

Campus de São Carlos

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DOS
METAIS CÁDMIO E CROMO EM ORGANISMOS
PLANCTÔNICOS

Suzelei Rodgher

Orientador: Prof. Assoc. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



**ESCOLA DE ENGENHARIA
DE SÃO CARLOS**

Suzelei Rodgher

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DOS METAIS
CÁDMIO E CROMO EM ORGANISMOS PLANCTÔNICOS

Serviço de Pós-Graduação EESC/USP

EXEMPLAR REVISADO

Data de entrada no Serviço... 06 / 12 / 05

Ass.: *leser*

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

DEDALUS - Acervo - EESC



31100053643

Orientador: Prof. Assoc. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola

São Carlos

2005



Class.	TESE - EESC ✓
Cutt.	4888
Tombo	T 307/05
Sysno	1488953

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

R691a Rodgher, Suzelei
Avaliação dos efeitos ecotoxicológicos dos metais
cádmio e cromo em organismos planctônicos / Suzelei
Rodgher. -- São Carlos, 2005.

Tese (Doutorado) -- Escola de Engenharia de São
Carlos-Universidade de São Paulo, 2005.
Área : Ciências da Engenharia Ambiental.
Orientador: Prof. Assoc. Evaldo Luiz Gaeta
Espindola.

1. *Selenastrum capricornutum*. 2. *Microcystis
aeruginosa*. 3. *Ceriodaphnia dubia*. 4. *Daphnia similis*.
5. Metais. 6. Testes de toxicidade. 7. Ecotoxicologia.
I. Título.

À minha família pelo constante apoio e alegria

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola, pela orientação, amizade, apoio e estímulo.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico Processo N° 140156/2002-0), pela bolsa de estudo concedida.

À FAPESP (Processo 02/10417-1) pela bolsa de Auxílio à Pesquisa concedida.

À Prof^a Dr^a Sandra M. F. O. Azevedo da Universidade Federal do Rio de Janeiro e ao Prof. Dr. Armando A. H. Vieira da Universidade Federal de São Carlos pelo fornecimento da alga *Microcystis aeruginosa* e esclarecimentos sobre seu cultivo.

Aos técnicos e ex-técnicos do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA): Amândio, América, Beto, Luci, Marcelo e Miro.

À química Mariana Beraldo Masutti pelo auxílio com as análises de metais e pela amizade.

Aos funcionários do CRHEA: Claudete, Mara, Sônia, Welington, Nelson, Achilles, Paulo, Rogério e Regina pelos diversos auxílios prestados.

Aos meus pais Geny e Osmar, pelo afeto, dedicação e apoio.

Às minhas irmãs Sandra Fabiana e Solange e aos meus cunhados Marcelo e Marcus Vinícius pelo carinho e amizade.

Aos meus sobrinhos Marcela Fabiana, Maisa Fabiana e Diogo por tornarem os meus dias mais felizes.

À Fernanda Teixeira e Marciano pela convivência em São Carlos e pela amizade.

Aos amigos: Adriana Antunes Lopes, Andréa Novelli, Alessandro Minillo, Carolina Dornfeld, Clarice Botta-Paschoal, Domingos Sávio Barbosa, Fernanda Simões, Giselle Queirós, Janete Brigante, Illona de Brito Sá, Luci Helena Zanata, Renata Akemi Takenaka, Renata Fracácio, Rita de Cássia Almeida, Rosana Barbosa Sotero-Santos e Vanessa Colombo.

RESUMO

RODGHER, S. (2005). *Avaliação dos efeitos ecotoxicológicos dos metais cádmio e cromo em organismos planctônicos*. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005

A contínua entrada de metais pesados nos ambientes aquáticos constitui uma potencial ameaça aos ecossistemas naturais devido a ação tóxica direta em organismos aquáticos. Nos ambientes aquáticos, os organismos estão expostos tanto a metais dissolvidos na água como presentes na cadeia trófica. Um maior conhecimento sobre o papel do alimento como uma rota adicional de exposição a metais ou como um possível retentor da sua toxicidade para invertebrados aquáticos é necessário. Considerando-se a importância dos metais na contaminação no meio ambiente, bem como a necessidade de melhor entendimento das interações desses elementos nos sistemas aquático, o presente estudo visou avaliar a sensibilidade de espécies fitoplanctônicas (*Selenastrum capricornutum* e *Microcystis aeruginosa*) e de espécies zooplanctônicas (*Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*) aos metais cádmio e cromo e os efeitos tóxicos desses elementos em tais organismos. O crescimento celular, a concentração de clorofila, o biovolume e peso seco das algas foram analisados quando as espécies algais foram expostas aos metais através de testes de toxicidade aguda. Testes de toxicidade aguda e crônica com o zooplâncton aos metais também foram realizados e o efeito de diferentes densidades algais (alta, média e baixa) sobre a toxicidade dos metais aos cladóceros foi avaliado. Além disso, algas foram expostas aos metais, oferecidas como alimento a *C. dubia* e os efeitos tóxicos crônicos foram investigados. Os resultados demonstraram que *S. capricornutum* foi mais sensível ao cádmio e *M. aeruginosa* foi mais sensível ao cromo, sendo esta diferença relacionada a capacidade das algas para reter os metais. Com o aumento de ambos os metais, houve uma diminuição na densidade celular, na taxa de crescimento, na clorofila e no peso seco das algas. A presença de diferentes densidades de *S. capricornutum* não alterou significativamente o valor da CE(I)50; 48h aos metais para *D. similis*, mas elevada densidade de *M. aeruginosa* reduziu a toxicidade do cádmio para o dafnínideo. Alta densidade de alimento (10^6 céls/mL) influenciou negativamente na reprodução e na sobrevivência de *C. dubia* quando exposta a concentrações subletais dos metais em solução. Alimento exposto à metais, quando fornecido em alta e em média densidade, também afetou a sobrevivência e a reprodução

dos organismos-teste. Apesar de a água ser uma importante rota de exposição aos metais para os organismos aquáticos, o alimento deve ser considerado uma via de contaminação adicional.

Palavras-chaves: *Selenastrum capricornutum*; *Microcystis aeruginosa*; *Ceriodaphnia dubia*; *Daphnia similis*; metais; testes de toxicidade; ecotoxicologia

ABSTRACT

RODGHER, S. (2005). *Evaluation of the ecotoxicological effects of metals cadmium and chromium in planktonic organisms*. Ph.D. Thesis – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

The continuous input of heavy metals into the aquatic systems constitutes a potential threat to natural ecosystems because of direct toxic action on aquatic organisms. In the aquatic ecosystems, the organisms are exposed to dissolved metals in the water as to metals presents in the food chain. A larger knowledge about paper of food as an additional route of exposure to metals or as possible retainer of its toxicity for aquatic organisms is necessary. Considering the importance of the metals in contamination of aquatic ecosystems and the need of better understanding of the interactions of those elements in the aquatic ecosystems as well, the aim of this study was to evaluate the sensibility of phytoplankton species (*Selenastrum capricornutum* and *Microcystis aeruginosa*) and zooplankton species (*Daphnia similis* and *Ceriodaphnia dubia*) to cadmium and chromium metals and the toxic effects of those elements in such organisms. Analysed of cellular growth, chlorophyll concentration, biovolume and dry weight of the algae were carried out when algal species were exposed to metals. Acute and chronic toxicity tests with the zooplankton were also accomplished and the effect of different algal densities (high, middle and low) on toxicity of metals to cladoceran was evaluated. Alga *S. capricornutum* was exposed to metals, supplied as food to *C. dubia* and chronic toxicity effects also were investigated. The results demonstrated that *S. capricornutum* was more sensitive to cadmium and *M. aeruginosa* was more sensitive to chromium, this difference was related the capacity of the algae to retain metals. Cell density, growth rate, chlorophyll and dry weight of the algae were reduced with increase of both metals. The presence of different density of *S. capricornutum* does not alter the value of EC50 to metals for *D. similis*, but high density of *M. aeruginosa* reduced the toxicity of cadmium for daphnid. High food density (10^6 cells/mL) influenced negatively on reproduction and survival of *C. dubia* when this organism was exposed to sublethal concentrations of metals in solution. Food exposed to metals, when it was supplied at high and middle density, also affected survival and reproduction of the test organisms. Although the water to be considered a important route of exposure to metals for aquatic organisms, the food should be considered an additional source of toxicity.

Keywords: *Selenastrum capricornutum*; *Microcystis aeruginosa*; *Ceriodaphnia dubia*; *Daphnia similis*; metals; toxicity tests; ecotoxicology

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 - Faixa de sensibilidade de <i>Selenastrum capricornutum</i> ao cádmio	23
FIGURA 2.2 – Curvas de crescimento de <i>Selenastrum capricornutum</i> em teste de toxicidade aguda ao cádmio. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão	25
FIGURA 2.3 – Taxas de crescimento celular de <i>Selenastrum capricornutum</i> no final de testes de toxicidade aguda (após 96 horas de exposição) ao metal cádmio. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão	27
FIGURA 2.4 – Faixa de sensibilidade de <i>Selenastrum capricornutum</i> ao cromo	28
FIGURA 2.5 – Curvas de crescimento de <i>Selenastrum capricornutum</i> durante teste de toxicidade aguda ao cromo. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão	30
FIGURA 2.6 – Taxas de crescimento celular de <i>Selenastrum capricornutum</i> no final de testes de toxicidade aguda (após 96 horas de exposição) ao metal cromo. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão	32
FIGURA 2.7– Curva de crescimento de <i>Selenastrum capricornutum</i> quando exposta a diferentes concentrações de cádmio. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.....	33
FIGURA 2.8 – Curva de crescimento de <i>Selenastrum capricornutum</i> quando exposta a diferentes concentrações de cádmio. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.....	33
FIGURA 2.9 – Curva de crescimento de <i>M. aeruginosa</i> em cultivo com ou sem a presença de EDTA. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.....	34
FIGURA 2.10 – Faixa de sensibilidade de <i>Microcystis aeruginosa</i> ao cádmio.	35
FIGURA 2.11– Curvas de crescimento de <i>Microcystis aeruginosa</i> em teste de toxicidade aguda ao cádmio. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão	36
FIGURA 2.12 – Taxas de crescimento celular de <i>Microcystis aeruginosa</i> no final de testes de toxicidade aguda (após 96 horas de exposição) ao metal cádmio. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão	37
FIGURA 2.13– Faixa de sensibilidade de <i>Microcystis aeruginosa</i> ao cromo.	38
FIGURA 2.14 – Curvas de crescimento de <i>Microcystis aeruginosa</i> durante teste de toxicidade aguda ao cromo. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.....	39
FIGURA 2.15 – Taxas de crescimento celular de <i>Microcystis aeruginosa</i> no final de testes de toxicidade aguda (após 96 horas de exposição) ao metal cromo. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.	40
FIGURA 2.16 - Variação do peso seco de <i>Selenastrum capricornutum</i> quando exposta durante 96 horas a diferentes concentrações de cádmio. *Indica diferença estatisticamente	

- significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Valores médios de 4 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 41
- FIGURA 2.17 - Variação do peso seco de *Selenastrum capricornutum* quando exposta durante 96 horas a diferentes concentrações de cromo. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Valores médios de 4 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 42
- FIGURA 2.18 - Variação do peso seco de *Microcystis aeruginosa* quando exposta durante 96 horas a diferentes concentrações de cádmio. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Valores médios de 4 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 42
- FIGURA 2.19 - Variação do peso seco de *Microcystis aeruginosa* quando exposta durante 96 horas a diferentes concentrações de cromo. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Valores médios de 4 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 43
- FIGURA 2.20 – Biovolume médio de *Selenastrum capricornutum* em testes de toxicidade aguda aos metais cádmio e cromo. Barra de erro correspondem ao desvio-padrão. *diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) 44
- FIGURA 2.21 – Conteúdo de carbono orgânico total de *Selenastrum capricornutum* em teste de toxicidade aguda com os metais cádmio e cromo. As barras de erro correspondem ao desvio-padrão 44
- FIGURA 2.22 – Concentrações médias de cádmio na fração total, dissolvida e particulada em testes de toxicidade aguda com *Selenastrum capricornutum*. Média de 5 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 46
- FIGURA 2.23 – Concentrações médias de cromo na fração total, dissolvida e particulada em testes de toxicidade aguda com *Selenastrum capricornutum*. Média de 5 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 47
- FIGURA 2.24 – Concentrações médias de cádmio na fração total, dissolvida e particulada em testes de toxicidade aguda com *Microcystis aeruginosa*. Média de 5 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 47
- FIGURA 2.25 – Concentrações médias de cromo na fração total, dissolvida e particulada em testes de toxicidade aguda com *Microcystis aeruginosa*. Média de 5 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 48
- FIGURA 2.26 - Valores médios de CE(I)50; 96 para algas em estudo. Médias com as letras iguais não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$) . Barras de erro correspondem ao desvio-padrão. 49
- FIGURA 2.27 – Relação entre a porcentagem de redução da densidade celular algal e a fração particulada de metais. A (*Selenastrum capricornutum* e cádmio), B (*Selenastrum capricornutum* e cromo), C (*Microcystis aeruginosa* e cádmio) e D (*Microcystis aeruginosa* e cromo) 54
- FIGURA 3.1 – Faixa de sensibilidade de *Daphnia similis* ao cádmio. 70
- FIGURA 3.2 – Faixa de sensibilidade de *Daphnia similis* ao cromo. 71

- FIGURA 3.3 – Valores médios da CE(I)50;48h de cádmio para *Daphnia similis* a diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 72
- FIGURA 3.4 – Valores médios da CE(I)50;48h de cromo para *Daphnia similis* a diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 74
- FIGURA 3.5 – Valores médios da CE(I)50;48h de cádmio para *Daphnia similis* a diferentes densidades de *Microcystis aeruginosa*. Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 75
- FIGURA 3.6 – Valores médios de CE(I)50;48h de cromo para *Daphnia similis* a uma densidade de 10^5 céls/mL de *Microcystis aeruginosa*. Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 76
- FIGURA 3.7 – Concentrações médias de cádmio na fração total, dissolvida, particulada e em *Daphnia similis* ao final de teste de toxicidade aguda ao cádmio. Média de 2 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 78
- FIGURA 3.8 – Concentrações médias de cromo na fração total, dissolvida, particulada e em *Daphnia similis* ao final de teste de toxicidade aguda ao cromo. Média de 2 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 78
- FIGURA 3.9 – Comparação das curvas de dose-resposta dos metais em relação as algas *Selenastrum capricornutum* e *Microcystis aeruginosa* e o cladóceros *Daphnia similis* (em condições de ausência de alimento). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 85
- FIGURA 4.1 – Faixa de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* ao cádmio. 102
- FIGURA 4.2 – Faixa de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* ao cromo. 102
- FIGURA 4.3 – Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica ao cádmio quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. CL (controle laboratorial) e C (controle). *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. (Testes de Dunnett e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o desvio-padrão 104
- FIGURA 4.4 – Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica ao cádmio quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. CL (controle laboratorial) e C (controle). *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. (Testes de Dunnett e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o desvio-padrão 104
- FIGURA 4.5 – Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica ao cádmio quando alimentada com diferentes densidades de *S. capricornutum*. A

- seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência dos organismos-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$) 105
- FIGURA 4.6 - Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica ao cádmio quando alimentadas com diferentes densidades de *S. capricornutum*. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência dos organismos-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$) 106
- FIGURA 4.7 – Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica ao cromo quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. CL (controle laboratorial) e C (controle Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. (Testes de Dunnett e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o desvio-padrão 108
- FIGURA 4.8 – Número médio de neonatos produzidos no *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica ao cromo quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. CL (controle laboratorial) e C (controle Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. (Testes de Dunnett e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o desvio-padrão 108
- FIGURA 4.9 – Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica ao cromo quando alimentada com diferentes densidades de *S. capricornutum*. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência dos organismos-teste em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$) 109
- FIGURA 4.10 – Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica ao cromo quando alimentada com diferentes densidades de *S. capricornutum*. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência dos organismos-teste em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$) 110
- FIGURA 4.11 – Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* previamente intoxicadas com cádmio. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. (Testes de Dunnett e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o desvio-padrão 112
- FIGURA 4.12 – Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* previamente intoxicadas com cádmio. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. (Testes de Dunnett e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o desvio-padrão 112
- FIGURA 4.13 – Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica com diferentes densidades de *S. capricornutum* intoxicadas por cádmio. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência dos organismos-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$) 113
- FIGURA 4.14 – Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica com diferentes densidades de *S. capricornutum* intoxicadas por cádmio. As setas

- indicam diferença estatisticamente significativa na sobrevivência dos organismos-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$) 114
- FIGURA 4.15 – Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* previamente intoxicadas com cromo. Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. (Testes de Dunnett e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o desvio-padrão 115
- FIGURA 4.16 – Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* previamente intoxicadas com cromo. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. (Testes de Dunnett e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o desvio-padrão 115
- FIGURA 4.17 – Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica com diferentes densidades de *S. capricornutum* intoxicadas por cromo 116
- FIGURA 4.18 – Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica com diferentes densidades de *S. capricornutum* intoxicadas por cromo. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência dos organismos-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$) 117
- FIGURA 4.19 – Determinação de metal em teste de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* exposta a $20\mu\text{g/L}$ de Cd e alimentada com diferentes densidades algais. CL (controle laboratorial) e C (controle). Média (1.10^5 céls/mL) e alta (1.10^6 céls/mL). 119
- FIGURA 4.20 – Determinação de metal em teste de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* alimentada com diferentes densidades algais intoxicadas com $40\mu\text{g/L}$ de Cd. CL (controle laboratorial) e C (controle). Média (1.10^5 céls/mL) e alta (1.10^6 céls/mL). 119
- FIGURA 5.1 – Valores médios da CE(I)50 dos metais cádmio e cromo para diferentes organismos-teste utilizados no presente estudo. Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão 130

LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 - Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50;96h) de cádmio (nitrato de cádmio) em µg/L para <i>Selenastrum capricornutum</i>	23
TABELA 2.2 - Efeitos do cádmio sobre a densidade celular média ($.10^4$ céls/mL) e sobre a taxa de crescimento (r) de <i>Selenastrum capricornutum</i> , após 96 horas de exposição ao metal	24
TABELA 2.3 - Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50;96h) de cromo (dicromato de potássio) em µg/L para <i>Selenastrum capricornutum</i>	28
TABELA 2.4 - Efeitos do cromo sobre a densidade celular média ($.10^4$ céls/mL) e sobre a taxa de crescimento (r) de <i>Selenastrum capricornutum</i> , após 96 horas de exposição ao metal	29
TABELA 2.5 - Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50;96h) de cádmio (nitrato de cádmio) em µg/L para <i>Microcystis aeruginosa</i>	34
TABELA 2.6 - Efeitos do cádmio sobre a densidade celular média ($.10^4$ céls/mL) e sobre a taxa de crescimento (r) de <i>Microcystis aeruginosa</i> , após 96 horas de exposição ao metal .	35
TABELA 2.7- Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50;96h) de cromo (dicromato de potássio) em µg/L para <i>Microcystis aeruginosa</i>	37
TABELA 2.8 - Efeitos do cromo sobre a densidade celular média ($.10^4$ céls/mL) e sobre a taxa de crescimento (r) de <i>Microcystis aeruginosa</i> , após 96 horas de exposição ao metal .	38
TABELA 2.9 – Valores médios da concentração de clorofila obtidos no final dos testes de toxicidade com <i>Selenastrum capricornutum</i> após 96 horas de exposição aos metais.....	43
TABELA 2.10 - Concentrações nominais e medidas das soluções-teste de cádmio e cromo utilizadas nos testes de toxicidade aguda	45
TABELA 2.11 – Valores de CE(I)50; 96h ao cádmio para algumas espécies algais.....	50
TABELA 2.12 - Valores de CE(I)50; 96h ao cromo para algumas espécies algais.....	52
TABELA 3.1 - Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 48h) dos metais cádmio e cromo em µg/L para <i>Daphnia similis</i>	71
TABELA 3.2 - Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50;48h) de cádmio em µg/L para <i>Daphnia similis</i> quando exposta a diferentes densidades de <i>Selenastrum capricornutum</i>	72
TABELA 3.3 - Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50;48h) de cromo em µg/L para <i>Daphnia similis</i> quando exposta a diferentes densidades de <i>Selenastrum capricornutum</i>	73
TABELA 3.4 - Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 48h) de cádmio em µg/L para <i>Daphnia similis</i> quando exposta a diferentes densidades de <i>Microcystis aeruginosa</i>	75

TABELA 3.5 - Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50;48h) de cromo em $\mu\text{g/L}$ para <i>Daphnia similis</i> quando exposta a uma densidades de 10^5 céls/mL <i>Microcystis aeruginosa</i>	76
TABELA 3.6 - Concentrações nominais e medidas das soluções-teste de cádmio e cromo utilizadas nos testes de toxicidade aguda	77
TABELA 3.7 - Toxicidade aguda ao Cádmio para algumas espécies de <i>Daphnia</i>	80
TABELA 3.8 - Toxicidade aguda ao Cromo para algumas espécies de <i>Daphnia</i>	80
TABELA 4.1- Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50;48h) de cádmio e cromo em $\mu\text{g/L}$ para <i>Ceriodaphnia dubia</i>	101
TABELA 4.2 - Concentrações nominais e medidas das soluções-teste de cádmio e cromo utilizadas nos testes de toxicidade aguda e crônica	118

ESTRUTURA DO TEXTO

Com o objetivo de facilitar a análise dos dados, explorando-os de forma mais adequada, optou-se em apresentar esta tese em cinco capítulos, os quais correspondem à:

Capítulo 1: Introdução Geral - Metais como poluentes ambientais

Capítulo 2: Avaliação dos efeitos tóxicos dos metais cádmio e cromo em *Selenastrum capricornutum* (Chlorophyceae) e *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae)

Capítulo 3: Efeitos de diferentes densidades algais de *Selenastrum capricornutum* (Chlorophyceae) e *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae) sobre a toxicidade aguda dos metais cádmio e cromo em *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera)

Capítulo 4: A importância de diferentes densidades de células algais como rotas de intoxicação dos metais cádmio e cromo para *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera, Crustacea)

Capítulo 5: Considerações Finais

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xiii
ESTRUTURA DO TEXTO	xv
Capítulo 1: Metais como poluentes ambientais	1
1. Introdução	2
1.1 Aspectos gerais	2
1.2 Metais como poluentes ambientais	5
1.2.1 Cádmio	6
1.2.2 Cromo	8
Capítulo 2: Avaliação dos efeitos tóxicos dos metais cádmio e cromo em <i>Selenastrum capricornutum</i> (Chlorophyceae) e <i>Microcystis aeruginosa</i> (Cyanophyceae).....	10
Resumo	11
2.1 Introdução	12
2.2 Objetivo	16
2.3 Materiais e Métodos	17
2.3.1 Manutenção e cultivo dos organismos-teste	17
2.3.2 Estudos de toxicidade	17
2.3.2.1 Teste de toxicidade aguda com as algas	17
2.3.2.2 Avaliação da toxicidade dos metais sobre o ciclo de vida de <i>Selenastrum capricornutum</i>	19
2.3.2.3 Determinação do peso seco, clorofila-a, carbono orgânico total e biovolume das algas em testes de toxicidade aguda com os metais cádmio e cromo	20
2.3.3 Análise de metais	21
2.3.4 Análise estatística	23
2.4 Resultados	23
2.4.1 Teste de toxicidade aguda com <i>Selenastrum capricornutum</i>	23
2.4.1.1 Avaliação da toxicidade dos metais sobre o ciclo de vida de <i>Selenastrum capricornutum</i>	33
2.4.2 Teste de toxicidade aguda com <i>Microcystis aeruginosa</i>	34
2.4.3 Determinação do peso seco, clorofila-a, carbono orgânico total e biovolume das algas em testes de toxicidade aguda com os metais cádmio e cromo	41
2.4.4 Análise de metais	45
2.5 Discussão	49

Capítulo 3: Efeito de diferentes densidades algais de <i>Selenastrum capricornutum</i> (Chlorophyceae) e de <i>Microcystis aeruginosa</i> (Cyanophyceae) sobre a toxicidade aguda dos metais cádmio e cromo em <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera)	58
Resumo.....	59
3.1 Introdução.....	60
3.2 Objetivo	63
3.3 Materiais e Métodos.....	64
3.3.1 Manutenção e cultivo das algas.....	64
3.3.2 Manutenção, cultivo e teste de sensibilidade de <i>Daphnia similis</i>	64
3.3.2.1 Alimentação de <i>Daphnia similis</i>	65
3.3.2.2 Teste de sensibilidade de <i>Daphnia similis</i>	66
3.3.3 Determinação da faixa de sensibilidade de <i>Daphnia similis</i> aos metais cádmio e cromo e avaliação do efeito de diferentes densidades algais de <i>Selenastrum capricornutum</i> e de <i>Microcystis aeruginosa</i> sobre a toxicidade aguda dos referidos metais para <i>Daphnia similis</i>	66
3.3.3.1 Análise de metais.....	68
3.3.3.1.1 Determinação das frações totais, particulada e dissolvida de metais em testes de toxicidade aguda com metais e zooplâncton quando expostos a diferentes densidades de <i>Selenastrum capricornutum</i>	68
3.3.4 Análise estatística.....	69
3.4. Resultados.....	70
3.4.1 Teste de sensibilidade de <i>Daphnia similis</i> ao dicromato de potássio.	70
3.4.2 Determinação da faixa de sensibilidade de <i>Daphnia similis</i> aos metais cádmio e cromo	70
3.4.3 Avaliação do efeito de diferentes densidades de <i>Selenastrum capricornutum</i> sobre a toxicidade aguda dos metais cádmio e cromo para <i>Daphnia similis</i>	72
3.4.4 Avaliação do efeito de diferentes densidades de <i>Microcystis aeruginosa</i> sobre a toxicidade aguda dos metais cádmio e cromo para <i>Daphnia similis</i>	74
3.4.5. Análise de metais	77
3.4.5.1 Análise de metais nas soluções-teste.....	77
3.4.5.2 Determinação das frações totais, particulada e dissolvida de metais em testes de toxicidade aguda com metais e zooplâncton quando expostos a diferentes densidades de <i>Selenastrum capricornutum</i>	77
3.5 Discussão.....	79
Capítulo 4: Efeitos das interações entre densidades algais e metais sobre a fecundidade e a sobrevivência de <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Cladocera, Crustacea)	87
Resumo.....	88
4.1 Introdução.....	89
4.2 Objetivo	92
4.3 Materiais e Métodos.....	93
4.3.1 Manutenção, cultivo e teste de sensibilidade do organismo-teste	93

4.3.1.1 Alimentação do organismo-teste.....	94
4.3.1.2 Teste de sensibilidade de <i>Ceriodaphnia dubia</i>	94
4.3.2. Estudos de toxicidade.....	95
4.3.2.1 Determinação da faixa de sensibilidade de <i>Ceriodaphnia dubia</i> aos metais cádmio e cromo	95
4.3.2.2 Teste de de toxicidade crônica com <i>Ceriodaphnia dubia</i>	96
4.3.2.2.1 Avaliação do efeito de diferentes densidades de <i>Selenastrum capricornutum</i> sobre a toxicidade crônica em <i>Ceriodaphnia dubia</i> quando exposta aos metais.	96
4.3.2.2.2 Avaliação do efeito crônico em <i>Ceriodaphnia dubia</i> quando exposta a diferentes densidades de <i>Selenastrum capricornutum</i> intoxicadas com os metais cádmio e cromo....	97
4.3.2.3. Análise de metais.....	98
4.3.2.3.1 Determinação das frações total, particulada (presentes nas células algais e no zooplâncton) e dissolvida de metal em testes de toxicidade crônica com cádmio e <i>Ceriodaphnia dubia</i> quando exposta a diferentes densidades de <i>Selenastrum capricornutum</i> intoxicadas ou não com o referido metal.	98
4.3.4 Análise estatística.....	99
4.4. Resultados.....	101
4.4.1 Determinação da faixa de sensibilidade de <i>Ceriodaphnia dubia</i> aos metais cádmio e cromo	101
4.4.2. Teste de toxicidade crônica com <i>Ceriodaphnia dubia</i>	103
4.4.2.1 Avaliação do efeito de diferentes densidades algais de <i>Selenastrum capricornutum</i> sobre a toxicidade crônica em <i>Ceriodaphnia dubia</i> quando expostas aos metais cádmio e cromo.	103
4.4.2.2 Avaliação do efeito crônico em <i>Ceriodaphnia dubia</i> quando exposta a diferentes densidades algais de <i>Selenastrum capricornutum</i> intoxicadas com os metais cádmio e cromo.	111
4.4.3 Análise de metais	117
4.4.3.1 Determinação das concentrações de metais nas soluções-teste	117
4.4.3.2 Determinação das frações total, particulada (presentes nas células algais e no zooplâncton) e dissolvida de metal em testes de toxicidade crônica com cádmio e <i>Ceriodaphnia dubia</i> quando exposta a diferentes densidades de <i>Selenastrum capricornutum</i> intoxicadas ou não com o referido metal	118
4.5 Discussão.....	120
Capítulo 5: Considerações Finais	129
Conclusões.....	134
Referências Bibliográficas	136
ANEXO A - Resultados obtidos nos testes de toxicidade das algas <i>Selenastrum capricornutum</i> e <i>Microcystis aeruginosa</i> aos metais.....	152
ANEXO B - Resultados dos testes de toxicidade aguda de <i>Daphnia similis</i> aos metais na ausência e na presença de diferentes densidades algais de <i>Selenastrum capricornutum</i> e <i>Microcystis aeruginosa</i>	188
ANEXO C - Resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda e crônica de <i>Ceriodaphnia dubia</i> aos metais.....	226

CAPÍTULO 1

Metais como poluentes ambientais

1. INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais

Nos diferentes compartimentos da biosfera (solo, água ou ar), um aspecto importante a ser considerado são as profundas modificações que ocorrem na composição química dos mesmos, de forma dinâmica e, em muitos casos, com alta variabilidade. Os avanços imprevisíveis da química, da biotecnologia e da ciência dos materiais permitiram uma grande possibilidade de aplicações de novos produtos químicos em quase todas as subáreas da ciência e da tecnologia. Porém, ao mesmo tempo, ocorreu um acúmulo de substâncias tóxicas nos solos, nas águas e na atmosfera. Nos ambientes aquáticos, os seres vivos possuem uma íntima, obrigatória e recíproca relação com o meio circundante e a introdução de substâncias ou compostos tóxicos leva a alterações profundas da biota (ROCHA, 2000).

Dentre os poluentes aquáticos, destacam-se os metais pesados, os radionuclídeos, outros poluentes inorgânicos como os nutrientes e os poluentes orgânicos (herbicidas e pesticidas). Os metais são elementos de grande importância, pois muitos deles são essenciais em baixos níveis, mas tóxicos em níveis elevados (MANAHAM, 1994). A maioria destes faz parte, embora em pequeníssimas concentrações, tanto da constituição da crosta terrestre como dos organismos. Com a intensa industrialização, a concentração de metais tem aumentado de maneira significativa, tornando-se uma das mais graves formas de poluição ambiental (ESTEVES, 1988). Dentre as características que cabem ressaltar, desses elementos, encontram-se sua bioacumulação pela cadeia trófica e a irreversibilidade de seus efeitos (SECO *et al.*, 1998).

De acordo com LOEZ *et al.* (1995), a contínua entrada de metais pesados nos ambientes aquáticos constitui uma potencial ameaça para os ecossistemas naturais devido à ação tóxica direta aos organismos aquáticos. Muitos metais são bioacumulados e alguns são biomagnificados nas cadeias alimentares, tornando-se, assim, um perigo para predadores do topo da cadeia alimentar, incluindo o homem.

A disponibilidade de elementos-traço para os organismos pode ser influenciada por fatores intrínsecos (como tamanho, idade, sexo) e extrínsecos (como especiação metálica, salinidade, temperatura, pH, dureza e presença de outros poluentes). Os efeitos tóxicos dos metais podem variar em nível fisiológico, mas os mecanismos de toxicidade básica em nível molecular podem ser limitados as ações como: 1) bloqueio e modificação das atividades de enzimas e de polinucleotídeos, 2) destruição da integridade das membranas e 3) substituição de elementos que desempenham importantes funções no metabolismo da célula e por meio da qual perdem a sua função (OCHIAI, 1995).

No intuito de minimizar as interferências e as dificuldades existentes nos estudos sobre a presença de metais pesados no ambiente aquático, pesquisadores em todo o mundo têm empregado diferentes abordagens, sendo as mais comuns aquelas que englobam a água, o sedimento e a biota (TOMAZELLI, 1999).

De acordo com SUNDA & HUNTSMAN (1998), para entender os processos de acumulação e transferência trófica dos metais e os seus efeitos dentro dos ecossistemas, uma investigação de seu comportamento sob um enfoque químico e biológico deverá ser feita. Primeiro, deve ser considerado o comportamento químico do metal nos ambientes aquáticos em relação aos seus níveis de interação e de concentração. Também deve ser considerada a retenção do metal dentro da cadeia alimentar, com ênfase nos produtores primários que seriam a entrada desses elementos na cadeia trófica e, por último, devem ser compreendidos os processos que controlam a retenção do metal em nível de molécula, célula, organismo, população, comunidade e ecossistema.

Em águas naturais, os metais encontram-se em diversas formas físico-químicas, tanto na fase particulada como na dissolvida. A fase dissolvida compreende os íons hidratados, inorgânicos e compostos organometálicos, enquanto a fase particulada corresponde aos íons adsorvidos, ligados a matrizes minerais ou absorvidos a uma biomassa viva. Todas essas espécies coexistem, e sua somatória forma a concentração total no ambiente. Neste sentido, LITHNER *et al.* (2000), estudando a dinâmica de metais em um lago eutrófico e em um lago oligotrófico na Suíça, constataram o decréscimo na concentração de metais na coluna d'água, no lago eutrófico. Segundo os autores, em condições eutróficas, há maior biomassa algal, aumento do fluxo de matéria orgânica particulada e, provavelmente, maior retenção de metais. Condições de anoxia promovem a liberação de íons S^{-} do sedimento e o seqüestro de metais para este compartimento como sulfetos.

WELTENS *et al.* (2000) salientam que, apesar de a fração dissolvida de substâncias tóxicas ser assumida como principal responsável pela toxicidade a organismos aquáticos, muitos poluentes são retidos nos sólidos suspensos presentes nos corpos d'água. Sólidos suspensos podem diminuir a toxicidade por decréscimo da concentração de moléculas livres. Por outro lado, quando o metal encontra-se retido em uma partícula e esta é ingerida por um organismo, tal elemento pode se tornar biodisponível no sistema digestivo desse organismo. Efeitos tóxicos devido à interação entre contaminantes e partículas suspensas podem ser esperados em organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos.

Para avaliar o impacto de substâncias tóxicas em ecossistemas aquáticos não basta simplesmente determinar suas concentrações químicas, pois os processos de interações dessas substâncias com o meio e a biota não são compreendidos ou são difíceis de quantificar. Desta forma, os testes de toxicidade são importantes ferramentas para conhecer os efeitos dos poluentes na biota aquática empregando organismos vivos (RAND *et al.*, 1995). Segundo CAIRNS *et al.* (1998), os estudos ecotoxicológicos avaliam as condições ambientais e monitoram suas tendências ao longo do tempo, predizem os efeitos dos agentes tóxicos e orientam a seleção de práticas de remediação.

Desde que o termo ecotoxicologia foi utilizado pela primeira vez por Truhaut em 1969, esta ciência tem crescido e se desenvolvido como uma ferramenta eficiente na avaliação dos riscos ambientais (SOLOMON, 2000). Segundo CALOW (1993), a ecotoxicologia tem por objetivo a proteção dos ecossistemas ante os impactos provocados por substâncias químicas sintéticas.

De acordo com BURTON (1999), há uma grande variedade de organismos sensíveis a metais e aos químicos orgânicos. Infelizmente, as informações sobre a toxicidade desses poluentes para os organismos existem apenas para uma reduzida fração desses compostos. Desse modo, há grande necessidade de estudos integrados, envolvendo disciplinas como Química Ambiental, Ecologia, Genética, Limnologia, Hidrologia e Geografia, visando a investigar os efeitos e o destino dos agentes tóxicos nos sistemas aquáticos.

O acúmulo de íons metálicos nos organismos aquáticos tem sido estudado visando principalmente à previsão de seu comportamento na cadeia trófica. O uso do fator de concentração em organismos baseado nas concentrações da água ou do sedimento presume uma situação de equilíbrio entre as fases dissolvidas e sólidas. Esta aproximação pode gerar informações sobre como os organismos são intoxicados pelos

metais, mas não indica as possíveis alterações em suas condições fisiológicas. Para os organismos consumidores, esse processo é ainda mais complexo devido à presença de fontes solúveis relacionadas à alimentação (REINFELDER *et al.*, 1998).

A biota é de fundamental importância para o estudo e a previsão dos impactos de metais pesados e de outras substâncias tóxicas presentes nos sistemas aquáticos. Microorganismos, algas, plantas e animais desempenham papéis significativos na determinação do transporte, na forma química e na transferência de metais para os compartimentos aquáticos. O transporte de metais é influenciado pela absorção por meio da biota, pela ligação a partículas biogênicas ou por meio da formação de complexos pela matéria orgânica. Outros importantes aspectos a serem considerados são os efeitos da exposição e da tomada de metais pela biota e as possíveis consequências desses processos para o ecossistema (JACKSON, 2002).

Considerando-se a importância dos metais na contaminação dos ecossistemas aquáticos, bem como a necessidade de melhor entendimento das interações desses elementos no ambiente, o presente estudo foi desenvolvido no sentido de reconhecer os efeitos de metais em organismos aquáticos por meio da realização de testes de toxicidade com organismos fitoplanctônicos e zooplanctônicos. Duas espécies de microalgas, uma pertencente ao grupo das Chlorophyceae e outra ao das Cyanophyceae foram expostas a diferentes concentrações de metais e os parâmetros crescimento celular, concentração de clorofila, biovolume e peso seco das espécies foram analisados. Além disso, testes de toxicidade aguda e crônica aos metais utilizando *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* como organismos-teste também foram realizados, sendo investigado o papel do alimento (células algais) sobre a toxicidade desses contaminantes aos organismos zooplanctônicos.

1.2 Metais pesados como poluentes ambientais

Dentro do conjunto de agentes contaminantes do ambiente, é preciso destacar, por seu potencial tóxico, os metais pesados, freqüentes em resíduos industriais, esgotos domésticos e efluentes agrícolas. Os metais são foco de interesse ambiental devido ao fato de serem tanto micronutrientes (Fe, Zn, Mn, Cu, Co, Mo e Ni) como agentes tóxicos (Cd, Hg, Ag, Sn e Cr). Além disso, vários dos nutrientes, especialmente Zn, Cu e Ni, também podem atuar como tóxicos em concentrações elevadas (SUNDA & HUNTSMAN, 1998). Os ambientes aquáticos têm sido intensamente deteriorados devido à ação dos metais, sendo que esses contaminantes podem ser acumulados por

organismos aquáticos e, assim, levar a alterações profundas na biota (MUNGER & HARE, 1997).

De acordo com MANAHAN (1994) e RUSSELL (1980), os chamados metais pesados são classificados quimicamente como elementos que possuem densidade atômica maior que 5 (exceto Ti e Se) e peso atômico maior que 40, sendo caracterizados em: os não reativos e que estão associados entre si na natureza (Ru, Rh, Pd, Ag, Os, Ir, Pt e Au), os que são insolúveis ou estão associados a óxidos (V, Cr, Mn, Ti, Zr, Nb, Hf, Ta e W) e os que estão associados ao enxofre (Mo, Re, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Cd, Hg, Ga, In, Tl, Ge, As, Sb, Bi, Se e Te).

Trabalhos realizados no Brasil, quantificando concentrações de metais, revelam problemas de contaminação na água e no sedimento por cádmio, cromo e zinco devido aos esgotos domésticos, efluentes industriais e insumos agrícolas que atingem os ecossistemas aquáticos, particularmente rios e reservatórios do Estado de São Paulo (ESTEVES, 1981; PATELLA, 1998; TONISSI, 1999; RODGHER, 2001). Outros trabalhos realizados enfocam a problemática da acumulação de metais na região sudeste, como o de KAREZ *et al.* (1994), na Baía de Sepetiba (Rio de Janeiro), na qual os autores verificaram concentrações relativamente altas de Zn e Cd em algumas algas bentônicas e o de MOLISANI *et al.* (1999), que também verificaram contaminação por cromo no sedimento do rio Paraíba do Sul, em um trecho próximo a regiões industrializadas dos Estados de São Paulo e do Rio de Janeiro.

Os metais pesados estudados no presente trabalho, cádmio e cromo, tratam-se de dois dos contaminantes inorgânicos mais comuns nos trabalhos mencionados e por serem elementos tóxicos (SUNDA & HUNSTMAN, 1998) têm acarretado sérios problemas em ecossistemas de água doce e marinho.

1.2.1 Cádmio

O cádmio é um elemento que faz parte do grupo IIB, ocorrendo principalmente como Cd^{2+} . O cádmio é um metal branco acizentado, sendo principalmente associado a sulfetos em minérios de zinco, chumbo e cobre. É extensamente distribuído pela crosta terrestre e apresenta concentração média em torno de 0,1mg/kg. Altas concentrações podem ser encontradas nas rochas sedimentares e fosfóricas marinhas. A principal fonte natural de lançamento de cádmio, na atmosfera, é a atividade vulcânica (CHASIN & CARDOSO, 2003).

De acordo com CARDOSO & CHASIN (2001), o consumo desse metal varia de país para país, dependendo das restrições ambientais, do desenvolvimento industrial e das fontes naturais. Estados Unidos, Austrália e Bélgica destacam-se entre os países com maior produção e reservas mundiais de cádmio. O cádmio não aparece entre as principais reservas de minerais brasileiros. As principais aplicações do cádmio são em recobrimento do aço e do ferro, estabilizador para cloreto de polivinila (PVC), em pigmentos para plástico e vidro, baterias de níquel-cádmio e em ligas metálicas fundíveis. Além desses usos, outros são citados: fotocélulas, fungicidas, aditivos de indústria têxtil, filmes fotográficos, manufaturas de espelhos, coberturas de tubos eletrônicos, semicondutores, vidros e cerâmicas esmaltadas, soldas de alumínio, sistemas de proteção contra incêndios, amálgama em tratamento dentário e em fios de transmissão de energia.

O cádmio ocorre na atmosfera na forma de material particulado suspenso, derivado de emissões industriais, queima de combustíveis fósseis ou erosão do solo. Adentra nos sistemas aquáticos devido ao intemperismo, à erosão do solo e da camada de rocha viva, descargas atmosféricas diretas decorrentes de operações industriais, drenagem de minas e águas residuais dos processos de mineração, efluentes provenientes de fundições de minério não-ferroso, vazamentos de aterros sanitários e de locais contaminados e pelo uso de lodos de esgotos como fertilizantes na agricultura. O cádmio proveniente de efluentes industriais que contaminam a água doce pode ser rapidamente adsorvido a material particulado. Na água doce, o cádmio existe como íon Cd^{2+} , $Cd(OH)_2$, $CdCO_3$ e em vários complexos orgânicos dependendo do pH e do material orgânico presente (WONG, 1987).

Esse metal apresenta covalência moderada e alta afinidade pelos grupos sulfetos, o que leva a um aumento de sua solubilidade em lipídeos e a conseqüente bioacumulação e toxicidade aos organismos. O cádmio pode substituir o zinco em muitas reações, acarretando a desativação de enzimas (MOORE & RAMAMOORTHY, 1984). A toxicidade desse metal se expressa em vários órgãos e tecidos, entretanto, os órgãos-alvo são os rins e o fígado. Vários processos patológicos em seres humanos, incluindo disfunção renal, hipertensão, arteriosclerose, inibição no crescimento e câncer são desencadeados pelo cádmio (APHA/WWW, 1995; CETESB, 1998).

O caso mais conhecido de intoxicação por cádmio se deu através de alimento e ocorreu às margens do rio Jintsu, na região de Funchu-Machi, no Japão, logo após a Segunda Guerra Mundial. Na época, plantadores de arroz e pescadores foram

acometidos de dores reumáticas e mialgias, acompanhadas de deformidades ósseas e distúrbios renais. A doença ocorreu devido à intoxicação por cádmio através do consumo de arroz contaminado por água de irrigação proveniente de efluentes de uma indústria processadora de zinco-chumbo. A epidemia, causada pelo cádmio, elemento contaminante deste processamento, ficou conhecida na ciência médica como Itai-Itai (CHASIN & CARDOSO, 2003).

1.2.2 Cromo

O cromo é um metal de cinza-aço, com forma cristalina cúbica, sem odor e muito resistente à corrosão. É um metal de transição localizado no grupo VIB da tabela periódica. Apesar de existir em formas de óxido (CrO_3 , CrO_4^{2-} , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), as formas mais estáveis são a trivalente (Cr^{3+}) e a hexavalente (Cr^{6+}), as quais apresentam propriedades químicas diferentes. A forma hexavalente, considerada a mais tóxica de cromo, é comumente associada com oxigênio na forma de íon cromato (CrO_4^{2-}) ou íon dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$). Diferentemente, a trivalente, na forma de óxido, hidróxidos ou sulfato, é mais inerte e se apresenta ligada à matéria orgânica em ambientes terrestres e aquáticos. A forma hexavalente é um agente fortemente oxidativo e por processos naturais é reduzida para a forma trivalente (MCGRATH & SMITH, 1990).

O cromo é encontrado naturalmente em rochas, animais, plantas, solos, poeiras e névoa vulcânica, sendo que o minério cromita (FeOCr_2O_3) é o mais abundante composto de cromo encontrado na natureza. Os maiores produtores mundiais de cromo são a África do Sul, a Turquia, o Cazaquistão e a Índia. As reservas de cromita do Brasil correspondem a 0,1% da reserva mundial. É um elemento abundante na crosta terrestre e entre as fontes naturais de contaminação ambiental estão os incêndios florestais e as erupções vulcânicas. As principais atividades humanas nas quais o cromo e seus componentes são liberados para o meio ambiente são: emissões decorrentes da fabricação de cimento, soldagem de ligas metálicas, fundições e siderurgia, indústria de galvanoplastia, lâmpadas, minas, lixo urbano e industrial, cinzas de carvão, curtumes, preservativos de madeiras, pigmentos, tintas, fungicida, explosivos, papel, fotografia e fertilizantes (CERVANTES *et al.*, 2001, AVELAR, 1997).

De acordo com DA SILVA (2003), o cromo proveniente de processos industriais e naturais é emitido na atmosfera, na forma particulada, sendo que o transporte e a distribuição dependem da densidade e do tamanho dessa partícula. Pode ser depositada no solo ou na água por sedimentação ou pelas chuvas. Há um ciclo completo do cromo:

das rochas e do solo para as plantas, animais e homem, voltando para o solo. Em relação à contaminação da água, é possível constatar que a maior parte do cromo está na forma particulada na água superficial ou depositada no sedimento e os efluentes das operações de galvanoplastia, indústrias de tingimento de couro e manufaturas de tecidos são as suas principais fontes antropogênicas.

A produção mundial de cromo é da ordem de 10^7 toneladas por ano; sendo que 60-70% é utilizado na produção de ligas metálicas, incluindo aço inoxidável, e 15% é empregado em outros processos químicos industriais. De acordo com KIM *et al.* (2002), o lançamento anual de cromato proveniente das diversas atividades industriais, em termos mundiais, é da ordem de 239.10^3 toneladas. O cromo hexavalente emitido alcança os ambientes aquáticos, afetando a qualidade da água e os organismos que habitam o local.

Em relação à toxicidade, somente a forma tri e hexavalente são importantes. A forma do cromo pode ser alterada por processos naturais, particularmente por meio de oxidação e de redução por agentes naturais como o ferro e o manganês, além da presença de substâncias húmicas. Contudo, altos níveis de Cr^{6+} podem ultrapassar a capacidade de redução do ambiente e então persistirem como um poluente. Desse modo, o estado de oxidação do cromo possibilita o prognóstico da sua toxicidade nos ecossistemas e na saúde humana. Seu uso generalizado o tem convertido em um sério poluente do ar, solo e água. Esse metal está diretamente correlacionado ao câncer humano e à toxicidade aguda aos organismos aquáticos (KIM *et al.*, 2002).

CAPÍTULO 2

Avaliação dos efeitos tóxicos dos metais cádmio e cromo em *Selenastrum capricornutum* (Chlorophyceae) e *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae)

RESUMO

A contínua entrada de metais pesados nos ambientes aquáticos constitui uma potencial ameaça para os ecossistemas naturais devido à ação tóxica direta em organismos aquáticos. Estando o fitoplâncton situado na base da cadeia alimentar, os efeitos tóxicos dos metais sobre as algas se refletem sobre os demais componentes da biota. Diante desses fatos, estudos conduzidos no sentido de esclarecer o efeito de metais sobre o fitoplâncton são necessários. O presente estudo foi desenvolvido no sentido de reconhecer os efeitos tóxicos dos metais cádmio e cromo sobre as espécies *Selenastrum capricornutum* e *Microcystis aeruginosa* por meio da realização de testes de toxicidade. Comparando-se os valores das faixas de sensibilidade obtidas para os metais, verificou-se que *Selenastrum capricornutum* foi mais sensível ao cádmio e que *Microcystis aeruginosa* foi mais sensível ao cromo, sendo que a sensibilidade de ambas as espécies não diferiu em relação ao cromo. A maior sensibilidade ao cádmio verificada para *Selenastrum capricornutum*, em comparação a *M. aeruginosa*, foi associada à maior retenção do metal pelas células da clorofícea. Com o aumento da concentração de ambos os metais, houve diminuição na densidade celular, na taxa de crescimento e no peso seco das duas espécies. As espécies algais apresentaram mecanismos específicos para lidar com os metais como isolá-lo dentro da célula, acumular o metal dentro de vacúolos e excretar compostos orgânicos capazes de se ligarem aos metais no meio externo.

2. INTRODUÇÃO

O efeito tóxico de metais pesados no ambiente é um dos principais problemas derivados da contaminação ambiental. Muitos estudos conduzidos com metais pesados, em ecossistemas aquáticos contaminados, têm revelado decréscimo na produtividade e na diversidade do fitoplâncton e mudanças na composição das espécies (TAKAMURA *et al.*, 1989).

De acordo com MUNAWAR *et al.* (1989), o conhecimento dos efeitos de agentes contaminantes em organismos fitoplanctônicos é de grande interesse, pois as alterações em sua abundância e na estrutura da comunidade irão desencadear alterações nos níveis tróficos superiores. Além disso, o processo de retenção de metais pesados pelo fitoplâncton desempenha um papel importante na transferência de poluentes na rede trófica, já que tais organismos constituem o elo primário da cadeia alimentar e podem contaminar os demais organismos que deles dependam direta ou indiretamente.

Vários são os mecanismos existentes entre um organismo fitoplanctônico e um elemento tóxico, os quais podem variar desde o seu isolamento dentro da célula, como, por exemplo, acúmulo dentro de vacúolos e excreção de compostos (matéria orgânica excretada por microalgas) capazes de se ligarem ao elemento no meio externo (LOMBARDI, 2000). Outro mecanismo de tolerância apresentado pelas algas é a exclusão do íon metálico devido à redução da permeabilidade da membrana celular (BROWN *et al.*, 1988). Há relatos que confirmam a produção de glutatona e tióis (compostos capazes de quelar metais) a partir do estímulo ocasionado pela presença dos íons metálicos no meio (LEAL *et al.*, 1999).

De acordo com CAMPBELL (1995), o modelo do ligante biótico (BLM) é designado para prever como os metais interagem e, eventualmente, afetam os organismos aquáticos. Para acumular dentro de uma célula algal e provocar um efeito biológico, um metal deve primeiro interagir com a membrana biológica. O metal pode

estar presente como um íon livre ou complexado. Próximo à superfície da célula algal, essas formas de metal normalmente encontrarão a parede celular. As macromoléculas que compõem esta camada contêm uma variedade de grupos funcionais doadores (-COH, -COOH, -P(O)(OH₂)). Sob valores de pH próximos ao neutro, muitos desses grupos funcionais serão ionizados e proporcionarão uma matriz hidrofílica de sítios carregados negativamente. Os metais e seus complexos podem migrar através dessa matriz e atingir a membrana plasmática, onde perturbarão a função normal da célula.

Ainda segundo os autores, a interação de um metal com a célula algal envolve uma combinação de mecanismos passivos e ativos. O processo inicia-se com uma difusão passiva de íons metálicos para a superfície da célula, onde se ligarão a sítios que exibem uma afinidade química para o metal. Essa etapa contém processos de acumulação passiva que podem incluir sorção, complexação, quelação e microprecipitação. Uma segunda etapa de retenção de metais compreende a ligação covalente, a precipitação celular, as reações redox e, mais freqüentemente, os transportes catiônico e aniônico através da membrana plasmática.

Recentes pesquisas, desenvolvidas por CAMPBELL *et al.* (2002), têm demonstrado que os metais podem exercer seus efeitos tóxicos apenas por se ligarem a sítios presentes na superfície da membrana. O transporte pela membrana não seria condição essencial para que efeitos tóxicos ocorressem, assim, a resposta tóxica seria aditiva e os metais apareceriam mais biodisponíveis do que o predito anteriormente pelo modelo do BLM.

O fitoplâncton inclui espécies que são sensíveis, resistentes ou intermediárias em sua tolerância aos poluentes. Esses graus de tolerância podem fornecer uma medida para identificar a intensidade e o potencial de um risco ecológico causado por poluentes dentro dos sistemas aquáticos. As respostas tóxicas aos metais são diferentes de acordo com a espécie de alga estudada, como citado por MAGDALENO *et al.* (1997), que verificaram menor sensibilidade em *Ankistrodesmum falcatus* do que em *Selenastrum capricornutum* (comumente utilizada em testes de toxicidade) quando expostas ao cromo, mercúrio, cádmio e zinco. Provavelmente, as diferentes características de organização celular desses organismos influenciam o destino dos metais dentro da cadeia trófica, pois, fisiologicamente, respondem de maneira diferente à presença desses elementos (WONG, 1987).

Há muitos trabalhos que relatam o seqüestro e a acumulação de metais por algas, em geral, e por cianobactéria, em particular. O aumento das florações de cianofíceas nos

ecossistemas aquáticos, devido ao processo de eutrofização artificial, estimula um maior interesse pelo conhecimento de seu papel na cadeia trófica. Vários gêneros e espécies de cianobactérias em ecossistemas impactados produzem toxinas com importantes conseqüências ambientais e de saúde pública (AZEVEDO, 2000). Algas pertencentes a esse grupo apresentam, em sua parede celular, grupos efetivos (hidroxilas, fosfatos, amino e carboxil) que podem capturar metais, fazendo com que assumam um importante papel na dinâmica dos metais nos ecossistemas aquáticos.

Experimentos realizados por SINGH *et al.* (1998) evidenciaram maior eficiência de biosorção de metais (Fe^{3+} e Cu^{2+}) por *Microcystis* proveniente do ambiente natural em comparação com a mesma espécie cultivada em laboratório. Segundo os autores, o decréscimo no material capsular das culturas laboratoriais resultaram na produção de formas unicelulares, que não apresentaram envelope e mucilagem similar àqueles observados em populações naturais. Tais resultados demonstram o importante papel da cápsula ou da camada mucilagínosa na remoção de metais pesados, além disso, as células descapsuladas apresentam menor área superficial para a retenção de metais. De acordo com SINGH *et al.* (2000), os maiores constituintes da cápsula de *Microcystis* são os ácidos galacturônicos que são parcialmente ionizados em soluções aquosas e podem atrair e seqüestrar metais.

No sentido de esclarecer a importância da estrutura e dos componentes químicos da parede celular de diferentes grupos de algas no processo de retenção de metais, TIEN (2002) investigou a habilidade de sorção de metais (cobre, cádmio e chumbo) por cianofíceas (*Oscillatoria limnetica* e *Anabaena spiroides*) e clorofíceas (*Chlorella vulgaris* e *Eudorina elegans*). O maior volume de mucilagem foi encontrado em *E. elegans*, seguido por *O. limnetica* e *A. spiroides* e a razão área superficial/peso seco das células algais decresceu na seguinte ordem: *O. limnetica* > *C. vulgaris* > *E. elegans* > *Anabaena spiroides*. Entre as quatro algas, *O. limnetica* mostrou a maior atividade de biosorção para cobre e chumbo, provavelmente, em razão de a mucilagem da parede ser mais espessa e da sua maior relação área superficial/peso, apresentando, assim, maior número de sítios de ligação para os metais.

De acordo com BOYLE (1984), contaminantes ambientais podem afetar processos celulares e bioquímicos considerados essenciais para o crescimento e sobrevivência das algas aquáticas, como fotossíntese, biossíntese de lipídeos e proteínas e retenção de nutrientes. Neste sentido, RICHES *et al.* (1996), realizando teste de toxicidade em culturas em batelada com *Selenastrum capricornutum* quando exposta a

concentrações de cobre, zinco e cádmio, detectaram inibição de determinadas enzimas que acarretaram alterações no metabolismo de lipídeos da alga. OLIVEIRA-NETO (2000), verificou redução da produção primária em populações fitoplanctônicas naturais devido ao efeito tóxico de certos metais (cádmio, cromo e chumbo). Esse autor recomendou a realização de testes de toxicidade com grupos do fitoplâncton em culturas axênicas para determinar a diferença de sensibilidade desses grupos aos metais.

Estudos conduzidos por DEVILLA (1999), utilizando *Skeletonema costatum* e *Cylindrotheca closterium* (Bacillariophyceae) em testes de toxicidade quando expostas ao chumbo, revelaram inibição considerável das funções fisiológicas (crescimento celular e produção de clorofila-a), atraso no início do desenvolvimento e aumento da fase lag. Experimentos de bioacumulação também foram realizados no final da fase de crescimento exponencial das algas e demonstraram que essas espécies de diatomáceas podem acumular significativa fração de Pb do meio.

Testes de toxicidade com algas são rotineiramente empregados como uma ferramenta de análise para avaliar impactos ambientais decorrentes de contaminantes nos ecossistemas aquáticos. Medidas do decréscimo na taxa de crescimento (taxa de divisão celular) ou na biomassa final (produção de células) após 48 ou 96 horas são parâmetros de avaliação final adotados nesses testes (FRANKLIN *et al.*, 2002). De acordo com KLAINE & LEWIS (1995), cianofíceas e diatomáceas são, freqüentemente, menos utilizadas devido a seu crescimento lento e à dificuldade de cultivo em laboratório, em comparação com as clorofíceas. Apesar disso, essas espécies são importantes considerando a diversidade na resposta de diferentes grupos de algas quando expostos ao mesmo tóxico.

2.2 OBJETIVOS

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos tóxicos dos metais cádmio e cromo nas algas *Selenastrum capricornutum* (Chlorophyceae) e *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae) por meio da:

- 1) determinação da faixa de sensibilidade das espécies aos metais;
- 2) análise dos efeitos dos metais sobre a densidade celular, taxa de crescimento, peso seco, concentração de clorofila, carbono orgânico total das algas e alterações no tamanho de suas células;
- 3) análise da capacidade de retenção dos metais pelas espécies algais.

2.3. MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1 Manutenção e cultivo dos organismos-teste

As células de *Selenastrum capricornutum* (atualmente denominada *Pseudokirchmeriella subcapitata*) foram provenientes das culturas mantidas no Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia de Organismos Aquáticos do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA - USP). A cepa não tóxica da cianofícea *Microcystis aeruginosa* foi fornecida pela Profa Dra Sandra M. F. O. Azevedo da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

A clorofícea *Selenastrum capricornutum* foi cultivada em meio de cultura L.C Oligo (AFNOR, 1980) e a cianofícea *Microcystis aeruginosa* em meio ASM-1 (GOHRAM *et al.*, 1964), modificado por REYNOLD & JAWORSKI (1978), os quais foram autoclavados por 20 minutos, a 121°C, em erlernmeyer de 2000mL de capacidade, contendo 1000mL de meio. Após a inoculação, que partiu de uma concentração estimada em torno de 1×10^4 células/mL, as culturas ficaram sob iluminação (com fotoperíodo de 12 horas) de 4000lux para a clorofícea e de 2000lux para a cianofícea (WWW/APHA, 1995), aeração constante e temperatura controlada em $20^\circ\text{C} \pm 2$. O cultivo de *M. aeruginosa* em meio ASM-1 foi testado com e sem a presença de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético sal dissódico). EDTA é um agente quelante de íons metálicos e a sua presença poderia interferir nos resultados dos testes de toxicidade com os metais.

2.3.2 Estudos de toxicidade

2.3.2.1 Testes de toxicidade aguda com as algas

A alga *S. capricornutum* foi exposta a uma ampla faixa de concentração de cádmio e cromo. A faixa escolhida para o cádmio foi de 10 a 160µg/L de Cd e de 100 a 1600µg/L de Cr, sendo baseadas em trabalhos realizados por MAGDALENO *et al.* (1997). *M. aeruginosa* foi exposta a faixas de concentrações entre 100 e 3200µg/L para ambos os metais. Soluções-estoque e soluções-teste de Cd e Cr foram preparadas em balões de ensaio com auxílio de pipetas volumétricas.

A solução-estoque de cádmio foi realizada a partir de uma solução de 1000mg/L de Cd (solução-padrão de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ para absorção atômica, Marca J. T. Backer). O composto dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, Marca Merck) foi utilizado para o preparo da solução-estoque de Cr, sendo uma quantidade definida deste composto pesada e solubilizada em água deionizada, de modo a obter uma concentração de 50mg/L de Cr. As soluções-teste de Cr foram preparadas com diferentes alíquotas dessa solução-estoque. Os meios de diluições utilizados foram o meio L.C Oligo para a clorofícea e o ASM-1 para a cianofícea, previamente autoclavados. Amostras das soluções-teste, preparadas durante os testes de toxicidade, foram coletadas e fixadas com ácido nítrico para a determinação da concentração de metal medida.

Os testes consistiram na exposição de células de *S. capricornutum* e de *M. aeruginosa*, a uma densidade de 10^4 células/mL e $5 \cdot 10^4$ células/mL, respectivamente, a várias concentrações dos metais e a um controle por um período de 96 horas. Os testes foram realizados em erlenmeyers de capacidade de 250mL, em triplicatas, contendo 100mL da solução-teste. Os erlenmeyers foram colocados em uma mesa agitadora com velocidade de agitação de 100 a 175rpm, sem aeração e sob iluminação constante. Os testes ocorreram na própria sala de cultivo das algas com temperatura controlada em torno de $20^\circ\text{C} \pm 2$. Toda a vidraria envolvida na manutenção da alga e nos testes de toxicidade aguda foi previamente lavada de forma adequada e autoclavada por 20 minutos a 121°C (ABNT, 1992; APHA/WWW, 1995).

Para determinação da densidade celular foram separadas de 1 a 2mL de amostras de cada frasco-teste, a cada 24 horas, e, posteriormente, foi realizada a contagem de células ao microscópio Carl Zeiss, modelo Standard 25, utilizando hemocitômetro Improved Neubauer-Bright Line. Todos os procedimentos de coleta das amostras, do preparo das soluções-teste e da inoculação com as espécies algais foram feitos em condições assépticas com auxílio de um bico de Bunsen. As amostras destinadas à contagem foram coletadas e fixadas com uma solução de iodo: iodeto de potássio: ácido acético: ácido glacial: água destilada (1:2:2:20).

A densidade celular nas amostras iniciais (tempo 0) foi subtraída daquela obtida após 96h de exposição, resultando no aumento da densidade celular produzida em 96h. A densidade celular média obtida em cada concentração, após o período de exposição, foi expressa como porcentagem de redução da densidade celular em relação ao controle (equação 1). Essas porcentagens foram utilizadas no cálculo da CE(I)50, 96h, por meio do programa computacional Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.*, 1977).

$$1) \% \text{ redução da densidade celular em relação ao controle} = 100 - \left\{ \frac{(N_{\text{conc}} - N_{0\text{conc}})(N_c - N_{0c})}{N_c - N_{0c}} \right\} \cdot 100$$

em que:

N_{conc} = número de células obtido em cada concentração-teste no final do intervalo selecionado

N_c = número de células obtido no controle no final do intervalo selecionado

$N_{0\text{conc}}$ = número de células obtido em cada concentração-teste no início do intervalo selecionado

N_{0c} = número de células obtido no controle no início do intervalo selecionado

O aumento da densidade celular foi acompanhado por contagem do número de células algais ao microscópio. A taxa de crescimento foi calculada de acordo com FOGG (1975), conforme demonstrado na equação 2:

$$2) K = \frac{\ln(N / N_0)}{t_2 - t_1}$$

$$t_2 - t_1$$

em que: N = número de células no final do intervalo selecionado

N_0 = número de células no início do intervalo selecionado

$t_2 - t_1$ = intervalo de tempo entre as determinações do número de células

2.3.2.2 Avaliação da toxicidade dos metais sobre o crescimento de *Selenastrum capricornutum*.

As faixas de concentrações nas quais os efeitos dos metais no ciclo de vida desta alga foram avaliados foram baseadas nas concentrações encontradas pela CE(I)50; 96h para *S. capricornutum*. Os testes de toxicidade foram realizados com duas réplicas em erlenmeyer de policarbonato de 1000mL com 400mL da solução-teste. As concentrações dos metais foram definidas com base nos resultados dos testes de toxicidade aguda, considerando-se a menor concentração que apresentasse algum efeito tóxico agudo, como a concentração mais alta, e a partir desta concentração foram definidas as demais. Nos experimentos-controle, as culturas foram realizadas em

condições normais de crescimento e, portanto, sem adição de dos metais sendo testados (Cd e Cr) (HIDALGO, 1999). O crescimento celular de *S. capricornutum* foi acompanhado até que esta atingisse a fase de senescência.

Todo o procedimento de preparo das soluções-teste, a inoculação da alga nos frascos-teste e as condições do teste foram similares aos descritos para o testes de toxicidade aguda, com exceção do fato de que a agitação dos frascos foi feita manualmente durante três vezes ao dia. O crescimento celular foi acompanhado por contagem do número de células algais ao microscópio (número de células por mL da cultura) em um hemocitômetro Improved Neubauer-Bright Line. As amostras destinadas a essa análise foram coletadas diariamente e fixadas com uma mistura de iodo: iodeto de potássio: ácido acético: ácido glacial: água destilada (1:2:2:20).

2.3.2.3 Determinação do peso seco, clorofila-a, carbono orgânico total e biovolume das algas em testes de toxicidade aguda com os metais cádmio e cromo

O peso seco de *S. capricornutum* e de *M. aeruginosa*, no final dos testes de toxicidade aguda, foi determinado por meio da filtragem de determinada quantidade de amostra das soluções-teste em um filtro de 0,45 μ m de porosidade, anteriormente incinerado e pesado. Os filtros permaneceram, durante 24h, a 60°C, em uma estufa e em seguida foram deixados em um dessecador para posterior pesagem. O peso seco foi calculado pela diferença do peso dos filtros (APHA/WWW, 1995).

No final dos testes de toxicidade com *S. capricornutum*, amostras também foram coletadas para avaliação da concentração de clorofila, do biovolume e do conteúdo de carbono orgânico total das células. A determinação das concentrações de clorofila foi realizada segundo metodologia descrita em NUSCH (1980). A alíquota separada para a determinação de clorofila foi filtrada em membrana de éster de celulose de 0,45 μ m de porosidade e 22 mm de diâmetro, sendo posteriormente a clorofila extraída com etanol (80%) a quente e a concentração de clorofila determinada por espectrofotometria uv/vis.

As algas foram caracterizadas morfológicamente quanto ao tamanho (μ m) por meio de medidas efetuadas em 30 organismos, que utilizando-se uma ocular micrométrica, em microscópio binocular com captura de imagem da marca Carl Zeiss modelo Axioshop 2 plus (ESPÍNDOLA, 1994). Com base nas medidas de tamanho, o volume celular (μ m³) foi calculado, aplicando-se as dimensões das células nas formas geométricas mais apropriadas (triângulos). Com as medidas de volume celular foi calculado o conteúdo de carbono orgânico total por célula para a espécie testada. Para

tanto, utilizou-se a relação entre o conteúdo de carbono e o volume celular (ROCHA & DUNCAN, 1985) determinada para algas de água doce por meio da oxidação úmida por dicromato de potássio, conforme apresentado na equação 3:

$$3) C = 0,1204 \times V^{1,051}$$

em que: C = conteúdo de carbono orgânico em pg/célula e V = volume celular

2.3.3 Análise de metais

No final dos testes de toxicidade aguda com algas, foram coletadas amostras nos diferentes tratamentos para posterior determinação de metais, os quais foram determinados em três frações (total, particulada e dissolvida). Metais totais foram considerados como sendo as concentrações de metais em uma amostra não filtrada e depois digerida. Metais dissolvidos foram aqueles metais que passaram direto em um filtro de 0,45µm de porosidade e metais particulados foram considerados aqueles que ficaram retidos na membrana (APHA/WWW, 1995).

A amostra destinada à determinação da fração total foi coletada e fixada com ácido nítrico concentrado, sem nenhum tratamento prévio (filtração), digerida com ácido nítrico e ácido clorídrico e diluída em água destilada. O ácido nítrico é adequado no caso de amostras limpas ou materiais que se oxidam com facilidade. No caso de matéria orgânica ou minerais de difícil oxidação é aconselhável utilizar tratamento com ácido clorídrico e ácido nítrico (APHA/WWW, op. cit). Para a determinação da fração suspensa ou particulada, os filtros, após a filtração, foram secos (em uma estufa, por 24h, a 60°C) e submetidos à digestão ácida (3mL de HNO₃ e 1mL de H₂O₂ concentrados) em uma placa aquecedora. As análises de metais nas algas foram realizadas sem lavagem prévia das células com EDTA. A concentração de metal medida nas células algais foi considerada como sendo a concentração total existente nas células (presente na porção intracelular e extracelular).

A cada digestão de amostras foram digeridos 3 filtros para a determinação do branco analítico, conforme adaptado de VAN LOON (1985). As concentrações de cádmio foram medidas utilizando-se forno de grafite em espectrofotômetro de absorção atômica (Varian AA; 220; intercambiável chama-forno de grafite) e as medidas das concentrações de cromo foram realizadas também no espectrofotômetro, utilizando-se o método da chama e do forno de grafite. O limite de detecção foi de 0,05µg/L para o Cd e de 0,81µg/L para o Cr (MILLER & MILLER, 1994).

2.3.4 Análise estatística

No presente trabalho foram analisados os parâmetros ecotoxicológicos que são utilizados para determinar a concentração do agente químico em que ocorre algum efeito no organismo, indicando a possibilidade de ocorrer um impacto semelhante no ambiente. Dessa maneira, os testes de toxicidade aguda determinam a concentração em que 50% dos organismos testados sofreram algum tipo de efeito (CE50). A maior concentração em que nenhum efeito foi observado (CENO) e a menor concentração em que foi observado efeito (CEO) também foram determinadas. Optou-se por avaliar todos esses parâmetros, pois não há um consenso na literatura sobre se os testes de toxicidade com algas são efetivamente agudos ou crônicos (WALKER *et al.*, 1997).

Para a determinação da CE50 dos metais cádmio e cromo aos organismos foi utilizado o programa computacional Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.*, 1977) e para o estabelecimento da faixa de sensibilidade, adotou-se o modelo proposto pela USEPA (1985). Neste modelo, calcula-se a média dos valores de CE50 obtidos e o desvio-padrão para cada grupo de testes. Com esses dados estabeleceu-se o limite superior ($x + 2.DP$) e o limite inferior ($x - 2.DP$).

Os resultados em termos de densidade celular, de taxa de crescimento, de peso seco e de clorofila-a obtidos nos testes de toxicidade com as algas foram submetidos às análises de normalidade e de homogeneidade e, em seguida, ao teste de Dunnett (teste paramétrico), quando apresentaram distribuição normal e, quando não, foi aplicado o teste de Many-one de Steel (teste não-paramétrico), a fim de verificar a ocorrência de diferenças significativas ou não entre os resultados obtidos nos tratamentos com os metais em relação aos controles. Para testes com número desigual de réplicas entre tratamentos foi utilizado o teste T de Bonferroni (paramétrico). A partir desses dados foram calculados os valores da CENO (a maior concentração do agente tóxico, na qual não são observados efeitos deletérios estatisticamente significativos na densidade celular), a CEO (a menor concentração do agente tóxico, na qual são observados efeitos deletérios significativos na densidade celular) e o VC (valor crônico, que representa a média geométrica dos valores de CENO e CEO). Teste de Tukey (teste paramétrico) ou de Kruskal-Wallis (não paramétrico) foram utilizados para comparar todos os tratamentos entre si (NIPPER, 2002). O programa computacional TOXSTAT VERSION 3.3. foi utilizado para a aplicação desses testes (GULLEY *et al.*, 1993).

2.4. RESULTADOS

2.4.1 Testes de toxicidade aguda com *Selenastrum capricornutum* aos metais

Na Tabela 2.1, na Figura 2.1 e no Anexo A estão apresentados os resultados dos testes de toxicidade aguda com *Selenastrum capricornutum* ao metal cádmio. A faixa de sensibilidade deste alga ao cádmio em relação a redução na densidade celular, após a realização de 10 testes, foi de 11,52 a 37,08 $\mu\text{g/L}$, com valor médio de 24,29 $\mu\text{g/L}$.

Tabela 2.1 – Valores da Concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50;96h) de cádmio (nitrato de cádmio) em $\mu\text{g/L}$ para *Selenastrum capricornutum*

Número do teste	CE(I)50;96h ($\mu\text{g/L}$)	Intervalo de confiança
1	31,65	28,65-34,96
2	34,15	31,05-37,55
3	29,55	23,77-36,75
4	28,77	25,04-33,08
5	14,84	10,68-20,63
6	18,91	13,28-26,93
7	18,70	12,16-28,77
8	22,50	19,53-25,94
9	23,36	20,47-26,67
10	20,50	17,06-24,63

CE(I)50;96h ($\mu\text{g/L}$) média: 24,29

Faixa de sensibilidade: 11,52-37,08

Desvio-padrão (DP): 6,39

Coefficiente de variação (CV): 26,28%

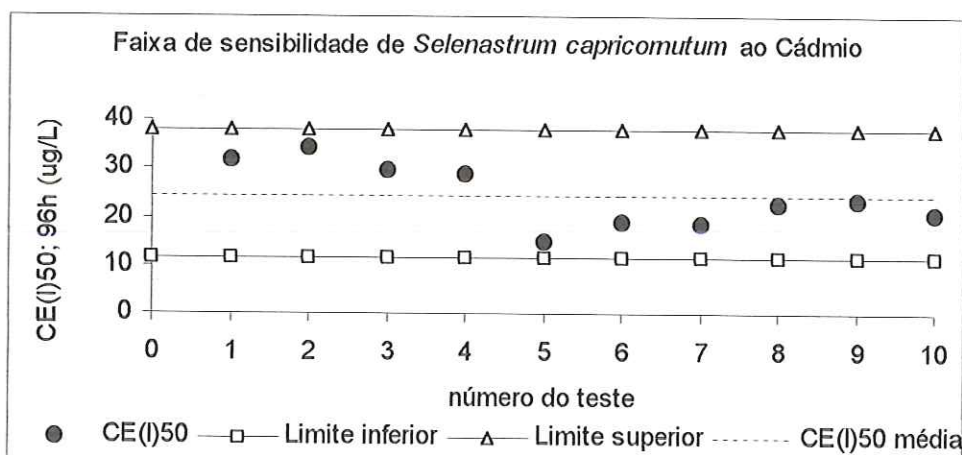


Figura 2.1 — Faixa de sensibilidade de *Selenastrum capricornutum* ao cádmio.

Os efeitos do cádmio sobre a densidade celular média e sobre a taxa de crescimento de *Selenastrum capricornutum* estão apresentados na Tabela 2.2, nas Figuras 2.2 e 2.3 e no Anexo A. Um decréscimo na densidade celular e na taxa de crescimento da alga com o aumento da concentração do metal foi observado. Para a maioria dos resultados obtidos em relação à densidade celular média, o valor da CENO foi de 20µg/L, da CEO foi de 40µg/L e do VC foi igual a 30µg/L.

Tabela 2.2 – Efeitos do cádmio sobre a densidade celular média (10^4 céls/mL) e sobre a taxa de crescimento (r) de *Selenastrum capricornutum*, após 96 horas de exposição ao metal.

	Concentrações (µg/L)	10^4 céls/ mL	% redução	r		Concentrações (µg/L)	10^4 céls/ mL	% redução	r
1 ^o Teste	Controle	758,00	-	1,48	2 ^o Teste	Controle	755,42	-	1,56
	10,00	739,00	2,51	1,48		10,00	657,37	12,98	1,54
	20,00	603,00	20,45	1,26		20,00	666,12	11,82	1,57
	40,00	224,00*	70,45	1,08*		40,00	253,62*	66,42	1,28
	80,00	68,50*	90,96	0,79*		80,00	74,50*	90,13	1,07
	160,00	6,00*	99,21	0,34*		160,00	8,12*	98,92	0,31*
3 ^o Teste	Controle	694,99	-	1,48	4 ^o Teste	Controle	713,84	-	1,26
	10,00	492,50	29,13	1,39		10,00	618,42	13,92	1,12
	20,00	457,36	34,19	1,33		20,00	490,50	31,29	1,11
	40,00	278,74	59,89	1,29		40,00	224,04*	68,61	1,07
	80,00	80,83*	88,37	0,93*		80,00	121,42*	82,99	0,92
	160,00	13,66*	98,03	0,47*		160,00	14,76*	97,94	0,45*
5 ^o Teste	Controle	694,42	-	1,38	6 ^o Teste	Controle	610,58	-	1,40
	10,00	416,75	40,29	1,34		10,00	363,67*	40,44	1,39
	20,00	294,16	57,85	1,29		20,00	312,92*	48,75	1,27
	40,00	256,08*	63,31	1,29		40,00	184,67*	69,76	1,20
	80,00	88,91*	87,26	1,04*		80,00	76,33*	87,50	1,10*
	160,00	14,66*	97,90	0,49*		160,00	10,75*	98,24	0,45*
7 ^o Teste	Controle	704,75	-	1,49	8 ^o Teste	Controle	496,42	-	1,30
	10,00	425,17*	39,67	1,26		10,00	383,25	22,69	1,38
	20,00	331,67*	52,94	1,25		20,00	300,17	39,47	1,34
	40,00	296,83*	57,88	1,31		40,00	94,75*	81,08	1,04*
	80,00	80,92*	88,52	0,95*		80,00	17,83*	96,71	0,61*
	160,00	7,33*	98,96	0,42*		160,00	7,67*	98,80	0,36*
9 ^o Teste	Controle	548,81	-	1,45	10 ^o Teste	Controle	446,56	-	1,57
	10,00	469,33	14,48	1,29		10,00	348,83	21,87	1,34
	20,00	310,00*	43,51	1,15*		20,00	178,08*	60,12	1,44
	40,00	138,65*	74,74	0,96*		40,00	153,80*	65,55	1,24
	80,00	66,00*	87,97	0,85*		80,00	95,17*	78,32	1,16*
	160,00	15,00*	97,27	0,56*		160,00	44,25*	98,32	0,74*

r (dia^{-1}); *diferença significativa em relação ao controle (Testes de Dunnetts e Bonferroni, $p < 0,05$)

Observando a curva de crescimento celular de *Selenastrum capricornutum*, durante os testes de toxicidade aguda com cádmio, notou-se que o crescimento no controle (sem adição de metal) não foi superado por nenhum outro tratamento com as diferentes concentrações do metal (Figura 2.2). Houve diminuição do crescimento da alga com o aumento da adição do cádmio. É também possível verificar que a fase lag foi mais prolongada na mais alta concentração (160 $\mu\text{g/L}$) e durou aproximadamente 72 horas. Tais resultados evidenciam o efeito do metal sobre as fases de vida da alga.

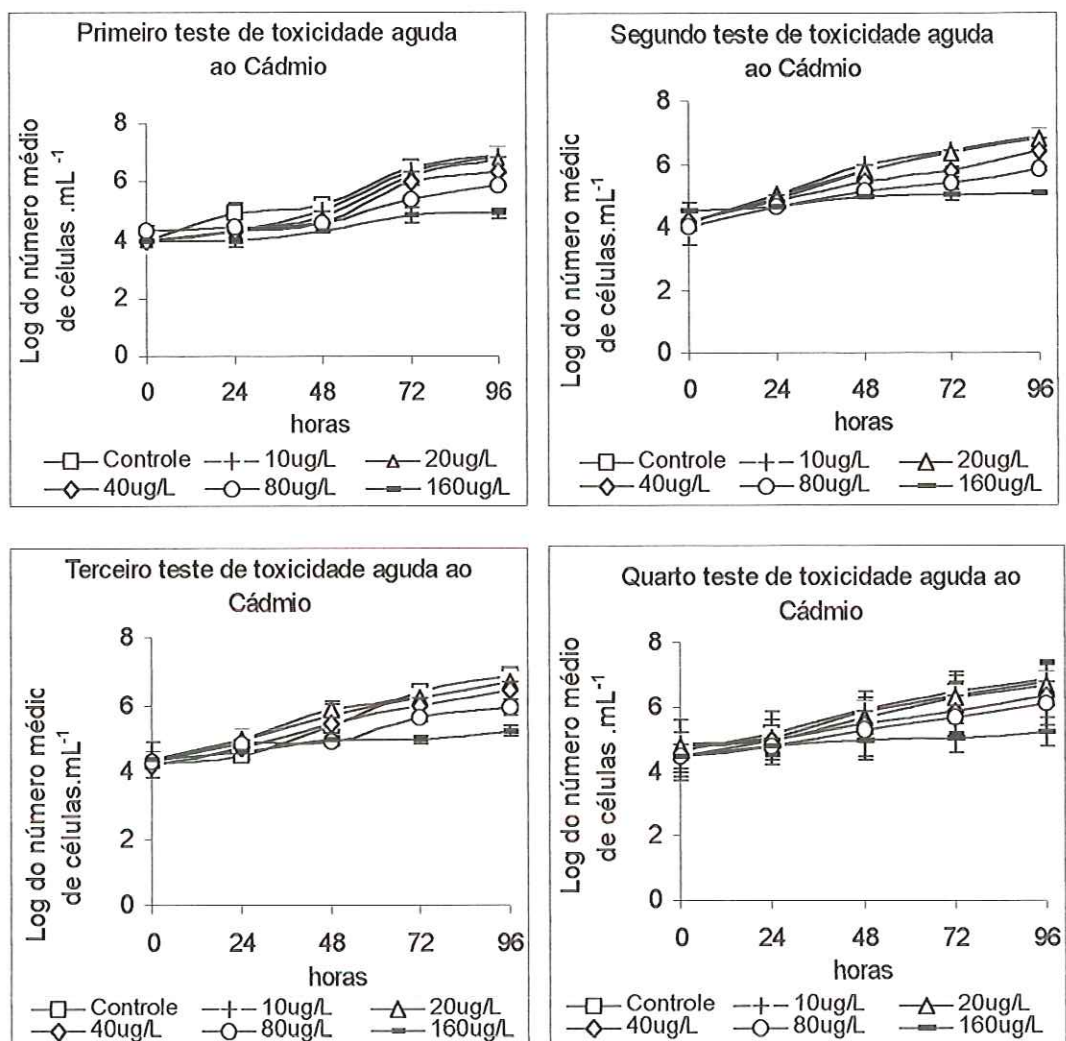


Figura 2.2 — Curvas de crescimento de *Selenastrum capricornutum* em teste de toxicidade aguda ao cádmio. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

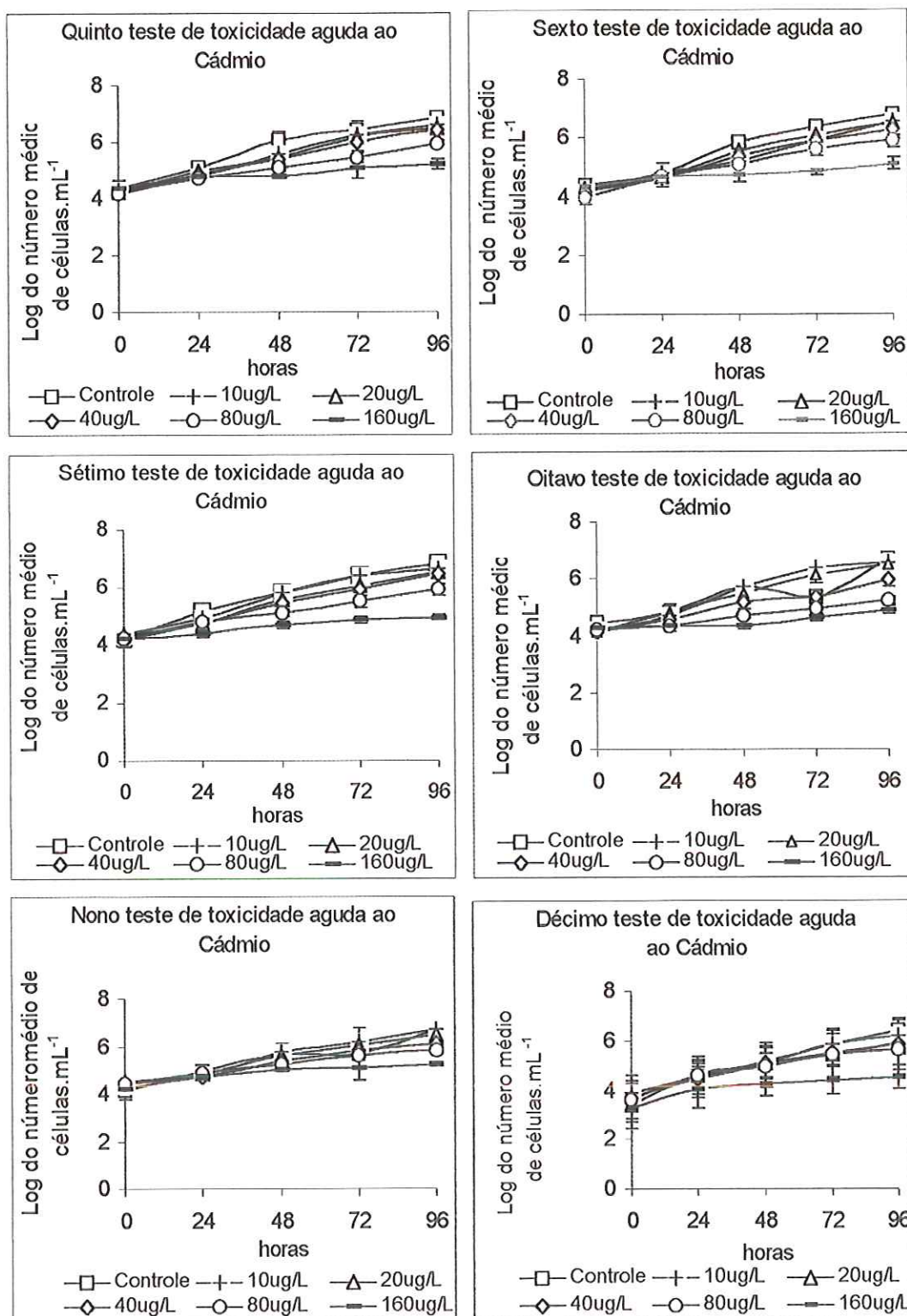


Figura 2.2 (continuação) — Efeito do cádmio sobre curva de crescimento de *Selenastrum capricornutum* durante teste de toxicidade aguda. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

O metal cádmio atuou como um fator limitante ao crescimento celular de *Selenastrum capricornutum*, reduzindo a menos da metade a sua taxa de crescimento

nas concentrações de 80 e 160 $\mu\text{g/L}$, em que foi verificada diminuição estatisticamente significativa em relação ao obtido no controle. De modo geral, foi possível observar redução da taxa de crescimento com o aumento da concentração do metal (Figura 2.3).

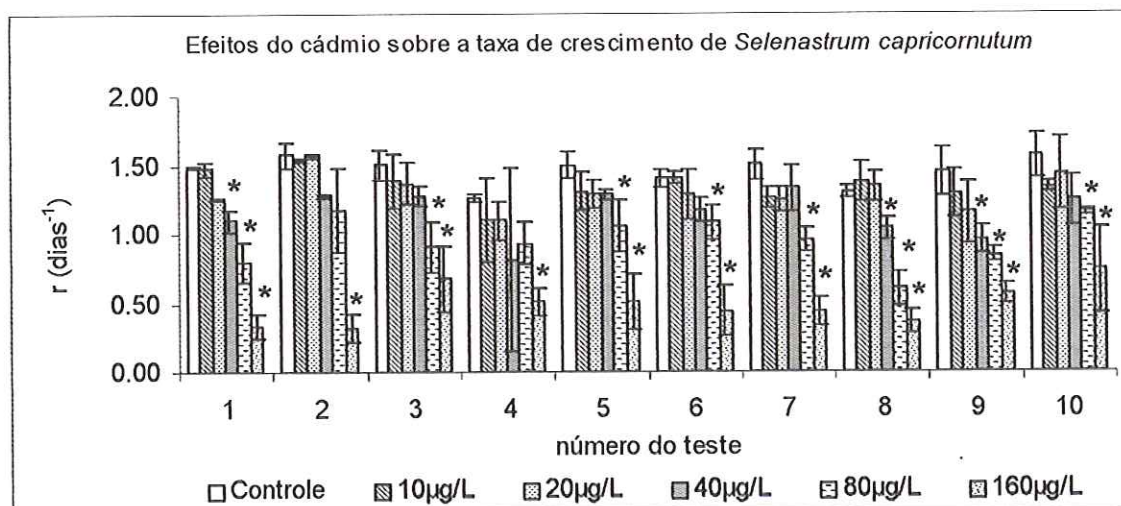


Figura 2.3 — Taxas de crescimento celular de *Selenastrum capricornutum* no final de testes de toxicidade aguda (após 96 horas de exposição) ao metal cádmio. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnet; $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

Em relação aos testes de toxicidade aguda ao cromo, conforme apresentado na Tabela 2.3, Figura 2.4 e Anexo A, a faixa de sensibilidade de *S. capricornutum* ao cromo foi de 287,54 a 797,87 $\mu\text{g/L}$, com valor médio de 542,71 $\mu\text{g/L}$. O parâmetro avaliado foi a redução na densidade celular. Conforme verificado para os resultados obtidos nos testes com o cádmio, nenhum valor da CE(I)50;96h esteve fora da faixa de sensibilidade estabelecida no presente estudo. Comparando-se os valores das faixas de sensibilidade obtidas para ambos os metais, verificou-se que *Selenastrum capricornutum* foi mais sensível ao cádmio do que ao cromo.

Tabela 2.3 – Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50;96h) de cromo (dicromato de potássio) em $\mu\text{g/L}$ para *Selenastrum capricornutum*

Número do teste	CE(I)50;96h ($\mu\text{g/L}$)	Intervalo de confiança
1	486,94	437,70-541,73
2	468,48	395,94-554,32
3	763,50	690,88-843,76
4	594,11	525,86-671,23
5	613,40	550,75-683,19
6	784,59	726,42-847,42
7	384,02	298,75-493,55
8	578,16	491,88-679,58
9	539,96	487,06-589,76
10	437,63	369,23-518,71

CE(I)50;96h ($\mu\text{g/L}$) média: 542,71

Faixa de sensibilidade: 287,54– 797,87

Desvio-padrão (DP): 127,58

Coefficiente de variação (CV): 23,51%

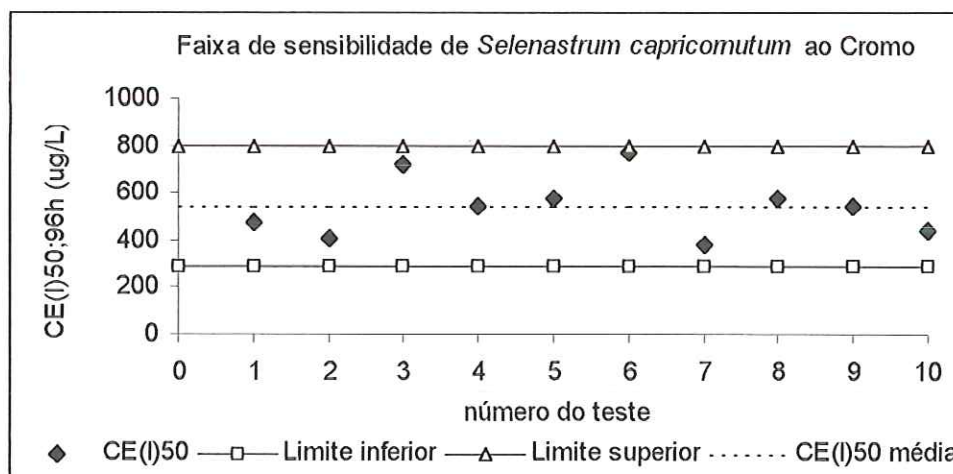


Figura 2.4 — Faixa de sensibilidade de *Selenastrum capricornutum* ao cromo.

Na Tabela 2.4, nas Figuras 2.5 e 2.6 e no Anexo A estão apresentados os efeitos do cromo sobre a densidade celular média e sobre a taxa de crescimento celular de *Selenastrum capricornutum*. Na maioria dos testes de toxicidade aguda realizados, o aumento da concentração do cromo provocou redução na densidade celular média e na taxa de crescimento da alga. Baseado nos resultados da densidade celular média, o valor da CENO estabelecido foi de 200µg/L, da CEO foi de 400µg/L e o VC foi de 300µg/L.

Tabela 2.4 – Efeitos do cromo sobre a densidade celular média (10^4 céls/mL) e sobre a taxa de crescimento (r) de *Selenastrum capricornutum*, após 96 horas de exposição ao metal.

	Concentrações (µg/L)	10^4 céls/ mL	% redução	r		Concentrações (µg/L)	10^4 céls/ mL	% redução	r
1 ^o Teste	Controle	669,25	-	1,63	2 ^o Teste	Controle	654,00	-	1,62
	100,00	648,75	3,28	1,62		100,00	540,12	17,44	1,57
	200,00	602,50	10,11	1,50		200,00	535,88	18,09	1,57
	400,00	413,00*	38,38	1,51		400,00	296,87*	54,69	1,42
	800,00	174,50*	73,82	1,29*		800,00	283,38*	56,76	1,41
	1600,00	2,40*	99,64	0,31*		1600,00	5,12*	99,29	0,41*
3 ^o Teste	Controle	515,81	-	1,65	4 ^o Teste	Controle	932,75	-	1,54
	100,00	513,80	0,38	1,65		100,00	863,50	7,42	1,52
	200,00	472,40	1,79	1,54		200,00	749,00	19,70	1,38
	400,00	449,62	3,08	1,53		400,00	746,37	19,98	1,38
	800,00	277,75*	49,53	1,38*		800,00	391,75*	58,00	0,86
	1600,00	25,62*	98,54	0,99*		1600,00	2,50*	99,73	0,17*
5 ^o Teste	Controle	615,25	-	1,55	6 ^o Teste	Controle	472,92	-	1,54
	100,00	586,00	4,75	1,54		100,00	471,00	0,40	1,54
	200,00	585,16	5,54	1,53		200,00	464,47	1,79	1,49
	400,00	467,00*	24,09	1,54		400,00	458,33	3,08	1,53
	800,00	223,87*	63,61	1,32		800,00	238,66	49,53	1,31
	1600,00	24,50*	96,01	0,54*		1600,00	6,91*	98,54	0,60*
7 ^o Teste	Controle	514,08	-	1,54	8 ^o Teste	Controle	570,00	-	1,65
	100,00	339,92	33,88	1,30		100,00	447,17	21,55	1,68
	200,00	341,75	33,55	1,44		200,00	469,25	17,68	1,58
	400,00	253,33*	50,72	1,41		400,00	327,92	42,47	1,53
	800,00	163,75*	68,16	1,32		800,00	276,58	51,48	1,38
	1600,00	9,28*	98,19	0,35*		1600,00	20,17*	96,46	0,71*
9 ^o Teste	Controle	445,00	-	1,64	10 ^o Teste	Controle	445,69	-	1,45
	100,00	438,33	1,50	1,46		100,00	231,25	38,11	1,36
	200,00	385,00	13,48	1,53		200,00	233,00	47,74	1,21
	400,00	366,67	17,60	1,64		400,00	197,06*	55,80	1,33
	800,00	98,58*	77,85	1,33*		800,00	10,00*	97,76	0,38*
	1600,00	2,25*	99,49	0,35*		1600,00	5,58*	99,12	0,36*

r (dia^{-1}); *diferença significativa em relação ao controle (Testes de Dunnetts e Bonferroni, $p < 0,05$).

Em relação à curva de crescimento celular de *Selenastrum capricornutum* obtida durante os testes de toxicidade aguda com cromo, conforme apresentado na Figura 2.5, verificou-se que o crescimento no controle foi maior do que nos demais tratamentos. Como anteriormente observado para os resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda com cádmio, a duração no tempo de indução do crescimento foi mais duradoura na mais alta concentração de cromo (1600 $\mu\text{g/L}$).

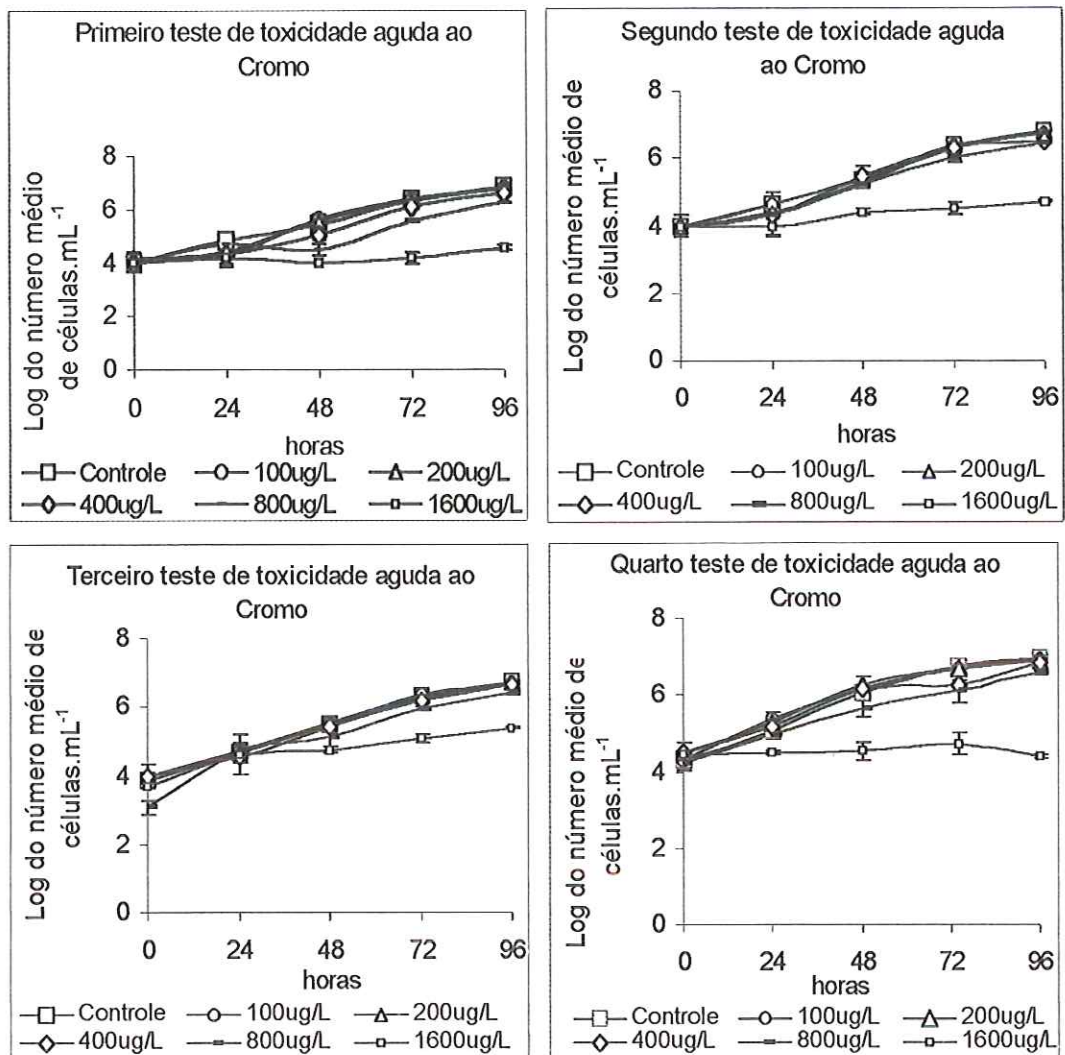


Figura 2.5 — Curva de crescimento de *Selenastrum capricornutum* durante teste de toxicidade aguda ao cromo. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

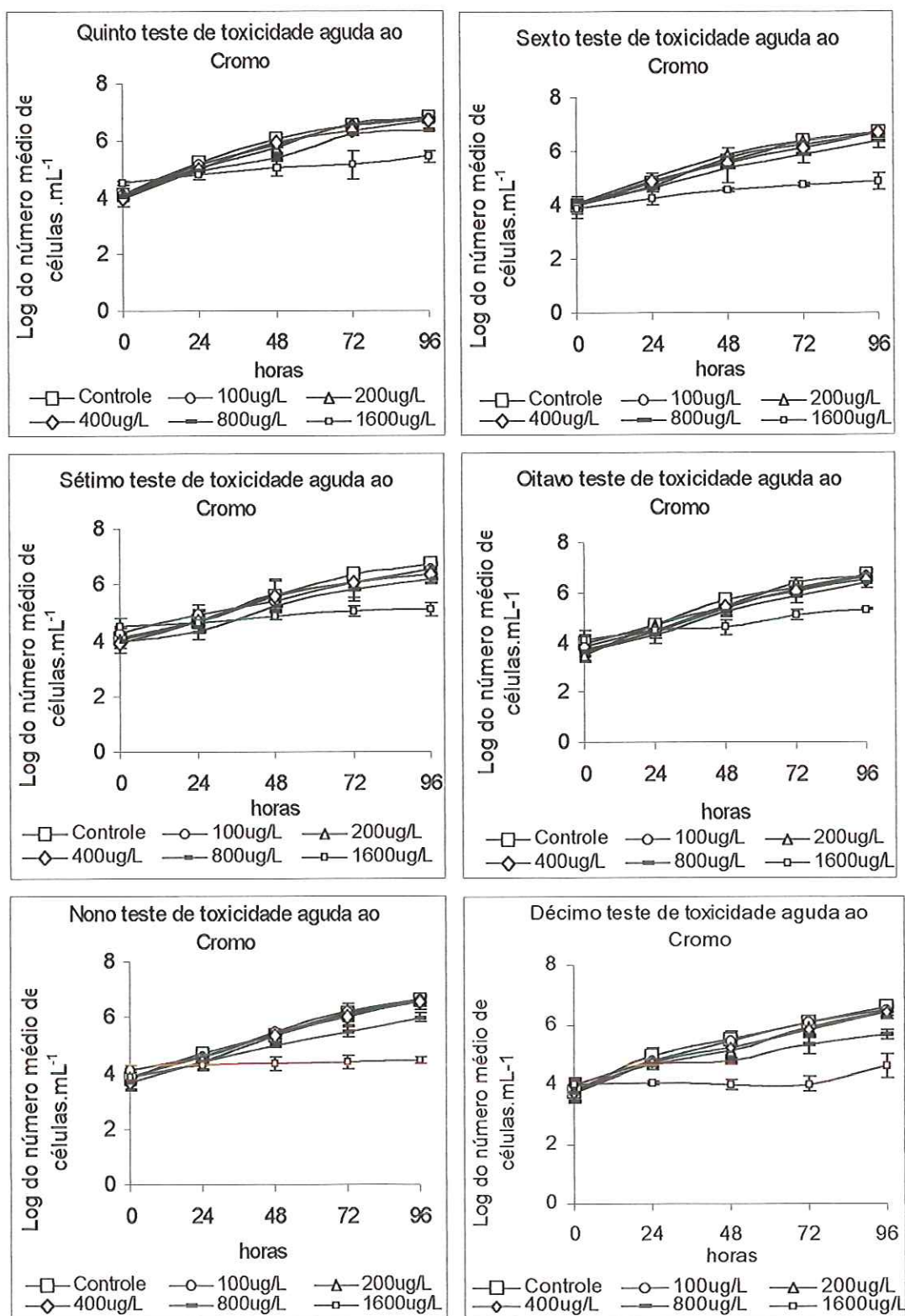


Figura 2.5 (continuação) — Curva de crescimento de *Selenastrum capricornutum* durante teste de toxicidade aguda ao cromo. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

Em todos os testes de toxicidade realizados com o cromo, uma redução significativa do valor da taxa de crescimento de *S. capricornutum* foi verificada na concentração de 1600µg/L, quando comparada ao obtido no tratamento controle (Figura 2.6).

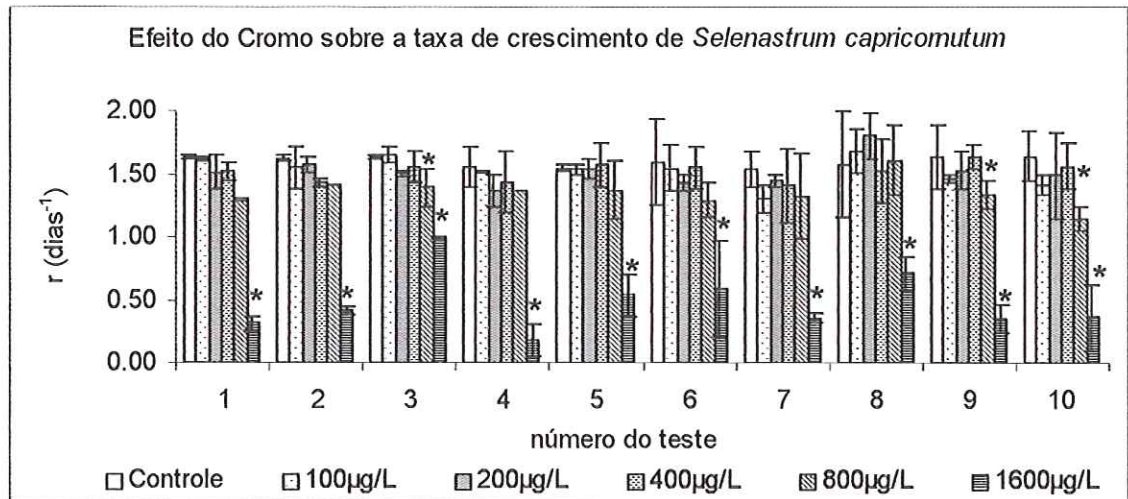


Figura 2.6 — Taxas de crescimento celular de *Selenastrum capricornutum* no final de testes de toxicidade aguda (após 96 horas de exposição) ao metal cromo. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

2.4.1.1 Avaliação da toxicidade dos metais sobre o crescimento populacional de *Selenastrum capricornutum*

Nas Figuras 2.7 e 2.8 foi possível que, para essas concentrações de metais testadas, não houve diferenças no crescimento populacional algal em relação ao obtido nas condições controle.

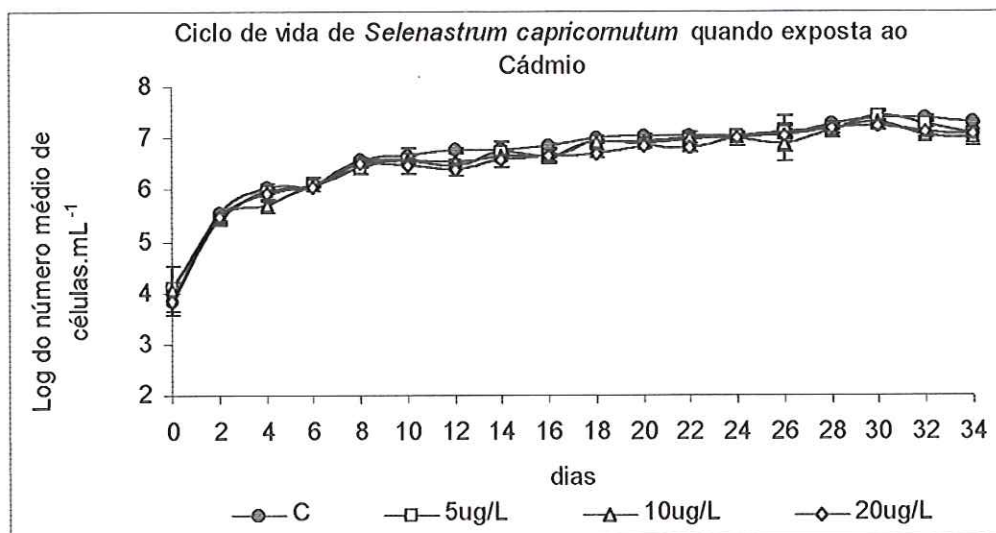


Figura 2.7 — Curva de crescimento de *Selenastrum capricornutum* quando exposta a diferentes concentrações de cádmio. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

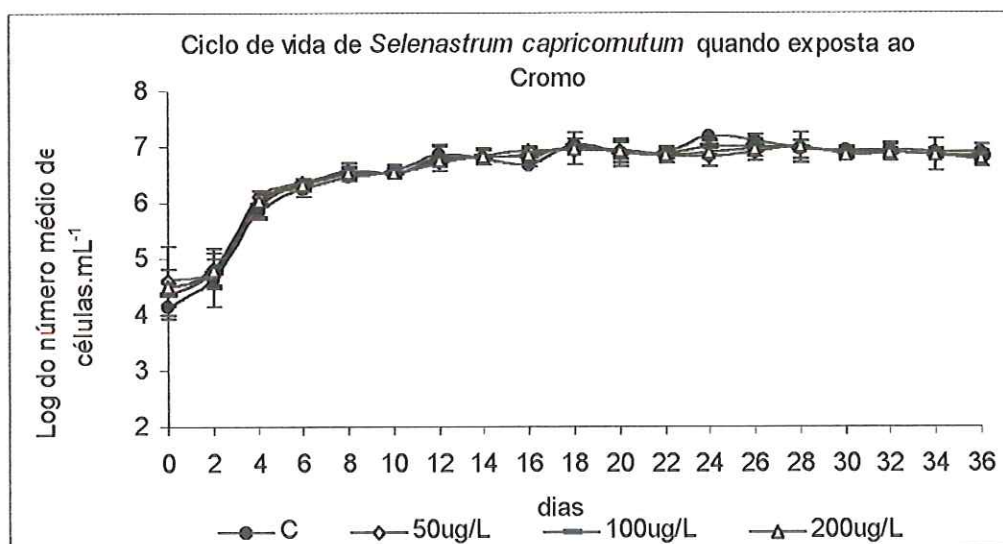


Figura 2.8 — Curva de crescimento de *Selenastrum capricornutum* quando exposta a diferentes concentrações de cádmio. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

2.4.2 Testes de toxicidade aguda com *Microcystis aeruginosa* aos metais

A presença de EDTA como componente no meio de cultivo da cianofíceia *Microcystis aeruginosa* foi necessária para um bom crescimento de suas células em laboratório (Figura 2.9). Diante desse resultado, optou-se pela manutenção desse reagente no cultivo da alga.

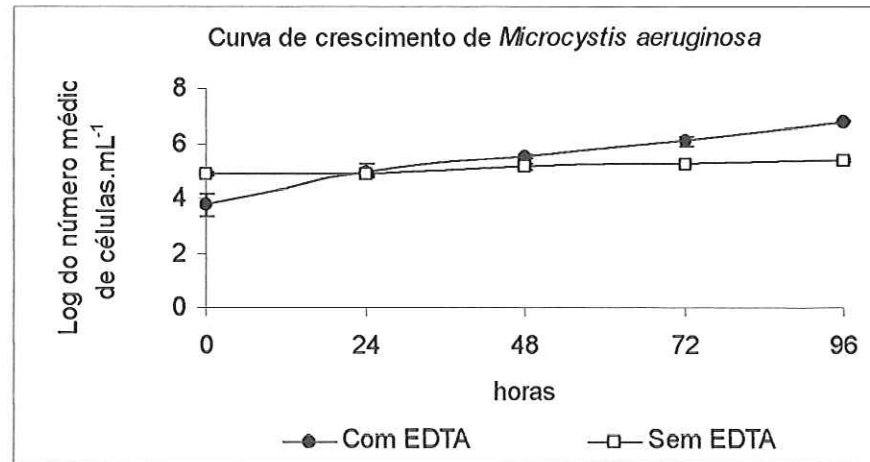


Figura 2.9 — Curva de crescimento de *M. aeruginosa* em cultivo com ou sem a presença de EDTA. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

Na Tabela 2.5, na Figura 2.10 e no Anexo A estão apresentados os resultados dos testes de toxicidade aguda com *Microcystis aeruginosa* ao metal cádmio. A faixa de sensibilidade desse organismo ao cádmio, após a realização de 5 testes, foi de 362,61 a 1145,43 $\mu\text{g/L}$, com valor médio de 754,02 $\mu\text{g/L}$. Evidencia-se que todos os valores da CE(I)50; 96h estiveram dentro dessa faixa de sensibilidade estabelecida.

Tabela 2.5 – Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 96h) de cádmio (nitrato de cádmio) em $\mu\text{g/L}$ para *Microcystis aeruginosa*.

Número do teste	CE(I)50; 96h ($\mu\text{g/L}$)	Intervalo de confiança
1	756,84	607,92-942,25
2	645,99	570,92-730,94
3	986,56	901,43-1079,73
4	491,18	440,02-548,30
5	889,54	824,26-960,00

CE(I)50; 96h ($\mu\text{g/L}$) média: 754,02

Faixa de sensibilidade: 362,61–1145,43

Desvio-padrão (DP): 195,71

Coefficiente de variação (CV): 25,95

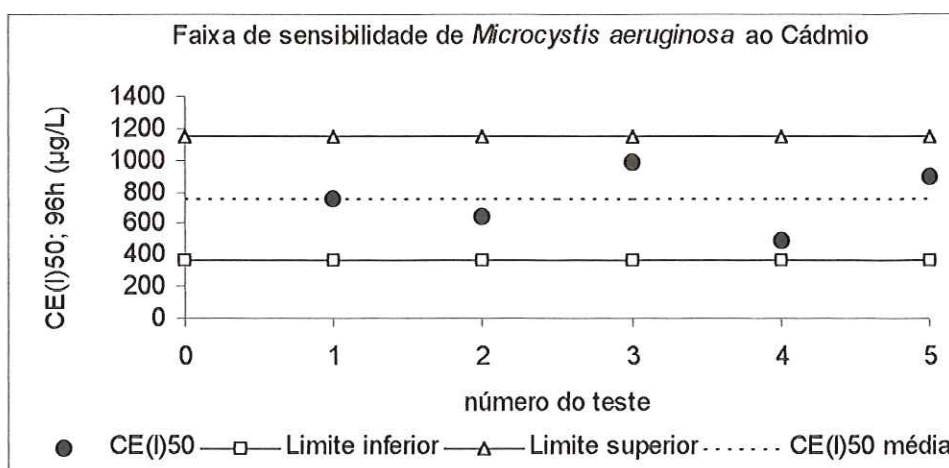


Figura 2.10 — Faixa de sensibilidade de *Microcystis aeruginosa* ao cádmio.

Na Tabela 2.6, nas Figuras 2.11 e 2.12 e no Anexo A estão apresentados os efeitos do cádmio sobre a densidade celular média e sobre a taxa de crescimento de *Microcystis aeruginosa*. Um decréscimo na densidade celular e na taxa de crescimento da alga com o aumento da concentração do metal foi observado. Em relação aos valores de densidade celular média, o valor da CENO foi de 400µg/L, da CEO, de 800µg/L e do VC, de 600µg/L.

Tabela 2.6 – Efeitos do cádmio sobre a densidade celular média (10^4 céls/mL) e sobre a taxa de crescimento (r) de *Microcystis aeruginosa*, após 96 horas de exposição ao metal.

	Concentrações (µg/L)	10^4 céls/mL	% redução	r		Concentrações (µg/L)	10^4 céls/mL	% redução	r
1 ^o Teste	Controle	97,00	-	0,81	2 ^o Teste	Controle	69,17	-	0,63
	200,00	57,80	40,41	0,64		200,00	52,33	24,34	0,61
	400,00	67,88	30,03	0,68		400,00	55,17	20,24	0,57
	800,00	51,50*	46,91	0,69		800,00	24,53*	64,53	0,35*
	1600,00	7,63*	92,14	0,25*		1600,00	10,17*	85,30	0,28*
	3200,00	1,37*	98,58	0,08*		3200,00	0,08*	99,88	0,00*
3 ^o Teste	Controle	88,83	-	0,70	4 ^o Teste	Controle	96,42	-	0,76
	200,00	80,83	9,00	0,71		200,00	90,75	5,88	0,73
	400,00	72,50	18,38	0,65		400,00	49,33	48,83	0,45*
	800,00	76,91	13,42	0,65		800,00	30,92*	67,93	0,38*
	1600,00	1,75*	98,03	0,11*		1600,00	3,58*	96,28	0,10*
	3200,00	0,04*	99,96	0,00*		3200,00	0,83*	99,14	0,04*
5 ^o Teste	Controle	60,25	-	0,72					
	200,00	59,67	0,97	0,59					
	400,00	53,33	11,48	0,58					
	800,00	45,25	24,90	0,54					
	1600,00	0,42*	99,31	0,02*					
	3200,00	1,25*	99,86	0,08*					

r (dia^{-1}); *diferença significativa em relação ao controle (Testes de Dunnetts e Bonferroni, $p < 0,05$).

Observando a curva de crescimento celular de *Microcystis aeruginosa* (Figura 2.11), notou-se que o crescimento da alga foi afetado pela exposição ao cádmio, quando comparado com as condições do tratamento controle (sem adição de metal). Houve diminuição do crescimento da alga com o aumento da adição do cádmio, sendo tal efeito mais pronunciado nas mais elevadas concentrações do metal.

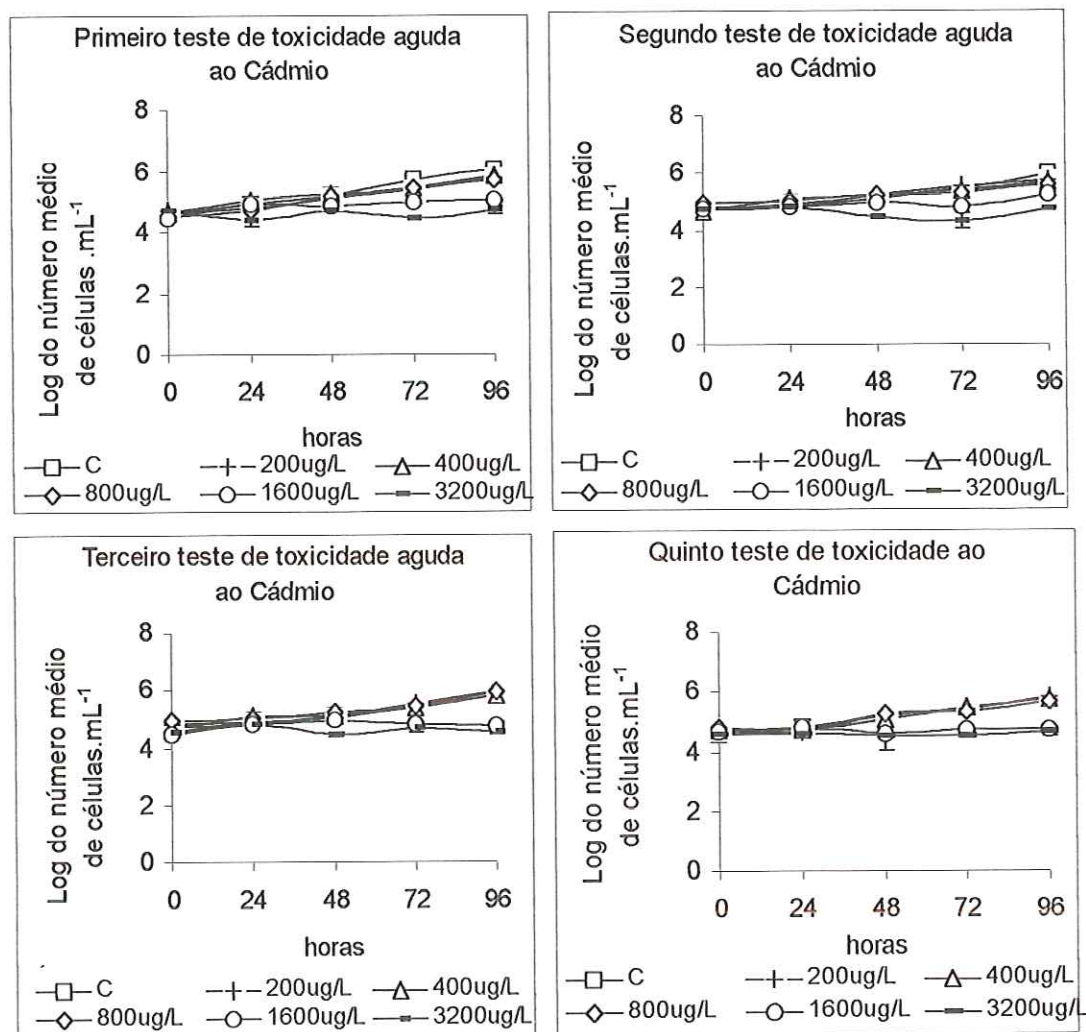


Figura 2.11 — Curvas de crescimento de *Microcystis aeruginosa* em teste de toxicidade aguda ao cádmio. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

De modo geral, foi observada uma redução da taxa de crescimento de *M. aeruginosa* com o aumento da concentração do metal. Em todos os testes realizados, concentrações de 1600 e 3200 µg/L de cádmio ocasionaram redução da taxa de crescimento algal estatisticamente significativa em relação ao obtido no controle (Figura 2.12).

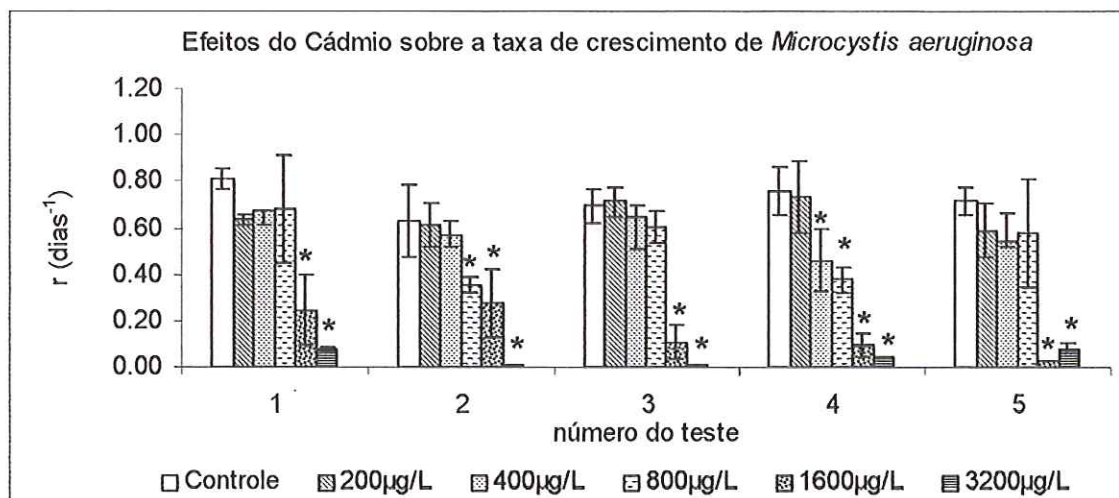


Figura 2.12 — Taxas de crescimento celular de *Microcystis aeruginosa* no final de testes de toxicidade aguda (após 96 horas de exposição) ao metal cádmio. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

Os resultados dos testes de toxicidade aguda ao cromo estão apresentados na Tabela 2.7, na Figura 2.13 e no Anexo A. A faixa de sensibilidade de *Microcystis aeruginosa* ao cromo foi de 187,63 a 587,70µg/L, com valor médio de 387,66µg/L. Conforme verificado para os resultados obtidos nos testes com o cádmio, nenhum valor da CE(I)50;96h esteve fora dessa faixa sensibilidade estabelecida. Comparando-se os valores das faixas de sensibilidade obtidas para ambos os metais, verificou-se que *Microcystis aeruginosa* foi mais sensível ao cromo do que ao cádmio.

Tabela 2.7 – Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 96h) de cromo (dicromato de potássio) em µg/L para *Microcystis aeruginosa*.

Número do teste	CE(I)50; 96h (µg/L)	Intervalo de confiança
1	410,79	361,40-466,92
2	350,56	324,00-379,30
3	358,52	305,71-420,46
4	543,99	492,84-600,45
5	274,46	223,08-274,50

CE(I)50; 96h (µg/L) média: 387,66

Faixa de sensibilidade: 187,63-587,70

Desvio-padrão (DP): 100

Coefficiente de variação (CV): 25,80%

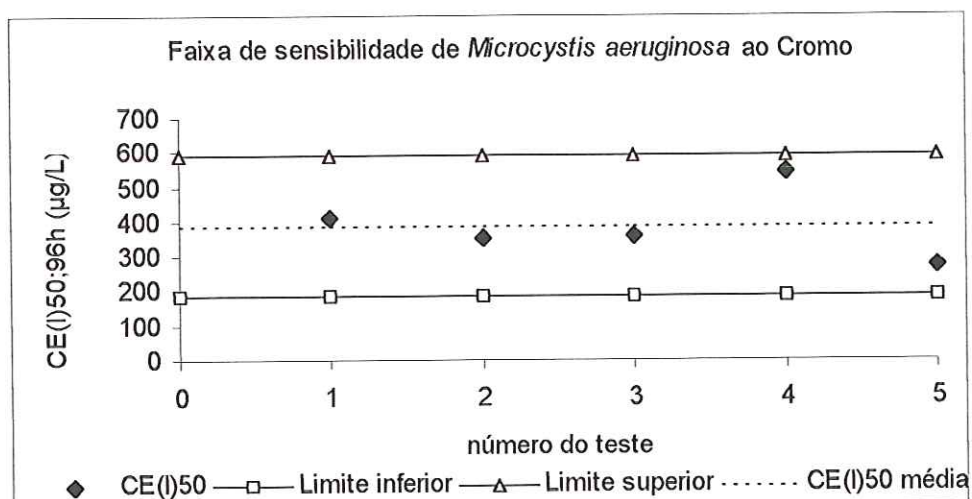


Figura 2.13 — Faixa de sensibilidade de *Microcystis aeruginosa* ao cromo.

Um decréscimo na densidade celular e na taxa de crescimento de *Microcystis aeruginosa* foi observado com o aumento da concentração do metal. Para a maioria dos resultados obtidos em relação à densidade celular média, o valor da CENO foi de 200µg/L, da CEO, de 400µg/L e do VC, de 300µg/L (Tabela 2.8 e Anexo A).

Tabela 2.8 – Efeitos do cromo sobre a densidade celular média (10^4 céls/mL) e sobre a taxa de crescimento (r) de *Microcystis aeruginosa*, após 96 horas de exposição ao metal.

	1 ^o Teste				2 ^o Teste			
	Concentrações (µg/L)	10^4 céls/mL	% redução	r	Concentrações (µg/L)	10^4 céls/mL	% redução	r
1 ^o Teste	Controle	95,25	-	0,75	Controle	71,41	-	0,72
	100,00	75,12	21,02	0,80	100,00	62,67	12,25	0,66
	200,00	76,50	19,58	0,78	200,00	70,00	1,05	0,66
	400,00	52,12*	45,20	0,85	400,00	25,00*	64,99	0,50
	800,00	13,62*	85,68	0,60	800,00	6,17*	96,62	0,13*
	1600,00	2,37*	98,42	0,10*	1600,00	0,50*	99,88	0,03*
3 ^o Teste	Controle	53,42	-	0,66	Controle	61,08	-	0,70
	100,00	43,08	19,34	0,59	100,00	59,67	2,32	0,62
	200,00	41,50	22,31	0,58	200,00	40,92	33,02	0,53
	400,00	18,25*	65,83	0,43*	400,00	14,17*	76,81	0,31*
	800,00	15,92*	70,20	0,42*	800,00	4,33*	92,91	0,15*
	1600,00	4,00*	92,51	0,16*	1600,00	0,67*	99,45	0,03*
5 ^o Teste	Controle	110,17	-	0,82				
	100,00	109,33	0,76	0,67				
	200,00	56,58*	48,64	0,62*				
	400,00	25,17*	77,16	0,29*				
	800,00	9,50*	91,38	0,26*				
	1600,00	2,58*	97,66	0,12*				

r (dia^{-1}); *diferença significativa em relação ao controle (Testes de Dunnetts e Bonferroni, $p < 0,05$).

Em relação à curva de crescimento celular de *Microcystis aeruginosa* obtida durante os testes de toxicidade aguda com cromo, conforme apresentado na Figura 2.14, verificou-se que o crescimento no controle foi maior do que nos demais tratamentos. Como anteriormente observado para os resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda com cádmio, a fase lag foi mais duradoura na mais alta concentração de cromo (1600 μ g/L).

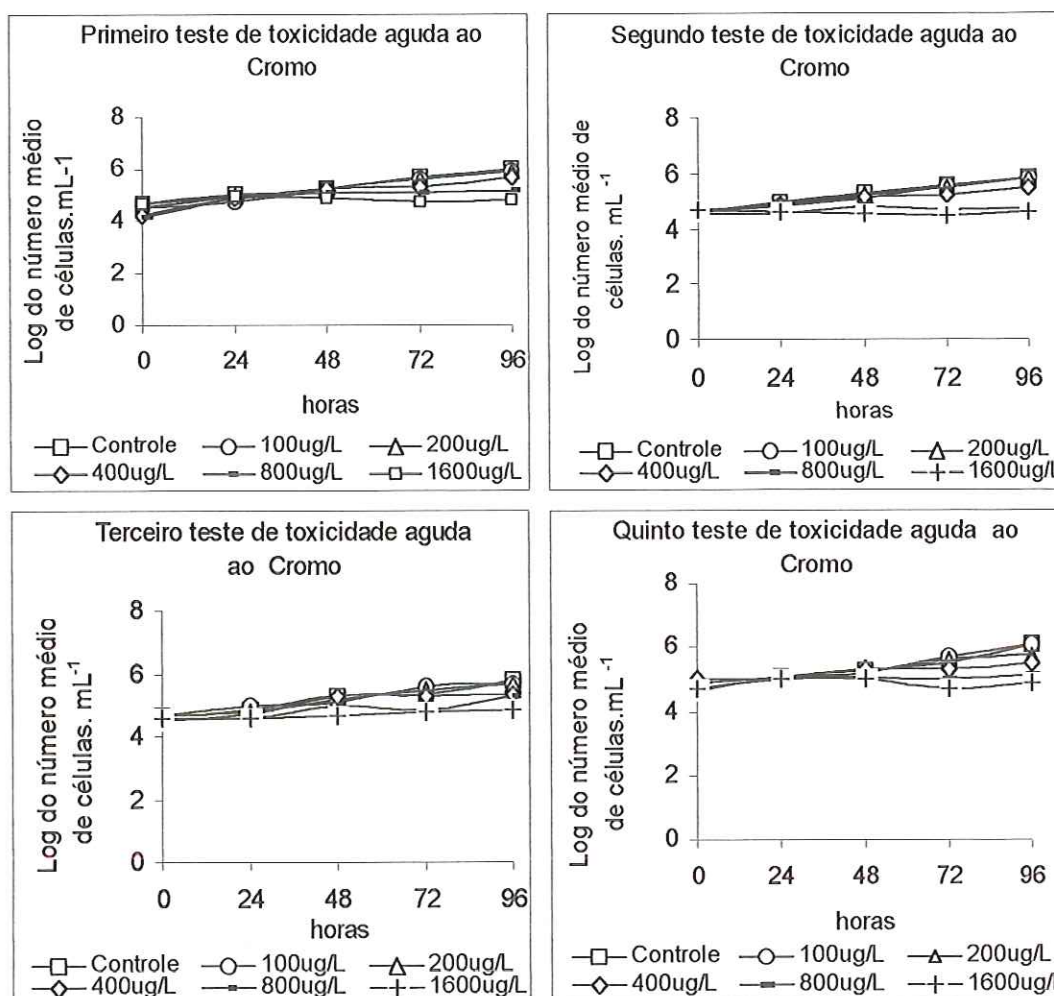


Figura 2.14 – Curvas de crescimento de *Microcystis aeruginosa* durante teste de toxicidade aguda ao cromo. Barras de erro correspondem ao desvio padrão

Em relação à taxa de crescimento de *Microcystis aeruginosa* quando exposta a diferentes concentrações de cromo em testes de toxicidade aguda, houve redução significativa do valor da taxa de crescimento nas concentrações mais elevadas do metal (Figura 2.15).

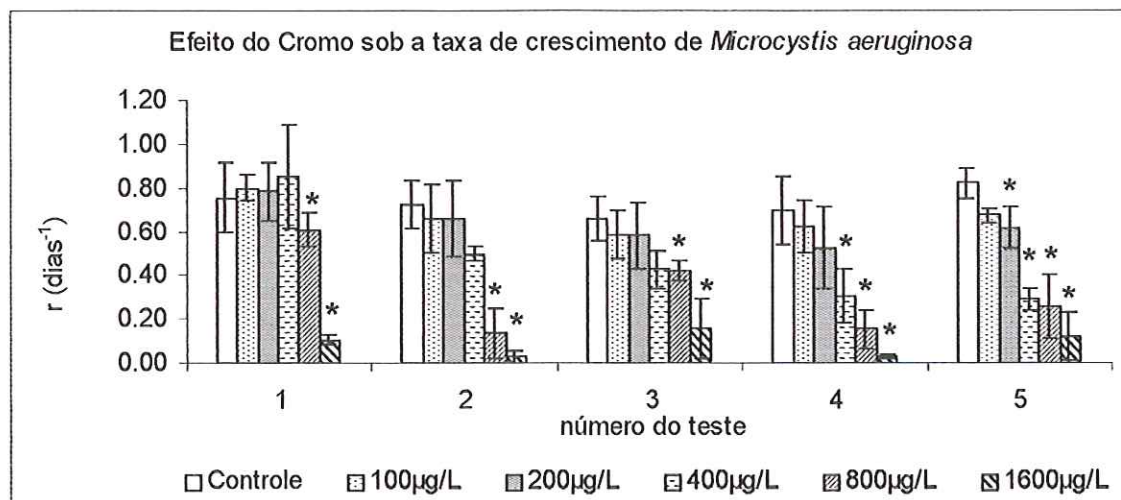


Figura 2.15 — Taxas de crescimento celular de *Microcystis aeruginosa* no final de testes de toxicidade aguda (após 96 horas de exposição) ao metal cromo. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

2.4.3 Determinação do peso seco, clorofila-a, biovolume e carbono orgânico total das algas em testes de toxicidade aguda com os metais cádmio e cromo

Nas Figuras 2.16 e 2.17 e no Anexo A estão representados os efeitos dos metais cádmio e cromo sobre o peso seco da alga *Selenastrum capricornutum*, após 96 horas de exposição aos metais. Uma diminuição significativa do peso seco da alga foi registrada com o aumento da concentração de cádmio (Figura 2.16). Em relação ao cromo, uma redução significativa do valor do peso seco da alga foi verificada apenas nas concentrações de 800 e 1600 $\mu\text{g/L}$.

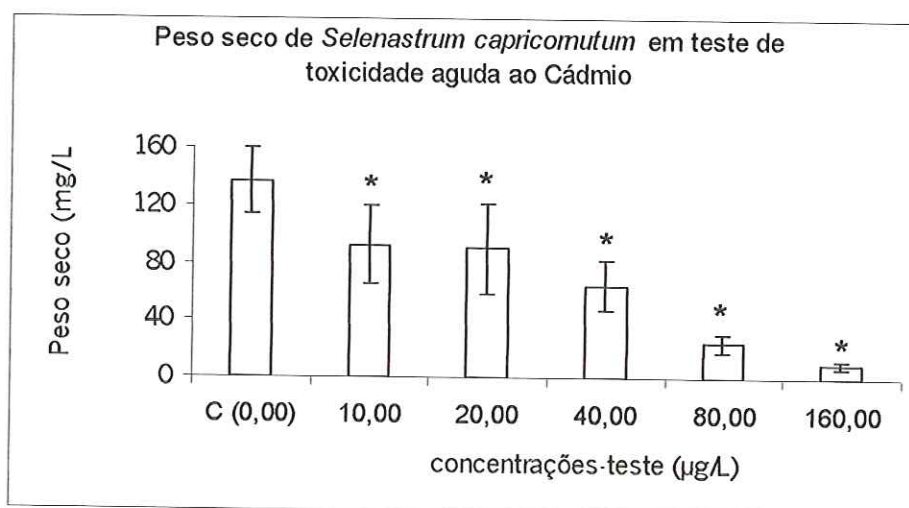


Figura 2.16 — Variação do peso seco de *Selenastrum capricornutum* quando exposta durante 96 horas a diferentes concentrações de cádmio. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Valores médios de 4 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

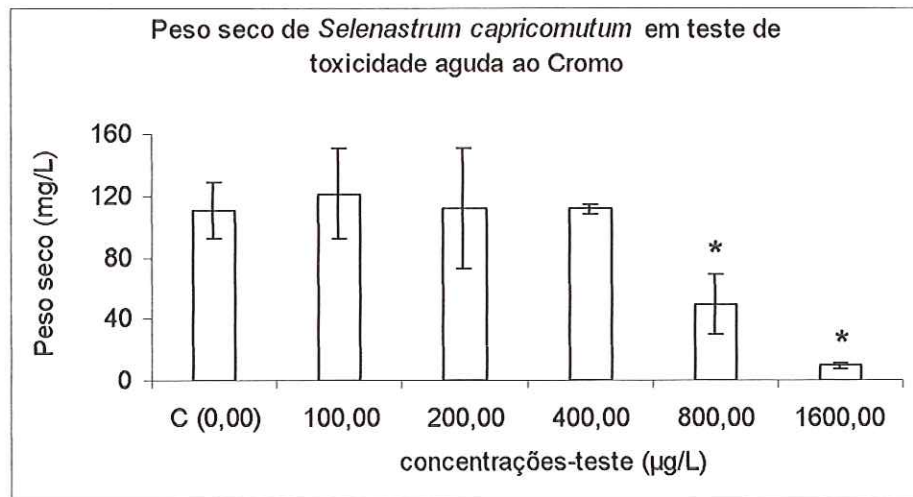


Figura 2.17 — Variação do peso seco de *Selenastrum capricornutum* quando exposta durante 96 horas a diferentes concentrações de cromo. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Valores médios de 4 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

Em relação aos resultados obtidos com *M. aeruginosa*, redução significativa do peso seco foi registrada nas concentrações mais elevadas dos metais (1600 e 3200µg/L de cádmio e 800 e 1600µg/L de cromo) (Figuras 2.18 e 2.19).

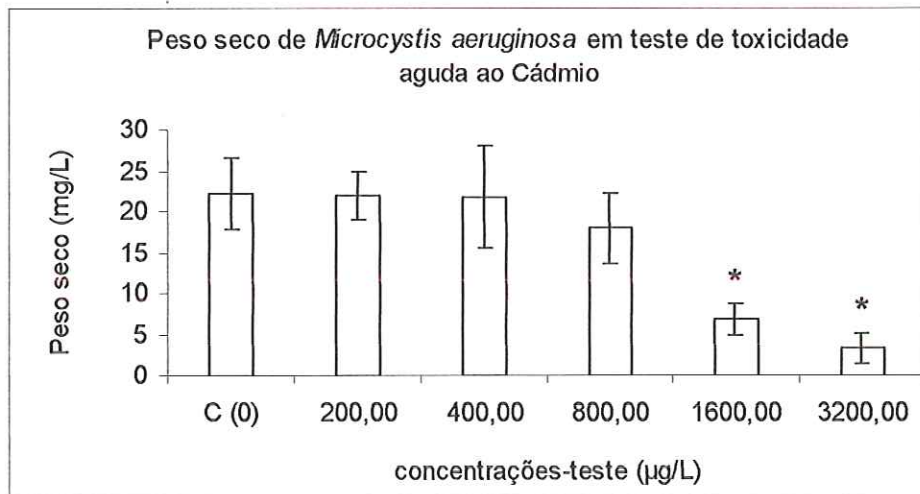


Figura 2.18 — Variação do peso seco de *Microcystis aeruginosa* quando exposta durante 96 horas a diferentes concentrações de cádmio. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Valores médios de 5 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

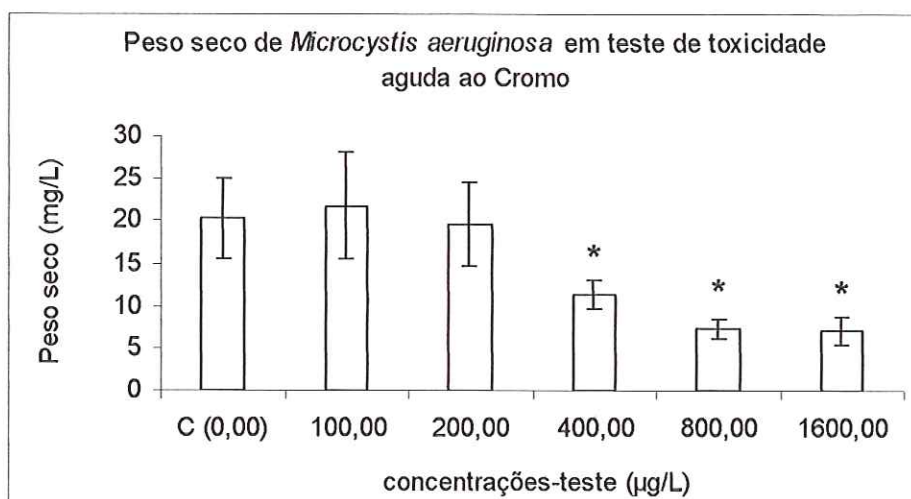


Figura 2.19 — Variação do peso seco de *Microcystis aeruginosa* quando exposta durante 96 horas a diferentes concentrações de cromo. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts; $p < 0,05$). Valores médios de 5 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

Ambos os metais ocasionaram redução da concentração de clorofila produzida pela alga *Selenastrum capricornutum*, sendo que essa redução foi proporcional ao aumento da concentração dos metais (Tabela 2.9).

Tabela 2.9 - Valores médios da concentração de clorofila obtidos nos final dos testes de toxicidade com *Selenastrum capricornutum* após 96 horas de exposição aos metais.

Concentração de cádmio (µg/L)	Concentração de clorofila (µg/L)	Concentração de cromo (µg/L)	Concentração de clorofila (µg/L)
Controle	789,57	Controle	746,86
10	667,74	100	714,06
20	539,40	200	505,12
40	380,37*	400	427,81
80	78,12*	800	239,50*
160	8,37*	1600	19,79*

*Diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$).

Alterações no biovolume das células algais foram observadas nas concentrações mais altas dos metais, ao longo dos experimentos (Figuras 2.20). O biovolume das células algais, nas concentrações de 80 e 160µg/L de cádmio e 1600µg/L de cromo, foi superior àquele verificado nas condições controle.

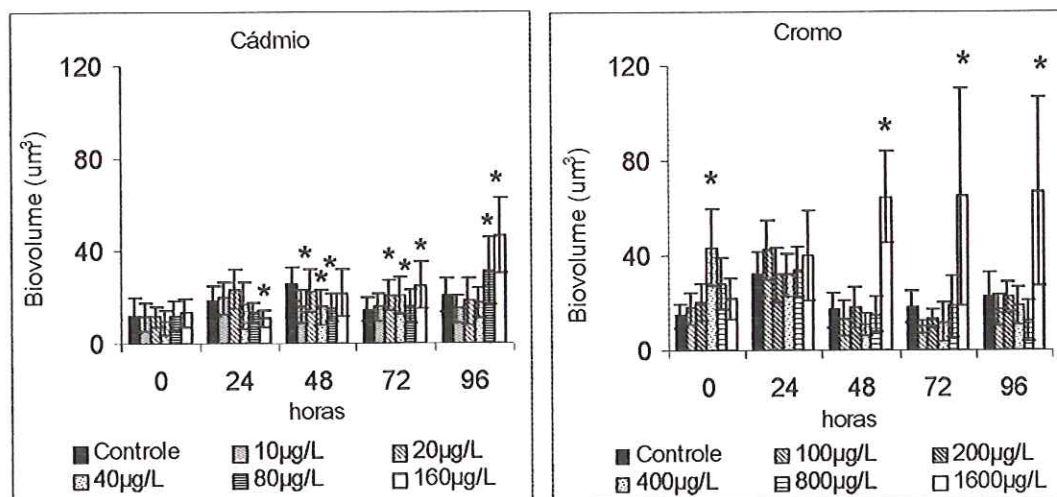


Figura 2.20 — Biovolume médio de *Selenastrum capricornutum* em testes de toxicidade aguda aos metais cádmio e cromo. As barra de erro correspondem ao desvio-padrão. *Diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$).

Em relação ao conteúdo de carbono orgânico total, maiores valores foram observados nas concentrações mais elevadas dos metais (Figura 2.21). Os valores obtidos nas concentrações de 80 e 160µg/L de cádmio (4,56 e 6,86pg/célula, respectivamente) foram maiores do que o observado no controle. O mesmo resultado foi verificado para a concentração de 1600µg/L de cromo, sendo os valores obtidos nas demais concentrações próximos ao verificado no controle.

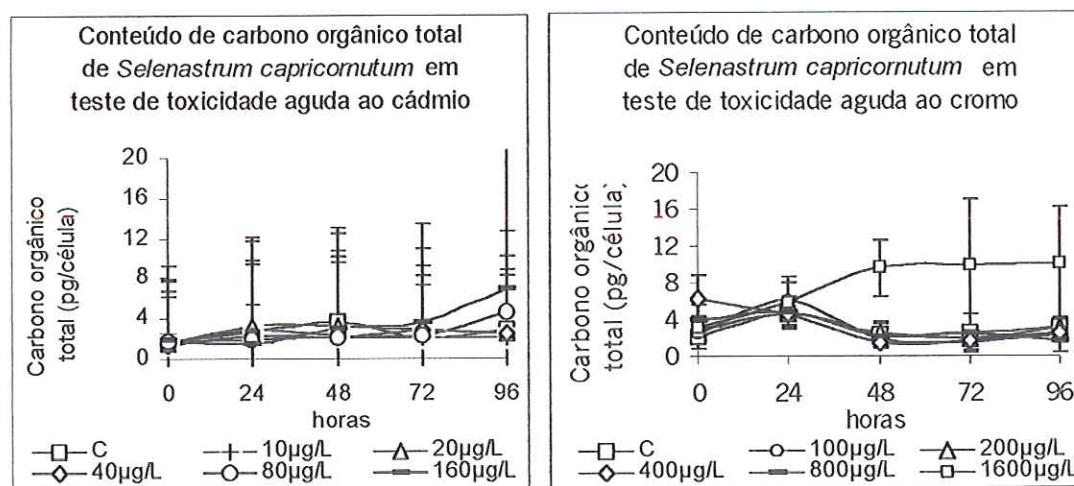


Figura 2.21 — Conteúdo de carbono orgânico total de *Selenastrum capricornutum* em teste de toxicidade aguda com os metais cádmio e cromo. As barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

2.4.4 Análise de metais

Na Tabela 2.10 estão apresentados os valores das concentrações nominais e medidas dos metais cádmio e cromo das soluções-teste empregadas nos testes de toxicidade aguda com as algas *Selenastrum capricornutum* e *Microcystis aeruginosa*. Concentrações medidas das soluções-teste apresentaram diferença de cerca de 10% em relação à concentração nominal.

Tabela 2.10 – Concentrações nominais e medidas das soluções-teste de cádmio e cromo utilizadas nos testes de toxicidade aguda.

Concentrações de cádmio			Concentrações de cromo		
Teste de toxicidade aguda com <i>Selenastrum capricornutum</i>	Concentração	Concentração	Teste de toxicidade aguda com <i>Selenastrum capricornutum</i>	Concentração	Concentração
	Nominal ($\mu\text{g/L}$)	medida ($\mu\text{g/L}$)		nominal ($\mu\text{g/L}$)	medida ($\mu\text{g/L}$)
	Controle	0,59		Controle	0,90
	10	13,99		100	94,40
	20	25,27		200	205,90
	40	41,06		400	380,80
	80	77,00		800	774,00
	160	142,00		1600	1421,00
Teste de toxicidade aguda com <i>Microcystis aeruginosa</i>	Controle	ND	Teste de toxicidade aguda com <i>Microcystis aeruginosa</i>	Controle	0,49
	200	223,76		100	96,90
	400	314,27		200	186,60
	800	811,01		400	384,20
	1600	1577,40		800	865,50
	3200	2880,4		1600	1700,00

ND = não detectado. Cd (Limite de Detecção = $0,05\mu\text{g/L}$; Limite de Quantificação = $0,16\mu\text{g/L}$) e Cr (Limite de Detecção = $0,8\mu\text{g/L}$; Limite de Quantificação = $2,71\mu\text{g/L}$) (cálculos baseados em MILLER & MILLER, 1994).

Nas Figuras 2.22 e 2.23 e no Anexo A estão apresentados os valores dos metais cádmio e cromo nas frações totais, dissolvidas e particuladas presentes nas amostras coletadas no final dos testes de toxicidade aguda com *Selenastrum capricornutum*. A

concentração de metal medida nas células algais foi considerada como sendo a concentração total existente nas células (presente nas porções intracelular e extracelular).

Verificou-se que a maior parte do cádmio encontra-se na fração particulada, ou seja, retido nas células algais. Com o aumento da concentração do metal, a alga também aumentou a capacidade de retê-lo (Figura 2.22). Os resultados obtidos para o cromo evidenciam outro padrão, com a maior concentração do metal na fração dissolvida e a menor na particulada (Figura 2.23).

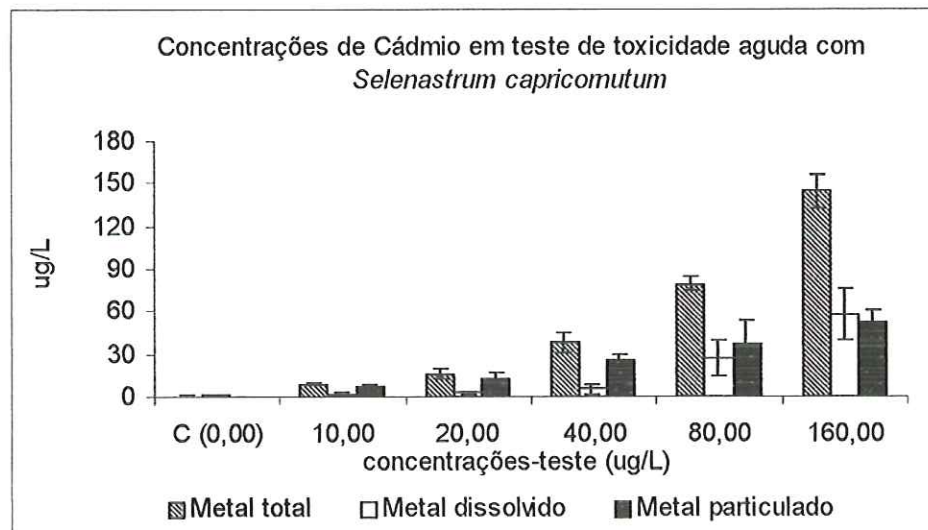


Figura 2.22 — Concentrações médias de cádmio nas frações total, dissolvida e particulada em testes de toxicidade aguda com *Selenastrum capricornutum*. Média de 5 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

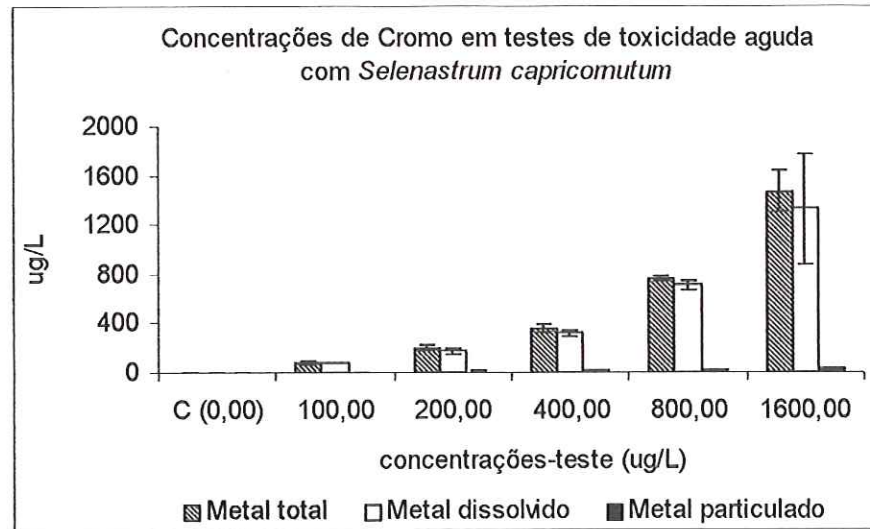


Figura 2.23 — Concentrações médias de cromo nas frações total, dissolvida e particulada em testes de toxicidade aguda com *Selenastrum capricornutum*. Média de 5 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

Em relação aos resultados obtidos nos testes de toxicidade realizados com *Microcystis aeruginosa*, conforme demonstrado nas Figuras 2.24 e 2.25 e no anexo A, observou-se que ambos os metais se encontraram predominantemente na forma dissolvida, no final dos testes de toxicidade.

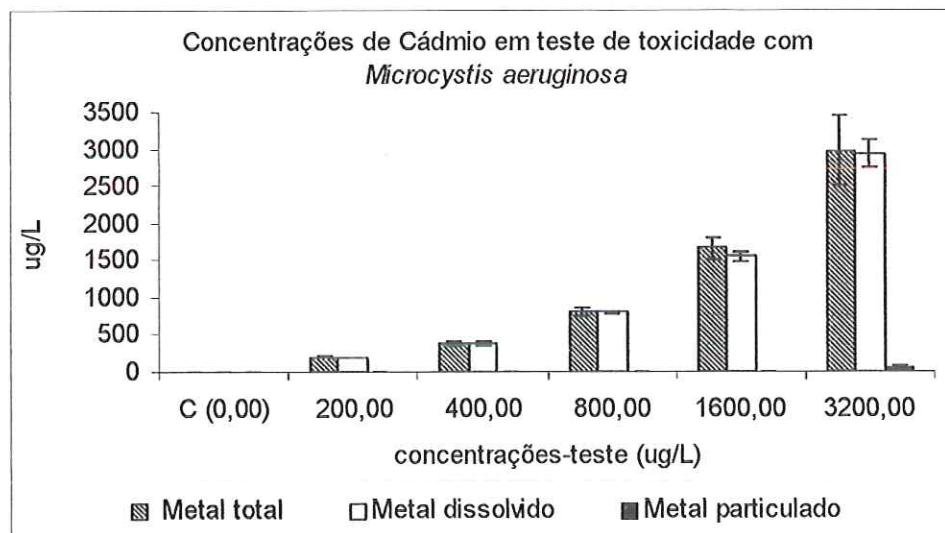


Figura 2.24 — Concentrações médias de cádmio nas frações total, dissolvida e particulada em testes de toxicidade aguda com *Microcystis aeruginosa*. Média de 5 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

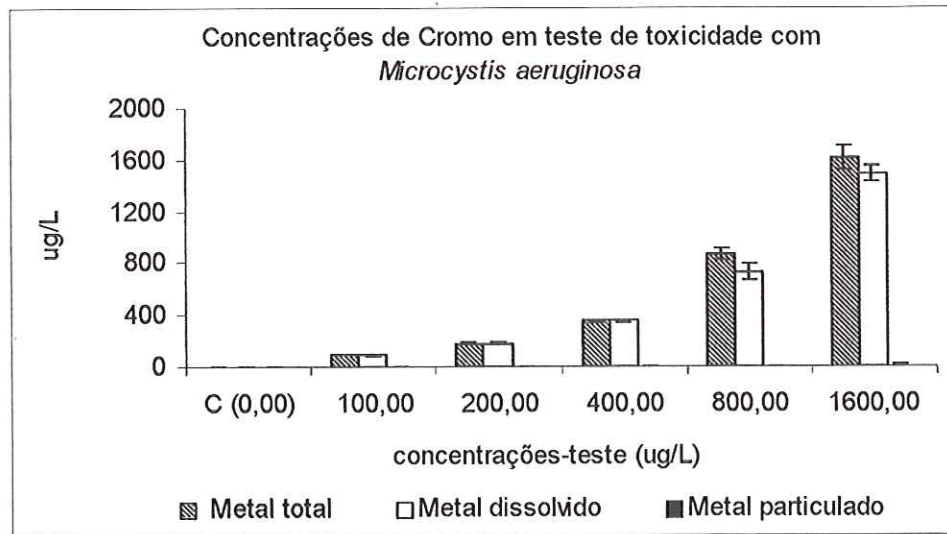


Figura 2.25 — Concentrações médias de cromo nas frações total, dissolvida e particulada em testes de toxicidade aguda com *Microcystis aeruginosa*. Média de 5 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

2.5 DISCUSSÃO

Entre os vários metais, tanto o cádmio como o cromo estão presentes nos vários ecossistemas aquáticos impactados por atividades humanas e, quando presentes em concentrações que excedam as concentrações limites, são tóxicos aos organismos aquáticos. Organismos fitoplanctônicos estão entre os primeiros acumuladores de metal devido a seus mecanismos próprios de ligação e transporte desses elementos e também a sua biomassa comparativamente alta (PAYNE & PRICE, 1999).

No presente estudo, os efeitos tóxicos dos metais cádmio e cromo em dois grupos de algas, a clorofíceia *Selenastrum capricornutum* e a cianofíceia *Microcystis aeruginosa*, foram avaliados. Uma diferença de sensibilidade aos metais entre as espécies estudadas foi verificada, sendo *S. capricornutum* mais sensível ao cádmio e mais resistente ao cromo quando comparada com *M. aeruginosa*, enquanto a cianofíceia foi mais sensível ao cromo do que ao cádmio. A sensibilidade entre as algas apenas diferiu para o cádmio, sendo a clorofíceia a mais sensível (Figura 2.26).

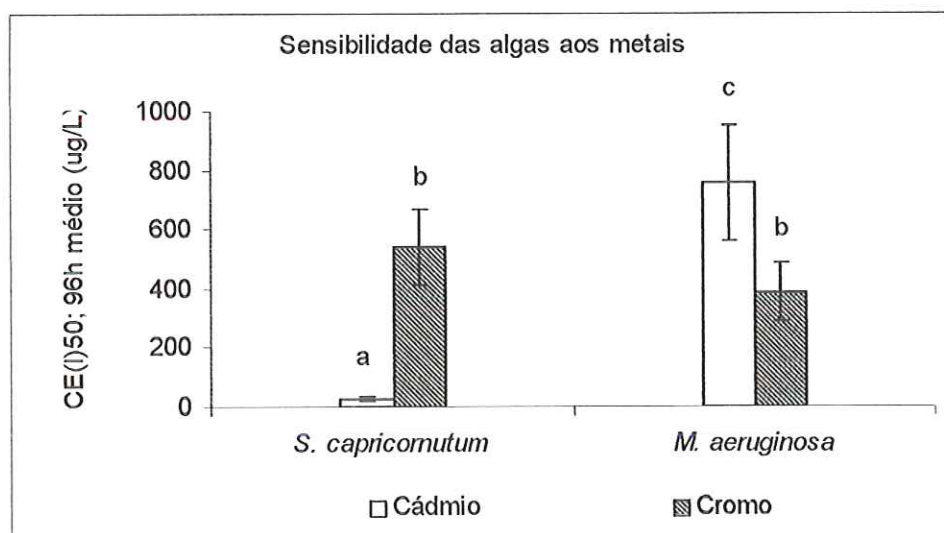


Figura 2.26 - Valores médios de CE(I)50; 96h para algas em estudo. Médias com as letras iguais não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

No presente estudo, observou-se que, com o aumento da concentração de cádmio, houve redução da densidade celular e do peso seco de *S. capricornutum* e *M. aeruginosa*, bem como da clorofila-a, por *S. capricornutum*. Quando em contato com uma concentração de metal não tolerada, o crescimento algal é inibido e as células perdem suas funções. Caso as células consigam lidar com o metal, este pode ser acumulado e transferido a níveis tróficos superiores. Segundo CHAO & CHEN (2000), a divisão binária nas células de *S. capricornutum* é significativamente inibida pela toxicidade do cádmio.

Diferentes valores de toxicidade do cádmio aos grupos algais são reportados, dependendo da espécie utilizada. BRAND *et al.* (1986) verificaram que cianofíceas foram as mais sensíveis ao cádmio e ao cobre, diatomáceas foram as menos sensíveis e dinoflagelados foram considerados intermediários em relação a sua sensibilidade. WAHG & WOOD (1984) encontraram outro padrão de resposta, sendo as clorofíceas mais tolerantes do que as diatomáceas e cianofíceas. Analisando os valores de CE(I)50;96h ao cádmio para algumas espécies algais, como apresentado na Tabela 2.11, verifica-se que *S. capricornutum* foi a espécie mais sensível ao cádmio, como observado no presente estudo.

Tabela 2.11 - Valores de CE(I)50; 96h ao cádmio para algumas espécies algais.

Espécie-teste	CE(I)50;96h ($\mu\text{g/L}$)	Autor
Chlorophyceae		
<i>Selenastrum capricornutum</i>	24,29	Presente estudo
<i>Selenastrum capricornutum</i>	56	TURBAK <i>et al.</i> (1986)
<i>Selenastrum capricornutum</i>	70	THOMPSON & COUTURE (1993)
<i>Selenastrum capricornutum</i>	50	CHAO & CHEN (2000)
<i>Chlorella vulgaris</i>	46	RACHALIN & GROSSO (1993)
<i>Chlorella vulgaris</i>	105	RACHLIN <i>et al.</i> (1982)
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	292	MAGDALENO <i>et al.</i> (1997)
Cyanophyceae		
<i>Microcystis aeruginosa</i>	754,02	Presente estudo
<i>Anabaena flos-aquae</i>	410	HENG <i>et al.</i> (2004)
<i>Anabaena flos-aquae</i>	610	SUROSZ & PALINKA (2004)
Prasinophyceae		
<i>Tetraselmis gracilaris</i>	1250	SCHINKE (1999)
Bacillariophyceae		
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	22390	TORRES <i>et al.</i> (1997)
<i>Navicula incerta</i>	3010	SEGOT <i>et al.</i> (1983)
<i>Tetraselemis gracilis</i>	5000	OKAMOTO <i>et al.</i> (1996)

Em relação aos maiores valores de CE(I)50;96h ao cádmio encontrados na literatura para as diatomáceas, TORRES *et al.* (1997) comentam que a tolerância da diatomácea *Phaedactylum tricorutum* ao metal não é apenas devido a sua capacidade de sintetizar metalotionina classe III, mas também ao maior tamanho da cadeia de polipeptídeos presentes na molécula de metalotionina, que promoveriam maiores sítios de ligações ao metal.

De acordo com PISTOCCHI *et al.* (1997), exposições ao cádmio provocam baixa taxa de crescimento algal devido a várias razões: alteração na permeabilidade da membrana, com conseqüente diminuição da retenção de nutrientes, interferência na atividade enzimática e inibição de síntese protéica. Outros efeitos tóxicos deste metal sobre as espécies do fitoplâncton têm sido descritos, como depressão da fotossíntese, alteração no volume celular, anomalias na ultra-estrutura das mitocôndrias e aumento na atividade da enzima superóxido dismutase, envolvida no mecanismos celular de defesa antioxidante (DAO-PUISEUX, 1989; LEBORANS & NOVILLO, 1986).

Diferenças na sensibilidade aos metais entre clorofíceas e cianofíceas, como observado neste trabalho, já foram reportadas por outros autores. GUANZON *et al.* (1994), estudando os efeitos inibitórios dos metais cádmio, cobre e zinco no crescimento de três microalgas de água doce, também verificaram que *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae) exibiu maior tolerância e *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae) foi a espécie mais sensível aos metais. De acordo com LAUBE *et al.* (1980), as cianofíceas crescem até quando apresentam quantidades significativas de metais ligados as suas células, pois são capazes de controlar a quantidade de metais que permanecem ligados. Respostas diferenciadas de algas aos efeitos tóxicos dos metais são esperadas, pois há uma variação em relação ao tipo e à quantidade de complexos ligantes aos íons metálicos produzidos pelas espécies algais.

De acordo com HENG *et al.* (2004), a ação tóxica do cádmio sobre cianofíceas, como observado em experimentos com *Anabaena flos-aquae*, foi devido à inibição da retenção de nitrato. Segundo o autor, o maior seqüestro de cádmio pela cianofíceas acarretou aumento da toxicidade do metal, sendo que o mecanismo de retenção do metal envolveu ligação tanto na superfície como no interior da parede celular.

Como observado para os resultados obtidos com o cádmio, valores da CE(I)50;96h ao cromo também variam entre as espécies algais (Tabela 2.12).

Tabela 2.12 - Valores de CE(I)50; 96h ao cromo para algumas espécies algais.

Espécie-teste	CE(I)50;96h (µg/L)	Autor
Chlorophyceae		
<i>Selenastrum capricornutum</i>	542,71	Presente estudo
<i>Selenastrum capricornutum</i>	238	TURBAK <i>et al.</i> (1986)
<i>Scenedesmus</i> sp.	500	STAUB (1973)
<i>Scenedesmus acutus</i>	1000	GORBI <i>et al.</i> (2001)
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	1050	MAGDALENO <i>et al.</i> (2001)
Cyanophyceae		
<i>Microcystis aeruginosa</i>	387,66	Presente estudo
<i>Synechococcus leopoliensis</i>	3307,50	ROJICKOVÁ & MARSALEK (1999)
<i>Nostoc</i> sp.	50.000	THOMPSON <i>et al.</i> (2002)
<i>Synechococcus</i> sp	100.000	THOMPSON <i>et al.</i> (op. cit)
Bacillariophyceae		
<i>Navicula seminuum</i>	424	ACADEMY OF SCIENCES (1960)

Com o aumento de concentrações de cromo, como observado nos resultados obtidos para o cádmio, houve redução da densidade celular e do peso seco das algas em estudo. CORRADI *et al.* (1993) verificaram um aumento do peso seco da clorofícea *Scenedesmus acutus* quando exposta ao cromo e isto foi relacionado à acumulação de material de reserva (carboidrato). CORRADI *et al.* (1998) verificaram que a capacidade de *Scenedesmus acutus* em detoxificar o cromo estava relacionada à maior produção de carboidratos e proteínas em resposta à exposição ao metal. A liberação de exudatos com grande quantidade de carboidrato pode neutralizar o efeito do cromo, desses que reduzem o Cr^{+6} para Cr^{+3} , que não podem penetrar nas células algais. Além disso, a presença de matéria orgânica dissolvida ao redor das células impede a difusão do metal para o interior celular e, conseqüentemente, a expressão de seus efeitos tóxicos (GORBI *et al.*, 2002).

No presente estudo, na mais alta concentração de cádmio e de cromo verificou-se que a fase lag foi mais prolongada para *Selenastrum capricornutum* e *M. aeruginosa*. Segundo DEVILLA (1999), o aumento na fase lag observado em células expostas a um metal pode ser devido à ação tóxica do elemento químico ou à habilidade do organismo em metabolizar ou transformar biologicamente esse elemento. Isso pode significar um período de adaptação bioquímica ou de seleção de células tolerantes. Análises dos efeitos dos metais cádmio e cromo durante o crescimento populacional de *S. capricornutum* revelaram que concentrações abaixo daquela considerada tóxica aos

organismos também provocaram atraso na fase exponencial de crescimento populacional da referida espécie.

Aumentos no biovolume e no conteúdo de carbono orgânico nas células de *S. capricornutum*, ante as exposições aos metais cádmio e cromo, também foram verificados. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por NISHIKAWA *et al.* (2003), que verificaram alterações no tamanho das células da clorofícea *Chlorella acidophila* com aumento dos vacúolos e dos cloroplastos e redução das mitocôndrias, após exposições ao cádmio. Segundo o autor, o aumento dos vacúolos poderia contribuir para compartimentalizar o metal e auxiliar no processo de detoxificação. A formação de espaços vazios nas células da cianofícea *Anabaena flos-aquae*, após exposições aos metais cádmio e cobre, foi associada à deterioração dos tilacóides nos cloroplastos e a uma conseqüente diminuição da fotossíntese (SUROSZ & PALINSKA, 2004).

No presente estudo, não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de CE(I)50; 96h do cromo obtidos para *S. capricornutum* e *M. aeruginosa*. Resultados contrários foram apresentados por ROJICKOVÁ-PADRTOVÁ & MARSALEK (1999), que verificaram que a espécie *S. capricornutum* foi a mais sensível ao metal cromo, enquanto a cianofícea *Synechococcus leopoliensis* foi uma das algas mais resistentes. SING & RAY (1991) propuseram uma ordem de sensibilidade do fitoplâncton ao cromo, sendo as clorofíceas as mais sensíveis, seguidas pelas diatomáceas e cianofíceas. De acordo com os autores, a tolerância das formas filamentosas (*Microspora* sp. e *Oscillatoria* sp.) sobre as formas unicelulares parece ser específica das espécies.

Outro aspecto importante a ser discutido é a relação existente entre a toxicidade e a retenção de metais pelas células algais. A maior sensibilidade do cádmio verificada para *Selenastrum capricornutum*, em comparação a *M. aeruginosa*, pode estar relacionada à maior retenção do metal, presente no meio, em suas células. O metal, possivelmente, alterou as funções metabólicas na membrana celular e atingiu áreas vitais (núcleo e cloroplasto) (WEISS-MAGASIC *et al.*, 1997, CAMPBELL *et al.*, 2002). Houve um aumento da inibição do crescimento da clorofícea mediante o aumento da retenção de cádmio por suas células, quando comparada à obtida para a cianofícea. O cádmio apresentou-se em uma porcentagem maior do que 50% na fração particulada, nos tratamentos entre 10 e 40µg/L de cádmio, no final dos testes com a clorofícea.(Figura 2.27).

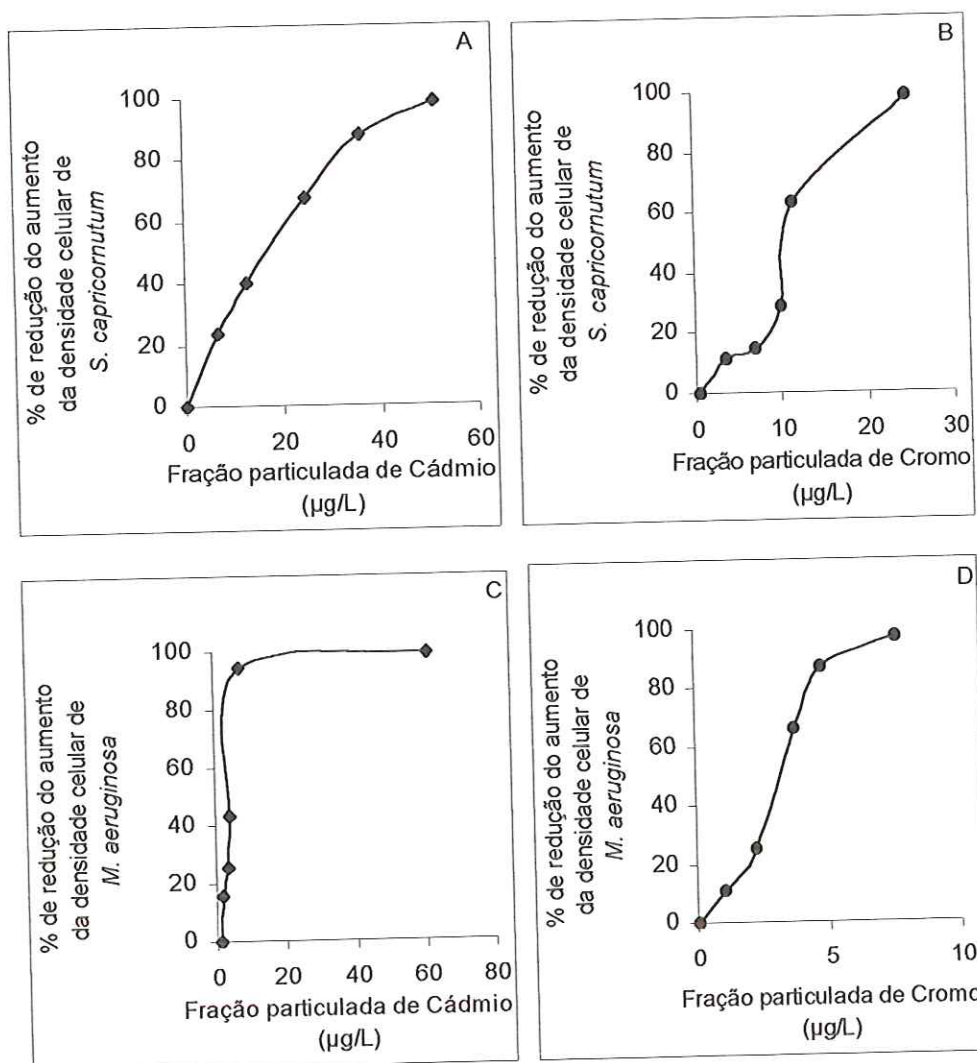


Figura 2.27 – Relação entre a porcentagem de redução da densidade celular algal e a fração particulada de metais. A (*Selenastrum capricornutum* e cádmio), B (*Selenastrum capricornutum* e cromo), C (*Microcystis aeruginosa* e cádmio) e D (*Microcystis aeruginosa* e cromo).

Tal associação também foi estabelecida por YAN & PAN (2002) ao estudarem a toxicidade do cobre para três espécies de microalgas (*Scenedesmus obliquus*, *Chlorella pyrenoides* e *Closterium lunula*). De acordo com os autores, *C. lunula* produz alguns tipos de ligantes ao cobre que o excluem de suas células e, dessa maneira, contribuem para diminuir a acumulação e a toxicidade do metal. Como verificado no presente trabalho, TRAVIESO *et al.* (1999) também observaram baixa remoção de cromo pelas clorofíceas *Scenedesmus acutus* e *Chlorella vulgaris* quando comparado ao cádmio, sendo que tais espécies foram menos sensíveis ao cromo do que ao cádmio. De acordo com CARR *et al.* (1998), *Chlorella vulgaris* pode ser capaz de remover cerca de 80% de metal cádmio presente em um meio, sendo este metal preferencialmente encontrado

na parede celular e no citosol de suas células. A resistência das algas em relação aos efeitos tóxicos dos metais está em sua habilidade de produzir agentes complexantes, excluir os metais de suas áreas vitais e isolá-los em vacúolos no citoplasma, sendo que a distribuição do metal na célula algal dependerá da fase de retenção (passiva ou ativa), do metal testado e da espécie de alga (WEISS-MAGASIC *et al.*, 1997).

Dados reportados na literatura também apontam baixa retenção e toxicidade de cádmio para as cianofíceas como aqueles apresentados por SUROSZ & PALINSKA (2004) para a espécie *Anabaena flos-aquae*, em que se verificou que o cádmio foi menos tóxico do que o cobre e também o metal menos acumulado por essa alga. De acordo com TIEN *et al.* (2001), a cianofícea *Oscillatoria limnetica* não apresentou alta atividade de ligação para o cádmio devido ao fato de conter grupos funcionais com menor afinidade ao metal.

A baixa retenção de cromo por *S. capricornutum* e *M. aeruginosa* observada neste trabalho foi evidenciada por outros autores. SHEHATA *et al.* (1999), investigando efeitos tóxicos de uma mistura de metais em diferentes grupos de algas (clorofíceas, diatomáceas e cianofíceas), apontaram que o cromo foi o metal menos acumulado por todos os grupos e que as cianofíceas foram consideradas as espécies mais tolerantes. DÖNMEZ *et al.* (1999) demonstraram que a alga *Chlorella vulgaris* possuía maior habilidade de ligação, em suas células, para os metais cobre e níquel em comparação ao cromo e isso foi dependente dos valores de pH. A cianofícea *Anabaena variabilis* foi capaz de reduzir o íon cromato (CrO_4^{-2}) para a forma menos tóxica (Cr^{+3}), sendo esta espécie considerada a menos sensível ao metal, quando comparada com outras de seu grupo (GARNHAM & GREEN, 1995).

De acordo com RADWAY *et al.* (2001), alguns metais são preferencialmente removidos pelos organismos fitoplanctônicos do que outros. Neste sentido, os autores verificaram que o alumínio foi retido em maior porcentagem pela cianofícea *Mastigocladus laminosus*, o cádmio, pela clorofícea *Scenedesmus quadricauda*, o mercúrio e o zinco, pela rodofícea *Cyanidium caldarium* e o cromo foi o metal menos retido por todas as espécies.

No presente estudo, as células de *M. aeruginosa* apresentaram-se na forma unicelular e tal fato pode ter contribuído para a menor porcentagem de metal removida por suas células. Experimentos realizados por SINGH *et al.* (1998) evidenciam um decréscimo no material capsular das culturas laboratoriais de *Microcystis*, resultando na produção de formas unicelulares. A mucilagem ao redor das células consiste de

polissacarídeos com proteínas que apresentam grandes quantidades de grupos funcionais que se ligam a metais, podendo reduzir a sua toxicidade. Quando presentes na forma unicelular, as células não apresentaram envelope e mucilagem, o que diminuiria a área superficial para a retenção de metais.

Várias microalgas liberam produtos orgânicos que contêm agentes ligantes aos metais e isto é um fator relevante nos estudos de toxicidade de metais que enfocam organismos fitoplanctônicos. Neste sentido, LOMBARDI & VIEIRA (2000), investigando a capacidade de complexação de metais por exudatos produzidos por cianofíceas e clorofíceas, observaram que ambos os grupos produzem tais compostos. Segundo os autores, ligantes com alto poder de complexação ao cobre foram observados apenas nos excretados produzidos pelas cianofíceas, principalmente na fase estacionária de crescimento.

Além disso, neste trabalho, a fração de metal considerada como dissolvida foi aquela proveniente de amostras filtradas (filtros GF/F de 0,45µm de diâmetro) no final dos testes de toxicidade com as algas. Partículas ou substâncias retidas por um filtro de 0,45µm são denominadas sólidos ou matéria particulada, enquanto as substâncias que passam através desse filtro são ditas dissolvidas e incluem os colóides (THURMAN, 1985). As substâncias orgânicas que formam as partículas coloidais em sistemas aquáticos podem ser polímeros de substâncias húmicas ou polissacarídeos. Os carboidratos, principalmente na forma de polissacarídeos, estão entre os produtos orgânicos excretados pelos organismos fitoplanctônicos (PAULSEN *et al.*, 1998) que podem atuar como agentes complexantes de metais. A maior fração dissolvida dos metais cádmio e cromo, observada no final dos testes de toxicidade com *M. aeruginosa*, poderia estar associada a estes compostos e atuar tanto como um veículo de contaminação quanto como um retentor da toxicidade dos metais para os demais organismos da cadeia trófica (NOGUEIRA, 2002), bem como a fração de cádmio retida pelas células de *S. capricornutum*.

Há grande variedade de material biológico de composições estruturais distintas (fungos, bactérias, algas) sendo utilizada na biossorção de metais pesados em sistemas de tratamentos de efluentes (PENA-CASTRO *et al.*, 2004). Com base nos dados obtidos no presente trabalho com os metais cádmio e cromo, observou-se que a clorofícea *Selenastrum capricornutum* mostrou-se eficiente em remover cádmio, enquanto a cianofícea *Microcystis aeruginosa* não foi eficiente na retenção de ambos os metais.

Segundo NALEWAJKO & OLAVESON (1998), na realização de experimentos toxicológicos utilizando organismos laboratoriais é necessário considerar alguns aspectos da química do metal em solução e as interações com as características físicas e químicas do meio (reagentes, pH e dureza) e com as condições de cultivo (intensidade luminosa, fotoperíodo, temperatura). Esses aspectos podem modificar ou mascarar a resposta dos organismos expostos (DEVILLA, 1999), como é o caso da utilização de agentes quelantes. O uso do quelante artificial EDTA (ácido etilenodiaminotetracético sal dissódico) na composição do meio de cultivo parece ter dois mecanismos distintos operando simultaneamente, sendo um deles o de aumentar a disponibilidade do ferro, que tem um papel importante como nutriente para as algas, e o outro de diminuir a toxicidade de vários metais.

No presente estudo, o uso de EDTA no meio de cultivo da cianofícea mostrou-se necessário para o crescimento das células. Somando a concentração de todos os metais presentes no meio de cultivo ASM-1 (Mn, Fe, Co e Cu), teoricamente, todo EDTA estaria ligado a algum metal do meio (VOGEL, 1992) e não teria influência sobre os metais (Cd e Cr) adicionados posteriormente. Em experimentos com metais utilizam-se meios de cultura com concentrações ausentes ou reduzidas de EDTA (STAUER & FLORENCE, 1989; SCHINKE, 1999) de forma a diminuir a complexação do metal em estudo. Segundo alguns autores, a presença de EDTA é útil por simular o que poderia ocorrer em sistemas de tratamento de esgotos que utilizam algas como retentores dos poluentes, em que a grande quantidade de matéria orgânica nos efluentes poderia influenciar essa atividade (PENA-CASTRO *et al.*, op. cit). Além disso, a presença do EDTA gera condições ideais de cultivo que promovem o crescimento adequado das algas, o que não interferiria na resposta desses organismos diante do estresse causado pelo metal.

A alta variabilidade na sensibilidade de diferentes espécies de alga a uma mesma substância química pode ser explicada pelas diferenças morfológicas, fisiológicas e genéticas dos organismos, bem como pelas próprias características das condições de cultivo dos organismos e pelos procedimentos utilizados na montagem dos testes de toxicidade. O uso de uma bateria de testes com diferentes espécies de algas representativas de todos os principais grupos taxonômicos provavelmente será a melhor solução para abranger a vasta sensibilidade desses organismos.

CAPÍTULO 3

Efeito de diferentes densidades algais de *Selenastrum capricornutum* (Chlorophyceae) e de *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae) sobre a toxicidade aguda dos metais cádmio e cromo em *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera)

RESUMO

Uma nova abordagem nos estudos ecotoxicológicos tem discutido o papel do alimento, representado pelas células algais, sobre o efeito tóxico dos metais em organismos zooplanctônicos. A capacidade das algas para reter metais e para disponibilizá-los através de uma rota alimentar a seus consumidores ou, então, para complexar os íons metálicos e torná-los menos disponível tem sido proposta. Considerando a importância dos metais na contaminação dos ecossistemas aquáticos, bem como a necessidade de melhor entendimento das interações desses elementos no ambiente, o presente estudo investigou o efeito de alta, média e baixa densidades de duas espécies de algas (*Selenastrum capricornutum* e *Microcystis aeruginosa*) sobre a toxicidade aguda dos metais cádmio e cromo no cladóceros *Daphnia similis*. Os resultados revelaram que a presença de diferentes densidades de *S. capricornutum* não altera significativamente o valor da CE(1)50; 48h aos metais para *D. similis*, mas elevadas densidades de *M. aeruginosa* reduziram a toxicidade do cádmio para o cladóceros. Estes resultados parecem estar relacionados com a capacidade das algas para reter cádmio e cromo e com a diferença de sensibilidade aos metais existentes entre as algas e o microcrustáceo.

3.1 INTRODUÇÃO

Uma grande variedade de agentes químicos é gerada pelo homem e liberada dentro dos ecossistemas. Esses elementos contaminam a atmosfera, o ambiente terrestre e os corpos d'água. Testes de toxicidade, utilizando espécies padronizadas e representativas dos ambientes, são frequentemente realizados com o objetivo de avaliar a toxicidade e prever os efeitos de químicos antropogênicos a diversos organismos presentes nesses sistemas (HAZANATO, 1998). De acordo com CAÑIZARES-VILLANUEVA *et al.* (2000), o lançamento de metais pesados pelas atividades industriais representa um dos mais sérios problemas de poluição dos ecossistemas aquáticos devido às propriedades tóxicas dos metais e seus efeitos adversos na qualidade desse ecossistema.

Segundo CONIGLIO & BAUDO (1989), exposições a agentes tóxicos podem levar os organismos à morte rápida ou induzir a uma mortalidade mais tardia, sendo que os organismos que sobreviverem a essa exposição responderão de algum modo negativo (diminuição da reprodução e do crescimento). De uma forma ou de outra, isso poderá afetar o ecossistema como um todo, devido às alterações no tamanho da população e, conseqüentemente, nas relações entre os vários níveis tróficos.

Dentre os metais, o cádmio e o cromo são amplamente estudados em relação aos seus efeitos nos organismos. De acordo com CHASIN & CARDOSO (2003), devido a sua extrema toxicidade, o cádmio está incluído na lista de poluentes tóxicos persistentes e bioacumulativos. Como resultado da aplicação generalizada em inúmeros processos industriais, o cromo é um contaminante presente em muitos ecossistemas e um elemento tóxico para invertebrados e vertebrados (DIAMANTINO *et al.*, 2000). Os trabalhos que enfocam a toxicidade desses metais em cladóceros são inúmeros e incluem avaliação da sensibilidade (VERSTEEG *et al.*, 1997; FARGOSOVÁ, 1994), de seus efeitos sobre a sobrevivência e a reprodução (GUILHERMINO *et al.*, 1997; BODAR *et al.*, 1990a) dos organismos.

A maior parte dessas pesquisas investiga a toxicidade desses elementos, expondo os organismos-teste a determinadas concentrações dos metais sem adicionar seu alimento. A principal vantagem desse tipo de abordagem é a ausência de interferência e a possibilidade de investigar somente os efeitos dos agentes químicos presentes na forma dissolvida. A principal desvantagem é que essa situação normalmente não ocorre na natureza (KUNGOLOS & AOYAMA, 1993), onde os organismos interagem em seu ambiente. Desde que os organismos aquáticos, no ambiente, têm alimento disponível durante exposições a poluentes, atenção deve ser dada ao papel do alimento nos testes de toxicidade (LANNON *et al.*, 1989).

Bactérias, algas, protozoários e detritos são os itens alimentares dos dafnídeos (LAMPERT, 1987). Apesar de *Daphnia* poder utilizar todos esses itens, a importância de cada um em sua dieta será dependente das características físicas e químicas desses alimentos. Dentre os grupos de algas, as clorofíceas são conhecidas por serem fonte de alimento adequado para os dafnídeos. Em contraposição, as cianofíceas são consideradas um alimento inadequado aos cladóceros, devido a problemas mecânicos de entupimento do aparelho filtrador dos organismos, pobre qualidade nutricional e baixa assimilação (LAMPERT, *op. cit.*). Porém, cianofíceas são reconhecidas como um grupo que predomina sobre outros grupos fitoplanctônicos em sistemas aquáticos eutrofizados (CARMICHAEL, 1992), sendo que esse fenômeno tem sido verificado com maior frequência devido ao aumento da poluição dos corpos d'água.

Neste sentido, KOIVISTO *et al.* (1992), avaliando a concentração efetiva de cobre que causava imobilidade a 50% dos organismos, em espécies de Cladocera, na presença e na ausência de alimento, encontraram valores superiores de CE(50)48h em todas as espécies alimentadas durante os testes. Tais resultados sugerem que a biodisponibilidade do metal parece diminuir com a presença de alimento devido ao efeito de destoxificação das algas e que a ausência de alimento ocasionou baixa resistência aos organismos diante de um estresse de um poluente. Pesquisas realizadas por TAYLOR *et al.* (1998) verificaram que a presença de alimento (alga *Chlorella vulgaris*) em elevada concentração de metal reduziu a concentração de cádmio dissolvido na solução, aumentando o valor da CL50 do metal para *Daphnia magna*.

A concentração de metais pesados na água pode ser controlada pela presença de organismos fitoplanctônicos por meio de diferentes mecanismos. Metais são acumulados por células de algas mortas e, neste caso, a incorporação do metal não é mediada diretamente por processo metabólico, mas é dependente da adsorção física e

química pelos compostos celulares. Os metais podem ser retidos na superfície da célula algal e, posteriormente, liberados no trato digestivo de seus consumidores, onde enzimas e ácidos são secretados promovendo a liberação desses elementos. Íons metálicos retidos nessa fração são potencialmente biodisponíveis para organismos filtradores e isto pode representar uma importante rota de transferência e retenção desses contaminantes (FARGOSAVA *et al.*, 1999).

A produção e a excreção de agentes complexantes por algas têm conseqüências para o ambiente em relação ao comportamento de um metal. Dependendo da natureza do composto produzido, a toxicidade do metal poderá ser afetada. Devido a essa capacidade de liberar componentes que se ligam a metais, em meio de cultura ou em águas naturais, as algas acabam controlando a disponibilidade e a toxicidade de metais nos ambientes (LOMBARDI & VIEIRA, 1998). Dentro desse enfoque, OLIVEIRA-NETO *et al.* (2003) verificaram a redução da toxicidade aguda de metais para o zooplâncton *Ceriodaphnia silvestrii* na presença de expolissacarídeos produzidos por cianofíceas, clorofíceas e diatomáceas.

Visto que cladóceros como *Daphnia* são rotineiramente utilizados em testes de toxicidade, é necessário um maior entendimento das interações que possam ocorrer entre esse organismos e um agente tóxico na presença de seu alimento. Como citado por BAIRD *et al.* (1991), uma importante fonte de variabilidade nos testes de toxicidade é a presença e a natureza das partículas de alimento, representadas principalmente pelas algas, confirmando a importância desse enfoque dentro dos estudos ecotoxicológicos.

3.2 OBJETIVOS

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos tóxicos agudo dos metais cádmio e cromo em *Daphnia similis* por meio da determinação da concentração que causa 50% de imobilidade aos organismos-teste (CE(I)50; 48h), e verificar o efeito da presença de diferentes densidades algais sobre a toxicidade aguda desses metais no organismo-teste. Para tanto, foram determinados:

- 1) a faixa de sensibilidade de *Daphnia similis* aos metais cádmio e cromo;
- 2) o efeito da presença de diferentes densidades algais de clorofíceas e cianofíceas sobre a toxicidade aguda dos metais cádmio e cromo em *Daphnia similis*

3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1 Manutenção e cultivo das algas

Algas pertencentes aos grupos das Clorofíceas (*Selenastrum capricornutum*) e Cianofíceas (*Microcystis aeruginosa*) foram cultivadas em meios de cultura apropriados. A clorofíceia foi cultivada em meio de cultura L.C Oligo (AFNOR, 1980) e a cianofíceia em meio ASM-1 (GOHRAM *et al.*, 1964), modificado por REYNOLD & JAWORSKI (1978), os quais foram autoclavados por 15 minutos, a 121°C, em erlenmeyer de 2000mL de capacidade contendo 1000mL de meio. Após a inoculação, que partiu de uma concentração estimada em torno de 1×10^4 células/mL, as culturas ficaram sob iluminação (com fotoperíodo de 12 horas claro/escuro) de 4000lux para a clorofíceia e 2000lux para a cianofíceia (WWW/APHA, 1995), aeração constante e temperatura controlada em $20^\circ\text{C} \pm 2$.

As células de *Selenastrum capricornutum* foram provenientes das culturas mantidas no Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia de Organismos Aquáticos do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA - USP). A cepa não tóxica da cianofíceia *Microcystis aeruginosa* foi fornecida pela Profa. Dra. Sandra M.F.O. Azevedo da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

3.3.2 Manutenção, cultivo e testes de sensibilidade com *Daphnia similis*

Os exemplares de *Daphnia similis* para o cultivo foram provenientes das culturas-estoque mantidas no Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia de Organismos Aquáticos do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA - USP). Os organismos foram mantidos em béqueres de 2000mL de capacidade com 2000mL de água de manutenção. A água de manutenção foi água reconstituída, composta por água destilada com valor de dureza ajustado para a faixa requerida de 40 a 48mg/L de CaCO_3 , de pH para a faixa de 7,2 e 7,6 e condutividade elétrica próxima a $160\mu\text{S/cm}$, de acordo com a Norma ABNT (2004).

O ajuste do valor de dureza foi obtido adicionando-se uma solução contendo 1,5 g.L⁻¹ de sulfato de cálcio (solução 1) e outra solução contendo 0,2 g.L⁻¹ de cloreto de potássio, 4,8 g.L⁻¹ de bicarbonato de sódio e 6,1 g.L⁻¹ de sulfato de magnésio (solução 2), considerando que, para cada miligrama de dureza a ser aumentado, foi acrescentado 0,5mL da solução 1 e 0,25mL da solução 2 por litro de água a ser ajustado. A medida da dureza total foi realizada por meio da titulação por EDTA. O pH foi reajustado, quando necessário, com HCL 1N ou NaOH 1N (ABNT, 2004). Os valores de pH, dureza e condutividade foram verificados todas as vezes em que o meio de cultivo foi utilizado.

As trocas da água de manutenção foram realizadas três vezes por semana, renovando-se toda a água. No início de cada lote foram cultivados 50 organismos em béqueres de 2 litros. A cada 15 dias, novos lotes de organismos foram montados com indivíduos com idade próxima a 24 horas. Esse procedimento teve a finalidade de manter lotes de organismos com idades controladas. Os béqueres com os organismos foram mantidos em incubadora a 23°C ± 2, com fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro).

3.3.2.1 Alimentação de *Daphnia similis*

A alga *Selenastrum capricornutum*, na fase exponencial de crescimento, foi utilizada como alimento para *Daphnia similis*. O cultivo dessa alga foi realizado como descrito no item 3.1. Após sete dias de cultivo, a cultura foi deixada para decantar na geladeira. O sobrenadante formado foi desprezado, a fim de evitar a presença de possíveis nutrientes do meio não aproveitáveis pelas algas ou seus metabólitos, e o material precipitado foi ressuscitado em água reconstituída. As suspensões algais, utilizadas como alimento, foram preparadas após a contagem do número de células em um hemocítmetro Improved Neubauer-Bright Line, sob microscópio óptico. Culturas com densidades em torno de 10⁵ céls/mL foram utilizadas como alimento.

Outro alimento administrado foi o alimento composto, o qual foi preparado com ração para peixe (Vitormônio[®]) e fermento biológico seco tipo Fleischmann[®]. Em relação ao preparado com a ração para peixe, 5g de vitormônio foram adicionados em 1000mL e esta solução foi mantida coberta com papel alumínio, sob aeração contínua, por uma semana. Após o término desse período, a solução ficou sedimentando por algumas horas e, posteriormente, o sobrenadante foi filtrado em rede de plâncton de aproximadamente 45µm, sendo que o material sedimentado foi descartado. Essa solução

final foi distribuída em frascos de 30 a 50mL devidamente etiquetados e permaneceram em freezer a -4°C até o momento do uso.

No momento do uso do alimento composto para alimentação dos organismos, 0,25g de fermento biológico foi pesado e diluído em 50mL de água destilada. O alimento composto foi preparado misturando-se partes iguais de 25mL do preparado de ração para peixe e de levedura, sendo utilizado diariamente 1mL/L deste preparado, junto com a suspensão algal. Os organismos-teste foram alimentados três vezes durante a semana.

3.3.2.2 Teste de sensibilidade de *Daphnia similis*

Como o controle das condições fisiológicas de clones de espécies utilizadas em testes de toxicidade é uma prática recomendada, testes da sensibilidade com uma substância de referência foram realizados, observando-se a imobilidade ou a mortalidade dos organismos quando expostos a diferentes concentrações da mesma. Testes de sensibilidade de *Daphnia similis* ao dicromato de potássio foram realizados para avaliar a sensibilidade das culturas. Os organismos foram considerados saudáveis para o teste quando o valor de CE(I)50, 24h (Concentração Efetiva Inicial Média) esteve entre 0,01 e 0,09mg/L de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.

3.3.3 Determinação da faixa de sensibilidade de *Daphnia similis* aos metais cádmio e cromo e avaliação do efeito de diferentes densidades algais de *Selenastrum capricornutum* e de *Microcystis aeruginosa* sobre a toxicidade aguda dos referidos para *Daphnia similis*

A determinação da faixa de sensibilidade de *Daphnia similis* aos metais cádmio e cromo que causam imobilidade a 50% dos organismos-teste foi realizada através de testes de toxicidade aguda. Os testes de toxicidade foram realizados preparando-se soluções-estoque e soluções-teste de Cd e Cr em balões de ensaio com auxílio de pipetas volumétricas. A solução-estoque de cádmio foi realizada a partir de uma solução de 1000mg/L de Cd (solução-padrão de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ para absorção atômica, Marca J. T. Backer). O composto dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, Marca Merck) foi utilizado para o preparo da solução-estoque de Cr, sendo uma quantidade definida deste composto pesada e solubilizada em água deionizada, de modo a obter uma concentração de 50mg/L de Cr. As concentrações de metais escolhidas foram baseadas em experimentos realizados anteriormente por OLIVEIRA-NETO (2000), que utilizou

valores entre 20µg/L e 640µg/L para cádmio e cromo em testes de toxicidade realizados com *Ceriodaphnia silvestrii*. Amostras das soluções-teste foram coletadas e fixadas com ácido nítrico para a determinação da concentração de metal.

Organismos com idade inferior a 24 horas foram expostos a diferentes concentrações de cádmio e cromo. Nos testes foram utilizados 5 organismos, em 3 ou 4 réplicas, dependendo da disponibilidade de organismos, em frascos teste contendo 10mL de solução de cada metal. A duração do teste foi de 48 horas, efetuando-se, após esse período, a contagem de organismos móveis e imóveis. Algumas medidas como pH, condutividade e dureza da água testada foram realizadas no início e final dos testes. Com os resultados obtidos nos testes foi determinada a concentração efetiva mediana CE(I)50, 48h, ou seja, a concentração que causou imobilidade a 50% dos organismos, nas condições do teste, em 48 horas de exposição (ABNT, 2004).

Com o objetivo de avaliar o efeito da densidade algal na toxicidade aguda dos metais sobre *Daphnia similis*, testes de toxicidade aguda para determinar a concentração que causa imobilidade para 50% da população, quando exposta a diferentes concentrações de metais (cádmio e cromo), foram conduzidos utilizando-se duas espécies de algas em três densidades algais (1.10^3 células/mL, 1.10^5 células/mL e 1.10^6 células/mL). Essa faixa de densidade de células foi escolhida por ser comumente utilizada em testes de toxicidade (TAYLOR *et al.*, 1998). Um teste com as mesmas concentrações de metais, em que nenhuma célula algal esteve presente, também foi conduzido, além de um controle laboratorial utilizando somente água de manutenção empregada nos cultivos dos organismos com células algais e outro controle sem células algais.

As células de *S. capricornutum* e *M. aeruginosa* utilizadas nos testes de toxicidade aguda foram provenientes de culturas em fase exponencial de crescimento. As células foram lavadas duas vezes, por meio de centrifugação (1500rpm, por 20 minutos, em centrífuga FANEM Excelsa modelo 206 PM), e ressuspensas em água reconstituída. Posteriormente, as células foram contadas em um hematocitômetro Improved Neubauer-Bright Line, sob microscópio óptico, para determinação da densidade algal das culturas.

Todo material utilizado no preparo das soluções-teste dos metais e na montagem dos experimentos foram lavados com detergente neutro 2%, deixados por 24 horas em ácido nítrico 30% e, em seguida, enxaguados com água de torneira e água destilada (APHA/WWW, 1995).

3.3.3.1 Análise de metais

3.3.3.1.1 Determinação das frações total, particulada (presentes nas células algais e no zooplâncton), dissolvida de metais em testes de toxicidade aguda com cádmio e cromo para *Daphnia similis* quando exposta a diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*

Com o objetivo de avaliar o efeito da densidade algal na retenção de metais nos testes de toxicidade aguda para *Daphnia similis*, amostras das soluções-teste e do zooplâncton foram coletadas no final desses testes para a determinação das frações total, particulada (presente nas células algais e no zooplâncton) e dissolvida dos metais e também da fração de metal presente no zooplâncton.

Os testes de toxicidade aguda foram realizados com 80 neonatos de *D. similis* com menos de 24 horas de idade, provenientes de culturas cujos organismos tivessem pelo menos 14 dias e que já tivessem dado a segunda cria (ABNT, 2004). Os neonatos foram transferidos cuidadosamente dentro de frascos-teste contendo 160mL de solução-teste. Os organismos foram expostos, durante 48 horas, a diferentes concentrações de cádmio e cromo com duas diferentes densidades de *S. capricornutum* dentro de cada faixa de concentração de metal estabelecida anteriormente, em testes de toxicidade e mais um controle.

No final dos testes de toxicidade, os organismos foram coletados e deixados por aproximadamente 12 horas em água de cultivo, a fim de permitir que eliminassem células algais enriquecidas com os metais que não haviam sido assimiladas (BARATA *et al.*, 2002). Depois desse período, os cladóceros foram colocados em uma nova água de cultivo e coletados por meio de filtração com auxílio de filtro GF/F de 0,45µm de porosidade.

Após a coleta dos dafnídeos, amostras das soluções-teste foram reservadas para determinação dos metais totais, dissolvidos e particulados (presentes nas células algais). Amostras para a determinação da fração total de metal foram coletadas e fixadas com ácido nítrico concentrado, sem nenhum tratamento prévio (filtração). Foram considerados metais dissolvidos aqueles de uma amostra não acidificada, que passaram direto em membrana de 0,45µm e metais particulados aqueles que ficaram retidos na membrana (APHA/WWW, 1995).

As amostras coletadas no final dos testes de toxicidade aguda com o zooplâncton destinadas à determinação da fração total foram digeridas com ácido nítrico e ácido clorídrico, diluídas em água destilada e depois submetidas à leitura em

espectrofotômetro de absorção atômica pelo método da chama e em forno de grafite. Para a determinação da fração de metais nas algas e no zooplâncton, os filtros após a filtragem contendo células algais ou zooplâncton, foram secos a 60°C por 24 horas e submetidos à digestão ácida (HNO₃ e H₂O₂ concentrados). A cada digestão de amostras foram digeridos 3 filtros para a determinação do branco analítico, conforme adaptado de VAN LOON (1985).

As concentrações de cádmio foram medidas utilizando-se forno de grafite em espectrofotômetro de absorção atômica (Varian AA; 220; intercambiável chama-forno de grafite) e as medidas das concentrações de cromo foram realizadas também no espectrofotômetro, utilizando-se o método da chama e do forno de grafite. O limite de detecção, calculado de acordo os procedimentos descritos em MILLER & MILLER (1994), foi de 0,05µg/L para o Cd e de 0,81µg/L para o Cr.

3.3.4 Análise estatística

A concentração que causou imobilidade a 50% dos organismos, nas condições do teste, em 48 horas de exposição, foi determinada utilizando-se o programa computacional Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.*, 1977). Para o estabelecimento da faixa de sensibilidade foi utilizado o modelo proposto pela USEPA (1985). Neste modelo, calculam-se a média dos valores de CE50 obtidos e o desvio-padrão para cada grupo de testes. Com esses dados são estabelecidos o limite superior ($x + 2.DP$) e o limite inferior ($x - 2.DP$).

Os valores da CE(I)50; 48h aos metais cádmio e cromo para *Daphnia similis*, obtidos nos testes de toxicidade aguda com ou sem adição de células algais, foram estudados por meio da análise de normalidade e homogeneidade, em seguida, pelo teste de comparações múltiplas de Tukey (teste paramétrico) ou de Kruskal-Wallis (não paramétrico) para verificar se houve ou não diferença estatisticamente significativa mediante a adição de diferentes densidades de células algais (NIPPER, 2002), utilizando o programa computacional TOXSTAT VERSION 3.3 (GULLEY *et al.*, 1993).

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Teste de sensibilidade de *Daphnia similis* ao dicromato de potássio

Os resultados obtidos nos testes de sensibilidade para *Daphnia similis* estavam dentro dos limites aceitáveis, indicando uma condição satisfatória dos organismos-teste para a realização dos testes de toxicidade (Anexo B).

3.4.2 Determinação da faixa de sensibilidade de *Daphnia similis* aos metais cádmio e cromo

Nas Figuras 3.1 e 3.2, na Tabela 3.1 e no Anexo B estão apresentados os resultados dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis* ao cádmio e ao cromo. A faixa de sensibilidade desse organismo ao cádmio, após a realização de 18 testes, foi de 39,75 a 113,28 $\mu\text{g/L}$. Em relação ao cromo, após a realização de 13 testes, a faixa ficou entre 15,26 a 38,28 $\mu\text{g/L}$. Verificou-se que *D. similis* foi mais sensível ao cromo do que ao cádmio.

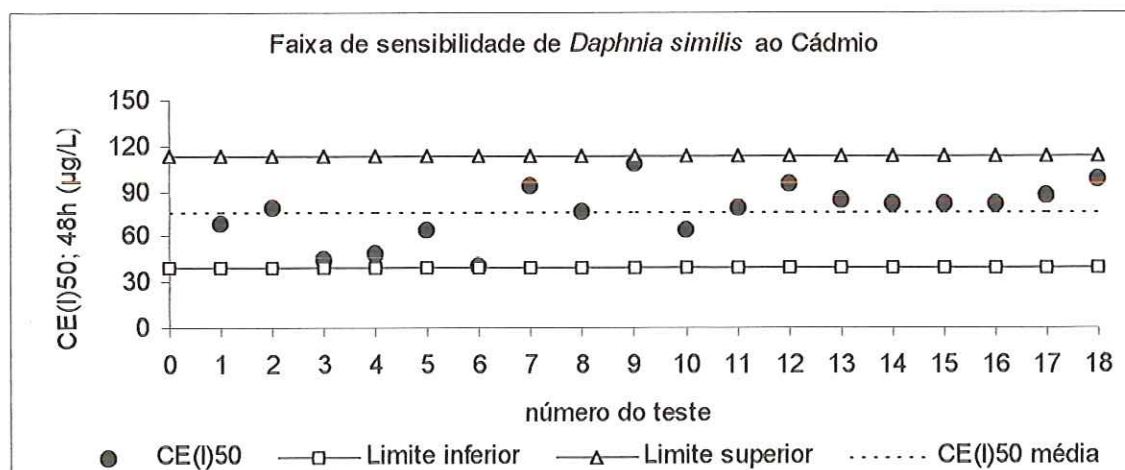


Figura 3.1 — Faixa de sensibilidade de *Daphnia similis* ao cádmio.

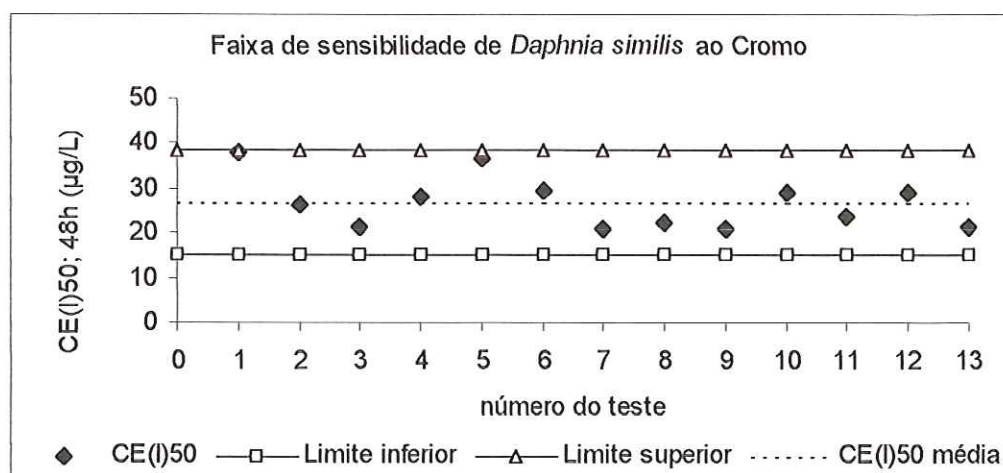


Figura 3.2 – Faixa de sensibilidade de *Daphnia similis* ao cromo.

Tabela 3.1 – Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 48h) dos metais cádmio e cromo em µg/L para *Daphnia similis*.

Número do teste	CE(I)50;48h (µg/L) (Intervalo de confiança)	
	Cádmio	Cromo
1	68,05 (52,63-88,00)	37,95 (32,74-44,00)
2	78,75 (61,33-102,12)	26,19 (20,19-33,97)
3	45,09 (30,64-66,34)	21,43 (9,54-48,60)
4	49,24 (37,92-63,96)	28,28 (24,41-32,77)
5	64,98 (50,71-83,27)	36,79 (28,55-47,70)
6	40,33 (97,52-59,100)	29,56 (24,10-36,26)
7	94,04 (89,28-110,17)	21,01 (11,50-38,39)
8	76,07 (58,395-99,18)	22,45 (20,00-40,00)
9	108,48 (84,26-139,6)	21,01 (11,50-38,39)
10	64,83 (49,50-84,80)	29,10 (25,39-33,35)
11	78,60 (63,61-97,13)	23,78 (20,32-27,84)
12	95,28 (81,71-111,06)	29,10 (25,39-33,35)
13	83,76 (69,18-101,41)	21,43 (18,42-24,95)
14	81,70 (68,60-97,30)	-
15	82,00 (44,22-75,53)	-
16	81,90 (62,07-108,06)	-
17	87,24 (70,54-107,90)	-
18	96,98 (80,86-116,33)	-
CE(I)50; 48h média	76,52	26,77
Faixa de sensibilidade	39,75-113,28	15,26-38,28
Desvio-padrão (DP)	18,38	5,75
Coeficiente de variação	24,02%	21,48%

3.4.3 Avaliação do efeito de diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* sobre a toxicidade aguda dos metais cádmio e cromo para *Daphnia similis*

O valor médio da CE(I)50; 48h do cádmio para *Daphnia similis* (76,52µg/L) não foi alterado pela adição de diferentes densidades celulares de *Selenastrum capricornutum* (valores médios de 72,94 e 69,88µg/L na presença de 10⁵ e 10⁶ céls/mL, respectivamente) (Tabela 3.2, Figura 3.3 e Anexo B).

Tabela 3.2 – Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 48h) de cádmio em µg/L para *Daphnia similis* quando exposta a diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*.

Número do teste	CE(I)50; 48h (µg/L) (Intervalo de confiança)		
	Sem adição de alimento	Adição de 10 ⁵ céls/mL	Adição de 10 ⁶ céls/mL
1	68,05 (52,63-88,00)	71,27 (55,12-92,16)	-
2	78,75 (61,33-102,12)	89,77 (72,79-110,70)	-
3	45,09 (30,64-66,34)	54,01 (41,32-70,60)	-
4	49,24 (37,92-63,96)	-	40,00 (23,58-67,84)
5	64,98 (50,71-83,27)	-	38,26 (27,77-52,72)
6	40,33 (97,52-59,100)	36,75 (22,93-58,90)	-
7	94,04 (89,28-110,17)	87,93 (67,37-114,77)	-
8	76,07 (58,395-99,18)	-	84,76 (66,69-107,72)
9	108,48 (84,26-139,6)	97,92 (82,70-115,96)	92,44 (65,51-128,45)
10	64,83 (49,50-84,80)	-	-
11	78,60 (63,61-97,13)	-	88,21 (74,54-104,36)
12	95,28 (81,71-111,06)	-	75,62 (60,40-94,67)
Valor médio	76,52 ^a	72,94 ^a	69,88 ^a
Faixa de sensibilidade	39,75-113,28	25,59-120,29	20,96-118,80
Desvio-padrão	18,38	23,86	24,46
CV	24,02%	32,46%	35,96%

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, p<0,05). CV: coeficiente de variação. -: ausência de teste de toxicidade

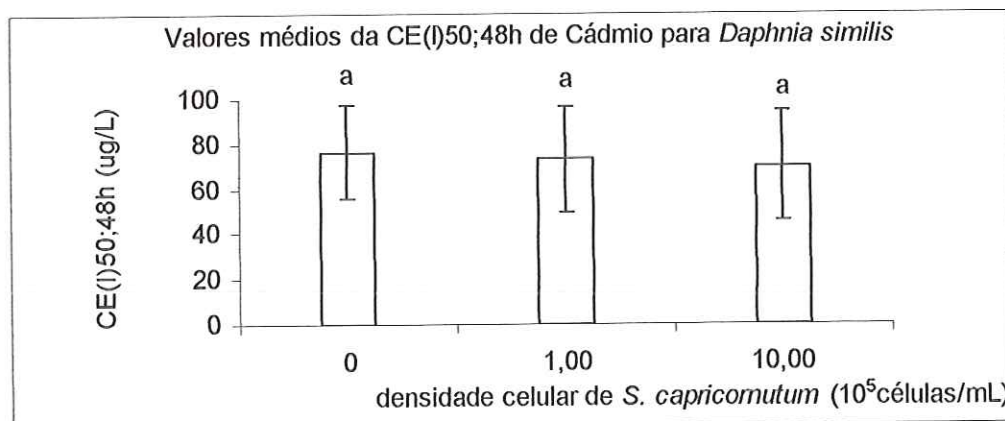


Figura 3.3 — Valores médios de CE(I)50; 48h de cádmio para *D. similis* a diferentes densidades de *S. capricornutum*. Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, p<0,05). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

Como observado para os resultados obtidos com cádmio, o valor médio da CE(I)50; 48h de cromo (26,77 μ g/L) para *Daphnia similis* não se modificou significativamente com o aumento da densidade de alga fornecido durante os testes de toxicidade aguda (29,81 e 37,76 μ g/L, na presença de 10⁵ e 10⁶ céls/mL de *S. capricornutum*, respectivamente) (Tabela 3.3 e Figura 3.4).

Tabela 3.3 – Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50;48h) de cromo em μ g/L para *Daphnia similis* quando exposta a diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*.

Número do teste	CE(I)50; 48h (μ g/L) (Intervalo de confiança)		
	Sem adição de alimento	Adição de 10 ⁵ céls/mL	Adição de 10 ⁶ céls/mL
1	37,95 (32,74-44,00)	53,81 (48,78-59,37)	55,54 (45,54-67,74)
2	26,19 (20,19-33,97)	22,45 (6,31-79,89)	49,54 (40,65-60,33)
3	21,43 (9,54-48,60)	22,78 (14,71-35,27)	-
4	28,28 (24,41-32,77)	28,28 (24,41-32,77)	33,40 (25,80-43,23)
5	36,79 (28,55-47,70)	22,77 (14,71-35,27)	21,81 (8,05-59,07)
6	29,56 (24,10-36,26)	-	35,99 (27,02-47,94)
7	21,01 (11,50-38,39)	21,01 (11,50-38,89)	-
8	22,45 (20,00-40,00)	-	25,49 (20,01-32,47)
9	21,01 (11,50-38,39)	37,58 (30,44-35,27)	-
10	29,10 (25,39-33,35)	-	42,66 (33,88-53,72)
Valor médio	26,77 ^a	29,81 ^a	37,76 ^a
Faixa de sensibilidade	15,26-38,28	5,74-53,88	13,14-62,36
DP	5,75	12,04	12,30
CV	21,48%	40,37%	32,57%

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). DP: desvio-padrão, CV: coeficiente de variação. -: ausência de teste de toxicidade

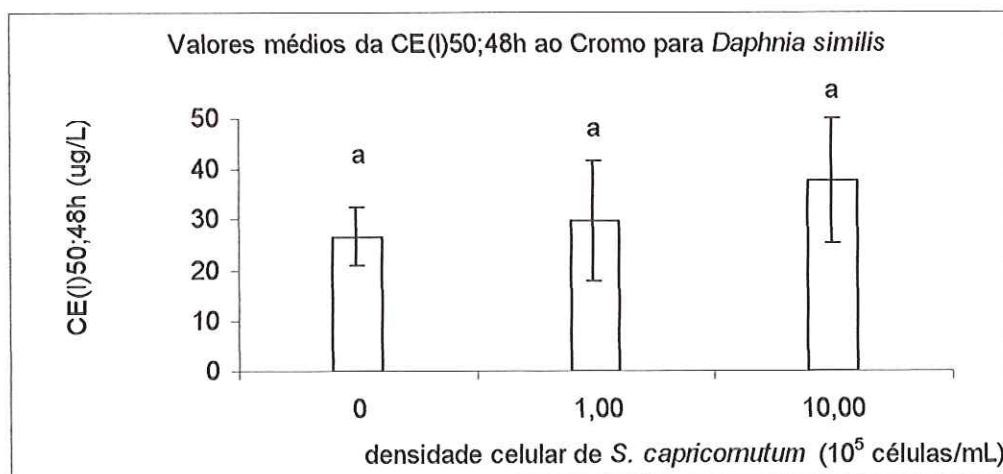


Figura 3.4 — Valores médios da CE(I)50; 48h de cromo para *Daphnia similis* a diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Barras correspondem ao desvio-padrão.

A realização de testes de toxicidade aguda com os metais cádmio e cromo para *Daphnia similis*, na presença de baixa densidade de células de *Selenastrum capricornutum* (10^3 céls/mL) não foi realizada. Baseado nos dados obtidos com os experimentos realizados com alta e média densidade algal, verificou-se que não houve alteração significativa do valor da CE(I)50; 48h para os organismos-teste devido à presença de diferentes densidades de alimento, no caso da cloroficea *Selenastrum capricornutum*.

3.4.4 Avaliação do efeito de diferentes densidades de *Microcystis aeruginosa* sobre a toxicidade aguda dos metais cádmio e cromo para *Daphnia similis*

Os resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis* ao metal cádmio, quando expostas a diferentes densidades algais de *M. aeruginosa*, estão apresentados na Tabela 3.4, na Figura 3.5 e no Anexo B. A presença de 10^6 céls/mL da alga alterou significativamente o valor médio da CE(I)50; 48h de *Daphnia similis* ao metal. A faixa de sensibilidade do organismo-teste ao cádmio foi mais elevada na presença de 10^6 céls/mL (82,39 a 133,73 µg/L) quando comparada aos valores obtidos em 10^5 céls/mL (26,02 µg/L a 94,03 µg/L) e na ausência de células algais (39,75 a 113,28 µg/L).

Tabela 3.4 – Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 48h) de cádmio em $\mu\text{g/L}$ para *Daphnia similis* quando exposta a diferentes densidades de *Microcystis aeruginosa*.

Número do teste	CE(I)50;48h ($\mu\text{g/L}$) (Intervalo de confiança)		
	Sem adição de alimento	Adição de 10^5 céls/mL	Adição de 10^6 céls/mL
1	83,76 (69,18-101,41)	59,44 (43,73-80,79)	-
2	81,70 (68,60-97,30)	-	104,18 (82,11-132,17)
3	82,00 (44,22-75,53)	57,80 (44,22-75,53)	116,76 (95,27-143,09)
4	81,90 (62,07-108,06)	35,41 (22,70-55,24)	89,15 (68,60-115,86)
5	87,24 (70,54-107,90)	64,83 (49,72-84,52)	107,67 (87,32-132,76)
6	96,98 (80,86-116,33)	82,82 (69,45-98,76)	122,56 (105,47-147,41)
Valor médio	76,52 ^a	60,06 ^a	108,06 ^b
Faixa de sensibilidade	39,75-113,28	26,02-94,03	82,39-133,73
DP	18,38	16,98	12,83
CV	24,02%	28,28%	11,87%

Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). DP: desvio-padrão, CV: coeficiente de variação. -: ausência de teste de toxicidade

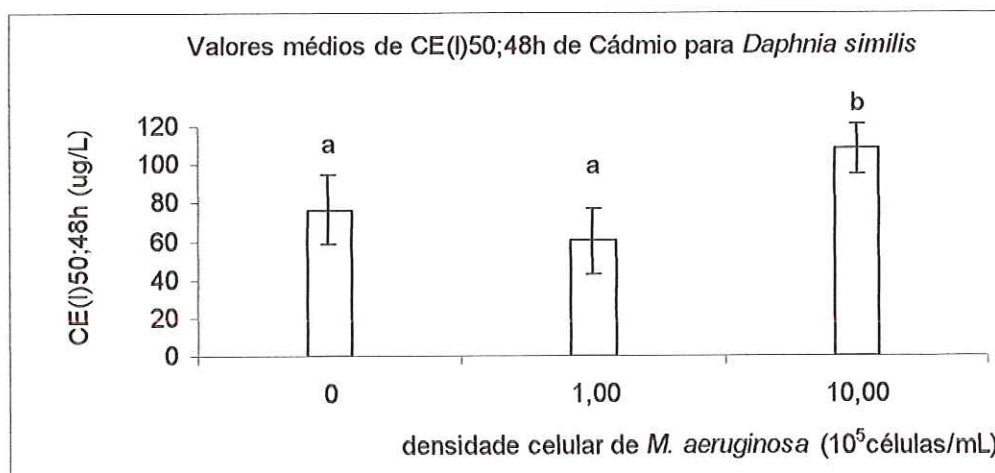


Figura 3.5 — Valores médios da CE(I)50; 48h de cádmio para *Daphnia similis* a diferentes densidades de *Microcystis aeruginosa*. Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

Como anteriormente citado, a faixa de sensibilidade de *Daphnia similis* ao cromo, após a realização de 13 testes, foi de 15,26 a 38,28 $\mu\text{g/L}$. O valor médio da

CE(I)50; 48h de cromo ($26,77\mu\text{g/L}$) para *Daphnia similis* diminuiu significativamente com a adição de uma densidade de 10^5 céls/mL de *Microcystis aeruginosa* durante os testes de toxicidade aguda (Tabela 3.5, Figura 3.6 e Anexo B).

Tabela 3.5 – Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 48h) de cromo em $\mu\text{g/L}$ para *Daphnia similis* quando exposta a uma densidade de 10^5 céls/mL de *Microcystis aeruginosa*.

Número do teste	CE(I)50; 48h ($\mu\text{g/L}$) (Intervalo de confiança)	
	Sem adição de alimento	Adição de 10^5 céls/mL
1	29,10 (25,39-33,35)	17,53 (14,83-20,71)
2	23,78 (20,32-27,84)	16,61 (12,24-22,53)
3	29,10 (25,39-33,35)	15,51 (11,28-20,25)
4	21,43 (18,42-24,95)	13,61 (10,04-18,44)
5	-	18,99 (15,15-23,80)
Valor médio	26,77 ^a	16,45 ^b
Faixa de sensibilidade	15,26-38,28	12,38-20,52
DP	5,74	2,03
CV	21,48%	12,38%

Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes. DP: desvio-padrão, CV: coeficiente de variação. -: ausência de teste de toxicidade

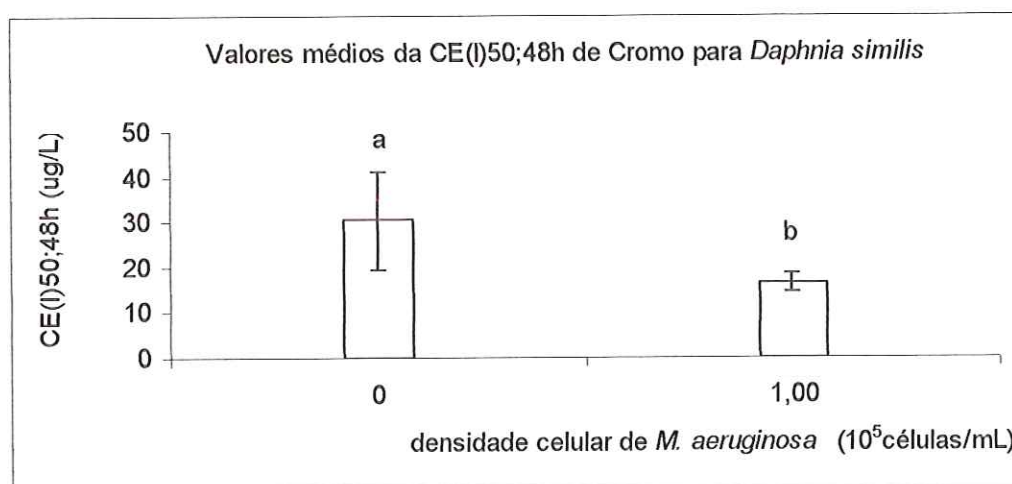


Figura 3.6 — Valores médios da CE(I)50;48h de cromo para *Daphnia similis* a uma densidade de 10^5 céls/mL de *Microcystis aeruginosa*. Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

3.4.5 Análise de metais

3.4.5.1 Análise de metais nas soluções-teste

Os valores das concentrações nominais e medidas das soluções-teste empregadas nos experimentos com *Daphnia similis* e metais estão apresentados na Tabela 3.6. Concentrações medidas das soluções-teste apresentaram diferença de cerca de 10% em relação à concentração nominal.

Tabela 3.6 – Concentrações nominais e medidas das soluções-teste de cádmio e cromo utilizadas nos testes de toxicidade aguda.

Concentrações de cádmio		Concentrações de cromo	
Concentração nominal ($\mu\text{g/L}$)	Concentração medida ($\mu\text{g/L}$)	Concentração nominal ($\mu\text{g/L}$)	Concentração medida ($\mu\text{g/L}$)
Controle	0,27	Controle	ND
10	11,65	20	18,22
20	18,79	40	33,04
40	41,47	60	53,00
80	77,00	80	72,90
160	144,00	160	174,30

ND = não detectado. Cd (limite de detecção = $0,05\mu\text{g/L}$; limite de quantificação = $0,16\mu\text{g/L}$) e Cr (limite de detecção = $0,8\mu\text{g/L}$; limite de detecção = $2,71\mu\text{g/L}$) (cálculos baseados em procedimentos descritos em MILLER & MILLER (1994)).

3.4.5.2 Determinação das frações total, particulada (presentes nas células algais e no zooplâncton) e dissolvida de metais em testes de toxicidade aguda com cádmio e cromo para *Daphnia similis* quando exposta a diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*

Nas Figuras 3.7 e 3.8 estão apresentados os resultados das análises de metais realizadas ao final dos testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis* quando expostas ao cádmio e ao cromo em diferentes densidades celulares de *Selenastrum capricornutum*. O aumento da densidade algal, nos testes de toxicidade, não acarretou aumento da concentração de metais nas células algais (fração particulada). Independentemente da densidade de células algais adicionadas ao teste, cádmio e

romo encontraram-se, predominantemente, na forma dissolvida. A determinação dos metais em *Daphnia similis* não foi possível devido aos valores de cromo e cádmio encontrados no organismo serem próximos ou inferiores àqueles verificados no tratamento do branco (filtro). Tal fato pode estar associado a massa insuficiente de organismos utilizada para análise dos metais.

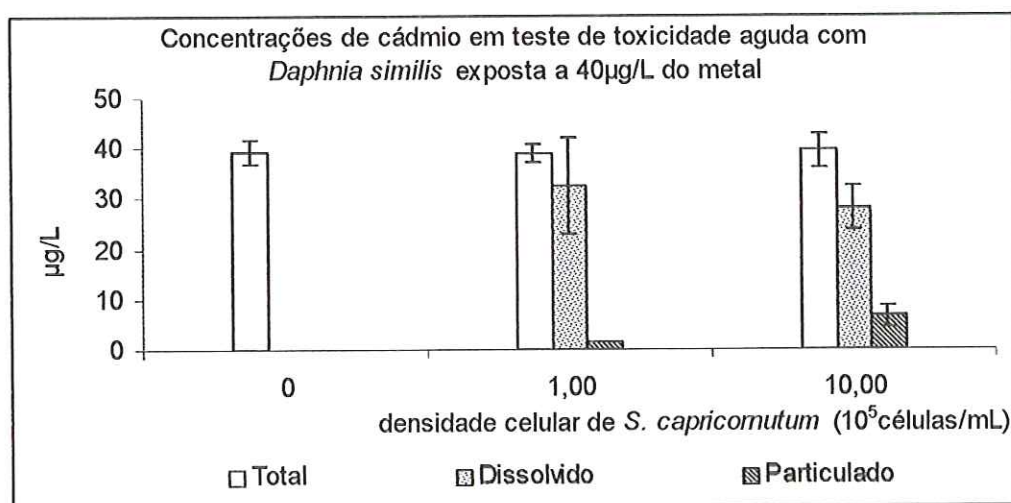


Figura 3.7 — Concentrações médias de cádmio nas frações total, dissolvida e particulada ao final de teste de toxicidade aguda ao cádmio. Média de 2 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

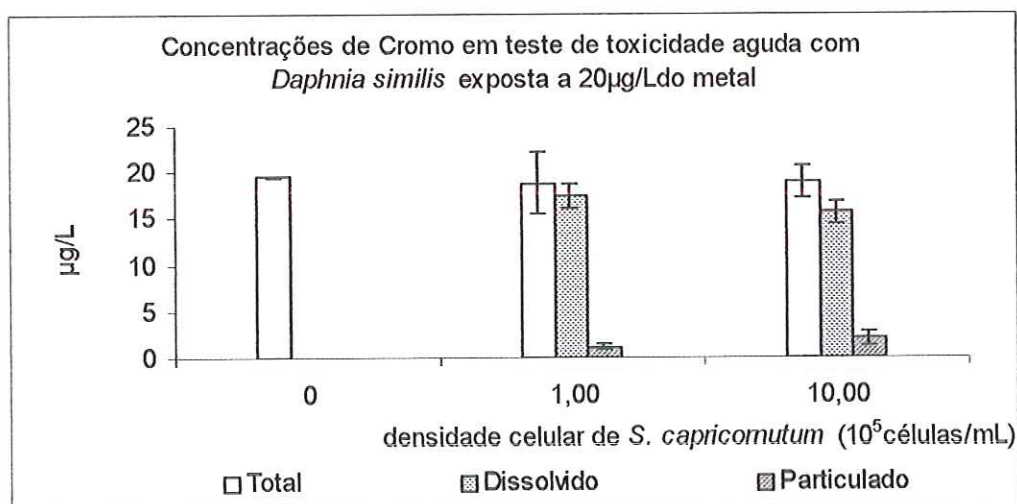


Figura 3.8 — Concentrações médias de cádmio nas frações total, dissolvida e particulada ao final de teste de toxicidade aguda com cromo. Média de 2 testes. Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

3.5 DISCUSSÃO

Os metais estão entre os principais agentes estressores dos ambientes de água doce (CAÑIZARES-VILLANUEVA *et al.*, 2000) e muitos trabalhos têm sido desenvolvidos no sentido de reconhecer seus efeitos na biota aquática. No presente estudo foram determinadas as concentrações tóxicas agudas dos metais cádmio e cromo para o cladóceros *Daphnia similis*. De acordo com DIAMANTINO *et al.* (2000), o cromo pode inibir a atividade da enzima acetinocolinesterase e o cádmio está associado à redução de enzimas digestivas (DE COEN & JANSSEN, 1997) e à baixa retenção de nutrientes essenciais (GRIFFITHS, 1980) em dafnídeos.

Foi observada uma variação entre os valores médios da concentração dos metais que causam imobilidade a 50% da população de *Daphnia similis*, obtida no presente estudo e em dados reportados na literatura (Tabelas 3.7 e 3.8). Essa variação pode estar relacionada às características da água utilizada nos testes de toxicidade, à duração do teste e às espécies empregadas. De modo geral, os maiores valores da CE(I)50; 48 para as diferentes espécies de *Daphnia* estão relacionados aos maiores valores de dureza monitorados nos testes de toxicidade. No presente estudo, foi utilizada água artificial (reconstituída) com baixo valor de dureza, promovendo maior disponibilidade dos metais na solução.

A toxicidade de metais para cladóceros de água doce geralmente decresce com o aumento da dureza da água (representado pelas concentrações de cálcio e magnésio), sendo que este aumento está normalmente associado a um aumento da alcalinidade e do pH. Um elevado valor da dureza, no meio, poderá reduzir a toxicidade do metal devido à existência de um mecanismo de inibição competitiva operando entre os metais e os íons Na^{+2} , Ca^{+2} e H^{+} pelos sítios de transporte e de ligação na superfície celular do organismo.

Tabela 3.7 – Toxicidade aguda ao Cádmio para algumas espécies de *Daphnia*.

Organismos	Condições do teste	Dureza (mg/L de CaCO ₃)	Período de exposição	Tipo de teste	Concentração efetiva (µg/L)	Referência
<i>Daphnia similis</i>	E	42-48	48h	CE50	76,52	Presente estudo
<i>Daphnia pulex</i>	E	45	48	CE50	68	MOUNT & NORBERG (1984)
<i>Daphnia magna</i>	E	46	48h	CL50	112,00	BARATA <i>et al.</i> (1998)
<i>Daphnia magna</i>	E	45	48	CE50	118	MOUNT & NORBERG (op. cit.)
<i>Daphnia magna</i>	E	68-70	48h	CL50	26,40	SUEDEL <i>et al.</i> (1997)
<i>Daphnia magna</i>	E	90-179	48h	CL50	233,00	BARATA <i>et al.</i> (op. cit.)
<i>Daphnia magna</i>	E	100-240	48h	CL50	7,00-268,20	INGERSOL & WINNER (1982)
<i>Daphnia pulex</i>	E	150	48h	CL50	320,00	BODAR <i>et al.</i> (1990a)

E: estático.

Tabela 3.8 – Toxicidade aguda ao Cromo para algumas espécies de *Daphnia*.

Organismos	Condições do teste	Dureza (mg/L de CaCO ₃)	Período de exposição	Tipo de teste	Concentração efetiva (µg/L)	Referência
<i>Daphnia similis</i>	E	42-48	48h	CE50	26,77	Presente estudo
<i>Daphnia obtusa</i>	E	-	48h	CL50	61,00	CONIGLIO & BAUDO (1989)
<i>Daphnia magna</i>	E	45	48h	CL50	22,00	MOUNT & NORBERG (op. cit.)
<i>Daphnia magna</i>	E	89,90	48h	CL50	360,00	KUNGOLOS & AOYAMA (1993)
<i>Daphnia magna</i>	E	170 ± 5	48h	CL50	105,00	KIM <i>et al.</i> (2002)
<i>Daphnia magna</i>	E	250	48h	CE50	224,00	HICKEY (1989)

E: estático.

Segundo PENTTINEN *et al.* (1998), o íon Ca⁺² é um elemento essencial para a biota aquática e possui mecanismos específicos para ser retido pelos organismos, incluindo os cladóceros. O cádmio, elemento não essencial e tóxico, não possui uma via de acesso própria. Esse metal parece utilizar os mecanismos existentes para o cálcio devido à carga e ao tamanho de ambos serem similares. Desse modo, estes íons divalentes acabam competindo entre si para serem retidos pelos dafinídeos. Tal mecanismo pode explicar porque muitos metais são mais tóxicos em água com baixo valor de dureza. Além disso, a complexação com o carbonato resulta em um decréscimo da atividade do metal livre (BARATA *et al.*, 1998) e da sua toxicidade.

Outro aspecto a ser considerado é a espécie utilizada nos testes de toxicidade. Como discutido por BURATINI *et al.* (2004), os procedimentos padronizados em

ecotoxicologia recomendam o uso do gênero *Daphnia* (*Daphnia magna* e *Daphnia pulex*) como organismos-teste para estudos de toxicidade. A primeira é indicada para águas com dureza igual ou superior a 80mg/L (expresso como CaCO₃) e a segunda, mesmo adaptada a qualquer dureza, é recomendada quando a dureza for menor do que 80mg/L. Apesar de não ocorrer naturalmente no país, *D. similis* é uma das seis espécies registradas em outras regiões tropicais, de fácil cultivo em laboratório, de sensibilidade similar a outras espécies padronizadas e a que melhor se adapta às condições de baixa dureza da água, característica das águas do Estado de São Paulo, possibilitando, dessa forma, a geração de dados mais condizentes com as condições naturais.

Baseados nos dados do presente trabalho, verificou-se que *D. similis* foi mais sensível ao cromo do que ao cádmio. Os maiores coeficientes de variação exibidos nos resultados dos testes de toxicidade, neste trabalho, foi ao cromo (20-40%), demonstrando a inconstância nos dados obtidos com esse metal. Sequências de toxicidade para *D. magna* reportadas por FARGASOVÁ (1994) também apontam que o cromo foi mais tóxico que o cádmio, porém, KUNGOLOS & AOYAMA (1993) e GUILLERMINO *et al.* (1997) verificaram que o cádmio foi mais tóxico do que o cromo para essa mesma espécie. Segundo os autores, a variação nas respostas é devido às propriedades físicas e químicas da água de diluição e dos sais empregados e da espécie-teste em estudo.

Outro aspecto a ser discutido é a questão da concentração dos metais, considerada tóxica ao organismo-teste, e o limite estabelecido para esses metais pela legislação vigente no país. A maior parte dos corpos d'água do Estado de São Paulo está classificada como Classe 2, ou seja, é destinada, entre outros usos, ao abastecimento público após tratamento convencional e à proteção das comunidades aquáticas. A Resolução CONAMA nº 357 (2005) define como critérios de qualidade da água de rios e reservatórios, pertencentes a Classe 2, os valores de 0,001mg/L para o cádmio e 0,05mg/L para o cromo, porém, não citam para que valor da dureza da água este valor limite está sendo estimado. Com base nos dados obtidos no presente estudo, observa-se que os valores estabelecidos para o cromo provocam toxicidade aguda nessa espécie. Essa mesma observação foi feita por OLIVEIRA-NETO & BOTTA-PASCHOAL (2000) para a espécie *Ceriodaphnia silvestrii*. Tal fato atesta a importância da inserção dos estudos ecotoxicológicos na definição de critérios de qualidade ambiental.

O zooplâncton desempenha um papel-chave nos ecossistemas aquáticos, visto que ocupa uma posição central na cadeia alimentar. Suas respostas aos estresses naturais

e antropogênicos estão intimamente ligados às condições abióticas (nutrientes, temperatura, pH e dureza) e bióticas (alimento e predadores) do ambiente (HAZANATO, 2001). Uma nova abordagem nos estudos ecotoxicológicos tem discutido o papel do alimento (representado por algas) sobre o efeito tóxico de herbicidas, pesticidas (ANTUNES *et al.*, 2004) e metais (TAYLOR *et al.*, 1998; BARATA *et al.*, 2002) ao zooplâncton. Mecanismos apresentados pelas algas, como a capacidade de reter metais e disponibilizá-los por meio de uma rota alimentar a seus consumidores ou, então, de complexar os íons metálicos e torná-los menos disponíveis, têm sido propostos (TAYLOR *et al.*, op. cit.).

Outro aspecto a ser discutido é o estado nutricional de um organismo como um fator modificador da toxicidade de químicos nos corpos d'água. Para a perspectiva toxicologista, o estado nutricional de um organismo diz respeito à quantidade e à qualidade de sua dieta, bem como ao nível de contaminante presente no alimento. Pela alimentação, um organismo pode aumentar sua taxa metabólica, reter, metabolizar e depurar um elemento tóxico (LANNO *et al.*, 1989).

De acordo com os protocolos para testes de toxicidade, como os recomendados pela EPA (Environmental Protection Agency), o zooplâncton não é alimentado durante os testes de toxicidade aguda para evitar qualquer possibilidade de interação do alimento com uma substância tóxica, o que poderia modificar a resposta final do experimento. Porém, com o aumento da popularidade dos testes de toxicidade com o zooplâncton, passou a ser importante investigar quais seriam os fatores modificadores e como atuariam nos resultados finais desses testes (HAURI & HORNE, 2004).

No presente trabalho foram realizados testes de toxicidade aguda com *D. similis* aos metais cádmio e cromo e, concomitantemente, comparou-se esses resultados quando os organismos-teste foram expostos aos referidos metais juntamente com diferentes densidades das algas *Selenastrum capricornutum* e *Microcystis aeruginosa*. A presença de diferentes densidades celulares de *Selenastrum capricornutum* (10^5 e 10^6 células/mL), nos testes de toxicidade aguda de *Daphnia similis* ao cádmio e ao cromo não alterou significativamente o valor médio da CE(I)50; 48h do organismo-teste aos metais. Outro padrão de resposta foi verificado na presença de células de *M. aeruginosa*, obtendo-se aumento no valor da CE(I)50; 48h para o cádmio e diminuição desse valor para o cromo.

Análises de metais realizadas no final dos testes de toxicidade aguda com os metais e o cladóceros na presença de *S. capricornutum* revelaram que, com o aumento da

densidade algal, não houve maior retenção dos íons pela alga. A concentração de metal na fração dissolvida não se modificou significativamente nos diferentes tratamentos com e sem células algais. A maior densidade algal utilizada não representou uma fonte adicional de intoxicação ao zooplâncton. Além disso, as células algais não parecem ter promovido melhor estado fisiológico dos organismos, ou seja, não os tornaram mais resistentes ao estresse dos metais. Tais fatos contribuíram para que não houvesse uma alteração significativa no valor da CE(I)50; 48h dos metais cádmio e cromo para *D. similis*. Em relação aos testes com *D. similis* na presença de *M. aeruginosa*, as análises de metais não foram realizadas.

Resultados contrários ao do presente estudo foram verificados por MANGAS-RAMÍREZ *et al.* (2002), que testaram o efeito de diferentes densidades da alga *Chlorella vulgaris* na toxicidade da amônia aos cladóceros *C. dubia* e *M. macrocopa*. Os autores observaram que as células algais reduziram a toxicidade da amônia para ambas as espécies estudadas. Segundo os autores, o papel da densidade algal, que influencia a toxicidade de certas substâncias ao zooplâncton, é de grande interesse, pois mudanças na densidade e na diversidade de certos grupos algais em corpos d'água poluídos acarretarão padrões diferentes de respostas do zooplâncton aos contaminantes.

Em estudo realizado com rotíferos, por SARMA *et al.* (2000), também foi verificado que a presença de 3.10^6 céls/mL de *Chlorella vulgaris* reduziu a toxicidade aguda dos metais cádmio, cobre e mercúrio para as espécies *Brachionus calyciflorus* e *Brachionus patulus*. A diminuição da toxicidade aos metais foi relacionada ao aumento da taxa de ingestão da alga pelos rotíferos, com conseqüente aumento da resistência ante os efeitos dos contaminantes.

A redução da imobilidade de *Ceriodaphnia dubia*, em teste de toxicidade aguda ao cobre, foi constatada por HAURI & HORNE (2004) quando forneceram uma dieta alimentar em alta dose (10^7 céls/mL de *S. capricornutum*, fermento e ração para peixes) aos indivíduos. Tal fato foi atribuído ao pequeno decréscimo da fração dissolvida do cobre, mas, principalmente, ao melhor estado nutricional dos organismos. Segundo os autores, houve um depósito de alimento no fundo dos frascos-teste que promoveu menor interação do alimento com o metal e, assim, baixa retenção. No presente trabalho, também observou-se um depósito de células de *Selenastrum capricornutum* no fundo dos recipientes-teste, o que poderia ter contribuído para a baixa retenção de metal pela alga e, conseqüentemente, a ausência de alteração significativa no valor da CE(I)50; 48h nos diferentes tratamentos. Os trabalhos anteriormente discutidos

utilizaram uma densidade algal superior (3.10^6 e 10^7 céls/mL) em relação à empregada neste trabalho e apenas uma repetição do experimento, enquanto neste trabalho utilizou-se valores médios de seis repetições para cada teste, com ambos os metais, objetivando verificar a repetibilidade dos resultados obtidos.

A presença de células de *M. aeruginosa* revelou resultados diferentes daqueles verificados com a clorofícea, com aumento do valor médio da CE(I)50; 48h do cádmio e diminuição do valor da mesma ao cromo para *D. similis*. A produção de polissacarídeos por várias espécies de cianofíceas e clorofíceas tem sido verificada (LOMBARDI & VIEIRA, 1998, 1999), os quais ligam-se a metais e reduzem a sua toxicidade. A produção desse material orgânico é, predominantemente, observada na fase estacionária de crescimento algal.

Estudos realizados com exopolissacarídeos da cianofícea *Anabaena spiroides* demonstraram a redução da toxicidade aguda do cobre para *Ceriodaphnia cornuta* (CHOUERI, 2004) e para *Simocephalus serralatus* (NOGUEIRA, 2002) devido à redução da concentração do cobre livre. As células algais utilizadas no presente estudo estavam na fase exponencial de crescimento, em um período caracterizado pela menor produção de polissacarídeos. De acordo com LOMBARDI & VIEIRA (1999), alguns ligantes específicos a certos metais já foram detectados nas fases iniciais do crescimento de certas algas.

O padrão de interação entre uma alga e um metal varia de acordo com a espécie de alga e o metal em estudo. LAUBE *et al.* (1980) verificaram que os metais cádmio e cobre associaram-se à fração citoplasmática da clorofícea *Ankistrodesmus braunii*, enquanto a cianofícea *Anabaena variabilis* liberou mais componentes orgânicos que se ligaram preferencialmente ao cobre no meio. SUROSZ & PALINSKA (2004) verificaram que a cianofícea *Anabaena flos-aquae* reteve mais cobre do que cádmio em suas células e em sua bacia.

As condições em que os testes de toxicidade aguda foram realizados (ausência de luz e curto período de exposição) poderiam ter influenciado nas interações dos metais com as algas. De acordo com SHEHATA *et al.* (1999), a capacidade de *Chlorella vulgaris* para reter cádmio aumenta com o decorrer do tempo de exposição ao metal, com a biomassa algal presente e com a temperatura. GORBI *et al.* (2001) verificaram que a retenção de cromo pela clorofícea *Scenedesmus acutus* foi dependente da intensidade luminosa. Já para cianofíceas, GARNHAM & GREEN (1995)

observaram que a retenção de cromo foi relativamente baixa e independente da presença de luz.

De modo geral, analisando a curva dose-resposta para os metais e os organismos-teste (*D. similis*, *S. capricornutum* e *M. aeruginosa*) (Figura 3.9), verifica-se que somente o cádmio foi tóxico para *D. similis* a uma concentração superior àquela verificada para *S. capricornutum* (como apresentado no Capítulo 2). Como anteriormente discutido, apesar de essa alga reter cádmio, no presente estudo, este encontrou-se predominantemente na forma dissolvida.

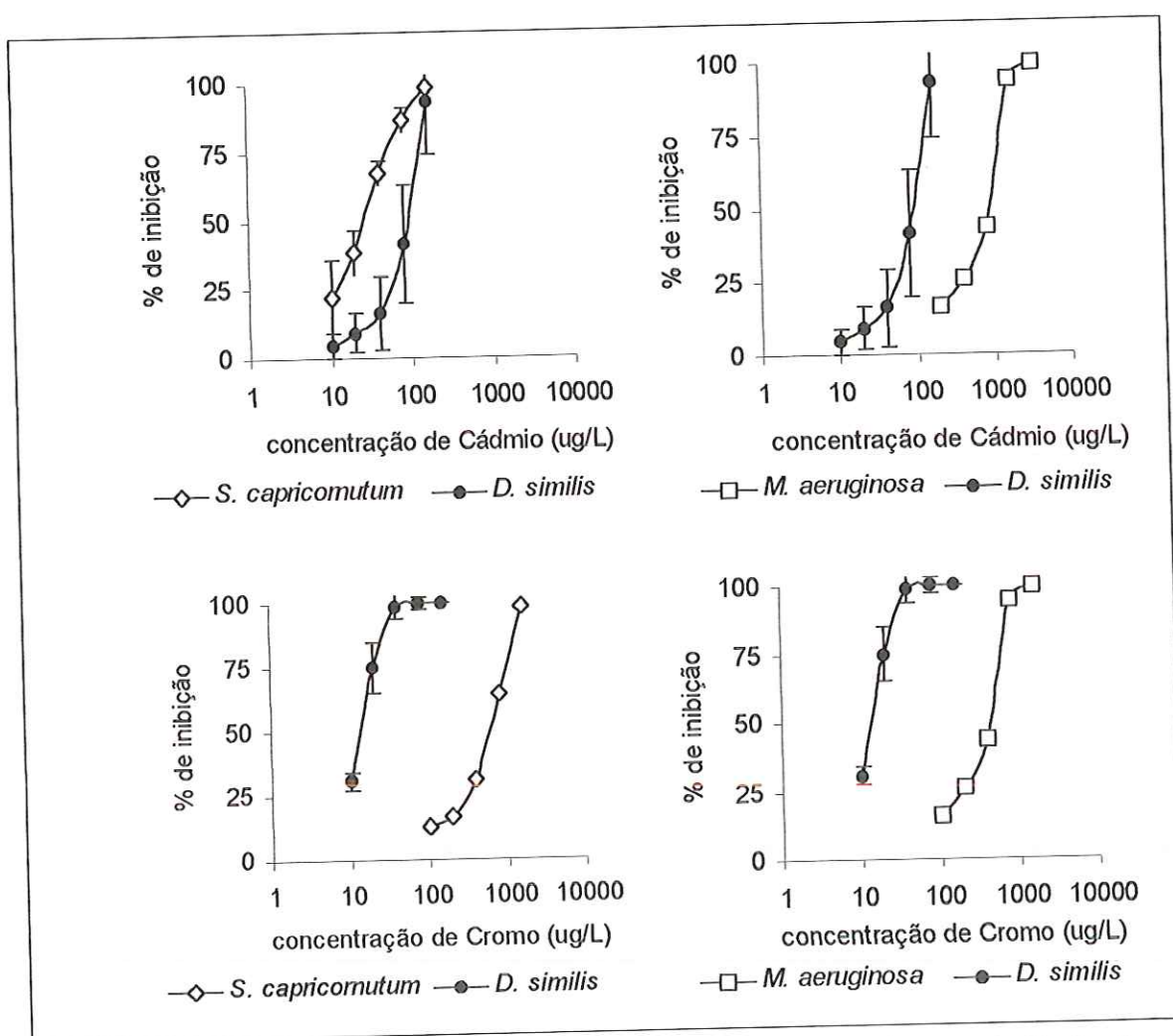


Figura 3.9 — Comparação das curvas de dose-resposta dos metais em relação às algas *Selenastrum capricornutum* e *Microcystis aeruginosa* e o cladóceros *Daphnia similis* (em condições de ausência de alimento). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

Em relação aos resultados obtidos para o cromo, CORRADI *et al.* (1998) verificaram que o cromo retido pelas células de *Scenedesmus acutus* não estava disponível para os organismos consumidores desta alga. De acordo com GORBI *et al.*

(2002), a redução do efeito tóxico desse metal na alga não seria apenas resultado da redução Cr^{+6} para Cr^{+3} (forma menos tóxica) devido à produção de carboidratos e proteínas em resposta à exposição ao metal, mas sim a uma interação específica entre exudatos e células algais. A presença de matéria orgânica na superfície da célula algal retardaria a difusão do metal na célula e seus efeitos tóxicos.

As concentrações consideradas tóxicas de cádmio ($78,52\mu\text{g/L}$) e de cromo ($30,38\mu\text{g/L}$) para *D. similis* não são capazes de causar nenhum efeito tóxico em *M. aeruginosa* (como anteriormente visto no Capítulo 2). Essa alga retém esses metais em baixa concentração, principalmente o cádmio. A quantidade de cádmio disponível ao zooplâncton através das células da cianofíceas seria insignificante. Além disso, a possível presença de polissacarídeos liberados por essa espécie poderia ter disponibilizado menos cádmio para *D. similis* e, conseqüentemente, aumentado o valor da CE(I)50; 48h do cádmio para o zooplâncton. A observação de que alguns polissacarídeos algais complexam metais tem uma importante implicação ecológica, ou seja, esses compostos são capazes de se ligar a esses elementos sob condições naturais e afetar o destino e o efeito dos metais nos sistemas aquáticos.

CAPÍTULO 4

Efeitos das interações entre densidades algais e metais sobre a fecundidade e a sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera, Crustacea)

RESUMO

Nos ambientes aquáticos, os organismos estão expostos tanto a metais dissolvidos na água como presentes na cadeia trófica. É necessário um maior conhecimento sobre as possíveis rotas de exposições aos metais e sobre os efeitos tóxicos desses elementos nos invertebrados aquáticos. No presente estudo, investigou-se os a influência de diferentes densidades da alga *Selenastrum capricornutum* (alta, média e baixa) sobre os efeitos tóxicos crônicos dos metais cádmio e cromo em *Ceriodaphnia dubia* quando dissolvidos em solução e também a importância de diferentes concentrações de células algais expostas aos referidos metais como vias de contaminação ao microcrustáceo. O alimento influenciou na toxicidade dos metais ao zooplâncton. Alta densidade de alimento (10^6 céls/mL) influenciou negativamente na reprodução e na sobrevivência do cladócero *Ceriodaphnia dubia* quando submetido a exposições com concentrações subletais dos metais, sendo considerada uma rota de exposição aos metais juntamente com a água. Alimento exposto aos metais e fornecido em alta e em média densidade também afetou a sobrevivência e a reprodução dos organismos-teste.

4.1 INTRODUÇÃO

Até algum tempo atrás, a atividade alimentar havia sido largamente ignorada nos estudos de acumulação de metais traços e da biodisponibilidade desses contaminantes para os invertebrados aquáticos, presumivelmente porque a ingestão de partículas alimentares não era considerada uma importante fonte de retenção de metais nos estudos anteriores. Recentemente, muitos estudos enfocam os efeitos dos metais sobre a sobrevivência, o crescimento e a reprodução de organismos filtradores submetidos a diferentes condições alimentares, tanto em estudos realizados em laboratório como em campo (REINFELDER *et al.*, 1998).

Muitos testes de toxicidade baseiam-se em protocolos que examinam apenas as respostas de organismos-teste a uma faixa de concentração de elementos tóxicos dissolvidos e não avaliam o impacto destes através de uma rota alimentar. O alimento, representado pelas células algais, pode ser considerado tanto uma rota de contaminação de agentes tóxicos aos organismos (HOOK & FISHER, 2001) como um retentor de sua toxicidade. Metais adsorvidos a partículas de alimento podem ser liberados no trato digestivo de organismos filtradores (TAYLOR *et al.*, 1998) e exercer efeitos tóxicos. Por outro lado, a toxicidade de metais poderá ser reduzida devido à capacidade das algas em complexar tais elementos (LOMBARDI *et al.*, 2000) ou de aumentar a resistência de um organismo ao metal, em decorrência do incremento de seu estado nutricional (CHANDINI, 1989).

Dentro deste contexto, pesquisas anteriores já enfocavam a influência da dieta alimentar nas respostas dos organismos aos agentes tóxicos. De acordo com WINNER *et al.* (1977), *Daphnia magna* alimentada com células de *Chlamydomonas reinhardtii* enriquecida com vitaminas foi menos sensível ao cobre quando comparada com dafnídeos alimentados com ração de truta. CHANDINI (op. cit.), realizando testes de toxicidade crônica com cádmio, verificou redução na toxicidade do metal para *Daphnia carinata* em elevadas concentrações de alimento. Segundo o autor, a taxa de assimilação

do alimento pelo trato digestivo dos organismos foi afetada pelo cádmio. Em baixos níveis de alimento e em altas concentrações do metal, houve pobre assimilação de nutrientes e baixa aquisição de energia para manutenção das funções biológicas (crescimento e reprodução). Contudo, em elevadas concentrações de alimento, o efeito estressor do cádmio foi compensado pela maior disponibilidade de alimento e, assim, os efeitos tóxicos nos organismos foram menores.

Estudos de bioacumulação de metais têm sido desenvolvidos utilizando organismos de diferentes níveis tróficos em ecossistemas de água doce e marinha. Neste sentido, MEMMERT (1987), investigando a retenção do metal zinco por partículas de alimento (*Chlorella* sp.) em *Daphnia magna* (Crustacea), verificou que o zooplâncton acumulava zinco em alta proporção e que a retenção desse metal ocorria devido à ingestão de partículas de alimento. Pesquisas realizadas por JAK *et al.* (1996) revelaram alterações no desenvolvimento da população de *Daphnia magna*, quando exposta a uma mistura de metais (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb e Zn), sendo que em alta e em média concentrações de metais houve redução acentuada do desenvolvimento populacional dos organismos. O nível de metais presentes no zooplâncton aumentou proporcionalmente com a concentração de metal na água, e o alimento foi considerado uma possível fonte desses contaminantes aos organismos.

MUNGER & HARE (1997) têm focalizado a importância do alimento como fonte de cádmio em outro Cladocera, *Ceriodaphnia dubia*, e têm verificado que o alimento parece ser uma importante rota para a retenção de metal nesse organismo. A associação de metais e de outros contaminantes às superfícies de partículas alimentares pode acarretar implicações nos caminhos em que os testes de toxicidade devem ser conduzidos e interpretados, pois a alimentação do organismo-teste pode modificar a toxicidade do contaminante de diferentes modos (ROBINSON *et al.*, 2003).

GORBI *et al.* (2002), avaliando o efeito crônico do cromo sobre *Daphnia magna* em diferentes densidades de alimento (*Scenedesmus acutus*), constataram que o principal efeito deste metal foi a redução da longevidade dos organismos-teste e isto foi independente da disponibilidade de alimento, porém, parâmetros como reprodução, fecundidade e tamanho dos neonatos foram influenciados negativamente pela maior densidade de alimento e altas concentrações de cromo. Tais resultados demonstraram a ineficiência da alga em reduzir a toxicidade aos organismos, porém, ressaltaram o papel do alimento na disponibilidade do contaminante.

Com o objetivo de investigar a importância da água e do alimento como fonte de contaminantes para organismos aquáticos, BARATA *et al.* (2002) submeteram neonatos de *Daphnia magna* a três diferentes tratamentos com cádmio (apenas água contaminada, apenas alimento contaminado e água mais alimento contaminados). Os autores confirmaram que, apesar de a água ser uma importante rota de contaminação de cádmio para *Daphnia magna*, uma quantidade substancial do metal foi retida pelos organismos-teste através do alimento contaminado e que a retenção de cádmio foi independente da fonte e aditiva em seu efeito (organismos-teste em contato com água mais alimento contaminados acumularam maior quantidade de metal).

As diversas interações existentes entre os organismos e seu ambiente têm revelado que outros mecanismos podem também desempenhar papéis significativos no destino e nos efeitos dos agentes tóxicos dentro dos ecossistemas aquáticos. A redução na toxicidade devido ao decréscimo na concentração efetiva do elemento químico pela adsorção nas partículas alimentares ou efeitos tóxicos decorrentes da ingestão desse alimento intoxicado deve ser considerada. Estudos desenvolvidos neste sentido são necessários para um melhor entendimento das possíveis conseqüências da presença de metais nos sistemas aquáticos.

4.2 OBJETIVOS

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos tóxicos agudo e crônico dos metais cádmio e cromo em *Ceriodaphnia dubia* e investigar a influência de células algais sobre a toxicidade crônica desses metais no organismo-teste quando exposto aos tóxicos via água e alimento. Para tanto, foram determinados:

- 1) a faixa de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* aos metais;
- 2) o efeito crônico dos metais sobre a fecundidade e a sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia*, por meio de exposições aos metais via água, quando alimentada com diferentes densidades da alga *Selenastrum capricornutum* (Chlorophyceae);
- 3) os efeitos crônicos, avaliados por meio dos parâmetros fecundidade e sobrevivência, em *Ceriodaphnia dubia* quando alimentada com diferentes densidades da alga *Selenastrum capricornutum* expostas aos metais.

4.3 MATERIAIS E MÉTODOS

4.3.1 Manutenção, cultivo e testes de sensibilidade do organismo-teste

Os exemplares de *Ceriodaphnia dubia* para o cultivo foram provenientes das culturas-estoque mantidas no Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia de Organismos Aquáticos do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA - USP). Os organismos foram mantidos em béqueres de 2000mL de capacidade com 2000mL de água de manutenção. A água de manutenção foi água reconstituída, composta por água destilada com valores de dureza ajustados para a faixa requerida de 40 a 48mg/L de CaCO₃, de pH para a faixa de 7,2 e 7,6 e de condutividade elétrica próximo a 160µS/cm, de acordo com a Norma ABNT (2005).

O ajuste da dureza foi obtido adicionando-se uma solução contendo 1,5 g.L⁻¹ de sulfato de cálcio (solução 1) e uma segunda solução contendo 0,2 g.L⁻¹ de cloreto de potássio, 4,8 g.L⁻¹ de bicarbonato de sódio e 6,1 g.L⁻¹ de sulfato de magnésio (solução 2), considerando que, para cada miligrama de dureza a ser aumentado, foi acrescentado 0,5mL da solução 1 e 0,25mL da solução 2 por litro de água a ser ajustado. A medida da dureza total foi realizada por meio da titulação por EDTA. O valor do pH foi reajustado, quando necessário, com HCL 1N ou NaOH 1N (ABNT, op. cit.). Os valores de pH, dureza e condutividade foram verificados todas as vezes em que o meio de cultivo foi utilizado.

A troca da água de manutenção e a alimentação dos organismos foram realizadas três vezes por semana. No início de cada lote, 60 indivíduos da espécie *Ceriodaphnia dubia* foram cultivados em béqueres com 2 litros de água de cultivo. A cada 15 dias, novos lotes de organismos foram montados com indivíduos com idade em torno de 24 horas. Esse procedimento teve por finalidade manter lotes de organismos com idades controladas. Os béqueres com os organismos foram mantidos em incubadora a 23°C ± 2, com fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro), conforme metodologia descrita em ABNT (op. cit.).

4.3.1.1 Alimentação do organismo-teste

A clorofícea *Selenastrum capricornutum* foi cultivada em meio de cultura L.C Oligo (AFNOR, 1980), o qual foi autoclavado por 20 minutos, a 121°C, em erlenmeyer de 2000mL de capacidade contendo 1000mL de meio. Após a inoculação, que partiu de uma concentração estimada em torno de 1×10^4 células/mL, a cultura ficou sob iluminação (com fotoperíodo de 12 horas) de 4000lux), aeração constante e temperatura controlada em $20^\circ\text{C} \pm 2$ (WWW/APHA, 1995).

Quando o cultivo atingiu a fase exponencial de crescimento, este foi deixado para decantar na geladeira. O sobrenadante foi desprezado com o objetivo de evitar a presença de possíveis nutrientes do meio não aproveitáveis pelas algas ou seus metabólitos e o material precipitado foi ressuscitado em água reconstituída. As suspensões algais, utilizadas como alimento, foram preparadas após a contagem do número de células em um hemocítmetro Improved Neubauer-Bright Line, sob microscópio óptico, para verificação da densidade algal na cultura. Culturas que apresentaram densidades em torno de 10^5 céls/mL foram utilizadas como alimento.

Outro alimento administrado foi o alimento composto. Este alimento foi preparado com ração para peixe (Vitormônio[®]) e fermento biológico seco tipo Fleischmann[®]. Em relação ao preparado com a ração para peixe, 5g de vitormônio foram adicionados em 1000mL e esta solução foi mantida coberta com papel alumínio, sob aeração contínua, por uma semana. Após o término desse período, a solução ficou sedimentando por algumas horas e, posteriormente, o sobrenadante foi filtrado em rede de plâncton de aproximadamente 45 μm , sendo que o material sedimentado foi descartado. A solução final foi distribuída em frascos de 30 a 50mL devidamente etiquetados o qual permaneceram em freezer a -4°C até o momento do uso.

No momento do uso do alimento composto para alimentação dos organismos, 0,25g de fermento biológico foi pesado e diluído em 50mL de água destilada. O alimento composto foi preparado misturando-se partes iguais de 25mL do preparado de ração para peixe e de levedura, sendo utilizado diariamente 1mL/L desse preparado, junto com a suspensão algal.

4.3.1.2 Teste de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia*

Como o controle das condições fisiológicas de clones de espécies utilizadas em testes de toxicidade é uma prática recomendada, foram realizados preliminarmente

testes de sensibilidade com uma substância de referência. Nesses testes, observou-se a imobilidade ou a mortalidade dos organismos quando expostos a diferentes concentrações da substância de referência.

Para a avaliação da sensibilidade de culturas de *Ceriodaphnia dubia* foi utilizado o cloreto de sódio (NaCl) como substância de referência. Os organismos foram considerados saudáveis para o teste quando o valor de CE(I)50; 48h situou-se entre 1,26 e 1,96g/L de NaCl. Tal faixa foi estabelecida com base no cultivo desses organismos-teste no Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia de Organismos Aquáticos (CRHEA-USP).

4.3.2 Estudos de toxicidade

4.3.2.1 Determinação da faixa de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* aos metais cádmio e cromo

Testes de toxicidade aguda com *Ceriodaphnia dubia* para os metais em estudo foram realizados com o objetivo de encontrar as faixas subletais dos metais para o referido organismo a serem utilizadas nos testes de toxicidade crônica.

Organismos com idade inferior a 24 horas foram expostos a diferentes concentrações de cádmio e cromo. Nos testes foram utilizados 5 organismos, em 3 ou 4 réplicas, dependendo da disponibilidade de organismos, em frascos-teste contendo 10mL de solução de cada metal. A duração do teste foi de 48 horas, efetuando-se, após esse período, a contagem de organismos móveis e imóveis. Medidas dos valores de pH, de condutividade e da dureza da água testada foram realizadas no início e no final dos testes. Com os resultados obtidos nos testes foi determinada a concentração efetiva mediana CE(I)50, 48h ou seja, a concentração que causou imobilidade a 50% dos organismos, nas condições do teste, em 48 horas de exposição (ABNT, 2005).

Conforme já citado para os testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis* (Capítulo 3), as soluções-teste de Cd e Cr foram preparadas, em balões de ensaio com auxílio de pipetas volumétricas, a partir de uma solução-estoque de 1000mg/L de Cd (solução-padrão de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ para absorção atômica, Marca J. T. Backer) e de 50mg/L de Cr ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, Marca Merck), respectivamente. O meio de diluição utilizado foi a água reconstituída. As concentrações de metais escolhidas foram baseadas em experimentos realizados anteriormente por OLIVEIRA-NETO (2000), que utilizou valores entre 20 $\mu\text{g/L}$ e 640 $\mu\text{g/L}$ para cádmio e cromo em testes de toxicidade realizados com a espécie *Ceriodaphnia silvestrii*. Amostras provenientes das soluções-teste foram

coletadas e fixadas com ácido nítrico para a determinação da concentração de metal medida.

4.3.2.2 Testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia*

4.3.2.2.1 Avaliação do efeito de diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* sobre a toxicidade crônica em *Ceriodaphnia dubia* quando exposta aos metais cádmio e cromo

Os testes de toxicidade crônica foram conduzidos com 10 neonatos de *Ceriodaphnia dubia* com menos de 24 horas de idade, provenientes de culturas cujos organismos tivessem ao menos 14 dias e que já tivessem dado a segunda cria (ABNT, 2005). Um organismo-teste foi colocado em um frasco contendo 15mL de soluções de metais, totalizando 10 réplicas. Os organismos-teste foram alimentados com três diferentes densidades da alga (1.10^3 células/mL, 1.10^5 células/mL e 1.10^6 células/mL) quando expostas a diferentes concentrações de metais. As trocas das soluções e de alimento foram efetuadas a cada dois dias. Um controle teste, no qual não houve adição de metal também foi conduzido.

Dois controles foram realizados: um controle laboratorial (denominado CL), que continha a concentração de alimento normalmente utilizada na manutenção dos organismos-teste (1.10^5 células/mL) e alimento composto, e outro controle (denominado C), contendo somente a densidade algal a ser estudada. Tal procedimento é uma forma de testar as condições fisiológicas dos organismos a serem empregados nos testes. Testes de toxicidade crônicos são considerados válidos quando se observar nos organismos correspondentes ao controle sobrevivência nos adultos superior ou igual a 80% (ABNT, 2005) e com produção de, no mínimo, 15 neonatos por fêmea (MOORE *et al.*, 2000).

De acordo com ESPÍNDOLA (1994), a disponibilidade alimentar é considerada um fator biótico que controla o desenvolvimento do zooplâncton, afetando a sua reprodução, a taxa de crescimento dos indivíduos e a taxa de sobrevivência, atuando, portanto, como um importante regulador da população. Experimentos utilizando menores densidades algais como alimento daquelas normalmente utilizadas na manutenção dos organismos-teste poderiam resultar em menores números de neonatos produzidos pelas fêmeas nas condições controle e, deste modo, não atender às exigências de aceitabilidade do teste de toxicidade crônica.

As concentrações de metais empregadas nos testes de toxicidade crônica foram baseadas nos resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda realizados anteriormente, considerando a menor concentração que apresentou algum efeito tóxico, como a concentração mais alta e a partir desta concentração foram determinadas as demais. Os testes de toxicidade foram realizados em temperaturas de $23^{\circ}\text{C} \pm 2$, com fotoperíodo de 12 horas e com a duração de sete a dez dias, período necessário para a produção da 3ª geração, sendo registrado o número de neonatos produzidos ao longo do experimento. Os dados de sobrevivência foram obtidos acompanhando-se a mortalidade dos organismos até o final do experimento (ABNT, 2005). Os valores das variáveis pH, condutividade e dureza total foram obtidos no início e no final dos testes.

4.3.2.2.2 Avaliação do efeito crônico em *Ceriodaphnia dubia* exposta a diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* contaminadas com os metais cádmio e cromo

Células de *Selenastrum capricornutum*, na fase exponencial de crescimento, foram expostas, por um período de 96 horas, ao cádmio e ao cromo. De acordo com HOOK & FISCHER (2002), esse é o tempo necessário para que cada célula tenha uma concentração uniforme de metal. As concentrações de metais utilizadas na intoxicação da alga *Selenastrum capricornutum* foram concentrações próximas ou iguais àquelas que causaram inibição de 50% do crescimento algáceo (HOOK & FISCHER, 2001). As faixas de intoxicação da alga aos metais foram de 10, 20 e 40 $\mu\text{g/L}$ de cádmio e de 100, 200, 400 e 800 $\mu\text{g/L}$ de cromo, com base nos resultados apresentados no Capítulo 2.

Decorrido o período de 96 horas de exposição da alga aos metais, as amostras foram coletadas e as células algais foram lavadas por meio de centrifugação (1500rpm, por 20 minutos, em centrífuga FANEM Excelsa modelo 206 PM) com água reconstituída e ressuspensas em água de cultivo do zooplâncton (água reconstituída). As suspensões algais intoxicadas foram utilizadas como alimento, em testes de toxicidade crônica, após a contagem do número de células em um hemocitômetro Improved Neubauer-Bright Line, sob microscópio óptico, para verificação das densidades algais. Esse alimento foi armazenado em frascos envoltos com papel alumínio para assegurar ausência de luz, os quais foram colocados na geladeira até o momento do uso (BARATA *et al.*, 2002).

Os testes de toxicidade crônica foram realizados com 10 neonatos de *Ceriodaphnia dubia*, em 10 frascos contendo 15mL de água de manutenção. Um

neonato foi colocado em cada réplica e alimentado com as diferentes densidades da alga em estudo (1.10^4 céls/mL, 1.10^5 céls/mL e 1.10^6 céls/mL) previamente expostas a diferentes concentrações de metais. Trocas da água e de alimento foram realizadas a cada dois dias (ABNT, 2005). Nos experimentos controle, as culturas foram mantidas em condições normais de cultivo e, portanto, com adição de alimento sem exposição prévia aos metais (WELTENS *et al.*, 2000). Dois controles também foram conduzidos, sendo um controle laboratorial (denominado CL e com células de *Selenastrum capricornutum* a uma densidade de 1.10^5 céls/mL e alimento composto) e um outro controle denominado C (somente com a densidade da alga em estudo).

Os testes de toxicidade foram realizados em temperaturas de $23^\circ\text{C} \pm 2$, com fotoperíodo de 12 horas com a duração de sete a dez dias, período necessário para a produção da 3ª geração, sendo registrado o número de neonatos produzidos ao longo do experimento. Os dados de sobrevivência foram obtidos acompanhando-se a mortalidade dos organismos até o final do experimento. As variáveis pH, condutividade e dureza total foram obtidas no início e no final dos testes.

4.3.2.3 Análise de metais

4.3.2.3.1 Determinação das frações total, particulada (presentes nas células algais e no zooplâncton) e dissolvida de metal em testes de toxicidade crônica com cádmio e *Ceriodaphnia dubia* quando exposta a diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas ou não com o referido metal

Com o objetivo de avaliar o efeito da densidade algal sobre a toxicidade crônica do cádmio para *Ceriodaphnia dubia*, amostras de água e zooplâncton foram coletadas no final de testes de toxicidade crônica para determinação das frações total, particulada (nas células algais e no zooplâncton) e dissolvida do metal.

Os testes de toxicidade crônica foram realizados com organismos com idade inferior a 24 horas, provenientes de culturas cujos organismos tivessem ao menos 14 dias e que já tivessem dado a segunda cria. Cinquenta organismos-teste foram colocados em frascos contendo 150mL de soluções de metais, totalizando 5 réplicas. Os organismos-teste foram expostos a concentrações subletais do metal e alimentados com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* (1.10^5 céls/mL e 1.10^6 céls/mL). Trocas das soluções e de alimento foram efetuadas a cada dois dias. Um controle teste no qual não houve adição de metal também foi conduzido (ABNT, 2005).

O procedimento anterior também foi adotado nos testes de toxicidade crônica utilizando células algais previamente intoxicadas. Cinquenta neonatos de *C. dubia*, divididos em cinco réplicas, foram alimentados com duas diferentes densidades algais de *S. capricornutum* anteriormente expostas por 96 horas aos metais. Um controle com adição de alimento sem exposição prévia aos metais foi realizado.

No final de ambos os testes de toxicidade, os organismos foram coletados e deixados por aproximadamente 12 horas em água de cultivo, a fim de que eliminassem células algais enriquecidas com os metais que não haviam sido assimiladas (BARATA *et al.*, 2002). Decorrido esse tempo, os cladóceros foram colocados novamente em água de cultivo e coletados por meio de filtração com auxílio de um filtro de 0,45µm de porosidade. Amostras das soluções-teste, no final desses experimentos, foram reservadas para determinação dos metais totais, dissolvidos e daqueles presentes nas células algais. Amostras para a determinação da fração total de metal foram coletadas e fixadas com ácido nítrico concentrado, sem nenhum tratamento prévio (filtração). Os metais dissolvidos foram aqueles, de uma amostra não acidificada, que passaram direto em membrana de 0,45µm de porosidade e os metais particulados (nas células algais e no zooplâncton) foram considerados aqueles que ficaram retidos no filtro (APHA/WWW, 1995).

A amostra considerada como a fração total de metal foi digerida com ácido nítrico e ácido clorídrico e diluída em água destilada. Para a determinação da fração de metal presente nas algas e nas fêmeas de *C. dubia*, os filtros contendo células algais e os cladóceros foram secos a 60°C por 24 horas e submetidos à digestão ácida (HNO₃ e H₂O₂ concentrados). A cada digestão de amostras foram digeridos 3 filtros para a determinação do branco analítico, conforme adaptado de VAN LOON (1985).

Todas as amostras foram analisadas por meio de espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (Varian AA 220). Os limites de detecção, calculados de acordo com MILLER & MILLER (1994), foi de 0,05µg/L para o Cd e de 0,81µg/L para o Cr.

4.3.4 Análise estatística

A concentração que causou imobilidade a 50% dos organismos, nas condições do teste, em 48 horas de exposição, foi determinada utilizando-se o programa computacional Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.*, 1977). Para o estabelecimento da

faixa de sensibilidade, calculou-se a média dos valores de CE50 obtidos e o desvio-padrão para cada grupo de testes. Com esses dados são estabelecidos o limite superior ($x + 2.DP$) e o limite inferior ($x - 2.DP$) (USEPA, 1985).

Nos testes de toxicidade crônica com o zooplâncton, o número de neonatos produzidos por fêmea de *Ceriodaphnia dubia* no controle e nos diferentes tratamentos foi submetido à análise de normalidade e homogeneidade, em seguida, ao teste de Dunnet (teste paramétrico) ou de Many-one de Steel (teste não-paramétrico). A partir desses dados foram calculado, os valores da CENO (a maior concentração do agente tóxico, na qual não são observados efeitos deletérios estatisticamente significativos na fecundidade dos organismos-teste), a CEO (a menor concentração do agente tóxico, na qual são observados efeitos deletérios significativos na fecundidade dos organismos-teste) e o VC (valor crônico, que representa a média geométrica dos valores de CENO e CEO). Diferenças significativas nos tratamentos (metal em solução e alimento intoxicado) em relação às três densidades algais utilizadas (alta, média e baixa) também foram analisadas pelo Teste de Tukey ou de Kruskal-Wallis (NIPPER, 2002).

A verificação da diferença significativa na sobrevivência dos organismos-teste entre os diferentes tratamentos e o controle, no final dos testes de toxicidade crônica, foi analisada por meio do Teste de Fisher's Exact. O programa computacional TOXSTAT VERSION 3.3 (GULLEY *et al.*, 1993) foi utilizado para aplicação desses testes.



4.4 RESULTADOS

4.4.1 Determinação da faixa de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* aos metais cádmio e cromo

Os resultados obtidos nos testes de sensibilidade para *C. dubia* estavam dentro dos limites aceitáveis, indicando uma condição satisfatória do organismo (Anexo C).

Na Tabela 4.1, nas Figura 4.1 e 4.2 e no Anexo C estão apresentados os resultados dos testes de toxicidade aguda com *Ceriodaphnia dubia* aos metais. A faixa de sensibilidade desse organismo ao cádmio, após a realização de 12 testes, foi de 34,50 a 85,21 $\mu\text{g/L}$, com valor médio de 59,85 $\mu\text{g/L}$. Em relação aos testes de toxicidade aguda com o cromo, a faixa de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* a este metal, após a realização de 12 testes, foi estabelecida entre 23,51 e 114,52 $\mu\text{g/L}$, com valor médio de 69,01 $\mu\text{g/L}$. Todos os valores da CE(I)50; 48h estiveram dentro dos limites estabelecidos no presente estudo.

Tabela 4.1 – Valores da concentração efetiva inicial mediana (CE(I)50; 48h) dos metais cádmio e cromo em $\mu\text{g/L}$ para *Ceriodaphnia dubia*.

Número do teste	CE(I)50;48h ($\mu\text{g/L}$) (Intervalo de confiança)	
	Cádmio	Cromo
1	34,50 (22,90-45,25)	78,00 (64,75-93,97)
2	54,81 (40,67-73,89)	108,03 (108,44-122,5)9
3	54,01 (41,87-73,89)	56,57 (49,86-64,18)
4	64,98 (50,99-69,69)	54,81 (40,67-73,89)
5	54,01 (43,67-66,870)	94,04 (79,44-11,33)
6	82,82 (70,89-96,63)	64,98 (56,31-74,98)
7	49,24 (39,27-61,67)	102,87 (90,48-116,96)
8	71,27 (57,42-88,46)	76,04 (57,99-99,74)
9	64,98 (51,33-81,95)	48,76 (37,93-53,15)
10	62,77 (53,31-73,90)	44,90 (36,52-54,52)
11	72,10 (59,16-87,88)	44,62 (28,61-83,11)
12	52,78 (45,20-61,63)	53,65 (43,77-65,77)
CE(I)50;48h média	59,85	69,01
Faixa de sensibilidade	34,50-85,21	23,51-114,52
Desvio-padrão (DP)	12,69	22,75
Coefficiente de variação	21,18%	32,96%

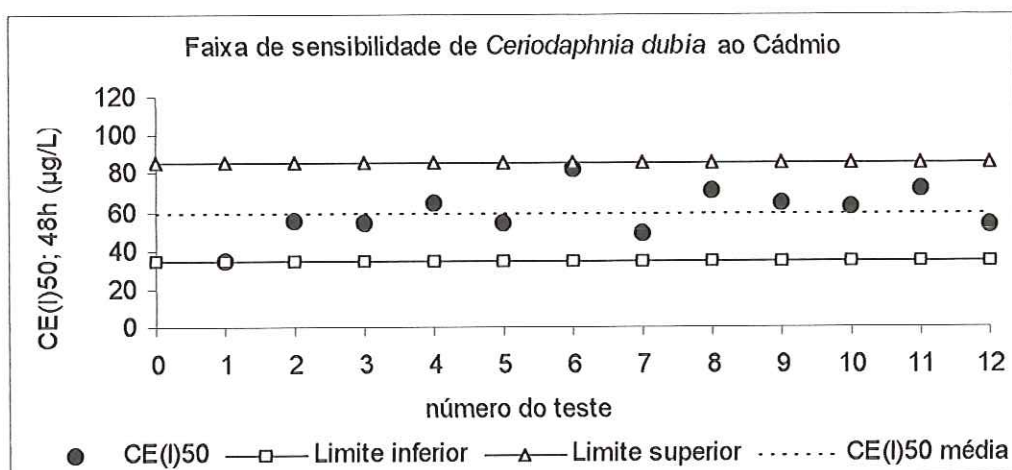


Figura 4.1 — Faixa de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* ao cádmio.

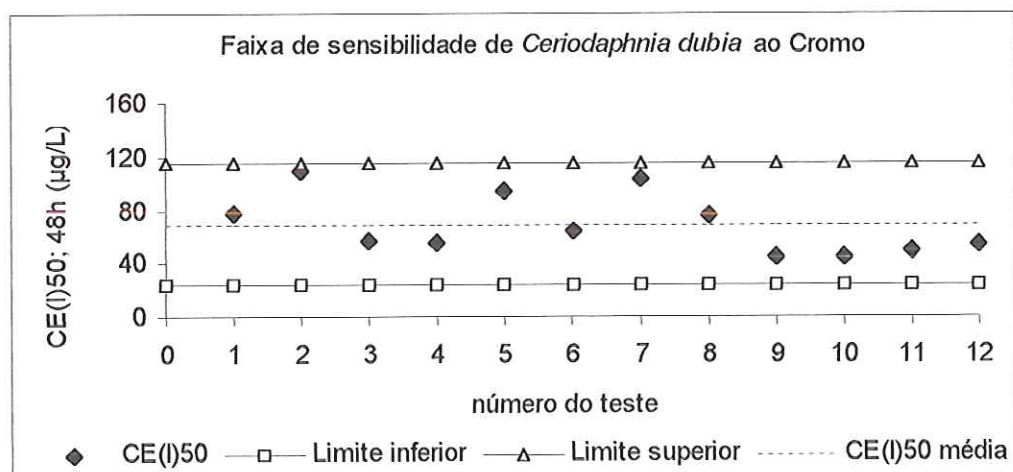


Figura 4.2 — Faixa de sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* ao cromo.

4.4.2 Testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia*

4.4.2.1 Avaliação do efeito de diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* sobre a toxicidade crônica em *Ceriodaphnia dubia* quando exposta aos metais cádmio e cromo

Os resultados dos testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* ao metal cádmio estão apresentados nas Figuras 4.3, 4.4, 4.5 e 4.6 e no Anexo C. As concentrações escolhidas para a realização desses testes foram de 1,25, 2,50, 5,00, 10,00 e 20,00µg/L de cádmio. Tais concentrações foram definidas com base nos resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda, considerando-se a menor concentração que causou algum efeito tóxico agudo, como a concentração mais alta a ser empregada nos testes de toxicidade crônica, ou seja, 20µg/L. Duas repetições dos testes de toxicidade crônica com o metal cádmio foram realizadas.

No primeiro teste crônico realizado, a concentração de 20,00µg/L de cádmio provocou um decréscimo na fecundidade e na sobrevivência de *C. dubia* na presença de alta e de média densidade de alimento. Por outro lado, efeitos tóxicos no organismo-teste, durante exposições a 5,00 e a 10,00µg/L de cádmio, apenas foram verificados em alta densidade de alimento. Em condições de baixa concentração de alimento (10^3 céls/mL), para ambos os testes de toxicidade crônica realizados, foi observada uma diminuição no número de neonatos produzidos por fêmea tanto no tratamento controle como nas concentrações do metal. A baixa densidade de alimento pode ter ocasionado uma diminuição na reprodução dos organismo-teste (Figura 4.3). Em uma repetição do mesmo teste com as diferentes densidades de alimento, efeitos significativos na reprodução dos organismos-teste foram observados apenas na mais alta concentração (20,00µg/L), tanto em alta como em média densidade de alimento (Figura 4.4).

Verificou-se maior redução média no número de neonatos produzidos por *C. dubia*, em relação ao obtido no tratamento controle, em alta densidade de alimento (reduções de 50%, 61% e 93%; em 5,00, 10,00 e 20,00µg/L de Cd, respectivamente) do que aquelas verificadas em média densidade de alimento para essas mesmas concentrações de metal (reduções de 45%, 53% e 73% em 5,00, 10,00 e 20,00µg/L de Cd, respectivamente).

Em relação aos valores da CEO, CENO e VC do cádmio para *C. dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica realizado, observou-se que tais valores são menores (CENO de 2,50µg/L, CEO de 5,00µg/L e VC igual a 3,75µg/L) na presença de elevada

densidade de alimento quando comparados com os resultados obtidos em média densidade de alimento (CENO de 10,00 $\mu\text{g/L}$, CEO de 20,00 $\mu\text{g/L}$ e VC igual a 15,00 $\mu\text{g/L}$).

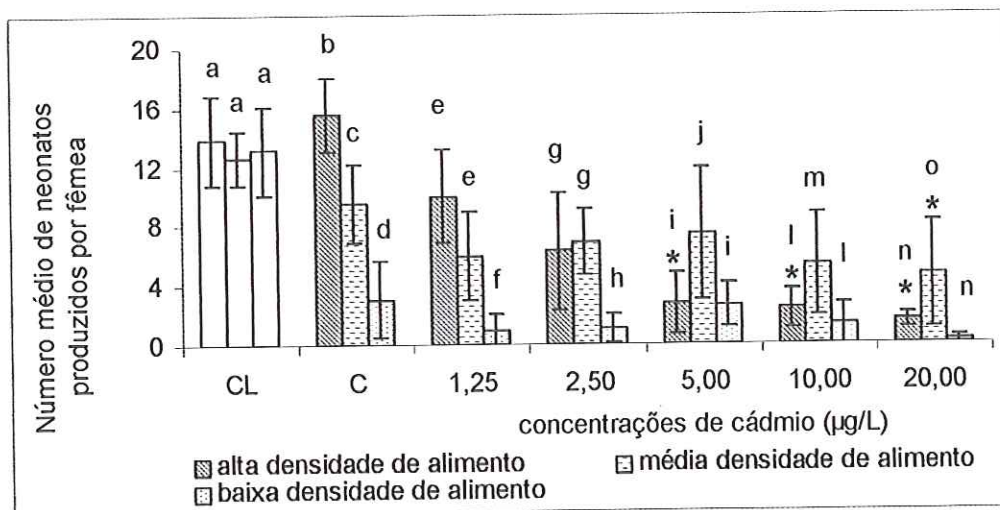


Figura 4.3 – Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica ao cádmio quando alimentadas com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. CL: controle laboratorial, C: controle. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes (Testes de Dunnetts e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o desvio-padrão.

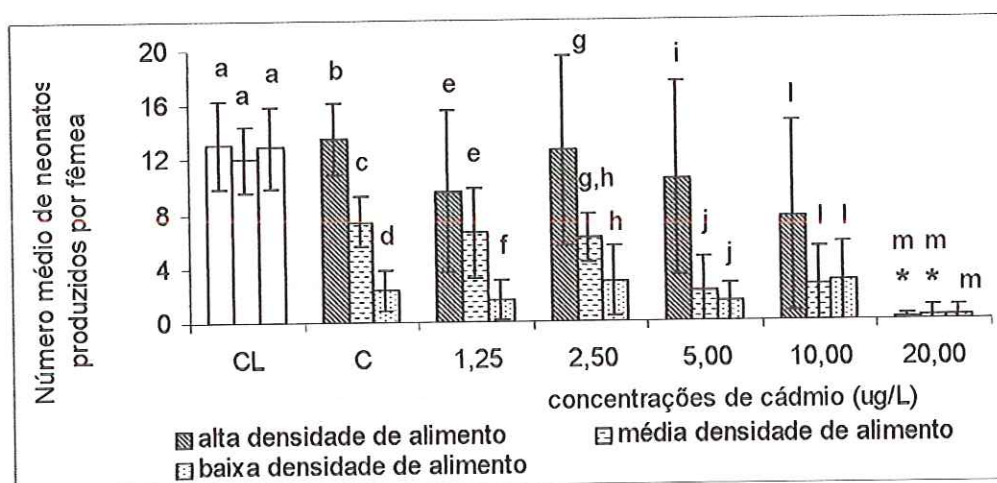


Figura 4.4 – Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica ao cádmio quando alimentadas com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. CL: controle laboratorial, C: controle. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. (Testes de Dunnetts e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro representam o desvio-padrão.

Outro parâmetro avaliado foi a sobrevivência do organismo-teste durante os testes de toxicidade crônica com o cádmio. No final do primeiro teste realizado, a sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* foi afetada quando alimentada com alta densidade de alimento nas concentrações de 5,00 a 20,00 $\mu\text{g/L}$ de cádmio. Em baixa densidade de alimento e em 20,00 $\mu\text{g/L}$ do metal, houve efeito também na sobrevivência de *C. dubia*. Durante a repetição do mesmo teste, na concentração de 20 $\mu\text{g/L}$ e em média densidade de alimento, ocorreu, no quarto dia de exposição, mortalidade de 70% dos organismos-teste (Figuras 4.5 e 4.6).

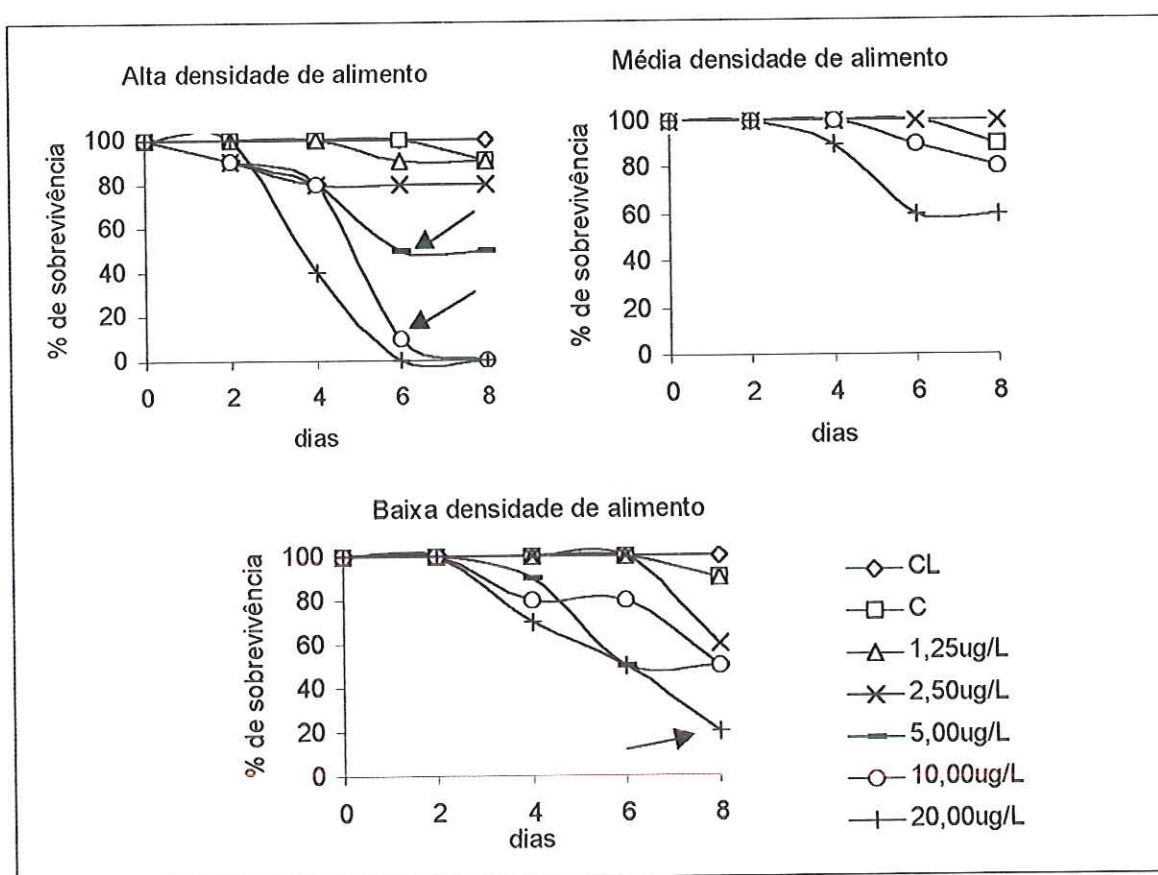


Figura 4.5 — Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica ao cádmio quando alimentadas com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência do organismo-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$).

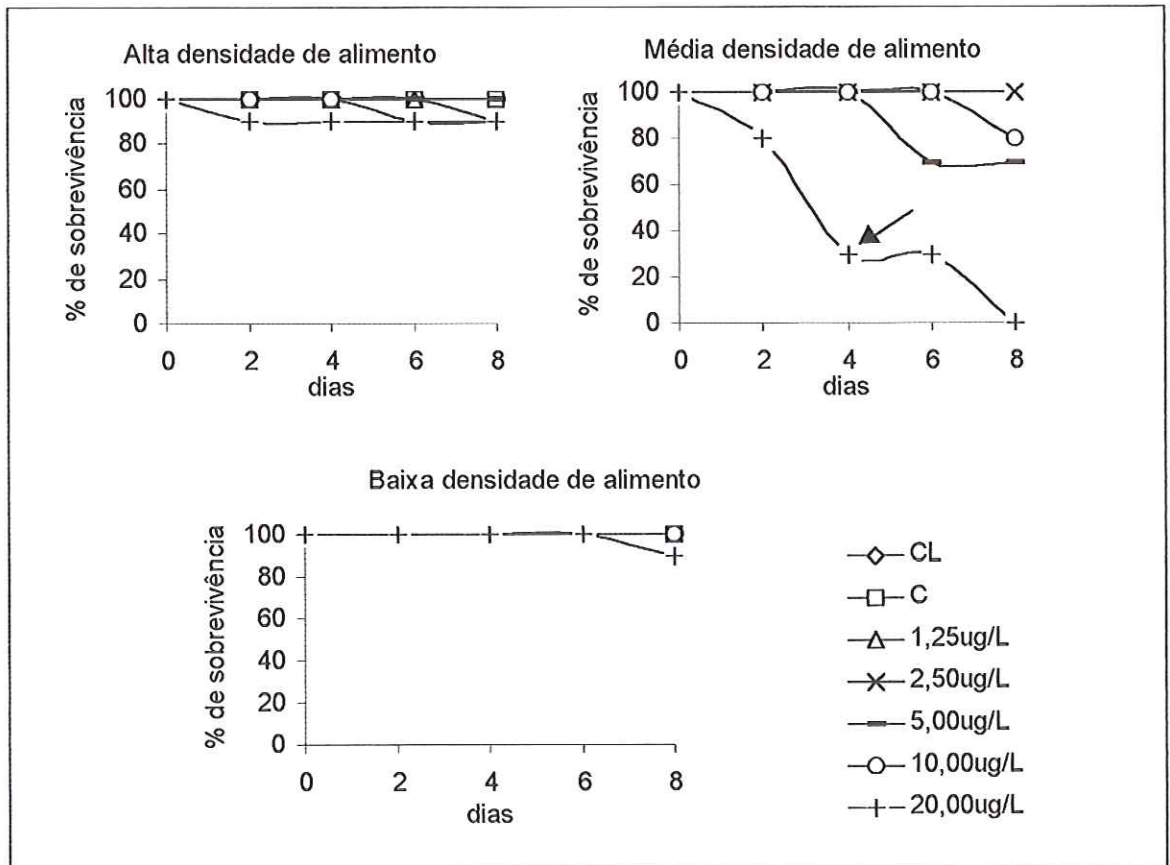


Figura 4.6 — Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica ao cádmio quando alimentadas com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência do organismo-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$).

Nas Figuras 4.7, 4.8, 4.9 e 4.10 e no Anexo C estão apresentados os resultados dos testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* ao metal cromo. As concentrações escolhidas para a realização desses testes foram de 2,50, 5,00, 10,00, 20,00 e 40,00µg/L de cromo. Duas repetições para o teste de toxicidade crônica com cromo foram realizadas.

Como verificado para os resultados obtidos com o cádmio, a presença de uma elevada densidade de alimento (10^6 céls/mL) também influenciou na toxicidade do metal ao organismo-teste. No primeiro teste de toxicidade crônica realizado, exposições a 40,00µg/L e em condições de alta e de média densidades de alimento afetaram negativamente a reprodução e a sobrevivência de *C. dubia*. Efeitos tóxicos crônicos ao cladocera, exposto a 10,00µg/L, foram verificados apenas quando o organismo foi alimentado com alta densidade de células algais. Em uma repetição do mesmo teste, com as diferentes densidades de alimento, efeitos significativos na reprodução dos organismo-teste foram observados apenas na mais alta concentração (40,00µg/L), independentemente da densidade algal oferecida (alta ou média densidade de alimento). Nas concentrações de 2,50, 5,00 e 20,00µg/L não houve diferença entre o número de neonatos produzidos mediante variação da densidade algal fornecida, com exceção do tratamento com baixa densidade algal (Figuras 4.7 e 4.8).

Não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao número de neonatos produzidos no tratamento controle nas condições de alta e média densidades de alimento. Em baixa concentração de alimento (10^3 céls/mL), para ambos os testes de toxicidade crônica realizados, ocorreu diminuição do número de neonatos produzidos pelas fêmeas no controle e em todas as concentrações do metal. A baixa densidade de alimento oferecida ocasionou diminuição na reprodução do organismo-teste, como verificado nos resultados obtidos para o cádmio.

A redução média no número de neonatos produzidos por *C. dubia*, quando comparada à do controle, na condição de alta densidade de alimento e nas concentrações de 10,00, 20,00 e 40,00µg/L (reduções de 40%, 37% e 78%; respectivamente) foi maior do que aquelas verificadas em média densidade de alimento para essas mesmas concentrações de cromo (10,00, 20,00 e 40,00µg/L e com reduções de 23%, 31% e 52%, respectivamente).

Os valores obtidos para CEO, CENO e VC do cromo para *Ceriodaphnia dubia*, no primeiro teste de toxicidade crônica realizado, são menores (CENO de 5,00µg/L,

CEO de 10,00 μ g/L e VC de 7,50 μ g/L) no tratamento com elevada densidade de alimento quando comparados com os obtidos em média densidade de alimento (CENO de 20,00 μ g/L, CEO de 40,00 μ g/L e VC de 30,00 μ g/L).

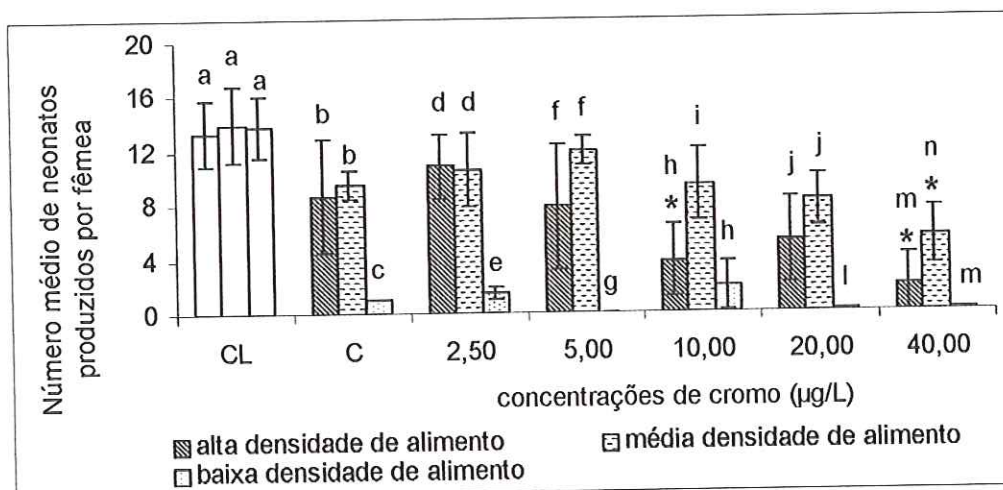


Figura 4.7 – Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica ao cromo quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. CL: controle laboratorial, C: controle. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes (Teste de Dunnetts e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

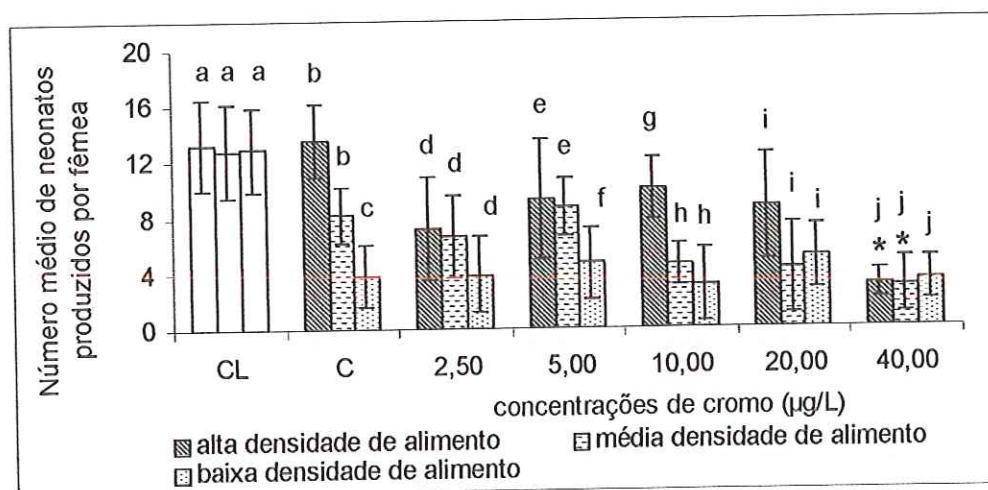


Figura 4.8 – Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica ao cromo quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. CL: controle laboratorial e C: controle. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes (Teste de Dunnetts e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

A sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia*, durante os testes de toxicidade crônica com o cromo, também foi afetada. No primeiro teste de toxicidade crônica realizado, houve mortalidade de 50% dos organismos-teste expostos à 40,00 $\mu\text{g/L}$ de cromo e em baixa densidade de alimento (Figuras 4.9). Na mais alta concentração do metal (40,00 $\mu\text{g/L}$) e em alta densidade de alimento, em ambos os testes realizados, a sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* caiu para menos de 50% e Figuras 4.9 e 4.10).

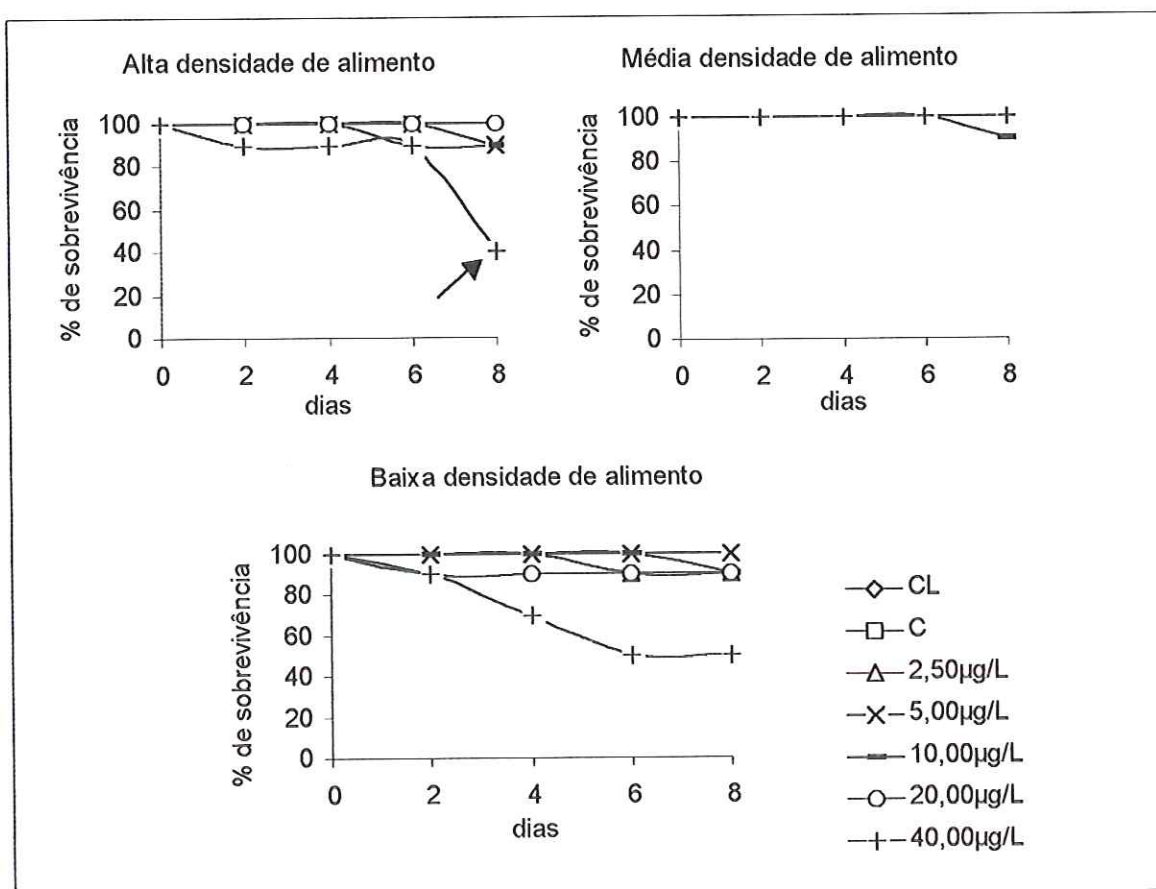


Figura 4.9 — Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica ao cromo quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência do organismo-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$).

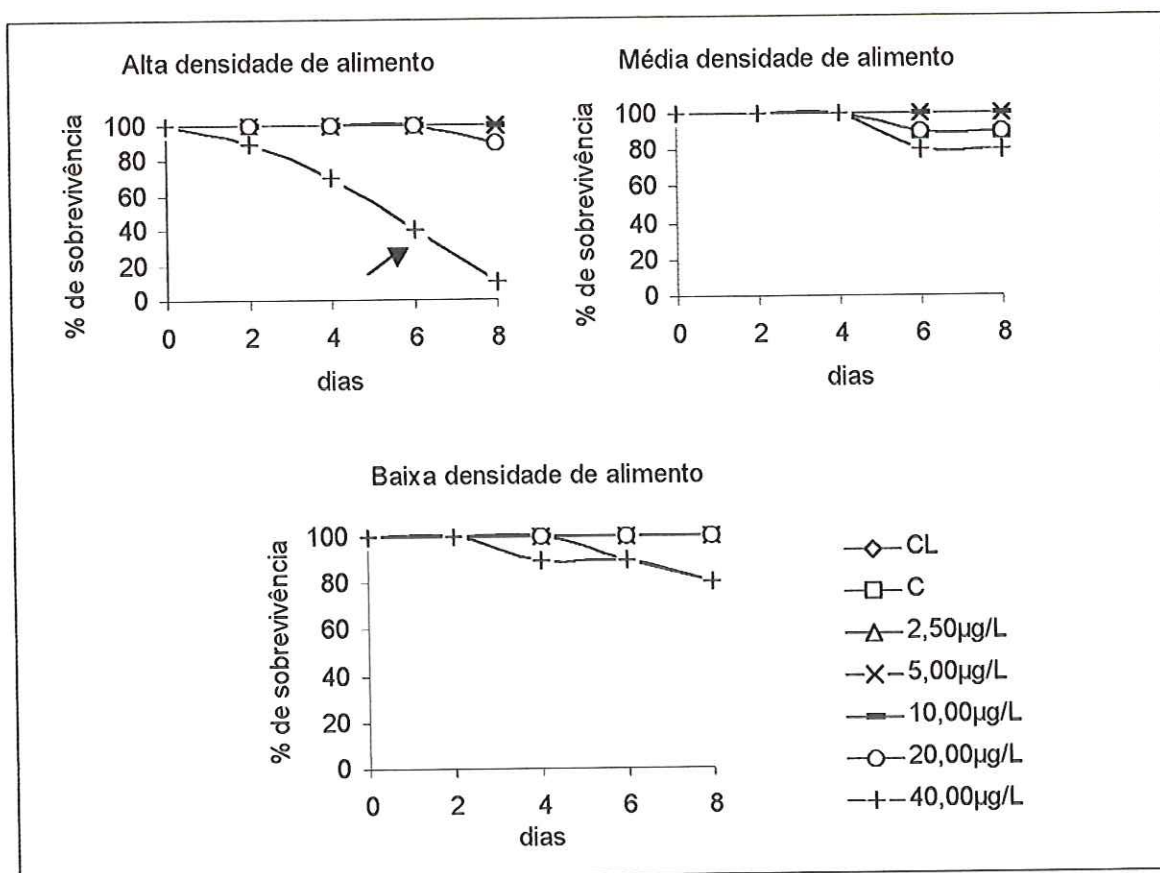


Figura 4.10 — Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica ao cromo quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência do organismo-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$).

4.4.2.2 Avaliação do efeito tóxico crônico dos metais cádmio e cromo em *Ceriodaphnia dubia* quando exposta a diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* contaminada com esses metais

Conforme apresentado nas Figuras 4.11 e 4.12 e no Anexo C, o organismo-teste teve sua reprodução estatisticamente diferente do controle quando alimentado com alta e média densidades algais expostas à 20,00 e 40,00µg/L de cádmio. A redução média no número de neonatos produzidos por *C. dubia*, em relação ao obtido no controle, em condições de alta densidade de alimento exposto a 20,00 e 40,00µg/L de cádmio (reduções de 56% e 79%, respectivamente) foi maior do que aquelas verificadas em média densidade de alimento intoxicado (20,00 e 40,00µg/L e com reduções de 40% e 70%, respectivamente).

As fêmeas do controle alimentadas com alta e com média densidades de células algais reproduziram-se mais do que as fêmeas dos controles do tratamento com baixa densidade de alimento. Na presença de baixa densidade de alimento intoxicado (10^4 céls/mL), não foi verificada diferença significativa entre os resultados obtidos nos diferentes tratamentos e no controle. Diante dos resultados obtidos nos testes de toxicidade crônica com as diferentes concentrações dos metais e a baixa densidade de alimento (item 4.2.2.1), escolheu-se trabalhar com uma concentração de 10^4 céls/mL em vez de 10^3 céls/mL. Porém, essa densidade de alimento ocasionou baixa produção de neonatos pelas fêmeas no tratamento controle. Quando se realizou a análise estatística para comprovar se houve ou não diferença significativa entre os resultados obtidos no controle (condições ideais) e entre os tratamentos, o próprio controle não se diferenciou dos demais tratamentos.

A quantidade de alimento contaminado que foi fornecida a *C. dubia* influenciou negativamente sua fecundidade. Na presença de alta densidade de alimento (10^6 céls/mL) contaminado com 40µg/L de cádmio, em ambos os testes de toxicidade realizados, o número médio de neonatos/fêmea foi significativamente menor do que aquele obtido pelo organismo em condições de média densidade algal contaminada com a mesma concentração de metal.

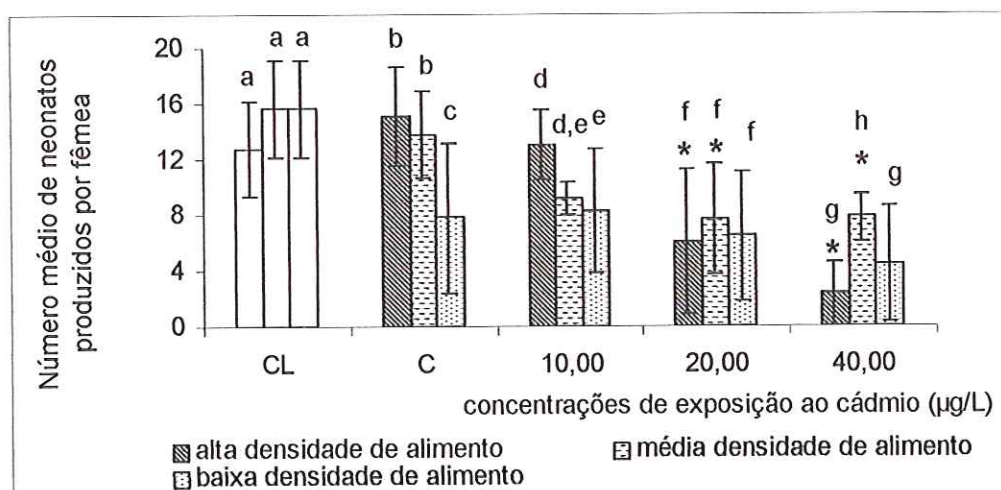


Figura 4.11 — Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* previamente exposta ao cádmio. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes (Testes de Dunnetts e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

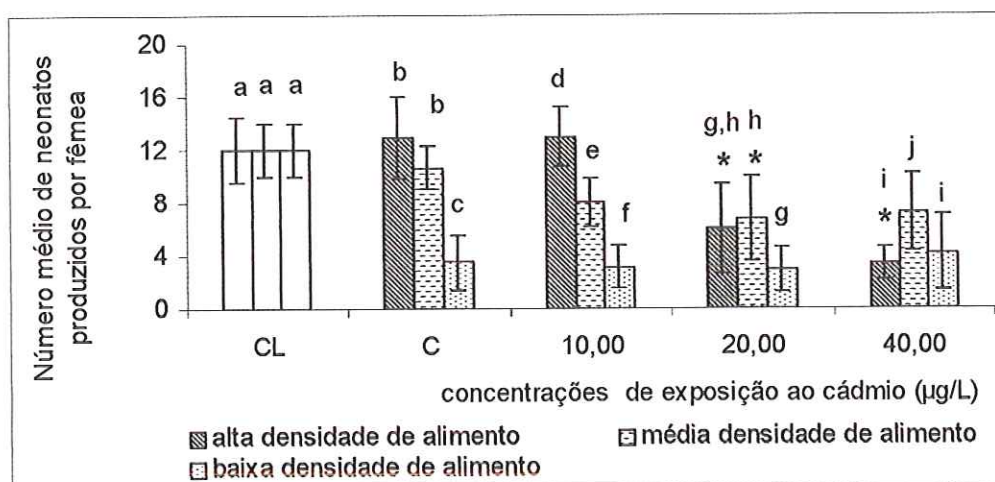


Figura 4.12 — Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* previamente exposta ao cádmio. Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C) (Testes de Dunnetts e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

A sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* durante os experimentos com alimento exposto ao cádmio também foi avaliada. No tratamento com alta densidade de alimento exposto a $40\mu\text{g/L}$ de cádmio, a sobrevivência do organismo-teste sofreu uma redução significativa em relação ao controle (Figuras 4.13 e 4.14 e Anexo C). Nos demais tratamentos, não foi observada alteração significativa na sobrevivência dos organismos.

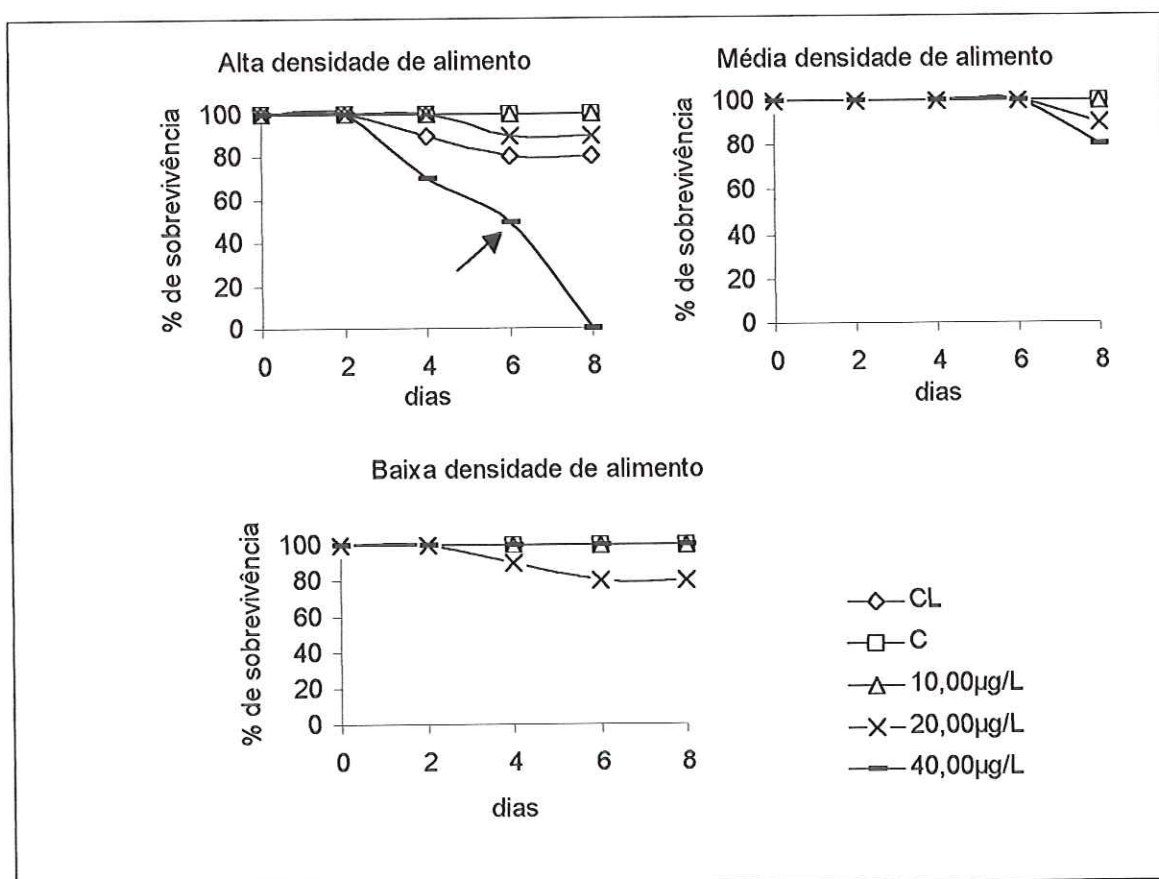


Figura 4.13 — Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* exposta ao cádmio. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência do organismo-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$).

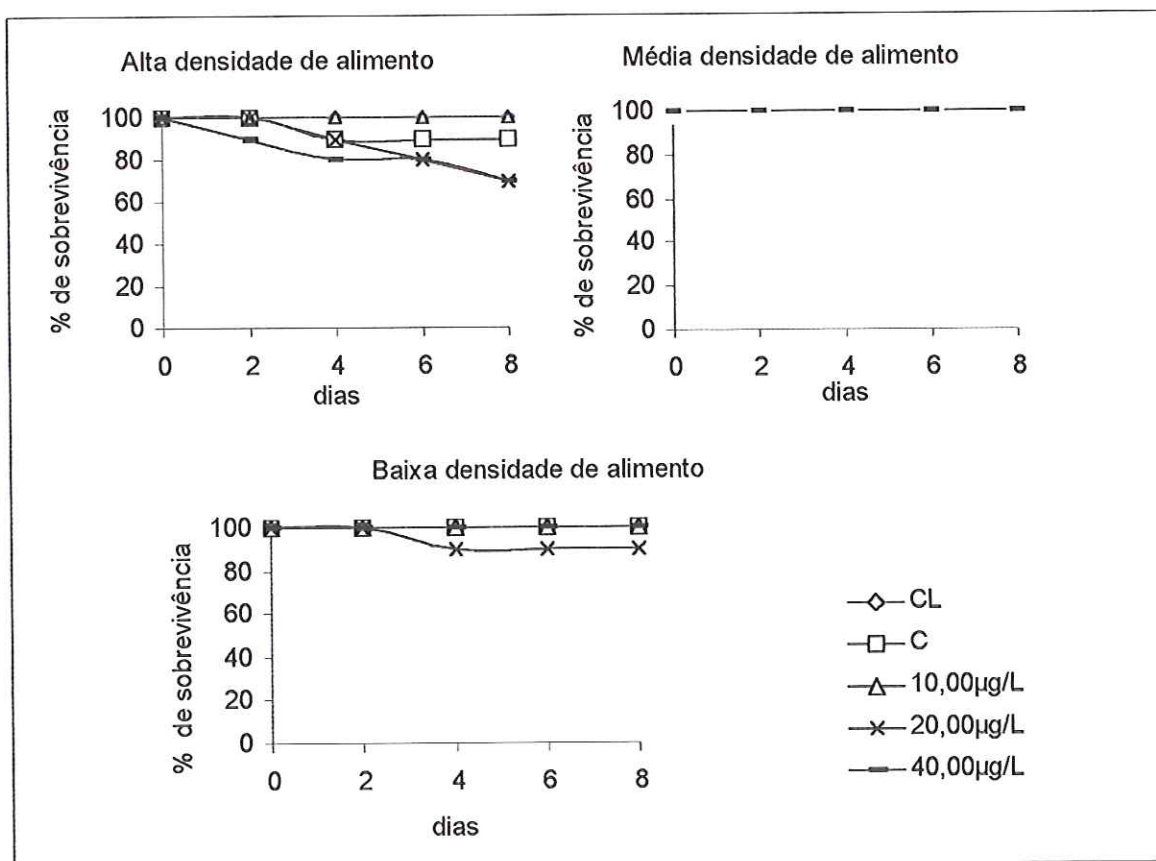


Figura 4.14 — Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* exposta ao cádmio. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência do organismo-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$).

Os resultados obtidos nos testes de toxicidade crônica com *C. dubia* quando alimentada com células algais expostas ao cromo estão apresentados nas Figuras 4.15 e 4.16 e no Anexo C. De modo geral, não foram observadas diferenças significativas entre os resultados obtidos no controle e nos demais tratamentos, independentemente da densidade de alimento fornecida e da concentração de exposição ao metal. Diferença significativa foi verificada apenas nos resultados obtidos entre o tratamento com alta densidade de células algais contaminada com 800µg/L de cromo, em que houve redução de 52% no número médio de neonatos produzidos pelas fêmeas, quando comparado com os dados obtidos no controle.

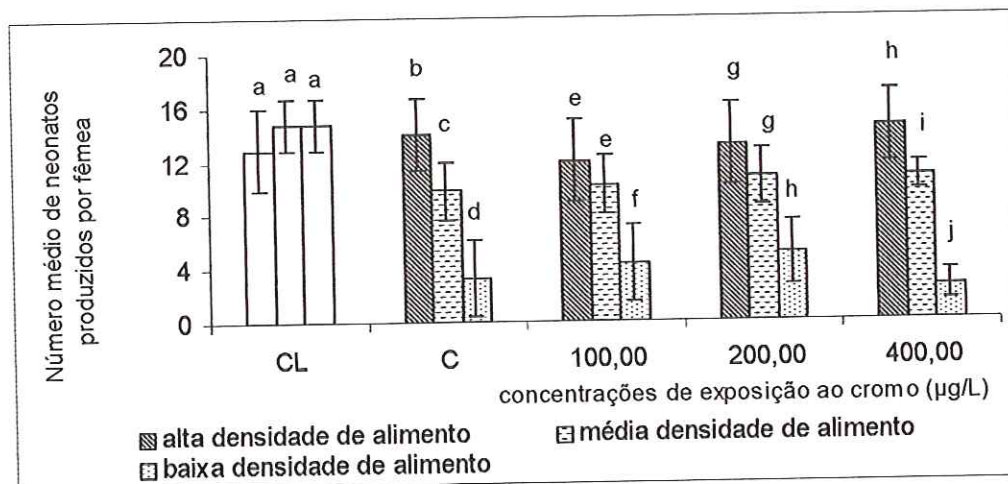


Figura 4.15 — Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* previamente exposta ao cromo. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes (Testes de Dunnetts e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

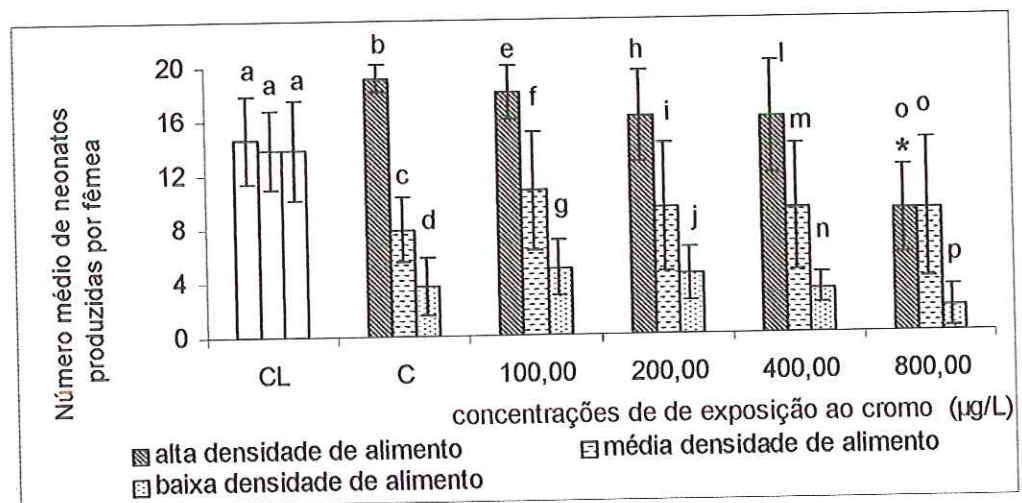


Figura 4.16 — Número médio de neonatos produzidos por *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica quando alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* previamente exposta ao cromo. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (C). Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes (Testes de Dunnetts e Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

Uma redução na sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* foi observada durante o experimento com alta densidade de alimento exposto a 800 $\mu\text{g/L}$ de cromo. Nos demais tratamentos, não foi detectada alteração significativa da sobrevivência dos organismos (Figura 4.17 e 4.18).

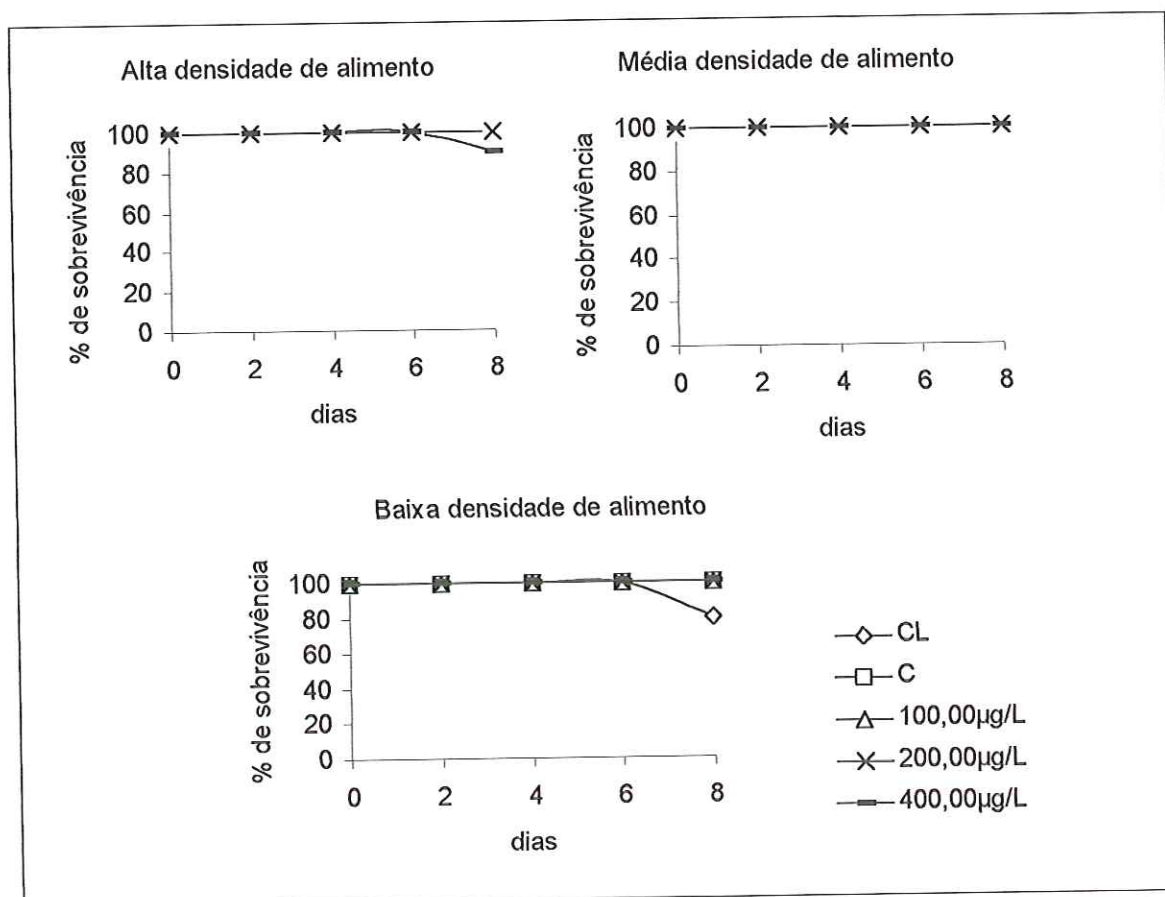


Figura 4.17 — Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no primeiro teste de toxicidade crônica com diferentes densidades de alimento exposto ao cromo.

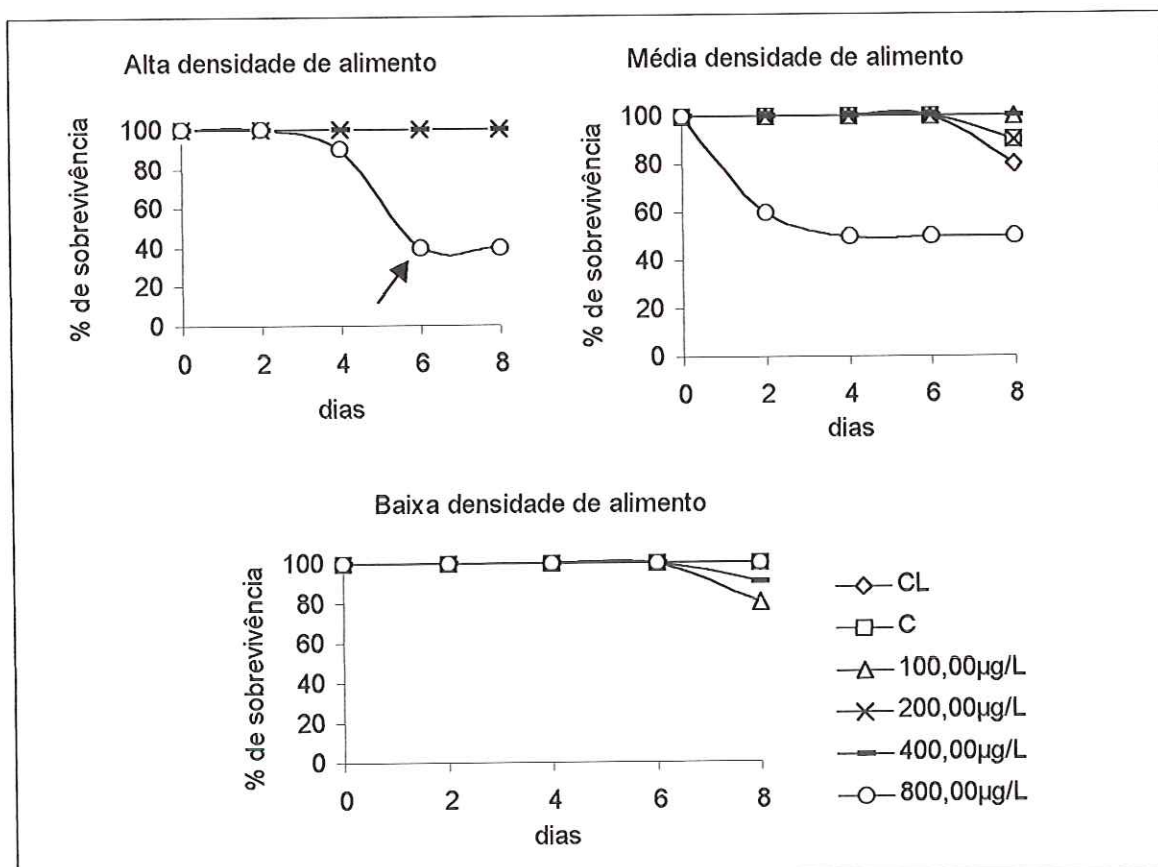


Figura 4.18 — Sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* no segundo teste de toxicidade crônica com diferentes densidades de alimento exposto ao cromo. A seta indica diferença estatisticamente significativa na sobrevivência do organismos-teste em relação ao controle (C) (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$).

4.4.3 Análise de metais

4.4.3.1 Determinação das concentrações de metais nas soluções-teste

Na Tabela 4.2 estão apresentados os valores das concentrações nominais e medidas dos metais cádmio e cromo das soluções-teste empregadas nos testes de toxicidade aguda e crônica com *Ceriodaphnia dubia* e também das soluções empregadas nos experimentos de intoxicação das células algais. As concentrações medidas das soluções-teste apresentaram diferença de cerca de 10% em relação à concentração nominal.

Tabela 4.2 – Concentrações nominais e medidas das soluções-teste de cádmio e cromo utilizadas nos testes de toxicidade aguda e crônica.

Concentrações de cádmio			Concentrações de cromo		
	Concentração nominal (µg/L)	Concentração medida (µg/L)		Concentração nominal (µg/L)	Concentração medida (µg/L)
Teste de toxicidade aguda com <i>Ceriodaphnia dubia</i>	Controle	0,27	Teste de toxicidade aguda com <i>Ceriodaphnia dubia</i>	Controle	ND
	10	11,65		20	18,22
	20	18,79		40	33,00
	40	38,58		80	72,90
	80	77,00		160	174,30
	160	144,00		320	311,70
	Teste de toxicidade crônica com <i>C. dubia</i>	Controle		ND	Teste de toxicidade crônica com <i>C. dubia</i>
1,25		1,22	2,50	-	
2,50		2,14	5,00	3,07	
5,00		4,00	10,00	8,73	
10,00		10,88	20,00	18,12	
20,00		20,00	40,00	34,00	
Teste de intoxicação de <i>Selenastrum capricornutum</i>	Controle	0,59	Teste de intoxicação de <i>Selenastrum capricornutum</i>	Controle	0,90
	10,00	13,99		100,00	94,40
	20,00	25,27		200,00	205,90
	40,00	41,06		400,00	380,80
			800,00	774,00	

Cd (Limite de detecção = 0,05µg/L; Limite de quantificação = 0,16µg/L) e Cr (Limite de detecção = 0,8µg/L; Limite de quantificação = 2,71µg/L) (MILLER & MILLER, 1994).

4.4.3.2 Determinação das frações total, particulada (presentes nas células algais e no zooplâncton), dissolvida de metal em testes de toxicidade crônica com cádmio e *Ceriodaphnia dubia* quando exposta a diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas ou não com o referido metal

Nas Figuras 4.19 e 4.20 estão apresentados os resultados das concentrações de cádmio obtidas no final dos testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* quando exposta a 20µg/L de cádmio e quando alimentadas com células algais intoxicadas com 40µg/L do metal, respectivamente.

No experimento com concentração de 20µg/L de cádmio e diferentes densidades algais, foi observado aumento da fração particulada de metais com o aumento da

densidade algal presente. No experimento com células algais intoxicadas com $40\mu\text{g/L}$ de Cd e no tratamento com média densidade, a fração dissolvida de metal foi maior do que a particulada. Tal fato pode evidenciar uma eliminação de metal pelas algas, porém isso não foi verificado no tratamento com alta densidade algal. A determinação dos metais em *C. dubia* não foi possível devido aos valores de cromo e cádmio encontrados no organismo serem próximos ou inferiores àqueles verificados no tratamento do branco (filtro). Tal fato pode estar associado a massa insuficiente de organismos utilizada para análise dos metais.

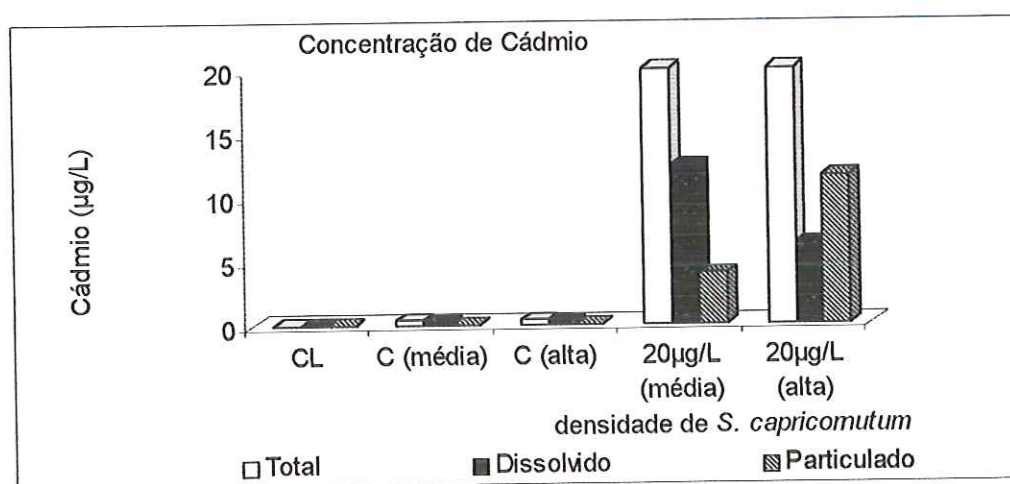


Figura 4.19 — Determinação de metal em teste de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* exposta a $20\mu\text{g/L}$ de Cd e alimentada com diferentes densidades algais. CL: controle laboratorial e C: controle. Média densidade algal (1.10^5 céls/mL) e alta densidade algal (1.10^6 céls/mL).

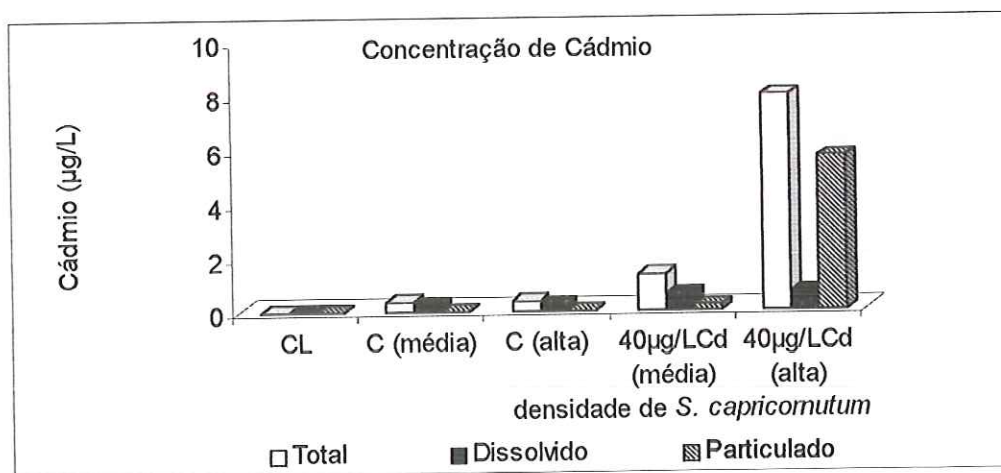


Figura 4.20 — Determinação de metal em teste de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* quando alimentada com diferentes densidades algais de *S. capricornutum* intoxicadas com $40\mu\text{g/L}$ de Cd. CL: controle laboratorial e C: controle. Média densidade algal (1.10^5 céls/mL) e alta densidade (1.10^6 céls/mL).

4.5 DISCUSSÃO

Os organismos zooplanctônicos estão sujeitos, nos ambientes aquáticos, a diferentes níveis de estresse durante seu ciclo de vida. O estresse antropogênico, por meio da liberação de substâncias tóxicas dentro desses ambientes, é um dos grandes depreciadores da sobrevivência e da reprodução desses organismos (NANDINI *et al.*, 2004). O fluxo de energia do fitoplâncton para o zooplâncton, particularmente através de espécies filtradoras, é um elo fundamental na cadeia alimentar dos ecossistemas aquáticos. Visto que dafnídeos ocupam uma posição-chave na cadeia alimentar, possíveis alterações no seu ciclo de vida devem ser investigadas.

A quantidade de alimento tem sido apontada como uma importante variável ambiental que pode influenciar tanto a história de vida dos cladóceros como sua resposta aos diversos estressores químicos (ROSE *et al.*, 2002). Estudos com cladóceros demonstram que a nutrição maternal pode afetar a sensibilidade da prole para alguns tóxicos, bem como as condições do regime alimentar durante o desenvolvimento desta (ENSERICK *et al.*, 1990). Segundo ROBINSON *et al.* (2003), o efeito da alimentação de organismos aquáticos durante exposições a contaminantes será dependente de vários fatores, incluindo a quantidade de alimento introduzido, a afinidade do agente tóxico à superfície da partícula alimentar e a concentração do tóxico presente.

Dentro da dinâmica dos poluentes nos sistemas aquáticos, o alimento pode ser considerado tanto uma via como um retentor da toxicidade de metais (TAYLOR *et al.*, 1998) aos organismos. Atualmente, muitos estudos têm discutido a importância da água juntamente com a do regime alimentar como potenciais fontes de contaminação ao zooplâncton (BARATA *et al.*, 2002). Além disso, dentro de um enfoque ecotoxicológico, os dafnídeos, por filtrarem consideráveis volumes de água para obter seu alimento, estariam em maior contato com os poluentes (JAYATISSA, 1994).

No presente estudo, foram avaliados os efeitos tóxicos agudo e crônico dos metais cádmio e cromo em *Ceriodaphnia dubia* e também a influência de diferentes densidades celulares de *Selenastrum capricornutum* sobre a toxicidade crônica no cladócero *Ceriodaphnia dubia*. Em relação aos valores médios da CE(I)50; 48h aos metais para *C. dubia*, os valores encontrados foram de 59,85µg/L ao cádmio e de 69,01µg/L ao cromo. Tais valores estão de acordo com os encontrados por MOUNT & NORBERG (1984) para a mesma espécie (66µg/L e 53µg/L para cádmio e cromo, respectivamente) e por LEE *et al.* (1997) (55,90µg/L de cádmio) e OLIVEIRA-NETO *et al.* (2000) para a espécie nativa *Ceriodaphnia silvestrii* (62µg/L e 60µg/L, ao cádmio e ao cromo; respectivamente).

Testes de toxicidade crônica aos metais foram realizados com base nesses resultados. Verificou-se que, de modo geral, o aumento da densidade de alimento fornecido a *C. dubia*, durante os testes de toxicidade crônica com os metais, acarretou efeitos negativos mais significativos na fecundidade e na sobrevivência das fêmeas em relação aos resultados obtidos no tratamento controle.

A reprodução e o crescimento em cladóceros estão relacionados, entre outros fatores, à quantidade e à qualidade de alimento. O nível de alimento afeta o número de indivíduos produzidos por um adulto e o seu crescimento através de ínstars, os quais estão significativamente relacionados (MARTÍNEZ-JERÔNIMO *et al.*, 1994). Segundo LAMPERT (1987), a taxa de alimentação é determinada até um certo nível pela concentração de alimento disponível, quando a taxa de filtração é constante e máxima. Acima desse limite de concentração, a taxa de alimentação torna-se constante e a taxa de filtração decai. Em um alto nível de alimento, desde que a razão de ingestão alcance o seu limite, o tempo de retenção das partículas no aparelho digestivo não mudará e a digestão e a absorção serão completas. No ambiente, os dafnídeos estão expostos a diferentes tipos de alimento e a qualidade destes tem provavelmente o maior efeito em sua eficiência de assimilação. O valor da eficiência de assimilação é considerado menor quando o alimento for composto por detritos, células algais pouco digestivas e nutritivas.

Segundo SARMA *et al.* (2000), a toxicidade dos metais para o zooplâncton pode variar dependendo da densidade algal que é oferecida a esses organismos e do parâmetro avaliado (fecundidade, sobrevivência, crescimento populacional). Em baixas concentrações de metais, o aumento do nível algal poderá aumentar a resistência da

espécie. Tal fato não foi observado no presente estudo, no qual foram verificados efeitos tóxicos crônicos em *C. dubia* em baixas concentrações do metal (5 e 10 µg/L de Cd e 10 µg/L de Cr) quando os organismos foram alimentados com elevada densidade algal. Por outro lado, próximo de certa quantidade de metal no meio, o aumento da disponibilidade de alimento exercerá um papel reduzido em mitigar os efeitos adversos do tóxico nos organismos. Segundo os autores, caso esse organismo seja relativamente sensível a um elevado nível de alga, tal concentração poderá causar inibição alimentar e conseqüentemente, a interação com o tóxico será sinérgica.

Em geral, cladóceros não toleram densidades algais acima de $4 \cdot 10^6$ céls/mL, pois estas podem inibir sua taxa alimentar (NANDINI & SARMA, 2000). Neste estudo, a taxa alimentar dos organismos-teste não foi monitorada, porém, a mais alta densidade de alimento utilizada (10^6 céls/mL) foi inferior à considerada crítica por NANDINI & SARMA (op. cit.). Nas condições controle do presente trabalho, não houve uma redução na fecundidade de *C. dubia* com o aumento da densidade algal fornecida, sendo este parâmetro significativamente reduzido apenas sob tratamento com densidade de 10^3 e 10^4 céls/mL de *S. capricornutum*.

ROSE *et al.* (2000) verificaram diminuição na reprodução de *Ceriodaphnia* cf *dubia* quando alimentada com elevada concentração de *Selenastrum capricornutum* e tal resultado foi atribuído aos elevados valores de pH (acima de 9,00), na água do teste, devido ao aumento do consumo de CO₂. No presente estudo, os valores de pH, obtidos nos testes de toxicidade crônicos utilizando alta densidade de alimento, estiveram abaixo desse valor (9,00). Ainda segundo o autor, concentrações de 10^6 céls/mL de algas são prováveis de ocorrer em ambientes eutrofizados, sendo assim, estudos utilizando essa densidade algal auxiliariam na compreensão da dinâmica dos metais em sistemas aquáticos impactados. MARTINÉZ-JERÔNIMO *et al.* (1994) verificaram que o fornecimento de *Scenedesmus incrassatulus* a uma densidade de 10^6 cél/mL como alimento para *D. magna* promoveu os melhores resultados na sobrevivência, longevidade e reprodução do cladóceros, recomendando essa concentração algal no cultivo dos organismos destinados a testes de toxicidade.

Resultados contraditórios do papel das algas em estudos ecotoxicológicos têm sido documentados. MANGAS-RAMÍREZ *et al.* (2002) verificaram um papel positivo do aumento da concentração de alimento na redução da toxicidade da amônia para *Ceriodaphnia dubia* e *Moina macrocopa*. ANTUNES *et al.* (2004) também observaram uma diminuição do efeito tóxico crônico do pesticida lindane a *D. magna* quando

exposta a uma alta densidade de *S. capricornutum* (6.10^5 céls/mL). A presença de elevada densidade de alimento (10^6 céls/mL de *Chlorella*) foi responsável pela redução dos efeitos do cádmio sobre a reprodução e a sobrevivência dos Cladocera *Moina macrocopa* e *Macrothrix triserialis* quando comparada aos resultados obtidos com uma menor densidade algal (GARCIA *et al.*, 2004). HAURI & HORNE (2004) verificaram que uma alta dose de alimento disponibilizou menos cobre para *C. dubia*, durante testes de toxicidade crônica, devido à complexação do metal pelas partículas de alimento. De modo geral, os autores concluíram que um alto nível de alimento poderia fornecer energia adicional para crescimento, reprodução e, ao mesmo tempo, para mecanismos específicos de destoxificação e de resistência aos agentes tóxicos.

Os resultados do presente trabalho estão de acordo com os obtidos por KLÜTTGEN & RATTE (1994), que verificaram inibição no crescimento e na reprodução de *D. magna* quando exposta a concentrações de 1 a $5\mu\text{g/L}$ de cádmio e alimentada com elevada concentração de *Chlorella vulgaris*. De acordo com os autores, o efeito tóxico do metal, observado nestas condições, foi resultado da maior retenção do metal pelo zooplâncton como consequência do acréscimo em sua taxa metabólica desencadeado pela maior disponibilidade de alimento. GORBI *et al.* (2002) também observaram que a fecundidade de *D. magna* foi afetada negativamente por concentrações de $14\mu\text{g/L}$ de cromo apenas em alta concentração de *Scenedesmus acutus*. O efeito tóxico verificado foi atribuído a uma possível absorção pelos dafinídeos dos complexos formados entre cromo e exudatos liberados pelas algas, ante a exposição ao metal durante testes de toxicidade crônica.

A taxa de alimentação em dafinídeos aumenta com o aumento da concentração de alimento até que um limite seja alcançado (nível incipiente de alimentação) (LAMPERT, 1987). As fêmeas de *C. dubia* expostas aos metais, em alta densidade alimentar, poderiam ter filtrado e ingerido mais células algais com metais possivelmente ligados até o momento em que o próprio efeito tóxico do metal inibisse o processo de alimentação. GUAN & WANG (2004a) verificaram decréscimo na alimentação de *D. magna* exposta, durante três dias, a uma faixa de 5 a $20\mu\text{g/L}$ de cádmio. Além do metal presente na água, as células algais podem ter contribuído como uma via de exposição aos metais para o zooplâncton. Isso sugere que a rota de contaminação aos metais por meio do alimento é relevante nos testes de toxicidade (JANATI-IDRISSI *et al.*, 2001). Para organismos filtradores, o sistema digestivo é uma via de exposição considerável e a

substância tóxica ligada a uma partícula é facilmente filtrada do meio aquático (FLIEDER, 1997) e liberada em seu trato digestivo.

A absorção de metais carregados positivamente (Cd^{+2}) é maior nas superfícies de partículas carregadas negativamente (células algais) e, conseqüentemente, contribuiriam como um mecanismo-chave na determinação da toxicidade subletal desses elementos para o zooplâncton (ALLEN *et al.*, 1995). Foi verificado aumento da fração de cádmio presente nas células algais com o aumento da densidade algal fornecida no final dos testes de toxicidade crônica com *C. dubia* exposta ao metal em solução. Como também observado no Capítulo 2, células de *S. capricornutum* são capazes de reter em maior quantidade cádmio quando comparado ao cromo, sendo que o cromo poderia estar no meio associado a exudatos liberados pela alga.

Alguns possíveis mecanismos são citados por ALLEN *et al.* (op. cit.) para explicar os processos inibitórios do cádmio sobre a alimentação dos organismos zooplancctônicos: 1) redução dos batimentos dos apêndices torácicos devido ao contato com o metal presente nas partículas de alimento e diminuição da filtração; 2) redução da ingestão de células algais intoxicadas (o organismo seria capaz de sentir a presença do tóxico); e 3) tanto a taxa de filtração quanto a de ingestão poderiam permanecer inalteradas, mas as células passariam sem serem absorvidas devido à perda funcional das funções digestivas (TAYLOR *et al.*, 1998). Segundo os autores, não importa qual o mecanismo pois o efeito geral é a redução da retenção do alimento. GRIFFTHIS (1980) verificou que, após algumas horas de exposição a $12\mu\text{g/L}$ cádmio, os cecos digestivos de *D. magna* estavam paralisados e vazios de algas.

Pesquisas realizadas por DE COEN & JANSSEN (1997) detectaram aumento na produção de enzimas digestivas (tripsina e β -galactosina) em *D. magna* após exposições crônicas aos metais cádmio, cromo e mercúrio. De acordo com os autores, dafinídeos estressados apenas pelo cádmio não conseguiriam manter a atividade de filtração e aumentariam a atividade destas enzimas para melhorar a eficiência de assimilação das poucas partículas de alimento disponível em seu aparelho digestivo. Em dafinídeos, o sistema digestivo está revestido por células altamente diferenciadas que são responsáveis pela secreção de enzimas e pela absorção do alimento digerido. Efeitos adversos de agentes tóxicos, neste local, podem ocasionar bloqueio do transporte de nutrientes pelas células epiteliais (XUE & PASCOE, 1993). Segundo MUNGER *et al.* (1999), o local onde se verificou maior acumulação desse metal em cladóceros foi o divertículo da região anterior do estômago. Uma vez que essa região é responsável pela

retenção de cálcio e de outros elementos essenciais, a acumulação do cádmio pode impedir o metabolismo do cálcio e de outros elementos, afetando a fisiologia geral do organismo.

Outros efeitos tóxicos dos metais são relacionados a alterações no metabolismo dos organismos. Exposições a concentrações subletais de cádmio também ocasionaram diminuição da velocidade de natação de *D. magna* devido à redução do batimento das segundas antenas (BAILLIEUL, 1999). De acordo com WOLF *et al.* (1998), concentrações de 3,50 a 5,00µg/L de cádmio provocaram redução em sua atividade de natação devido à perda da aptidão física, consequência da redução da aquisição de energia. Segundo os autores, a diminuição da atividade natatória tornaria os organismos menos resistentes ao atrito no meio aquático e mais suscetíveis à predação.

A importância das células algais como agentes de contaminação foi confirmada com os resultados obtidos nos testes crônicos quando o alimento foi exposto aos metais e oferecido ao zooplâncton. No presente trabalho, observou-se diminuição significativa na fecundidade das fêmeas de *C. dubia* quando alimentadas com células de *S. capricornutum* anteriormente expostas a concentrações de cádmio. Estudos enfocando a retenção de cádmio por *Selenastrum capricornutum* revelaram que essa alga, sob tratamentos com 10, 20 e 40µg/L do metal, apresenta uma concentração média de 6,49, 12,68 e 24,65µg/L, respectivamente, em suas células (Capítulo 2). Essa clorofícea é capaz de acumular uma porcentagem maior do que 50% do metal. Quando *Ceriodaphnia dubia* foi exposta a esse alimento exposto ao cádmio, os resultados desses experimentos foram similares aos obtidos quando o organismo-teste foi exposto ao cádmio dissolvido, sendo o efeito tóxico mais pronunciado com o aumento da densidade algal fornecida como alimento.

Tais resultados vão ao encontro dos observados por outros autores. FLIEDER (1997) verificou que células de *S. capricornutum* expostas ao pesticida lindane foram capazes de adsorver o pesticida e serviram como rotas de exposição ao tóxico para *D. magna*. FERRANDO *et al.* (1996) confirmaram que o alimento influenciou a acumulação do pesticida tetradifon em *D. magna*. Copepodos e cladóceros apresentaram diminuição mais significativa na produção de seus ovos quando alimentados com células de *Chlorella* expostas ao metal prata, do que a diminuição observada durante exposições ao metal via água (HOOK & FISHER, 2001). DE SCHAMPHELARE *et al.* (2004) verificaram que o zinco presente na dieta alimentar de *D. magna*, através do

consumo de células de *S. capricornutum* intoxicadas com o metal, provocou uma depressão em sua reprodução devido à acumulação do íon em tecidos responsáveis pela síntese de vitelo. TAYLOR *et al.* (1998) verificaram que a inibição alimentar em *D. magna* foi devido a ingestão de cádmio ligado às células de alga *Chlorella*.

A qualidade do alimento é tão importante quanto sua quantidade sobre a fecundidade, o crescimento e a sobrevivência dos organismos (KILHAM *et al.*, 1997). Os efeitos observados na reprodução de *C. dubia* devido à dieta alimentar pré-exposta ao cádmio não excluem a possibilidade do metal afetar a qualidade nutricional da alga. NISHIKAWA *et al.* (2003) verificaram que células de *Chlamydomonas acidophila* expostas ao cádmio sofreram redução do nível de polifosfato. Tais alterações podem ter tornado a alga pobre nutricionalmente e inviável como alimento para *Ceriodaphnia dubia*. RICHES *et al.* (1996), realizando teste de toxicidade com *Selenastrum capricornutum* quando exposta a concentrações de cobre, zinco e cádmio, detectaram inibição de determinadas enzimas que acarretaram alterações no conteúdo de lipídeos nesta alga. Uma diminuição na fecundidade e no crescimento de *D. magna* alimentada com células de *Chlamydomonas reinhardtii* deficientes em nitrogênio e fósforo foi observada por MITCHELL *et al.* (1992).

Apesar de as células de *S. capricornutum* reterem baixa concentração de cromo, uma diminuição na fecundidade do zooplâncton foi verificada quando a clorofíceia foi exposta a 800µg/L do metal e serviram como seu alimento. De acordo com GORBI *et al.* (2004), concentrações mais elevadas de cromo degradam certas proteínas presentes nas células algais e reduzem seu valor nutritivo para seus consumidores. Neste caso, segundo os autores, os efeitos tóxicos do cromo para cladóceros não podem ser atribuídos à maior retenção do metal pela alga. O metal cromo acumulado pelas células algais apresenta-se em uma forma química pouco biodisponível para seus consumidores.

Segundo YU & WANG (2004), a retenção de metais pelo fitoplâncton e subsequente “grazing” pelo zooplâncton são etapas importantes na ciclagem de metais em sistemas aquáticos. As análises de metais foram realizadas apenas no final dos testes de toxicidade crônica com o cádmio e demonstraram que com o aumento da densidade algal, houve maior proporção do metal ligado às células algais, porém a concentração de metal no zooplâncton não variou positivamente com o aumento na densidade de alimento dentro das mesmas concentrações de metais nos tratamentos água e alimento

contaminados. BARATA *et al.* (2002) verificaram que neonatos de *D. similis* acumularam duas vezes mais cádmio proveniente da água do que do alimento.

De acordo com YU & WANG (2002), o aumento da eficiência de assimilação de metais em dafnídeos foi proporcional ao decréscimo da concentração de alimento presente no meio e houve perdas significativas do metal por meio de excreção, muda e reprodução. Tais perdas não foram avaliadas no presente trabalho. De acordo com ROBINSON *et al.* (2003), a quantidade de cádmio associado à carapaça de *C. dubia* aumenta com o tempo até que um ponto de saturação é alcançado. GUAN & YANG (2004a) verificaram que a eficiência de assimilação do cádmio em *D. magna* decresceu após exposições a 20µg/L do metal, indicando efeitos tóxicos no sistema digestivo do organismo. Decréscimo na eficiência de assimilação de cádmio em *D. magna* com aumento da concentração do metal nas algas é relacionado à saturação de sítios disponíveis dentro do trato digestivo do cladocera, sendo que o organismo pode regular parcialmente a acumulação de metais por meio da via alimentar (GUAN & WANG, 2004b).

FISHER & REINFELDER (1995) observaram que copépodos e bivalves que ingeriram células algais expostas ao cádmio na fase log de crescimento mostraram baixa assimilação do metal em comparação aos organismos alimentados com células intoxicadas durante a fase estacionária. Segundo os autores, a concentração de metal nas células algais durante a fase exponencial de crescimento parece estar associada a suas membranas e parede celular, sendo esses elemento-traços não assimilados e armazenados nas pelotas fecais desses organismos. Mais estudos são necessários para o entendimento do processo de retenção de metais em *C. dubia* através de células algais em diferentes fases de crescimento.

A adição de uma elevada densidade algal nos testes de toxicidade crônicas, em ambos os tratamentos (água e alimento contaminados), pode ter promovido sítios de ligação aos metais e, conseqüentemente, gerado vias adicionais de exposição dos metais aos organismos-teste. Em relação aos efeitos tóxicos verificados na fecundidade e na sobrevivência de *Ceriodaphnia dubia* devido a essas exposições, estes podem ser classificados em diretos e indiretos.

Como discutido por HOOK & FISHER (2001), os efeitos tóxicos dos metais podem estar associados a sua acumulação em tecidos sensíveis ou em células-alvo nos organismos aquáticos. Efeitos diretos na reprodução dos cladóceros, devido à exposição ao cádmio, foram sugeridos por BODAR *et al.* (1990b) ao observarem alterações na

mitocôndria e redução no conteúdo de glicogênio das células responsáveis pela síntese de vitelo com inibição da vitelogênese em *D. magna*. Dafnídeos expostos a concentrações de 8µg/L de cádmio e 56µg/L de cromo apresentaram redução significativa em sua reserva lipídica, o que refletiu em baixa fecundidade, já que uma considerável parte dessa reserva está envolvida na produção de ovos (DE COEN & JANSSEN, 2004).

O decréscimo na fecundidade dos organismos zooplanctônicos não indica necessariamente um efeito tóxico direto dos metais em processos relacionados à reprodução. Esses resultados também podem ser considerados como um efeito indireto de indivíduos mal nutridos devido aos efeitos inibitórios dos metais em seu processo de alimentação ou, ainda, que tenham se alimentado de células algais nutricionalmente pobres como resultado de uma intoxicação anterior por metais. Esses indivíduos, sob essas condições de estresses, podem se tornar fêmeas com tamanho reduzido, produzindo poucos neonatos.

CAPÍTULO 5

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As substâncias químicas, principalmente aquelas que não ocorrem normalmente na natureza, tornaram-se parte indispensável da vida do homem, sustentam suas atividades e seu desenvolvimento, prevêm e controlam muitas doenças e aumentam a sua produtividade agrícola. Os benefícios são incalculáveis, mas as substâncias químicas também podem produzir efeitos adversos à saúde humana e ao ambiente (ARCURI & FERNICOLA, 2003).

Com o objetivo de avaliar e prever os riscos devido ao lançamento de substâncias tóxicas em sistemas aquáticos, testes de toxicidade aguda e crônica utilizando organismos aquáticos pertencentes a diferentes níveis tróficos têm sido rotineiramente utilizados. Dentre os elementos tóxicos lançados nos ecossistemas, cujos efeitos despertam preocupação, estão os metais pesados, e, dentre estes, os metais zinco, cobre, chumbo, cádmio, mercúrio e cromo são considerados os mais preocupantes do ponto de vista de poluição ambiental (ABEL, 1996).

De acordo com PEAKALL & BURGER (2003), estudos enfocando os metais nos ecossistemas foram, inicialmente, centrados na avaliação dos níveis desses elementos no ar, na água e no solo. Subseqüentemente, experimentos em laboratórios foram conduzidos com o objetivo de examinar os efeitos desses elementos nos organismos em situações particulares de exposições. Tais experimentos, juntamente com as observações das concentrações de metais no ambiente e nos indivíduos, têm evidenciado que há fatores que influenciam o comportamento dos metais e a expressão de sua toxicidade. Efeitos de metais nos organismos devem ser considerados dentro de um contexto de influências físicas e químicas que afetam seu transporte e destino, bem como a vulnerabilidade que é própria de cada espécie.

A toxicidade comparativa a diferentes espécies é desejável pois revela, com maior precisão, os efeitos de agentes químicos nos vários componentes vivos dos ecossistemas aquáticos. Para uma abordagem comparativa é desejável conduzir testes de toxicidade com espécies pertencentes a vários níveis tróficos em paralelo e dentro do mesmo laboratório, porque esses valores de toxicidade, expressos como CE50/CL50, são sujeitos a uma significativa variabilidade interlaboratorial. No caso de metais, as variações nesses valores são devidas às características próprias das metodologias utilizadas nos cultivos das espécies-teste e nos testes de toxicidade (tempo de exposição das espécies, parâmetros de avaliação) (DE OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2004).

Neste trabalho, avaliando-se os efeitos tóxicos agudos e crônicos, por meio da realização de testes de toxicidade, dos metais cádmio e cromo sobre organismos fitoplantônicos (*Selenastrum capricornutum* e *Microcystis aeruginosa*) e zooplantônicos (*Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis*), observou-se uma diferença de sensibilidade aos metais entre as espécies estudadas. Em relação aos resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda com cádmio, a clorofícea *S. capricornutum* foi a espécie mais sensível, a cianofícea *M. aeruginosa*, a mais resistente e os microcrustáceos apresentaram sensibilidade intermediária. Os resultados obtidos com o cromo revelaram que o cladóceros *Daphnia similis* foi o organismo mais sensível e as algas, com sensibilidade similar, foram as mais resistentes. *C. dubia* apresentou o mesmo padrão de resposta para ambos os metais (Figura 5.1).

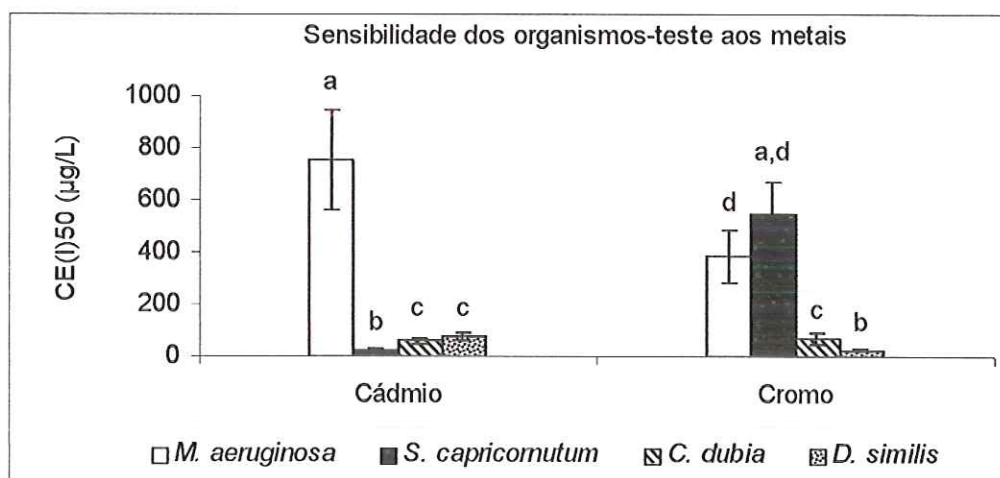


FIGURA 5.1 — Valores médios da CE(I)50 dos metais cádmio e cromo para diferentes organismos-teste utilizados no presente estudo. Médias com as mesmas letras não são estatisticamente diferentes (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Barras de erro correspondem ao desvio-padrão.

SUEDEL *et al.* (1997), avaliando o efeito de cádmio em organismos aquáticos, verificaram que o anfípodo *Hyaella azteca* foi o mais sensível ao metal, seguido pelo peixe *Pimpephales promelas*, os cladóceros *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis* e o quironomídeo *Chironomus tentans*. DE OLIVEIRA-FILHO *et al.* (2004) compararam a suscetibilidade de espécies de água doce ao cobre e observaram que a alga *S. capricornutum* e o cladóceros *Daphnia similis* foram mais sensíveis do que o molusco *Biomphalaria glabrata* e o peixe *Danio rerio*. Segundo os autores, além dos mecanismos intrínsecos de cada teste de toxicidade, a fisiologia dos organismos desempenha um importante papel na sensibilidade aos metais.

Dentro do contexto ecológico, uma espécie não é apenas governada pela relação com o ambiente físico e químico, mas também pelas relações com outras espécies presentes no seu habitat (predação, competição, parasitismo). Neste sentido, a resposta de um organismo à presença de um poluente pode ser acentuada ou atenuada dependendo das relações interespecíficas que existem no ambiente. No presente estudo, investigou-se a influência da presença de alta, média e baixa densidades de duas espécies de algas (Chlorophyceae e Cyanophyceae) sobre a toxicidade aguda e crônica de metais para *Daphnia similis* e para *Ceriodaphnia dubia*, respectivamente.

Os resultados tiveram implicações em ambos os testes de toxicidade, aguda e crônica. A presença de diferentes densidades de *S. capricornutum* não modificou a resposta de *D. similis* a exposições dos metais, expressa por meio da CE(I)50; 48h. Porém, a presença de uma alta densidade de *M. aeruginosa* aumentou o valor da CE(I)50; 48h do metal cádmio e reduziu a do cromo para o mesmo organismo. Nos testes de toxicidade crônica, as maiores concentrações de *S. capricornutum*, oferecidas como alimento para *C. dubia*, influenciaram negativamente nos parâmetros fecundidade e sobrevivência dessa espécie. As diferenças encontradas nos resultados dos testes de toxicidade aguda e crônica utilizando as três densidades algais podem estar relacionadas à diferença de sensibilidade dos organismos-teste, aos mecanismos específicos existentes entre os metais e as espécies algais (capacidade de reter o metal ou de excluí-lo), aos procedimentos próprios de cada experimento (tempo de exposição, parâmetro de avaliação, presença/ausência de luz) e aos efeitos tóxicos agudos e crônicos diferenciados dos metais sobre os organismos.

O alimento é considerado um importante fator que influencia a história de vida dos cladóceros. Isto é de particular importância no campo da ecotoxicologia, pois exposições a diferentes densidades de alimento também podem afetar a sensibilidade

dos organismos a diversos agentes tóxicos e, então, influenciar na extrapolação dos dados derivados do laboratório para as condições ambientais (ROSE *et al.*, 2002). Neste trabalho, uma maior densidade de células algais presentes nos testes de toxicidade crônica serviu como via adicional de intoxicação dos metais a *C. dubia*. A maior disponibilidade algal pode ter aumentado a taxa de filtração e gerado rotas de exposições mais efetivas aos metais por meio da água e do alimento (GILLIS *et al.*, 2005). Além disso, a maior oferta de alimento, possivelmente, levou ao incremento no metabolismo do organismo e, conseqüentemente, na retenção de metal.

Células de *S. capricornutum* expostas, anteriormente, a concentrações de cádmio e cromo e oferecidas como alimento para *C. dubia* também desencadearam efeitos tóxicos crônicos nesse organismo. Os resultados obtidos com células da clorofícea intoxicadas com uma faixa de concentração de 100 a 400µg/L de cromo revelaram ausência de efeitos prejudiciais ao cladóceros e, em alguns momentos, até um estímulo sobre sua fecundidade, sendo tal fato atribuído ao maior conteúdo de carboidrato e de proteínas nas células algais expostas a essas concentrações do metal. Tais resultados demonstram que, dentro do enfoque da exposição de metais aos organismos via dieta alimentar, há interações específicas entre metais e as diferentes espécies de algas que refletirão em seus consumidores (dafnídeos).

Com base nos resultados obtidos nos experimentos com algas e os referidos metais foi possível constatar que os efeitos tóxicos sofridos pela clorofícea refletiram-se na reprodução e na sobrevivência de *C. dubia*. De modo geral, efeitos negativos observados poderiam estar relacionados aos efeitos tóxicos diretos dos metais em células-alvo ou tecidos sensíveis responsáveis pela produção de ovos (vitelogenese). Efeitos indiretos também seriam esperados, devido a perturbações nos processos de filtração e de assimilação dos nutrientes e também à aquisição de alimento com baixo valor nutricional, os quais teriam repercussões negativas sobre o crescimento, a fecundidade e a sobrevivência do organismo. Uma possibilidade final é que um ou mais desses fatores interajam e causem aumento da sensibilidade dos organismos aos metais sob altas densidades de alimento.

Concentrações não letais de um tóxico que afetam a alimentação de um organismo podem gerar conseqüências a longo prazo na história de vida do indivíduo (menor crescimento, fecundidade e longevidade reduzidas). Além disso, esses efeitos serão refletidos nas relações com outros indivíduos que deles dependam. Por exemplo, pequenos cladóceros estressados pelo efeito tóxico de metais produzirão poucos

neonatos que exercerão reduzido “grazing” nos organismos fitoplanctônicos. Tal fato acarretará o crescimento incontrolado de algas e, posteriormente, aumento do problema de eutrofização nos corpos d’água (CLÉMENT & ZAID, 2004).

De acordo com ANTUNES *et al.* (2004), testes de toxicidade são a base da avaliação de risco para diversos agentes tóxicos nos ambientes aquáticos, porém, os protocolos que definem os procedimentos para a realização desses testes são limitados devido a sua natureza simplista, uma vez que não consideram as possíveis interações e os efeitos de contaminantes e outros estressores ambientais (alimento, competição, predação). Os protocolos para testes de toxicidade crônica aos organismos zooplanctônicos recomendam uso de algas (normalmente clorofíceas) para assegurar condições satisfatórias de sua reprodução. A alga fornecida como alimento pode reter o metal dissolvido, presente na solução, antes da mesma ser ingerida pelo organismo. Como observado no presente estudo, a exposição aos metais dissolvidos na presença de elevada concentração algal ou exposições aos metais via dieta alimentar influenciaram nos efeitos tóxicos observados em *C. dubia*. Tal abordagem deveria ser utilizada na interpretação dos dados em estudos ecotoxicológicos obtidos com dafnídeos.

CONCLUSÕES

⇒ Os metais cádmio e cromo acarretaram diminuição na densidade celular, na taxa de crescimento e no peso seco das espécies *Selenastrum capricornutum* (Chlorophyceae) e *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae). As algas apresentaram mecanismos próprios para lidar com os metais, sendo que *S. capricornutum* foi capaz de reter mais cádmio do que cromo em suas células, enquanto *M. aeruginosa* apresentou menor retenção para ambos os metais. Essa capacidade diferenciada em reter metais influenciou na sensibilidade das espécies. O uso de diferentes grupos algais, em estudos ecotoxicológicos, é altamente recomendado.

⇒ A capacidade das espécies *S. capricornutum* e *M. aeruginosa* em reter ou não concentrações de cádmio e cromo dissolvidos, removendo-os da solução-teste, reflete a importante influência destas no transporte e destino dos metais nos ecossistemas aquáticos.

⇒ A sensibilidade entre as espécies de algas aos metais apenas diferiu para o cádmio, sendo a clorofícea a mais sensível. Em relação aos organismos zooplanctônicos, *Ceriodaphnia dubia* apresentou uma sensibilidade similar para ambos os metais e *Daphnia similis* foi mais sensível ao cromo do que ao cádmio.

⇒ A presença de diferentes densidades da clorofícea *S. capricornutum* nos testes de toxicidade aguda de *D. similis* aos metais cádmio e cromo não alterou a sensibilidade do organismo-teste. Uma alta densidade da cianofícea *M. aeruginosa* (10^6 céls/mL) aumentou o valor da CE(I)50; 48h de cádmio para *D. similis* e uma média densidade da alga (10^5 céls/mL) diminuiu o valor da CE(I)50; 48h ao cromo para o cladóceros. Estes resultados parecem estar relacionados à capacidade diferenciada das espécies algais em reter os metais e à sensibilidade própria dos grupos fitoplanctônicos e zooplanctônicos a esses elementos

⇒ Os efeitos tóxicos dos metais em *C. dubia*, medidos através da fecundidade e da sobrevivência, durante testes de toxicidade crônica, foram significativamente afetados pela presença de altas concentrações de células algais. Apesar de a água ser considerada a principal rota de exposição dos metais aos organismos aquáticos, o alimento pode ser considerado uma via de intoxicação adicional, potencializando os efeitos tóxicos desses elementos quando presente em alta concentração.

⇒ O alimento, representado pelas células algais, afetou os resultados dos testes de toxicidade aos metais pesados para o zooplâncton. Os efeitos observados foram tanto um potencializador como um redutor da sensibilidade do organismos-teste aos agentes químico. Essa resposta foi dependente dos mecanismos pelos quais esses agentes exerceram sua toxicidade e das interações entre o tipo de alimento, o tóxico e o organismo-teste.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEL, P.D. (1996). *Water Pollution Biology*. Second edition. London: Taylor & Francis Ltd.
- ACADEMY OF NATURAL SCIENCES OF PHILADELPHIA (1960). The sensitivity of aquatic life to certain chemicals commonly found in industrial wastes. Final Report: U.S.PHS Grant RG-3965 (CZRI).
- AIDAR, E.; PEREIRA, S.A.; SOUSA, E.C.P.M.; BRASIL-LIMA, G.M.S. (2002). Teste de toxicidade com microalgas In: NASCIMENTO, E.C.; DE SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. (eds). *Métodos em ecotoxicologia marinha. Aplicações no Brasil*. Capítulo 6 p.51-62.
- ALLEN, Y.; CALOW, P.; BAIRD, D.J. (1995). A mechanic model of contaminant-induced feeding inhibition in *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.*, v.14, n.9, p.1625-1630.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORK ASSOCIATION; WATER CONTROL FEDERATION (1995). Standard methods for the examination of water and wastewater. 19 ed. New York.
- ANTUNES, S.C, CASTRO, B.B, GONÇALVES, F. (2004). Effect of food level on the acute and chronic responses of daphnids to lindane. *Environmental. Pollut.*, v.127, p.367-375.
- ARCURI, A.S.A; FERNICOLA, N.A.G.G (2003). Riscos ao meio ambiente e acidentes relatados. In: DE AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M.(eds). *Metais. Gerenciamento da Toxicidade*. Atheneu InterTox, Cap.15. p.451-492.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (1992). Água-Ensaio de toxicidade com *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). NBR12468, Rio de Janeiro, p.8.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (2004). Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda- Método de ensaio com *Daphnia* ssp (Cladocera, Crustacea) NBR12713, 17p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (2005). Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica- Método de ensaio com *Ceriodaphnia* ssp (Cladocera, Crustacea) NBR13373,
- ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION AFNOR (1980). *Norme expérimentale*. T90-304. Essais deseaux Determination de l'inhibition de *Scenedesmus subspicatus* par une substance.

- AVELAR, W.E.P, ROMA, F.; LONGO, L.L. (1997). Poluição por metais pesados na bacia do rio Sapucaí-Mirim (Nordeste do Estado de São Paulo, Brasil) pela indústria do couro. *Arq. Biol. Tecnol*, v.40, p.2025-212.
- AZEVEDO, S.M.F.O (2000). Eutrofização: Cianobactérias e Saúde Pública. In: VI Encontro de Ecotoxicologia. "Ecotoxicologia e Desenvolvimento Sustentável: Perspectivas para o século XXI", São Carlos, 2000. *Resumos*. São Paulo. USP. p.36.
- BAILLIEUL, M.; BLUST, R. (1999). Analysis of the swimming velocity of cadmium-stressed Daphnia magna. *Aquatic Toxicol.*, v. 44, p.245-254.
- BAIRD, D.J.; BARBER, I.; SOARES, A.M.V.; CALOW, P. (1991). An early life-stage test with Daphnia magna Straus: An alternative to the 21-days chronic test? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* v.22, p.1-7.
- BARATA, C.; BAIRD, D.J.; MARKICH, S.J. (1998). Influence of genetic and environmental factors on the tolerance to Daphnia magna to essential and non-essential metals. *Aquatic Toxicol.*, v. 42, p.115-137.
- BARATA, C.; MARKICH, S.J.; BAIRD, D.J.; SOARES, A.V.M. (2002). The relative importance of water and food as cadmium sources to Daphnia magna Straus. *Aquatic Toxicol.*, v. 61, p.143-154.
- BODAR, C.W.M.; van der SLUIS; van MONTFORT, J.C.P.; VOOGT, P.A; ZANDEE, D.I. (1990a). Cadmium resistance in Daphnia magna. *Aquatic Toxicol.*, v. 16, p.33-43.
- BODAR, C.W.M.; VANDONSELAAR, E.G.; HERWING, H.J. (1990b). Cytopathological investigations of digestive tract and storage-cells in Daphnia magna exposed to cadmium and tributyltin. *Aquatic Toxicol.*, v. 12, p.301-310.
- BOYLE, T.P (1984). The effect of Environmental contaminants on Aquatic Algae. In: SHUBERT, E.L (edt). *Algae as Ecological Indicators*. Academic Press-Inc. London. Cap8, p.237-256.
- BRAND, L.E.; SUNDA, W.G.; GUILLARD, R.R.L (1986). Reduction of marine phytoplankton reproduction rates by copper and cadmium. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*, v. 96, p.225-250.
- BROWN, L.N.; ROBINSON, M.G.; HALL, B.D. (1988). Mechanisms of copper tolerance in Amphora coffeaeformis internal and external binding. *Marine Biology*. v.97, p. 581-586.
- BURATINI, S. V.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P.A (2004). Evaluation of Daphnia similis as a test species in ecotoxicological assays. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.*, v.73, p. 878 - 882.
- BURTON, G.A.Jr. (1999). Realistic assessment of ecotoxicity using traditional and novel approaches. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, v.2, p.1-8.
- CAIRNS, J.J; NIEDERLEHNER, B.R.; BIDWELL, J.R. (1998). Ecological Toxicity Testing. In: MEYERS, R.A., ed. *Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation*. John Wisley & Sons, Inc, p.1482-1497.

- CALOW, P. (1993). General Principles In: CALOW, P., ed. *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Science. Ltda, Oxford, Cap.1.
- CAMPBELL, P.G.C. (1995). Interactions between trace metals and organisms: critique of the free-ion activity model. In: TESSIER, A. TURNER, D. eds. *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*, Wiley, Chichester, UK, p.45-102.
- CAMPBELL, P.G.C.; ERRÉCALDE, O.; FORTM, C.; HIRIART-BAER, V.; VIGNEAULT, B. (2002). Metal bioavailability to phytoplankton – applicability of the biotic ligand model. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*.133, p.189-206.
- CARMICHAEL, W.W. (1992). A review: Cyanobacteria secondary metabolites- the cyanotoxins. *J. Appl. Bacteriol*, v.72, p.445-45.
- CAÑIZARES-VILLANUEVA, R.O.; MARTÍNEZ-JERÓNIMO, F.; ESPINOSA-CHAVEZ, F. (2000). Acute toxicity to *Daphnia magna* of effluents containing Cd, Zn, and a mixture Cd-Zn, after metal removal by *Chlorella vulgaris*. *Environmental Toxicological*, v.15, p.160-164.
- CARR, H.P.; CARIÑO, M.S.; YANG, M.S.; WONG, M.H. (1998). Characterization of the cadmium-binding capacity of *Chlorella vulgaris*. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.*, v.60, p.433-440.
- CARDOSO, L.M.N.; CHASIN, A.A.M. (2001). *Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos* Salvador.122p.
- CERVANTES, C.; CAMPOS-GARCIA, J.; DEVARS, S.; GUTIÉRREZ-CORONA, F.; LOZA-TAVERA.; TORRES-GUZMÁN, J.C.; MORENO-SÁNCHEZ, R. (2001). Interactions of chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiology Reviews*. v.25, p.335-347.
- CHANDINI, T. (1989). Survival, growth and reproduction of *Daphnia carinata* (Crustacea:Cladocera) exposed to chronic cadmium stress at different food (*Chlorella*) levels. *Environmental Pollution*, v.60, p.29-45.
- CHAO, M-R.; CHEN, C-Y. (2000). No-observed-effect concentration in batch and continuous algal toxicity tests. *Environ. Toxicol. Chem*, v.19, n.6, p.1589-1596.
- CHASIN, A.A.M.; CARDOSO, L.M.N (2003). Cádmio. In: DE AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M.(edts). *Metals. Gerenciamento da Toxicidade*. Atheneu InterTox, Cap.10. p.263-298.
- CHOUERI, R.B (2004). *Consumo e influência de exopolissacarídeos de Anabaena spiroides (Cyanophyceae) sobre a toxicidade e captura de cobre em Ceriodaphnia cornuta (Crustacea, Cladocera)*. 87p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos.
- CLÉMENT, B.; ZAID, S. (2004). A new protocol to measure the effects of toxicants on the daphnids-algae interactions. *Chemosphere*, v.55, p.1429-1438.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (1998). *Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo*. 244 p.

CONIGLIO, L.; BAUDO, R. (1989). Lifes-tables of Daphnia obtusa (Kruz) surviving exposure to toxic concentration of chromium. *Hydrobiologia*, v.188/189, p.407-410.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. CONAMA (2005). Resolução nº357. 23p. Brasil.

CORRADI, M.G; GORBI, G.; ABD-E:-MONEM.; TORELLI, A.; BASSI, M. (1998). Exudates from the wild type and a Cr-tolerant strain of Scenedesmus acutus influence differently Cr (VI) toxicity to algae. *Chemosphere*, v.37, p.3019-3025.

DAO-PUISEX, S. (1989). Phytoplankton Models. In: BOUDOU, A.; RIBEYRE, F. (eds). *Aquatic Ecotoxicology. Fundamentals Concepts and Metodologies*. Vol II. CRC Press. Boca Raton.

DA SILVA, C.S (2003). Cromo. In: DE AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M. *Metais. Gerenciamento da Toxicidade*. Atheneu InterTox, Cap.2. p.35-65.

DE COEN, W.N.; JANSSEN, C. R. (1997). The use of biomarkers in Daphnia magna toxicity testing. II Digestive enzyme activity in Daphnia magna exposed to sublethal concentrations of cadmium, chromium and mercury. *Chemosphere*, v.35, p.1053-1067.

DE COEN, W.M.; JANSSEN, C.R. (2004). The missing biomarkers link: relationships between effects on the cellular energy allocation biomarker of toxicant- stressed Daphnia magna and corresponding populations characteristics. *Environ. Toxicol. Chem.* v.22, p.1632-1641.

DE OLIVEIRA-FILHO, E.C.; LOPES, R.M.; PAUMGARTTEN, F.J.R. (2004). Comparative study on the susceptibility of freshwater species to copper-based pesticides. *Chemosphere*, v.56, p. 369-374.

DE SCHAMPHELARE, K.A.C.; CANLI, M.; VAN LIERDE, V.; FORREZ, I.; VANHAECKE, F.; JANSSEN, C.R. (2004). Reproductive toxicity of dietary zinc to Daphnia magna. *Aquatic Toxicol.*, v.70, p.233-244.

DE SCHAMPHELARE, K.A.C.; JANSSEN, C.R. (2004). Effects of chronic dietary copper exposure on growth and reproduction of Daphnia magna. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.23, n.8, p.2038-2047.

DEVILLA, R.A. (1999). *Efeito do chumbo sobre o crescimento e biomassa de Skeletonema costatum e Cylindrotheca closterium (Bacillariophyceae) em bioensaios de laboratório*. 96p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande.

DIAMANTINO, T. C.; GUILHERMINO, L.; ALMEIDA, E.; SOARES, A.M.V (2000). Toxicity of sodium molybdate and sodium dichromate to Daphnia magna Straus evaluated in acute, chronic and acetylcholinesterase inhibition tests. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.45, p.235-259.

DÖNMEZ, G.; AKSU, Z.; ÖZTÜRK, A.; KUTSAL, T. (1999). A comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae. *Process Biochemistry*, v.34, p.885-892.

ENSERICK, L.; LUTTMER, W., MAAS-DIEPEVEEN, H., (1990). Reproductive strategy of Daphnia magna affects the sensibility of its progeny in acute toxicity tests. *Aquatic Toxicol.*, v.174, p.15-26.

ESPÍNDOLA, E.L.G. (1994). *Dinâmica da associação congênica da espécie de Notodiaptomus (Copepoda, Calanoida) no reservatório de Barra Bonita*. 363p. São Carlos. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo.

ESTEVES, F.A.; FERREIRA, J.R.; PESSEDA, L.C.R.; MORTATTI, J. (1981). Análises preliminares sobre o teor e a distribuição de metais em sedimentos de represas do Estado de São Paulo. In: II Seminário Regional de Ecologia. São Carlos, 1981. *Anais*, UFSCar, p.323-342.

ESTEVES, F. A. (1988). *Fundamentos da Limnologia*. Rio de Janeiro. Interciências FINEP. 602p.

FARGASOVÁ, A (1994). Toxicity of metals on Daphnia magna and Tubifex tubifex. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.27, p.210-213.

FARGASOVÁ, A.; BUMBÁLOVA, A.; HAVRÁNEK, E. (1999). Ecotoxicological effects and uptake of metals (Cu^+ , Cu^{+2} , Mn^{+2} , Mo^{6+} , Ni^{2+} , V^{5+}). *Chemosphere*, v.38, n.5, p.1165-1173.

FERRANDO, M.D.; SANCHO, E.; ANDREU-MOLINER, E (1996). Accumulation of tetradifon in an algae (Nannochloris oculata) and the cladoceran, Daphnia magna. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.*, v.57, p. 139-145.

FISHER, N.S.; REINFELDER, J.R. (1995). The trophic transfer of metals in marine systems. In: TESSIER, A.; TURNER, D.R. (edts). *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. Chichester, John Wiley, p.363-406.

FLIEDNER, A. (1997). Ecotoxicity of poorly water-soluble substances. *Chemosphere*, v.35, p.295-305.

FLORENCE, T.M.; STAUBER, I. (1986). Toxicity of copper complexes to the marine diatom Nitzschia closterium. *Aquatic Toxicol.*, v.8, p.12-26.

FOGG, G. E. (1975). *Algal cultures and phytoplankton ecology*. 2^o ed. Ed. University of Wisconsin Press, USA.

FRANKLIN, N.; STAUBER, J.L.; APTE, S.C.; LIM, R.P. (2002). Effects of initial cell density on the bioavailability and toxicity of copper in microalgal bioassays. *Environ. Toxicol. Chem*, v.21, p.742-751.

GARCIA, G.G.; NANDINI, S.; SARMA, S.S.S. (2004). Effect of cadmium on the population dynamics of Moina macrocopoda and Macrothrix triserialis (Cladocera). *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.*, v.72, p.717-724.

GARNHAM, G.W.; GREEN, M. (1995). Chromate (VI) uptake by and interactions with cyanobacteria *Journal of Industrial Microbiology*, v.14, p.274-251.

- GILLIS, P.L.; GHOW-FRASER, P.; RANVILLE, J.F.; ROSS, P.E.; WOOD, C.M. (2005). Daphnia need to be gut-cleared too: the effect of exposure to and ingestion of metal-contaminated sediment on the gut-clearance patterns of D. magna. *Aquatic Toxicol.*, v.71, p.143-154.
- GORBI, G.; CORRADI, M.G. (1993). Chromium toxicity on two linked trophic levels. I. Effects of Contaminated Algae on Daphnia magna. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* v.25, p.64-71.
- GORBI, G.; CORRADI, M.G.; INVIDIA, M.; BASSI, M (2001). Light intensity influence chromium bioaccumulation and toxicity in Scenedesmus acutus (Chlorophyceae) *Ecotoxicol. Environ. Saf.* v.48, p.36-42.
- GORBI, G.; CORRADI, M.G.; INVIDIA, M.; RIVARA, L.; BASSI, M. (2002). Is Cr (VI) toxicity to Daphnia magna modified by food availability or algal exudates? The hypothesis of a specific chromium/algae/exudate interaction. *Water Research.* v.36, p.1917-1926.
- GORBI, G.; INVIDIA, M.; ZANINI, C.; TORELLI, A.; CORRADI, M.G. (2004). Bioavailability, bioaccumulation and tolerance of chromium: consequences in the food chain of freshwater ecosystems. *Annali di Chimica* v.94, p.505-513.
- GORHAM, P.R.; McLACHLAN, J.; HAMMER, U.T.; KIM, W.K. (1964). Isolation and culture of toxic strain of Anabaena flosaquae (Lung). *Bred. Ver. Inter. Theor. Angew. Limnol.* v.15, p.796-804.
- GRIFFITHS, P.R.E. (1980). Morphological and ultrastructural effects of sublethal cadmium poisoning on Daphnia. *Environ. Res.* v.22, p.277-284.
- GUANZON, N.G.Jr; NAKAHARA, I.I.; YOSHIDA, Y. (1994). Inhibitory effects of heavy metals on the growth and photosynthesis of three freshwater microalgae *Fisheries Science.* v.60, p.379-384.
- GUAN, R.; WANG, W.X. (2004a). Dietary assimilation and elimination of Cd, Se, and Zn by Daphnia magna at different metal concentrations. *Environ. Toxicol. Chem.*, 23, 2689-2698.
- GUAN, R.; WANG, W.X. (2004b). Cd and Zn uptake kinetics in Daphnia magna in relation to Cd exposure history. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 6051-6058.
- GULLEY, D. D., BOELTER, A M.; BERGMAN., H. L (1993). *TOXSTAT VERSION 3.3*. Computer Program. Fish Physiology and Toxicology Laboratory Department of Zoology and Physiology University of Wyoming Laramie.
- HAMILTON, M.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. (1977). Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Tech.*, v.11, n.7, p.714-719.
- HAURI, J. F.; HORNE, A. J (2004). Reduction in labile copper in the 7-day Ceriodaphnia dubia toxicity test due to the interaction with zooplankton food.

Chemosphere, v.56, p. 717 - 723.

HAZANATO, T. (1998). Response of zooplankton community to insecticide application in experimental ponds: a review and the implications of the effects of chemicals on the structure and functioning of freshwater communities. *Environmental Pollution*, v.101, p.361-373.

HAZANATO, T. (2001). Pesticides effects on the freshwater zooplankton: an ecological perspective *Environmental Pollution*, v.112, p.1-10.

HENG, L.Y.; JUSOH, K.; MUI LING, C.H.; IDRIS, M. (2004). Toxicity of single and combinations of lead and cadmium to the cyanobacteria *Anabaena flos-aquae*. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.*, v.72, p.373 – 379.

HICKEY, C.W. (1989). Sensitivity of four New Zealand cladoceran species and *Daphnia magna* to aquatic toxicants. *New Zealand J. Mar. Fresh. Res.*, v.23, p.131-137.

HIDALGO, T.R.M. (1999). *Toxicidade de cobre em Scenedesmus acuminatus*. 34p. Monografia (Bacharelado), Universidade Federal de São Carlos.

HOOK, S.E.; FISHER, N.S. (2001). Sublethal effects of silver in zooplankton: importance of exposure pathways and implications for toxicity testing. *Environ. Toxicol.Chem.*, v.20, n.3, p.568-574.

HOOK, S.E.; FISHER, N.S. (2002). Relating the reproductive toxicity of five ingested metals in calanoid copepods with sulfur affinity *Marine Environmental Research*, v.53, p.161-174.

HU, S.; LAU, W.K.K.; WU, M. (2001). Cadmium sequestration in *Chlamydomonas reinhardtii* *Plant Science*, v.161, p.987-996.

INGERSSOL, C.G.; WINNER, R.W. (1982). Effect on *Daphnia pulex* exposure to copper and cadmium. *Environ. Toxicol. Chem*, v.1, p.321-327.

JACKSON, J. (2002). Metais pesados e outras substâncias tóxicas inorgânicas. In: MATSUI, S. ed. *Diretrizes para o Gerenciamento de Lagos*. ILEC and IIE, Japan. 79-88.

JAK, R. G.; MAAS, J. L.; SCHOLTEN, M. C. T. (1996) Evaluation of laboratory derived toxic effect concentrations of a mixture of metals by testing freshwater plankton communities in enclosures. *Water Research*, v.30, n.5, p.1215-1227.

JANATI-IDRISI, M.; GUERBET, M.; JOUANY, J.M. (2001) Effect of Cadmium on Reproduction of Daphnids in a Small Aquatic Microcosm. *Environ. Toxicol.* v.16, p.361-364.

JAYATISSA, L.P. (1994). *The role of cyanobacterial toxins as grazing inhibitors in the freshwater cladoceran Daphnia magna STRAUS*. 169p. Thesis. University of Stirling

- KAREZ, C.S.; MAGALHÃES, V.F.; PFEIFFER, W.C. (1994). Trace metal accumulation by algae in Sepetiba Bay, Brazil. *Environmental Pollut.* v. 83, p.351-356.
- KILHAM, S.S, KREEGER, D.A., GOULDEN, C.E.; LYNN, S.G (1997). Effects of algal quality on fecundity and population growth rates of Daphnia. *Freshwater Biology*. 38, 639-647.
- KIM, S.D.; PARK, K.S.; GU, M.B. (2002). Toxicity of hexavalent chromium to Daphnia magna: influence of reduction reaction by ferrous iron. *Journal of Hazardous Materials*, A93, p.155-164.
- KLAINÉ, S.J.; LEWIS, M.A. (1995). Algal and plant toxicity testing. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, G.A.; BURTON, G.A.Jr.; CAIRNS, Jr., eds. *Handbook of Ecotoxicology*, Lewis Publishers, Boca Raton Fl. Cap.8, p.163-184.
- KLÜTTGEN, B.; RATTE, H.T. (1994). Effects of different food doses on cadmium toxicity to Daphnia magna. *Environ. Toxicol. Chem*, v.13, n.10, p.1619-1627.
- KOIVISTO, S.; KETOLLA, M.; WALLS, M. (1992). Comparasion of five cladoceran species in short- and long-term copper exposure. *Hydrobiologia*, v.248, p.125-136.
- KUNGOLOS, A.; AOYAMA, I. (1993). Interactions effect, food effect, and bioaccumulation of cadmium and chromium for the system Daphnia magna-Chlorella ellipsoidea. *Environ. Toxicol. Water Quality*, v. 8, p.351-369.
- LAMPERT, W. (1987). Feeding and nutrition in Daphnia. In: PETERS, R.H.; DE BERNARDI, R. (eds). Daphnia. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol*, v.45, p.143-195.
- LANNO, R.P.; HICKIE, B.E.; DIXON, D.G. (1989). Feeding and nutritional considerations in aquatic toxicology. *Hydrobiologia*, v.188/189, p.527-531.
- LAUBE, V.M; McKENZIE, C.N.; KUSHNER, D.J (1980). Strategies of response to copper, cadmium, and lead by a blue-green and a green alga. *Can. J. Microbiol.* v.26, p.1300-1311.
- LEAL, M.F.C.; VASCONCELOS, M.T.S.D.; Van der BERG, C.M.G. (1999). Copper-induced realese of complexing ligands similar to thiols by Emiliana huxley seawater cultures. *Limnol. Oceanog.* v.44, n. 7, p.1750-1763.
- LEBORANS, G.F.; NOVILLO, A. (1996). Toxicity and bioaccumulation of cadmium in Olisthodiscus luteus (Raphidophyceae) *Wat. Res.* v.30, p.57-62.
- LEE, S.III.; NA, E.J.; CHO, Y.O.; KOOPMAN, B.; BITTON, G. (1997). Short-term toxicity test based on algal uptake by Ceriodaphnia dubia. *Wat. Environ. Res.* v.69, n.7, p.1207-1210.
- LEWIS, M.A. (1995). Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. *Environmental Pollution*, v.87, p.319-336.

- LITHNER, G.; BORG, H.; EK, J.; FRÖBERG, E.; HOLM, K.; JOHANSSON, A.M.; KÄRRHAGE, P.; SÖDERSTRÖM, M. (2000). The Turnover of Metals in a Eutrophic and Oligotrophic Lake in Sweden. *Ambio*, v.29, n.4-5, p.217-229.
- LOEZ, C. R.; TOPALIAN, M. L.; SALIBIAN, A. (1995). Effects of zinc on the structure and growth dynamics of a natural freshwater phytoplankton assemblage reared in the laboratory. *Environmental Pollution*, v.88, p.275-281.
- LOMBARDI, A.T.; VIEIRA, A.A.H (1998). Copper and lead complexation by high molecular weight compounds produced by *Synura* sp (Chrysophyceae). *Phycologia*, v.37, p.34-39.
- LOMBARDI, A.T.; VIEIRA, A.A.H (1999). Lead- and copper-complexing extracellular ligands released by *Kirchneriella aperta* (Chlorococcales, Chlorophyta). *Phycologia*, v.38, p.283-288.
- LOMBARDI, A.T.; VIEIRA, A.A.H (2000). Copper complexation by Cyanophyta and Chlorophyta exudates. *Phycologia*, v.39, p.118-125.
- LOMBARDI, A.T. (2000). Interação entre microalgas e metais no ambiente. In: VI Encontro de Ecotoxicologia. "Ecotoxicologia e Desenvolvimento Sustentável: Perspectivas para o século XXI", São Carlos, 2000. *Resumos*. São Paulo. USP. p.38.
- MAGDALENO, A.; GOMEZ, C.; VELEZ, C.G.; ACCORINI, J. (1997). Preliminary toxicity tests using the green alga *Ankistrodesmus falcatus*. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, v.12, p.11-14.
- MANAHAM, S.E. (1994). *Environmental Chemistry*. 6 ed. Lewis Publishers. 811p.
- MANGAS-RAMÍREZ, E.; SARMA, S.S.S.; NANDINI, S. (2002). Combined effects of algal (*Chlorella vulgaris*) density and ammonia concentration on the population dynamics of *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa* (Cladocera). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.51, p.216 – 222.
- MARTÍNEZ-JERÓNIMO, F.; VILLASEÑOR, R.; RIOS, G.; ESPINOSA, F. (1994). Effect of food type and concentration on the survival, longevity, and reproduction of *Daphnia magna*. *Hydrobiologia*, v.287, p.207-214.
- MCGRATH, S.P.; SMITH, S. (1990). *Chromium and nickel*. In: Heavy metals in soils. Alloways B.J.ed. New York, p.125-150.
- MEMMERT, U. (1987). Bioaccumulation of zinc in two freshwater organisms (*Daphnia magna*, Crustacea and *Brachydanio rerio*, Pisces). *Water Research*, v.21, p.99-106.
- MILLER, J.C.; MILLER, J.N. (1994). *Statistic for analytic chemistry*. 3ed. Printed in Great Britain, 101-120.

- MITCHELL, S.F.; TRAINOR, F.R.; RICH, P.H.; GOULDEN, C.E. (1992). Growth of Daphnia magna in the laboratory in relation to the nutritional state its food species, Chlamydomonas reinhardtii. *Journal of Plankton Research*, v.118, p.229-305.
- MOLISANI, M.M.; SALOMÃO, M.S.M.B.; OVALLE, A.R.C.; REZENDE, C.E.; LACERDA, L.D, CARVALHO, C.E.V (1999). Heavy metals in sediments of lower Paraíba do Sul river and estuary, R.J, Brasil. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.*, v.63, p.682-690.
- MOORE, J.W.; RAMAMOORTHY, S. (1984). *Heavy metals in natural waters: Applied monitoring and impact assessment*. 1ed. Springer-Verlag, New York.. 811p.
- MOORE, T.F; CANTON, S.P.; GRIMES, M. (2000). Investigating the incidence of type I errors for chronic whole effluent toxicity testing using Ceriodaphnia dubia. *Environ. Toxicol. Chem.*, v.19; n.1, p.118-122.
- MORELLI, E.; SCARANO, G. (2001). Synthesis and stability of phytochelatins induced by cadmium and lead in the marine diatom Phaeodactylum tricornutum. *Mar. Environ. Res.* v.52, p.383-395.
- MOUNT, D.I.; NORBERG, T.J. (1984). A seven life-cycle cladoceran toxicity test. *Environ. Toxicol. Chem*, v.3, p.425-434.
- MUNAWAR, M.; MUNAWAR, I.F.; LEPPARD, G.G (1989). Early warning assays: an overview of toxicity with phytoplankton in the North American Great Lakes. *Hydrobiologia* v.188/189, p.237-246.
- MUNGER, C.; HARE, L. (1997). Relative Importance of Water and Food as Cadmium Source to na Aquactic Insect (Chaoborus punctipennis): Implications for Predicting Cd Bioaccumulation in Nature. *Environ. Sci. Technol*, v.31, p.891-895.
- MUNGER, C.; HARE, L.; CRAIG, A.; CHAREST, P.M (1999). Influence of exposure time on the distribution of cadmium within the cladoceran Ceriodaphnia dubia. *Aquatic Toxicol.*, v.44, p.195-200.
- NALEWAJKO, C.; OLAVESON, M.M (1998). Ecophysiological Considerations in Microalgal Toxicity Test. In: WELLS, P.G.; LEE, K.; BLAISE, C. (edts). *Microscale Testing in Aquatic Toxicology Advances Techniques and Practice*. CRC Press. United States. Chapter 18, p.269-288.
- NANDINI, S.; SARMA S.S.S. (2000). Lifetable demography of four cladoceran species in relation to algal food (Chlorella vulgaris) density. *Hydrobiologia.*, v.435, p.117-126.
- NANDINI, S.; MAYELI, S.M.; SARMA S.S.S. (2004). Effects of stress on the life-table demography of Moina macrocopa (Cladocera). *Hydrobiologia.*, v.526, p.245 – 254.
- NIPPER, M. (2002). Testes estatístico para análise de resultados de testes de toxicidade com amostras líquidas e sedimentos In: NASCIMENTO, E.C.; DE SOUSA, E.C.P.M; NIPPER, M. (edts). *Métodos em ecotoxicologia marinha. Aplicações no Brasil*. Capítulo 21 p.245-259.

- NISHIKAWA, K.; YAMAKOSHI, Y.; UEMURA, I.; TOMINGA, N. (2003). Ultrastructural changes in *Chlamydomonas acidophila* (Chlorophyta) induced by heavy metals and polyphosphate metabolism. *EFEMS Microbiology Ecology* v.44, p. 253-259.
- NOGUEIRA, P.F.M. (2002). *Consumo e influência de polissacarídeos excretados por Anabaena spiroides (Cyanophyceae) sobre a toxicidade e captura de cobre em Simocephalus serrulatus (Crustacea, Daphnidae)*. 52p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos.
- NUSCH, E.A. (1980). Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. *Arch. Fur. Hydrobiol.*, v.14, p. 14-36.
- OCHIAI, E. I. (1995). Toxicity of heavy metals and biological defense . Principles and applications in bioinorgânico chemistry – VII. *Journal of Chemical Education*, v.72, n.6, p.479-483.
- OKAMOTO, O.K.; ASANA, C.S.; AIDAR, E.; COLEPICOLO, P. (1996). Effects of cadmium on growth and superoxide dismutase activity of the marine microalga *Tetraselmis gracilaris* (Prasinophyceae) *J. Phycol.*, v.32, p.74-79.
- OLIVEIRA-NETO, A. L. (2000). *Influência de alguns metais pesados (Cd, Cr e Pb) em organismos planctônicos lacustres de região subtropical*. São Carlos. 91p. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo.
- OLIVEIRA-NETO, A. L.; BOTTA-PASCHOAL, A.L (2000). Sensibilidade do cladocera lacustre planctônico *Ceriodaphnia silvestrii* (Família Daphnidae) aos metais cádmio, cromo e chumbo. In: ESPÍNDOLA, E.L.G *Ecotoxicologia-Perspectivas para o século XXI*. São Carlos. Rima Editora. p537 - 543.
- OLIVEIRA-NETO, A. L.; VIEIRA, A.A.H.; BOTTA-PASCHOAL, C.; ALMEIDA, C.A.; MIRANDA, V.F (2003). *Toxicidade aguda por metais pesados e substâncias orgânicas para o organismo zooplânctônico Ceriodaphnia silvestrii (Cladocera) na presença de polissacarídeos excretados por microalgas Selenastrum capricornutum (Chlorophyceae), Anabaena spiroides, Microcystis aeruginosa (Cyanophyceae) e Aulacoseira granulata (Bacillariophyceae)*. Caderno de Resumos. T4-P31. 5th Iberian and 2nd Iberoamerican Congress of Environmental Contamination and Toxicology (CICTA, 2003) “Environmental problems in the Iberoamerican Context”. Porto.
- PATELLA, E. (1998) *Caracterização biogeoquímica dos estoques de metais pesados, contaminantes e nutrientes de testemunhos de sedimentos e particulados do reservatório de Guarapiranga, SP*. São Carlos. 137p. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo.
- PAULSEN, B.S.; ALASKEN, T. (1994). Extracellular polysaccharides from *Ankistrodesmus densus* (Chlorophyceae) *J. Phycol.*, v.34, p.638-641.
- PAYNE, C.D.; PRICE, N.M. (1999). Effects of cadmium toxicity on growth and elemental composition of marine phytoplankton. *J. Phycol.*, v.34, p.293-302.

- PEAKALL, D.P.; BURGER, J. (2003). Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* v.56, p.110-121.
- PENA-CASTRO, J.M.; MARTINEZ-JERONIMO, F.; ESPARZA-GARCÍA, F.; CANIZARES-VILLANUEVA, R.O. (2004). Heavy metals removal by the microalgae Scenedesmus incrassatulus in continuous cultures. *Bioresources Technology*, v.94, p.219-222.
- PENTTINEN, S.; KOSTAMO, A.; KUKKONEN, J.K. (1998). Combined effects of dissolved organic material and water hardness on toxicity of cadmium to Daphnia magna. *Environ. Toxicol. Chem.*, v.17, n.12, p.2498-2503.
- PISTOCCHI, R.; MORMILE, A.M.; GUERRINI, F.; ISANI, G.; BONI, L. (2000). Increased production of extra-and intracellular metal-ligands in phytoplankton exposed to copper and cadmium. *J. Appl. Phycol.*, v.12, p.469-477.
- RACHLIN, J.W.; WARKENTINE, B.; JENSEN, T.E. (1982). The growth response of Chlorella saccharophila, Navicula inserta and Nitzschia closterium to selected concentration cadmium. *Bull. Torrey. Bot Club*, v.109, p.129-135.
- RACHLIN, J.W.; GROSSO, A (1993). The growth response of the green alga, Chlorella vulgaris to combined divalent cation exposure. *Arch. Environ Contam. Toxicol*, v.24, p.16-20.
- RADWAY, J.C.; WILDE, E.W.; WHITAKER, M.J.; WEISSMAN, J. (2001). Screening of algal strain for metals removal capabilities. *J. Appl. Phycol*, v.13, p.451-455.
- RAND, G.M; WELLS, P.G.; McCARTY, L.S (1995). Introduction to Aquatic Toxicology. In: RAND, G.M., ed. *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment*. Washington, Taylor & Francis. Cap.1, p.3-66.
- REINFELDER, J. R.; FISHER, N. S.; LUOMA, S. N.; NICHOLS, J. W.; WANG, W. X (1998). Trace element trophic transfer in aquatic organisms: a critique of the kinetic model approach. *The Science of the Total Environment*, v.219, p.117-135.
- REYNOLDS, C.S.; JAWORSKI, G.H.M (1978). Enumeration of natural Microcystis populations. *Br. Phycol., J.* v.13, p.269-277.
- RICHS, C.J.; ROBINSON, P.K.; ROLPH, C.E. (1996). Effect of heavy metals on lipids from the freshwater alga Selenastrum capricornutum. *Biochemical Society Transactions*. v.24, p.174S.
- ROBINSON, K.A.; BAIRD, D.J.; WRONA, F.J. (2003). Surface metal adsorption on zooplankton carapaces: implications for exposure and effects in consumer organisms. *Environmental Pollution*, v.122, p.159-167.
- ROCHA, O. (2000). A poluição química e a biodiversidade. In: VI Encontro de Ecotoxicologia. "Ecotoxicologia e Desenvolvimento Sustentável: Perspectivas para o século XXI", São Carlos, 2000. *Resumos*. São Paulo. USP. p.25.

- ROCHA, O.; DUNCAN, A. (1985). The relationship between cell carbon and cell volume in freshwater algal species used in zooplanktonic studies. *J.Plankton.Res*, v.7, p.279-294.
- ROJÍCKOVÁ-PADRTOVÁ, R.; MARSÁLEK, B. (1999). Selection and sensitivity comparasions of algal species for toxicity testing. *Chemosphere*, v.38, p.3329-3338.
- RODGHER, S. (2001). *Estudos ecotoxicológicos e limnológicos nos reservatórios em cascata do Médio e Baixo rio Tietê (SP): uma análise espacial e temporal*. São Carlos. 213p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- ROSE, R.M.; WARNE, M.ST.J.; LIM, R.P. (2002). Life history of the cladoceran *Ceriodaphnia* cf. *dubia* to variation in food concentration. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.51, p.106-114.
- ROSE, R.M.; WARNE, M.ST.J.; LIM, R.P. (2002). Food concentration affects the life history responde of *Ceriodaphnia* cf. *dubia* to chemicals with different mechanisms of action. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.51, p.106-114.
- RUSSEL, J.B. (1981). Química Geral. Editora McGraw-Hill. São Paulo. p.742
- SARMA, S. S. S.; RAMÍREZ, T.P.; NANDINI, S. (2000). Comparison of the sensitivy of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patalus* (Rotifera) to select heavy metals under low and high food (*Chlorella vulgaris*) level. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*,v.64, p. 735 - 739.
- SCHINKE, K.P. (1999). *Alguns efeitos fisiológicos do cádmio sobre a microalga Tetraselmis gracilaris (Kyllin, 1935) Butcher 1959, em cultivo, com ênfase na fotossíntese*. 109p. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo.
- SECO, J.I.G.; FERNÁNDEZ, C.P.; VALE, J.F.P (1998). Evaluation de la ecotoxicidad aguda de metales pesados com *Daphnia magna* Straus. *Ecotoxicology and Environmental Restoration*, v.1, p. 3-12.
- SEGOT, M.; CODOMIER, L.; COMBAUT, G. (1983). Action de quatre métax lourds (cadmium, cuivre, mercure, plombs) sur la croissance d' *Asparagopsis armata* en culture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 66, 41-48.
- SHEHATA, S.A.; LASHEEN, M.H.; KOBBI, I.A; ALI, G.H. (1999). Toxic effect of certain metals mixture on some physiological and morphological characteristics of freshwater algae. *Water, Air, and Soil Pollution*, v.110, p119-135.
- SINGH, A.K.; RAI, L.C (1991). Cr and Hg toxicity assessed in situ using the structural and functional characteristics of algal communities. *Environmental Toxicology and Water Quality: an International Journal*.v.6, p.97-107.
- SINGH, S.; PRADHAN, S.P.; RAI, L.C. (1998). Comparative assessment of Fe³⁺ e Cu²⁺ biosorption by field and laboratory-grown *Microcystis*. *Process Biochemistry*. v.33, n.5, p.495-504.

SINGH, S.; SUBHASHREE, P.; RAI, L.C. (2000). Metal removal from single and multimetallic system by different biosorbent materials by differential pulse anodic stripping voltammetry. *Process Biochemistry*, v.36, p.175-182.

SOLOMON, K.R (2000). Ecotoxicology and environmental risk and assessment. In: VI Encontro de Ecotoxicologia. "Ecotoxicologia e Desenvolvimento Sustentável: Perspectivas para o século XXI", São Carlos, 2000. *Resumos*. São Paulo. USP p.25.

SUEDEL, B.C.; RODGERS, J.H.Jr; DEEVER, E. (1997). Experimental factors that may affect toxicity of cadmium to freshwater organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.33, p.188 - 193.

STAUB, R.J. (1973). Effects of industrial effluents on primary phytoplankton indicators. *Tenn. Water Resources Res. Center Res. Rep* v.26.

STAUBER, J.L.; FLORENCE, T.M. (1989). The effect of culture medium on the metal toxicity to the marine diatom *Nitzschia closterium* and the freshwater green alga *Chlorella vulgaris*. *Wat. Res.*, v.23, n.7, p.909-911.

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

SUROSZ, W.; PALINSKA, K.A. (2004). Effects of heavy-metal stress on Cyanobacterium *Anabaena flos-aquae*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* v.48, p.40-48.

TAKAMURA, N.; KASAI, F.; WATANABE, M.N. (1989). Effects of Cu, Cd, and Zn on photosynthesis of freshwater benthic algae. *J. Appl. Phycol.*, v.1, p.39-52.

TAYLOR, G.; BAIRD, D.J; SOARES, A.M.V. (1998). Surface binding contaminants by algae: consequences for lethal toxicity and feeding to *Daphnia magna* Straus. *Environ. Toxicol. Chem.*, v.17, n.3, p.412-419.

TIEN, C.J. (2002). Biosorption of metal ions by freshwater algae with different surface characteristics. *Process Biochemistry*, v.38, p.605-613.

THOMPSON, P.A.; COUTURE, P. (1993). Physiology of carbon assimilation in a green alga during exposure to and recovery from cadmium. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* v.26, p.205-215.

THOMPSON, S.L.; MANNING, F.C.R; MCCOLL, S.M (2002). Comparation of the toxicity of chromium III and chromium VI to cyanobacteria *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v.69, p.286 - 293.

THURMAN, E.M (1985). *Organic geochemistry of natural waters*. Dordrecht, Nijhoff/Junk, 447p.

TOMAZZELI, A.C. (1999). *Biomonitoramento de metais pesados em duas bacias hidrográficas do Estado de São Paulo, utilizando como monitor biológico *Anodontites trapesialis* (LAMARCK, 1819)*. 64p. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo.

- TONISSI, F.B. (1999). *Avaliação ecotoxicológica do reservatório de Salto Grande, Americana (SP), como subsídio para a análise ambiental da qualidade do sistema*. São Carlos. 137p. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo.
- TORRES, E.; CID, A.; FIDALGO, C.; HERRERO, C.; ABALDE, J. (1997). Long-chain class III metallothioneins as a mechanism of cadmium tolerance in the diatom *Phaeodactylum trocornutum* Bohlin. *Aquatic Toxicol.*, v.39, p.231-246.
- TRAVIESO, L.; CANIZARES, R.O.; BORJA, R.; BENÍTEZ, A.R.; DOMÍNGUEZ, A.R.; DUPEYRÓN, R.; VALIENTE, V. (1999). Heavy metal removal by microalgae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v.62, p.144-151.
- TURBAK, S.C.; OLSON, S.B.; MCFETERS, G.A. (1986). Comparasion of algal assays systems for detecting waterborne herbicides and metals. *Water Res.* v.20, p.91-96.
- U.S.EPA (1985). ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organims, 3ed, 216p. (EPA/600/4-85/013).
- VAN LOON, J.C. (1985). *Select methods of trace metal analysis*. Ed. John Wiley & Sons, United States. 357p.
- VERSTEEG, D.J.; STALMANS, M.; DYER, S.D.; JANSSEN, C. (1997). *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia*: a comparison of their sensitivity to xenobiotics and utility as a test species. *Chemosphere*, v.34, p.869-892.
- VOGEL A. I. (1992) *Análise Química Quantitativa*. Editora Guanabara Koogan, 5 edição. Rio de Janeiro. 711p.
- XUE, Q.; PASCOE, D., (1983). Autoradiographic study of zinc in *Gammarus pulex* (Amphipoda). In: DALLINGER, R.; RAINBOW, P.S (edts), *Ecotoxicology of Metals in Invertebrates*, Chapter 11, Lewis, Boca Ranton, Unites States.
- WALKER, C.H.; HOPKIN, S.P.; SIBLY, R.M.; PEAKALL, D.B (1997). *Principles of Ecotoxicology*. Taylor & Francis.
- WANG, H.K.; WOOD, J.M (1984). Bioaccumulation of nickel by algae. *Environ. Sci. Techol*, v.18, p.106-109.
- WEISS-MAGASIC, C.; LUSTIGMAN, B.; LEE, L.H. (1997). Effect of mercury on the growth of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.*, v.59, p.828-833.
- WELTENS, R.; GOOSSENS, R.; VAN PUymbROECK, S. (2000). Ecotoxicity of contaminated suspended solids for filter feeders (*Daphnia magna*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* v.39, p.315-323.
- WINNER, R.W; KEELING, T.; YEAGER, R.; FARRELL, M.P. (1977). Effects of food type on the acute and chronic toxicity of copper to *Daphnia magna*. *Freshwater Biology*. v.7, p.343-349.

WOLF, G.; SCHEUNDERS, P.; SELENS, M. (1998). Evaluation of the swimming activity of Daphnia magna by image analysis after administration of the sublethal cadmium concentrations. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, v.120, p.99-105.

WONG, P.T.S. (1987). Toxicity of cadmium to freshwater microorganisms, phytoplankton and invertebrates. In: NRICIGY, J.; SPRAGUE, J.B.(eds). *Cadmium in the aquatic environment*. John Wiley & Sons. p.117-135.

YAN, H.; PAN, G. (2002). Toxicity and bioaccumulation of copper in three green microalgal species. *Chemosphere*, v.49, p.471-476.

YAN, R-Q.; WANG, W-Z. (2004). Biokinetics of cadmium, selenium, and zinc in freshwater alga Scenedesmus obliquus under different phosphorus and nitrogen conditions and metal transfer to Daphnia magna. *Environmental Pollut.*, v.129, p.443-456.

YU; R-Q; WANG; W.X (2002). Trace metal and release budget in Daphnia magna. *Limnol. Oceanogr.* v.47, n. 2, p.495-504.

ANEXO A – Resultados obtidos nos testes de toxicidade com as algas *Selenastrum capricornutum* e *Microcystis aeruginosa* aos metais

Resultados e análises estatísticas dos testes de toxicidade aguda com Cádmiu utilizando como organismo-teste *Selenastrum capricornutum*

TABELA 01 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cádmiu, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 12/05/03 14:00hs. Término: 16/05/03 14:00 hs					
	Concentrações (µg/L)	Réplicas (10 ⁴ céls/mL)			Média	
		1 ^o	2 ^o	DP	(10 ⁴ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	2,00	2,00	0,00	2,00	-
	10	2,00	2,00	0,00	2,00	-
	20	4,00	4,00	0,00	4,00	-
	40	2,00	4,00	1,41	3,00	-
	80	2,00	4,00	1,41	3,00	-
	160	2,00	2,00	0,00	2,00	-
24 horas	Controle	12,00	4,00	5,64	8,00	-
	10	2,00	4,00	1,41	2,00	-
	20	2,00	2,00	0,00	2,00	-
	40	2,00	2,00	0,00	2,00	-
	80	4,00	2,00	1,41	3,00	-
	160	2,00	2,00	0,00	1,00	-
48 horas	Controle	8,00	8,00	0,00	8,00	-
	10	4,00	4,00	0,00	4,00	-
	20	6,00	4,00	1,41	6,00	-
	40	2,00	2,00	0,00	2,00	-
	80	2,00	2,00	0,00	2,00	-
	160	2,00	2,00	0,00	1,00	-
72 horas	Controle	472,00	360,00	79,16	416,00	-
	10	124,00	346,00	156,97	235,00	-
	20	184,00	132,00	36,75	157,00	-
	40	114,00	80,00	24,04	97,00	-
	80	22,00	28,00	4,24	25,00	-
	160	4,00	10,00	4,24	7,00	-
96 horas	Controle	764,00	756,00	5,66	760,00	-
	10	646,00	836,00	134,35	741,00	-
	20	611,00	604,00	4,95	607,00	-
	40	254,00	200,00	38,18	227,00	-
	80	74,00	66,00	5,66	71,50	-
	160	6,00	10,00	2,83	8,10	-

CE(I)50; 96h = 31,65µg/L

Intervalo de confiança 95%: 28,65 – 34,96

TABELA 02 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em segundo teste de toxicidade aguda com Cádmiu, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 29/08/03 11:00hs. Término: 03/09/03 11:00 hs					
	Concentrações (µg/L)	Réplicas (10 ⁴ céls/mL)			Média	
		1 ^o	2 ^o	DP	(.10 ⁴ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	1,00	1,90	1,13	1,45	7,47
	10	1,25	1,50	0,17	1,37	7,47
	20	1,50	1,00	0,70	1,25	7,47
	40	1,50	1,50	0	1,50	7,47
	80	0,25	1,75	1,06	1,00	7,47
	160	2,25	4,50	1,59	3,37	7,47
24 horas	Controle	7,50	8,50	0,70	8,00	-
	10	10,5	9,25	0,88	9,87	-
	20	10,0	10,5	0,35	10,25	-
	40	6,26	7,50	0,87	6,87	-
	80	4,00	5,00	0,71	4,50	-
	160	4,75	3,75	0,70	4,25	-
48 horas	Controle	48,25	64,25	11,31	56,25	-
	10	105,75	88,00	12,55	96,87	-
	20	45,00	73,00	19,79	59,00	-
	40	32,25	31,75	0,35	27,00	-
	80	14,00	13,75	0,17	13,87	-
	160	8,00	10,25	1,60	9,12	-
72 horas	Controle	272,75	291,75	13,43	272,75	-
	10	179,50	318,75	98,46	249,12	-
	20	163,50	271,50	76,37	217,50	-
	40	75,50	53,00	15,91	64,25	-
	80	17,00	33,25	11,49	25,12	-
	160	7,50	13,50	4,24	10,25	-
96 horas	Controle	717,75	796,00	55,33	756,87	9,02
	10	564,25	753,25	133,64	658,75	8,22
	20	495,75	839,00	242,71	667,37	9,19
	40	243,75	266,50	16,08	255,12	7,86
	80	66,25	81,00	10,43	73,50	7,25
	160	10,75	12,25	1,01	11,50	7,27

CE(I)50; 96hµg/L = 34,15

Intervalo de confiança 95%: 31,05-37,55

TABELA 03 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 06/10/03 11:00 horas. Término: 10/10/03 11:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls /mL)	pH
0 hora	Controle	1,75	2,75	1,00	0,88	1,83	7,20
	10	2,25	1,00	2,50	0,80	1,92	7,20
	20	1,00	3,00	2,50	1,04	2,17	7,20
	40	2,00	1,25	1,50	0,38	1,58	7,20
	80	2,50	1,50	2,00	0,50	2,00	7,20
	160	2,00	2,25	0,25	1,09	1,50	7,20
24 horas	Controle	4,25	2,25	3,00	1,01	3,17	-
	10	7,75	4,00	15,25	5,73	9,00	-
	20	6,75	15,00	5,75	5,08	9,17	-
	40	6,00	3,50	6,25	1,52	5,25	-
	80	6,50	9,50	4,50	2,52	6,83	-
	160	3,50	3,75	4,25	0,38	3,83	-
48 horas	Controle	31,75	19,00	18,75	7,43	23,33	-
	10	19,00	30,00	99,25	43,51	49,42	-
	20	95,75	78,50	41,75	27,58	72,00	-
	40	55,67	17,75	5,50	26,16	26,31	-
	80	9,00	6,25	8,75	1,52	8,00	-
	160	8,75	5,25	10,75	2,78	8,58	-
72 horas	Controle	322,33	281,50	151,75	89,07	251,86	-
	10	47,25	197,75	256,25	107,82	167,08	-
	20	245,75	79,00	145,50	83,94	156,75	-
	40	199,50	36,50	55,75	89,07	97,25	-
	80	29,50	39,00	46,25	8,40	38,25	-
	160	8,75	6,50	10,75	2,13	8,67	-
96 horas	Controle	703,50	754,00	633,00	60,77	698,83	9,25
	10	259,00	561,00	663,25	210,19	494,25	8,44
	20	469,50	421,75	487,33	33,91	459,53	9,02
	40	432,00	227,50	181,50	133,35	280,33	7,76
	80	42,25	68,75	137,50	49,16	82,83	6,96
	160	16,245	21,00	11,00	5,00	16,08	7,02

CE(I)50; 96h = 29,55 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 23,77 - 36,75

TABELA 04 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em quarto teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 20/10/03 11:00 horas. Término: 24/10/03 11:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas (10^4 céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	4,50	4,00	5,25	0,63	4,58	7,25
	10	4,25	6,00	11,75	3,92	7,33	7,25
	20	8,25	5,25	4,00	2,18	5,83	7,25
	40	1,75	3,75	3,75	1,15	3,08	7,25
	80	3,50	4,00	1,75	1,18	3,08	7,25
	160	2,00	2,00	2,50	0,29	2,16	7,25
24 horas	Controle	12,50	21,00	14,83	4,39	14,83	-
	10	13,00	13,75	11,42	1,19	11,42	-
	20	13,25	6,50	9,67	3,38	9,67	-
	40	16,50	4,50	9,50	6,03	9,50	-
	80	6,25	6,00	6,33	0,17	6,33	-
	160	9,25	7,00	6,58	1,44	6,58	-
48 horas	Controle	68,75	91,00	73,75	11,67	77,83	-
	10	128,50	81,25	21,75	53,49	77,17	-
	20	60,75	57,25	19,50	22,87	45,83	-
	40	45,50	4,25	36,00	21,60	28,58	-
	80	25,50	17,25	115,25	54,36	19,33	-
	160	7,75	12,75	9,50	2,54	10,00	-
72 horas	Controle	275,75	358,25	277,00	47,27	303,67	-
	10	290,00	381,00	56,50	167,38	242,50	-
	20	234,50	219,25	155,67	41,81	203,14	-
	40	117,25	4,00	87,00	80,08	69,42	-
	80	64,00	21,50	52,25	21,95	45,92	-
	160	14,75	6,25	10,50	4,25	10,50	-
96 horas	Controle	777,00	624,00	754,25	82,55	718,42	9,76
	10	868,00	772,00	236,75	340,14	625,75	8,72
	20	412,75	791,25	285,00	263,27	496,33	7,82
	40	546,75	6,00	128,75	283,49	227,16	7,56
	80	102,25	122,25	149,00	23,46	124,50	7,61
	160	22,25	16,75	11,75	5,25	16,92	7,29

CE(I)50; 96h = 28,78 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 25,04 – 33,08

TABELA 05 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em quinto teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 24/11/03 11:00 horas. Término: 28/11/03 11:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	1,25	2,75	2,75	0,87	2,25	7,20
	10	2,25	1,25	2,50	0,66	2,00	7,20
	20	1,5	1,75	1,75	0,13	1,67	7,20
	40	1,75	1,75	1,00	0,43	1,50	7,20
	80	0,75	1,25	2,25	0,76	1,42	7,20
	160	2,50	1,00	3,75	1,38	2,42	7,20
24 horas	Controle	10	10,25	15,00	2,82	11,75	-
	10	7,00	6,75	3,50	1,95	5,75	-
	20	4,00	12,25	10,75	4,39	9,00	-
	40	9,5	2,75	8,50	3,64	6,92	-
	80	3,75	9,25	2,50	3,59	5,17	-
	160	5,25	6,25	5,75	0,50	5,75	-
48 horas	Controle	50,00	114,75	201,25	75,89	122,00	-
	10	98,75	9,75	9,25	51,53	39,25	-
	20	30,25	44	15,25	14,38	29,83	-
	40	46,00	17,5	15,5	17,06	26,33	-
	80	17,50	11,75	9,5	4,13	12,92	-
	160	5,25	7,5	5,75	1,18	6,17	-
72 horas	Controle	225,5	318,75	256,50	47,49	266,92	-
	10	389,75	43,5	67,5	193,35	166,92	-
	20	171,25	155,75	102,67	35,97	143,22	-
	40	202,00	59,50	53,00	84,21	104,83	-
	80	40,75	21,75	18,75	11,93	27,08	-
	160	4,25	17,00	13,25	6,55	11,50	-
96 horas	Controle	647,00	701,00	752,50	52,57	700,17	9,76
	10	770,00	203,00	283,25	306,83	418,75	8,72
	20	388,25	201,00	298,25	93,65	295,83	7,82
	40	268,50	351,5	152,75	99,82	257,58	7,56
	80	115,00	77,50	78,5	21,37	90,33	7,61
	160	25,00	14,75	11,5	7,05	17,08	7,29

CE(I)50; 96h = 14,84 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 10,68 – 20,63

TABELA 06 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em sexto teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 01/12/03 11:30 horas. Término: 05/12/03 11:30horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	2,25	2,00	2,50	0,25	2,25	7,20
	10	1,50	0,75	2,00	0,63	1,42	7,20
	20	2,5	2,5	0,75	1,01	1,92	7,20
	40	1,00	1,25	2,25	0,66	1,50	7,20
	80	1,00	1,5	0,50	0,50	1,00	7,20
	160	1,50	2,75	2,00	0,63	2,08	7,20
24 horas	Controle	6,00	9,50	2,00	3,75	5,83	-
	10	7,25	3,50	7,50	2,24	6,08	-
	20	6,00	4,50	4,00	1,04	4,83	-
	40	3,75	3,25	6,00	1,46	4,33	-
	80	7,00	6,00	2,00	2,65	5,00	-
	160	5,75	3,50	4,50	1,13	4,58	-
48 horas	Controle	59,50	96,25	54,00	22,97	69,92	-
	10	14,75	18,75	13,25	2,84	15,58	-
	20	41,00	25,50	35,50	7,86	34,00	-
	40	13,75	30,25	30,25	9,53	24,75	-
	80	12,50	14,25	11,25	1,51	12,67	-
	160	3,00	8,25	4,00	2,79	5,08	-
72 horas	Controle	147,50	329,00	182,00	96,39	219,50	-
	10	77,25	62,50	85,75	11,76	75,17	-
	20	211,00	41,75	102,00	85,79	118,25	-
	40	36,00	58,75	138,75	53,97	77,83	-
	80	51,50	42,25	20,75	15,78	38,17	-
	160	8,00	5,00	6,75	1,51	6,58	-
96 horas	Controle	534,75	717,50	586,25	94,23	612,83	9,46
	10	378,00	244,50	472,75	114,67	365,08	8,44
	20	526,75	188,00	229,75	184,71	314,83	7,78
	40	75,50	132,25	350,75	145,33	186,17	7,44
	80	118,75	68,25	45,00	37,70	77,33	7,43
	160	20,00	11,25	7,25	6,52	12,83	

CE(I)50; 96h = 18,91 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 13,28 – 26,93

TABELA 07 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em sétimo teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 19/01/04 11:00 horas. Término: 28/11/03 11:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	1,5	2,75	1,25	0,80	1,83	7,05
	10	2,75	2,00	3,50	0,75	2,75	7,05
	20	2,50	2,25	2,00	0,25	2,25	7,05
	40	2,00	0,75	2,00	0,72	1,58	7,05
	80	1,00	2,50	2,00	0,76	1,83	7,05
	160	1,00	2,50	1,50	0,76	1,67	7,05
24 horas	Controle	17,5	14,75	14,5	1,66	15,58	7,05
	10	4,50	9,00	11,00	3,33	8,17	-
	20	4,50	7,75	4,75	1,81	5,67	-
	40	3,75	9,25	4,25	3,04	5,75	-
	80	3,75	7,75	7,75	2,31	6,42	-
	160	2,25	3,25	2,00	0,66	2,50	-
48 horas	Controle	74,00	60,25	68,00	6,89	67,42	-
	10	31,75	72,25	96,5	32,71	66,83	-
	20	42,50	38,25	32,00	5,28	37,58	-
	40	32,75	43,25	13,75	14,95	29,92	-
	80	9,75	16,00	11,50	3,22	12,42	-
	160	6,00	4,00	5,25	1,01	5,08	-
72 horas	Controle	221,00	295,75	212,25	45,89	243,00	-
	10	164,00	317,00	257,75	77,15	246,25	-
	20	133,25	114,75	76,75	28,81	108,25	-
	40	108,25	78,50	89,50	15,04	92,08	-
	80	22,50	52,20	22,50	17,15	32,40	-
	160	8,25	9,00	5,25	1,98	7,50	-
96 horas	Controle	664,50	703,75	751,50	43,57	706,58	9,55
	10	395,50	450,75	437,5	28,84	427,92	7,98
	20	259,50	337,00	405,25	72,92	333,92	7,72
	40	318,75	330,25	246,25	45,54	298,42	7,58
	80	58,00	129,00	61,25	40,09	82,75	7,25
	160	9,00	11,00	7,00	2,00	9,00	6,99

CE(I)50; 96h = 18,70 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 12,16 – 28,77

TABELA 08 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em oitavo teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 08/03/04 11:30 horas. Término: 12/03/04 11:30horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	2,25	2,50	3,50	0,66	2,75	7,25
	10	2,25	1,25	1,25	0,58	1,58	7,25
	20	1,25	1,50	1,25	0,14	1,33	7,25
	40	1,00	1,75	1,25	0,38	1,33	7,25
	80	1,50	2,00	1,25	0,38	1,58	7,25
	160	1,75	1,25	2,25	0,50	1,75	7,25
24 horas	Controle	5,00	7,50	7,75	1,52	6,75	-
	10	7,25	3,50	5,00	1,89	5,25	-
	20	9,50	2,50	7,75	3,64	6,58	-
	40	2,75	5,50	2,50	1,66	3,58	-
	80	2,25	2,25	2,00	0,14	2,17	-
	160	2,25	1,25	2,75	0,76	2,08	-
48 horas	Controle	30,50	67,00	50,75	18,29	49,42	-
	10	39,25	43,50	74,75	19,39	52,50	-
	20	28,50	8,75	56,50	23,99	31,25	-
	40	10,00	28,00	8,25	10,93	15,42	-
	80	4,75	5,75	4,25	0,76	4,92	-
	160	1,75	2,50	2,00	0,38	2,08	-
72 horas	Controle	191,25	268,25	179,75	48,12	213,08	-
	10	213,75	232,67	246,00	16,21	230,81	-
	20	126,25	55,75	241,25	93,64	141,08	-
	40	13,75	17,25	32,25	9,83	21,08	-
	80	8,00	10,50	8,00	1,44	8,83	-
	160	5,50	4,25	3,25	1,13	4,33	-
96 horas	Controle	455,25	490,00	544,00	44,72	496,42	8,98
	10	295,75	370,00	484,00	94,82	383,25	7,55
	20	302,00	194,50	404,00	104,76	300,17	7,62
	40	59,75	163,25	61,25	59,33	94,75	7,09
	80	15,00	14,75	23,75	5,13	17,83	7,22
	160	10,75	5,25	7,00	2,81	7,67	7,05

CE(I)50; 96h = 22,50 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 19,53 – 25,94

TABELA 09 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em nono teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Início: 12/04/04 13:00 horas. Término: 16/04/04 13:00 horas									
Horas	Concentração (µg/L)	Réplicas (.10 ⁴ céls/mL)						Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	DP	(.10 ⁴ céls/mL)	pH
0 horas	Controle	3,00	0,50	2,25	2,25	-	1,06	2,00	6,99
	10	3,50	2,50	2,00	-	-	0,76	2,67	6,99
	20	5,25	2,00	2,50	-	-	1,75	3,25	6,99
	40	2,75	4,50	3,00	3,50	1,75	1,01	3,10	6,99
	80	3,25	2,25	2,75	-	-	0,50	2,75	6,99
	160	1,25	2,50	1,75	-	-	0,63	1,83	6,99
24 horas	Controle	10,00	10,25	5,25	9,00	-	2,31	8,63	-
	10	6,25	4,25	11,25	-	-	3,61	7,25	-
	20	11,25	6,00	5,75	-	-	3,11	7,67	-
	40	3,25	10,00	8,00	10,25	5,00	3,09	7,30	-
	80	9,75	5,75	6,75	-	-	2,08	7,42	-
	160	4,75	4,00	6,25	-	-	1,15	5,00	-
48 horas	Controle	93,00	26,75	35,75	52,00	-	29,34	51,88	-
	10	26,25	98,00	85,5	-	-	38,33	69,92	-
	20	19,25	50,25	77,00	-	-	28,90	48,83	-
	40	14,25	16,00	60,00	36,25	21,75	19,04	29,65	-
	80	19,25	15,00	16,75	-	-	2,14	17,00	-
	160	9,00	10,25	11,75	-	-	1,38	10,33	-
72 horas	Controle	2,75	144,25	255,50	176,25	-	105,55	144,69	-
	10	91,00	272,25	169,50	-	-	90,89	177,58	-
	20	70,75	103,25	138,50	-	-	33,88	104,17	-
	40	39,25	102,00	146,25	119,75	40,50	48,01	89,55	-
	80	45,00	37,25	39,75	-	-	3,96	40,67	-
	160	10,50	13,50	15,50	-	-	2,52	13,17	-
96 horas	Controle	586,25	453,50	559,00	604,50	-	67,52	550,81	8,30
	10	301,00	489,00	626,00	-	-	163,17	472,00	9,95
	20	188,75	372,75	378,25	-	-	107,86	313,25	8,53
	40	97,50	132,75	152,75	175,50	150,25	29,03	141,75	7,82
	80	78,75	63,50	64,00	-	-	8,66	68,75	7,62
	160	13,75	17,00	19,75	-	-	3,00	16,83	7,54

CE(I)50; 96h = 23,36µg/L

Intervalo de confiança 95%: 20,47 – 26,67

TABELA 10 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em décimo teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Início: 19/07/04 12:00 horas. Término: 23/07/04 12:00 horas

Horas	Concentração (µg/L)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)						Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/mL)	pH
0 horas	Controle	1,50	1,25	1,00	0,25	-	0,54	1,00	7,20
	10	2,00	1,75	1,25	-	-	0,38	1,67	7,20
	20	1,25	0,25	0,50	-	-	0,52	0,67	7,20
	40	0,25	1,00	2,50	0,75	2,50	1,04	1,40	7,20
	80	1,00	1,25	0,50	-	-	0,38	0,92	7,20
	160	0,25	1,00	0,25	-	-	0,43	0,50	7,20
24 horas	Controle	6,25	4,50	10,00	5,50	-	2,40	6,56	-
	10	6,50	8,75	3,75	-	-	2,50	6,33	-
	20	6,50	15,25	5,25	-	-	5,45	9,00	-
	40	9,75	3,00	3,25	8,25	13,00	4,31	7,45	-
	80	4,50	11,00	11,50	-	-	3,91	9,00	-
	160	4,00	2,50	1,50	-	-	1,26	2,67	-
48 horas	Controle	48,5	22,50	17,5	18,25	-	14,71	26,69	-
	10	43,00	26,50	12,25	-	-	15,39	27,25	-
	20	27,25	28,75	23,00	-	-	2,98	26,33	-
	40	15,50	26,00	27,50	23,75	26,50	4,87	23,85	-
	80	22,75	29,25	8,75	-	-	10,48	20,25	-
	160	4,50	2,00	5,00	-	-	1,61	3,83	-
72 horas	Controle	173,25	160,50	111,50	92,25	-	38,69	134,38	-
	10	150,00	187,50	149,50	-	-	21,80	162,33	-
	20	55,75	48,00	85,75	-	-	19,94	63,17	-
	40	61,75	56,00	50,00	71,75	134,25	34,21	74,75	-
	80	67,00	89,00	26,00	-	-	31,97	60,67	-
	160	7,00	4,00	6,00	-	-	1,53	5,67	-
96 horas	Controle	576,25	465,00	411,25	337,5	-	100,49	447,50	8,30
	10	382,50	358,50	310,50	-	-	36,66	350,50	9,95
	20	118,50	156,75	261,00	-	-	73,75	178,75	8,53
	40	122,00	135,00	178,50	98,25	242,25	56,73	155,20	7,82
	80	101,00	138,00	48,75	-	-	44,84	95,92	7,62
	160	9,00	4,50	10,50	-	-	3,12	8,00	7,54

CE(I)50; 96h = 20,50µg/L

Intervalo de confiança 95%: 17,06 – 24,63

Resultados e análises estatísticas dos testes de toxicidade aguda com Cromo utilizando como organismos-teste *Selenastrum capricornutum*

TABELA 11 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 30/06/03 14:00hs. Término: 04/07/03 14:00 hs					
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)			Média	
		1 ^o	2 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	1,00	1,00	0,00	1,00	-
	100	1,00	1,00	0,00	1,00	-
	200	2,00	1,00	0,71	1,50	-
	400	1,00	1,00	0,00	1,00	-
	800	1,00	1,00	0,00	1,00	-
	1600	1,00	1,00	0,00	1,00	-
24 horas	Controle	5,00	8,00	2,12	6,50	-
	100	3,00	1,00	1,41	2,00	-
	200	4,00	1,00	2,12	2,50	-
	400	3,00	1,00	1,41	2,00	-
	800	6,00	4,00	1,41	5,00	-
	1600	1,00	3,00	1,41	1,50	-
48 horas	Controle	29,00	23,00	4,24	26,00	-
	100	53,00	33,00	14,14	43,00	-
	200	36,00	36,00	0,00	36,00	-
	400	13,00	8,00	3,54	10,50	-
	800	4,00	2,00	1,41	3,00	-
	1600	1,00	1,00	0,00	1,00	-
72 horas	Controle	247,00	173,00	52,33	212,50	-
	100	278,00	195,00	58,69	236,00	-
	200	158,00	248,00	63,64	203,00	-
	400	133,00	145,00	8,49	129,00	-
	800	32,00	41,00	6,36	36,50	-
	1600	2,00	1,00	0,71	1,50	-
96 horas	Controle	701,50	640,50	43,13	671,25	-
	100	671,00	628,50	30,05	649,75	-
	200	584,00	623,00	27,58	603,50	-
	400	468,00	360,50	76,01	414,00	-
	800	180,00	171,00	6,36	175,50	-
	1600	4,00	3,00	0,71	3,50	-

CE(I)50; 96h = 486,94 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 437,70 – 541,730

TABELA 12 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em segundo teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 11/08/03 11:00hs. Término: 15/08/03 11:00 hs					
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)			Média	
		1 ^o	2 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	1,00	1,00	0	1,00	7,20
	100	1,50	0,50	0,71	1,00	7,20
	200	1,00	1,00	0	1,00	7,20
	400	1,00	1,00	0	1,00	7,20
	800	0,50	1,50	0,71	1,00	7,20
	1600	1,00	0,50	0,35	1,00	7,20
24 horas	Controle	2,50	5,50	2,12	4,00	-
	100	7,50	1,50	4,24	4,50	-
	200	3,00	2,00	0,71	2,50	-
	400	2,00	2,00	0	2,00	-
	800	4,00	0,50	2,47	2,25	-
	1600	1,50	0,50	0,71	1,00	-
48 horas	Controle	18,50	25,00	4,60	21,75	-
	100	27,50	23,75	2,65	25,63	-
	200	18,25	23,25	3,54	20,75	-
	400	43,75	18,75	17,68	31,25	-
	800	19,66	15,00	3,30	17,33	-
	1600	2,25	3,00	0,53	2,63	-
72 horas	Controle	294,25	199,75	66,82	247,00	-
	100	280,25	222,75	40,66	251,50	-
	200	164,00	223,50	42,07	193,75	-
	400	187,50	236,50	34,65	212,00	-
	800	88,50	133,50	31,82	110,75	-
	1600	4,25	2,25	1,41	3,25	-
96 horas	Controle	693,75	614,25	56,21	654,00	9,39
	100	462,50	601,75	98,46	540,12	9,71
	200	632,00	439,75	135,94	535,88	9,64
	400	327,75	266,00	43,66	296,87	9,24
	800	286,25	280,50	4,07	283,38	8,01
	1600	5,50	4,75	0,53	5,12	7,39

CE(I)50;96h = 468,48 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 395,94 – 554,32

TABELA 13 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 18/08/03 11:00hs. Término: 22/08/03 11:00 hs					
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)			Média	
		1 ^o	2 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	0,75	0,75	0	0,75	6,94
	100	0,75	0,65	0,07	0,70	6,94
	200	1,00	1,25	0,18	1,00	6,94
	400	1,50	0,50	0,71	1,00	6,94
	800	1,50	0,75	0,53	1,12	6,94
	1600	0,50	0,50	0	0,50	6,94
24 horas	Controle	2,75	6,50	2,65	4,62	-
	100	5,50	5,50	0,00	5,50	-
	200	2,75	7,75	3,54	5,25	-
	400	4,25	2,50	1,24	3,37	-
	800	7,25	3,50	2,65	5,37	-
	1600	1,00	7,00	4,24	4,00	-
48 horas	Controle	32,00	29,25	1,94	30,65	-
	100	37,00	32,50	3,18	34,75	-
	200	36,00	34,50	1,06	35,25	-
	400	26,75	25,75	0,71	26,25	-
	800	18,00	8,00	7,07	13,00	-
	1600	6,25	5,00	0,88	5,62	-
72 horas	Controle	204,50	206,50	1,41	205,50	-
	100	180,75	257,75	54,45	219,25	-
	200	129,00	241,50	79,55	185,25	-
	400	175,25	139,00	25,63	157,12	-
	800	83,50	95,75	8,66	89,62	-
	1600	9,25	14,25	3,54	11,75	-
96 horas	Controle	539,75	494,12	32,27	516,56	9,31
	100	473,25	556,50	58,87	513,10	9,22
	200	394,75	552,32	111,42	471,40	9,00
	400	543,00	358,25	130,64	448,62	9,62
	800	255,25	300,25	31,82	276,62	7,59
	1600	25,75	25,50	0,18	25,12	7,11

CE(I)50; 96h = 763,50 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 690,88 – 843,76

TABELA 14 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em quarto teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 25/08/03 11:00hs. Término: 29/08/03 11:00hs					
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)			Média	
		1 ^o	2 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	1,25	2,75	1,06	2,00	7,40
	100	1,75	2,25	0,35	2,00	7,40
	200	2,75	3,25	0,35	3,00	7,40
	400	1,25	3,00	1,24	3,00	7,30
	800	1,50	1,75	0,18	1,62	7,30
	1600	1,75	3,50	1,24	2,62	7,40
	24 horas	Controle	16,00	8,00	5,66	12,00
100		18,50	11,50	4,95	25,00	-
200		19,75	20,25	0,35	20,00	-
400		12,00	19,00	4,95	15,50	-
800		8,25	10,50	1,59	9,37	-
1600		2,25	4,00	1,24	3,12	-
48 horas		Controle	152,00	94,00	41,01	123,00
	100	187,00	123,75	44,72	155,62	-
	200	252,00	116,75	95,64	184,62	-
	400	82,00	217,50	95,81	149,75	-
	800	29,50	61,75	22,80	45,37	-
	1600	37,50	3,00	24,40	3,37	-
	72 horas	Controle	618,25	499,00	84,32	558,62
100		514,50	419,25	67,35	466,62	-
200		658,50	374,25	201,00	516,12	-
400		218,50	181,00	26,52	199,75	-
800		72,75	183,25	78,14	128,00	-
1600		5,50	5,25	0,18	5,37	-
96 horas		Controle	986,75	882,00	74,07	934,37
	100	775,50	956,00	127,63	865,50	9,77
	200	952,00	553,00	282,14	752,00	9,76
	400	772,00	726,75	32,00	749,37	9,71
	800	362,00	424,75	44,37	393,37	7,70
	1600	5,25	5,00	0,18	2,50	7,08

CE(I)50; 96h = 594,11 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 525,86 – 671,23

TABELA 15 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em quinto teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 08/09/03 11:00hs. Término: 12/09/03 11:00hs					
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)			Média	
		1 ^o	2 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	1,25	1,25	0	1,25	7,40
	100	1,25	1,25	0	1,25	7,40
	200	1,50	1,05	0,32	1,27	7,40
	400	0,50	1,50	0,71	1,00	7,40
	800	1,75	0,50	0,88	1,12	7,40
	1600	3,50	2,75	0,53	3,12	7,40
24 horas	Controle	12,25	18,50	4,42	15,37	-
	100	28,75	10,75	12,73	14,75	-
	200	14,00	7,75	4,42	10,87	-
	400	11,00	7,25	2,65	9,12	-
	800	9,25	7,75	1,06	8,50	-
	1600	4,50	7,75	2,30	6,12	-
48 horas	Controle	151,00	80,50	49,85	112,75	-
	100	88,00	59,50	20,15	73,75	-
	200	84,00	33,50	35,71	58,75	-
	400	119,50	41,50	55,15	80,50	-
	800	28,75	23,25	3,89	26,00	-
	1600	6,25	14,50	5,83	10,37	-
72 horas	Controle	356,50	328,00	20,15	342,25	-
	100	309,75	387,25	54,80	348,75	-
	200	439,50	301,75	97,40	370,62	-
	400	280,50	158,25	86,44	219,37	-
	800	158,25	155,25	2,12	156,75	-
	1600	95,00	18,50	54,09	14,00	-
96 horas	Controle	653,50	580,00	51,97	616,50	9,27
	100	641,50	533,50	76,37	587,25	9,01
	200	564,50	608,37	31,02	586,44	10,26
	400	447,75	489,00	29,17	468,00	10,22
	800	219,50	231,75	8,66	225,00	9,06
	1600	18,50	36,75	12,90	27,62	7,55

CE(I)50; 96h = 613,40 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 550,75 – 683,19

TABELA 16 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em sexto teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 22/09/03 11:00 horas. Término: 26/09/03 11:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	1,50	1,25	0,25	0,66	1,00	7,20
	100	0,75	0,75	1,50	0,43	1,00	7,20
	200	0,50	1,20	0,75	0,35	1,20	7,20
	400	0,25	0,50	1,00	0,38	1,00	7,20
	800	1,25	1,25	1,25	0,00	1,25	7,20
	1600	0,25	0,75	1,25	0,50	0,75	7,20
24 horas	Controle	7,50	4,50	6,50	1,53	6,17	-
	100	5,00	2,75	6,75	2,01	4,83	-
	200	6,00	15,00	7,25	4,88	9,42	-
	400	8,75	11,00	3,25	3,99	7,67	-
	800	3,50	6,00	3,50	1,44	4,33	-
	1600	3,00	1,50	1,00	1,04	1,83	-
48 horas	Controle	42,50	13,25	74,75	30,76	43,50	-
	100	47,50	79,00	51,25	17,21	59,25	-
	200	101,25	87,00	31,50	36,85	73,25	-
	400	41,25	39,50	22,00	10,64	34,25	-
	800	16,00	47,75	4,00	22,61	22,58	-
	1600	3,25	4,00	4,00	0,43	3,75	-
72 horas	Controle	228,25	149,75	373,00	113,25	250,33	-
	100	209,00	224,60	112,00	61,01	181,67	-
	200	326,50	153,50	198,75	89,72	226,08	-
	400	166,50	116,75	118,75	28,16	134,00	-
	800	88,00	112,25	30,00	42,26	76,75	-
	1600	6,00	6,00	4,37	0,94	5,46	-
96 horas	Controle	450,75	283,25	687,75	203,24	473,92	8,35
	100	509,25	591,00	315,75	141,36	472,00	9,39
	200	558,50	401,25	437,75	82,30	465,67	9,60
	400	550,00	525,00	304,00	135,39	459,33	8,99
	800	363,50	233,25	123,00	120,39	239,91	8,00
	1600	14,50	4,25	4,25	5,92	7,60	7,42

CE(I)50; 96h = 784,59 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 726,42 – 847,42

TABELA 17 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em sétimo teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 02/02/04 11:00 horas. Término: 06/02/04 11:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	0,75	1,75	1,00	0,52	1,17	7,25
	100	2,50	1,00	2,25	0,80	1,92	7,25
	200	1,00	1,50	0,75	0,38	1,08	7,25
	400	0,75	1,25	0,50	0,38	0,83	7,25
	800	1,25	0,25	1,50	0,66	1,00	7,25
	1600	1,25	5,00	3,00	1,88	3,08	7,25
	24 horas	Controle	5,50	4,25	4,25	0,72	4,67
100		8,00	14,00	2,25	5,88	8,08	-
200		5,75	6,75	1,50	2,79	4,67	-
400		1,50	2,75	9,75	4,45	4,67	-
800		1,25	3,75	1,25	1,44	2,08	-
1600		3,50	7,00	2,75	2,27	4,42	-
48 horas		Controle	42,75	45,75	28,00	9,50	38,83
	100	36,25	32,50	7,25	15,77	25,33	-
	200	28,75	91,25	7,50	43,54	42,50	-
	400	17,75	8,25	97,75	49,16	41,25	-
	800	24,50	20,25	8,50	8,29	17,75	-
	1600	7,75	8,75	5,75	1,53	7,42	-
	72 horas	Controle	306,75	148,00	233,75	79,46	229,50
100		210,00	118,25	50,50	80,05	126,25	-
200		87,00	193,50	61,25	70,11	113,92	-
400		44,25	29,50	263,75	131,19	112,50	-
800		120,00	60,00	19,25	50,68	66,42	-
1600		8,50	16,50	8,85	4,52	11,28	-
96 horas		Controle	563,50	431,00	551,25	73,22	515,25
	100	481,00	280,00	264,50	120,77	341,83	7,98
	200	262,25	476,00	289,75	116,29	342,67	9,60
	400	202,75	109,50	450,25	176,10	254,17	7,38
	800	180,75	221,75	91,50	66,60	164,67	7,34
	1600	6,25	19,5	11,35	6,68	12,37	7,18

CE(I)50; 96h = 384,02 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 298,79 – 493,55

TABELA 18 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em oitavo teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 16/02/04 11:00 horas. Término: 20/02/04 11:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	1,00	1,50	0,25	0,63	0,92	7,25
	100	0,25	1,00	0,50	0,38	0,58	7,25
	200	1,00	0,50	1,00	0,29	0,83	7,25
	400	1,00	0,25	1,50	0,63	0,92	7,25
	800	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	7,25
	1600	0,75	1,50	1,75	0,52	1,33	7,25
24 horas	Controle	5,50	4,50	4,25	0,66	4,75	-
	100	2,75	4,50	1,50	1,51	2,92	-
	200	6,00	3,75	6,50	1,46	5,42	-
	400	7,50	1,75	2,75	3,07	4,00	-
	800	1,25	1,50	5,25	2,24	2,67	-
	1600	2,00	2,25	8,00	3,39	4,08	-
48 horas	Controle	36,75	74,50	57,75	18,91	56,33	-
	100	32,75	37,25	10,00	14,61	26,67	-
	200	44,00	27,25	18,25	13,07	29,83	-
	400	18,75	28,75	36,25	8,78	27,92	-
	800	22,75	15,50	104,00	4,68	17,42	-
	1600	5,00	2,00	8,00	3,00	5,00	-
72 horas	Controle	97,25	141,66	225,25	154,72	64,99	-
	100	133,50	160,25	111,25	135,00	24,53	-
	200	418,50	196,25	197,5	270,75	127,96	-
	400	73,75	137,25	140,5	117,17	37,64	-
	800	145,75	47,75	54,25	82,58	54,80	-
	1600	8,50	13,75	20,50	14,25	6,02	-
96 horas	Controle	328,50	523,50	860,75	269,27	570,92	8,98
	100	478,25	586,50	278,50	156,25	447,75	9,25
	200	725,00	344,50	340,75	220,77	470,08	8,50
	400	289,75	369,25	327,50	39,77	328,83	8,36
	800	465,75	205,50	161,50	164,44	277,58	7,54
	1600	23,25	20,50	20,75	1,52	21,50	7,22

CE(I)50; 96h = 578,16 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 491,88 – 679,58

TABELA 19 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em nono teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 22/03/04 13:00horas. Término: 26/03/04 13:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	0,50	0,25	2,00	0,95	0,92	7,30
	100	1,00	1,50	1,25	0,25	1,25	7,30
	200	0,75	0,75	0,75	0,00	0,75	7,30
	400	0,25	0,50	1,00	0,38	0,58	7,30
	800	0,25	0,75	0,50	0,25	0,50	7,30
	1600	0,75	1,00	0,50	0,25	0,75	7,30
24 horas	Controle	3,75	4,67	5,75	1,00	4,72	-
	100	3,50	2,5	5,00	1,26	3,67	-
	200	6,00	1,75	5,25	2,27	4,33	-
	400	3,50	2,00	2,00	0,87	2,50	-
	800	1,25	3,75	3,00	1,28	2,67	-
	1600	2,00	2,25	1,25	0,52	1,83	-
48 horas	Controle	21,25	24,75	26,25	2,57	24,08	-
	100	35,00	27,00	33,00	4,16	31,67	-
	200	28,75	23,50	23,50	3,03	25,25	-
	400	19,00	21,75	32,00	6,85	24,25	-
	800	8,00	10,50	12,50	2,25	10,33	-
	1600	3,50	2,25	1,25	1,13	2,33	-
72 horas	Controle	91,75	127,50	206,62	58,78	141,96	-
	100	71,25	249,25	221,25	95,71	180,58	-
	200	59,50	175,5	180,50	68,46	138,50	-
	400	51,00	127,25	173,50	61,86	117,25	-
	800	18,75	42,50	29,50	11,89	30,25	-
	1600	4,00	2,50	1,50	1,26	2,67	-
96 horas	Controle	372,25	460,75	504,75	67,48	445,92	9,02
	100	310,00	504,25	504,5	112,22	439,58	8,92
	200	355,00	623,50	178,75	223,96	385,75	8,83
	400	237,00	415,50	449,25	114,06	367,25	8,12
	800	85,50	142,75	69,00	38,71	99,08	7,28
	1600	4,00	2,50	2,50	0,87	3,00	6,79

CE(I)50; 96h = 539,96 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 487,06 – 589,76

TABELA 20 – Média e desvio padrão do número de células de *Selenastrum capricornutum* em décimo teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

		Início: 26/07/04 12:00horas. Término: 30/07/04 12:00horas							
Horas	Concentrações (µg/L)	Réplicas					DP	Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o		(.10 ⁴ céls/mL)	pH
0 horas	Controle	0,25	0,50	1,50	-	-	0,66	0,75	7,40
	100	1,00	1,50	0,75	-	-	0,38	1,08	7,40
	200	1,00	1,25	0,25	-	-	0,52	0,83	7,40
	400	0,25	0,75	0,75	0,50	-	0,24	0,56	7,40
	800	1,25	0,25	0,50	0,50	0,50	0,38	0,60	7,40
	1600	0,75	1,00	1,25	-	-	0,25	1,00	7,40
24 horas	Controle	19,00	6,50	7,00	-	-	7,08	10,83	-
	100	6,25	5,75	7,50	-	-	0,90	6,50	-
	200	7,00	4,25	4,00	-	-	1,66	5,08	-
	400	5,50	4,00	6,50	7,50	-	1,49	5,88	-
	800	4,00	2,50	7,00	6,75	7,00	2,08	5,45	-
	1600	1,25	1,00	1,00	-	-	0,14	1,08	-
48 horas	Controle	28,50	32,25	40,25	-	-	6,00	33,67	-
	100	38,00	22,50	34,50	-	-	8,13	31,67	-
	200	18,50	28,75	4,75	-	-	12,04	17,33	-
	400	52,00	4,75	25,00	17,00	-	20,02	24,69	-
	800	7,50	4,00	8,25	6,75	6,25	1,61	6,55	-
	1600	0,75	0,50	1,00	-	-	0,25	0,75	-
72 horas	Controle	128,25	81,25	195,25	-	-	57,29	134,92	-
	100	126,50	135,00	101,25	-	-	17,55	120,92	-
	200	112,00	44,75	130,50	-	-	45,13	95,75	-
	400	134,00	31,50	89,50	63,00	-	43,38	79,50	-
	800	21,75	9,00	53,00	11,75	34,50	18,11	26,00	-
	1600	0,50	1,50	1,25	-	-	0,52	1,08	-
96 horas	Controle	380,00	354,00	468,33	-	-	80,84	400,78	8,35
	100	248,00	374,25	315,25	-	-	63,17	312,50	9,68
	200	331,00	137,00	409,5	-	-	140,27	292,50	8,28
	400	318,75	182,50	273,75	285,25	-	58,26	265,06	8,17
	800	62,00	25,75	75,25	43,50	58,25	18,95	52,95	7,43
	1600	8,50	1,50	5,25	-	-	3,50	5,08	7,39

CE(I)50; 96h = 437,63µg/L

Intervalo de confiança 95%: 369,23 – 518,71

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com Cádmiu utilizando como organismo-teste *Microcystis aeruginosa*

TABELA 21 – Média e desvio padrão do número de células de *Microcystis aeruginosa* primeiro teste de toxicidade aguda com Cádmiu, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 20/09/04 12:00horas. Término: 24/09/04 12:00horas					
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)			Média	
		1 ^o	2 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	4,25	3,75	0,35	4,00	7,60
	200	5,50	4,50	0,71	5,00	7,60
	400	5,00	4,50	0,35	4,75	7,60
	800	2,50	4,50	1,41	3,50	7,60
	1600	2,75	3,25	0,35	3,00	7,60
	3200	5,75	4,50	0,88	5,13	7,60
24 horas	Controle	7,00	10,25	2,30	8,63	-
	200	5,50	7,25	1,24	6,38	-
	400	8,75	13,75	3,54	11,25	-
	800	7,25	4,00	2,30	5,63	-
	1600	13,00	5,50	5,30	9,25	-
	3200	3,25	1,75	1,06	2,50	-
48 horas	Controle	14,50	15,50	0,71	15,00	-
	200	13,00	13,25	0,18	13,13	-
	400	18,00	16,25	1,24	17,13	-
	800	14,50	17,75	2,30	16,13	-
	1600	8,25	6,25	1,41	7,25	-
	3200	5,50	5,00	0,35	5,25	-
72 horas	Controle	53,00	47,75	3,71	50,38	-
	200	24,00	26,50	1,77	25,25	-
	400	24,25	28,25	2,83	26,25	-
	800	41,75	18,50	16,44	30,13	-
	1600	8,75	12,25	2,47	10,50	-
	3200	2,75	3,00	0,18	2,88	-
96 horas	Controle	95,00	107,00	8,49	101,00	7,69
	200	64,60	61,00	2,55	62,80	7,62
	400	89,25	56,00	23,51	72,63	7,40
	800	74,50	35,50	27,58	55,00	7,62
	1600	11,00	10,25	0,53	10,63	7,30
	3200	4,25	6,25	1,41	5,25	6,81

CE(I)50; 96h = 756,84 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 607,92 – 942,25

TABELA 22 – Média e desvio padrão do número de células de *Microcystis aeruginosa* em segundo teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 27/09/04 11:00horas. Término: 01/10/04 11:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	5,75	4,50	7,50	1,51	5,92	7,42
	200	4,00	7,75	4,00	2,17	5,25	7,42
	400	10,5	5,25	3,25	3,74	6,33	7,42
	800	5,75	9,50	7,75	1,88	7,67	7,42
	1600	7,50	7,75	2,50	2,96	5,92	7,42
	3200	4,75	5,50	6,25	0,75	5,50	7,42
24 horas	Controle	8,00	7,25	5,00	1,56	6,75	-
	200	11,50	6,75	8,00	2,46	8,75	-
	400	19,50	9,00	19,50	6,06	16,00	-
	800	6,00	10,00	11,50	2,84	9,17	-
	1600	7,50	6,75	5,00	1,28	6,42	-
	3200	5,75	7,50	5,00	1,28	6,08	-
48 horas	Controle	6,00	12,00	11,50	3,33	9,83	-
	200	19,00	18,00	17,50	0,76	18,17	-
	400	12,50	13,50	24,00	6,37	16,67	-
	800	15,25	22,50	8,75	6,88	15,50	-
	1600	9,25	8,75	11,50	1,46	9,83	-
	3200	4,50	3,00	3,25	0,80	3,58	-
72 horas	Controle	19,00	34,00	20,75	8,20	24,58	-
	200	27,50	31,50	44,50	8,89	34,50	-
	400	45,50	21,25	27,00	12,67	31,25	-
	800	28,50	21,50	18,50	5,13	22,83	-
	1600	9,00	7,00	6,50	1,32	7,50	-
	3200	5,00	3,00	1,00	2,00	3,00	-
96 horas	Controle	59,50	109,5	56,25	29,85	75,08	7,42
	200	55,25	56,75	60,75	2,84	57,58	7,50
	400	95,50	62,00	27,00	34,25	61,50	7,42
	800	21,75	37,27	37,57	9,05	32,20	7,50
	1600	13,50	20,50	14,25	3,84	16,08	7,00
	3200	5,00	5,50	6,25	0,63	5,58	6,55

CE(I)50; 96h = 645,99 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 570,92 – 730,94

TABELA 23 – Média e desvio padrão do número de células de *Microcystis aeruginosa* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 01/11/04 12:00horas. Término: 05/11/04 12:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	5,75	4,50	7,50	1,51	5,92	7,40
	200	4,00	7,75	4,00	2,17	5,25	7,40
	400	10,5	5,25	3,25	3,74	6,33	7,40
	800	5,75	9,50	7,75	1,88	7,67	7,40
	1600	3,00	3,00	3,00	0,35	3,00	7,40
	3200	2,00	3,00	3,64	0,88	2,88	7,40
24 horas	Controle	8,00	7,25	5,00	1,56	6,75	-
	200	11,50	6,75	8,00	2,46	8,75	-
	400	19,50	9,00	19,50	6,06	16,00	-
	800	6,00	10,00	11,50	2,84	9,17	-
	1600	7,50	6,75	5,00	1,28	6,42	-
	3200	5,75	7,50	5,00	1,28	6,08	-
48 horas	Controle	6,00	12,00	11,50	3,33	9,83	-
	200	19,00	10,50	12,00	1,06	11,25	-
	400	24,50	10,75	20,50	7,07	18,58	-
	800	16,50	17,50	17,50	0,58	17,17	-
	1600	2,50	10,50	5,50	4,04	6,17	-
	3200	2,50	3,00	2,50	0,29	2,67	-
72 horas	Controle	18,50	34,00	38,00	10,30	30,17	-
	200	37,00	39,00	29,50	5,01	35,17	-
	400	32,00	19,00	31,50	7,37	27,50	-
	800	42,00	28,00	30,50	7,47	33,50	-
	1600	2,50	7,00	5,00	2,25	4,83	-
	3200	5,00	4,00	7,00	1,53	5,33	-
96 horas	Controle	113,50	84,75	86,00	16,25	94,75	7,97
	200	80,00	99,25	79,00	11,41	86,08	7,92
	400	99,50	54,00	83,00	23,03	78,83	7,79
	800	88,00	86,50	79,25	4,68	84,58	7,74
	1600	4,00	6,50	3,75	1,52	4,75	7,39
	3200	2,00	3,00	3,75	0,88	2,92	6,92

CE(I)50; 96h = 986,56 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 901,43 – 1079,73

TABELA 24 – Média e desvio padrão do número de células de *Microcystis aeruginosa* em quarto teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 08/11/04 11:00horas. Término: 12/11/04 11:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/mL)	pH
0 hora	Controle	4,50	3,50	5,00	0,76	4,33	7,25
	200	3,00	8,00	5,25	2,50	5,42	7,25
	400	8,00	8,25	9,50	0,80	8,58	7,25
	800	9,25	9,75	7,25	1,32	8,75	7,25
	1600	6,25	7,50	10,75	2,32	8,17	7,25
	3200	3,50	9,00	6,00	2,75	6,17	7,25
96 horas	Controle	103,25	47,50	151,50	52,05	100,75	7,32
	200	113,25	110,50	64,75	27,24	96,17	7,35
	400	37,25	92,75	43,75	30,34	57,92	7,13
	800	31,75	49,75	37,50	9,19	39,67	7,01
	1600	14,00	10,50	10,75	1,95	11,75	6,57
	3200	6,00	9,00	6,00	1,73	7,00	5,00

CE(I)50; 96h = 491,18 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 440,02 – 548,30

TABELA 25 – Média e desvio padrão do número de células de *Microcystis aeruginosa* em quinto teste de toxicidade aguda com Cádmio, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 29/11/04 12:00horas. Término: 02/12/04 12:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/mL)	pH
0 hora	Controle	3,50	3,00	4,25	0,63	3,58	7,28
	200	5,75	4,50	7,25	1,38	5,83	7,28
	400	6,50	7,50	3,25	2,22	5,75	7,28
	800	4,75	8,75	4,50	2,38	6,00	7,28
	1600	5,00	5,00	4,00	0,58	4,67	7,28
	3200	3,25	3,00	6,50	1,95	4,25	7,28
24 horas	Controle	5,00	4,25	9,00	2,55	6,08	-
	200	3,00	5,50	6,50	1,80	5,00	-
	400	4,00	6,00	5,50	1,04	5,17	-
	800	4,50	5,50	5,00	0,50	5,00	-
	1600	8,50	3,00	9,50	3,50	7,00	-
	3200	2,25	5,00	5,50	1,75	4,25	-
48 horas	Controle	22,00	19,00	11,00	5,69	17,33	-
	200	24,50	15,00	17,50	4,92	19,00	-
	400	11,00	17,00	7,50	4,80	11,83	-
	800	19,00	17,50	16,00	1,50	17,50	-
	1600	3,00	6,00	3,50	1,61	4,17	-
	3200	1,00	4,50	6,50	2,78	4,00	-
72 horas	Controle	38,00	18,00	28,50	10,00	28,17	-
	200	37,00	22,50	17,50	10,13	25,67	-
	400	25,00	23,00	41,00	9,87	29,67	-
	800	24,00	33,00	15,50	8,75	24,17	-
	1600	5,00	4,75	5,50	0,38	5,08	-
	3200	3,50	3,00	3,00	0,29	3,17	-
96 horas	Controle	79,50	53,50	58,50	13,80	63,83	7,50
	200	104,00	42,00	50,50	33,61	65,50	7,43
	400	46,25	37,50	93,50	30,13	59,08	7,40
	800	41,50	70,75	41,50	16,89	51,25	7,40
	1600	5,00	5,25	5,00	0,14	5,08	7,06
	3200	5,00	5,00	3,00	1,15	4,33	6,50

CE(I)50; 96h = 889,54 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 824,26 – 960,00

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com Cromo utilizando como organismos-teste *Microcystis aeruginosa*

TABELA 26 – Média e desvio padrão do número de células de *Microcystis aeruginosa* primeiro teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 16/08/04 12:00horas. Término: 19/08/04 12:00horas					
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)			Média	
		1 ^o	2 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/mL)	pH
0 hora	Controle	6,00	3,75	1,59	4,88	7,30
	100	2,50	4,00	1,06	3,25	7,30
	200	2,50	4,75	1,59	3,63	7,30
	400	3,25	1,00	1,59	2,13	7,30
	800	1,00	1,75	0,53	1,38	7,30
	1600	5,00	4,00	0,71	4,50	7,30
	3200	2,50	5,00	1,77	3,75	7,30
24 horas	Controle	11,75	10,75	0,71	11,25	-
	100	2,75	11,50	6,19	7,13	-
	200	9,25	9,75	0,35	9,50	-
	400	12,25	5,25	4,95	8,75	-
	800	6,50	8,25	1,24	7,38	-
	1600	11,75	8,00	2,65	9,88	-
	3200	5,00	5,00	0,00	5,00	-
48 horas	Controle	11,75	26,25	10,25	19,00	-
	100	19,25	19,50	0,18	19,38	-
	200	19,50	20,00	0,35	19,75	-
	400	16,25	19,25	2,12	17,75	-
	800	13,50	11,50	1,41	12,50	-
	1600	6,00	8,75	1,94	7,38	-
	3200	5,75	2,75	2,12	4,25	-
72 horas	Controle	43,50	52,00	6,01	47,75	-
	100	47,00	39,00	5,66	43,00	-
	200	51,00	31,25	13,97	41,13	-
	400	21,00	25,75	3,36	23,38	-
	800	14,25	10,25	2,83	12,25	-
	1600	6,25	5,25	0,71	5,75	-
	3200	3,00	1,50	1,06	2,25	-
96 horas	Controle	78,25	121,75	30,76	100,00	-
	100	72,00	84,75	9,02	78,38	7,70
	200	84,75	75,50	6,54	80,13	7,60
	400	49,25	59,25	7,07	54,25	7,48
	800	14,25	15,75	1,06	15,00	7,44
	1600	8,00	5,75	1,59	6,88	7,34
	3200	3,50	7,00	2,47	5,25	7,32

CE(I)50; 96h = 410,79 $\mu\text{g/L}$ Intervalo de confiança 95%: 361,40 – 466,92

TABELA 27 – Média e desvio padrão do número de células de *Microcystis aeruginosa* em segundo teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 13/09/04 12:00horas. Término: 17/09/04 12:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	3,50	5,50	3,75	1,09	4,25	7,47
	100	5,25	6,50	3,00	1,77	4,92	7,47
	200	2,75	4,75	4,50	1,09	4,00	7,47
	400	3,25	4,00	4,75	0,75	4,00	7,47
	800	2,75	5,50	2,25	1,75	3,50	7,47
	1600	4,75	3,75	4,25	0,50	4,25	7,47
24 horas	Controle	10,50	6,50	8,00	2,02	8,33	-
	100	9,00	6,75	5,00	2,01	6,92	-
	200	6,00	8,50	8,75	1,52	7,75	-
	400	5,00	6,75	6,50	0,95	6,08	-
	800	5,25	3,75	2,25	1,50	3,75	-
	1600	4,00	2,50	4,75	1,15	3,75	-
48 horas	Controle	15,00	17,75	22,50	3,79	18,42	-
	100	13,25	11,25	10,25	1,53	11,58	-
	200	12,5	19,25	17,75	3,54	16,50	-
	400	10,00	16,75	15,25	3,54	14,00	-
	800	6,25	7,25	5,00	1,13	6,17	-
	1600	4,25	2,00	3,50	1,15	3,25	-
72 horas	Controle	32,50	29,00	49,25	10,82	36,92	-
	100	37,25	29,75	46,00	8,13	37,67	-
	200	24,75	43,25	28,25	9,83	32,08	-
	400	12,00	16,00	21,75	4,90	16,58	-
	800	5,50	6,25	3,25	1,56	5,00	-
	1600	4,25	2,25	2,75	1,04	3,08	-
96 horas	Controle	82,00	61,00	84,00	12,74	75,67	7,72
	100	58,75	57,00	87,00	16,84	67,58	7,62
	200	30,25	100,00	93,75	38,59	74,67	7,60
	400	27,25	28,25	31,50	2,22	29,00	7,67
	800	7,75	6,75	3,25	2,36	5,92	7,48
	1600	5,75	4,25	3,00	1,38	4,33	7,42

CE(I)50; 96h = 350,56 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 324,00 – 379,30

TABELA 28 – Média e desvio padrão do número de células de *Microcystis aeruginosa* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 04/10/04 11:00horas. Término: 08/09/04 11:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/ mL)	pH
0 hora	Controle	3,75	3,75	4,75	0,58	4,08	7,40
	100	3,50	5,00	5,00	0,87	4,50	7,40
	200	7,50	3,00	4,00	2,36	4,83	7,40
	400	4,00	4,00	2,50	0,87	3,50	7,40
	800	4,00	4,00	3,00	0,58	3,67	7,40
	1600	4,00	3,25	3,75	0,38	3,67	7,40
24 horas	Controle	10,00	5,50	6,50	2,36	7,33	-
	100	10,50	10,00	6,00	2,47	8,83	-
	200	4,00	5,50	9,00	2,57	6,17	-
	400	4,50	5,50	5,50	0,58	5,17	-
	800	2,50	4,00	5,50	1,50	4,00	-
	1600	4,25	2,00	5,25	1,66	3,83	-
48 horas	Controle	16,50	15,50	23,75	4,50	18,58	-
	100	14,25	10,50	11,00	2,04	11,92	-
	200	10,50	14,75	17,00	3,30	14,08	-
	400	26,00	15,50	13,00	6,90	18,17	-
	800	12,50	5,75	8,50	3,39	8,92	-
	1600	5,25	3,75	4,75	0,76	4,58	-
72 horas	Controle	25,00	29,00	16,75	6,25	23,58	-
	100	37,50	37,00	38,00	0,50	37,50	-
	200	25,50	27,50	28,00	1,32	27,00	-
	400	18,00	19,00	16,00	1,53	17,67	-
	800	9,00	7,50	5,50	1,76	7,33	-
	1600	5,00	7,00	5,00	1,15	5,67	-
96 horas	Controle	50,75	75,00	46,75	15,29	57,50	7,52
	100	61,00	35,50	46,25	12,80	47,58	7,52
	200	41,00	50,50	47,50	4,86	46,33	7,40
	400	30,50	23,50	11,25	9,74	21,75	7,34
	800	23,25	17,50	18,00	3,19	19,58	7,32
	1600	6,25	4,00	12,75	4,54	7,67	7,30

CE(I)50; 96h = 358,52 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 305,71 – 420,46

TABELA 29 – Média e desvio padrão do número de células de *Microcystis aeruginosa* em quarto teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 08/11/04 11:00horas. Término: 12/11/04 11:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/mL)	pH
0 hora	Controle	3,75	5,00	3,00	1,01	3,92	7,02
	100	6,00	6,00	4,00	1,15	5,33	7,02
	200	6,50	6,25	3,50	1,66	5,42	7,02
	400	6,75	6,50	4,25	1,38	5,83	7,02
	800	5,50	4,50	4,25	0,66	4,75	7,02
	1600	4,75	4,75	4,50	0,14	4,83	7,02
96 horas	Controle	61,00	44,00	90,00	23,26	65,00	7,32
	100	71,00	47,00	77,00	15,87	65,00	7,25
	200	23,75	65,00	50,25	20,90	46,33	7,30
	400	17,50	16,50	26,00	5,22	20,00	7,22
	800	9,00	12,25	6,00	3,13	9,08	7,12
	1600	4,75	7,00	4,50	1,61	5,17	7,00

CE(I)50: 96h = 543.99 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 492.84 – 600.45

TABELA 30 – Média e desvio padrão do número de células de *Microcystis aeruginosa* em quinto teste de toxicidade aguda com Cromo, valor da CE(I)50; 96 horas e valores de pH monitorados.

Horas	Início: 22/10/04 12:00horas. Término: 26/11/04 12:00horas						
	Concentrações ($\mu\text{g/L}$)	Réplicas ($\cdot 10^4$ céls/mL)				Média	
		1 ^o	2 ^o	3 ^o	DP	($\cdot 10^4$ céls/mL)	pH
0 hora	Controle	2,75	6,00	4,50	1,63	4,42	7,26
	100	7,25	7,25	8,25	0,58	7,58	7,26
	200	5,25	5,00	4,75	0,25	5,00	7,26
	400	10,25	11,25	12,00	0,88	11,17	7,26
	800	5,75	3,00	8,75	2,88	5,83	7,26
	1600	6,25	8,00	2,75	2,67	5,67	7,26
24 horas	Controle	9,00	21,75	10,50	6,97	13,75	-
	100	13,00	13,00	10,50	1,44	12,17	-
	200	13,00	14,50	9,00	2,84	12,17	-
	400	11,00	6,00	14,50	4,27	10,50	-
	800	8,50	13,00	18,50	5,01	13,33	-
	1600	17,00	13,00	5,00	6,11	11,67	-
48 horas	Controle	10,75	29,00	25,50	9,69	21,75	-
	100	19,50	12,00	16,50	3,77	16,00	-
	200	14,00	17,50	20,50	3,25	17,33	-
	400	18,50	34,75	17,50	9,68	23,58	-
	800	11,25	9,50	18,75	4,91	13,17	-
	1600	10,50	8,50	12,50	2,00	10,50	-
72 horas	Controle	31,00	32,00	37,00	3,21	33,33	-
	100	61,00	38,00	53,50	11,73	50,83	-
	200	38,00	49,00	56,00	9,07	47,67	-
	400	22,50	23,50	21,50	1,00	22,50	-
	800	13,50	6,50	12,00	3,69	10,67	-
	1600	6,00	5,50	3,50	1,32	5,00	-
96 horas	Controle	83,00	116,00	144,75	30,90	114,58	7,78
	100	110,00	125,25	115,50	7,72	116,92	7,66
	200	49,50	47,25	88,00	22,91	61,58	7,54
	400	27,50	33,00	48,50	10,89	36,33	7,42
	800	21,00	12,50	12,50	4,91	15,33	7,28
	1600	4,50	13,50	6,75	4,68	8,25	7,25

CE(I)50: 96h = 274.46 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 223.08 – 274.50

TABELA 31 – Valores de peso seco (mg/L) de *Selenastrum capricornutum* quando exposta ao Cd e Cr.

Cd	Concentrações-teste (µg/L)	Peso seco(mg/L)	Cr	Concentrações-teste (µg/L)	Peso seco (mg/L)
2 ^o Teste (03.10.03)	Controle (0.00)	120.00	3 ^o Teste (22.08.03)	Controle (0.00)	105.00
	10,00	100,00		100,00	113,70
	20,00	126,60		200,00	104,40
	40,00	58,57		400,00	120,00
	80,00	18,06		800,00	46,10
	160,00	10,00		1600,00	10,00
4 ^o Teste (24.10.03)	Controle (0.00)	152.20	5 ^o Teste (12.09.03)	Controle (0.00)	131.20
	10,00	124,57		100,00	155,80
	20,00	101,82		200,00	154,20
	40,00	78,31		400,00	123,70
	80,00	32,72		800,00	74,10
	160,00	13,40		1600,00	13,30
5 ^o Teste (28.11.03)	Controle (0.00)	161.80	9 ^o Teste (26.02.04)	Controle (0.00)	96.00
	10,00	85,00		100,00	95,00
	20,00	76,00		200,00	77,00
	40,00	78,00		400,00	90,00
	80,00	26,80		800,00	28,50
	160,00	8,20		1600,00	6,00
6 ^o Teste (05.12.03)	Controle (0.00)	114.60			
	10,00	59,30			
	20,00	55,20			
	40,00	43,30			
	80,00	22,10			
	160,00	7,20			

TABELA 32 – Valores de peso seco (mg/L) de *Microcystis aeruginosa* quando exposta ao Cd e Cr.

Cd	Concentrações-teste (µg/L)	Peso seco (mg/L)	Cr	Concentrações-teste (µg/L)	Peso seco(mg/L)
1 ^o Teste (24.09.04)	Controle (0.00)	25.38	1 ^o Teste (19.08.04)	Controle (0.00)	20.75
	200,00	21,62		200,00	23,73
	400,00	30,50		400,00	13,41
	800,00	21,88		800,00	5,41
	1600,00	10,00		1600,00	8,32
	3200,00	5,25		3200,00	5,78
2 ^o Teste (01.10.04)	Controle (0.00)	18.00	2 ^o Teste (17.09.04)	Controle (0.00)	25.69
	200,00	24.64		100,00	23,16
	400,00	26.09		200,00	26,29
	800,00	16,17		400,00	11,02
	1600,00	6,75		800,00	7,00
	3200,00	2,90		1600,00	8,62
3 ^o Teste (05.11.04)	Controle (0.00)	28.18	3 ^o Teste (08.10.04)	Controle (0.00)	17.13
	200,00	19,88		100,00	18,75
	400,00	18,27		200,00	16,31
	800,00	22,64		400,00	9,25
	1600,00	4,36		800,00	8,15
	3200,00	4,10		1600,00	5,00
4 ^o Teste (12.11.04)	Controle (0.00)	19.20	4 ^o Teste (12.11.04)	Controle (0.00)	14.30
	200,00	25,31		100,00	12,50
	400,00	16,25		200,00	16,20
	800,00	12,73		400,00	12,20
	1600,00	6,15		800,00	8,20
	3200,00	0,48		1600,00	7,60
5 ^o Teste (03.12.04)	Controle (0.00)	20.09	5 ^o Teste (26.11.04)	Controle (0.00)	24.08
	200,00	18,27		100,00	27,64
	400,00	17,91		200,00	15,81
	800,00	16,27		400,00	10,57
	1600,00	6,73		800,00	8,09
	3200,00	4,27		1600,00	5,73

TABELA 33 - Biovolume e conteúdo de carbono orgânico total em *Selenastrum capricornutum* durante terceiro teste de toxicidade aguda ao cádmio (no período de 06/10/03 a 10/10/03)

Data		Concentração ($\mu\text{g/L}$)					
		Controle	10	20	40	80	160
06/out	Biovolume (μm^3)	12,42	11,78	11,75	9,30	12,12	13,54
	DP	7,48	6,15	4,47	5,46	6,35	6,09
	CC	1,71	1,62	1,61	1,26	1,67	1,87
	(pg/célula) DP	1,09	0,89	0,64	0,78	0,92	0,89
07/out	Biovolume (μm^3)	18,63	20,01	23,44	16,59	13,39	10,97
	DP	6,72	6,91	8,45	9,88	4,38	3,85
	CC	2,61	2,82	3,33	2,32	1,84	1,50
	(pg/célula) DP	0,99	1,03	1,26	1,46	0,64	0,55
08/out	Biovolume (μm^3)	25,43	16,25	22,65	15,83	15,65	22,04
	DP	7,21	7,41	9,33	7,89	6,10	10,05
	CC	3,62	2,27	3,21	2,21	2,18	3,12
	(pg/célula) DP	1,07	1,09	1,39	1,16	0,89	1,49
09/out	Biovolume (μm^3)	14,61	15,87	20,98	21,06	16,21	25,27
	DP	5,22	6,05	6,31	7,99	7,37	9,93
	CC	2,02	2,21	2,96	2,97	2,26	3,60
	(pg/célula) DP	0,76	0,89	0,93	1,18	1,08	1,48
10/out	Biovolume (μm^3)	20,86	14,92	18,39	17,95	31,53	46,69
	DP	7,33	6,23	10,11	6,33	14,32	16,28
	CC	2,94	2,07	2,59	2,51	4,56	6,86
	(pg/célula) DP	1,07	0,91	1,50	0,93	2,14	2,50

DP: Desvio Padrão

CC: Conteúdo de carbono orgânico total

TABELA 34 – Biovolume e conteúdo de carbono orgânico total em *Selenastrum capricornutum* durante quarto teste de toxicidade aguda ao cromo (no período de 25/08/03 a 29/08/03).

Data		Concentração ($\mu\text{g/L}$)					
		Controle	100	200	400	800	1600
25/ago	Biovolume (μm^3)	14,58	17,66	20,52	43,51	28,06	22,14
	DP	5,38	6,53	7,93	16,40	10,94	8,67
	CC (pg/célula)	2,02	2,47	2,89	6,37	4,02	3,13
	DP	0,78	0,95	1,17	2,51	1,64	1,28
26/ago	Biovolume (μm^3)	32,36	42,31	31,86	32,12	33,60	39,82
	DP	9,28	12,24	11,17	9,04	10,64	18,69
	CC (pg/célula)	4,66	6,18	4,59	4,63	4,85	5,82
	DP	1,41	1,87	1,69	1,36	1,61	2,85
27/ago	Biovolume (μm^3)	16,99	13,69	18,14	11,32	15,15	64,59
	DP	7,38	7,72	8,58	4,72	7,64	19,42
	CC (pg/célula)	2,38	1,90	2,55	1,55	2,11	9,64
	DP	1,08	1,13	1,26	0,68	1,12	3,03
28/ago	Biovolume (μm^3)	18,43	10,13	13,52	12,05	18,55	64,89
	DP	6,54	2,68	3,84	8,03	12,94	45,95
	CC (pg/célula)	2,58	1,37	1,86	1,66	2,62	9,79
	DP	0,97	0,38	0,56	1,17	1,93	7,22
29/ago	Biovolume (μm^3)	22,43	16,99	22,53	18,49	12,37	67,00
	DP	10,63	6,73	6,55	7,79	8,57	39,48
	CC (pg/célula)	3,18	2,37	3,19	2,60	1,71	10,09
	DP	1,58	0,98	0,97	1,14	1,26	6,19
	DP	1,01	1,13	1,07	1,30	0,96	2,07

DP: Desvio Padrão

CC: Conteúdo de carbono orgânico total

Resultados das análises de metais obtidas nos finais dos testes de toxicidade aguda com as algas *Selenastrum capricornutum* e *Microcystis aeruginosa*.

TABELA 35 - Concentrações de cádmio obtidas em amostras coletadas no final dos testes de toxicidade aguda com *Selenastrum capricornutum*.

	Concentração ($\mu\text{g/L}$)	Metal total ($\mu\text{g/L}$)	Metal dissolvido ($\mu\text{g/L}$)	Metal particulado ($\mu\text{g/L}$)
1 ^o Teste (18.05.03)	Controle	ND	2,18	
	10,00	9,15	3,13	6,70
	20,00	15,45	5,76	10,65
	40,00	48,00	2,34	24,68
	80,00	85,00	30,27	66,63
	160,00	162,00	63,41	64,29
2 ^o Teste (03.10.03)	Controle	ND	1,45	0,13
	10,00	8,90	0,95	6,09
	20,00	15,67	2,28	13,00
	40,00	41,22	8,44	23,10
	80,00	79,55	28,57	26,78
	160,00	146,00	69,50	56,91
4 ^o Teste (24.10.03)	Controle	ND	0,79	ND
	10,00	7,79	0,71	5,12
	20,00	12,74	1,17	8,54
	40,00	35,64	1,37	31,46
	80,00	79,05	45,66	27,57
	160,00	140,00	68,50	45,77
5 ^o Teste (28.11.03)	Controle	ND	0,35	ND
	10,00	9,34	0,60	9,15
	20,00	21,29	3,11	19,00
	40,00	31,64	3,57	23,51
	80,00	71,89	24,73	29,59
	160,00	146,14	62,25	51,34
6 ^o Teste (05.12.03)	Controle	2,74	0,42	0,15
	10,00	8,27	0,78	5,37
	20,00	15,57	2,83	12,19
	40,00	33,64	9,30	25,00
	80,00	79,79	22,13	30,62
	160,00	127,94	63,42	39,84

ND = não detectado. Cd (Limite de Detecção = $0,05\mu\text{g/L}$; Limite de Quantificação = $0,16\mu\text{g/L}$) (MILLER & MILLER, 1994)

TABELA 36 - Concentrações de cromo obtidas em amostras coletadas no final dos testes de toxicidade aguda com *Selenastrum capricornutum*.

	Concentração ($\mu\text{g/L}$)	Metal total ($\mu\text{g/L}$)	Metal dissolvido ($\mu\text{g/L}$)	Metal particulado ($\mu\text{g/L}$)
1 ^o Teste (30.06.03)	Controle	0,18	ND	0,46
	100,00	82,16	78,84	3,56
	200,00	236,96	220,00	7,50
	400,00	392,16	348,00	11,02
	800,00	782,00	704,00	11,40
	1600,00	1667,00	788,00	24,85
2 ^o Teste (15.08.03)	Controle	4,33	0,13	0,09
	100,00	112,57	87,67	2,31
	200,00	211,48	163,22	3,62
	400,00	311,12	307,21	7,64
	800,00	783,00	716,00	10,27
	1600,00	1024	527,00	42,70
3 ^o Teste (22.08.03)	Controle	1,71	2,28	0,17
	100,00	84,25	95,43	4,91
	200,00	201,58	181,13	4,08
	400,00	375,00	329,51	11,03
	800,00	752,00	724,00	11,34
	1600,00	1403,00	1498,00	14,78
5 ^o Teste (12.09.03)	Controle	6,54	1,67	0,53
	100,00	82,00	76,79	2,87
	200,00	173,00	166,08	13,91
	400,00	354,00	328,48	13,27
	800,00	784,00	753,00	13,83
	1600,00	1425,00	1530,00	22,67
9 ^o Teste (26.03.04)	Controle	ND	ND	1,08
	100,00	76,40	75,52	4,17
	200,00	184,90	153,52	8,37
	400,00	338,00	282,52	12,15
	800,00	734,00	642,00	10,19
	1600,00	1618,00	1551,00	19,26

ND = não detectado. Cr (Limite de Detecção = $0,8\mu\text{g/L}$; Limite de Quantificação = $2,71\mu\text{g/L}$) (MILLER & MILLER, 1994)

TABELA 37 - Concentrações de cádmio obtidas em amostras coletadas no final dos testes de toxicidade aguda com *Microcystis aeruginosa*.

	Concentração (µg/L)	Metal total (µg/L)	Metal dissolvido (µg/L)	Metal particulado (µg/L)
1 ^o Teste (24.09.04)	Controle	2,25	0,69	0,72
	200,00	179,15	179,78	1,83
	400,00	336,84	350,03	5,00
	800,00	800,00	800,00	4,00
	1600,00	1600,32	1547,40	10,41
	3200,00	3205,60	2748,90	87,53
2 ^o Teste (01.10.04)	Controle	1,23	0,92	0,86
	200,00	200,72	184,01	2,19
	400,00	393,88	365,68	3,75
	800,00	811,10	811,10	3,45
	1600,00	1555,29	1530,40	6,13
	3200,00	3251,71	3015,00	60,00
3 ^o Teste (05.11.04)	Controle	1,26	0,87	0
	200,00	200,00	190,36	2,12
	400,00	373,93	364,81	3,23
	800,00	722,99	800,00	4,60
	1600,00	-	1457,00	8,35
	3200,00	3139	2819,30	53,78
4 ^o Teste (22.11.04)	Controle	3,88	0,74	1,20
	200,00	213,41	200,00	1,28
	400,00	400,00	390,83	2,89
	800,00	870,15	784,30	4,12
	1600,00	1875,80	1567,30	6,70
	3200,00	2960,34	3206,00	61,38
5 ^o Teste (03.12.04)	Controle	5,50	0,73	1,50
	200,00	212,40	202,33	1,24
	400,00	412,62	412,62	1,52
	800,00	806,00	798,85	4,97
	1600,00	1600,00	1660,60	6,21
	3200,00	2127,29	3048,00	44,23

ND = não detectado. Cd (Limite de Detecção = 0,05µg/L; Limite de Quantificação = 0,16µg/L) (MILLER & MILLER, 1994)

TABELA 38 - Concentrações de cromo obtidas em amostras coletadas no final dos testes de toxicidade aguda com *Microcystis aeruginosa*.

	Concentração ($\mu\text{g/L}$)	Metal total ($\mu\text{g/L}$)	Metal dissolvido ($\mu\text{g/L}$)	Metal particulado ($\mu\text{g/L}$)
1 ^o Teste (19.08.04)	Controle	3,86	0,63	ND
	100,00	95,42	84,30	1,42
	200,00	182,84	168,40	3,86
	400,00	357,19	353,50	2,97
	800,00	783,92	744,00	5,89
	1600,00	1696,32	1445,50	7,19
2 ^o Teste (17.09.04)	Controle	7,30	1,52	ND
	100,00	94,32	91,20	1,17
	200,00	179,82	176,70	2,56
	400,00	358,37	351,70	2,08
	800,00	887,92	752,50	2,68
	1600,00	1649,79	1429,50	5,27
3 ^o Teste (08.10.04)	Controle	ND	0,37	ND
	100,00	92,96	87,10	0,92
	200,00	171,23	175,80	1,54
	400,00	332,79	349,40	2,24
	800,00	900,00	789,50	3,18
	1600,00	1850,31	1533,50	7,88
4 ^o Teste (12.11.04)	Controle	1,87	0,32	ND
	100,00	85,67	86,50	0,74
	200,00	178,24	178,10	0,46
	400,00	363,12	345,70	5,20
	800,00	887,42	761,00	5,95
	1600,00	1456,19	1537,50	7,71
5 ^o Teste (26.11.04)	Controle	2,67	0,99	0,29
	100,00	86,10	92,80	1,08
	200,00	168,10	177,40	2,84
	400,00	338,47	344,90	6,39
	800,00	864,81	622,69	6,49
	1600,00	1683,50	-	10,19

ND = não detectado. Cr (Limite de Detecção = $0,8\mu\text{g/L}$; Limite de Quantificação = $2,71\mu\text{g/L}$) (MILLER & MILLER, 1994)

ANEXO B – Resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda de *Daphnia similis* aos metais na presença e na ausência de diferentes densidades algais de *Selenastrum capricornutum* e *Microcystis aeruginosa*

TABELA 39 – Valores de CE(I)50; 48h para *Daphnia similis* obtidos em teste de sensibilidade ao dicromato de potássio entre os anos de 2002 e 2004.

Ano/mês	CE(I)50; 48h (mg/L) (Intervalo de confiança)
2002/10	0,089 (0,07 – 0,11)
2002/11	0,094 (0,08 – 0,11)
2002/12	0,04 (0,03 – 0,08)
2003/01	0,033 (0,03 – 0,04)
2003/02	0,049 (0,04 – 0,06)
2003/03	0,059 (0,045 – 0,076)
2003/04	0,052 (0,04 – 0,06)
2003/05	0,056 (0,04 – 0,07)
2003/06	0,041 (0,03 – 0,05)
2003/07	0,037 (0,03 – 0,05)
2003/08	0,048 (0,04 – 0,05)
2003/09	0,04 (0,03 – 0,05)
2003/10	0,039 (0,03 – 0,08)
2003/11	0,049 (0,03 – 0,08)
2003/12	0,05 (0,03 – 0,08)
2004/01	-
2004/02	0,044 (0,04 – 0,05)
2004/03	0,041 (0,03 – 0,05)
2004/04	0,043 (0,04 – 0,05)
2004/05	0,09 (0,08 – 0,11)
2004/06	0,03 (0,03-0,04)
2004/07	0,04 (0,04 – 0,05)
2004/08	0,032 (0,03 – 0,04)
2004/09	0,06 (0,05-,08)
2004/10	0,045 (0,04 – 0,05)
2004/11	0,042 (0,06 – 0,05)
Média	0,049
Faixa de sensibilidade	0,02 – 0,075
Desvio-padrão	0,02
Coefficiente de variação	27,40%

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com cádmio utilizando como organismo-teste *Daphnia similis*

TABELA 40 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 10/12/2002 10:15 horas

Término: 12/12/2002 10:15 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
10/12/03	7,56	-	42								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,56	7,83	-	-	-	199
10	0	0	0	0	0	7,56	7,76	-	-	-	202
20	0	2	0	2	13	7,56	7,73	-	-	-	201
40	1	0	2	3	20	7,56	7,65	-	-	-	197
80	3	2	1	6	40	7,56	7,81	-	-	-	199
160	5	5	5	15	100	7,56	-	-	-	-	194

CE(I)50; 48h = 68,05 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 52,63 – 88,00

TABELA 41 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em segundo teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 14/01/2003 10:00 horas

Término: 16/01/2003 10:15 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
15/01/03	7,61	136,80	44								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,61	7,56	-	-	136,8	139,9
10	0	2	0	2	13	7,61	7,49	-	-	136,8	143,1
20	2	0	0	2	13	7,61	7,52	-	-	136,8	150,4
40	0	0	2	2	13	7,61	7,55	-	-	136,8	152,1
80	1	2	4	7	46	7,61	7,50	-	-	136,8	148,4
160	5	5	5	15	100	7,61	7,50	-	-	136,8	151,1

CE(I)50; 48h = 78,75 $\mu\text{g}/\text{L}$

Limite de confiança 95%: 61,33 – 102,12

TABELA 42 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor das CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 21/01/2003 11:00 horas

Término: 23/01/2003 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
20/01/03	7,58	136,80	42								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	F	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,58	7,97	-	-	136,8	128,7
10	1	0	1	2	13	7,58	8,09	-	-	136,8	127,7
20	1	2	1	3	20	7,58	-	-	-	136,8	134,0
40	2	2	3	7	47	7,58	7,52	-	-	136,8	134,0
80	3	4	3	10	67	7,58	-	-	-	136,8	-
160	5	5	5	15	100	7,58	7,52	-	-	136,8	112,7

CE(I)50; 48h = 45,09 $\mu\text{g}/\text{L}$

Limite de confiança 95%: 30,64 – 66,34

TABELA 43 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quarto teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 28/01/2003 11:12 horas

Término: 30/01/2003 11:12 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
28/01/03	7,23	136,80	48								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,23	7,60	-	9,07	-	-
10	0	0	0	0	0	7,23	7,58	-	8,21	-	-
20	1	1	0	2	13	7,23	7,58	-	8,59	-	-
40	0	2	3	5	33	7,23	7,56	-	9,04	-	-
80	4	3	4	11	73	7,23	7,52	-	9,11	-	-
160	5	5	5	15	100	7,23	7,44	-	8,89	-	-

CE(I)50; 48h = 49,24 $\mu\text{g}/\text{L}$

Limite de confiança 95%: 37,92 – 63,96

TABELA 44 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quinto teste de toxicidade aguda com Cádmiio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 04/02/2003 11:05 horas

Término: 06/02/2003 11:05 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmiio (Nitrato de Cádmiio)							
03/02/03	7,49	149,0	42								
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,49	7,52	-	6,33	149,0	178,4
10	0	0	0	0	0	7,49	7,45	-	6,18	149,0	173,1
20	1	0	1	2	13	7,49	7,65	-	-	149,0	177,0
40	1	0	1	2	13	7,49	7,58	-	6,59	149,0	177,7
80	1	4	3	8	53	7,49	7,49	-	-	149,0	175,4
160	5	5	5	15	100	7,49	7,50	-	5,60	149,0	176,5

CE(I)50; 48h = 64,98 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 50,71 – 83,27

TABELA 45 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em sexto teste de toxicidade aguda com Cádmiio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 25/02/2003 10:50 horas

Término: 27/02/2003 10:50 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmiio (Nitrato de Cádmiio)							
25/02/03	7,60	228,0	44								
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	6	7,60	7,72	-	-	228,0	249
10	0	0	0	1	11	7,60	7,74	-	-	228,0	218
20	1	1	0	2	22	7,60	7,62	-	-	228,0	128
40	0	2	1	3	33	7,60	7,71	-	-	228,0	224
80	3	3	3	9	100	7,60	7,72	-	-	228,0	173
160	3	3	3	9	100	7,60	7,72	-	-	228,0	224

CE(I)50; 48h = 40,33 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 27,52 – 59,10

TABELA 46 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em sétimo teste de toxicidade aguda com Cádmiio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 11/03/2003 09:30 horas

Término: 13/03/2003 09:30 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal												
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmiio (Nitrato de Cádmiio)												
11/03/03	7,70	-	44	Concentração ($\mu\text{g/L}$)		N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
				Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f	i	f
				1	2	3										
Controle				0	0	0	0	0	7,70	7,72	-	9,32	-	186		
10				0	0	0	0	0	7,70	7,68	-	-	-	139,2		
20				0	0	0	0	0	7,70	7,86	-	9,08	-	178,8		
40				0	0	0	0	0	7,70	7,70	-	-	-	165,3		
80				0	2	2	4	26	7,70	7,71	-	8,38	-	166,3		
160				5	5	5	15	100	7,70	7,79	-	8,81	-	173,5		

CE(I)50; 48h = 94,04 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 80,28 – 110,17

TABELA 47 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em oitavo teste de toxicidade aguda com Cádmiio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 22/04/2003 11:00 horas

Término: 25/04/2003 11:00horas

Água de cultivo ou diluição				Metal												
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmiio (Nitrato de Cádmiio)												
22/04/03	7,46	175,0	44	Concentração ($\mu\text{g/L}$)		N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
				Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f	i	f
				1	2	3										
Controle				1	0	0	1	6	7,46	7,64	-	-	175,0	191,2		
10				0	0	1	1	6	7,46	7,53	-	-	175,0	184,5		
20				0	1	0	1	6	7,46	7,64	-	-	175,0	147,8		
40				1	0	2	3	20	7,46	7,60	-	-	175,0	148,9		
80				3	1	4	6	40	7,46	7,68	-	-	175,0	121,0		
160				5	5	5	15	100	7,46	7,63	-	-	175,0	173,0		

CE(I)50; 48h = 76,07 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 58,35 – 99,18

TABELA 48 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em nono teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 13/05/2003 09:40 horas

Término: 15/05/2003 09:40 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
13/05/03	7,55	131,3	48									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	7,55	7,66	-	-	131,3	147,0	
10	0	0	0	0	0	7,55	7,63	-	-	131,3	110,0	
20	0	0	0	0	0	7,55	7,70	-	-	131,3	147,8	
40	0	0	0	0	0	7,55	7,71	-	-	131,3	142,4	
80	1	1	1	3	20	7,55	7,64	-	-	131,3	135,1	
160	5	3	5	13	86	7,55	7,62	-	-	131,3	137,2	

CE(I)50; 48h = 108,48 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 84,26 – 139,66

TABELA 49 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 21/01/2004 13:45 horas

Término: 23/01/2004 13:45 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
20/01/03	7,60	171,70	42									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,53	-	-	171,7	157,6	
10	0	1	0	0	1	5	7,60	7,50	-	-	171,7	168,3
20	1	1	2	0	4	20	7,60	7,43	-	-	171,7	169,7
40	1	2	2	1	6	30	7,60	7,52	-	-	171,7	170,7
80	1	2	3	1	7	35	7,60	7,48	-	-	171,7	170,1
160	5	5	5	5	20	100	7,60	7,52	-	-	171,7	171,1

CE(I)50; 48h = 64,83 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 49,56 – 84,80

TABELA 50 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo primeiro teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 09/03/2004 10:00 horas

Término: 11/03/2004 10:00horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
09/03/04	7,32	156,50	42									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	1	1	5	7,32	7,53	-	6,8	156,5	161,6
10	1	0	0	0	1	5	7,32	7,48	-	6,9	156,5	158,7
20	0	0	0	1	1	5	7,32	7,50	-	6,4	156,5	160,9
40	0	1	2	0	2	10	7,32	7,48	-	6,7	156,5	159,9
80	2	1	2	3	8	40	7,32	7,48	-	6,5	156,5	158,1
160	5	5	5	5	20	100	7,32	7,44	-	6,7	156,5	1157,9

CE(I)50; 48h = 78,60 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 63,61 - 97,13

TABELA 51 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo segundo teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 13/03/2004 11:00 horas

Término: 15/03/2004 11:00horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
13/03/04	7,30	156,80	42									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,30	7,55	-	7,0	156,8	159,4
10	0	0	0	1	1	5	7,30	7,52	-	7,1	156,8	153,1
20	0	0	0	1	1	5	7,30	7,52	-	7,0	156,8	154,6
40	0	1	1	0	1	5	7,30	7,45	-	7,2	156,8	293,0
80	1	1	2	1	5	25	7,30	7,45	-	7,1	156,8	156,1
160	5	5	5	5	20	100	7,30	7,38	-	7,1	156,8	152,1

CE(I)50; 48h = 95,28 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 81,78 – 111,06

TABELA 52 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo terceiro teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 17/08/2004 14:00 horas

Término: 19/08/2004 14:00horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
16/08/04	7,58	138,00	44									
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,58	7,56	-	-	138,0	139,4
10	0	1	0	1	1	5	7,58	7,60	-	-	138,0	133,1
20	0	0	0	0	0	5	7,58	7,62	-	-	138,0	134,6
40	1	1	1	0	3	15	7,58	7,55	-	-	138,0	133,0
80	1	2	1	2	6	30	7,58	7,55	-	-	138,0	136,1
160	5	5	5	5	20	100	7,58	7,58	-	-	138,0	132,1

CE(I)50; 48h = 83,76 $\mu\text{g}/\text{L}$

Limite de confiança 95%: 69,16 – 101,41

TABELA 53 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo quarto teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 25/08/2004 13:15 horas

Término: 27/08/2004 13:15 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
23/08/04	7,34	137,9	46									
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	1	1	0	0	2	10	7,34	7,58	-	-	137,9	145,0
10	1	0	0	0	1	5	7,34	7,60	-	-	137,9	140,2
20	0	0	1	0	1	5	7,34	7,50	-	-	137,9	138,0
40	0	0	0	1	1	5	7,34	7,48	-	-	137,9	142,2
80	1	2	3	3	9	45	7,34	7,50	-	-	137,9	138,5
160	5	5	5	5	20	100	7,34	7,52	-	-	137,9	135,9

CE(I)50; 48h = 81,70 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 68,60 – 97,30

TABELA 54 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo quinto teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 01/09/2004 14:20 horas

Término: 03/09/2004 14:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
30/08/04	7,57	133,7	48									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	1	0	0	0	0	7,57	7,70	-	-	133,7	138,9
10	0	1	0	0	1	5	7,57	7,54	-	-	133,7	138,8
20	0	0	0	1	1	5	7,57	7,53	-	-	133,7	136,6
40	2	2	0	1	5	25	7,57	7,58	-	-	133,7	136,3
80	2	3	1	2	8	40	7,57	7,58	-	-	133,7	129,3
160	3	4	5	5	17	85	7,57	7,58	-	-	133,7	134,1

CE(I)50; 48h = 82,00 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 61,93 – 109,12

TABELA 55 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo sexto teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 07/09/2004 13:20 horas

Término: 09/09/2004 13:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
06/09/04	7,58	122,4	42									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	1	0	0	1	2	0	7,58	7,40	-	-	122,4	136,4
10	0	1	0	0	1	5	7,58	7,56	-	-	122,4	135,8
20	0	2	1	0	3	15	7,58	7,50	-	-	122,4	133,2
40	1	1	0	1	3	15	7,58	7,62	-	-	122,4	131,4
80	2	1	2	2	7	35	7,58	7,63	-	-	122,4	131,5
160	5	4	5	5	19	95	7,58	7,57	-	-	122,4	136,1

CE(I)50; 48h = 81,90 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 62,07 – 108,06

TABELA 56 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo sétimo teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 05/10/2004 13:10 horas

Término: 07/10/2004 13:10 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
01/10/04	7,50	139,9	46									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	1	0	1	0	2	5	7,50	7,48	-	-	139,9	144,2
10	0	0	0	0	0	0	7,50	7,50	-	-	139,9	140,9
20	1	0	1	0	2	5	7,50	7,50	-	-	139,9	141,7
40	0	0	1	1	2	5	7,50	7,53	-	-	139,9	139,6
80	1	1	2	2	6	30	7,50	7,48	-	-	139,9	138,3
160	4	5	5	5	19	95	7,50	7,48	-	-	139,9	136,2

CE(I)50; 48h = 87,24 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 70,54 – 107,90

TABELA 57 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo oitavo teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 03/11/2004 10:00 horas

Término: 05/11/2004 10:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
01/11/04	7,20	139,9	46									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	1	1	0	0	2	5	7,20	7,38	-	-	-	-
10	0	2	0	0	2	10	7,20	7,41	-	-	-	-
20	0	0	0	0	0	0	7,20	7,48	-	-	-	-
40	0	1	0	2	2	10	7,20	7,42	-	-	-	-
80	1	1	1	1	4	20	7,20	7,46	-	-	-	-
160	4	5	5	5	19	95	7,20	7,45	-	-	-	-

CE(I)50; 48h = 96,98 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 80,86 – 116,33

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com Cádmiu utilizando como organismo-teste *Daphnia similis* expostos a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum*

TABELA 58 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cádmiu exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 10/12/2002 11:00 horas

Término: 12/12/2002 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmiu (Nitrato de Cádmiu)								
10/12/03	7,56	175,0	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3									
Controle	0	0	1	1	0	7,46	7,69	-	-	175,0	182,5	
10	1	0	0	0	0	7,46	7,56	-	-	175,0	187,7	
20	0	1	2	3	20	7,46	7,58	-	-	175,0	189,4	
40	1	0	2	3	20	7,46	7,56	-	-	175,0	182,3	
80	3	1	0	4	26	7,46	7,56	-	-	175,0	181,8	
160	5	5	5	15	100	7,46	7,71	-	-	175,0	183,9	

CE(I)50; 48h = 71,27 μ g/L

Limite de confiança 95%: 55,12 – 92,16

TABELA 59 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em segundo teste de toxicidade aguda com Cádmiu exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 14/01/2003 10:00 horas

Término: 13/03/2003 10:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmiu (Nitrato de Cádmiu)								
15/01/03	7,61	136,80	44									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	7,61	7,69	-	8,40	-	186	
10	0	1	0	1	2	10	7,61	7,56	-	-	180,4	
20	0	0	1	0	1	5	7,61	7,70	-	8,78	176,6	
40	3	0	0	0	3	9	7,61	7,66	-	-	182,0	
80	2	0	2	1	5	25	7,61	7,52	-	7,87	168,5	
160	0	0	0	0	20	100	7,61	7,58	-	10,9	175,1	

CE(I)50; 48h = 89,77 μ g/L

Limite de confiança 95%: 72,79 – 110,70

TABELA 60 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 21/01/03 11:00 horas

Término: 23/01/03 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
20/01/03	7,58	136,80	42								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	1	0	1	0	7,60	7,72	-	-	136,8	144,9
10	0	0	0	0	0	7,60	7,71	-	-	136,8	141,9
20	0	0	1	1	6	7,60	7,78	-	-	136,8	142,6
40	3	2	2	7	46	7,60	7,78	-	-	136,8	146,4
80	4	1	3	8	53	7,60	7,74	-	-	136,8	148,5
160	5	5	5	15	100	7,60	7,82	-	-	136,8	153,1

CE(I)50; 48h = 54,01 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 41,32 – 70,60

TABELA 61 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quarto teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 25/02/2003 11:00 horas

Término: 27/02/2003 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
25/02/03	7,60	228,0	44								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,48	-	-	228,0	179,9
10	0	2	1	3	20	7,60	7,55	-	-	228,0	176,5
20	1	2	1	4	26	7,60	-	-	-	228,0	-
40	3	2	4	9	60	7,60	7,83	-	-	228,0	180,5
80	4	3	3	10	66	7,60	-	-	-	228,0	-
160	5	5	5	15	100	7,60	7,34	-	-	228,0	158,4

CE(I)50; 48h = 36,75 μ g/L

Limite de confiança 95%: 22,93 – 58,90



TABELA 62 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quinto teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 11/03/2003 10:00 horas
Término: 13/03/2003 10:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
11/03/03	7,70		44									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	1		1	0	7,70	7,69	-	8,40	-	186
10	1	0	0		1	6	7,70	7,56	-	-	-	180,4
20	1	1	0		2	13	7,70	7,70	-	8,78	-	176,6
40	1	0	1		2	13	7,70	7,66	-	-	-	182,0
80	3	1	2		6	40	7,70	7,52	-	7,87	-	168,5
160	5	4	4		13	86	7,70	7,58	-	10,9	-	175,1

CE(I)50; 48h = 87,93 μ g/L
Limite de confiança 95%: 67,37 – 114,77

TABELA 63 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em sexto teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 13/05/2003 10:00 horas
Término: 15/05/2003 10:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
11/03/03	7,70	-	44									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,70	7,71	-	-	-	186
10	0	0	0	0	0	0	7,70	7,71	-	-	-	180,4
20	0	0	0	0	0	0	7,70	7,68	-	-	-	176,6
40	0	0	0	2	2	10	7,70	7,70	-	-	-	182,0
80	1	1	0	2	4	5	7,70	7,75	-	-	-	168,5
160	5	5	4	5	19	95	7,70	7,62	-	-	-	175,1

CE(I)50; 48h = 97,92 μ g/L
Limite de confiança 95%: 82,70 – 115,96

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com Cádmio utilizando como organismo-teste *Daphnia similis* expostos a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum*

TABELA 64 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 28/01/2003 10:00 horas

Término: 30/01/2003 10:00horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
28/01/03	7,23	176,80	48								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	1	0	0	0	0	7,23	7,58	-	-	176,8	175,3
10	2	0	2	4	26	7,23	7,62	-	-	176,8	164,4
20	0	2	2	4	46	7,23	7,70	-	-	176,8	173,8
40	3	3	3	9	60	7,23	7,67	-	-	176,8	174,0
80	5	2	2	9	60	7,23	7,61	-	-	176,8	176,0
160	4	4	5	13	93	7,23	7,60	-	-	176,8	-

CE(I)50; 48h = 40,00 μ g/L

Limite de confiança 95%: 23,58 – 67,84

TABELA 65 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em segundo teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 04/02/03 11:35 horas

Término: 04/02/03 11:35horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
03/02/03	7,49	149,0	42								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,49	7,41	-	-	149,0	150,7
10	0	1	0	1	6	7,49	7,41	-	-	149,0	164,8
20	2	1	1	4	26	7,49	7,44	-	-	149,0	173,8
40	4	1	2	7	46	7,49	7,53	-	-	149,0	156,1
80	5	2	5	12	80	7,49	7,57	-	-	149,0	164,5
160	5	5	5	15	100	7,49	-	-	-	149,0	-

CE(I)50; 48h = 38,26 μ g/L

Limite de confiança 95%: 27,77 – 52,72

TABELA 66 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 21/01/2004 10:00 horas

Término: 23/01/2004 10:00horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
20/01/03	7,60	171,70	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,60	7,69	-	6,8	171,7	174,6
10	1	0	0	0	0	0	7,60	7,62	-	6,9	171,7	170,2
20	0	0	0	0	2	16	7,60	7,56	-	6,9	171,7	171,9
40	0	0	1	1	2	16	7,60	7,58	-	6,9	171,7	170,8
80	0	0	0	1	1	8	7,60	7,60	-	7,0	171,7	177,6
160	3	3	3	3	12	100	7,60	7,55	-	7,1	171,7	176,6

CE(I)50; 48h = 84,76 μ g/L

Limite de confiança 95%: 66,69 – 1074,72

TABELA 67 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quarto teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 13/05/2003 10:20 horas

Término: 15/05/2003 10:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
09/03/04	7,32	156,50	42								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,32	7,52	-	-	156,5	156,2
10	0	1	0	1	0	7,32	7,58	-	-	156,5	151,8
20	2	0	0	2	13	7,32	7,62	-	-	156,5	156,9
40	1	1	0	2	13	7,32	7,64	-	-	156,5	153,4
80	3	3	0	6	40	7,32	7,66	-	-	156,5	155,2
160	5	4	3	12	80	7,32	7,72	-	-	156,5	159,4

CE(I)50; 48h = 92,44 μ g/L

Limite de confiança 95%: 66,51 – 128,45

TABELA 68 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quinto teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 09/03/2004 10:00 horas
Término: 11/03/2004 10:00horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
08/03/03	7,32	156,50	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	1	1	5	7,32	7,49	-	6,8	156,5	164,6
10	1	0	0	0	1	5	7,32	7,52	-	6,9	156,5	160,2
20	0	0	0	1	1	5	7,32	7,56	-	6,9	156,5	161,9
40	0	0	0	1	1	5	7,32	7,52	-	6,9	156,5	158,8
80	1	1	1	4	7	35	7,32	7,50	-	7,0	156,5	157,6
160	5	5	5	5	20	100	7,32	7,55	-	7,1	156,5	156,6

CE(I)50; 48h = 88,21 μ g/L

Limite de confiança 95%: 74,57 – 104,36

TABELA 69 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em sexto teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 13/03/2004 11:00 horas
Término: 15/03/2004 11:00horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
13/03/04	7,30	156,80	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,30	7,52	-	7,0	156,8	157,2
10	0	0	0	1	1	5	7,30	7,55	-	7,1	156,8	157,7
20	0	0	0	1	1	5	7,30	7,52	-	7,0	156,8	157,6
40	1	1	1	2	5	25	7,30	7,56	-	7,2	156,8	156,4
80	2	1	3	1	7	35	7,30	7,57	-	7,1	156,8	156,8
160	5	5	5	5	20	100	7,30	7,63	-	7,1	156,8	154,8

CE(I)50; 48h = 75,62 μ g/L

Limite de confiança 95%: 60,40 – 94,67

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com Cádmio utilizando como organismo-teste *Daphnia similis* expostos a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa*

TABELA 70 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa*, valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 17/08/2004 15:00 horas
Término: 19/08/2004 15:00horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
16/08/04	7,58	138,00	44									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	1	1	0	0	2	20	7,58	7,56	-	-	138,0	139,4
10	0	0	2	2	4	5	7,58	7,60	-	-	138,0	133,1
20	1	1	0	0	2	20	7,58	7,62	-	-	138,0	134,6
40	1	0	1	1	3	15	7,58	7,55	-	-	138,0	133,0
80	3	2	3	3	11	55	7,58	7,55	-	-	138,0	136,1
160	5	5	5	5	20	100	7,58	7,58	-	-	138,0	132,1

CE(I)50; 48h = 59,44 μ g/L

Limite de confiança 95%: 43,73 – 80,79

TABELA 71 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em segundo teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa*, valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 01/09/2004 14:20 horas
Término: 03/09/2004 14:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
30/08/04	7,57	133,7	48									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	1	1	2	20	7,57	7,60	-	-	133,7	138,3
10	0	1	0	0	1	5	7,57	7,63	-	-	133,7	138,8
20	1	1	1	1	4	20	7,57	7,61	-	-	133,7	137,2
40	2	0	3	1	5	25	7,57	7,60	-	-	133,7	137,8
80	2	0	4	4	11	55	7,57	7,58	-	-	133,7	137,4
160	5	5	5	5	20	100	7,57	7,62	-	-	133,7	137,9

CE(I)50; 48h = 57,80 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 44,22 – 75,53

TABELA 72 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 07/09/2004 14:20 horas
Término: 09/09/2004 14:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	PH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
06/09/04	7,58	122,4	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	1	1	0	1	2	10	7,58	7,72	-	-	122,4	138,7
10	1	1	0	2	4	20	7,58	7,70	-	-	122,4	136,6
20	2	5	2	2	11	55	7,58	7,72	-	-	122,4	136,0
40	3	3	1	2	9	45	7,58	7,68	-	-	122,4	135,9
80	3	2	3	3	11	55	7,58	7,66	-	-	122,4	134,0
160	5	5	5	5	20	100	7,58	7,60	-	-	122,4	132,4

CE(I)50; 48h = 35,41 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 22,70 – 55,24

TABELA 73 - Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quarto teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 05/10/2004 13:30 horas
Término: 07/10/2004 13:30 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
01/10/04	7,58	138,1	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,58	7,62	-	-	138,1	138,7
10	0	0	0	1	1	5	7,58	7,70	-	-	138,1	136,6
20	1	0	1	0	2	10	7,58	7,60	-	-	138,1	136,0
40	2	2	2	1	7	35	7,58	7,58	-	-	138,1	135,9
80	1	2	2	2	7	35	7,58	7,56	-	-	138,1	134,0
160	5	5	5	5	20	100	7,58	7,70	-	-	138,1	132,4

CE(I)50; 48h = 64,83 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 49,72 – 84,52

TABELA 74 - Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quinto teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
01/11/04	7,20	139,9	46									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)	Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)		
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,20	7,62	-	-	139,9	146,2
10	0	0	0	0	0	0	7,20	7,72	-	-	139,9	145,1
20	0	1	0	1	2	5	7,20	7,64	-	-	139,9	143,2
40	0	0	0	0	0	0	7,20	7,65	-	-	139,9	142,3
80	1	2	2	2	7	35	7,20	7,60	-	-	139,9	143,3
160	5	5	5	5	20	95	7,20	7,64	-	-	139,9	143,7

CE(I)50; 48h = 82,82 $\mu\text{g/L}$
Intervalo de confiança 95%: 69,45 – 98,76

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com Cádmio utilizando como organismo-teste *Daphnia similis* expostos a uma densidade de 10^6 células/mL de *Microcystis aeruginosa*

TABELA 75 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cádmio quando exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Microcystis aeruginosa*, valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	PH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
23/08/04	7,34	137,9	46									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)	Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)		
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,34	7,68	-	-	137,9	155,6
10	0	0	0	0	0	0	7,34	7,82	-	-	137,9	156,8
20	1	0	0	0	1	5	7,34	7,79	-	-	137,9	154,2
40	1	0	2	1	4	20	7,34	7,74	-	-	137,9	155,2
80	2	1	0	1	4	20	7,34	7,75	-	-	137,9	155,2
160	3	5	5	4	17	85	7,34	7,76	-	-	137,9	152,1

CE(I)50; 48h = 104,18 $\mu\text{g/L}$
Intervalo de confiança 95%: 82,11 – 132,17

TABELA 76 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em segundo teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Microcystis aeruginosa* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 01/09/2004 13:20 horas
Término: 03/09/2004 13:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
30/08/04	7,57	133,7	48									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	1	1	0	2	10	7,57	7,78	-	-	133,7	184,6
10	0	0	0	2	2	10	7,57	7,68	-	-	133,7	183,9
20	1	0	0	1	2	15	7,57	7,68	-	-	133,7	183,9
40	1	1	0	1	3	15	7,57	7,72	-	-	133,7	180,9
80	1	1	1	1	4	20	7,57	7,68	-	-	133,7	181,7
160	3	4	4	4	15	75	7,57	7,52	-	-	133,7	171,9

CE(I)50; 48h = 116,76 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 95,27 – 143,09

TABELA 77 - Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Microcystis aeruginosa* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 07/09/2004 13:30 horas
Término: 09/09/2004 13:30 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
06/09/04	7,58	122,4	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	1	1	0	2	10	7,58	7,62	-	-	122,4	138,7
10	0	2	2	2	6	30	7,58	7,70	-	-	122,4	136,6
20	0	1	0	1	2	10	7,58	7,60	-	-	122,4	136,0
40	2	0	1	1	4	20	7,58	7,58	-	-	122,4	135,9
80	2	2	2	1	7	30	7,58	7,56	-	-	122,4	134,0
160	4	5	5	5	19	95	7,58	7,70	-	-	122,4	132,4

CE(I)50; 48h = 89,15 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 68,60 – 115,86

TABELA 78 - Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quarto teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Microcystis aeruginosa* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 05/10/2004 13:20 horas

Término: 07/10/2004 13:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
01/10/04	7,50	139,9	46									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,50	7,38	-	-	139,9	154,0
10	0	0	0	0	0	0	7,50	7,41	-	-	139,9	149,6
20	0	0	0	2	2	10	7,50	7,48	-	-	139,9	151,3
40	1	0	2	0	3	15	7,50	7,42	-	-	139,9	148,9
80	1	0	2	1	4	20	7,50	7,46	-	-	139,9	148,9
160	5	4	4	4	17	85	7,50	7,45	-	-	139,9	148,7

CE(I)50; 48h = 107,67 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 87,32 – 132,76

TABELA 79 - Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quinto teste de toxicidade aguda com Cádmio exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Microcystis aeruginosa* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 01/11/2004 11:00 horas

Término: 03/11/2004 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
01/11/04	7,20	139,1	46									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,20	7,85	-	-	139,1	201
10	0	0	0	1	5	30	7,20	7,84	-	-	139,1	205
20	0	0	0	0	0	0	7,20	7,82	-	-	139,1	206
40	1	1	0	1	3	15	7,20	7,80	-	-	139,1	202
80	0	0	1	0	5	30	7,20	7,80	-	-	139,1	200
160	1	5	5	4	15	75	7,20	7,74	-	-	139,1	187,8

CE(I)50; 48h = 122,56 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 105,47 – 142,41

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com Cromo utilizando como organismo-teste *Daphnia similis*

TABELA 80 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 03/12/2002 11:00 horas

Término: 05/12/2002 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
03/12/02	7,60	211	42								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,67	-	-	211	169,3
20	0	0	1	1	6	7,60	7,71	-	-	211	169,3
40	3	1	2	6	40	7,60	7,63	-	-	211	168,9
50	5	4	4	13	86	7,60	7,64	-	-	211	169,5
60	5	5	5	15	100	7,60	7,64	-	-	211	169,4
80	5	5	5	15	100	7,60	7,67	-	-	211	168,1

CE(I)50; 48h = 37,95 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 32,74 – 44,00

TABELA 81 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em segundo teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 29/01/2003 14:15 horas

Término: 31/01/2003 14:15 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
29/01/03	7,23	-	48								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	f	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	1	0	0	1	6	7,23	7,40	-	7,93	-	-
20	0	2	2	4	26	7,23	7,28	-	7,57	-	-
40	4	5	5	13	86	7,23	7,26	-	-	-	-
60	5	4	5	14	93	7,23	7,20	-	-	-	-
80	5	5	4	14	93	7,23	7,42	-	7,30	-	-
160	5	5	5	15	100	7,23	7,43	-	-	-	-

CE(I)50; 48h = 26,19 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 20,19 – 33,97

TABELA 82 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 29/04/2003 11:35 horas

Término: 01/05/2003 11:35 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
29/04/03	7,60	153,7	42								
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	1	1	6	7,60	7,64	-	-	153,7	195,2
20	1	3	3	7	46	7,60	7,72	-	-	153,7	184,7
40	4	3	5	12	80	7,60	7,78	-	-	153,7	-
60	5	5	4	14	93	7,60	7,78	-	-	153,7	143,7
80	5	5	5	15	100	7,60	7,73	-	-	153,7	367,8
160	5	5	5	15	100	7,60	7,75	-	-	153,7	135,1

CE(I)50; 48h = 21,43 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 9,45 – 48,60

TABELA 83 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quarto teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 03/06/2003 10:10 horas

Término: 05/06/2003 10:10 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
02/06/03	7,30	131,5	42								
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	1	0	1	6	7,30	7,60	-	-	131,5	136,6
20	0	0	0	0	0	7,30	7,48	-	-	131,5	136,4
40	0	1	1	15	100	7,30	7,52	-	-	131,5	134,2
60	5	5	5	15	100	7,30	7,56	-	-	131,5	134,8
80	5	5	5	15	100	7,30	7,42	-	-	131,5	133,1
160	5	5	5	15	100	7,30	7,43	-	-	131,5	141,3

CE(I)50; 48h = 28,28 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 24,41 – 32,77

TABELA 84 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quinto teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 14/06/2003 10:00 horas

Término: 16/06/2003 10:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
14/06/03	7,60	171,3	42								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	1	0	0	1	6	7,60	7,56	-	-	171,3	173,0
20	0	2	1	3	20	7,60	7,44	-	-	171,3	165,6
40	1	4	2	7	46	7,60	7,49	-	-	171,3	170,3
60	5	5	5	15	100	7,60	7,57	-	-	171,3	164,8
80	5	5	5	15	100	7,60	7,48	-	-	171,3	170,8
160	5	5	5	15	100	7,60	7,52	-	-	171,3	168,1

CE(I)50; 48h = 36,79 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 28,55 – 47,70

TABELA 85 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em sexto teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 04/08/2003 11:00 horas

Término: 06/08/2003 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
04/08/03	7,30	171,3	42								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	6	7,30	7,36	-	-	171,3	173,0
20	0	1	2	3	20	7,30	7,59	-	-	171,3	165,6
40	5	3	3	11	73	7,30	7,56	-	-	171,3	170,3
60	5	5	5	15	100	7,30	7,51	-	-	171,3	164,8
80	5	5	5	15	100	7,30	7,53	-	-	171,3	170,8
160	5	5	5	15	100	7,30	7,58	-	-	171,3	168,1

CE(I)50; 48h = 29,56 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 24,10 – 36,26

TABELA 86 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em sétimo primeiro teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 11/08/2003 13:00 horas

Término: 13/08/2003 13:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal											
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de Potássio)											
11/08/03	7,60	171,3	48	Concentração ($\mu\text{g/L}$)		N ^o de organismos imóveis		Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
				Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f	
				1	2	3									
Controle				0	0	0	0	0	7,60	7,64	-	-	171,3	173,0	
20				3	4	1	8	53	7,60	7,58	-	-	171,3	165,6	
40				5	5	4	14	86	7,60	7,59	-	-	171,3	170,3	
60				5	5	5	15	100	7,60	7,57	-	-	171,3	164,8	
80				5	5	5	15	100	7,60	7,59	-	-	171,3	170,8	
160				5	5	5	15	100	7,60	7,54	-	-	171,3	168,1	

CE(I)50; 48h = 21,01 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 11,50 – 38,39

TABELA 87 - Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em oitavo teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 19/08/2003 11:00 horas

Término: 21/08/2003 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal											
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de Potássio)											
18/08/03	7,30	162,0	48	Concentração ($\mu\text{g/L}$)		N ^o de organismos imóveis		Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
				Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f	
				1	2	3									
Controle				0	1	0	1	6	7,30	7,57	-	-	162,0	181,9	
20				2	2	2	6	40	7,30	7,61	-	-	162,0	-	
40				5	5	5	15	100	7,30	7,54	-	-	162,0	179,8	
60				5	5	5	15	100	7,30	7,58	-	-	162,0	181,9	
80				5	5	5	15	100	7,30	7,54	-	-	162,0	-	
160				5	5	5	15	100	7,30	7,55	-	-	162,0	184,1	

CE(I)50; 48h = 22,45 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 20,00 – 40,00

TABELA 88 - Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em nono teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 07/09/2003 13:30 horas
Término: 09/09/2003 13:30 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de Potássio)								
05/09/03	7,45	162,0	48									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	1	0	1	6	7,45	7,58	-	-	162,0	181,9	
20	3	3	1	7	93	7,45	7,61	-	-	162,0	-	
40	5	5	4	14	100	7,45	7,54	-	-	162,0	179,8	
60	5	5	5	15	100	7,45	7,58	-	-	162,0	181,9	
80	5	5	5	15	100	7,45	7,54	-	-	162,0	-	
160	5	5	5	15	100	7,45	7,55	-	-	162,0	184,1	

CE(I)50; 48h = 21,01 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 11,50 – 38,39

TABELA 89 - Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 17/02/04 11:00 horas
Término: 19/02/04 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de Potássio)								
16/02/04	7,20	170,3	42									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	7,20	7,58	-	-	170,3	181,9	
20	2	0	1	0	3	15	7,20	7,61	-	-	170,3	-
40	2	5	4	5	17	100	7,20	7,54	-	-	170,3	179,8
60	5	5	5	5	20	100	7,20	7,58	-	-	170,3	181,9
80	5	5	5	5	20	100	7,20	7,54	-	-	170,3	-
160	5	5	5	5	20	100	7,20	7,55	-	-	170,3	184,1

CE(I)50; 48h = 29,10 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 25,39 – 33,35

TABELA 90 - Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo primeiro teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 15/09/2004 14:00 horas

Término: 17/09/2004 14:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de Potássio)								
10/09/04	7,58	122,4	42									
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	10	7,58	7,72	-	-	122,4	138,7	
10	0	0	0	0	20	7,58	7,70	-	-	122,4	136,6	
20	1	1	2	1	5	7,58	7,72	-	-	122,4	136,0	
40	5	5	4	5	19	7,58	7,68	-	-	122,4	135,9	
80	5	5	5	5	20	7,58	7,66	-	-	122,4	134,0	
160	5	5	5	5	20	7,58	7,60	-	-	122,4	132,4	

CE(I)50; 48h = 23,78 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 20,32 – 27,71

TABELA 91 - Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo segundo teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 05/10/2004 11:00 horas

Término: 07/10/04 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	PH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de Potássio)								
05/10/04	7,20	170,3	42									
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	7,20	7,58	-	-	170,3	181,9	
20	2	0	1	0	3	7,20	7,61	-	-	170,3	-	
40	2	5	4	5	17	7,20	7,54	-	-	170,3	179,8	
60	5	5	5	5	20	7,20	7,58	-	-	170,3	181,9	
80	5	5	5	5	20	7,20	7,54	-	-	170,3	-	
160	5	5	5	5	20	7,20	7,55	-	-	170,3	184,1	

CE(I)50; 48h = 29,10 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 25,39 – 33,35

TABELA 92 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em décimo terceiro teste de toxicidade aguda com Cromo ,valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 16/11/2004 10:00 horas

Término: 18/11/2004 10:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de Potássio)								
11/11/04	7,51	145,5	42									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	1	1	2	10	7,51	7,70	-	-	145,5	151,2
10	0	0	0	0	0	0	7,51	7,72	-	-	145,5	147,0
20	2	1	2	3	8	40	7,51	7,70	-	-	145,5	145,7
40	5	5	5	5	20	100	7,51	7,72	-	-	145,5	147,0
80	5	5	5	5	20	100	7,51	7,68	-	-	145,5	147,5
160	5	5	5	5	20	100	7,51	7,65	-	-	145,5	148,6

CE(I)50; 48h = 21,43 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 18,42 – 23,80

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com Cromo utilizando como organismo-teste *Daphnia silimis* expostos a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum*

TABELA 93 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 03/12/2002 11:00 horas

Término: 05/12/2002 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
03/12/02	7,60	211	42								
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,80	-	-	211	204
20	0	0	0	0	0	7,60	7,84	-	-	211	196
40	0	0	1	1	6	7,60	7,80	-	-	211	198
50	2	2	2	6	40	7,60	7,80	-	-	211	200
60	3	2	4	10	66	7,60	7,87	-	-	211	200
80	5	5	5	15	100	7,60	7,83	-	-	211	202

CE(I)50; 48h = 53,81 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 48,78 – 59,37

TABELA 94 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em segundo teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 29/01/03 13:00 horas

Término: 31/01/03 13:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
29/01/03	7,23	-	48								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,23	7,20	-	-	-	204
20	1	2	4	7	47	7,23	7,24	-	-	-	196
40	5	0	5	10	67	7,23	7,20	-	-	-	198
60	5	5	5	15	100	7,23	7,20	-	-	-	200
80	5	5	5	15	100	7,23	7,27	-	-	-	200
160	5	5	5	15	100	7,23	7,23	-	-	-	202

CE(I)50; 48h = 22,45 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 6,31 – 79,89

TABELA 95 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 29/04/2003 11:55 horas

Término: 01/05/2003 11:55 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
29/04/03	7,60	153,7	42								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,75	-	-	153,7	209,0
20	1	3	3	7	46	7,60	7,74	-	-	153,7	139,0
40	4	3	5	12	80	7,60	7,63	-	-	153,7	182,3
60	5	5	4	14	93	7,60	7,71	-	-	153,7	-
80	5	5	5	15	100	7,60	7,75	-	-	153,7	197,3
160	5	5	5	15	100	7,60	7,76	-	-	153,7	180,7

CE(I)50; 48h = 22,78 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 14,71 – 35,27

TABELA 96 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quarto teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 03/06/03 10:40 horas

Término: 05/06/03 10:40 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
02/06/03	7,30	131,5	42								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	1	0	1	6	7,30	7,36	-	-	131,5	139,4
20	1	1	0	2	13	7,30	7,42	-	-	131,5	132,1
40	4	4	5	13	86	7,30	7,52	-	-	131,5	137,9
60	5	5	5	15	100	7,30	7,46	-	-	131,5	136,4
80	5	5	5	15	100	7,30	7,52	-	-	131,5	135,3
160	5	5	5	15	100	7,30	7,54	-	-	131,5	138,6

CE(I)50; 48h = 28,28 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 24,41 – 32,77

TABELA 97 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quinto teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 14/06/2003 10:20 horas

Término: 16/06/2003 10:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
14/06/03	7,60	171,3	42								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,58	-	-	171,3	163,3
20	1	4	2	7	46	7,60	7,45	-	-	171,3	169,1
40	4	4	3	11	73	7,60	7,58	-	-	171,3	165,3
60	4	5	5	14	93	7,60	7,60	-	-	171,3	163,8
80	5	5	5	15	100	7,60	7,60	-	-	171,3	171,5
160	5	5	5	15	100	7,60	7,60	-	-	171,3	161,7

CE(I)50; 48h = 22,77 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 14,71 – 35,27

TABELA 98 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em sexto teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início 11/08/03 14:10 horas

Término: 13/08/03 14:10 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
11/08/03	7,60	171,3	48								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	1	0	1	6	7,60	7,52	-	-	171,3	154,7
20	4	1	3	8	46	7,60	7,56	-	-	171,3	-
40	5	4	5	14	96	7,60	7,53	-	-	171,3	160,2
60	5	5	5	15	100	7,60	7,48	-	-	171,3	-
80	5	5	5	15	100	7,60	7,48	-	-	171,3	155,6
160	5	5	5	15	100	7,60	7,51	-	-	171,3	-

CE(I)50; 48h = 21,01 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 11,50 – 38,39

TABELA 99– Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em sétimo teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 07/09/03 14:15 horas

Término: 09/09/03 14:15 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
05/09/03	7,45	162,0	48								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	1	0	0	1	6	7,45	7,51	-	-	162,0	212,0
20	1	0	1	2	53	7,45	7,52	-	-	162,0	224
40	4	1	2	7	86	7,45	7,54	-	-	162,0	-
60	4	5	5	14	100	7,45	7,54	-	-	162,0	233
80	5	5	5	15	100	7,45	7,56	-	-	162,0	220
160	5	5	5	15	100	7,45	7,55	-	-	162,0	228

CE(I)50; 48h = 37,58 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 30,44 – 46,36

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com Cromo utilizando como organismo-teste *Daphnia similis* expostos a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum*

TABELA 100 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 03/12/2002 11:00 horas				Término: 05/12/2002 11:00 horas								
Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)								
03/12/02	7,56	195	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,56	7,60	-	-	195,0	174,1
20	0	1	0	0	1	5	7,56	7,50	-	-	195,0	-
40	1	2	2	2	7	35	7,56	7,62	-	-	195,0	180,8
60	2	3	4	3	12	60	7,56	7,58	-	-	195,0	185,5
80	2	3	2	5	12	60	7,56	7,77	-	-	195,0	-
160	20	20	20	20	20	100	7,56	7,74	-	-	195,0	186,9

CE(I)50; 48h = 55,54 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 45,54 – 67,47

TABELA 101 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em segundo teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 29/01/03 11:00 horas				Término: 31/01/03 11:00 horas								
Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)								
29/01/03	7,23	-	48									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,23	7,54	-	-	-	178,6
20	0	1	0	0	1	5	7,23	7,50	-	-	-	172,6
40	1	2	2	2	9	45	7,23	7,60	-	-	-	171,0
60	2	3	4	3	12	60	7,23	7,55	-	-	-	171,2
80	2	3	2	5	14	70	7,23	7,50	-	-	-	174,1
160	20	20	20	20	20	100	7,23	7,56	-	-	-	175,1

CE(I)50; 48h = 49,52 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 40,62 – 60,33

TABELA 102 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 03/06/03 11:00 horas

Término: 05/06/03 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de potássio)							
02/06/03	7,30	131,5	42								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,30	7,30	-	-	131,5	154,7
20	3	0	1	4	26	7,30	7,50	-	-	131,5	140,0
40	4	5	5	14	96	7,30	7,42	-	-	131,5	160,2
60	5	5	5	15	100	7,30	7,48	-	-	131,5	150,0
80	5	5	5	15	100	7,30	7,47	-	-	131,5	155,6
160	5	5	5	15	100	7,30	7,44	-	-	131,5	140,0

CE(I)50; 48h = 33,40 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 25,80 – 43,23

TABELA 103 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quarto teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 14/06/2003 10:20 horas

Término: 16/06/2003 10:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
14/06/03	7,60	171,3	42								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,58	-	-	171,3	163,3
20	1	4	2	7	46	7,60	7,45	-	-	171,3	169,1
40	4	4	3	11	73	7,60	7,58	-	-	171,3	165,3
60	4	5	5	14	93	7,60	7,60	-	-	171,3	163,8
80	5	5	5	15	100	7,60	7,60	-	-	171,3	171,5
160	5	5	5	15	100	7,60	7,68	-	-	171,3	161,7

CE(I)50; 48h = 21,81 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 8,05 – 59,07

TABELA 104 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quinto teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 04/08/2003 13:30 horas

Término: 06/08/2003 13:30 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
04/08/03	7,30	171,3	42								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	1	0	0	1	6	7,30	7,52	-	-	171,3	212
20	1	0	2	3	20	7,30	7,57	-	-	171,3	224
40	4	2	3	9	60	7,30	7,55	-	-	171,3	-
60	4	5	4	13	86	7,30	7,65	-	-	171,3	233
80	5	5	5	15	100	7,30	7,63	-	-	171,3	220
160	5	5	5	15	100	7,30	7,58	-	-	171,3	228

CE(I)50; 48h = 35,99 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 27,02 – 47,97

TABELA 105 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em sexto teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 19/08/2003 13:00 horas

Término: 21/08/2003 13:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)							
18/08/03	7,30	162,0	48								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,30	7,36	-	-	162,0	-
20	3	0	1	4	20	7,30	7,59	-	-	162,0	-
40	3	3	3	14	73	7,30	7,56	-	-	162,0	-
60	5	5	5	15	66	7,30	7,51	-	-	162,0	-
80	5	5	5	15	100	7,30	7,53	-	-	162,0	-
160	5	5	5	15	100	7,30	7,58	-	-	162,0	-

CE(I)50; 48h = 25,49 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 20,01 – 32,14

TABELA 106 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em sétimo teste de toxicidade aguda com Cromo exposta a uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 17/02/04 11:15 horas

Término: 19/02/04 11:15 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal											
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)											
20/04/04	7,20	170,3	42	Concentração (μ g/L)		N ^o de organismos imóveis		Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
				Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
				1	2	3	4								
Controle				0	0	0	0	0	0	7,20	7,58	-	-	170,3	183,5
20				0	0	1	1	1	6	7,20	7,45	-	-	170,3	173,2
40				3	3	3	3	9	60	7,20	7,54	-	-	170,3	165,2
60				5	2	3	3	10	66	7,20	7,52	-	-	170,3	292,0
80				3	4	4	4	11	73	7,20	7,52	-	-	170,3	167,8
160				5	5	5	5	15	100	7,20	7,54	-	-	170,3	171,3

CE(I)50; 48h = 42,66 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 33,88 – 53,72

Resultados e Análise Estatística dos Testes de toxicidade aguda com Cromo utilizando como organismo-teste *Daphnia similis* exposta a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa*

TABELA 107 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cromo expostas a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa*, valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 17/02/2004 15:00 horas

Término: 19/02/2004 15:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal											
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)											
16/02/04	7,20	122,4	42	Concentração (μ g/L)		N ^o de organismos imóveis		Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
				Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
				1	2	3	4								
Controle				1	0	0	1	2	10	7,20	7,72	-	-	122,4	138,7
10				1	0	0	0	1	5	7,20	7,70	-	-	122,4	136,6
20				5	3	3	2	13	65	7,20	7,72	-	-	122,4	136,0
40				5	5	5	5	20	100	7,20	7,68	-	-	122,4	135,9
80				5	5	5	5	20	100	7,20	7,66	-	-	122,4	134,0
160				5	5	5	5	20	100	7,20	7,60	-	-	122,4	132,4

CE(I)50; 48h = 17,53 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 14,83 – 20,71

TABELA 108– Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em segundo teste de toxicidade aguda com Cromo expostas a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa*, valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)								
10/09/04	7,58	122,4	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	1	1	0	0	2	10	7,66	7,68	-	-	155,0	166,7
10	0	0	3	2	5	25	7,66	7,72	-	-	155,0	161,3
20	3	3	3	3	12	60	7,66	7,62	-	-	155,0	160,8
40	5	5	5	5	20	100	7,66	7,72	-	-	155,0	159,4
80	5	5	0	5	15	75	7,66	7,79	-	-	155,0	162,8
160	5	5	5	5	20	100	7,66	7,72	-	-	155,0	161,6

CE(I)50; 48h = 16,61 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 12,24 – 22,53

TABELA 109– Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cromo expostas a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa*, valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)								
05/10/04	7,20	170,3	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,20	7,72	-	-	170,3	146,7
10	1	2	0	2	5	25	7,20	7,70	-	-	170,3	149,7
20	3	4	4	2	13	75	7,20	7,74	-	-	170,3	147,7
40	5	5	4	5	19	95	7,20	7,78	-	-	170,3	148,8
80	5	5	5	5	20	100	7,20	7,76	-	-	170,3	149,9
160	5	5	5	5	20	100	7,20	7,76	-	-	170,3	148,7

CE(I)50; 48h = 15,51 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 11,28 – 20,25

TABELA 110 – Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quarto teste de toxicidade aguda com Cromo expostas a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa*, valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 16/11/2004 10:20 horas

Término: 18/11/2004 10:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)								
11/11/04	7,51	145,5	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	1	0	0	1	5	7,51	7,68	-	-	145,5	150,7
10	1	2	1	2	6	30	7,51	7,72	-	-	145,5	146,1
20	4	3	3	5	15	75	7,51	7,72	-	-	145,5	149,7
40	4	5	5	5	19	95	7,51	7,75	-	-	145,5	149,4
80	5	5	5	5	20	100	7,51	7,73	-	-	145,5	146,9
160	5	5	5	5	20	100	7,51	7,90	-	-	145,5	146,5

CE(I)50; 48h = 13,61 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 10,04 – 18,44

TABELA 111– Porcentagem de imobilidade de *Daphnia similis* em quinto teste de toxicidade aguda com Cromo expostas a uma densidade de 10^5 células/mL de *Microcystis aeruginosa*, valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 18/11/2004 10:00 horas

Término: 20/11/2004 10:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cromo (Dicromato de Potássio)								
11/11/04	7,51	145,5	42									
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	1	0	2	10	7,51	7,70	-	-	145,5	148,9
10	0	0	2	1	3	30	7,51	7,69	-	-	145,5	149,1
20	3	4	2	1	10	50	7,51	7,68	-	-	145,5	150,6
40	5	5	5	5	20	100	7,51	7,60	-	-	145,5	148,7
80	5	5	5	5	20	100	7,51	7,66	-	-	145,5	151,5
160	5	5	5	5	20	100	7,51	7,76	-	-	145,5	149,9

CE(I)50; 48h = 18,99 μ g/L

Intervalo de confiança 95%: 15,15 - 23,89

ANEXO C – Resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda e crônica com *Ceriodaphnia dubia* aos metais

TABELA 112 – Valores de CE(I)50;48h ao cloreto de sódio obtidos em teste de sensibilidade a *Ceriodaphnia dubia* entre os anos de 2002 e 2004

Ano/mês	CE(I)50;48h (g/L) (Intervalo de confiança)
2002/10	1,59 (1,38 – 1,23)
2002/11	1,90 (1,85 – 1,96)
2002/12	1,52 (1,35 – 1,72)
2003/01	1,73 (1,60 – 1,87)
2003/02	1,79 (1,54 – 2,05)
2003/03	1,54 (1,37 – 1,74)
2003/04	1,66 (1,52 – 1,82)
2003/05	1,59 (1,38 – 1,83)
2003/06	1,47 (1,35 – 1,62)
2003/07	1,89 (1,78 – 2,02)
2003/08	1,90 (1,76 – 2,08)
2003/09	1,32 (1,14 – 1,52)
2003/10	1,90 (1,85 – 1,96)
2003/11	1,41 (1,29 – 1,55)
2003/12	1,60 (1,48 – 1,73)
2004/01	1,42 (1,31 – 1,55)
2004/02	1,64 (1,54 – 1,76)
2004/03	1,73 (1,64 – 1,83)
2004/04	1,38 (1,28 – 1,51)
2004/05	1,66 (1,57 – 1,77)
2004/06	-
2004/07	1,79 (1,69 – 1,91)
2004/08	1,54 (1,45 – 1,64)
2004/09	1,54 (1,45 – 1,64)
2004/10	1,42 (1,29 – 1,55)
2004/11	1,67 (1,57 – 1,85)
Média	1,61
Faixa de sensibilidade	1,26 – 1,96
Coefficiente de variação	10,90
Desvio padrão	0,18

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com cádmio utilizando como organismo-teste *Ceriodaphnia dubia*

TABELA 113 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 18/12/2002 10:40 horas

Término: 20/12/2002 10:40 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	PH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
17/12/02	7,34	145,6	46								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,34	7,91	-	-	145,6	152,3
10	0	0	1	1	6	7,34	7,73	-	-	145,6	147,9
20	0	0	0	0	0	7,34	7,74	-	-	145,6	148,9
40	3	2	1	6	25	7,34	7,62	-	-	145,6	146,9
80	3	3	3	9	100	7,34	7,61	-	-	145,6	145,7
160	3	3	3	9	100	7,34	7,66	-	-	145,6	143,5

CE(I)50; 48h = 34,50 μ g/L

Limite de confiança 95%: 26,90 – 44,25

TABELA 114 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em segundo teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 14/01/2003 11:00 horas

Término: 16/01/2003 11:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond (μ S/cm)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
14/01/03	7,61	136,80	44								
Concentração (μ g/L)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade (μ S/cm)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,61	7,60	-	-	136,8	138,1
10	2	0	0	2	13	7,61	7,58	-	-	136,8	137,2
20	1	1	0	2	13	7,61	7,53	-	-	136,8	137,8
40	2	0	2	4	13	7,61	7,61	-	-	136,8	139,2
80	3	4	4	7	46	7,61	7,63	-	-	136,8	137,8
160	5	5	5	15	100	7,61	7,60	-	-	136,8	136,7

CE(I)50; 48h = 54,81 μ g/L

Limite de confiança 95%: 40,67 – 73,89

TABELA 115 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 22/01/2003 10:00 horas

Término: 24/01/2003 10:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
22/01/03	7,24	178,0	42								
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	1	0	1	0	7,24	7,57	-	-	178,0	171,6
10	0	0	0	0	0	7,24	7,72	-	-	178,0	176,5
20	0	1	0	1	6	7,24	7,51	-	-	178,0	176,3
40	2	2	1	5	26	7,24	7,76	-	-	178,0	172,8
80	3	4	3	10	66	7,24	7,33	-	-	178,0	180,1
160	5	5	5	15	100	7,24	7,33	-	-	178,0	133,4

CE(I)50; 48h = 54,01 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 41,87 – 69,69

TABELA 116 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em quarto teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 28/01/2003 10:55 horas

Término: 30/01/2003 10:55 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
28/01/03	7,23	136,80	48								
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	1	0	1	0	7,23	7,38	-	9,29	136,8	-
10	0	0	0	0	0	7,23	7,59	-	9,72	136,8	-
20	0	1	0	1	6	7,23	7,80	-	9,59	136,8	-
40	1	0	1	2	13	7,23	7,89	-	9,46	136,8	-
80	2	3	5	10	66	7,23	7,53	-	9,13	136,8	-
160	5	5	5	15	100	7,23	7,98	-	9,07	136,8	-

CE(I)50; 48h = 64,98 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 50,99 – 82,81

TABELA 117 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em quinto teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 04/02/2003 10:35 horas

Término: 06/02/2003 10:35 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
04/02/03	7,49	149,0	42									
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	7,49	7,52	-	5,26	149,0	192,0	
10	0	0	0	0	0	7,49	7,45	-	6,38	149,0	183,0	
20	0	0	0	0	0	7,49	7,71	-	-	149,0	177,0	
40	2	2	0	4	26	7,49	7,52	-	6,55	149,0	178,0	
80	4	4	4	12	80	7,49	7,56	-	-	149,0	180,7	
160	5	5	5	15	100	7,49	7,46	-	5,79	149,0	176,2	

CE(I)50; 48h = 54,01 $\mu\text{g}/\text{L}$

Limite de confiança 95%: 43,63 – 67,87

TABELA 118 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em sexto teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 25/02/2003 11:30 horas

Término: 27/02/2003 11:30 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
20/02/03	7,52	145,8	42									
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	7,52	7,64	-	-	145,8	160,8	
10	0	0	0	0	0	7,52	-	-	-	145,8	-	
20	0	0	0	0	0	7,52	7,53	-	-	145,8	138,1	
40	0	0	0	0	0	7,52	-	-	-	145,8	-	
80	2	2	3	2	9	7,52	7,53	-	-	145,8	166,9	
160	5	5	5	5	15	7,52	7,58	-	-	145,8	168,9	

CE(I)50; 48h = 82,82 $\mu\text{g}/\text{L}$

Limite de confiança 95%: 70,89 – 96,63

TABELA 119 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em sétimo teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 22/04/2003 10:15 horas

Término: 24/04/2003 10:15 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
20/04/03	7,46	175,0	44								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	1	0	0	7,46	7,72	-	-	175,0	170,1
10	0	0	0	0	0	7,46	7,68	-	-	175,0	143,8
20	0	0	0	0	0	7,46	7,86	-	-	175,0	134,9
40	1	3	2	6	40	7,46	7,70	-	-	175,0	139,4
80	2	5	5	12	80	7,46	7,71	-	-	175,0	136,2
160	5	5	5	15	100	7,46	7,79	-	-	175,0	113,5

CE(I)50; 48h = 49,24 $\mu\text{g}/\text{L}$

Limite de confiança 95%: 39,27 – 61,76

TABELA 120 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em oitavo teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 20/05/03 10:20 horas

Término: 22/05/2003 10:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
18/05/03	7,60	160,0	44								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,63	-	-	160,0	179,1
10	0	0	0	0	0	7,60	7,62	-	-	160,0	165,3
20	0	0	0	0	0	7,60	7,62	-	-	160,0	171,1
40	0	2	0	2	13	7,60	7,56	-	-	160,0	177,4
80	4	2	2	8	53	7,60	7,62	-	-	160,0	179,0
160	5	5	5	15	100	7,60	7,55	-	-	160,0	170,8

CE(I)50; 48h = 71,27 $\mu\text{g}/\text{L}$

Limite de confiança 95%: 57,42 – 88,46

TABELA 121 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em nono segundo teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 09/09/2003 11:30 horas

Término: 11/09/2003 11:30horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
09/09/03	7,60	175,0	48									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,35	-	-	175,0	158,6	
10	0	0	0	0	0	7,60	7,48	-	-	175,0	-	
20	0	1	1	2	13	7,60	7,49	-	-	175,0	-	
40	1	0	1	1	6	7,60	7,50	-	-	175,0	164,1	
80	3	2	4	9	60	7,60	7,49	-	-	175,0	157,4	
160	5	5	5	15	100	7,60	7,49	-	-	175,0	161,6	

CE(I)50; 48h = 64,98 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 51,33 – 81,95

TABELA 122 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em décimo teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 25/11/2003 10:15 horas

Término: 27/11/2003 10:15horas

Água de cultivo ou diluição					Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)		Cádmio (Nitrato de Cádmio)							
23/11/03	7,60	186,1	48									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,60	7,68	-	-	186,1	187,4
10	0	0	0	0	0	0	7,60	7,68	-	-	186,1	186,2
20	0	0	0	0	0	0	7,60	7,68	-	-	186,1	-
40	1	0	1	0	2	10	7,60	7,76	-	-	186,1	188,50
80	3	4	4	4	15	75	7,60	7,72	-	-	186,1	185,9
160	5	5	5	5	20	100	7,60	7,78	-	-	186,1	185,4

CE(I)50; 48h = 62,77 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 53,31 – 73,90

TABELA 123 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em décimo primeiro teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 21/01/2004 13:20horas

Término: 23/01/2004 13:20horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
21/01/04	7,60	171,7	42									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,60	7,53	-	-	171,7	174,1
10	0	0	0	0	0	0	7,60	7,48	-	-	171,7	170,5
20	0	0	0	0	0	0	7,60	7,48	-	-	171,7	171,7
40	1	1	1	1	4	20	7,60	7,49	-	-	171,7	169,6
80	2	3	2	2	9	45	7,60	7,48	-	-	171,7	170,2
160	5	5	5	5	20	100	7,60	7,49	-	-	171,7	167,1

CE(I)50; 48h = 72,10 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 59,16 – 87,88

TABELA 124 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em décimo segundo teste de toxicidade aguda com Cádmio e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 06/04/2004 10:00horas

Término: 08/04/2004 10:00horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cádmio (Nitrato de Cádmio)								
04/04/04	7,60	163,6	44									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	0	7,60	7,50	-	6,8	163,6	169,1
10	0	0	0	0	0	0	7,60	7,52	-	6,8	163,6	162,5
20	0	0	0	0	0	0	7,60	7,52	-	6,7	163,6	161,7
40	1	2	1	0	4	20	7,60	7,56	-	6,8	163,6	163,3
80	5	4	4	5	18	90	7,60	7,56	-	7,0	163,6	162,8
160	5	5	5	5	20	100	7,60	7,60	-	6,9	163,6	160,0

CE(I)50; 48h = 52,78 $\mu\text{g/L}$

Limite de confiança 95%: 45,20 – 61,63

Resultados e análise estatística dos testes de toxicidade aguda com cromo utilizando como organismo-teste *Ceriodaphnia dubia*

TABELA 125 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em primeiro teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 29/01/2003 11:05 horas

Término: 31/01/2003 11:05 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de potássio)							
28/01/03	7,23	-	48								
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	1	0	0	1	6	7,23	7,29	-	7,66	-	-
20	1	1	0	2	13	7,23	7,32	-	7,32	-	-
40	1	0	0	1	6	7,23	7,23	-	7,23	-	-
60	1	1	2	4	26	7,23	7,25	-	7,25	-	-
80	4	2	2	8	53	7,23	7,29	-	7,29	-	-
160	5	5	5	15	100	7,23	7,22	-	7,22	-	-

CE(I)50; 48h = 78,00 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 64,75 – 93,97

TABELA 126– Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em segundo teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 18/03/2003 10:50 horas

Término: 20/03/2003 10:50 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de potássio)							
18/03/03	7,56	153,7	42								
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,56	7,78	-	-	153,7	155,4
20	0	0	0	0	0	7,56	7,90	-	-	153,7	107,7
40	0	1	0	1	6	7,56	7,79	-	-	153,7	144,6
80	1	1	0	2	13	7,56	7,78	-	-	153,7	128,6
160	5	4	5	14	96	7,56	7,60	-	-	153,7	174,3
320	5	5	5	15	100	7,56	7,73	-	-	153,7	155,0

CE(I)50; 48h = 108,03 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 92,89 – 125,03

TABELA 127 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em terceiro teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 15/04/2003 10:30 horas

Término: 17/04/2003 10:30 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de potássio)							
15/04/03	7,51	104,5	42								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,51	7,29	-	-	104,5	135,4
20	0	0	0	0	0	7,51	7,32	-	-	104,5	102,7
40	1	0	0	1	6	7,51	7,23	-	-	104,5	139,2
80	4	5	5	14	96	7,51	7,25	-	-	104,5	149,3
160	5	5	5	15	100	7,51	7,29	-	-	104,5	101,2
320	5	5	5	15	100	7,51	7,22	-	-	104,5	131,0

CE(I)50; 48h = 56,57 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 49,86 – 64,18

TABELA 128 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em quarto teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 29/04/2003 11:35 horas

Término: 01/05/2003 11:35 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de potássio)							
25/04/03	7,60	450	42								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	1	1	0	7,60	7,64	-	-	153,7	182,2
20	0	1	1	2	13	7,60	7,72	-	-	153,7	225,0
40	3	0	1	4	33	7,60	7,78	-	-	153,7	178,3
80	3	5	3	11	73	7,60	7,78	-	-	153,7	192,8
160	5	5	5	15	100	7,60	7,73	-	-	153,7	-
320	5	5	5	15	100	7,60	7,75	-	-	153,7	185,6

CE(I)50; 48h = 54,81 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 40,67 – 73,

TABELA 129 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em quinto teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 27/05/2003 11:30 horas

Término: 29/05/2003 11:30 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de potássio)							
22/04/03	7,30	150,7	48								
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	0	0	0	0	7,30	7,48	-	-	150,7	120,7
20	0	0	0	0	0	7,30	7,54	-	-	150,7	126,4
40	0	0	1	1	6	7,30	7,52	-	-	150,7	133,6
80	1	1	1	3	20	7,30	7,53	-	-	150,7	132,5
160	5	5	5	15	100	7,30	7,48	-	-	150,7	127,8
320	5	5	5	15	100	7,30	7,33	-	-	150,7	132,1

CE(I)50; 48h = 94,04 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 79,44 – 111,33

TABELA 130 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em sexto teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 03/06/2003 11:10 horas

Término: 05/06/2003 11:10 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de potássio)							
02/06/03	7,30	131,5	42								
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	0	1	0	1	6	7,30	7,48	-	-	131,5	120,7
20	0	0	0	0	0	7,30	7,54	-	-	131,5	126,4
40	0	0	0	0	0	7,30	7,52	-	-	131,5	133,6
80	3	4	5	12	80	7,30	7,53	-	-	131,5	132,5
160	5	5	5	15	100	7,30	7,48	-	-	131,5	127,8
320	5	5	5	15	100	7,30	7,33	-	-	131,5	132,1

CE(I)50; 48h = 64,98 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 56,31 – 74,98

TABELA 131 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em sétimo teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 14/06/2003 10:00 horas

Término: 16/06/2003 10:00 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de potássio)								
13/06/03	7,60	171,3	42									
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	0	0	0	0	0	7,60	7,49	-	-	171,3	164,6	
20	0	1	0	0	1	5	7,60	7,60	-	-	171,3	171,8
40	0	0	1	0	1	5	7,60	7,55	-	-	171,3	167,0
80	0	1	1	1	3	66	7,60	7,53	-	-	171,3	165,4
160	5	5	5	5	20	100	7,60	7,68	-	-	171,3	162,3
320	5	5	5	5	20	100	7,60	7,57	-	-	171,3	170,5

CE(I)50; 48h = 102,87 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 90,48 – 116,96 -

TABELA 132 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em oitavo teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 29/07/2003 14:50 horas

Término: 31/07/2003 14:50 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de potássio)							
25/07/03	7,38	212	44								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	1	0	0	1	6	7,38	7,49	-	-	212	164,6
20	1	0	0	1	1	7,38	7,60	-	-	212	171,8
40	1	2	1	4	26	7,38	7,55	-	-	212	167,0
80	1	3	1	5	33	7,38	7,53	-	-	212	165,4
160	5	5	5	15	100	7,38	7,68	-	-	212	162,3
320	1	1	1	15	100	7,38	7,57	-	-	212	170,5

CE(I)50; 48h = 76,04 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 57,99 – 99,74

TABELA 133 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em nono teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 04/08/2003 10:35 horas

Término: 06/08/2003 10:35 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de potássio)							
04/08/03	7,30	171,3	42								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	1	0	0	1	6	7,30	7,56	-	-	171,3	173,0
20	1	1	2	3	20	7,30	7,54	-	-	171,3	165,6
40	1	3	3	7	46	7,30	7,56	-	-	171,3	170,3
80	5	3	1	9	60	7,30	7,56	-	-	171,3	164,8
160	5	4	4	13	100	7,30	7,52	-	-	171,3	170,8
320	5	5	5	15	100	7,30	7,54	-	-	171,3	168,1

CE(I)50; 48h = 48,76 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 28,61 – 83,11

TABELA 134 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em décimo teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas

Início: 19/08/2003 10:20 horas

Término: 21/08/2003 10:20 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal							
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Dureza ($\text{mg}/\text{L CaCO}_3$)	Cromo (Dicromato de potássio)							
18/08/03	7,47	162,0	44								
Concentração ($\mu\text{g}/\text{L}$)	N ^o de organismos imóveis			Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Réplicas			Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3								
Controle	1	0	0	1	6	7,30	7,56	-	-	162,0	184,4
20	0	0	0	0	0	7,30	7,61	-	-	162,0	178,4
40	1	2	2	5	33	7,30	7,50	-	-	162,0	178,3
80	5	5	5	15	100	7,30	7,52	-	-	162,0	181,4
160	5	5	5	15	100	7,30	7,57	-	-	162,0	181,9
320	5	5	5	15	100	7,30	7,62	-	-	162,0	178,8

CE(I)50; 48h = 44,90 $\mu\text{g}/\text{L}$

Intervalo de confiança 95%: 37,93 – 53,15

TABELA 135 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em décimo primeiro teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas físicas monitoradas

Início: 07/09/2003 14:10 horas

Término: 09/09/2003 14:10 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de potássio)								
07/09/03	7,45	170,3	48									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	1	0	0	1	6	7,45	7,56	-	-	162,0	159,7	
20	0	1	0	1	6	7,45	7,42	-	-	162,0	-	
40	2	2	2	5	33	7,45	7,46	-	-	162,0	156,9	
80	5	5	5	15	100	7,45	7,40	-	-	162,0	-	
160	5	5	5	15	100	7,45	7,50	-	-	162,0	155,8	
320	5	5	5	15	100	7,45	7,61	-	-	162,0	-	

CE(I)50; 48h = 44,62 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 36,52 – 54,52

TABELA 136 – Porcentagem de imobilidade de *Ceriodaphnia dubia* em décimo segundo teste de toxicidade aguda com Cromo e valor da CE(I)50; 48 horas e das variáveis químicas e físicas monitoradas físicas monitoradas

Início: 07/09/2003 14:10 horas

Término: 09/09/2003 14:10 horas

Água de cultivo ou diluição				Metal								
Lote	pH	Cond ($\mu\text{S/cm}$)	Dureza (mg/L CaCO_3)	Cromo (Dicromato de potássio)								
05/09/04	7,20	151,2	42									
Concentração ($\mu\text{g/L}$)	N ^o de organismos imóveis				Imobilidade		pH		OD (mg/L)		Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	
	Réplicas				Total	%	i	f	i	f	i	f
	1	2	3	4								
Controle	1	0	0	0	1	5	7,20	7,20	-	-	151,2	154,3
20	0	1	1	0	2	10	7,20	7,32	-	-	151,2	150,7
40	1	1	2	1	5	25	7,20	7,46	-	-	151,2	149,1
80	4	4	3	5	16	80	7,20	7,40	-	-	151,2	151,5
160	5	5	5	5	20	100	7,20	7,50	-	-	151,2	150,9
320	5	5	5	5	20	100	7,20	7,50	-	-	151,2	152,0

CE(I)50; 48h = 53,65 $\mu\text{g/L}$

Intervalo de confiança 95%: 25,39 – 33,35

Resultados dos testes de toxicidade crônica com cádmio utilizando como organismo-teste *Ceriodaphnia dubia* alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*

TABELA 137 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com cádmio sob uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 10/06/03 10:00horas. Término: 18/06/03 10:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	14,50	7,63	7,76	46	44	169,0	185,0
Controle (10 ⁶ céls/mL)	10	10	1	10	12,50	7,63	7,88	46	44	169,0	175,9
1,25µg/L	10	10	0	0	9,50	7,63	7,90	46	46	169,0	176,2
2,50µg/L	10	8	2	20	5,70	7,63	7,88	46	44	169,0	175,2
5,00µg/L	10	5	5	50	2,60*	7,63	7,82	46	46	169,0	172,7
10,00µg/L	10	0	10 ^o	100	2,70*	7,63	7,74	46	50	169,0	164,0
20,00µg/L	10	0	10 ^o	100	1,80*	7,63	7,60	46	52	169,0	173,0

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, p<0,05) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, p<0,05)

TABELA 138 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com cádmio sob uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 22/05/03 10:00horas. Término: 30/06/03 10:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,60	7,42	7,78	46	50	153,8	176,6
Controle (10 ⁵ céls/mL)	10	9	1	10	9,56	7,42	6,59	46	48	153,8	164,2
1,25µg/L	10	10	0	0	6,57	7,42	6,64	46	46	153,8	173,1
2,50µg/L	10	10	0	0	7,40	7,42	7,18	46	48	153,8	171,9
5,00µg/L	10	8	2	20	7,50	7,42	7,20	46	44	153,8	169,4
10,00µg/L	10	8	2	20	5,40	7,42	7,16	46	46	153,8	169,8
20,00µg/L	10	6	4	40	4,70*	7,42	6,93	46	46	153,8	171,0

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, p<0,05) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, p<0,05)

TABELA 139 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com cádmio sob uma densidade de 10^3 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 23/06/03 10:00horas. Término: 30/06/03 10:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,00	7,52	7,78	44	48	168,8	288,0
Controle (10 ⁵ céls/mL)	10	9	1	10	2,70	7,52	7,65	44	48	168,8	189,0
1,25µg/L	10	9	1	10	1,60	7,52	7,70	44	46	168,8	173,1
2,50µg/L	10	6	4	40	1,10	7,52	7,68	44	46	168,8	176,4
5,00µg/L	10	5	5	50	2,10	7,52	7,65	44	42	168,8	173,2
10,00µg/L	10	5	5	50	1,40	7,52	7,70	44	46	168,8	178,2
20,00µg/L	10	2	8*	80	0,1	7,52	7,73	44	46	168,8	173,6

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, p<0,05) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, p<0,05)

TABELA 140 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com cádmio sob uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 13/04/04 10:00horas. Término: 21/04/04 10:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	13,25	7,50	7,45	46	42	164,3	165,4
Controle (10 ⁶ céls/mL)	10	10	0	0	13,50	7,50	7,98	46	44	164,3	166,1
1,25µg/L	10	9	1	10	9,62	7,50	8,15	46	44	164,3	166,6
2,50µg/L	10	9	1	10	12,62	7,50	8,13	46	44	164,3	163,8
5,00µg/L	10	10	0	0	10,50	7,50	8,12	46	44	164,3	166,9
10,00µg/L	10	9	1	10	7,71	7,50	7,95	46	44	164,3	172,0
20,00µg/L	10	9	1	10	0,1*	7,50	7,98	46	44	164,3	169,6

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, p<0,05) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, p<0,05)

TABELA 141 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com cádmio sob uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 17/03/04 13:00horas. Término: 25/03/04 13:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº médio de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,00	7,62	7,32	42	42	156,3	161,5
Controle (10 ⁵ céls/mL)	10	10	0	0	7,40	7,62	7,40	42	42	156,3	157,4
1,25µg/L	10	10	0	0	6,60	7,62	7,45	42	44	156,3	163,4
2,50µg/L	10	10	0	0	6,20	7,62	7,47	42	44	156,3	163,6
5,00µg/L	10	7	3	30	2,20	7,62	7,50	42	44	156,3	162,9
10,00µg/L	10	8	2	20	2,70	7,62	7,47	42	44	156,3	157,3
20,00µg/L	10	0	10*	100	0,30*	7,62	7,56	42	44	156,3	155,0

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 142 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com cádmio sob uma densidade de 10^3 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 10/06/04 10:00horas. Término: 18/06/04 10:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,90	7,60	7,70	46	50	158,9	185,0
Controle (10 ⁵ céls/mL)	10	10	0	0	2,37	7,60	7,65	46	50	158,9	180,4
1,25µg/L	10	10	0	0	1,60	7,60	7,70	46	46	158,9	167,9
2,50µg/L	10	10	0	0	3,00	7,60	7,76	46	46	158,9	159,9
5,00µg/L	10	10	0	0	1,40	7,60	7,72	46	46	158,9	163,5
10,00µg/L	10	10	0	0	2,87	7,60	7,78	46	46	158,9	160,0
20,00µg/L	10	10	0	0	2,10	7,60	7,74	46	46	158,9	157,7

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

Resultados dos testes de toxicidade crônica com cromo utilizando como organismo-teste *Ceriodaphnia dubia* alimentada com diferentes densidades de *Selenastrum capricornutum*

TABELA 143 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com cromo sob uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 28/08/03 10:00 horas. Término: 05/09/03 10:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	F
Controle Laboratorial	10	10	0	0	13,40	7,41	7,52	46	46	110,0	167,4
Controle (10 ⁶ céls/mL)	10	9	1	10	9,75	7,41	7,54	46	46	110,0	160,0
2,50µg/L	10	10	0	0	10,86	7,42	7,41	46	46	110,0	160,0
5,00µg/L	10	9	1	10	7,86	7,41	7,44	46	46	110,0	162,4
10,00µg/L	10	9	1	10	3,86*	7,42	7,20	46	48	110,0	160,3
20,00µg/L	10	10	0	0	5,25	7,42	7,16	46	48	110,0	166,8
40,00µg/L	10	4	6 ^o	60	1,78*	7,42	6,93	46	52	110,0	169,4

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e ^odiferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 144 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com cromo sob uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 31/07/03 10:00horas. Término: 08/07/03 10:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	F
Controle Laboratorial	10	10	0	0	14,00	7,60	7,89	48	44	212,0	233,0
Controle (10 ⁵ céls/mL)	10	9	1	10	9,62	7,60	7,75	48	48	212,0	227,0
2,50µg/L	10	10	0	0	10,57	7,60	7,63	48	50	212,0	277,0
5,00µg/L	10	10	0	0	12,00	7,60	7,62	48	48	212,0	278,0
10,00µg/L	10	9	1	10	9,60	7,60	7,61	48	48	212,0	278,0
20,00µg/L	10	10	0	0	8,29	7,60	7,63	48	48	212,0	278,0
40,00µg/L	10	10	0	0	5,60*	7,60	7,64	48	50	212,0	277,0

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e ^odiferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 145 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com cromo sob uma densidade de 10^3 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 11/09/03 14:00horas. Término: 19/09/03 14:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	13,80	7,60	-	48	50	175,0	-
Controle (10 ³ céls/mL)	10	10	0	0	1,00	7,60	-	48	48	175,0	-
2,50µg/L	10	9	1	10	1,50	7,60	-	48	46	175,0	-
5,00µg/L	10	10	0	0	0,1	7,60	-	48	48	175,0	-
10,00µg/L	10	10	0	0	1	7,60	-	48	44	175,0	-
20,00µg/L	10	9	1	10	0,1	7,60	-	48	46	175,0	-
40,00µg/L	10	5	5 [°]	50	0,1	7,60	-	48	46	175,0	-

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 146 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com cromo sob uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 14/04/04 14:00horas. Término: 22/04/04 14:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	9	0	10	13,25	7,60	7,30	44	42	154,1	155,7
Controle (10 ⁶ céls/mL)	10	10	0	0	10,50	7,60	7,73	44	44	154,1	154,7
2,50µg/L	10	10	1	10	7,22	7,60	7,90	44	46	154,1	155,0
5,00µg/L	10	9	1	10	10,57	7,60	8,00	44	46	154,1	155,6
10,00µg/L	10	10	0	0	10,00	7,60	7,93	44	44	154,1	155,7
20,00µg/L	10	9	1	10	8,67	7,60	7,82	44	44	154,1	154,5
40,00µg/L	10	1	9 [°]	90	3,11*	7,60	7,82	44	44	154,1	153,1

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 147 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com cromo sob uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 27/04/04 11:00horas. Término: 05/06/04 11:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,75	7,50	7,62	48	40	176,2	156,5
Controle (10 ⁵ céls/mL)	10	9	1	10	8,17	7,50	7,58	48	40	176,2	153,4
2,50µg/L	10	10	0	0	6,67	7,50	7,52	48	44	176,2	156,0
5,00µg/L	10	10	0	0	8,67	7,50	7,56	48	44	176,2	157,1
10,00µg/L	10	10	0	0	4,57	7,50	7,58	48	44	176,2	154,3
20,00µg/L	10	9	1	10	4,25	7,50	7,50	48	44	176,2	155,5
40,00µg/L	10	80	2	20	3,00*	7,50	7,52	48	44	176,2	153,0

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 148 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com cromo sob uma densidade de 10^3 células/mL de *Selenastrum capricornutum*, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 28/05/04 09:00horas. Término: 07/06/04 09:00horas

Concentrações	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,90	7,58	7,40	48	42	165,7	138,5
Controle (10 ³ céls/mL)	10	8	2	20	3,80	7,58	7,43	48	42	165,7	136,5
2,50µg/L	10	10	0	0	3,89	7,58	7,62	48	50	165,7	174,9
5,00µg/L	10	10	0	0	4,67	7,58	7,62	48	48	165,7	175,3
10,00µg/L	10	8	2	20	3,10	7,58	7,56	48	48	165,7	175,1
20,00µg/L	10	10	0	0	5,12	7,58	7,62	48	48	165,7	178,3
40,00µg/L	10	8	5	50	3,44	7,58	7,58	48	48	165,7	168,4

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

Resultados dos testes de toxicidade crônica utilizando como organismo-teste *Ceriodaphnia dubia* alimentada com células de *Selenastrum capricornutum* expostas ao cádmio

TABELA 149 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cádmio, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 27/04/04 11:00horas. Término: 05/05/04 11:00horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,00	7,50	7,63	48	42	172,6	155,7
Controle (10 ⁶ céls/mL)	10	10	0	0	15,12	7,50	8,00	48	42	172,6	151,5
10,00µg/L	10	10	0	0	13,00	7,50	8,30	48	42	172,6	149,7
20,00µg/L	10	9	1	10	6,13 *	7,50	8,18	48	42	172,6	149,8
40,00µg/L	10	0	10 ^o	100	2,33 *	7,50	8,22	48	42	172,6	156,3

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e ^odiferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 150 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cádmio, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 02/12/03 14:00horas. Término: 10/12/03 14:00horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	15,67	7,38	7,56	42	48	144,0	178,1
Controle (10 ⁵ céls/mL)	10	10	0	0	13,83	7,38	7,73	42	48	144,0	175,2
10,00µg/L	10	10	0	0	9,17	7,38	7,78	42	48	144,0	172,3
20,00µg/L	10	9	1	10	7,67 *	7,38	7,74	42	48	144,0	151,2
40,00µg/L	10	8	2	80	7,83 *	7,38	7,68	42	48	144,0	172,0

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e ^odiferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 151 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^4 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cádmio, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 02/12/03 14:00horas. Término: 10/12/03 14:00horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,00	7,38	7,56	42	48	144,0	178,1
Controle (10 ⁴ céls/mL)	10	10	0	0	2,70	7,38	7,72	42	48	144,0	173,7
10,00µg/L	10	10	0	0	1,60	7,38	7,52	42	50	144,0	173,9
20,00µg/L	10	8	2	20	1,10	7,38	7,60	42	48	144,0	176,4
40,00µg/L	10	10	0	0	2,10	7,38	7,55	42	48	144,0	151,2

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 152 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cádmio, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 04/08/04 11:00 horas. Término: 12/08/04 11:00 horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,00	7,42	7,60	44	50	144,0	163,7
Controle (10 ⁶ céls/mL)	10	10	1	10	12,90	7,42	8,01	44	50	144,0	157,0
10,00µg/L	10	10	0	0	13,00	7,42	7,98	44	50	144,0	154,4
20,00µg/L	10	10	3	30	6,00*	7,42	8,00	44	50	144,0	155,6
40,00µg/L	10	10	3	30	3,33*	7,42	8,00	44	50	144,0	154,7

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 153 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cádmio, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 04/08/04 10:00 horas. Término: 12/08/04 10:00 horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,00	7,56	7,55	42	46	152,5	168,7
Controle (10 ⁵ céls/mL)	10	10	0	0	10,78	7,56	7,60	42	46	152,5	157,6
10,00µg/L	10	10	0	0	8,00	7,56	7,62	42	42	152,5	158,4
20,00µg/L	10	10	0	0	6,80*	7,56	7,62	42	42	152,5	155,8
40,00µg/L	10	10	0	0	7,23	7,56	7,62	42	42	152,5	162,6

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 154 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^4 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cádmio, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 04/08/04 14:00 horas. Término: 12/08/04 14:00 horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,00	7,56	7,55	42	46	152,5	168,7
Controle (10 ⁴ céls/mL)	10	10	0	0	3,50	7,56	7,57	42	46	152,5	157,6
10,00µg/L	10	10	0	0	3,14	7,56	7,58	42	42	152,5	158,4
20,00µg/L	10	9	1	10	2,89	7,56	7,55	42	42	152,5	155,8
40,00µg/L	10	10	0	0	4,20	7,56	7,58	42	42	152,5	162,6

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

Resultados dos testes de toxicidade crônica utilizando como organismo-teste *Ceriodaphnia dubia* alimentada com células de *Selenastrum capricornutum* expostas ao cromo

TABELA 155 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cromo, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 19/05/04 11:00horas. Término: 27/05/04 11:00horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	12,90	7,54	7,63	46	46	177,9	181,9
Controle (10 ⁶ céls/mL)	10	10	0	0	14,00	7,54	8,00	46	50	177,9	179,9
100,00µg/L	10	10	0	0	12,00	7,54	8,00	46	50	177,9	176,6
200,00µg/L	10	10	0	0	13,20	7,54	8,01	46	50	177,9	174,9
400,00µg/L	10	10	0	0	14,50	7,54	7,98	46	50	177,9	1736,

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 156 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cromo, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 10/02/04 14:00horas. Término: 18/02/04 14:00horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	14,80	7,60	7,40	48	44	170,2	182,4
Controle (10 ⁵ céls/mL)	10	10	0	0	9,80	7,60	7,56	48	44	170,2	180,9
100,00µg/L	10	10	0	10	10,20	7,60	7,78	48	44	170,2	180,9
200,00µg/L	10	10	0	0	10,70	7,60	7,50	48	44	170,2	179,9
400,00µg/L	10	10	0	0	10,70	7,60	7,63	48	44	170,2	183,4

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 157 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em primeiro teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^4 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cromo, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 10/02/04 14:00horas. Término: 18/02/04 14:00horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	14,80	7,60	7,40	48	44	177,9	181,9
Controle (10 ⁴ céls/mL)	10	10	0	0	3,30	7,60	7,52	48	44	177,9	177,5
100,00µg/L	10	10	0	0	4,30	7,60	7,56	48	44	177,9	180,1
200,00µg/L	10	10	0	0	5,10	7,60	7,60	48	44	177,9	182,0
400,00µg/L	10	10	0	0	2,60	7,60	7,70	48	44	177,9	171,4

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 158 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^6 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cromo, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 04/08/04 11:00horas. Término: 12/08/04 11:00 horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	14,50	7,56	7,40	48	48	158,5	148,4
Controle (10 ⁶ céls/mL)	10	10	0	0	19,10	7,56	8,20	48	48	158,5	148,6
100,00µg/L	10	10	0	0	18,00	7,56	8,23	48	46	158,5	148,4
200,00µg/L	10	10	0	0	16,20	7,56	8,08	48	48	158,5	151,9
400,00µg/L	10	10	0	0	16,00	7,56	8,00	48	44	158,5	148,4
800,00µg/L	10	5	5	50°	9,12*	7,56	7,93	48	44	158,5	153,5

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 159 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^5 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cromo, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 24/08/04 11:00horas. Término: 01/09/04 11:00 horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	10	0	0	13,86	7,25	7,48	48	48	166,5	176,4
Controle (10 ⁵ céls/mL)	10	9	1	10	7,86	7,25	7,50	48	48	166,5	170,3
100,00µg/L	10	10	0	0	10,70	7,25	7,52	48	48	166,5	166,7
200,00µg/L	10	9	1	10	9,43	7,25	7,45	48	48	166,5	165,2
400,00µg/L	10	10	0	0	9,25	7,25	7,48	48	44	166,5	162,8
800,00µg/L	10	5	5	50	9,13	7,25	7,48	48	44	166,5	164,5

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)

TABELA 160 – Porcentagem de imobilidade e número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* obtidos em segundo teste de toxicidade crônica com uma densidade de 10^4 células/mL de *Selenastrum capricornutum* intoxicadas com diferentes concentrações de cromo, e valores de pH, dureza e condutividade monitorados. Início: 24/08/04 11:00horas. Término: 01/09/04 11:00 horas

Concentrações de exposição	Nº de organismos móveis		Imobilidade		Nº de neonatos por fêmea	pH		Dureza (mg/L CaCO ₃)		Cond. (µS/cm)	
	i*	f*	Total	%		i	f	i	f	i	f
Controle Laboratorial	10	8	2	20	13,86	7,25	7,48	48	48	166,5	176,4
Controle (10 ⁴ céls/mL)	10	10	0	0	3,71	7,25	7,48	48	48	166,5	164,2
100,00µg/L	10	8	2	20	5,00	7,25	7,48	48	48	166,5	166,1
200,00µg/L	10	9	1	10	4,43	7,25	7,45	48	48	166,5	173,5
400,00µg/L	10	9	1	10	3,25	7,25	7,46	48	44	166,5	162,3
800,00µg/L	10	10	0	0	1,62	7,25	7,49	48	44	166,5	167,1

*i = inicial; f = final, *diferença significativa em relação ao controle (Teste de Dunnetts, $p < 0,05$) e °diferença significativa em relação ao controle (Teste de Fisher's Exact, $p < 0,05$)