na aquicultura (DURIGAN, 1990), ocorrendo em locais onde o pH varia entre 4,0 e 8,0 (FONSECA, 1998). Foi originalmente descrita por DADAY em 1902, a partir do material coletado pelo Dr. FILLIPO SILVESTRI na Patagônia durante os anos 1899-1990. É uma espécie de corpo globoso, quase esférico terminando em um curto espinho agudo, cabeça relativamente pequena e separada do corpo por um acentuado sinus cervical (FONSECA, 1991).

Poucas são as espécies nativas padronizadas e empregadas em testes de toxicidade aguda e crônica com efluentes industriais, compostos químicos e amostras ambientais. Uma das principais dificuldades para a utilização de tais organismos é a falta de dados sobre biologia e ecologia dessas espécies, sendo esses, a base dos requisitos necessários para a adoção dos organismos testes (RAND, 1980; GIESY & HOKE, 1989).

FONSECA (1991, 1996) estudou a biologia e o comportamento da espécie nativa *Ceriodaphnia silvestrii*, em testes de toxicidade com efluentes industriais (têxtil e vinhaça) e amostras ambientais de locais contaminados. Em relação ao ciclo de vida (crescimento individual, crescimento populacional, biomassa, fecundidade e longevidade), para condições de cultivo em laboratório, com concentração alimentar de 10^5 céls/ml da cloroficea *Monoraphidium dibowiski* e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, os resultados obtidos foram os seguintes: taxa intrínseca de aumento natural da população (r) de 0,32, com um número total de indivíduos em 19 dias, de 27.343; o crescimento do corpo atingiu 1,00 mm, sendo o comprimento da primípara de 0,769mm e da última maturação de $1,04 \pm 0,04$ mm; taxa de fecundidade de $9,46 \pm 4,17$



ovos/fêmea; longevidade média de $29,8 \pm 5,89$ dias; valores de biomassa, expressos na forma de peso seco (μg) para as fases de neonata (100 indivíduos) e primípara (50 indivíduos), de $8 \pm 1,69$ e de $9,7 \pm 3,3$, respectivamente.

Os resultados obtidos nos testes de toxicidade com efluentes industriais (têxtil e vinhaça), amostras ambientais e substância referência (cloreto de cádmio) mostraram que essa espécie pode ser adequada para utilização em bioensaios devido à sua sensibilidade, igual ou maior quando comparada às espécies padronizadas *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* e à facilidade de cultivo em laboratório.

O zooplâncton, particularmente os microcrustáceos, são bastante sensíveis às variações de concentração de metais pesados. Concentração de apenas $0,04 \mu\text{g/L}$ de mercúrio é suficiente para provocar toxicidade crônica, causando danos à reprodução de *Daphnia magna* (BIESINGER *et ali*, 1982). Concentrações maiores ou iguais a $56 \mu\text{g/L}$ de mercúrio reduzem significativamente a sobrevivência de copépodos em ambientes naturais (BORGSMANN *et ali*, 1980). No caso do chumbo, ocorre maior tolerância de invertebrados aquáticos do que para o mercúrio. Segundo SPEHAR & FIANDT (1986), a concentração mínima de chumbo para provocar CL50 (48 horas) em *Ceriodaphnia dubia* é de $248 \mu\text{g/L}$, enquanto para *Daphnia magna* esta concentração varia entre 400 e $4.400 \mu\text{g/L}$. O grupo dos cladóceros são extremamente sensíveis à concentrações de cádmio (Tabela 5), exibindo toxicidade crônica sob concentrações entre $0,28$ e $3,0 \mu\text{g/L}$, tanto em laboratório (BIESINGER & CHRISTENSEN, 1972) como em populações naturais (MARSHAL *et al*, 1981).

Os resultados de toxicidade aguda com os metais cádmio, cromo e chumbo obtidos no presente estudo foram bastante similares em seus valores médios (VM) (Tabelas 18, 19, 20 e 21). O maior coeficiente de variação foi exibido pelo chumbo na forma de acetato de chumbo (41%) e o menor pelo cromo (28%). O coeficiente de variação para cádmio, substância padronizada como referência na forma de cloreto de cádmio, foi 37%, muito próxima ao valor encontrado por LEWIS & WEBWER (1985) *apud* ZAGATTO (1988) para esta mesma substância, refletindo a constância de respostas (repetibilidade de resultados).

Em relação ao cádmio, os resultados de toxicidade aguda obtidos com *Ceriodaphnia dubia* (então denominada *C. reticulata*) mostram variação entre 0,027 e 0,18 mg/L (Tabela 29), em um meio com dureza entre 100 e 240 mg/L CaCO₃ (SPEHAR & CARLSON, 1984). A variação dos resultados obtidos no presente estudo para *Ceriodaphnia silvestrii* foi de 0,016 a 0,110 mg/l Cd, utilizando um meio com dureza de 40 mg/L de CaCO₃. Devido provavelmente aos menores valores de dureza, o cladóceros *C. silvestrii* apresentou no presente estudo maior sensibilidade que *C. dubia* ao cádmio. Esta diferença foi mais significativa em relação aos valores crônicos. O valor da CEO, de 0,0025 mg/L obtido para *C. silvestrii* (Tabela 25) foi menor que o valor da CENO, de 0,003 mg/L apresentado na Tabela 30 para *C. reticulata*. Embora não se tenha um conjunto de dados que permita avaliar com precisão a dureza da maioria dos corpos de água do Estado de São Paulo, pode-se inferir pelas quantidades dos íons cálcio e magnésio destes corpos de água que a dureza é geralmente baixa (Tabela 28) tornando, conseqüentemente, o efeito tóxico de alguns metais potencialmente maior para as suas comunidades aquáticas.

O cádmio permanece nos sedimentos e se bioacumula nos organismos aquáticos com fatores de bioconcentração bastante elevados (12.400 para peixes e 3.160 para poliquetos marinhos). De acordo com dados de literatura, os valores de toxicidade aguda para 139 espécies de água doce e 88 marinhas variam de 0,5 e 1,1 µg.L⁻¹. O cádmio é um elemento não essencial, com efeitos tóxico e mutagênico para a biota aquática. Os efeitos para algas e invertebrados estão relacionados com aumento no volume celular e inibição do fluxo de cálcio. Para peixes os efeitos estão relacionados com inibição de vários sistemas enzimáticos, tais como os envolvidos na neurotransmissão, no transporte transepitelial, no metabolismo intermediário e nas atividades antioxidantes. Exposição crônica (concentrações não letais) tem sido relacionada com deformações no esqueleto. De um modo geral, os efeitos para vertebrados estão relacionados com hipocalcemia, decorrente da inibição do afluxo de cálcio.

Para a avaliação da toxicidade do cromo, utilizou-se o dicromato de potássio, composto que tem sido largamente empregado como substância referência para os bioensaios com peixes e invertebrados, por apresentar as características necessárias para uma substância referência, tais como: disponibilidade do produto com grau elevado de pureza, solubilidade em água, toxicidade em concentrações baixas, letalidade rápida, toxicidade não específica para peixes e invertebrados, toxicidade consistente, especialmente dentro de uma faixa de pH e ser reconhecida como contaminante ambiental (ZAGATTO, 1988; BOHRER, 1995).

Apesar de ser um micronutriente importante para o metabolismo de animais e plantas, o cromo, em concentrações mais elevadas causa efeitos tóxicos e, sua toxicidade para a biota aquática é função de sua especiação química (Cr^{3+} / Cr^{6+}), como também da temperatura, dureza, salinidade e pH (BOHRER, 1995).

Os resultados confirmam que o dicromato de potássio é uma substância-referência altamente confiável também para a espécie *Ceriodaphnia silvestrii*. A faixa de sensibilidade desta espécie para o cromo variou de 0,020 a 0,072 mg/l e o CE(I) de 0,046 mg/l. Em trabalho anterior realizado com esta mesma substância de referência e também com a espécie de cladóceros *Ceriodaphnia silvestrii*, TAKENAKA (1999) encontrou grande variabilidade para os testes de toxicidade aguda utilizando dicromato de potássio como substância-referência.

A sensibilidade ao dicromato de potássio para as diferentes espécies do gênero *Daphnia* varia de acordo com a espécie. Para *Daphnia magna* as faixas estabelecidas pelas normas americanas (ISO), francesas (AFNOR) e alemãs (DIN) são de 0,9 a 2,0 mg.L⁻¹; 0,9 a 1,5 mg.L⁻¹ e 0,9 a 1,9 mg.L⁻¹, respectivamente, para água duras, contendo 200 a 250 mg.L⁻¹ de CaCO₃. De modo geral, a toxicidade do cromo para invertebrados varia entre 0,1 a 20 mg.L⁻¹ (BOHRER, 1995).

A toxicidade do elemento chumbo para *Ceriodaphnia silvestrii* foi testada na forma dos compostos nitrato de chumbo (Tabela 20) e acetato de chumbo (Tabela 21). Embora ambos os compostos sejam considerados bastante estáveis em solução

aquosa, os resultados demonstram que existe grande variação nas respostas do organismo testado ao acetato de chumbo (faixa de sensibilidade de 0,04 a 0,20 mg/L e CV de 41%) quando comparadas ao nitrato de chumbo (faixa de sensibilidade de 0,02 a 0,08 mg/L e CV de 31%). Comparando-se os coeficientes de variação dos dois compostos de chumbo, o nitrato de chumbo revelou-se o mais adequado para uso como substância de referência para *Ceriodaphnia silvestrii*.

Os dados de toxicidade aguda de chumbo em cladóceros disponíveis na literatura (Tabela 31), cuja medida final de toxicidade é a mortalidade, apontam o gênero *Ceriodaphnia* como mais sensível a este elemento quando comparado à sensibilidade ao chumbo de três espécies do gênero *Daphnia* e uma do gênero *Ceriodaphnia*. A espécie testada neste caso foi *C. dubia* e a concentração de chumbo causadora de LC50 foi maior que a concentração deste mesmo elemento necessária para a obtenção do mesmo efeito em *C. silvestrii*, embora o experimento com *C. dubia* tenha sido realizado em meio de cultivo cujo valor da dureza foi cerca de três vezes maior.

Comparando-se os valores de toxicidade crônica obtidos com os de literatura, apresentados na Tabela 32, podemos observar diferença em relação a CTMA para as duas espécies de *Ceriodaphnia*. Considerando que a CTMA é menor que a CEO e maior que a CENO, a CTMA para *C. silvestrii* está entre 0,01 e 0,02 mg/L Pb para um valor de dureza de 40-48 mg/L CaCO₃, enquanto que para *C. dubia* este valor é de 0,052 mg/L Pb para um valor de dureza de 100 mg/L de CaCO₃.

Em relação às características das águas, a dureza e a concentração de ácidos orgânicos (húmicos e fúlvicos, principalmente) atuam, reduzindo ou aumentando a toxicidade de alguns metais, tais como cádmio, cobre e chumbo, seja pelo antagonismo entre cálcio/magnésio e cádmio, no caso da dureza, ou pela capacidade dos ácidos húmicos e fúlvicos de complexarem cobre e chumbo, por exemplo (MORRISON *et al.*, 1989; MATSUI, 1991).

De acordo com WINNER (1985), a concentração de ácidos húmicos tem um papel mais importante que a dureza na redução da toxicidade aguda e crônica do cobre para *Daphnia magna*. Se por um lado, as variações na dureza (58, 115 e 230 mg.L⁻¹ de Ca CO₃) tiveram pouca influência na redução da toxicidade aguda e crônica, variações na concentração de ácidos húmicos reduziram significativamente a toxicidade aguda e crônica devido à complexação do cobre.

WINNER *et al.* (1986), avaliaram os efeitos da dureza e dos ácidos húmicos em relação à toxicidade crônica e bioacumulação de cobre, cádmio e zinco para *Daphnia pulex* (cobre e cádmio) e *Daphnia magna* (zinco) e concluíram que as variações nesses parâmetros alteraram a bioacumulação e a toxicidade crônica para os metais testados. No entanto, não foi observada uma relação consistente entre mudanças na toxicidade e mudanças na bioacumulação. Em relação ao cobre, embora o efeito dos ácidos húmicos na toxicidade e bioacumulação tenha variado com a dureza, os ácidos húmicos reduziram consistentemente a toxicidade crônica, para todas as durezas testadas. Os resultados obtidos com cádmio mostraram uma redução a 15 µg Cd.L⁻¹ com o aumento na dureza de 57 para 115 ou 230 mg.L⁻¹ e pouca diferença na bioacumulação após exposição a 7,5 µg Cd.L⁻¹ durante 20 dias, com presença e ausência de ácido húmico. Finalmente, em relação ao zinco, o aumento na dureza e a associação ácido húmico e água branda, resultaram em redução significativa na toxicidade crônica, estimada na sobrevivência após 50 dias de exposição a 125 µg Zn.L⁻¹, não correlacionada com a bioacumulação. No entanto, embora dureza e ácidos húmicos não tenham afetado a bioacumulação, ambos reduziram, de forma evidente, o acúmulo de zinco pelo exoesqueleto.

Os resultados dos testes crônicos, expressos em termos de sobrevivência e do número de neonatos de *Ceriodaphnia silvestrii* para cada metal em cada concentração testadas estão apresentadas nas tabelas 22a e b, 23a e b e 24a e b. Os dados das análises estatísticas estão no apêndice V.

Na tabela 25 estão apresentados os valores de CEO, CENO e VC (valor crônico) foi obtida pela média geométrica do CEO e CENO. Comparando os resultados obtidos

observa-se que, apesar das semelhanças entre os valores de CE(I)50,48h de cada metal, os valores crônicos mostraram uma diferença significativa para cádmio em relação ao cromo e chumbo. Tal fato pode estar relacionado com as diferenças na capacidade discriminatória da espécie em resposta à concentração sub-letais, diferença esta relacionada com as características da substância testada e suas interações com o meio. Por outro lado, esse resultado pode estar associado a um erro decorrente do número de ensaios realizados.

Embora a espécie *Ceriodaphnia dubia* tenha sido bastante utilizada em testes crônicos, a medida da toxicidade com base na *fertilidade* (7 dias) apresenta grande variabilidade de respostas (nascimento de neonatas) mesmo em cultivos sem agentes tóxicos e sob condições laboratoriais muito bem controladas (STEWART & KONETSKY, 1998). De acordo com estes autores, em todos os tratamentos aplicados no experimento por eles realizados, apenas cerca de 20 a 25% do total de neonatos normalmente obtidos em um ciclo completo nascem em experimentos de sete dias.

Segundo STEWART & KONETSKY *op cit.*, estes fatos não invalidam os testes de sete dias utilizando-se *Ceriodaphnia dubia*, pois apesar de representar pobremente a reprodução do ciclo completo deste organismo, o tempo de sua sobrevivência na natureza é provavelmente menor devido a predadores presentes em seus habitats e também porque neonatos produzidos em estágios mais jovens da primípara são ecologicamente muito mais representativos sob o ponto de vista ecológico do que neonatas produzidos tardiamente, como demonstra trabalho realizado por THRELKELD (1985).

Embora o uso de *Ceriodaphnia dubia* seja útil para a avaliação de efluentes, é necessário padronizar-se o alimento (natureza e quantidade) utilizado nestas culturas, para diminuir a variabilidade de resultados intra-laboratoriais (FERRARI & FERARD, 1996). Pode-se assumir esta mesma necessidade para culturas de *C. silvestrii*, como discutido a seguir.

Na avaliação da toxicidade crônica de Cádmio (cloreto de cádmio) foram utilizadas água reconstituída, sem a presença de matéria orgânica, e água do ripado da Universidade Federal de São Carlos, cuja concentração de carbono orgânico dissolvido é cerca de 1,0 mg/L (Tabela 22). Controles com culturas de *Ceriodaphnia silvestrii* em água reconstituída resultaram, como esperado, em baixo número de neonatos (média de 9 neonatos) ao passo que controles com esta mesma espécie em meio de cultura contendo matéria orgânica dissolvida resultou no nascimento de 15,6 neonatos, de acordo com as condições de validade do teste. Estes resultados sugerem que além do alimento particulado ministrado na forma de alga e fungo, a forma dissolvida de carbono, seja direta ou indiretamente, de extrema importância na dieta deste organismo, influenciando (de algum modo) significativamente na sua fertilidade. Faz-se necessário portanto, a padronização quantitativa e qualitativa desta concentração de matéria orgânica dissolvida em água de cultivos destes organismos pois huminas, ácidos fúlvicos e húmicos apresentam grande interação com elementos químicos, influenciando fortemente sua disponibilidade (toxicidade).

Controle de Qualidade – Sensibilidade ao NaCl

Para avaliar a saúde dos organismos utilizados nos testes de toxicidade aguda e crônica com os metais, foram realizados testes de sensibilidade com Cloreto de Sódio, substância-referência utilizada pela CETESB, para avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia*, organismo-teste padronizado. Os valores de CE(I)50;48h obtidos para *Ceriodaphnia silvestrii* e variaram de 1,43 a 1,81 g.L⁻¹, com coeficiente de variação de 10,7%. Resultados de testes paralelos realizados com *Ceriodaphnia dubia*, mostraram que a faixa de sensibilidade das duas espécies é similar, uma vez que os valores encontrados foram de 1,41 a 1,67 g.L⁻¹, com coeficiente de variação de 11,7%. De acordo com CETESB (1992), o valor da CE(I)50;48h para *Ceriodaphnia dubia* deve situar-se em torno de 1,60 g.L⁻¹ de cloreto de sódio, enquanto que BOHRER *et al.* (1994) *apud* PRINTES (1996), estabeleceram, para a mesma espécie, uma faixa de 1,33 a 1,82 g.L⁻¹ NaCl, semelhante portanto, à encontrada no presente estudo.

Embora não seja um contaminante ambiental tóxico, o cloreto de sódio é utilizado como substância referência devido ao seu modo de ação, induzindo falhas na osmoregulação. De acordo com ALADIN (1991), espécies de cladóceras de água doce (*Daphnia magna*, *Daphnia pulex*, *Daphnia longispina*, *Ceriodaphnia reticulata*, e *Bosmina longirostris*, entre outros) realizam o controle osmótico conservando sua hemolinfa hipermóstica em relação ao meio externo, reabsorvendo, pela glândula maxilar, sais ingeridos com alimento. Quando expostos a uma salinidade alta, morrem por não conseguirem manter o mecanismo osmótico. Nos embriões, esta absorção é realizada pelo órgão nuczal, pois, enquanto permanecem na câmara de incubação, não recebem alimento proveniente do meio externo, sendo necessário a presença de um órgão osmorregulador. Depois da primeira muda, após o nascimento, este órgão desaparece e a glândula maxilar passa a ser responsável pela absorção de sais.

Curva de crescimento de *Ceriodaphnia silvestrii*

Segundo ANDREWARTHA & BIRCH (1986), os ambientes onde vive um animal são formados por todos os fatores que podem influenciar as suas chances de sobrevivência e reprodução. A taxa de crescimento de uma população em determinado espaço está relacionada com as características da espécie, cujo comportamento biológico representa respostas aos efeitos diretos e indiretos das variáveis ambientais, bióticas e abióticas.

De acordo com HUTCHINSON (1967) *apud* ESPÍNDOLA & NISELLI (1996), a estrutura da comunidade zooplanctônica está relacionada com a temperatura, disponibilidade de alimentos e predação, sendo que estes fatores podem atuar de forma diferenciada na abundância sazonal das populações, conforme os requerimentos ecológicos de cada espécie. A temperatura, junto com a disponibilidade alimentar também foram considerados fatores determinantes na dinâmica da população de três espécies de *Daphnia* em cultivos de laboratório realizados por ROCHA & MATSUMURA-TUNDISI (1990).

A taxa intrínseca, ou taxa instantânea de aumento de uma população pode ser definida como sua capacidade potencial de crescimento, em um ambiente ilimitado, ou seja, sob condições ótimas, onde os efeitos de competição e predação foram eliminados (BARBOUR, *et al.*, 1989 *apud* BOHRER, 1995).

Na natureza, observam-se variações positivas ou negativas na taxa de aumento de uma população (r), em função de fatores intrínsecos, tais como estrutura etária e composição genética, bem como em função de alterações dos fatores ambientais. Por outro lado, em condições padronizadas de laboratório, onde a maioria dos fatores adversos são eliminados, é possível determinar a capacidade intrínseca de aumento natural (r_m), com obtenção de uma taxa máxima para uma condição ótima de manutenção dos organismos

Neste contexto, o valor de r obtido para *Ceriodaphnia silvestrii*, foi de 0,42, valor semelhante aos valores encontrados por TAVARES, 1988, *apud* FONSECA (1991) e FONSECA (1991), de 0,41 (Figura 11), o que mostra a adequabilidade das condições de cultivo e um aumento na confiabilidade dos resultados obtidos. De acordo com BOHRER (1995), a importância de se estabelecer as taxas de crescimento populacional para espécies mantidas sob condições de laboratório, reside na obtenção de modelos utilizados como parâmetro de comparação para resultados obtidos nos testes crônicos, por exemplo.

Tabela 18 – Valores de CE50;48h, em mg.L⁻¹ de cádmio (cloreto de cádmio) para *Ceriodaphnia silvestrii*.

Teste n ^o	CE(I)50 (mg.L ⁻¹)	Intervalo de Confiança
1	0,059	0,05-0,08
2	0,041	0,03-0,05
3	0,041	0,03-0,05
4	0,042	0,03-0,06
5	0,042	0,03-0,05
6	NC	NC
7	0,078	0,06-0,11
8*	0,13	0,07-0,28
9	0,098	0,09-0,11
10	0,098	0,09-0,11
11	0,047	0,04-0,06
12	0,065	0,06-0,07
13	0,097	0,07-0,14
20	0,047	0,04-0,06
21	0,045	0,03-0,06
<i>CE(I)50;48h médio (mg.L⁻¹)</i>		0,062
<i>Faixa de sensibilidade</i>		0,016 a 0,11
<i>Desvio Padrão (DP)</i>		0,023
<i>Coefficiente de variação</i>		37%

*: neonatos de mães com 4 semanas

Tabela 19 – Valores de CE50;48h, em mg.L⁻¹ de cromo (dicromato de potássio) para *Ceriodaphnia silvestrii*.

Teste n ^o	CE(I)50 (mg.L ⁻¹)	Intervalo de Confiança
1	0,071	0,06-0,09
2	0,047	0,04-0,06
3	0,035	0,03-0,04
4	0,054	0,04-0,07
5	0,045	0,04-0,05
6	0,047	0,04-0,06
7	0,03	0,03-0,03
8	0,027	0,03-0,03
9	0,065	0,06-0,07
10	0,042	0,03-0,06
11	0,044	0,03-0,05
<i>CE(I)50;48h médio (mg.L⁻¹)</i>		0,046
<i>Faixa de sensibilidade</i>		0,020 a 0,072
<i>Desvio Padrão (DP)</i>		0,013
<i>Coefficiente de variação</i>		28%

Tabela 20 – Valores de CE50;48h, em mg.L⁻¹ de chumbo (nitrato de chumbo) para *Ceriodaphnia silvestrii*.

Teste n ^o	CE(I)50 (mg.L ⁻¹)	Intervalo de Confiança
1	0,086	0,07-0,10
2	0,080	0,07-0,10
3	0,044	0,04-0,05
4	0,047	0,04-0,06
5	0,06	0,05-0,08
6	0,045	0,04-0,05
7	0,038	0,03-0,05
8	0,044	0,03-0,06
9	0,045	0,04-0,05
10	0,041	0,03-0,05
11	0,035	0,03-0,04
12	0,058	0,05-0,07
<i>CE(I)50;48h médio (mg.L⁻¹)</i>		0,051
<i>Faixa de sensibilidade</i>		0,02 a 0,08
<i>Desvio Padrão (DP)</i>		0,016
<i>Coefficiente de variação</i>		31%

Tabela 21 – Valores de CE50;48h, em mg.L⁻¹ de chumbo (acetato de chumbo) para *Ceriodaphnia silvestrii*.

Teste n ^o	CE(I)50 (mg.L ⁻¹)	Intervalo de Confiança
1	Nc	nc
2	0,17	0,13 - 0,22
3	0,13	0,09 - 0,20
4	0,24	0,19-0,3,
5	0,10	0,06-0,16
6	0,25	0,20-0,30
7	0,19	0,15-0,23
8	0,15	0,11-0,20
9	0,36	0,26-0,50
<i>CE(I)50;48h médio (mg.L⁻¹)</i>		0,24
<i>Faixa de sensibilidade</i>		0,04 a 0,20
<i>Desvio Padrão (DP)</i>		0,10
<i>Coefficiente de variação</i>		41%

nc: não calculado

Figura 7 – Sensibilidade do cladócer *Ceriodaphnia silvestrii* ao metal cádmio (cloreto de cádmio) em testes de toxicidade de 48 horas.

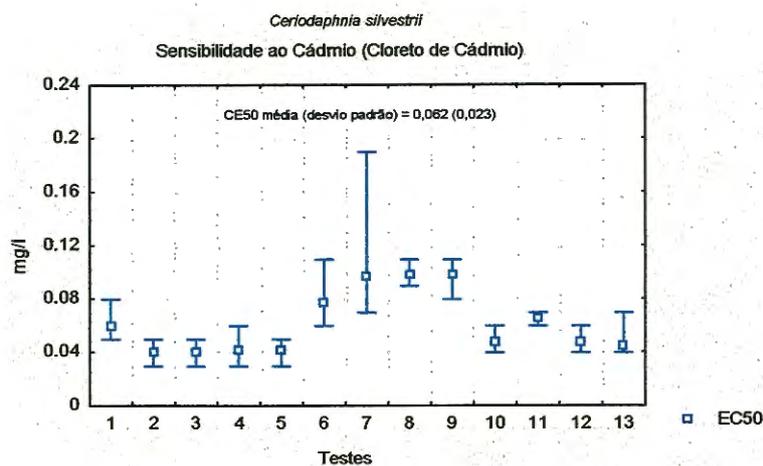


Figura 8 – Sensibilidade do cladócer *Ceriodaphnia silvestrii* ao metal cromo (dicromato de potássio) em testes de toxicidade de 48 horas.

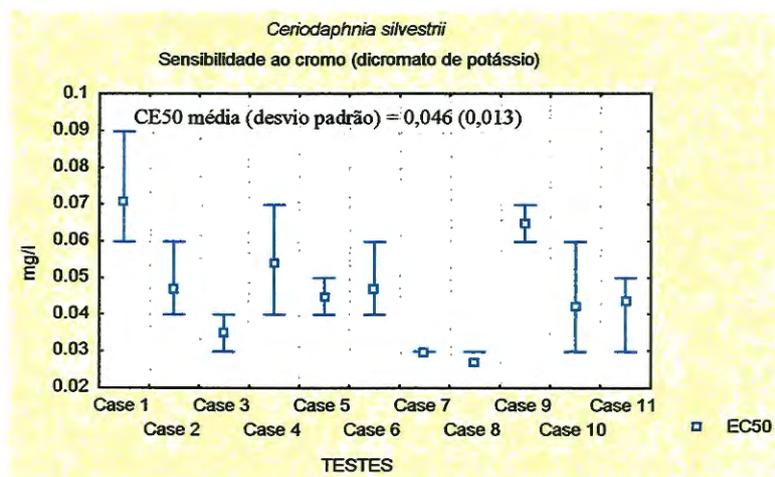


Figura 9 – Sensibilidade do cladócero *Ceriodaphnia silvestrii* ao metal chumbo (nitrato de chumbo) em testes de toxicidade de 48 horas.

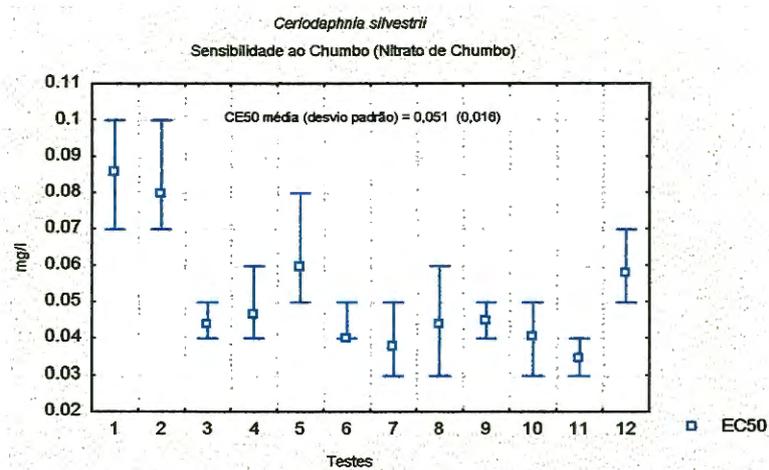


Figura 10 – Sensibilidade do cladócero *Ceriodaphnia silvestrii* ao metal chumbo (acetato de chumbo) em testes de toxicidade de 48 horas.

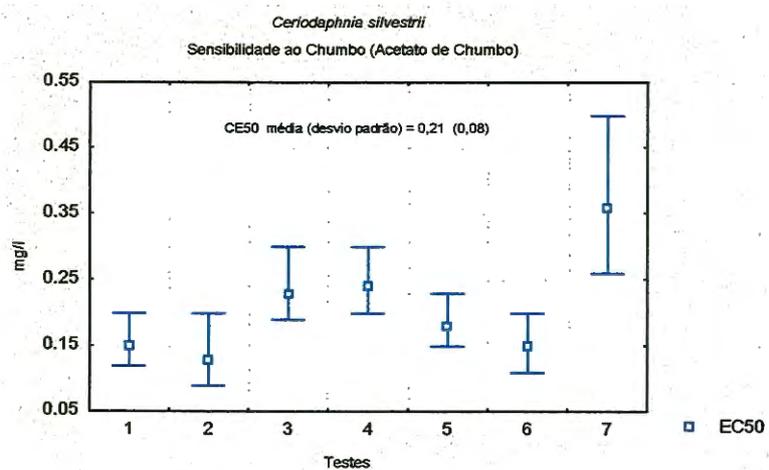


Tabela 22 - Avaliação da toxicidade crônica na reprodução de *Ceriodaphnia silvestrii* em diferentes concentrações de cádmio (cloreto de cádmio), em dois testes realizados (A e B).

A)

Concentração (mg.L ⁻¹ Cd)	Número de Organismos		Sobrevivência (%)	Número de neonatos	OD (mg.L ⁻¹)		pH		Cond. (μS.cm ⁻¹)		Dureza (mg.L ⁻¹ CaCO ₃)	
	Ni	Nf			I	F	I	F	I	F	I	F
	Controle	10			10	100	92**	8,1	7,7	7,3	7,7	144
0,00125	10	10	100	65	7,4	7,4	7,4	7,4	139	135	46,7	47,0
0,00250	10	10	100	52*								
0,00500	10	9	90	27*	8,4	7,4	7,3		144	152	46,7	47,0
0,01000	10	8	80*	24*								
0,02000	10	2	20*	2*	7,4	7,5	7,4	7,4	126	127	46,7	47,0

B)

Concentração (mg.L ⁻¹ Cd)	Número de Organismos		Sobrevivência (%)	Número de neonatos	OD (mg.L ⁻¹)		pH		Cond. (μS.cm ⁻¹)		Dureza (mg.L ⁻¹ CaCO ₃)	
	Ni	Nf			I	F	I	F	I	F	I	F
	Controle	10			10	100	93**	7,9	7,7	7,3	7,7	146
0,00125	10	10	100	66	7,8	7,4	7,4	7,4	142	139	46,7	47
0,00250	10	9	90	52*								
0,00500	10	9	90	32*	8,1	7,4	7,6		144	161	46,7	47
0,01000	10	6	60*	24*								
0,02000	10	2	20*	2*	7,7	7,6	7,4	7,4	139	135	46,7	47

ni - número inicial de fêmeas

Nf - número final de fêmeas vivas

*: diferença de fecundidade estatisticamente significativa segundo o teste de Dunnett (ANOVA) e Fisher

** teste realizado em água reconstituída, sem água do ripado contendo matéria orgânica. No controle feito em paralelo com água de manutenção (com ripado), o número médio de neonatos por fêmeas foi de 15,6 de acordo com as condições de validade do teste.

Tabela 23 - Avaliação da toxicidade crônica na reprodução de *Ceriodaphnia silvestrii* para cromo (dicromato de potássio) em dois testes realizados (A e B).

A)

Concentração (mg.L ⁻¹ Cr)	Número de Organismos		Sobrevivência (%)	Número de neonatos	OD (mg.L ⁻¹)		pH		Cond. (μS.cm ⁻¹)		Dureza (mg.L ⁻¹ CaCO ₃)	
	Ni	Nf			I	F	I	F	I	F	I	F
Controle	10	10	100 [○]	167	8,1	7,7	7,3	7,7	144	147	46,7	46,7
0,00125	10	10	100 [○]	128	7,4	7,4	7,4	7,4	139	135	46,7	47,0
0,00250	10	8	80	115								
0,00500	10	9	90	119	8,4	7,4	7,6		144	196	46,7	47,0
0,01000	10	10	100	103								
0,02000	10	10	100	99*	7,4	7,5	7,4	7,4	126	127	46,7	47,0

B)

Concentração (mg.L ⁻¹ Cr)	Número de Organismos		Sobrevivência (%)	Número de neonatos	OD (mg.L ⁻¹)		pH		Cond. (μS.cm ⁻¹)		Dureza (mg.L ⁻¹ CaCO ₃)	
	Ni	Nf			I	F	I	F	I	F	I	F
Controle	10	10	100	175	7,9	7,7	7,3	7,7	144	147	46,7	46,7
0,00125	10	10	100	135	7,8	7,4	7,4	7,4	142	144	46,7	47,0
0,00250	10	10	100	122								
0,00500	10	10	100	120	8,2	7,4	7,5		144	162	46,7	47,0
0,01000	10	9	90	105								
0,02000	10	9	90	95*	7,8	7,5	7,4	7,4	126	127	46,7	47,0

ni - número inicial de fêmeas

Nf - número final de fêmeas vivas

*: diferença de fecundidade estatisticamente significativa segundo o teste de Dunnett (ANOVA) e Fisher.

Tabela 24 - Avaliação da toxicidade crônica na reprodução de *Ceriodaphnia silvestrii* para chumbo (nitrato de chumbo) em dois testes realizados (A e B).

A)

Concentração (mg.L ⁻¹ Pb)	Número de Organismos		Sobrevivência (%)	Número de neonatos	OD (mg.L ⁻¹)		pH		Cond. (μS.cm ⁻¹)		Dureza (mg.L ⁻¹ CaCO ₃)	
	Ni	Nf			I	F	I	F	I	F	I	F
	Controle	10			10	100	157	7,7	7,7	7,3	7,7	144
0,00125	10	10	100	120	7,6	7,6	7,4	7,2	144	216	46,7	48,0
0,00250	10	10	100	127								
0,00500	10	9	90	140	7,6		7,4		144	196	46,7	46,0
0,01000	10	8	80	77*								
0,02000	10	8	80	52*	7,6	7,8	7,4	7,8	144	246	46,7	46,0

B)

Concentração (mg.L ⁻¹ Pb)	Número de Organismos		Sobrevivência (%)	Número de neonatos	OD (mg.L ⁻¹)		pH		Cond. (μS.cm ⁻¹)		Dureza (mg.L ⁻¹ CaCO ₃)	
	Ni	Nf			I	F	I	F	I	F	I	F
	Controle	10			10	100	162	7,9	7,7	7,3	7,7	144
0,00125	10	10	100	145	7,8	7,4	7,6	7,5	144	216	46,7	45,0
0,00250	10	10	100	132								
0,00500	10	10	100	124	7,7	7,4	7,6	7,3	144	196	46,7	47,0
0,01000	10	7	70	72*								
0,02000	10	5	50*	49*	7,6	7,5	7,6	7,4	144	246	46,7	

ni - número inicial de fêmeas

Nf - número final de fêmeas vivas

*: diferença de fecundidade estatisticamente significativa segundo o teste de Dunnett (ANOVA) e Fisher.

Tabela 25 – Valores de CEO, CENO e VC (valor crônico), em mg.L⁻¹ de cádmio, cromo e chumbo obtidos nos testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia silvestrii*.

Metais	CEO (mg.L ⁻¹)	CENO (mg.L ⁻¹)	VC (valor crônico) (mg.L ⁻¹)
Cádmio(Cloreto de cádmio)	0,0025	0,00125	0,0018
Cromo (Dicromato de Potássio)	0,02	0,01	0,015
Chumbo Nitrato de Chumbo)	0,02	0,01	0,015

CENO - Concentração de Efeito Não Observado;

CEO - Concentração de Efeito Observado.

Tabela 26 - Valores de CE(I)50;48h obtidos nos testes de toxicidade aguda com cloreto de sódio (NaCl), para *Ceriodaphnia dubia*.

<i>Ceriodaphnia dubia</i> - NaCl			
Teste N ^o	CE(I)50	Limite Inferior	Limite Superior
1	1,65	1,50	1,81
2	1,41	1,31	1,52
3	1,60	1,52	1,74
4	1,96 *	1,87	2,05
5	1,43	1,26	1,63
6	1,41	1,31	1,52

Tabela 27 - Valores de CE(I)50;48h obtidos nos testes de toxicidade aguda com cloreto de sódio (NaCl), para *Ceriodaphnia silvestrii*.

<i>Ceriodaphnia silvestrii</i> - NaCl			
Teste N ^o	CE(I)50	Limite Inferior	Limite Superior
1	1,67	1,55	1,81
2	1,81	0,71	1,92
3	1,51	1,86	2,23
4	1,75	1,58	1,88
5	1,41	1,31	1,52
6	1,43	1,32	1,54

Tabela 29 - Toxicidade aguda de cádmio em microcrustáceos aquáticos (modificado de WREN & STEPHENSON, 1991).

Toxicidade Aguda

Espécies	Condições de teste	Intervalo da Dureza (mg/l de CaCO ₃)	Periodo de Exposição	Tipo de Teste	Intervalo da concentração efetiva (µgCd/L)	Referência
CLADOCERA						
<i>Daphnia magna</i>	E	<100	48 h	CL50	9,9-166	CHAPMAN <i>et al.</i> (1980) SPEHAR & CARLSON (1984) SCHUYTEMA <i>et al.</i> (1984)
		100-200	48 h	CL50	34-58	CHAPMAN <i>et al.</i> (1980) ATTAR & MALY (1982) CANTON & SLOOF (1982)
<i>Daphnia pulex</i>	E	>200 53,5-106	48 h 48 h	CL50 CL50	178-319 7-268,2	ELNABARAWY <i>et al.</i> (1986) INGERSOLL & WINNER (1982) STACKHOUSE & BENSON (1988)
<i>Ceriodaphnia reticulata</i>	E	100-240	48 h	CL50	27,3-184	ELNABARAWY <i>et al.</i> (1977) SPEHAR & FIANDT (1986) BERGLIND <i>et al.</i> (1985)
COPEPODA						
<i>Tropocyclops prasinus mexicanus</i>	E	10-120	48 h	CL50	149-2.233	LALONDE & PINEL-ALLOUL (1986)
DECAPODA						
<i>Procambarus</i> sp		20	96 h	CL50	5.000	FENNIKOH <i>et al.</i> (1978)
AMPHIPODA						
<i>Crangonyx pseudogracilis</i>	ER	45-55	48 h	CL50	34.600	MARTIN & HOLDICH (1986)
<i>Hyaella azteca</i>	E	20 pH=5.0 pH=5.5 pH=6.0	96 h 96 h	CL50 CL50	85 12 16 33	CALL <i>et al.</i> (1984) MACKIE (1989) MACKIE (1989) MACKIE (1989)

E - Estático

ER - Estático renovado (semi-estático)

CL50 - Concentração letal para 50% dos indivíduos

Tabela 30 - Toxicidade crônica de cádmio em microcrustáceos aquáticos (modificado de WREN & STEPHENSON, 1991).

Toxicidade Crônica

Espécies	Condições de teste	Intervalo da Dureza (mg/l de CaCO ₃)	Tipo de Teste	Intervalo da concentração efetiva (µgCd/L)	Referência
CLADOCERA					
<i>Daphnia magna</i>	FC, ER	90-240	CENO	0,32-0,5	WILSON (1982) CANTON & SLOOF (1982)
			LOEC	0,5-4,2	WILSON (1982) ELNABARAWY <i>et al.</i> (1986)
<i>Daphnia pulex</i>	ER	42-240	CENO	1	ELNABARAWY <i>et al.</i> (1986)
			LOEC	0,2-0,5	ELNABARAWY <i>et al.</i> (1986)
			CTMA	3,8-7,5	INGERSON & WINNER (1982) WINNER (1986)
<i>Ceriodaphnia reticulata</i>	ER	55-79	CENO	3,4	SPEHAR & CARLSON (1984)
			LOEC	7,2	SPEHAR & CARLSON (1984)
AMPHIPODA					
<i>Hyalella azteca</i>	E	34	10 dias-CL50	4,4	NEBECKER <i>et al.</i> (1986)

E - Estático

ER - Estático renovado (semi-estático)

FC - Fluxo contínuo

CL50 - Concentração letal para 50% dos indivíduos

CENO - Concentração de efeitos não observáveis

CTMA - Concentração tóxica máxima permitida

Tabela 31 - Toxicidade aguda de chumbo em algas e microcrustáceos aquáticos
(modificado de WREN & STEPHENSON, 1991).

Toxicidade Aguda

Espécies	Condições de teste	Dureza (mg/l de CaCO ₃)	Período de Exposição	Tipo de Teste	Chumbo (µg/litro)	Referência
ALGA						
Clorofíceas			96 h	CL50	1-8.000	U.S. EPA (1980)
CLADOCERA						
<i>Daphnia magna</i>	E	54	48 h	CL50	517	CHAPMAN <i>et al.</i> (1980)
	E	110	48 h	CL50	843	CHAPMAN <i>et al.</i> (1980)
	E	152	48 h	CL50	1.580	CHAPMAN <i>et al.</i> (1980)
<i>Daphnia magna</i>	FC (10°C)	135	96 h	LC50	520	WILSON (1982)
	15-20°C	135	96 h	LC50	930	WILSON (1982)
	ER	250	41 h	ALA-D <i>inib.</i>	16-64	BERGLIND <i>et al.</i> (1985)
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	S	165	48 h	CL50	248	SPEHAR & FIANDT (1986)
<i>Daphnia galeata mendotae</i>	média de espécies	135	96 h	CL50	730	SPEHAR & FIANDT (1986)
CALANOIDA						
<i>Diaptomus sicilis</i>	5°C	135	96 h	CL50	270	WILSON (1982)
	15°C	135	96 h	CL50	200	WILSON (1982)
CYCLOPOIDA						
<i>Cyclops bicuspidatus thomasi</i>	10°C	135	96 h	CL50	770	CHAPMAN <i>et al.</i> (1980)
	20°C	135	96 h	CL50	1.100	WILSON (1982)
AMPHIPODA						
<i>Crangonyx pseudogracilis</i>	E	50	48 h	CL50	43.800	MARTIN & HOLDICH (1986)
	E	50	96 h	CL50	27.600	MARTIN & HOLDICH (1986)
<i>Gammarus pseudolimmaeus</i>	ER	48	96 h	CL50	140	CALL <i>et al.</i> (1984)
	FC(15°C)	45	96 h	CL50	124	SPEHAR <i>et al.</i> (1978)

FC - Fluxo contínuo

E - Estático

ER - Estático renovado (semi-estático)

ALA-D, Erythrocyte delta-amino levulinic acid dehydratase

CTMA - Concentração tóxica máxima permitida

CENO - Concentração de efeitos não observáveis

Tabela 32.- Toxicidade crônica de chumbo em algas e microcrustáceos aquáticos (modificado de WREN & STEPHENSON, 1991).

Toxicidade Crônica

Espécies	Condições de teste	Dureza (mg/l de CaCO ₃)	Período de Exposição	Tipo de Teste	Chumbo (µg/litro)	Referência
CLADOCERA						
<i>Daphnia magna</i>	FC(20°C)	52	21 dias	CTMA	12,3	CHAPMAN <i>et al.</i> (1980)
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	ER	100	7 dias	CTMA	52	SPEHAR & FIANDT (1986)
<i>Daphnia magna</i>	ER	250	8 dias	sem efeito no crescimento	26-260	BERGLIND (1986)
	RS	250	8 dias	ALA-D <i>inib.</i>	26	BERGLIND (1986)
	ER	250	19 dias	50% de danos na reprodução	8-10	BERGLIND <i>et al.</i> (1985)
	ER	250	8 dias	crescimento reduzido	26	BERGLIND <i>et al.</i> (1985)
AMPHIPODA						
<i>Gammarus pseudolimnaeus</i>	FC(15°C)	45	28 dias	CL50	28,4	SPEHAR & FIANDT (1986)

FC - Fluxo contínuo

ER - Estático renovado (semi-estático)

ALA-D, Erythrocyte delta-amino levulinic acid dehydratase

CTMA - Concentração tóxica máxima permitida

CENO - Concentração de efeitos não observáveis.

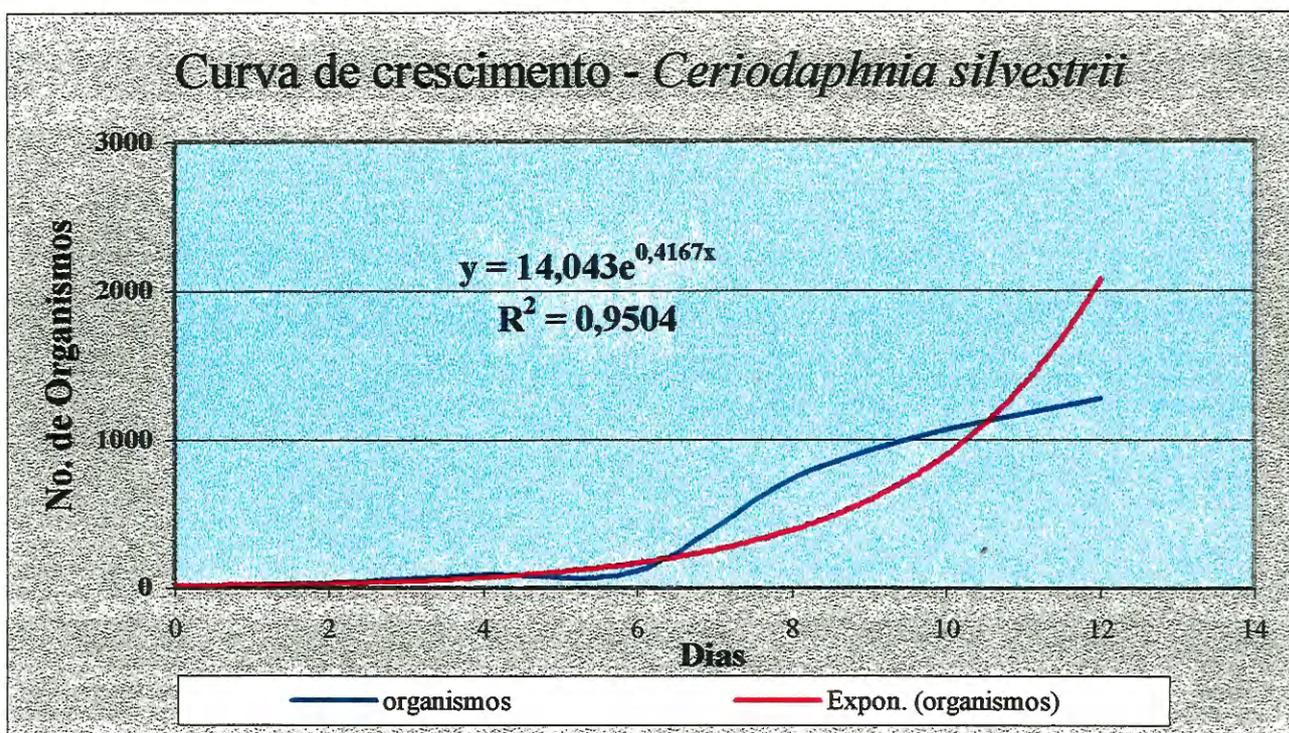


Figura 11 Curva de crescimento populacional para *Ceriodaphnia silvestrii*, em condições de cultivo em laboratório.

Tabela 28 - Concentração de íons cálcio e magnésio em diferentes continentes.

	Ca ⁺⁺ (mg/L)	Mg ⁺⁺ (mg/L)	Referência
América do Norte	42,0	10,2	PAYNE (1986)
Europa	62,4	11,4	PAYNE (1986)
América do Sul	14,4	3,6	PAYNE (1986)
África	7,9	7,8	PAYNE (1986)
Rio	4,6	2,4	SALATI (1996)
Corumbataí/SP			
Rio Piracicaba/SP	7,7	4,6	MANFRINATO (1989)

5. CONCLUSÕES

Os metais cádmio, cromo e chumbo causam toxicidade em populações fitoplanctônicas naturais afetando a produção primária. Esta toxicidade dá-se provavelmente segundo a especiação química destes metais, que por sua vez é determinada por processos físicos e químicos que ocorrem no reservatório.

Os resultados obtidos sugerem a adequabilidade do cladóceros *C. silvestrii* como organismo-teste em testes de toxicidade considerando-se sua sensibilidade aos metais, sendo recomendado a sua utilização, também por trata-se de espécie autóctone, de grande importância ecológica, significativa distribuição geográfica, boa repetibilidade de resultados em testes de toxicidade e fácil manutenção.

Dentre os metais testados, o cromo na forma de dicromato de potássio, o cádmio na forma de cloreto de cádmio e o chumbo, na forma de nitrato de chumbo, mostraram-se adequados como substância-referência para o cladóceros *C. silvestrii*.

O cladóceros *C. silvestrii* apresentou sensibilidade semelhante à sensibilidade de espécies similares (dafnídeos) padronizadas para as diferentes substâncias-referência testadas.

6. PERSPECTIVAS

Determinar através de experimentos de crescimento populacional e produção primária a toxicidade de metais com espécies fitoplanctônicas representativas dos grupos diatomáceas, cianobactérias e clorofíceas.

Quantificar a capacidade complexante de polissacarídeos excretados por espécies dominantes do fitoplâncton e condições ecológicas que propiciam sua precipitação com metais.

Estudo de toxicidade com as substâncias-referências dicromato de potássio, cloreto de cádmio e cloreto de sódio para o cladóceros *Ceriodaphnia silvestrii* sob diferentes condições de dureza.

Utilização de diferentes fontes de alimento e tentativa de padronização da quantidade e qualidade de substâncias orgânicas dissolvidas no meio de cultivo utilizado para testes crônicos com *Ceriodaphnia silvestrii*.

Devido à similaridade de respostas das espécies *Ceriodaphnia dubia* e *C. silvestrii* as mesmas substâncias-referências, é necessário o estudo comparativo de seqüências de RNA-ribossomal para determinação de relações filogenéticas entre estas duas espécies.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-LATEIF, H.M., DONKER, M.H. & VAN STRAALLEN, N.M., 1998. Interaction between temperature and cadmium toxicity in the isopod *Porcellio scaber*. **Functional Ecology**, **12**(4):521-527.
- ALADIN, N.V., 1991. Salinity tolerance and morphology of the osmoregulation organs in cladocera with special reference to Cladocera from the Aral Sea. **Hydrobiologia**. **225**: 291-299
- AMAZARRAY, M.T. R., 1992. Origem, distribuição e formas de transferência de elementos-traço na Lagoa Emboaba - Uma lagoa costeira do estado do Rio Grande do Sul. **Tese de Doutorado**, UFSCar, 234 pp.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1985. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Byrd Prepress Springfield. Washington. 1134 pp.
- ANDREWARTHA, M. C. & BIRCH, L.C., 1986 **The ecological web: more on the distribution and abundance of animals**. The University of Chicago Press, Chicago.
- AOSHIMA, K., IWATA, K. & KASUYA, 1988a. Environmental exposure to cadmium and effects on human health. Part I: Renal tubular function in inhabitants of the cadmium-polluted Jinzu River basin in Toyama Prefecture. **Japan J. Hyg.**, **43**:864-871.
- AOSHIMA, K., IWATA, K. & KASUYA, 1988b. Environmental exposure to cadmium and effects on human health. Part II. Bone and mineral metabolism in inhabitants of the cadmium-polluted Jinzu River basin in Toyama Prefecture. **Japan J. Hyg.**, **43**:949-955
- APHA, 1985. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. Bioassay Methods for Aquatic Organisms. In **Standard Method for the Examination of Water and Wastewater**. Greenberg, A.e., Connors, J.J. Jenkins, D. (eds.). APHA, Washington, DC, 689-823 pp
- ATTAR, E.N. & MALY, E.J., 1982. Acute toxicity of cadmium, zinc, and cadmium-zinc mixtures to *Daphnia magna*. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, **11**:291-296.

- AULA, I., BRAUNSWEILLER, H., LEINO, T., MALIN, I., PORVARI, P., HATANAKA, T., LODENIUS & M. JURAS, A., 1994. Levels of mercury in the Tucuruí reservoir and its surrounding area in Pará, Brazil. In: Watras, C.J. & Huckabee, J.W. (eds.) **Mercury Pollution: Integration and Synthesis**. Boca Raton, Lewis Publ. p 21-40.
- BAIRD, D.J., 1995. Ecological effects of contaminants: what can ecotoxicologists really predict? In: **Proceedings of International Conference on Aquatic Ecosystem Health, 6**. University of Coimbra, Coimbra, Portugal. p. C-13.
- BAISCH, P.R.M., NIENCHESKI, L.F.H. & LACERDA, L.D., 1988. Trace metal distribution in sediments of the Patos Lagoon estuary, Brazil. In: **Metals in Coastal Environments of Latin America** U. Seeliger, L.D. LACERDA & S.R. PATCHINEELAM (Eds.). Springer-Verlag, Berlin. p. 59-64.
- BARRETO, A.S., 1994. Assimilação de cromo trivalente nas biomassas nanoplantônicas e microplântônica e sua quantificação no sedimento e sobrenadante. **Dissertação de Mestrado**, USP/EESC/ SHS, São Carlos, 95 pp.
- BARTLETT, L., RABE, F.W. & FUNK, W.H., 1974. Effect of copper, zinc and cadmium on *Selenastrum capricornetum*. **Wat. Res.**, **8**:185-199.
- BELLAVERE, C. & GORBI, J., 1981. A Comparative analysis of acute toxicity of chromium, copper and cadmium to *Daphnia magna*, *Biomphalaria glabrata* and *Brachydanio rerio*. **Environ. Technol. Lett.**, **2**: 119-128.
- BERGLIND, R., DAVE, G. & SJOBECK, M.L., 1985. The effects of lead on D-aminolevulinic acid dehydratase activity, growth, hemoglobin content, and reproduction in *Daphnia magna*. **Ecotoxicol. Environ. Safety**, **9**:216-219.
- BERLING, R., 1986. Combined and separate effects of cadmium, lead and zinc on ALA-D activity, growth and hemoglobin content in *Daphnia magna*. **Environ. Toxicol. Chem.**, **5**:989-995
- BERVOETS, L., BAILLIEUL, V., BLUST, R. & VERHEYEN, R., 1996. Evaluation of effluent toxicity and ambient toxicity on a polluted lowland river. **Environ. Pollut.**, **91**:333-341.
- BICUDO, C.E.M. & BICUDO, R.M.T., 1970. **Algas de águas continentais brasileiras**. Fundação Brasileira para o Desenvolvimento do Ensino de Ciências. São Paulo. 228pp.
- BICUDO, D.C., BICUDO, C.E.M., CASTRO, A.A.J. & PICELLI-VICENTIM, M.M., 1993. Diatomáceas (Bacillariophyceae) do trecho a represar do Rio Paranapanema (Usina Hidrelétrica de Rosana), Estado de São Paulo, Brasil. **Hoehnea**, **20**(1/2):47-68.

- BIESINGER, K.E. & CHRISTENSEN, G.M., 1972. Effects of various metals on survival, growth, reproduction and metabolism of *Daphnia magna*. **J. Fish. Res. Bd. Can.**, **29**:1691-1700.
- BIESINGER, K.E., ANDERSON, L.E. & EATON, J.G., 1982. Chronic effects of inorganic and organic mercury on *Daphnia magna*: toxicity, accumulation, and loss. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, **11**:769-774.
- BOHRER, M.B.C. (1995) Biomonitoramento das lagoas de tratamento terciário do sistema de tratamento dos efluentes líquidos industriais (SITEL) do Polo Petroquímico do Sul, Triunfo, RS, através da comunidade zooplanctônica. São Carlos/SP. **Tese(Doutorado) CCBS**. Universidade Federal de São Carlos . 349 pp.
- BORGMANN, U., COVE, R. & LOVERIDGE, C., 1980. Effect of metals on the biomass production kinetics of freshwater copepods. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, **37**:567-575.
- BOURRELLY, P., 1966. **Les alques d' eau douce. Initiation à la Systématique. I. Les alques vertes**. Ed. N. Boubée e & Cie. Paris. 581 pp.
- BOURRELY, P., 1968. **Les alques d' eau douce. Initiation à la Systématique. II. Les alques jaunes et brunes**. Ed. N. Boubée e & Cie. Paris. 512pp.
- BOURRELY, P., 1970. **Les alques d' eau douce. Initiation à la Systématique. III. Les alques bleus et rouges. Les Eugleniens. Periniens et Cryptomonadiens**. Ed. N. Boubée e & Cie. Paris. 512p.
- BRANQUINHO & ROBINSON, 1976. Some aspects of lead pollution in Rio de Janeiro. **Environ. Pollut.**, **10**:287-292.
- BRAY, G.A, 1960. A Simple Efficient Liquid Scintillation Method for Counting Aqueous Solutions in a Liquid Scintillation Counter. **Anal. Biochem.**, **n.1**, p.279-285.
- BRAYNER, F.M.M., 1996. Taxas de retenção de metais-traços por sedimentos orgânicos em uma área alagada, urbana e industrial. **Projeto de Doutorado submetido ao exame de qualificação**. Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada/ USP.47 pp.
- BRKOVIC-POPOVIC, I. & POPOVIC, M., 1977. Effects of heavy metals on survival and respiration rate of tubificid worms. Part I. Effects on survival. **Environ. Pollut.**, **13**:65-72.
- BRYAN, G.W., 1976. Some aspects of heavy metal tolerance in aquatic organisms. In: **Effects of pollutants on aquatic organisms** (A.P.M. Lockwood, ed.). Cambridge University Press, Cambridge.

- BUIKEMA, A.L.Jr., CAIRNS, J.Jr. & SULLIVAN, G.W., 1974. Rotifers as monitors of heavy metal pollution in water. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, VA, 1-73 pp.
- BURNISON, G., WONG, P.T.S., CHAU, Y.K. & SILVERBERG, B.A., 1975. Toxicity of cadmium to freshwater algae. **Proc. Can. Fed. Biol. Soc. Winnipeg**, 18, 182.
- CAIRNS, J. Jr. & PRATT, J.R., 1990. The scientific basis of bioassays. In: **Environmental bioassay Techniques and their Application** (eds. M. Munawar, G. Dixon, C.I. Mayfield, T. Reynoldson & H. Sadar). p 5-20 Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- CAIRNS, J.Jr., 1993. Environmental science and resource management in the 21st century: scientific perspective. **Environ. Toxicol. Chem.**, 12:1321-1329.
- CALIJURI, M.C., 1999. Ecologia de um reservatório tropical: Represa da Barra Bonita. Tese de Livre Docência, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 196 pp.
- CALL, D.J., BROOKE, L.T., LINDBERG, C.A., MARKEE, T.P., McCAULEY, D.J. & POIRIER, S.H., 1984. Toxicity of aluminium to freshwater organisms in water of pH 6.5-8.5. University of Wisconsin-Superior, centre for Lake Superior **Environmental Studies, Tech. Report** (549-238-RT-WRD).
- CALOW, P., 1993. **Handbook of Ecotoxicology**, 1. Blackwell Sciences, Oxford. 478 pp.
- CAMPBELL, P.G.C. & STROKES, P.M., 1985. Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. **Can. J. fish. Aquat. Sci.**, 42:20-34.
- CANTON, J.H. & SLOOF, W., 1982. Toxicity and accumulation studies of cadmium (Cd^{2+}) with freshwater organisms of different trophic levels. **Ecotoxicol. Environ. Safety**, 6:113-128.
- CETESB, 1981. Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1976 (Cladocera, Crustacea). Método de ensaio. **Norma Técnica, L5.018**.
- CETESB, 1992. "Água - Métodos de avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos, I (série didática)". São Paulo
- CHAPMAN, G.A., OTA, S. & F. RECHT, 1980. Effects of water hardness on the toxicity of metals to *Daphnia magna* (**Status report – Jan. 1980**). Draft. United States Environmental Protection Agency, Corvallis, Oregon.
- CHRISTENSEN, E.R. & SCHERFIG, J., 1979. Effects of manganese, copper and lead on *Selenastrum capricornutum*, *Chlorella stigmatophora*. **Wat. Res.**, 13:79-82.

- CONWAY, H.L. & WILLIAMS, S.C., 1979. Sorption of cadmium and its effect on growth and the utilization of inorganic carbon and phosphorus of two freshwater diatoms. **J. Fish. Res. Bd. Can.**, **36**:579-586.
- COSSA, D., 1976. Sorption du cadmium par une population de la diatomée *Phaeodactylum tricorutum* en culture. **Mar. Biol.**, **34**:163-167
- De FILIPPIS, L.F. & PALLAGHY, C.K., 1994. Heavy metals: sources and biological effects. In: Rai, L.C., Caur, J.P., Soeder, C.J. (eds.), **Algae and water pollution: Advances in Limnology Series, 42**. Schweizerbart, Stuttgart, 32-77.
- DOTY, M.S. & OGURI, M., 1959. The carbon-fourteen technique for determining primary plankton productivity. **Pubbl. Staz. zool. Napoli**, **31 (suppl.)**:70-94.
- DREVER, J.I., 1982. **The geochemistry of natural waters**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, Inc. 388 pp.
- DURIGAN, J.G., 1990. Estudo quantitativo e qualitativo da comunidade zooplancônica em um tanque de piscicultura. Monografia de Bacharelado, UNESP, Jaboticabal, UFSCar, São Carlos.
- ELNABARAWY, M.T., WELTER, A.N. & RODIBEAU, R.R., 1986. Relative sensitivity of three Daphnid species to selected organic and inorganic chemicals. **Environ. Toxicol. Chem.**, **5**:393-398.
- ESPÍNDOLA, E.L. & G, NISELLI, R., 1996. Análise da dinâmica populacional de *Notodiaptonus conifer*, Sars, 1901 (Copepoda, Calanoida): Uma abordagem experimental. **Acta Limnológica Brasileira.**, **8**:1-12
- ESTEVEZ, F.A., FERREIRA, J.R., PESSENDA, L.C.R. & MORTATTI, J., 1981. Estudo Preliminar sobre metais em sedimentos de represas do Estado de São Paulo. In: **Seminário Regional de Ecologia, II**, São Carlos. 323-336 p.
- FARQUHAR, G.J. & McBEAN, E.A., 1988. Disposal activities as a source of contaminants to large lakes. In: **Toxic contamination in large lakes, 3** (N.W. SCHMIDTKE, ed) Lewis Publishers, Chelsea, Michigan, Source, fate and controls of toxic contaminants, 61-82 p.
- FENNIKO, K.B., HIRSHFIELD, H.I. & KNEIP, T.J., 1978. Cadmium toxicity in planktonic organisms of a freshwater food web. **Environ. Res.**, **15**:357-367.
- FERNANDES, H.M., BIDONE, E.D., VEIGA, L.H.S., & PATCHINEELAM, S.R., 1994. Heavy-metal pollution assessment in the coastal lagoons of Jacarepaguá, Rio de Janeiro, Brazil. **Environ. Pollut.**, **85**:259-264.

- FERRARI, B. & FERARD, J.F., 1996. Effects of nutritional renewal frequency on survival and reproduction of *Ceriodaphnia dubia*. **Environ, Toxicol. Chem.** **15**:765-770.
- FONSECA, A. L., 1991. A biologia das espécies *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia silvestri* (Crustacea Cladocera) e *Poecilia reticulata* (Pisces Poecillidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais. **Dissertação (Mestrado)**. Escola de Engenharia de São Carlos-USP.
- FONSECA, A. L., 1997. Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba/SP através de testes de toxicidade em invertebrados. **Tese (Doutorado)**. Escola de Engenharia de São Carlos-USP. 210 pp.
- FONSECA, A. L., 1998. The life cycle of *Ceriodaphnia silvestrii* (DADAY 1902) and *Daphnia laevis* (BIRGE 1878) (Crustacea, Cladocera) reared under different pH conditions. **Verh. Internat. Verein. Limnol.**, **26**:1918-1921.
- FÖRSTNER, U. & WITTMANN, G.T.W., 1983. **Metal pollution in the aquatic environment**. Springer, Berlin, 486 pp.
- FRANCISCATO, C.A., 1994. Distribuição de alguns metais traço no Saco da Mangueira, R.S.: influência da área urbana e importância da matéria orgânica. **Tese (Doutorado)**. UFSCar, 76 pp.
- GARGAS, E., 1975. **A Manual for Phytoplankton Primary Production Studies in the Baltic**. The Baltic Mar. Biologists (Publication n. 2), 88pp.
- GIESY, J.P., HOKE, R.H., 1989. Freshwater sediment toxicity bioassessment: rationale for species selection and test design. **Journal of Great Lakes Research**, **15**(4):539-569.
- GOLTERMAN, H., 1968. **Methods for chemical analysis of freshwater**. IBP Handbook 8. 172 pp.
- HALL, Jr. & L.W., 1998. Ecological risk assessment of copper and cadmium in surface waters of Chesapeake Bay watershed. **Environmental Toxicology and Chemistry**, **17**(6):1172-1189.
- HAMILTON, M.A, RUSSO, R. & THURSRON, R.V., 1977. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Technol.** **11**:714-718.
- HAPPEY-HOOD, C.M., 1988 Ecology of freshwater planktonic green algae. In: Sandgreen, C D. (ed.) **Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton**. Cambridge University Press. Cambridge. 175-226 p.

- HARE, L., SAOUTER, E., CAMPBELL, P.G.C., TESSIER, A., RIBEYRE, F. & BOUDON, A., 1991. Dynamics of cadmium, lead and zinc exchange between nymphs of the burrowing mayfly *Hexagenia rigida* (Ephemeroptera) and the environment. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, **48**:39.
- HART, B.A., 1975. Bioconcentration and toxicity of cadmium in *Chlorella pyrenoidosa*. In: **The effect of Cadmium on Freshwater Phytoplankton**, PB. 257-547, Office of Water Research and Technology, Washington, DC, 1-34 p.
- HART, B.A. & SCAIFES, B.D., 1977. Toxicity and bioaccumulation of cadmium in *Chlorella pyrenoidosa*. **Environ. Res.**, **14**:401-413.
- INGERSOLL, C.G. & WINNER, R.W., 1982. Effect on *Daphnia pulex* of daily pulse exposure to copper or cadmium. **Environ. Toxicol. Chem.**, **1**:321-327.
- JACKSON, J., 1991 - Heavy Metals and other inorganic toxic substances. In: **Guidelines of Lake Management: Toxic Substances Management in Lakes and Reservoirs.**(Ed. Saburo Matsui). ILEC and UNEP, Japan. 65-80p.
- KAREZ, C.S., MAGALHÃES, V.F., AMADO FILHO, G.M. & PFEIFFER, W.C., 1994. Trace metal accumulation by algae in Sepetiba Bay, Brazil. **Environ. Pollut.**, **83**:351-356.
- KESSLER, E., 1986. Limits of growth of five *Chlorella* species in the presence of toxic heavy metals. **Arch. Fur Hydrobiol. Supplementband**, **73**:123-128.
- KLAINÉ, S.J., 1985. Toxicity of coal gasifier solid waste to the aquatic plants *Selenastrum capricornutum* and *Spirodela oligorhiza*. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, **35**:551-555.
- KNAUER, K., BEHRA, R. & SIGG, L., 1997. Effects of free Cu^{2+} and Zn^{2+} ions on growth and metal accumulation in freshwater algae. **Environm. Toxicol. and Chemistry**, **16**(2):220-229.
- KOMÁRKOVÁ-LEGNEROVÁ, J. & CRONBERG, G., 1994. Planktic blue-green algae from lakes in South Scania, Sweden. Part. I. Chroococcales. **Algological Studies**, **72**:13-51.
- KUIVASNIEMI, K., ELORANTA, V. & KNUUTINEN, J., 1985. Acute toxicity chlorinated phenolic compounds to *Selenastrum capricornutum* and phytoplankton. **Arch. Environ. Toxicol. Chem.**, **14**:43-49.
- LACERDA, L.D., 1983. Aplicação da metodologia de abordagem pelos parâmetros críticos no estudo da poluição por metais pesados na Baía de Sepetiba, R.J. **Tese (Doutorado)**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 154 pp.

- LACERDA, L. D. & MENESES, C.F., 1995. O mercúrio e a contaminação de reservatórios no Brasil. **Ciência Hoje**, **110(19)**:34-39.
- LACERDA, L.D. & SALOMONS, W., 1992. Mercúrio na Amazônia: Uma bomba relógio química? **CETEM/CNPq**. Rio de Janeiro, 72 pp.
- LACHER, T.E., & GOLDSTEIN, M.I., 1997. Tropical Ecotoxicology: Status and needs. **Environ. Toxicol. And Chemistry**, **16(1)**:100-111.
- LALONDE, M. & PINEL-ALLOUL, B., 1986. Acute toxicity of cadmium, copper, mercury and zinc to *Tropocyclops prasinus mexicanus* (Cyclopoida, Copepoda) from three Quebec Lakes. **Environ. Toxicol. Chem.**, **5**:95-102.
- LAW, E. A. ,1993. Metals. In: **Aquatic Pollution: an introductory text**. Wiley Interscience. 351-415 p.
- LOEZ, C.R., TOPALIÁN, M.L. & SALIBIÁN, A., 1995. Effects of zinc on the structure and growth dynamics of a natural freshwater phytoplankton assemblage reared in the laboratory. **Environ. Pollut.**, **88**:275-281.
- MACKIE, G.L., 1989. Tolerances of five benthic invertebrates to hydrogen ions and metals (Cd, Pb, Al). **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, **18**:215-223.
- MALM, O., PFEIFFER, W.C., SOUZA, C.M.M. & REUTHER, R., 1990. Mercury pollution from gold mining in the Madeira River basin. **Ambio**, **19**:11-15.
- MANFRINATO, E.S., 1989. Avaliação do Método Edafo-fitopedológico para o Tratamento Preliminar de Águas". Piracicaba, SP. **Dissertação (Mestrado)**. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 98pp
- MARSHALL, J.S., PARKER, J.I., MELLINGER, D.L. & LAWRENCE, S.G., 1981. Na a situ study of cadmium and mercury stress in the plankton community of Lake 382, Experimental Lakes Area, northwestern Ontario. **Can J. Fish. Aquatic. Sci.**, **38**:1209-1214.
- MARTIN, T.R. & HOLDICH, D.M., 1986. The acute lethal toxicity of heavy metals to peracarid crustaceans (with particular reference to fresh water asselids and gammarids). **Water Research**. **20**:1137-47.
- MASTALA, Z. & BALOGH, K.V., 1994. Anthropogenic impact assessment of heavy metal levels in fish in a eutrophic shallow lake. **Vehr. Internat. Verein. Limnol.**, **25**:2032-2035.
- MATSUI, S., 1991. Movement of toxic substance through bioaccumulation. In: *Guidelines of lake management: Vol 4, Toxic substances management in lakes and reservoirs*. ILEC, UNEP, Otsu, p. 27-42.

- MEYBECK, M., CHAPMAN, D.V. & HELMER, R., 1989. Global freshwater quality: A first Assessment. **WHO/UNEP**. Blackwell Reference, Oxford.
- MEYERHOFF, R.D., SAUTES, S. & DORULLA, G., 1985. Chronic toxicity of tebutiuron to an alga (*Selenastrum carpicornutum*), a cladoceran (*Daphnia magna*), and the fathead minnow (*Pimephales promelas*). **Environ. Toxicol. Chem.**, 4:695-701.
- MORRISON, G.M.P., BATLEY, G.E. & FLORENCE, T.M., 1989. Metal speciation and toxicity. **Chemistry in Britain**. p.792-795.
- NEBEKER, A.V., CAIRNS, M.A., ONJUKKA, S.T. & TITUS, R.H., 1986. Effects of age on sensitivity of *Daphnia magna* to cadmium, copper, and cyanazine. **Environ. Toxicol. Chem.**, 5:527-530.
- NEDERLANDSE, 1981. Water Spectrofotometrische betaling van het gehalte an chlorofyl a. **NORM NEN 6.520** p. 1-5.
- NIEBOER, E. & RICHARDSON, D.H.S., 1980. The replacement of the nondescript term "heavy metal" by a biologically and chemically significant classification of metal ions. **Environ. Pollut.**, 1(B):3-5.
- NOVARINO, F.L.S.G. & LUCAS, I.A.N., 1993. Some proposals for a new classification system of the Cryptophyceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 11:3-21.
- NRIAGU, J.O. & SPRAGUE, J.B., 1987. Cadmium in the aquatic environment. **Advances in Environmental Science and Technology**, 19: 272 pp.
- NRIAGU, J.O., 1988. A silent epidemic of environmental metal poisoning? **Environmental Pollution**, 50:139-161.
- NRIAGU, J.O., 1990. Global metal pollution. **Environment**, 32(7):7-33.
- OLIVEIRA-NETO, A, 1993. Estudo da variação da comunidade zooplanctônica, com ênfase na comunidade de rotíferos, em curtos intervalos de tempo (variações diárias e nictemerais) na Represa do Lobo (Broa) – Itirapina, SP. **Dissertação (Mestrado)**. Instituto de Biociências/USP. 130pp.
- PAERL, H.W., 1988 Growth and reproductivite strategies of freshwater blue-green algae (cyanobacteria). In: **Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton**, Sandgreen , C D. (ed.). Cambridge University Press. Cambridge. p.261-215.
- PASCHOAL, C.M.R.B., 1996. Avaliação da qualidade ambiental de Cubatão. São Paulo. 144p. **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós-Graduação em Ciência Ambiental, Universidade São Paulo.

- PATRICK, R., CAIRNS, J. & SCHEIR, A., 1968. The relative sensitivity of diatoms, snails and fish to twenty common constituents of industrial wastes. **Prog. Fish. Cult. July**, 137-140.
- PAWLIK, B., SKOWRONSKI, T., RAMAZANOW., Z. GARDESTROM, P. & SAMUELSSON, G., 1993. pH-dependent cadmium transport inhibits photosynthesis in the cyanobacterium *Synechocystis aquatilis*. **Environ. and Experim. Botany**, **33**:331-337.
- PAYNE, A I., 1986. The Ecology of Tropical Lakes and Rivers. John Wiley & Sons, Chichester, 301 p.
- PFEIFFER, W.C., FISZMAN, M. & LACERDA, L.C., 1988. Heavy metal surveys in Brazilian coastal environments. In: **Metals in Coastal Environments of Latin America** U. Seeliger, L.D. LACERDA & S.R. PATCHINEELAM (Eds.). Springer-Verlag, Berlin. p. 3-8.
- PRESCOTT, G.W., 1962. **Algae of the western great lakes area. with an illustrated key to the genera of desmids and freshwater diatoms.** WnC. Brown Comp. Publs.. Dumbuque. 977p. 136pl.
- PRESCOTT, G.W., 1978. **How to know the freshwater algae.** 3a ed. WnC. Brown Comp. Publs.. Dumbuque. 293pp.
- PRESTON, A , JEFFERIES, D.F., DUTTON, J.W.R., HARVEY, B.R. & STEELE, A K., 1972. British Isles coastal water: The concentrations of selected heavy metals in sea water, suspended matter and biological indicators – a pilot survey. **Environ. Pollut.**, **3**:69-82.
- PRINTES, L.B., 1996. Biomonitoramento da micro-região carbonífera do baixo Jacuí, RS, através de testes de toxicidade com cladóceros e implantação de cultivo e definição da faixa de sensibilidade de *Hyalella azteca* (crustacea: amphipoda) ao cloreto de sódio (NaCl). Porto Alegre, RS. 253p. **Dissertação (Mestrado)** Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- RALPH, P.J. & BURCHETT, M.D., 1998. Photosynthetic response of *Halophila ovalis* to heavy metal stress. **Environ. Pollut.**, **103**:91-101.
- RAND, G.M. ed, 1995. **Fundamentals of aquatic toxicology - effects, environmental fate, and risk assessment.** Florida, Taylor & Francis.
- REYNOLDS, C.S., 1984 **The Ecology of Freshwater Phytoplankton.** Cambridge University Press. Cambridge. 380pp.
- REYNOLDS, C.S., 1987. Cyanobacterial water-blooms. **Advances in Botanical Research**, **13**:67-143.

- ROCHA, O. & MATSUMURA- TUNDISI, T., 1990. Growth rate, longevity and reproductive performance of *Daphnia laevis* BIRGE, *D. gessneri* HERBST and *D. ambigua* SCOURFIELD in laboratory cultures. **Revista Brasileira de Biologia**, **50** (4):915-921.
- SALATI, E., 1996. Diagnóstico Ambiental Sintético e Qualidade da Água do Rio Corumbataí como um Subsídio para o Planejamento Regional Integrado da Bacia Hidrográfica do Rio Corumbataí. São Carlos, 200 p. **Tese (Doutorado)**. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo
- SALOMONS, W. & FÖRSTNER, U., 1984. **Metals in the Hydrocycle**. Springer-Verlag, Berlin.
- SCHUYTEMA, G.S., NELSON, P.O., Malueg, K.W. Nebeker, A.V., Krawczyk, D.F., Ratcliff, A.K. & J.H. Gakstatter, 1984. Toxicity of cadmium in water and sediment slurries to *Daphnia magna*. **Environ. Toxicol. Chem.**, **3**:293-308.
- SEIDL, M., HUANG, V. & MOUCHEL, J.M., 1998. Toxicity of combined sewer overflows on river phytoplankton: the role of heavy metals. **Environ. Pollut.**, **101**:107-116.
- SMITH, G.M., 1920. Phytoplankton of the inland lakes of Wisconsin. 1: Myxophyceae. Heterokontae and Chlorophyceae exclusive of Desmidiaceae. **Bull. Wis. Geol. Nat. Hist. Surv. Madison**, **57**(1):1-243.
- SMITH, G.M., 1950. **The freshwater algae of the United States**. 2a ed. McGraw Hill Book. New York. 719p.
- SOMMER, U., 1988 Growth and survival strategies of planktonic diatoms. In: Sandgreen, C D. (ed.) **Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton**. Cambridge University Press. Cambridge. p.227-260.
- SORENTINO, C., 1978. The effects of heavy metals on phytoplankton A review. **Phykos**, **18**(1/2):149-161.
- SPEHAR, R.L. & CARLSON, R., 1984. Hazard assessment: derivation of site-specific water quality criteria for cadmium and the St Louis River Basin. Duluth, Minnesota. **Environ. Toxicol. Chem.**, **3**:651-665.
- SPEHAR, R.L., & FIANDT, J.T., 1986. Acute and chronic effects of water quality criteria-based metal mixtures on three aquatic species. **Environ. Toxicol. Chem.**, **5**:917-931.
- SPEHAR, R.L., ANDERSON, R.L. & FIANDT, J.T., 1978. Toxicity and bioaccumulation of cadmium and lead in aquatic invertebrates. **Environ. Pollut.**, **15**:195-208.

- STACKHOUSE, R.A. & BENSON, W.H., 1988. The influence of humic acid on the toxicity and bioavailability of selected trace metals. **Aquat. Toxicol.**, **13**:99-108.
- STEEMANN-NIELSEN, E., 1952. The use of radioactivity carbon (C14) for measuring organic production in the sea. *J. Cons. perm. int. Explor. Mer*, **18**(1):117-140.
- STEWART, A.J. & KONETSKY, B., 1998. Longevity and reproduction of *Ceriodaphnia dubia* in receiving waters. **Environ. Toxicol. And Chemistry**, **17**(6):1165-1171.
- STEWART, A.J., KSZOS, L.A., HARVEY, B.C., WICKER, L.F. HAYNES, G.J. & BAILEY, R.D., 1990. Ambient toxicity dynamics: Assessments using *Ceriodaphnia dubia* and fathead minnow (*Pimephales promelas*) larvae in short-terms tests. **Environ. Toxicol. Chem.**, **9**:367-379.
- STUMM, W. & MORGAN, J.J., 1996. **Aquatic Chemistry**. 3rd Edition. Wiley Interscience, New York. 1024 pp.
- TAKAMURA, N., KASAI, F. & WATANABLE, M.M., 1989. Effects of Cu, Cd and Zn on photosynthesis of freshwater benthic algae. **J. Appl. Phycol.**, **1**:39-52.
- TAKENAKA, R.A., 1999. Estudo da sensibilidade de invertabrados aquáticos a uma substância de referência e avaliação da qualidade do sedimento da Represa do Monjolinho (São Carlos, SP). São Carlos/SP. **Monografia**. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de São Carlos. 42pp.
- TALAMONI, J.L.B., 1995. Estudo comparativo das comunidades planctônicas de lagos de diferentes graus de trofia e uma análise do efeito de *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae) sobre algumas espécies de microcústáceos. **Tese (Doutorado)**. Universidade Federal de São Carlos. 305pp.
- TALLING, J.F., 1966. Photosynthetic activity of phytoplankton in East African lakes. **J. Ecol.**, **54**:99-127.
- THOMAS, J.M., SKALSKI, J.R., CLINE, J.F., McSHANE, M.C., MILLER, W.E., SIMPSON, J.C., PETERSON, S.A., CALLAHAN, C.A. & GREENE, J.C., 1986. Characterization of chemical waste site contamination and determination of its extent using bioassays. **Environ. Toxicol. Chem.**, **5**:487-501.
- THRELKELD, S.T., 1987. *Daphnia* population fluctuations: Patterns and mechanisms. **Mem. Ist Idrobiol Dott Marco Marchi**, **45**:367-388.
- TRACANNA, B., 1982. **Estudio taxonomico de las chlorophyta de Tucuman**. Ministério de cultura y educacion. Fundação Miguel Lillo. 91p.

- TRINDADE, M., 1980. Nutrientes em Sedimentos da Represa do Lobo (Brotas-Itirapina, SP). **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal de São Carlos. 219p.
- TUNDISI, J.G., 1977. Primary production, standing-stock, size fractionation of phytoplankton and ecological factors in an artificial lacustrine ecosystem (Broa reservoir, São Carlos). **Tese de livre docência**. Universidade de São Paulo, São Paulo. 410 pp.
- TUNDISI, J.G., 1983. A review of basic ecological processes interacting with production and standing-stock of phytoplankton in lakes and reservoirs in Brazil. **Hydrobiologia**, **100**:223-243.
- TUNDISI, J.G., MATSUMURA-TUNDISI, T., ROCHA, O, HENRY, R. & CALIJURI, M.C., 1994. **Relatório Técnico Científico n. 2** – período Nov92-Nov 93. Projeto Temático – mecanismos de funcionamento de represas (Estrutura e função) em relação as bacias hidrográficas (Bases biogeoquímicas e usos). – Vol I processo 91/0612-5, Abril, 262pp.
- TUNDISI, J.G., MATSUMURA-TUNDISI, T., ROCHA, °, GENTIL, J.G. & NAKAMOTO, N., 1977. Primary production, standing-stock of phytoplankton and ecological factors in a shallow tropical reservoir (Represa do Broa, São Carlos, Brasil). **I Seminário Médio Ambiente y Represas**, Montevideo, Uruguay: 138-172.
- USEPA – U.S. Environment Protection Agency, 1980. **Water quality criteria for the protection of aquatic life, uses and human health**. 45FR:79317-79379. November, 28. Washington, DC.
- USEPA- U.S. Environment Protection Agency, 1991. **Technical Support Document for Water Quality-based Toxic Control**. Washington, DC.
- ÜTHERMOHL, H., 1958. On the perfecting of quantitative phytoplankton method. **Int. Ass. Theor. Appl. Limnol. Commun**, **9**.
- VAN DER HEEVER, J.A. & GROBBELAAR, J.U., 1996. Evaluation of short-incubation-time small-volume radiocarbon-uptake algal toxicity test. **Journ. Appl. Phycology**, **8**:65-71.
- VOLLENWEIDER, R. A, 1974. **A Manual of on Methods for Measuring Primary Production in Aquatic Environments**. IBP Handbook n. 12. London: Blackwell Scientific Publications. 225pp.
- WALSH, G., DUKE, K.M. & FOSTER, R.B., 1982. Algae and crustaceans as indicators of bioactivity of industrial wastes. **Water Res.** **16**:879-883.
- WÄNGBERG, S.A & BLANK, H., 1988. Multivariate patterns of algal sensitivity to chemicals in relation to phylogeny. **Ecotoxicol. Environ. Safety**, **16**:72-82.

- WÄNGBERG, S.A., 1995 Effects of arsenate and copper on the algal communities in polluted lakes in the northern parts of Sweden assayed by PICT (Pollution-Induced Community Tolerance). **Hydrobiologia**, **306**:109-214.
- WATRAS, C.J., MORRISON, K.A. & BLOMM, N.S., 1995. Mercury in remote Rocky Mountain lakes of Glacier National Park, Montana, in comparison with other temperate North American regions. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **52**:1220-1228.
- WETZEL, R.G. & LIKENS, G.E., 1991. **Limnological Analysis**. 2nd Ed. Springer-Verlag. 391pp.
- WHITTON, B.A. & SAY, P.J., 1975. Heavy metals. In: **River Ecology** (B. Whitton, ed.), Blackwell Scientific Publications, London. p. 39-58.
- WILSON, J.B., 1982. Phototaxis impairment as a sensitive indicator of lead or cadmium stress in freshwater crustacean zooplankton. **PhD thesis**, University of Guelph, Guelph, Canada.
- WINNER, R.W., 1985. bioaccumulation and toxicity of copper as affected by interactions between humic acid and water hardness. **Water Res.**, **19**:449-455.
- WINNER, R.W., 1986. Interactive effects of water hardness and humic acid on the chronic toxicity of cadmium to *Daphnia pulex*. **Aquat. Toxicol.**, **8**:281-293.
- WINNER, R.W., & GAUSS, J.D., 1986. Relationship between chronic toxicity and bioaccumulation of copper, cadmium and zinc as affected by water hardness and humic acid. **Aquatic Toxicology**, **8**:149-161.
- WINNER, R.W., 1988. Evaluation of the relative sensitivities of 7-D *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia* toxicity tests for cadmium and sodium pentachlorophenate. **Environ. Toxicol. And Chemistry**, **7**:153-159.
- WONG, P.T.S., 1987. Toxicity of cadmium to freshwater microorganisms, phytoplankton, and invertebrates. In: Cadmium in the aquatic environment (eds. J.O. Nriagu and J.B. Sprague) Vol. 19. Wiley Serie: Advances in **Environmental Science and Technology**. p.117-138.
- WONG, P.T.S., BURNINSON, G. & CHAU, Y.K., 1979. Cadmium toxicity to freshwater algae. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, **23**:487-490.
- WREN, C.D. & STEPHENSON, G.L., 1991. The effect of acidification on the accumulation and toxicity of metals to freshwater invertebrates. **Environ. Pollut.**, **71**:205-242.
- WREN, C.D., HARRIS, S. & HARTTRUP, N., 1995. Ecotoxicology of mercury and cadmium. In: **Contaminant sources and effects** , p. 392-423.

ZAGATTO, P.A., 1988. Sensibilidade de *Daphnia similis*: controle e qualidade de culturas. *Ambiente*, 2(2):79-83.

APÊNDICE I

**Fichas de Resultados e Análise Estatística dos Testes de Toxicidade
Aguda com Cádmio**



FICHA 7: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 14.10.97 / 16:00 horas		
Final (data/hora) : 16.10.97 / 16:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
57	7.4	148	44.2	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.2	7.3	7.8	7.3
0.02	0	1	0	-	1	6.7	7.1	7.0	7.9	7.7
0.04	2	1/6	1	-	4	25	-	-	-	-
0.08	4	4	2	-	10	67	7.2	7.1	7.6	7.4
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.64	5	5	5	-	15	100	7.4	7.2	7.5	7.2

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.059 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.05 - 0.08)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 14/10/97
TEST # _____ 7
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	16	15	15	15	15
MORTALITIES	1	4	10	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			6.67			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0591913		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.05		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.08		

FICHA 8: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 15.10.97 / 16:00 horas		
Final (data/hora) : 17.10.97 / 16:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
57	7.4	148	44.2	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.4	7.3	7.8	7.3
0.02	0	0	0	-	0	0	7.1	7.0	7.9	7.7
0.04	2	2	3	-	7	47	-	-	-	-
0.08	5	5	5	-	15	100	7.3	7.1	7.6	7.4
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.64	5	5	5	-	15	100	7.4	7.2	7.5	7.2

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.041 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.03 - 0.05)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 15/10/97
TEST # _____ 8
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

© RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	7	15	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		eC50		0.0409350		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05		

FICHA 10: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 26.11.97 / 16:00 horas		
Final (data/hora) : 28.11.97 / 16:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
25/11	7.3	155	47.3	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	1	-	1	6.7	7.3	7.3	7.9	7.7
0.02	0	0	0	-	0	0	7.1	7.0	7.9	7.7
0.04	2	2	3	-	7	47	-	-	-	-
0.08	5	5	5	-	15	100	7.3	7.1	7.6	7.4
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.64	5	5	5	-	15	100	7.4	7.2	7.5	7.2

Resultado: CE(I)50. 48h = 0.041 mg/l
 intervalo de confiança 95: (0.03 - 0.05)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 26/11/97
TEST # _____ 10
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

© RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	7	15	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		eC50		0.0409350		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05		

FICHA 11: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 14.01.98 / 15:30 horas		
Final (data/hora) : 16.01.98 / 15:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
12/01	7.2	101.3	46.2.	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	1	-	1	6.7	7.1	7.3	7.9	7.7
0.02	0	0	2	-	2	13	7.2	7.0	7.7	7.3
0.04	2	2	4	-	8	53	-	-	-	-
0.08	5	2	4	-	11	73	7.2	7.1	7.6	7.4
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	7.1	7.1	7.5	7.2

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.042mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.03 - 0.06)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 14/01/98
TEST # _____ 11
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	2	8	11	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			13.33		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0426016	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.06	

FICHA 12: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 23.01.98 / 14:00 horas		
Final (data/hora) : 25.01.98 / 14:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
22/01	6.9	161	41.2	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.0	7.0	7.8	7.3
0.01	0	0	2	-	2	13	7.2	7.1	7.7	7.3
0.02	0	0	2	-	2	13				
0.04	2	2	2	-	6	40	-	-	-	-
0.08	5	5	5	-	15	100	7.2	7.1	7.6	7.4
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	7.1	7.1	7.5	7.2

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.0418 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.03 - 0.05)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE

M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 23/01/98
TEST # _____ 12
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	2	2	6	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			13.33			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0418625		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05		

FICHA 13: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 02.02.98 / 16:00 horas		
Final (data/hora) : 04.02.98 / 16:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
01/02	7.2	154	41.2	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.2	7.3	7.8	7.3
0.02	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.04	0	1	3	-	4	26	-	-	-	-
0.08	0	2	0	-	2	13	-	-	-	-
0.16	0	1	1	-	2	13	-	-	-	-
0.32	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-

Resultado: CE(I)50, 48h = não calculado
 intervalo de confiança 95%: não calculado

Observações: Teste inválido

FICHA 14: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 24.03.98 / 14:00 horas		
Final (data/hora) : 26.03.98 / 14:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
20/03	7.0	155	42	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	6.9	7.3	7.0	8.1
0.01	0	0	0	-	0	0	7.0	7.3	7.6	7.3
0.02	1	0	1	-	2	13	7.1	7.3	7.5	7.5
0.04	0	2	2	-	4	13	-	-	-	-
0.08	2	2	2	-	6	27	7.2	7.2	7.6	7.7
0.16	4	5	3	-	12	80	7.1	7.3	7.9	8.2
0.32	5	5	4	-	14	93	7.1	7.2	7.8	8.3

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.078 mg/l
 intervalo de confiança 95% : (0.06 - 0.11)

Observações: idade das fêmeas: 10 dias

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 24/03/98
TEST # _____ 13
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	2	4	6	12	14
SPEARMAN-KARBER TRIM			6.67			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0789407		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.06		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.11		

FICHA 14a: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 24.03.98 / 14:00 horas		
Final (data/hora) : 26.03.98 / 14:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
20/03	7.0	155	42	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	1	-	1	6.7	6.9	7.3	7.0	8.2
0.01	0	0	1	-	1	6.7	7.0	7.3	7.6	7.3
0.02	1	2	0	-	3	20	7.1	7.4	7.5	8.1
0.04	1	2	0	-	3	20	7.1	7.3	7.7	8.2
0.08	2	1	3	-	6	27	7.2	7.4	7.6	8.3
0.16	4	2	2	-	8	53	7.1	7.3	7.9	8.2
0.32	3	4	2	-	10	67	7.1	7.2	7.8	8.3

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.136 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.07 - 0.28)

Observações: idade das fêmeas: 4 semanas

BURLINGTON RESEARCH, INC.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
 EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
 M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
 CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 24/03/98
 TEST # _____ 14A
 CHEMICAL _____ CLORETO DE CADMIO
 SPECIES _____ CERIODAPHNIA SILESTRII
 DURATION _____ 48 H

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION(MG/L)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	1	3	3	6	8	10
SPEARMAN-KARBER TRIM			33.33			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.1361067		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.07		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.28		

FICHA 15: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo continuo / h
Início (data/hora) : 28.04.98 / 14:00 horas		
Final (data/hora) : 30.04.98 / 14:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
25/04	7.2	156	46.2	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.2	7.3	7.8	8.1
0.02	0	0	0	-	0	0	7.2	7.0	7.7	8.0
0.04	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.08	1	1	1	-	3	20	7.2	7.1	7.6	8.2
0.16	4/4	4/4	5	-	13	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100				
0.64	5	5	5	-	15	100	7.2	7.2	7.5	8.2

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.098 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.09 - 0.11)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 28/04/98
TEST # _____ 15
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	15	15	13	15	15
MORTALITIES	0	0	3	13	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0984915		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.09		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.11		

FICHA 16: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 05.05.98 / 15:30 horas		
Final (data/hora) : 07.05.98 / 15:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
04/05	7.1	149	46.2	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.2	6.9	7.8	7.8
0.02	0	0	0	-	0	0	7.2	6.7	7.7	7.7
0.04	0	0	1	-	1	6.7	-	-	-	-
0.08	0	2	0	-	2	20				
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	7.1	6.8	7.5	7.8

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.098 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.08 - 0.11)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 05/05/98
TEST # _____ 16
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	1	2	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0984915	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.08	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.11	

FICHA 17: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo continuo / h
Início (data/hora) : 18.08.98 / 15:30 horas		
Final (data/hora) : 20.08.98 / 15:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
17/08	7.2	123.3	44.5	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	1	-	1	6.7	7.2	7.3	7.8	8.3
0.02	0	0	1	-	1	6.7	7.2	7.0	7.7	8.3
0.04	2	1	1	-	4	27	-	-	-	-
0.08	5	5	5	-	15	100	7.2	7.1	7.6	8.1
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	7.1	7.1	7.5	8.2

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.047 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.04 - 0.06)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 18/08/98
TEST # _____ 17
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	1	4	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			6.67		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0470523	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.04	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.06	

FICHA 18: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 01.09.98 / 15:30 horas		
Final (data/hora) : 03.09.98 / 15:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
28/08	7.2	155	44.2	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.2	7.6	-	-
0.02	0	0	-	-	0	0	7.2	7.5	-	-
0.04	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.08	3	5	4	-	12	80.0	7.2	7.5	-	-
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	3/3	5	5	-	13	100	7.1	7.5	-	-

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.0649 mg/l
 intervalo de confiança 95: (0.06 - 0.07)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 01/09/98
TEST # _____ 18
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	13
MORTALITIES	0	0	12	15	13
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0649802	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.06	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.07	

**FICHA 20: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA –
SENSIBILIDADE**

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 27.10.98 / 15:30 horas		
Final (data/hora) : 29.10.98 / 15:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância Referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
22/10	7.3	158	46.2	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.2	7.6	-	-
0.02	0	0(6)	0	-	0	0	7.2	7.4	7.7	7.8
0.04	2	3	1	-	6	40	-	-	-	-
0.08	5	3	5	-	13	87	7.3	7.2	7.9	7.9
0.16	5	5	5	-	15	100		-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	7.3	7.5	-	8.2

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.047 mg/l

intervalo de confiança 95% : (0.04 - 0.06)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 27.10.98
TEST # _____ 20
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	16	15	15	15	15
MORTALITIES	0	6	13	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0470219	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.04	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.06	

FICHA 21: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) :28.10.98 / 15:00 horas		
Final (data/hora) :30.10.98 / 15:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância Referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
22/10	7.3	158	46.2	Cloreto de Cádmio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.2	7.3	-	-
0.01	0	0	0	-	0	0			-	-
0.02	0	0	0	-	0	0			-	-
0.04	2	2	1	-	5	33	7.4	7.3	7.7	7.5
0.08	5	5	5	-	15	100			-	-
0.16	5	5	5	-	15	100	7.4	7.3	7.6	7.4

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.045 mg/l
intervalo de confiança 95% : (0.04- 0.05)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 28.10.98
TEST # _____ 21
CHEMICAL _____ ClCd
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

© RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	0	5	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0448985	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.04	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05	

APÊNDICE II

**Fichas de Resultados e Análise Estatística dos Testes de Toxicidade
Aguda com Cromo**

FICHA 2: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) :20.01.98 / 17:00 horas		
Final (data/hora) :22.01.98 / 17:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
20.01	7.3	128	44	Dicromato de Potássio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	Tota l	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.3	7.0		7.4
0.02	0	0	0	-	0	0	7.2	7.1		
0.04	0	2	0		2	13	-	-		
0.08	3	3	2	-	8	53	7.3	7.2		7.4
0.16	5	5	5	-	15	100		-		
0.32	5	5	5	-	15	100	7.2	7.2		7.4

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.071mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.06-0.09)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE

M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 20.01.98
TEST # _____ 2
CHEMICAL _____ dicromato de potássio
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	2	8	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0712719	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.06	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.09	

**FICHA 3: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA -
SENSIBILIDADE**

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 21.01.98 / 16:00 horas		
Final (data/hora) : 23.01.98 / 16:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
20/01	7.3	159	47.3	Dicromato de Potássio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.3	7.4	7.8	7.4
0.01	0/4	0	0	-	0	0				
0.02	0	0	0	-	0	0				
0.04	1/4	2	1	-	4	36	7.3	7.3	7.7	7.5
0.08	5	5	5	-	15	100				
0.016	5	5	5	-	15	100	7.3	7.3	7.6	7.4

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.047 mg/l
intervalo de confiança 95%: (0.04 - 0.06)

Observações: teste inválido _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
 EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
 M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
 CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 21.01.98
 TEST # _____ 3
 CHEMICAL _____ dicromato de potássio
 SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
 DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	14	15	14	15	15
MORTALITIES	0	0	4	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0464052	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.04	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05	

FICHA 5: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 28.04.98 / 16:00 horas		
Final (data/hora) : 30.04.98 / 16:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
20/04	7.2	145	42.6	Dicromato de Potássio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.2	7.1	7.8	8.1
0.02	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.04	2	4	4	-	10	67	-	-	-	-
0.08	5	5	5	-	15	100	7.3	7.2	7.8	7.9
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100				
0.64	5	5	5	-	15	100	7.4	7.2	7.8	8.0

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.035 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.03 - 0.04)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 28.04.98
TEST # _____ 5
CHEMICAL _____ dicromato de potássio
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

© RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	10	15	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0356360		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.04		

FICHA 7: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 04.03.99 / 16:00 horas		
Final (data/hora) : 06.03.99 / 16:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
02/03	7.4	144	4923	Dicromato de Potássio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.4	7.3	-	-
0.005	0	0	0	-	0	0	7.4	7.3	-	-
0.01	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.02	0	0	1	0	1	6.6	7.3	7.3	-	-
0.04	2	1	2	-	5	33	-	-	-	-
0.08	3	4	3	-	10	67	-	-	-	-
0.016	5	5	5	-	15	100	7.3	7.4	-	-

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.054 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.04 - 0.07)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 04/03/99
TEST # _____ 6
CHEMICAL _____ mg/l
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.01	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	0	1	5	10	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0540140		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.04		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.07		

FICHA 8: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora): 06.03.99 / 14:00 horas		
Final (data/hora): 08.03.99 / 14:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
02/03	7.4	144	49.3	Dicromato de Potássio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.4	7.4	7.8	7.4
0.01	0	0	0	-	0	0				
0.02	0	0	0	-	0	0				
0.04	2	2	1	-	5	33	7.4	7.3	7.7	7.5
0.08	5	5	5	-	15	100				
0.16	5	5	5	-	15	100	7.4	7.3	7.6	7.4

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.045 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.04 - 0.05)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 06/03/99
TEST # _____ 7
CHEMICAL _____ dicromato de potassio
SPECIES _____ ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	0	5	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0448985	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.04	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05	

FICHA 9: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora): 06.03.99 / 18:00 horas		
Final (data/hora): 08.03.99 / 18:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
02/03	7.4	144	49.2	Dicromato de Potássio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.4	7.4	7.8	7.4
0.01	0/4	0	0	-	0	0				
0.02	0	0	0	-	0	0				
0.04	1/4	2	1	-	4	36	7.4	7.3	7.7	7.5
0.08	5	5	5	-	15	100				
0.16	5	5	5	-	15	100	7.4	7.3	7.6	7.4

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.047 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.04 - 0.06)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 06/03/99
TEST # _____ 8
CHEMICAL _____ dicromato de potassio
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	0	4	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0470219	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.04	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.06	

FICHA 10: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora): 09.03.99 / 10:30 horas		
Final (data/hora) : 11.03.99 / 10:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
02/03	7.4	158	47.3	Dicromato de Potássio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0		0	0	7.4	7.4	7.8	7.4
0.01	0	2	0	-	2	13	7.4	7.2	7.9	7.6
0.02	0	1	0	-	1	6.7				
0.03	2	0	3	-	5	33	7.4	7.3	7.7	7.6
0.04	5	5	5	-	15	100				
0.08	5	5	5	-	15	100				
0.16	5	5	5	-	15	100	7.4	7.3	7.6	7.8

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.03 mg/l
intervalo de confiança 95%: (0.03)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 10/03/99
TEST # _____
CHEMICAL _____ DICROMATO DE POTASSIO
SPECIES _____ CERIODAPHNIA SILVESTRII
DURATION _____ 48 H

© RAW DATA

CONCENTRATION (MG/L)	0.01	0.02	0.03	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	2	1	5	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			10.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0308357		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.03		

NOTE MORTALITY PROPORTIONS WERE NOT MONOTONICALLY INCREASING
ADJUSTMENTS WERE MADE PRIOR TO SPEARMAN-KARBER ESTIMATION.

FICHA 11: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora): 09.03.99 / 15:30 horas		
Final (data/hora) : 11.03.99 / 15:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
02/03	7.4	158	47.3	Dicromato de Potássio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0		0	0	7.3	7.3	7.8	7.8
0.01	0	0	0	-	0	0	7.3	7.2	7.9	7.6
0.02	0	0	0	-	0	0				
0.03	3	2	5	-	10	67				
0.04	5	5	5	-	15	100	7.3	7.4	7.7	7.9
0.08	5	5	5	-	15	100				
0.16	5	5	5	-	15	100	7.3	7.2	7.6	8.1

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.03mg/l
intervalo de confiança 95%: (0.03)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 09/03/99
TEST # _____
CHEMICAL _____ DICROMATO DE POTASSIO
SPECIES _____ CERIODAPHNIA SILVESTRII
DURATION _____ 48 H

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (MG/L)	0.01	0.02	0.03	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	0	10	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0274946		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.03		

**FICHA 13: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA -
SENSIBILIDADE**

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 29.06.99/ 15:30 horas		
Final (data/hora) : 01.07.99/ 15:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância Referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
21/06	7.3	128	44	Dicromato de Potássio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.2	7.6	-	7.9
0.02	0	0	-	-	0	0	7.2	7.5	-	7.8
0.04	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.08	3	5	4	-	12	80	7.2	7.5	-	7.6
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	7.1	7.5	-	7.8

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.065 mg/l
intervalo de confiança 95: (0.06 - 0.07)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 29.06.99
TEST # _____ 14
CHEMICAL _____ mg/L
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION(dicro)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	2	2	6	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			13.33			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0418625		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05		

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 30.06.99
TEST # _____ 15
CHEMICAL _____ dicromato de pot'
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

RAW DATA

CONCENTRATION(mg/l)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	3	6	11	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0448985	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.06	

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 29.06.99
TEST # _____ 13
CHEMICAL _____ dicromato de potássio
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	0	12	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0649802	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.06	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.07	

FICHA 14: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 29.06.99/ 17:00 horas		
Final (data/hora) : 01.07.99 / 17:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância Referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
21/06	7.3	128	44	Dicromato de Potássio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.3	7.0	7.8	7.3
0.01	0	0	2	-	2	13	7.2	7.1	7.7	7.3
0.02	0	0	2	-	2	13				
0.04	2	2	2	-	6	40	-	-	-	-
0.08	5	5	5	-	15	100	7.2	7.1	7.6	7.4
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	7.1	7.1	7.5	7.2

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.042 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.03 - 0.05)

Observações: _____

FICHA 15: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA – SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 30.06.99/ 17:00 horas		
Final (data/hora) : 02.07.99 / 17:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
21/06	7.3	128	44	Dicromato de Potássio

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.3	7.0	7.8	7.3
0.01	0	0	0	-	0	0	7.2	7.1	7.7	7.3
0.02	1	0	2	-	3	20				
0.04	2	2	2	-	6	40	7.2	7.2	7.6	7.6
0.08	5	3	3	-	11	73				
0.16	5	5	5	-	15	100	7.2	7.1	7.6	7.4

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.044 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.03 - 0.05)

Observações: _____

APÊNDICE III

**Fichas de Resultados e Análise Estatística dos Testes de Toxicidade
Aguda com Nitrato de Chumbo**

FICHA 2 : REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 04.03.99 / 17:00 horas		
Final (data/hora) : 06.03.99 / 16:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
02/03	7.4	149	46.0	Nitrato de chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0		7.2	-	-
0.005	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.010	0	0	0	-	0	0		7.3	-	-
0.020	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.040	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.080	2	2	2	-	6	40	-	-	-	-
0.16	5	5	5	-	15	100		7.5	-	-

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.086 mg/l
intervalo de confiança 95% : (0.07 - 0.10)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 04/03/99
TEST # _____ 2
CHEMICAL _____ Nitrate de Chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.01	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	0	0	0	6	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0857419		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.07		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.10		

FICHA 3: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 06.03.99 / 17:30 horas		
Final (data/hora) : 08.03.99 / 17:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
02/03	7.4	149	46.0	Nitrato de chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.4	7.2		7.6
0.02	0	0	1	-	1	6.7	7.4	7.3		7.7
0.04	1	0	0	-	1	6.7				
0.08	2	3	2	-	7	47	7.4	7.3		7.8
0.16	5	5	5	-	15	100		-		
0.32	5	5	5	-	15	100	7.4	7.5		7.5

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.080mg/l
 intervalo de confiança 95% : (0.07 - 0.10)

Observações: _____

⊙

BURLINGTON RESEARCH, INC.

Trimmed Spearman-Karber Method for Calculation of
EC50 and LC50 Values in Bioassays

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 06/03/99
TEST # _____
CHEMICAL _____ nitrato de chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙

RAW DATA					
CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	1	1	7	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			6.67		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0802670	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.07	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.10	

FICHA 4: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 09.04.99 / 17:30 horas		
Final (data/hora) : 11.04.99 / 17:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
08.04	7.4	148	43	Nitrato de chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.4	7.4	8.1	7.8
0.01	0	0	0	-	0	0	7.4	7.5	8.0	8.0
0.02	1	0	0	-	1	6.7				
0.04	2	1	2	-	5	33	7.4	7.5	8.1	8.0
0.08	5	4	5	-	14	93				
0.16	5	5	5	-	15	100	7.4	7.7	8.1	7.9

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.044mg/l
 intervalo de confiança 95% : (0.04 - 0.05)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 09/04/99
TEST # _____
CHEMICAL _____ NITRATO DE CHUMBO
SPECIES _____ CERIODAPHNIA SILVESTRII
DURATION _____ 48 H

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (MG/L)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	15	15	14	15	15
MORTALITIES	0	1	5	14	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0441636	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.04	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05	

FICHA 5: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 16.05.99/14:00 horas		
Final (data/hora) : 18.05.99/14:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
11.05	7.4	149	46.0	Nitrato de chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.4	7.5	7.5	8.0
0.02	0	0(6)	0	-	0	0	7.4	7.5	7.5	8.0
0.04	3	2	1	-	6	40	-	-	-	-
0.08	3	5	5	-	13	87	7.3	7.5	7.5	7.9
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	7.3	7.5	7.5	8.2-

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.047mg/l
 intervalo de confiança 95% : (0.04 – 0.06)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 16/05/99
TEST # _____
CHEMICAL _____ NITRATO DE CHUMBO
SPECIES _____ CERIODAPHNIA SILVESTRII
DURATION _____ 48 H

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION(MG/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	16	15	15	15	15
MORTALITIES	0	6	13	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0470219	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.04	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.06	

FICHA 6: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 18.05.99 / 14:30 horas		
Final (data/hora) 20:05.99 / 14:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
17.05	7.4	149	46.0	Nitrato de chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.4	7.2	7.9	7.8
0.02	0	0	1	-	1	6.7	7.4	7.2	7.7	7.6
0.04	2	0	0	-	2	13				
0.08	5	4	2	-	11	73	7.3	7.1	7.8	7.7
0.16	5	5	5	-	15	100				
0.32	5	5	5	-	15	100	7.3	7.2	7.7	7.5

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.06 mg/l
 intervalo de confiança 95% : (0.05 - 0.08)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 18/05/99
TEST # _____
CHEMICAL _____ NITRATO DE CHUMBO
SPECIES _____ CERIODAPHNIA SILVESTRII
DURATION _____ 48 H

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (MG/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	1	2	11	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			6.67		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0616884	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.05	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.08	

FICHA 7: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 19.05.99 / 10:30 horas		
Final (data/hora) : 21.05.99 / 10:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
17.05	7.4	149	46.0	Nitrato de chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.4	7.3	8.0	7.9
0.02	0	0	0	-	0	0	7.4	7.3	7.9	7.9
0.04	0	2	3	-	5	33				
0.08	5	4(4)	5	-	14	100	7.3	7.2	8.1	8.0
0.16	5	5	5	-	15	100				
0.32	5	5	5	-	15	100	7.4	7.4	7.8	7.8

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.04 mg/l
 intervalo de confiança 95% : (0.04 - 0.05)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 19/05/99
TEST # _____
CHEMICAL _____ NITRATO DE CHUMBO
SPECIES _____ CERIODAPHNIA SILVESTRII
DURATION _____ 48 H

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION(MG/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	14	15	15
MORTALITIES	0	5	14	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0448985	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.04	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05	

FICHA 8: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 09.06.99 / 17:30 horas		
Final (data/hora) : 11.06.99 / 17:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
01.06	7.3	149	44	Nitrato de chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.3	7.1	7.8	7.4
0.02	0	2	1	-	3	20	7.3	7.2	7.5	7.4
0.04	2	3	2	-	7	47				
0.08	5	5	5	-	15	100	7.4	7.3	7.7	7.4
0.16	5	5	5	-	15	100				
0.32	5	5	5	-	15	100	7.3	7.2	7.8	7.4

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.038mg/l
 intervalo de confiança 95% : (0.03 - 0.05)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 09.06.99
TEST # _____
CHEMICAL _____ nitarto de chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

© RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	3	7	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			20.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0386747	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05	

FICHA 9: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA – SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 15.06.99/ 16:30 horas		
Final (data/hora) : 17.06.99 / 16:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
14/06	7.3	128	44	Nitrato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.3	7.0	7.8	7.7
0.01	0	0	0	-	0	0	7.3	7.1	7.7	7.7
0.02	1	0	2	-	3	20				
0.04	2	2	2	-	6	40	7.3	7.2	7.6	7.6
0.08	5	3	3	-	11	73				
0.16	5	5	5	-	15	100	7.2	7.1	7.6	7.5

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.044 mg/l
intervalo de confiança 95%: (0.03 - 0.05)

Observações: _____



BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 15/06/99
TEST # _____
CHEMICAL _____ NITARTO DECHUMBO
SPECIES _____ CERIODAPHNIA SILVESTRII
DURATION _____ 48 H

© RAW DATA

CONCENTRATION (MG/L)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	3	6	11	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0448985	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.06	

FICHA 10: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 16.06.99/ 10:00 horas		
Final (data/hora) : 18.06.99 / 10:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
14/06	7.3	128	44	Nitrato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.3	7.4	7.9	7.4
0.01	0	0	0	-	0	0				
0.02	0	0	0	-	0	0				
0.04	2	2	1	-	5	33	7.3	7.3	7.8	7.5
0.08	5	5	5	-	15	100				
0.16	5	5	5	-	15	100	7.3	7.3	7.8	7.4

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.045 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.04 - 0.05)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 16.06.99
TEST # _____
CHEMICAL _____ nitrato de chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	0	5	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0448985	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.04	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05	

FICHA 11: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora): 16.06.99 / 15:30 horas		
Final (data/hora) : 18.06.99 / 15:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
14/06	7.3	128	44	Nitrato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	1	-	1	6.7	7.4	7.3	7.9	7.7
0.02	0	0	0	-	0	0	7.3	7.0	7.9	7.8
0.04	2	2	3	-	7	47	-	-	-	-
0.08	5	5	5	-	15	100	7.3	7.1	7.6	7.4
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.64	5	5	5	-	15	100	7.4	7.2	7.8	7.6
<p>Resultado: CE(I)50, 48h = 0.041 mg/l intervalo de confiança 95: (0.03 - 0.05)</p>										

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 16.06.99
TEST # _____
CHEMICAL _____ nitrato de chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	7	15	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0409350		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.05		

FICHA 12: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora): 28.06.99 / 10:30 horas		
Final (data/hora) :30.06.99 / 10:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
26.06	7.4	158	47.3	Nitrato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.4	7.1	7.8	8.1
0.02	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.04	2	4	4	-	10	67	-	-	-	-
0.08	5	5	5	-	15	100	7.3	7.2	7.8	7.9
0.16	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100				
0.64	5	5	5	-	15	100	7.4	7.2	7.8	8.0

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.035 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.03 - 0.04)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 28.06.99
TEST # _____
CHEMICAL _____ nitrato de chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	10	15	15	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0356360		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.03		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.04		

FICHA 13: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste: <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48h.	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora): 28.06.99 / 16:30 horas		
Final (data/hora) :30.06.99 / 16:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
26.06	7.4	158	47.3	Nitrato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.4	7.1	7.8	8.1
0.02	0(4)	0(4)	0(4)	-	0	0	-	-	-	-
0.04	0(4)	0(4)	2(4)	-	2	17	-	-	-	-
0.08	2(3)	3(3)	2(3)	-	7	77	7.3	7.2	7.8	7.9
0.16	4(4)	4(4)	4(4)	-	12	100	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	7.4	7.2	7.8	8.0

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.058 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.05 - 0.07)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 28.06
TEST # _____
CHEMICAL _____ nitrato de chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

© RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	12	12	9	12	15
MORTALITIES	0	2	7	12	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.0587894	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.05	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.07	

APÊNDICE IV

**Fichas de Resultados e Análise Estatística dos Testes de Toxicidade
Aguda com Acetato de Chumbo**

FICHA 2 : REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) :24.09.97 / 16:30 horas		
Final (data/hora) :26.09.97 / 16:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
45	7.4	149	46.0	Acetato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.3	7.4	7.8	7.3
0.01	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.05	6/6	5	5	-	16	100	-	-	-	-
0.10	0	0	0	-	0	0	7.4	7.3	7.9	8.1
0.25	0	1	1	-	2	13.3	-	-	-	-
0.50	2	1	2	-	5	33.3	-	-	-	-
1.00	5	5	5	-	15	100	7.2	7.3	7.8	7.9

Resultado: CE(I)50, 48h = não calculado
intervalo de confiança 95% : não calculado

Observações: teste inválido

FICHA 5: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 08.10.97 / 15:15 horas		
Final (data/hora) : 10.10.97 / 15:15 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
54	7.3	156	44.2	Acetato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.2	7.1	7.8	7.5
0.023	0	0	0	-	0	0	7.2	7.2	7.8	7.7
0.05	0	0	1	-	1	6.7	-	-	-	-
0.10	1	1	0	-	2	13	7.3	7.2	7.7	7.9
0.23	3	4	3	-	10	67	-	-	-	-
0.50	5	5	5	-	15	100				
1.00	5	5	5	-	15	100	7.5	7.2	7.7	7.8

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.170 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.13 - 0.22)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 08/10/97
TEST # _____ 5
CHEMICAL _____ Acetato de Chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.05	0.10	0.23	0.50	1.00
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	1	2	10	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.1705687		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.13		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.22		

FICHA 6: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 14.10.97 / 16:30 horas		
Final (data/hora) : 16.10.97 / 16:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
57	7.4	148	44.2	Acetato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.2	7.2	7.8	7.7
0.02	1	1	0	-	2	13	7.3	7.1	7.7	7.9
0.04	1	2	1	-	4	27	-	-	-	-
0.08	2	1	1	-	4	27	7.2	7.1	7.7	7.9
0.16	1	2/6	3	-	6	37	-	-	-	-
0.32	5	5	5	-	15	100	-	-	-	-
0.64	5	5	5	-	15	100	7.4	7.2	7.9	7.8

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.13 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.09 - 0.20)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 14/10/97
TEST # _____ 6
CHEMICAL _____ Acetato de Chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	15	15	16	15	15
MORTALITIES	2	4	4	6	15	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			13.33			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.1331798		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.09		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.20		

FICHA 7: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 15.10.97 / 16:00 horas		
Final (data/hora) : 17.10.97 / 16:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. (µS/cm ²)	Dureza mg/l CaCO ₃	
57	7.4	148	44.2	Acetato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	1	0	-	1	6.7	7.2	7.3	7.7	7.9
0.02	0	0	0	-	0	0	7.3	7.1	7.8	7.9
0.04	1	0	0	-	1	6.7	-	-	-	-
0.08	0	1	0	-	1	6.7	7.2	7.4	7.7	7.9
0.16	0	1	1	-	2	13	-	-	-	-
0.32	4	3	3	-	10	67	-	-	-	-
0.64	5	5	5	-	15	100	7.4	7.2	7.9	7.8

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.237 mg/l
intervalo de confiança 95% : (0.19 - 0.30)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 15/10/98
TEST # _____ 7
CHEMICAL _____ Acetato de Chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silveistrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	1	1	2	10	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.2369756		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.19		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.30		

FICHA 8: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) :21.10.97 / 18:30 horas		
Final (data/hora) :23.10.97 / 18:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
20/10	7.4	149	46.0	Acetato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	-	-	0	0	7.3	7.2	7.8	7.9
0.02	0	0	0	-	0	0	7.3	7.2	7.7	7.5
0.04	0	1	1	-	2	22	-	-	-	-
0.16	3	1	1	-	5	56	7.2	7.1	7.8	7.9
0.32	3	3	3	-	9	100	-	-	-	-
0.64	3	3	3	-	9	100	7.3	7.3	7.8	7.9

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.1000 mg/l
 intervalo de confiança 95%: (0.06 - 0.16)

Observações: neonatos com 0-6 horas. _____

3 organismos por réplica-- _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 21/10/97
TEST # _____ 7
CHEMICAL _____ acetato de chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	9	9	9	9	9
MORTALITIES	0	2	5	9	9
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.1007937	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.06	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.16	

FICHA 8a: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 21.10.97 / 18:30 horas		
Final (data/hora) : 23.10.97 / 18:30 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
20/10	7.4	149	46.0	Acetato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	1	0	-	1	6.6	7.3	7.2	7.8	7.9
0.02	0	0	0	-	0	0	7.3	7.2	7.7	7.5
0.04	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.08	0	0	0	-	0	0	7.2	7.1	7.8	7.9
0.16	0	2	2	-	4	27	-	-	-	-
0.32	3	2	2	-	7	47	-	-	-	-
0.45	5	5	5	-	15	100	7.3	7.3	7.8	7.9

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.248
 intervalo de confiança 95% : (0.20 - 0.30)

Observações: neonatos com + de 6 horas _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 21/10/97
TEST # _____ 8
CHEMICAL _____ acetato de chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.45
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	0	0	4	7	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.2478097		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.20		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.30		

**FICHA 9: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA -
SENSIBILIDADE**

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 27.10.97 / 18:00 horas		
Final (data/hora) : 29.10.97 / 18:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
22/10	7.3	158	46.2	Acetato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.3	7.2	7.7	7.6
0.02	0	0	0	-	0	0	7.2	7.4	7.7	7.8
0.04	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.08	0	1	1	-	2	13	7.3	7.2	7.9	7.9
0.16	1	0	2	-	3	20	-	-	-	-
0.32	4	5	5	-	14	93	-	-	-	-
0.64	5	5	5	-	15	100	7.2	7.3	7.7	7.7

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.188 mg/l
intervalo de confiança 95% : (0.15 - 0.23)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 27/10/97
TEST # _____ 9
CHEMICAL _____ acetato de chumbo
SPECIES _____ ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	0	2	3	14	15
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.1880877		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.15		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.23		

FICHA 9a: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) : 27.10.97 / 18:00 horas		
Final (data/hora) : 29.10.97 / 18:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
22/10	7.3	158	46.2	Acetato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.3	7.2	7.7	7.6
0.02	0	0	0	-	0	0	7.2	7.4	7.7	7.8
0.04	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.08	1	1	0	-	2	17	7.3	7.2	7.9	7.9
0.16	2	2	2	-	6	50	-	-	-	-
0.32	4	4	3	-	11	92	-	-	-	-
0.64	4	4	4	-	12	100	7.2	7.3	7.7	7.7

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.151 mg/l
intervalo de confiança 95% : (0.11 - 0.20)

Observações: 4 organismos por réplica / neonatos com + 6 horas _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 27/10/97
TEST # _____ 10
CHEMICAL _____ acetato de chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (mg/l)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	12	12	12	12	12	12
MORTALITIES	0	0	2	6	11	12
SPEARMAN-KARBER TRIM			0.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.1510199		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.11		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.20		

FICHA 10: REGISTRO DE DADOS DE TESTE DE TOXICIDADE AGUDA - SENSIBILIDADE

Organismo teste : <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>		
<input checked="" type="checkbox"/> estático / 48 h	<input type="checkbox"/> semi estático / h	<input type="checkbox"/> fluxo contínuo / h
Início (data/hora) :02.02.98 / 16:00 horas		
Final (data/hora) :04.02.98 / 16:00 horas		

Água de cultivo e/ou diluição				Substância-referência
Lote	pH	Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)	Dureza mg/l CaCO_3	
02/02	7.2	154	41.2	Acetato de Chumbo

Concentração mg/l	Nº organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/l)	
	1	2	3	4	total	%	ini	fin	ini	fin
controle	0	0	0	-	0	0	7.3	7.2	7.7	7.6
0.02	0	0	0	-	0	0	7.2	7.2	7.7	7.8
0.04	0	0	0	-	0	0	-	-	-	-
0.08	1	1	0	-	2	13	7.2	7.3	7.8	7.9
0.16	2	1	0	-	3	20	-	-	-	-
0.32	2	2	2	-	6	40	-	-	-	-
0.64	4	4	4	-	12	80	7.1	7.3	7.8	7.9

Resultado: CE(I)50, 48h = 0.36 mg/l
intervalo de confiança 95% : (0.26 - 0.50)

Observações: _____

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE _____ 02/02/98
TEST # _____ 11
CHEMICAL _____ acetato de chumbo
SPECIES _____ Ceriodaphnia silvestrii
DURATION _____ 48 h

⊙ RAW DATA

CONCENTRATION (6)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15	15
MORTALITIES	0	0	2	3	6	12
SPEARMAN-KARBER TRIM			20.00			
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		EC50		0.3591878		
		95% LOWER CONFIDENCE		0.26		
		95% UPPER CONFIDENCE		0.50		

APÊNDICE V

**Análise Estatística dos Testes de Toxicidade Crônica para Cádmiu,
Cromo e Chumbo**

C.silvrestrii/ Cad
File: silcad Transform: NO TRANSFORMATION

Chi-square test for normality: actual and expected frequencies

INTERVAL	<-1.5	-1.5 to <-0.5	-0.5 to 0.5	>0.5 to 1.5	>1.5
EXPECTED	4.020	14.520	22.920	14.520	4.020
OBSERVED	3	11	30	13	3

Calculated Chi-Square goodness of fit test statistic = 3.7171
Table Chi-Square value (alpha = 0.01) = 13.277

Data PASS normality test. Continue analysis.

C.silvrestrii/ Cad
File: silcad Transform: NO TRANSFORMATION

Cochran's test for homogeneity of variance

Calculated G statistic = 0.3273
Table value = 0.42 (alpha = 0.01, df = 6,10)
Table value = 0.37 (alpha = 0.05, df = 6,10)

Data PASS homogeneity test at 0.01 level. Continue analysis.

NOTE: Cochran's test is most powerful for detecting one large deviant variance.

C.silvrestrii/ Cad
 File: silcad Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	525.283	105.057	13.847
Within (Error)	54	409.700	7.587	
Total	59	934.983		

Critical F value = 2.45 (0.05,5,40)
 Since $F > \text{Critical F}$ REJECT H_0 : All equal

C.silvrestrii/ Cad
 File: silcad Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Controle	9.300	9.300		
2	0.00125	6.600	6.600	2.192	
3	0.0025	5.200	5.200	3.328	*
4	0.005	3.200	3.200	4.952	*
5	0.01	2.400	2.400	5.601	*
6	0.02	0.200	0.200	7.387	*

Dunnett table value = 2.31 (1 Tailed Value, $P=0.05$, $df=40,5$)

C.silvrestrii/ Cad
 File: silcad Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Controle	10			
2	0.00125	10	2.846	30.6	2.700
3	0.0025	10	2.846	30.6	4.100
4	0.005	10	2.846	30.6	6.100
5	0.01	10	2.846	30.6	6.900
6	0.02	10	2.846	30.6	9.100

C.silvrestrii/ Cad
 File: silcad Transform: NO TRANSFORMATION

KRUSKAL - WALLIS' ANOVA BY RANKS - TABLE 1 OF 2 (p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	RANK SUM
1	Controle	9.300	9.300	486.500
2	0.00125	6.600	6.600	414.000
3	0.0025	5.200	5.200	338.000
4	0.005	3.200	3.200	267.500
5	0.01	2.400	2.400	228.000
6	0.02	0.200	0.200	96.000

Calculated H Value = 32.603 Critical H Value Table = 11.070
 Since Calc H > Crit H REJECT Ho: All groups are equal.

C.silvrestrii/ Cad

File: silcad

Transform: NO TRANSFORMATION

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
				6	5	4	3	2	1
6	0.02	0.200	0.200	\					
5	0.01	2.400	2.400	.	\				
4	0.005	3.200	3.200	.	.	\			
3	0.0025	5.200	5.200	*	.	.	\		
2	0.00125	6.600	6.600	*	.	.	.	\	
1	Controle	9.300	9.300	*	*	.	.	.	\

* = significant difference (p=0.05)

Table q value (0.05,6) = 2.936

. = no significant difference

SE = 7.711

c.silvestrii/cadmio

File: cadmio Transform: NO TRANSFORMATION

Chi-square test for normality: actual and expected frequencies

INTERVAL	<-1.5	-1.5 to <-0.5	-0.5 to 0.5	>0.5 to 1.5	>1.5
EXPECTED	4.020	14.520	22.920	14.520	4.020
OBSERVED	3	12	27	15	3

Calculated Chi-Square goodness of fit test statistic = 1.6971

Table Chi-Square value (alpha = 0.01) = 13.277

Data PASS normality test. Continue analysis.

c.silvestrii/cadmio
 File: cadmio Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	526.133	105.227	13.408
Within (Error)	54	423.800	7.848	
Total	59	949.933		

Critical F value = 2.45 (0.05,5,40)
 Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

c.silvestrii/cadmio
 File: cadmio Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	9.200	9.200		
2	0.00125	6.500	6.500	2.155	
3	0.0025	5.200	5.200	3.193	*
4	0.005	2.700	2.700	5.188	*
5	0.01	2.400	2.400	5.428	*
6	0.02	0.200	0.200	7.184	*

Dunnett table value = 2.31 (1 Tailed Value, P=0.05, df=40,5)

c.silvestrii/cadmio
 File: cadmio Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	10			
2	0.00125	10	2.894	31.5	2.700
3	0.0025	10	2.894	31.5	4.000
4	0.005	10	2.894	31.5	6.500
5	0.01	10	2.894	31.5	6.800
6	0.02	10	2.894	31.5	9.000

c.silvestrii/cadmio
 File: cadmio Transform: NO TRANSFORMATION

KRUSKAL - WALLIS' ANOVA BY RANKS - TABLE 1 OF 2 (p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	RANK SUM
1	controle	9.200	9.200	486.500
2	0.00125	6.500	6.500	412.000
3	0.0025	5.200	5.200	342.000
4	0.005	2.700	2.700	247.000
5	0.01	2.400	2.400	240.500
6	0.02	0.200	0.200	102.000

Calculated H Value = 31.869 Critical H Value Table = 11.070
 Since Calc H > Crit H REJECT Ho: All groups are equal.

c.silvestrii/cadmio
 File: cadmio Transform: NO TRANSFORMATION

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
				6	5	4	3	2	1
6	0.02	0.200	0.200	\					
5	0.01	2.400	2.400	.	\				
4	0.005	2.700	2.700	.	.	\			
3	0.0025	5.200	5.200	*	.	.	\		
2	0.00125	6.500	6.500	*	.	.	.	\	
1	controle	9.200	9.200	*	*	*	.	.	\

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Table q value (0.05,6) = 2.936 SE = 7.701

Csilcromo
File: Csilcromo Transform: NO TRANSFORMATION

Chi-square test for normality: actual and expected frequencies

INTERVAL	<-1.5	-1.5 to <-0.5	-0.5 to 0.5	>0.5 to 1.5	>1.5
EXPECTED	4.020	14.520	22.920	14.520	4.020
OBSERVED	8	3	26	23	0

Calculated Chi-Square goodness of fit test statistic = 22.4666
Table Chi-Square value (alpha = 0.01) = 13.277

Data FAIL normality test. Try another transformation.

Warning - The first three homogeneity tests are sensitive to non-normal data and should not be performed.

Csilcromo
File: Csilcromo Transform: NO TRANSFORMATION

Hartley's test for homogeneity of variance

Calculated H statistic (max Var/min Var) = 2.29
Closest, conservative, Table H statistic = 12.1 (alpha = 0.01)

Used for Table H ==> R (# groups) = 6, df (# reps-1) = 9
Actual values ==> R (# groups) = 6, df (# avg reps-1) = 9.00

Data PASS homogeneity test. Continue analysis.

NOTE: This test requires equal replicate sizes. If they are unequal but do not differ greatly, Hartley's test may still be used as an approximate test (average df are used).

Csilcromo
File: Csilcromo

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	302.000	60.400	1.671
Within (Error)	54	1952.400	36.156	
Total	59	2254.400		

Critical F value = 2.45 (0.05,5,40)
Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho: All equal

Csilcromo
File: Csilcromo

Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho: Control < Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	16.500	16.500		
2	0.00125	13.500	13.500	1.116	
3	0.0025	12.400	12.400	1.525	
4	0.005	12.000	12.000	1.673	
5	0.01	10.500	10.500	2.231	
6	0.02	9.500	9.500	2.603	*

Dunnnett table value = 2.31 (1 Tailed Value, P=0.05, df=40,5)

Csilcromo
File: Csilcromo

Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2

Ho: Control < Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	10			
2	0.00125	10	6.212	37.6	3.000
3	0.0025	10	6.212	37.6	4.100
4	0.005	10	6.212	37.6	4.500
5	0.01	10	6.212	37.6	6.000
6	0.02	10	6.212	37.6	7.000

Csilcromo
File: Csilcromo

Transform: NO TRANSFORMATION

KRUSKAL - WALLIS' ANOVA BY RANKS - TABLE 1 OF 2 (p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	RANK SUM
1	controle	16.500	16.500	454.500
2	0.00125	13.500	13.500	345.000
3	0.0025	12.400	12.400	279.500
4	0.005	12.000	12.000	312.000
5	0.01	10.500	10.500	263.500
6	0.02	9.500	9.500	175.500

Calculated H Value = 14.261 Critical H Value Table = 11.070
 Since Calc H > Crit H REJECT Ho: All groups are equal.

Csilcromo

File: Csilcromo

Transform: NO TRANSFORMATION

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
				6	5	4	3	2	1
6	0.02	9.500	9.500	\					
5	0.01	10.500	10.500	.	\				
4	0.005	12.000	12.000	.	.	\			
3	0.0025	12.400	12.400	.	.	.	\		
2	0.00125	13.500	13.500	\	
1	controle	16.500	16.500	*	\

* = significant difference (p=0.05)
 Table q value (0.05,6) = 2.936

. = no significant difference
 SE = 7.778

c.silvestrii - cromo2
File: cromo2 Transform: NO TRANSFORMATION

Hartley's test for homogeneity of variance

Calculated H statistic (max Var/min Var) = 1.97
Closest, conservative, Table H statistic = 12.1 (alpha = 0.01)

Used for Table H ==> R (# groups) = 6, df (# reps-1) = 9
Actual values ==> R (# groups) = 6, df (# avg reps-1) = 9.00

Data PASS homogeneity test. Continue analysis.

NOTE: This test requires equal replicate sizes. If they are unequal but do not differ greatly, Hartley's test may still be used as an approximate test (average df are used).

c.silvestrii - cromo2
 File: cromo2 Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	300.883	60.177	1.401
Within (Error)	54	2320.100	42.965	
Total	59	2620.983		

Critical F value = 2.45 (0.05,5,40)
 Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho: All equal

c.silvestrii - cromo2
 File: cromo2 Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	16.700	16.700		
2	0,00125	12.800	12.800	1.330	
3	0.0025	11.500	11.500	1.774	
4	0.005	11.900	11.900	1.637	
5	0.01	10.300	10.300	2.183	
6	0.02	9.900	9.900	2.320	*

Dunnett table value = 2.31 (1 Tailed Value, P=0.05, df=40,5)

c.silvestrii - cromo2
 File: cromo2 Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	10			
2	0,00125	10	6.771	40.5	3.900
3	0.0025	10	6.771	40.5	5.200
4	0.005	10	6.771	40.5	4.800
5	0.01	10	6.771	40.5	6.400
6	0.02	10	6.771	40.5	6.800

c.silvestrii - cromo2
 File: cromo2 Transform: NO TRANSFORMATION

 KRUSKAL - WALLIS' ANOVA BY RANKS - TABLE 1 OF 2 (p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	RANK SUM
1	controle	16.700	16.700	447.000
2	0,00125	12.800	12.800	330.500
3	0.0025	11.500	11.500	271.500
4	0.005	11.900	11.900	308.000
5	0.01	10.300	10.300	257.000
6	0.02	9.900	9.900	216.000

 Calculated H Value = 10.637 Critical H Value Table = 11.070
 Since Calc H < Crit H FAIL TO REJECT Ho:All groups are equal.

c.silvestrii - cromo2
 File: cromo2 Transform: NO TRANSFORMATION

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
				6	5	3	4	2	1
6	0.02	9.900	9.900	\					
5	0.01	10.300	10.300	.	\				
3	0.0025	11.500	11.500	.	.	\			
4	0.005	11.900	11.900	.	.	.	\		
2	0,00125	12.800	12.800	\	
1	controle	16.700	16.700	*	\

 * = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Table q value (0.05,6) = 2.936 SE = 7.778

File: csilPb1 Transform: NO TRANSFORMATION

Chi-square test for normality: actual and expected frequencies

INTERVAL	<-1.5	-1.5 to <-0.5	-0.5 to 0.5	>0.5 to 1.5	>1.5
EXPECTED	4.020	14.520	22.920	14.520	4.020
OBSERVED	3	17	18	21	1

Calculated Chi-Square goodness of fit test statistic = 6.8992

Table Chi-Square value (alpha = 0.01) = 13.277

Data PASS normality test. Continue analysis.

File: csilPb1 Transform: NO TRANSFORMATION

Hartley's test for homogeneity of variance

Calculated H statistic (max Var/min Var) = 8.31
Closest, conservative, Table H statistic = 12.1 (alpha = 0.01)

Used for Table H ==> R (# groups) = 6, df (# reps-1) = 9
Actual values ==> R (# groups) = 6, df (# avg reps-1) = 9.00

Data PASS homogeneity test. Continue analysis.

NOTE: This test requires equal replicate sizes. If they are unequal but do not differ greatly, Hartley's test may still be used as an approximate test (average df are used).

File: csilPb1 Transform: NO TRANSFORMATION

Bartlett's test for homogeneity of variance
Calculated B1 statistic = 10.72

Table Chi-square value = 15.09 (alpha = 0.01, df = 5)
Table Chi-square value = 11.07 (alpha = 0.05, df = 5)

Data PASS B1 homogeneity test at 0.01 level. Continue analysis.

File: csilPb1

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	792.283	158.457	3.601
Within (Error)	54	2375.900	43.998	
Total	59	3168.183		

Critical F value = 2.45 (0.05,5,40)
 Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

File: csilPb1

Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST

TABLE 1 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	15.700	15.700		
2	0.0025	12.000	12.000	1.247	
3	0.005	12.700	12.700	1.011	
4	0.01	14.000	14.000	0.573	
5	0.02	7.700	7.700	2.697	*
6	0.04	5.200	5.200	3.540	*

Dunnett table value = 2.31 (1 Tailed Value, P=0.05, df=40,5)

File: csilPb1

Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST

TABLE 2 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	10			
2	0.0025	10	6.852	43.6	3.700
3	0.005	10	6.852	43.6	3.000
4	0.01	10	6.852	43.6	1.700
5	0.02	10	6.852	43.6	8.000
6	0.04	10	6.852	43.6	10.500

CsilPb2
File: CsilPb2 Transform: NO TRANSFORMATION

Chi-square test for normality: actual and expected frequencies

INTERVAL	<-1.5	-1.5 to <-0.5	-0.5 to 0.5	>0.5 to 1.5	>1.5
EXPECTED	4.020	14.520	22.920	14.520	4.020
OBSERVED	2	19	16	21	2

Calculated Chi-Square goodness of fit test statistic = 8.3935
Table Chi-Square value (alpha = 0.01) = 13.277

Data PASS normality test. Continue analysis.

CsilPb2
File: CsilPb2 Transform: NO TRANSFORMATION

Hartley's test for homogeneity of variance

Calculated H statistic (max Var/min Var) = 11.55
Closest, conservative, Table H statistic = 12.1 (alpha = 0.01)

Used for Table H ==> R (# groups) = 6, df (# reps-1) = 9
Actual values ==> R (# groups) = 6, df (# avg reps-1) = 9.00

Data PASS homogeneity test. Continue analysis.

NOTE: This test requires equal replicate sizes. If they are unequal but do not differ greatly, Hartley's test may still be used as an approximate test (average df are used).

CsilPb2
File: CsilPb2

Transform: NO TRANSFORM

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	963.800	192.760	5.565
Within (Error)	54	1870.600	34.641	
Total	59	2834.400		

Critical F value = 2.45 (0.05,5,40)
Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

CsilPb2
File: CsilPb2

Transform: NO TRANSFORM

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	16.200	16.200		
2	0.0025	12.500	12.500	1.406	
3	0.005	13.200	13.200	1.140	
4	0.01	14.400	14.400	0.684	
5	0.02	7.200	7.200	3.419	*
6	0.04	4.900	4.900	4.293	*

Dunnett table value = 2.31 (1 Tailed Value, P=0.05, df=40,5)

CsilPb2
File: CsilPb2

Transform: NO TRANSFORM

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	10			
2	0.0025	10	6.080	37.5	3.700
3	0.005	10	6.080	37.5	3.000
4	0.01	10	6.080	37.5	1.800
5	0.02	10	6.080	37.5	9.000
6	0.04	10	6.080	37.5	11.300

CsilPb2
File: CsilPb2

Transform: NO TRANSFORM

KRUSKAL - WALLIS' ANOVA BY RANKS - TABLE 1 OF 2 (p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	RANK SUM
1	controle	16.200	16.200	434.500
2	0.0025	12.500	12.500	334.000
3	0.005	13.200	13.200	355.000
4	0.01	14.400	14.400	374.000
5	0.02	7.200	7.200	184.500
6	0.04	4.900	4.900	148.000

Calculated H Value = 21.181 Critical H Value Table = 11.070
 Since Calc H > Crit H REJECT Ho: All groups are equal.

CsilPb2

File: CsilPb2

Transform: NO TRANSFORM

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
6	0.04	4.900	4.900	6	5	2	3	4	1
5	0.02	7.200	7.200
2	0.0025	12.500	12.500
3	0.005	13.200	13.200
4	0.01	14.400	14.400
1	controle	16.200	16.200	*	*

* = significant difference (p=0.05)
 Table q value (0.05,6) = 2.936

. = no significant difference
 SE = 7.776