USP

Campus de São Carlos

COMPARAÇÃO METODOLÓGICA DE TESTES DE TOXICIDADE COM *Hyalella azteca* (CRUSTACEA, AMPHIPODA) E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO SEDIMENTO EM RESERVATÓRIOS DO RIO TIETÊ (SP)

ANA PAULA CRISTIANO DO NASCIMENTO

ORIENTADORA: Profa. Dra. Arnola Cecília Rietzler

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

COMPARAÇÃO METODOLÓGICA DE TESTES DE TOXICIDADE COM *Hyalella azteca* (CRUSTACEA, AMPHIPODA) E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO SEDIMENTO EM RESERVATÓRIOS DO RIO TIETÊ (SP)

ANA PAULA CRISTIANO DO NASCIMENTO

Serviço de Pós-Gradução EESC/USP
EXEMPLAR REVISADO
Data de entrada no Serviço: 25/09/03
Ass.:

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Engenharia Ambiental.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Arnola Cecília Rietzler

DEDALUS - Acervo - EESC
31100044188
EESC-USP Biblioteca Campus de S. Carlos

São Carlos
2003

Class. TESE-EESC
Cutt. 3862
Tombo T296/03
Sysno 1338028

N244c

Nascimento, Ana Paula Cristiano do
Comparação metodológica de testes de toxidade com *hyalella azteca* (crustacea, amphipoda) e avaliação da qualidade do sedimento em reservatórios do Rio Tietê (SP) / Ana Paula Cristiano do Nascimento. -- São Carlos, 2003.

Dissertação (Mestrado) -- Escola de Engenharia de São Carlos-Universidade de São Paulo, 2003.
Área : Ciências da Engenharia Ambiental.
Orientador: Profª. Drª. Arnola Cecília Rietzler.

1. Sedimento. 2. Comparação metodológica de testes de toxidade. 3. *Hyalella azteca*. 4. Reservatórios do Rio Tietê (SP). 5. Qualidade do sedimento. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Bacharel **ANA PAULA CRISTIANO DO NASCIMENTO**

Dissertação defendida e julgada em 11-07-2003 perante a Comissão Julgadora:

APROVADA

Profa. Dra. **ARNOLA CECÍLIA RIETZLER (Orientadora)**
(Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG)

APROVADA

Prof. Assoc. **EVALDO LUIZ GAETA ESPÍNDOLA**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

APROVADA

Profa. Dra. **ANA LÚCIA FONSECA**
(Escola Federal de Engenharia de Itajubá/EFEI)

Prof. Doutor **VALDIR SCHALCH**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Engenharia Ambiental

Prof. Assoc. **MURILO ARAUJO ROMERO**
Vice-Presidente em exercício da Comissão de Pós-Graduação

Dedico este trabalho aos meus pais, pelo amor, amizade, estímulo, confiança e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida

AGRADECIMENTOS

À Profª Dra. Arnola Cecília Rietzler, pela orientação e pelo voto de confiança que me foi dado para a elaboração deste trabalho.

À Rosalina Pereira de Almeida Araújo, gostaria de agradecer pelos ensinamentos, sugestões, apoio no laboratório, confiança e acima de tudo pela amizade.

Ao Projeto QualiSed, pela oportunidade e pelos recursos financeiros para a realização deste estudo.

À CETESB pela oportunidade de realizar este estudo em suas dependências.

Ao Eduardo Bertoletti, Valéria Prósperi, Sandra Buratini, Pedro Zagatto, Daniel Domingues, Liliana Werner, Ivo e Thais Muniz pelas sugestões, apoio e amizade durante todo o tempo que estive conduzindo os testes no Laboratório de Ecotoxicologia Aquática da CETESB.

Aos professores, funcionários e colegas do curso de pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental, do Departamento de Hidráulica e Saneamento, da EESC/USP.

Ao CNPQ, pelo apoio financeiro concedido através da bolsa de estudos.

Ao amigo André Cordeiro dos Santos que me incentivou de forma determinante para a realização deste trabalho.

À amiga Queila pela fotos tiradas nas coletas.

À querida amiga Edna Kunieda, por sua amizade, companheirismo, incentivo e por sua grande ajuda.

Agradeço especialmente a minha família pelo incentivo e compreensão por minhas ausências e momentos de estresse.

À todos os amigos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS i
LISTA DE TABELAS v
RESUMO vii
ABSTRACT ix

1 – INTRODUÇÃO 1

2 – OBJETIVOS 3
2.1 – Objetivos Gerais 3
2.2 – Objetivos Específicos 4

3 – BASES CIENTÍFICAS 4

4 – MATERIAIS E MÉTODOS 12
4.1 - Caracterização dos Reservatórios Estudados 12
4.1.1 – Reservatório Billings 12
4.1.2 – Reservatório de Rasgão 14
4.1.3 – Reservatório de Barra Bonita 15
4.1.4 – Reservatório Bariri 16
4.1.5 – Reservatório de Promissão 17
4.1.6 – Reservatório de Pedro Beicht 18
4.2 – Procedimentos de Campo para a Coleta de Amostras de Sedimento ... 18
4.3 – Análises de Laboratório 21
4.3.1 – Determinação de Amônia Total 22
4.4 – Caracterização do Organismo-teste 22
4.5 – Cultivo e Manutenção de *Hyalella azteca* 24
4.6 – Testes de Toxicidade 28
4.6.1 – Organismo-teste 28

4.6.2 – Avaliação de Toxicidade em Sistema Estático, utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (ASTM, 1993) 28
4.6.3 – Avaliação de Toxicidade em Sistema Estático, utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (BORGMANN & NORWOOD, 1999) 29
4.6.4 – Avaliação de Toxicidade em Sistema Semi-estático, utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (USEPA, 1994) 30
4.7 – Controle dos Ensaios de Toxicidade 31
4.7.1 – Sensibilidade do organismo-teste 31
4.8 – Análise Estatística dos resultados 33

CAPÍTULO I – COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS PARA A REALIZAÇÃO DE TESTES DE TOXICIDADE COM SEDIMENTO, UTILIZANDO *Hyalella azteca* COMO ORGANISMO-TESTE 34

1 – INTRODUÇÃO 34

2 - OBJETIVOS 39

3 – MATERIAIS E MÉTODOS 39
3.1 – Áreas de estudo 39
3.2 – Comparação das metodologias descritas por ASTM (1993), BORGMANN & NORWOOD (1999) e USEPA (1994) 40
3.2.1 – Avaliação de toxicidade em sistema estático, utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (ASTM, 1993) 40
3.2.2 – Avaliação de toxicidade em sistema estático, utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (BORGMANN & NORWOOD, 1999) 43
3.2.3 – Avaliação de toxicidade em sistema semi-estático, utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (USEPA, 1994) 46

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO 51
4.1 – pH 52
4.2 – Oxigênio dissolvido 56
4.3 – Condutividade 60
4.4 – Amônia 64
4.5 – Resultados dos testes de toxicidade aguda 65
4.6 – Análise comparativa das metodologias utilizadas para testes de toxicidade com *H. azteca* 67
4.6.1 – Espaço físico 68
4.6.2 – Tempo de montagem 68
4.6.3 – Tempo de calibração e manutenção 68
4.6.4 – Tempo de leitura 69
4.6.5 – Tempo de troca de água 69
4.6.6 – Quantidade de sedimento 70
4.6.7 – Quantidade de água 70
4.6.8 – Qualidade da água 70
4.6.9 – Sobrevivência dos organismos-teste nas amostras testadas .. 71
4.6.10 – Custo 72

5 – CONCLUSÕES 73

CAPÍTULO II – AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO SEDIMENTO DE CINCO RESERVATÓRIOS DO ESTADO DE SÃO PAULO, UTILIZANDO TESTES DE TOXICIDADE COM *Hyalella azteca* COMO ORGANISMO-TESTE 74

1 – INTRODUÇÃO 74

2 – OBJETIVOS 79

3 – MATERIAIS E MÉTODOS 80

3.1 – Área de estudo 80
3.2 – Períodos de coleta 80
3.3 – Avaliação de toxicidade em sistema estático, utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (ASTM, 1993) 81
3.4 – Avaliação de toxicidade em sistema estático, utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (BORGMANN & NORWOOD, 1999) 82
3.5 – Procedimentos para a verificação das medidas de crescimento de *Hyalella azteca* através do peso seco (Environment Canadá, 1999) 84

4 – RESULTADOS 85

5 – DISCUSSÃO 88

6 – CONCLUSÕES 100

7 – RECOMENDAÇÕES 101

8. – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 102

ANEXO 123

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Reservatório Billings 14

FIGURA 2: Reservatório Barra Bonita 16

FIGURA 3: Reservatório Promissão 17

FIGURA 4: Mapa do Estado de São Paulo, com a localização dos pontos de amostragem em alguns reservatórios do sistema Tietê/Paraná. 19

FIGURA 5: Draga de Eckman-Birge modificada, utilizada nas coletas de amostras de sedimento 20

FIGURA 6: Draga de Eckman-Birge modificada, evidenciando-se o "corte" da porção superior do sedimento. 21

FIGURA 7: Vista lateral de *Hyalella azteca* (fêmea), segundo NARCHI (1973)..... 24

FIGURA 8: Cultura de *Hyalella azteca* 25

FIGURA 9: *Hyalella azteca* fêmea (acima) e *H. Azteca* macho (abaixo) 26

FIGURA 10A: Testes de toxicidade em sistema estático em proporção de água/sedimento de 4/1, segundo ASTM, 1993 42

FIGURA 10B: Testes de toxicidade em sistema estático em proporção de água/sedimento de 4/1, segundo ASTM, 1993 42

FIGURA 11: Representação diagramática de 1 cone de Imhoff (1 litro) usado como câmara-teste (razão água/sedimento de 67/1) e comparação com béquer de 250 mL (razão água/sedimento de 4/1) 43

FIGURA 12A: Testes de toxicidade realizados na proporção água/sedimento 67/1, segundo BORGMANN & NORWOOD, 1999 44

FIGURA 12B: Testes de toxicidade realizados na proporção água/sedimento 67/1, segundo BORGMANN & NORWOOD, 1999 45

FIGURA 13: Desenho esquemático do sistema de liberação de água descrito por ZUMWALT *et. al.* (1994) 47

FIGURA 14A: Sistema de renovação de água, segundo ZUMWALT *et.al.* (1994) 49

FIGURA 14B: Detalhamento do sistema de renovação de água, segundo ZUMWALT *et. al.* (1994) 49

FIGURA 15: Valores de pH nas amostras testadas em sistema estático (ASTM, 1993) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente 53

FIGURA 16: Valores de pH nas amostras testadas em sistema semi-estático (USEPA, 1994) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente 54

FIGURA 17: Valores de pH nas amostras testadas em sistema estático (BORGMANN & NORWOOD, 1999) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente..... 55

FIGURA 18: Valores de oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$) nas amostras testadas em sistema estático (ASTM, 1993) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente..... 57

FIGURA 19: Valores de oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$) nas amostras testadas em sistema estático (BORGMANN & NORWOOD, 1999) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente..... 58

FIGURA 20: Valores de oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$) nas amostras testadas em sistema semi-estático (USEPA, 1994) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente..... 59

FIGURA 21: Valores de condutividade ($\mu S.cm^{-1}$) nas amostras testadas em sistema estático (ASTM, 1993) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente..... 61

FIGURA 22: Valores de condutividade ($\mu S.cm^{-1}$) nas amostras testadas em sistema estático (BORGMANN & NORWOOD, 1999) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente..... 62

FIGURA 23: Valores de condutividade ($\mu S.cm^{-1}$) nas amostras testadas em sistema semi-estático (USEPA, 1994) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente..... 63

FIGURA 24: Média das medidas de crescimento (peso seco) de *Hyalella azteca*, referentes ao período de 17/10/00 e 27/10/00 (Billings) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão)..... 88

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Espécies de organismos de água doce mais utilizadas em testes de toxicidade aguda com sedimento 9

TABELA 2: Variáveis analisadas nas amostras de água dos testes realizados em laboratório 21

TABELA 3: Componentes do Meio MS (KEATING, 1985) 27

TABELA 4: Condições para a realização de testes de toxicidade com sedimento com *Hyalella azteca*, segundo ASTM (1993) 29

TABELA 5: Condições para a realização de testes de toxicidade com sedimento com *Hyalella azteca*, segundo BORGMANN & NORWOOD (1999) 30

TABELA 6: Condições para a realização de testes de toxicidade com sedimento com *Hyalella azteca*, segundo USEPA (1994) 31

TABELA 7: Condições para a realização de testes de toxicidade aguda com dicromato de potássio como substância de referência, utilizando *Hyalella azteca* 32

TABELA 8: Resumo dos procedimentos adotados em cada uma das metodologias testadas 50

TABELA 9: Valores de amônia não ionizada ($mg.L^{-1}$) nos testes de toxicidade aguda 64

TABELA 10: Resultados dos testes de toxicidade aguda com *Hyalella azteca* para as diferentes metodologias adotadas, realizados no período de 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão) 65

TABELA 11: Análise comparativa dos diferentes métodos utilizados para os testes de toxicidade aguda realizados com *Hyalella azteca*..... 67

TABELA 12: Resultados dos testes de toxicidade aguda à *Hyalella azteca* com amostras de sedimento dos diferentes reservatórios estudados, realizados em junho/2000..... 85

TABELA 13: Resultados dos testes de toxicidade aguda à *Hyalella azteca* com amostras de sedimento dos diferentes reservatórios estudados, realizados em outubro-novembro/2000 e junho/2001..... 87

TABELA 14: Níveis de contaminantes observados nas amostras de sedimento coletadas em reservatórios do rio Tietê (SP) em outubro-novembro/2000 e níveis que provavelmente causam efeito, segundo CCME (1999).....90

RESUMO

NASCIMENTO, A.P. (2003). COMPARAÇÃO METODOLÓGICA DE TESTES DE TOXICIDADE COM *Hyalella azteca* (CRUSTACEA, AMPHIPODA) E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO SEDIMENTO EM RESERVATÓRIOS DO RIO TIETÊ (SP).

O presente trabalho fez parte do Projeto QualiSed, uma cooperação entre UFSCar, Unicamp, e Cetesb, o qual realizou um levantamento das bases técnico-científicas para a derivação de critérios de qualidade de sedimentos (CQS) para proteção da fauna aquática dos ecossistemas.

Nos últimos anos tem havido um grande interesse no desenvolvimento, aperfeiçoamento e aplicação de metodologias para avaliar o grau de contaminação de sedimentos. Estes, apesar de fornecerem habitat para muitos organismos aquáticos, também constituem, um importante depósito para muitos dos mais persistentes químicos que são introduzidos no ambiente.

Visando comparar diferentes metodologias que foram desenvolvidas nos últimos anos para avaliar a toxicidade de contaminantes associados a sedimentos de água doce, subsidiando o estabelecimento de protocolos dos procedimentos de testes considerados mais adequados e analisando a qualidade do sedimento de alguns reservatórios do Estado de São Paulo, foram realizados testes de toxicidade aguda, utilizando-se o anfípodo *Hyalella azteca* como organismo-teste. Foram testados os sedimentos dos reservatórios Billings, Rasgão, Barra Bonita, Bariri e Promissão, além do sedimento do reservatório Pedro Beicht, que foi considerado sedimento controle.

Concluiu-se, por meio dos resultados dos testes de toxicidade aguda, que o procedimento sugerido por BORGMANN & NORWOOD (1999) é simples e fácil de ser implantado, enquanto que o teste proposto pela USEPA (1994) é muito trabalhoso, pois exige calibração e monitoramento diário, apresentando um custo inicial bem mais elevado.

Em relação à qualidade do sedimento dos reservatórios testados, o reservatório Billings não apresentou toxicidade aguda para nenhuma das amostras testadas, embora os resultados das análises químicas tenham evidenciado a presença de níveis elevados de metais pesados e de contaminantes orgânicos. Verificou-se

toxicidade aguda nos reservatórios de Rasgão e Barra Bonita em todas as amostras testadas, e no reservatório de Bariri nas amostras coletadas em junho/2000, diferindo do reservatório de Promissão, o qual não apresentou toxicidade em nenhuma das amostras testadas. Entretanto, o reservatório não está livre de contaminação, já que foram encontrados níveis elevados de arsênio, níquel e cromo.

Palavras-chave: sedimento; comparação metodológica de testes de toxicidade; *Hyalella azteca*; reservatórios do rio Tietê (SP); qualidade do sedimento.

ABSTRACT

NASCIMENTO, A.P. (2003). METHODOLOGICAL COMPARISON OF TOXICITY TESTS WITH *Hyalella azteca* (CRUSTACEA, AMPHIPODA) AND SEDIMENT QUALITY EVALUATION OF TIETÊ RIVER (SP) RESERVOIRS.

The present work was part of QualiSed Project, a cooperation among UFSCar, Unicamp and Cetesb, which conducted a survey of technical and scientific bases for derivation of sediment quality criteria (CQS) for protection of ecosystem aquatic fauna.

In the last years, there has been a great concern in development, improvement and application of methodologies to evaluate the degree of contamination of sediments, which, although provide habitat to many aquatic organisms, constitute an important deposit for many of the most persistent chemicals added to the environment.

Aiming to compare different methodologies to evaluate toxicity of contaminants associated with fresh water sediments, in order to subsidize the establishment of test procedure protocols considered more suitable and to analyze the quality of sediments of some reservoirs of the State of São Paulo, tests on acute toxicity were performed, by using the amphipod *Hyalella azteca* as test-organism. Sediments of Billings, Rasgão, Barra Bonita, Bariri and Promissão reservoirs were tested, in addition to sediments of Pedro Beicht reservoir which was considered the control sediment.

The results of acute toxicity tests showed that the procedure suggested by BORGMANN & NORWOOD (1999) is simple and easy to implement, while the test proposed by USEPA (1994) is quite laborious, since it requires calibration and daily monitoring, presenting a more elevated initial cost.

In relation to the quality of sediment of reservoirs tested, Billings reservoir did not present acute toxicity to any samples tested, while chemical analysis results evidenced the presence of high levels of heavy metals and organic contaminants. Acute toxicity was found in Rasgão and Barra Bonita reservoirs in all samples tested, and at Bariri reservoir in samples collected in June/2000, differing from Promissão reservoir, which did not present toxicity in any samples tested. However, the reservoir is not free of contamination, since high levels of arsenic, nickel and chrome were found.

Keywords: sediments; methodological comparison of toxicity tests; *Hyalella azteca*; Tietê (SP) river reservoirs; quality of sediment.

1- INTRODUÇÃO GERAL

A industrialização crescente e o aumento demográfico têm causado muitos problemas ambientais, interferindo diretamente na estrutura e dinâmica dos ambientes naturais. Além disso, embora se saiba que os ecossistemas naturais apresentam uma certa capacidade de assimilação dos despejos industriais e domésticos produzidos, a estimativa da capacidade de assimilação dos corpos receptores não é ainda tão precisa quanto se espera (CAIRNS & SCHALIE, 1980).

Desde a Primeira Guerra Mundial, o uso e o número de produtos químicos, incluindo os pesticidas, drogas e alimentos aditivados tem aumentado muito (ROWE, 1984). Atualmente, há cerca de 10 milhões de produtos químicos sintéticos conhecidos. Destes, cerca de 120.000 são de uso comum e cerca de 11.000 são produzidos em quantidades maiores do que 500 kg por ano (PAASIRVITA, 1991).

Os resíduos altamente tóxicos, subprodutos atuais das sociedades industrializadas, ameaçam diretamente a saúde da população, podendo constituir um fator limitante importante para a humanidade (ODUM, 1983).

Entre os recursos naturais disponíveis, a água é um dos mais importantes e também um dos mais suscetíveis aos impactos decorrentes das atividades humanas, já que o ambiente aquático acaba sendo o depositário final ou temporário dos resíduos gerados pelas atividades antrópicas, recebendo substâncias que são lançadas no ar, no solo ou diretamente na água, muitas das quais são poluidoras e tóxicas.

A poluição pode ser definida como a introdução, de substâncias ou energia que causam perigo à saúde humana, prejudicando os organismos vivos e sistemas ecológicos, danificando a sua estrutura ou interferindo nos usos do ambiente (MORIARTY, 1983; MANSON, 1990). Segundo BRANCO (1991), as alterações de qualidade da água decorrentes da poluição e contaminação por esgotos domésticos podem ser de natureza física, química e/ou biológica, embora nem sempre seja possível considerar esses efeitos de forma separada. A sua combinação, os efeitos sinérgicos e os seus antagonismos dão origem a um efeito global que interfere na vida aquática ou no uso que se pretende fazer do recurso hídrico.

A constante utilização dos recursos hídricos tem requerido um maior número de estudos para avaliar e manter a sua qualidade. De acordo com CHAPMAN (1989), a avaliação e o monitoramento ambiental podem fornecer importantes informações sobre a extensão do grau de poluição no ambiente e os seus prováveis impactos, gerando também dados sobre a deterioração ou melhoria ambiental em uma escala temporal, permitindo avaliar a eficiência das ações mitigadoras adotadas. Além de importantes para a avaliação do grau de degradação ambiental, estes processos são essenciais para o conhecimento destes ecossistemas.

O monitoramento de um recurso hídrico tem como objetivos gerais o acompanhamento das alterações de sua qualidade, a elaboração de previsões de comportamento, o desenvolvimento de instrumentos de gestão e fornecimento de subsídios para ações saneadoras.

O monitoramento ambiental inclui observações e medidas de parâmetros biológicos, químicos e físicos de acordo com um programa pré-estabelecido e a utilização de metodologias comparáveis. O biomonitoramento é importante, pois pode fornecer respostas por meio de reações biológicas e deve ser usado juntamente com o monitoramento químico para determinar a que os organismos estão sendo expostos e em quais concentrações (RAND, *et. al.* 1995).

Os bioensaios com organismos aquáticos têm sido utilizados em países altamente industrializados como Canadá, França, Alemanha e Estados Unidos. Na América do Sul, o Brasil tem se destacado na implementação de métodos de avaliação de toxicidade por meio de bioensaios.

Historicamente, a avaliação dos efeitos de contaminantes nos ecossistemas aquáticos tem sido enfatizada em águas superficiais, sem considerar o destino de agentes químicos no sedimento (TRINDADE, 1980; INGERSOLL, 1995).

No entanto, alguns poluentes como metais pesados e compostos organoclorados persistem no ambiente associados ao sedimento, podendo ter ação mutagênica, acumular-se em concentrações superiores àquelas encontradas no meio e acarretar efeitos agudos e crônicos para a comunidade de organismos que vivem ou entram em contato com o sedimento (BOLDRINI, 1990). Além disso, as concentrações de contaminantes no sedimento podem não ser letais, mas podem

interferir com a habilidade de um animal se desenvolver, crescer ou se reproduzir (ASTM, 1993).

O sedimento fornece habitat para muitos organismos aquáticos, mas também é o maior reservatório para muitas substâncias químicas persistentes que são introduzidas nos corpos d'água (USEPA, 1994).

Assim, em adição ao padrão de qualidade da água, o padrão de qualidade do sedimento é necessário, uma vez que vários contaminantes tóxicos encontrados apenas em quantidades traço na coluna d'água, se acumulam nos sedimentos em elevados níveis (POWER & CHAPMAN, 1992).

Medidas da toxicidade do sedimento têm sido obtidas através de testes laboratoriais, os quais expõem os organismos ao sedimento sob condições controladas. Testes de toxicidade com sedimento têm evoluído em ferramentas efetivas fornecendo evidências de conseqüências biológicas de sua contaminação (USEPA, 1994). Eles podem ser usados para quantificar a toxicidade aguda e crônica aos organismos aquáticos bem como a biodisponibilidade de contaminantes (ASTM, 1994).

2- OBJETIVOS

2.1- Objetivos gerais

O presente estudo fez parte do projeto QualiSed, um esforço conjunto entre UFSCar, UNICAMP e CETESB, com a finalidade de determinar bases técnico-científicas utilizadas no estabelecimento de critérios de qualidade de sedimento (CQS) para metais pesados e compostos orgânicos em reservatórios.

Visando contribuir para a melhoria da avaliação da qualidade de ambientes aquáticos, este trabalho teve como intuito principal, a comparação de três metodologias para testes de toxicidade com sedimento com *Hyalella azteca,* padronizadas por entidades internacionalmente reconhecidas. Associado a estes procedimentos metodológicos, foi avaliada a qualidade do sedimento em diferentes trechos do sistema Tietê, no estado de São Paulo.

Neste contexto, o Capítulo 1 desta dissertação teve como objetivo analisar metodologias e procedimentos que podem ser utilizados na realização de testes de toxicidade com sedimento. O segundo capítulo está relacionado ao primeiro, embora com o objetivo de avaliar os reservatórios onde foram realizadas as coletas dos sedimentos estudados.

2.2- Objetivos específicos

- Realizar testes de toxicidade com amostras de sedimento à *Hyalella azteca* de acordo com as metodologias preconizadas por ASTM (1993), USEPA (1994) & BORGMANN & NORWOOD (1999), com a finalidade de comparar os resultados obtidos.

- Avaliar os reservatórios estudados de acordo com os resultados dos testes de toxicidade, correlacionando-os aos resultados das análises físicas e químicas e de contaminantes obtidos no projeto QualiSed.

3-BASES CIENTÍFICAS

A poluição das águas pode ser gerada a partir de diferentes fontes como efluentes domésticos, que expõem o ambiente aquático a poluentes orgânicos biodegradáveis, nutrientes e bactérias, efluentes industriais que podem gerar poluentes orgânicos e inorgânicos, dependendo do tipo de atividade industrial e cargas difusas urbanas e agrícolas, contendo poluentes advindos da drenagem destas áreas, incluindo fertilizantes, defensivos agrícolas, fezes de animais e material em suspensão (MARGALEF, 1985; PORTO *et. al.*, 1991; CAMPOS *et. al.*, 1999).

Uma vez inseridos no ecossistema aquático, os poluentes podem ser tóxicos pela sua própria presença ou através dos processos de degradação, liberando compostos que ao serem assimilados pelos organismos, poderão interferir em seus

processos fisiológicos, podendo alterar a estrutura da comunidade local. Como os organismos interagem entre si e apresentam diferentes reações à presença e à concentração de poluentes, pode-se esperar que a rede trófica, o fluxo de energia e demais processos que participam na estrutura e organização dos ecossistemas sejam também alterados. Considerando-se ainda que as substâncias tóxicas persistem e se acumulam no meio ambiente, comprometendo de forma mais prolongada a saúde dos ecossistemas (OECD, 1994).

Em resposta à necessidade de se conhecer o destino e o efeito dessas substâncias no ambiente aquático, surgiu a Ecotoxicologia, a qual se utiliza principalmente da Toxicologia, uma ciência reducionista, que apresenta grande capacidade preditiva e de diagnóstico. A finalidade desta ciência é avaliar os efeitos das substâncias tóxicas nos ecossistemas, visando primordialmente a sua proteção como um todo e não apenas dos componentes isolados (HARRIS, *et. al.* 1990; HOFFMAN *et. al.* 1995).

A necessidade de estudos ecotoxicológicos tem crescido muito nas últimas décadas devido a uma série de fatores dentre os quais pode-se citar o fato que atualmente utiliza-se muito mais produtos químicos do que antigamente e por estes produtos químicos representarem perigo para toda a vida na Terra, com problemas relacionados ao ambiente muito mais complexos do que se pensava. Além disso, em muitos países as indústrias químicas têm sido forçadas a revelar as conseqüências ambientais da aplicação de todos os novos produtos antes da produção ser iniciada (JORGENSEN, 1990). No Brasil, por exemplo, para que uma indústria possa registrar um produto agrotóxico ou para tratamento de madeira, é necessária a apresentação ao Ministério da Saúde, IBAMA e Ministério da Agricultura, de uma série de dados físicos, químicos, toxicológicos e ecotoxicológicos (BRASIL, 1989; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1992; IBAMA, 1996).

O termo ecotoxicologia foi criado por Thuhaut, em 1969, como uma "extensão natural da toxicologia, a ciência dos efeitos de venenos sobre os organismos, considerando os efeitos ecológicos dos poluentes". Cairns e Mount, em 1990, também definiram similarmente ecotoxicologia como "o estudo do destino e efeito de agentes tóxicos nos ecossistemas" (MORIARTY, 1983; NEWMAN, 1995). Segundo MORIARTY (op. cit.), a principal diferença entre toxicologia e

ecotoxicologia, é que a toxicologia é o estudo dos efeitos nos organismos e ecotoxicologia é o estudo dos efeitos sobre os ecossistemas.

Os sedimentos constituem o habitat de muitos organismos aquáticos, sendo o maior depósito para muitos dos mais persistentes agentes químicos que são introduzidos no ambiente aquático. Eles são tipicamente heterogêneos física, química e biologicamente. Resultam da deposição de material particulado orgânico e inorgânico que são produto da degradação mecânica, química e biológica (KNEZOVICH *et. al.*, 1987; POWER & CHAPMANN, 1992; BURTON, 1994; INGERSOLL *et. al.*, 1995), podendo conter grandes concentrações de contaminantes, na maioria metais e compostos orgânicos (REYNOLDSON & DAY, 1993; USEPA, 1994; INGERSOLL, 1995).

A capacidade do sedimento em acumular compostos faz deste compartimento um dos mais importantes na avaliação da qualidade de ecossistemas aquáticos (ESTEVES, 1988; REYNOLDSON & DAY, op. cit.), tornando-se assim, necessário avaliar o grau de contaminação destes ambientes de forma a se obter informações úteis para o gerenciamento dos ecossistemas aquáticos. Para tanto, pode-se utilizar três abordagens: análises físicas e químicas que irão fornecer dados sobre o grau de contaminação, análise da estrutura da comunidade bentônica e testes de toxicidade, para avaliar os possíveis efeitos sobre a biota aquática (BURTON, op.cit.).

Os sedimentos servem tanto de reservatório, como uma fonte de contaminantes o tempo todo, enquanto que na coluna d'água as concentrações dos contaminantes são variáveis e dinâmicas.

Uma vez no sedimento, os contaminantes podem ficar associados a certas partículas, tornando-se não disponíveis para os organismos, sofrer transformações, originando formas mais ou menos tóxicas, migrar do sedimento para os organismos bentônicos ou para a coluna d'água, sendo que níveis elevados de contaminantes persistentes no sedimento podem ou não acarretar efeitos sobre a biota aquática, dependendo de uma série de fatores que alteram a sua biodisponibilidade e toxicidade (ARAÚJO, 1998).

Medidas da toxicidade do sedimento têm sido obtidas através de testes laboratoriais, os quais expõem os organismos ao sedimento sob condições controladas. Testes de toxicidade com sedimento têm evoluído em ferramentas

efetivas fornecendo evidências de conseqüências biológicas de contaminação do sedimento (USEPA, 1994). Segundo KUBTIZ *et. al.* (1995), testes de toxicidade com sedimento são uma importante parte dos procedimentos usados para avaliar efeitos ecológicos de sedimentos contaminados.

O objetivo de testes de toxicidade com sedimento é determinar se contaminantes são prejudiciais ou são bioacumulados por organismos planctônicos e bentônicos. Eles podem ser usados para determinar a relação entre efeitos tóxicos e biodisponibilidade, investigar interações entre contaminantes, comparar as sensibilidades de diferentes organismos, determinar a distribuição espacial e temporal de contaminação, avaliar riscos de material dragado, medir a toxicidade como parte de licenciamento de produtos, além de classificar áreas para limpeza e determinar objetivos de limpeza, estimando a eficiência da remediação ou práticas de manejo (USEPA, op. cit.; INGERSOLL, 1995).

Desta maneira, testes de toxicidade com sedimento permitem avaliar o efeito interativo de misturas complexas presentes no sedimento sobre organismos aquáticos, medindo os efeitos tóxicos das frações disponíveis, em condições controladas em laboratório ou através de testes em campo (CETESB, 1998). Podem também contribuir para a avaliação da qualidade de sedimentos, comparando-se com os resultados das análises químicas, os vários efeitos observados em várias espécies nos testes de toxicidade, realizados em campo ou em laboratório, com amostras coletadas ou com amostras contaminadas no laboratório (CHAPMAN, 1989).

Para análise do grau de contaminação de um sistema, podem ser utilizados diferentes tipos de testes, que são classificados de acordo com o tempo de duração em testes agudos e crônicos ou de acordo com o sistema de exposição, em estáticos, semi-estáticos ou de fluxo contínuo (ADAMS, 1995).

Os testes de toxicidade aguda são testes de curto prazo, designados para medir os efeitos dos agentes tóxicos sobre os organismos testados, durante uma pequena porção do seu ciclo de vida. Testes de toxicidade aguda geralmente medem efeito sobre a sobrevivência por um período de 24 a 96 horas, dependendo do organismo-teste. No caso do anfípodo *Hyallela azteca*, o teste agudo tem duração de 10 dias.

Já nos testes de toxicidade crônica, os organismos-teste são expostos a um tóxico ao longo de um período significante de seu ciclo de vida. Estudos crônicos usualmente medem efeitos tóxicos sobre reprodução, crescimento e efeitos sub-letais que podem incluir efeitos comportamentais, fisiológicos e bioquímicos.

Os testes estáticos são realizados sem a substituição de água durante o tempo de exposição. O sistema estático é muito simples e de baixo custo, mas usualmente apenas testes de toxicidade aguda são realizados neste tipo de sistema.

Nos testes semi-estáticos, a água de diluição é substituída periodicamente e nos testes de toxicidade em sistema de fluxo contínuo, a água de diluição é renovada continuamente ou em intervalos intermitentes. Os sistemas mais conhecidos de fluxo contínuo são o diluidor proporcional e bombas peristálticas.

Os primeiros trabalhos a avaliarem o efeito de contaminantes presentes no sedimento à biota aquática foram realizados na década de 70 e início da de 80, adotando-se diferentes espécies de organismos-teste, como cladóceros, peixes, isópodos, anfípodos, poliquetos e larvas de insetos (GANNON & BEETON, 1971).

De acordo com BURTON *et. al.* (1992), os testes de toxicidade com sedimento começaram em 1977 com macroinvertebrados de água doce, utilizando como organismos-teste *Hexagenia limbata* e *Chironomus tentans*. Estes estudos usaram exposições agudas e crônicas indicando sobrevivência, crescimento e emergência para avaliar a magnitude das concentrações de contaminantes no sedimento. De acordo com estes mesmos autores, nos últimos dez anos a pesquisa e literatura relacionadas à avaliação da contaminação de sedimentos expandiram-se substancialmente, sendo que estudos de laboratório envolvendo invertebrados bentônicos têm variado grandemente em seus modelos experimentais, espécies selecionadas, parâmetros de avaliação de toxicidade e manipulação do sedimento, como apresentado na Tabela 1.

TABELA 1 – Espécies de organismos de água doce mais utilizadas em testes de toxicidade aguda com sedimento.

Organismos	Critérios de avaliação	Duração do teste	Habitat	Hábito alimentar
Hyalella azteca[a] (Amphipoda)	Sobrevivência, crescimento e reprodução	10	Escavador, epibêntico	Detritívoro
Diporeia sp[b] (Amphipoda)	Sobrevivência	10	Escavador, infaunal	Detritívoro
Chironomus riparius[a] *Chironomus xanthus* *Chironomus tentans* (Chironomidae)	Sobrevivência, crescimento e emergência dos adultos	14	Tubícola	Material em suspensão, detritívoro
Hexagenia limbata[c] (Efemeróptera)	Sobrevivência, crescimento e reprodução	10	Tubícola	Material em suspensão, detritívoro
Ceriodaphnia dúbia[a, d] (Cladocera)	Sobrevivência e reprodução	7	Coluna d'água	Material em suspensão
Daphnia magna[c] *Daphnia similis* (Cladocera)	Sobrevivência, crescimento e reprodução	10	Coluna d'água	Material em suspensão
Lumbriculus variegatus[e] (Nematoda)	Sobrevivência, crescimento e reprodução	10	Escavador, infaunal, epibêntico	Detritívoro
Tubifex tubifex[f] (Nematoda)	Sobrevivência	10	Escavador, infaunal, epibêntica	Detritívoro

Fonte: INGERSOLL, 1995

A ASTM, 1995; INGERSOLL & NELSON, 1990 *apud* INGERSOLL, 1995

B LANDRUM, 1989; LANDRUM *et. al.*, 1989; ASTM, 1995 *apud* INGERSOLL, 1995

C NEBEKER *et. al.*, 1984; ASTM, 1995; BAHNICK *et. al.*, 1981 *apud* INGERSOLL, 1995

D BURTON *et. al.*, 1989; ASTM, 1995 *apud* INGERSOLL, 1995

E PHIPPS *et. al.*, 1992; ASTM, 1995 *apud* INGERSOLL, 1995

F REYNOLDSON *et. al.*, 1991; ASTM, 1995 *apud* INGERSOLL, 1995

Considerando a importância dos recursos hídricos, sua susceptibilidade aos impactos decorrentes das atividades antrópicas e por tratar-se de um recurso natural limitado, atualmente a importância de estudos que avaliem e monitorem sua qualidade tem sido reconhecida por muitas instituições e empresas.

No Brasil, os testes de toxicidade iniciaram-se em 1977, por iniciativa da COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB, que desde 1975 já mostrava preocupação em manter um laboratório de ensaios biológicos. A partir de 1980, realizou-se uma série de estudos visando avaliar a toxicidade de diferentes efluentes industriais do Estado de São Paulo e mostrar a validade do uso de testes de toxicidade nas ações de controle de efluentes industriais (CETESB, 1981a, b; 1986, b,c,d; 1987a; ZAGATTO *et. al.*, 1990). Estes estudos permitiram estabelecer um modelo para avaliar o impacto de efluentes líquidos industriais ou domésticos nos corpos receptores, baseado em testes de toxicidade, visando a preservação, manutenção ou recuperação da qualidade das águas.

Os primeiros trabalhos realizados para avaliar a toxicidade de sedimentos foram realizados com material proveniente da Represa Billings e do rio Cubatão como parte de projetos mais amplos para controle da poluição e recuperação ambiental, desenvolvidos pela Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB, 1983a; 1983b). A realização de testes de toxicidade nestes estudos teve como finalidade verificar a liberação de nutrientes e substâncias tóxicas do sedimento para a coluna d'água, avaliando se este processo resultava em concentrações suficientes para causar efeito de toxicidade aguda às comunidades aquáticas destes locais. Os ensaios foram realizados com extrato aquoso do sedimento, utilizando-se como organismo-teste o microcrustáceo *Daphnia similis* (ARAÚJO, 1998).

Considerando a importância do estabelecimento de critérios de qualidade de sedimentos, foi dado início à implantação de testes com a fase sólida do sedimento, utilizando-se *Hyalella* spp (ARAÚJO *et. al.*, 1993; ARAÚJO, 1994) e *Tiburionella viscana* como organismo-teste de água-doce e marinha, respectivamente, e com água intersticial, utilizando-se *Ceriodaphnia dubia* para ambientes de água-doce e *Lytechinus variegatus* para ambientes marinhos (LORENZETTI *et. al.*, 1991; 1992).

Na Universidade Federal de São Carlos, na Universidade Federal do Rio Grande do Sul e na Escola de Engenharia de São Carlos (USP), têm sido desenvolvidos estudos de avaliação da toxicidade de sedimentos através de testes com os organismos *Chironomus xanthus* (FONSECA, 1997; TAKENAKA, 1999; BOTTA-PASCHOAL, 2002), *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia laevis* (FONSECA, op. cit.; MENDES, 1998; RODGHER, 2001; PASCHOAL, 2002), *Hyalella* e *Ceriodaphnia* (ROSADO, 1998) e peixes (MELETTI, 1997; TONISSI; 1999; FRACACIO, 2001), dentre outros.

A escolha de um organismo teste adequado para a realização de testes de toxicidade aquática em condições de laboratório e campo, deve seguir alguns critérios fundamentais. Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA, 2000), para avaliar a toxicidade ou bioacumulação de contaminantes associados com sedimentos, o organismo deve apresentar:

- importância ecológica ou econômica;
- ampla distribuição geográfica, ser nativo ou ter um nicho similar a organismos de interesse;
- tolerância a uma ampla quantidade de características físicas e químicas de sedimentos;
- contato direto com o sedimento;
- fácil identificação, cultivo e manutenção em laboratório;
- um banco de dados toxicológicos, demonstrando relativa sensibilidade a uma gama de contaminantes de interesse em sedimento;
- compatibilidade com o método de exposição selecionado.

A espécie epibêntica *Hyalella azteca*, tem se mostrado um dos organismos mais promissores em testes de toxicidade aguda e crônica com amostras de

sedimento de água doce (BURTON *et. al.* 1992; ASTM, 1995; USEPA, 2000). Este organismo possui uma série de características adequadas para o seu uso em testes de toxicidade, tais como curto tempo de geração, fácil coleta no ambiente natural e fácil cultivo em laboratório. Em estudos comparativos com outras espécies, tem sido verificado que *Hyalella azteca* apresenta boa sensibilidade, além de ser tolerante a diferentes tipos de sedimentos (USEPA, op. cit.). Segundo SUEDEL & RODGERS (1994), a tolerância de *Hyalella azteca* a uma grande variedade de tamanhos de partículas e de matéria orgânica, é mais um ponto positivo para a utilização desta espécie em testes de toxicidade para determinar qualidade de sedimento.

4- MATERIAIS E MÉTODOS

Neste item estão descritos os materiais e métodos que são comuns aos dois capítulos que constituem esta dissertação.

4.1- Caracterização dos reservatórios estudados

4.1.1- Reservatório Billings

O reservatório Billings foi construído na década de 20 para gerar energia elétrica mediante o aproveitamento das águas do planalto, no qual situa-se a região metropolitana de São Paulo (ASSIS, 1998). Localiza-se a oeste da cidade de São Paulo, a 23°47'S e 46° e 40'W, a uma altitude de 746m. Abrange as áreas dos municípios de São Paulo, Santo André, São Bernardo do Campo, Diadema, Ribeirão Pires e Rio Grande da Serra, representando o reservatório de maior volume de acumulação da Empresa Metropolitana Águas e Energia - EMAE ($1,20 \times 10^9 m^3$).

A transformação do reservatório Billings em receptor de esgotos da grande São Paulo, deu-se a partir de 1950, com a reversão do rio Pinheiros e bombeamento

através da Usina Elevatória de Pedreira, fazendo-a comportar-se como uma imensa lagoa de estabilização (ROCHA, 1984). Desta maneira, o esgoto doméstico passou a ser o maior contribuinte para a deterioração do reservatório (LAMPARELLI, 1996).

Com relação aos sedimentos, observou-se sua deterioração no reservatório. O primeiro alerta referente à qualidade do lodo foi dado no começo da década de 50 (BERGAMIN, 1954 *apud* LAMPARELLI, op. cit.).

O reservatório Billings pode receber as águas da bacia do rio Tietê através da estação de recalque de Pedreira situada junto à barragem do rio Pinheiros, de onde suas águas são conduzidas para as usinas de Cubatão através da barragem reguladora do canal das Pedras ("Summit Control"). Através desta barragem, as águas passam para o reservatório do rio das Pedras, de onde são aduzidas diretamente para os sistemas geradores de energia. O reservatório atua como elemento regularizador das descargas de sua bacia contribuinte e das descargas do rio Tietê, que recebe através do rio Pinheiros (CETESB, 1998).

Em 1981, o reservatório foi seccionado por meio da construção da Barragem Anchieta, no Riacho Grande, junto à Via Anchieta, resultando em dois compartimentos: o de Pedreira e o do Rio Grande. O objetivo deste seccionamento foi preservar a qualidade das águas do compartimento do Rio Grande, do qual a Sabesp capta água para o abastecimento público.

Em 1992, como medida para permitir a despoluição do reservatório, foi suspenso o bombeamento dos rios Tietê e Pinheiros para o complexo Billings, sendo permitido apenas em situações emergenciais (CETESB, 1993a). Segundo a CETESB (1999), este manancial permitiu uma captação de 4,14 m^3/s em 1998.

Embora contribuindo para a geração de energia elétrica, este reservatório tem sido utilizado para diferentes atividades, incluindo lazer e pesca, bem como para o abastecimento de água da região ABC, através do manancial do reservatório do Rio Grande, situado na margem direita do reservatório Billings, e controle de cheias (CETESB, 1999).

As características morfométricas do reservatório Billings incluem uma área de 120 km^2 e volume de 1,20 x $10^9 m^3$. A área de drenagem é de 560 km^2 (Figura 1).

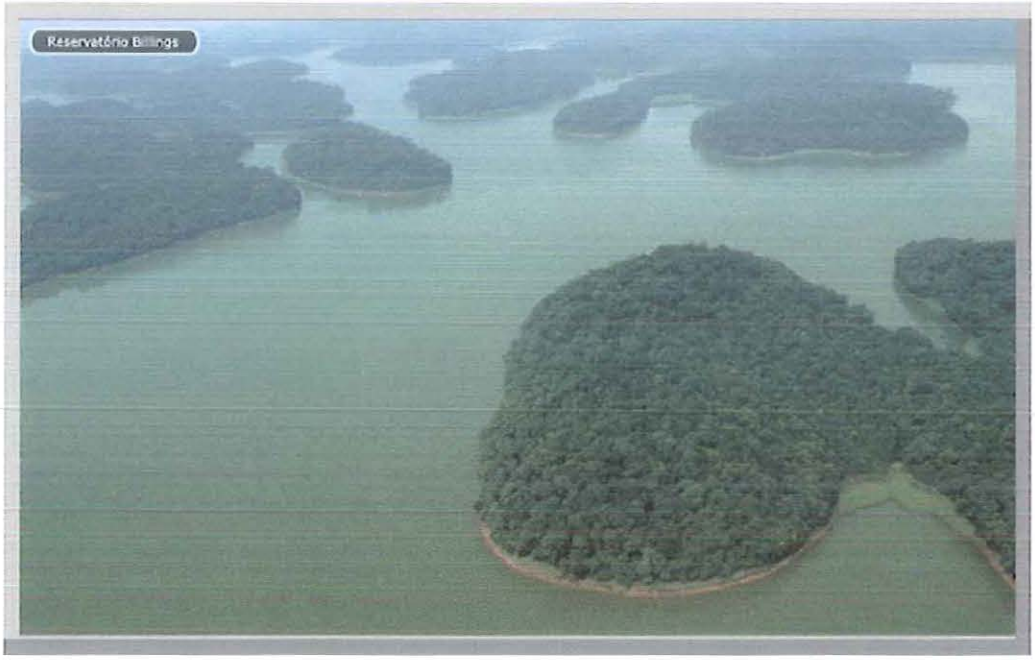

Figura 1 – Reservatório Billings (Fonte: EMAE, 2003)

4.1.2 - Reservatório de Rasgão

O reservatório de Rasgão localiza-se no município de Santana de Parnaíba, no trecho inicial do Médio Tietê, próximo à região metropolitana de São Paulo, a uma altitude de 661,60 metros, apresentando volume útil de 5629 x $10^3 m^3$. O reservatório foi construído com a finalidade de gerar energia elétrica, sendo que sua inauguração foi no ano de 1925 (LIGHT, 1975).

A forte e prolongada seca na primeira metade da década de 20, obrigou a Light, empresa canadense responsável pelo fornecimento de energia na época, a racionar o fornecimento de energia e comprar a preços elevados a energia gerada por outras empresas. Tal fato fez com que a Light decidisse construir uma usina hidroelética.

De acordo com a Empresa Metropolitana de Águas e Energia S.A – EMAE, o nome do reservatório tem origem no fato de que quase 2 séculos antes de sua

construção, foi feito um rasgão para desviar as águas do leito original do rio para proporcionar buscas por ouro, buscas estas que se tornaram infrutíferas.

Segundo o Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo (CETESB, 1999), o reservatório de Rasgão está contaminado por metais pesados, incluindo níquel, cádmio, cobre e chumbo. Além disso, o reservatório apresenta elevada carga orgânica doméstica, além de outros compostos orgânicos.

4.1.3- Reservatório de Barra Bonita

O reservatório de Barra Bonita (Figura 2) localiza-se na região do Médio Tietê Superior, a 22°33'S e 48°34'W, a uma altitude de 450m, distante cerca de 250 km da capital paulista, sendo o primeiro reservatório do sistema Tietê que forma o chamado complexo de cascata.

O reservatório foi construído principalmente para a geração de energia elétrica, sendo que o enchimento do reservatório teve início em junho de 1962, entrando em operação em 25 de maio de 1963.

Os principais rios formadores do reservatório de Barra Bonita são os rios Piracicaba e Tietê. No entanto, a área de drenagem pode ser dividida em dez sub-bacias: Atibaia, Camanducaia, Capivari, Corumbataí, Jaguari, Jundiaí, Médio Tietê Superior Alto, Médio Tietê Superior Baixo, Piracicaba e Sorocaba, contando ainda com a participação de inúmeros pequenos tributários (EYSINK, 1995; ONAGA, 1998).

A vegetação em torno do reservatório é constituída por monocultura intensiva de cana-de-açúcar, sendo que próximo à barragem localiza-se a maior representante do setor sucro-alcooleiro do mundo, a Usina da Barra, que emprega em torno de 9.000 funcionários (VALÊNCIO, 1996).

A área de drenagem é de 32.330 km^2, sendo que a área do reservatório corresponde a 310,5 km^2, com um volume de 3.135 x $10^6 m^3$ e perímetro de 525km.

A profundidade média é de 10,2 metros e a máxima de 20 metros, dependendo da precipitação e do controle de vazão (JUREIDINI, 1987 *apud* EYSIK, 1995).

Figura 2 - Reservatório Barra Bonita

4.1.4 - Reservatório de Bariri

O reservatório de Bariri é o segundo aproveitamento hidrelétrico da CESP, formado pelo barramento do rio Tietê, formando o chamado complexo de cascatas. Recebe água de fundo do reservatório de Barra Bonita, que durante o verão apresenta estratificação térmica, exportando água com baixa concentração de oxigênio e altos níveis de material orgânico (CESP, 1998).

Este reservatório é também conhecido como reservatório Álvaro de Souza Lima. Encontra-se entre os municípios de Bariri e Boracéia no estado de São Paulo (22° 06'S e 48° 45'W) a uma altitude de 420m. Possui três tributários significativos: rio Lençóis, rio Jaú e rio Bauru, que também contribuem com água poluída por efluentes domésticos e industriais. Localiza-se à jusante de Barra Bonita e à montante da Usina de Ibitinga (CESP, op. cit.).

O enchimento do reservatório ocorreu em 20 de setembro de 1965, com a finalidade principal de gerar energia elétrica e possibilitar a navegação fluvial no interior do estado.

As características físicas do reservatório de Bariri são: área alagada de 5.546 ha, área de drenagem de 35.430, vazão média anual de 443 m^3/s e tempo de residência da água de 14,2 dias, sendo considerado um reservatório "foi d'água". O volume total do reservatório é de 542 x $10^6 m^3$ e o volume útil é de 60 x $10^6 m^3$.

4.1.5 - Reservatório de Promissão

Segundo a Companhia Energética do Estado de São Paulo (CESP, 1990), o reservatório de Promissão (Figura 3) foi construído em 1974. Localiza-se no Médio Tietê, à jusante da UHE de Ibitinga, e nas proximidades da corredeira de Lajes, a 21°17'S; 49°47'W, altitude de 380 m, sobre solos arenosos, provenientes da Formação Adamantina, com alguns trechos de solos de origem basáltica, tais como na cabeceira do reservatório, na margem direita.

O reservatório insere-se em uma zona climática do tipo tropical sub-quente e úmido. A vegetação perimetral mais comum é de pastagem, campos de cultivo, capoeiras e áreas de reflorestamento.

Suas características morfométricas são: extensão de 110 km, área inundada de 60,5 x 10^3 ha, volume de 7,2 x 10^9 m^3, profundidade média de 12 m e vazão anual de 4385 m^3/s. A eclusa para navegação foi concluída em 1986, com largura útil de 12,0m, comprimento de 142m e calado de 3,50m.

Figura 3 – Reservatório de Promissão

4.1.6-Reservatório Pedro Beicht

O reservatório Pedro Beicht foi projetado para regularizar a vazão do Rio Cotia com sua descarga dirigida para a barragem da Cachoeira da Graça, que por sua vez vai elevar o nível de água para captação e edução por gravidade até a Estrada de tratamento do Morro Grande (COTIA NET, 2003).

Localiza-se no rio Cotia, a montante do município de Cotia. Esta área do rio é denominada Alto Cotia e encontra-se coberta por matas naturais da Reserva Estadual de Morro Grande (CETESB, 1993a).

O sistema Cotia utiliza dois mananciais, o Alto e o Baixo Cotia. O manancial Alto Cotia tem um sistema de água de excelente qualidade, captada do reservatório Pedro Beicht e protegida pela Reserva Florestal do Morro Grande, com 10 mil hectares de Mata Atlântica. Essa Reserva funciona como um filtro, barrando a entrada de nutrientes nas represas. Ainda assim, ocorrem ações humanas que representam ameaça para a área, como pesca e caça predatórias e atividades imobiliárias inadequadas (SABESP, 2003)

Segundo ARAÚJO (1998), o reservatório Pedro Beicht é adequado para ser utilizado como sedimento referência, verificando, em seu estudo, sobrevivência superior a 90% para *Hyalella meinerti* e ausência de contaminação por cobre, chumbo, cromo, manganês, mercúrio, níquel e zinco.

4.2- Procedimentos de campo para a coleta de amostras de sedimento

No presente estudo foram utilizadas amostras de sedimento dos reservatórios Billings, Rasgão, Barra Bonita, Bariri e Promissão, descritos no item anterior. Além disso, como em testes de toxicidade com amostras de sedimento é necessário incluir um sedimento conhecido como não tóxico, foram também utilizadas amostras de sedimento do reservatório Pedro Beicht, como sedimento referência. As amostras de sedimento foram coletadas próximo às barragens dos reservatórios. Os pontos de coleta encontram-se na Figura 4.

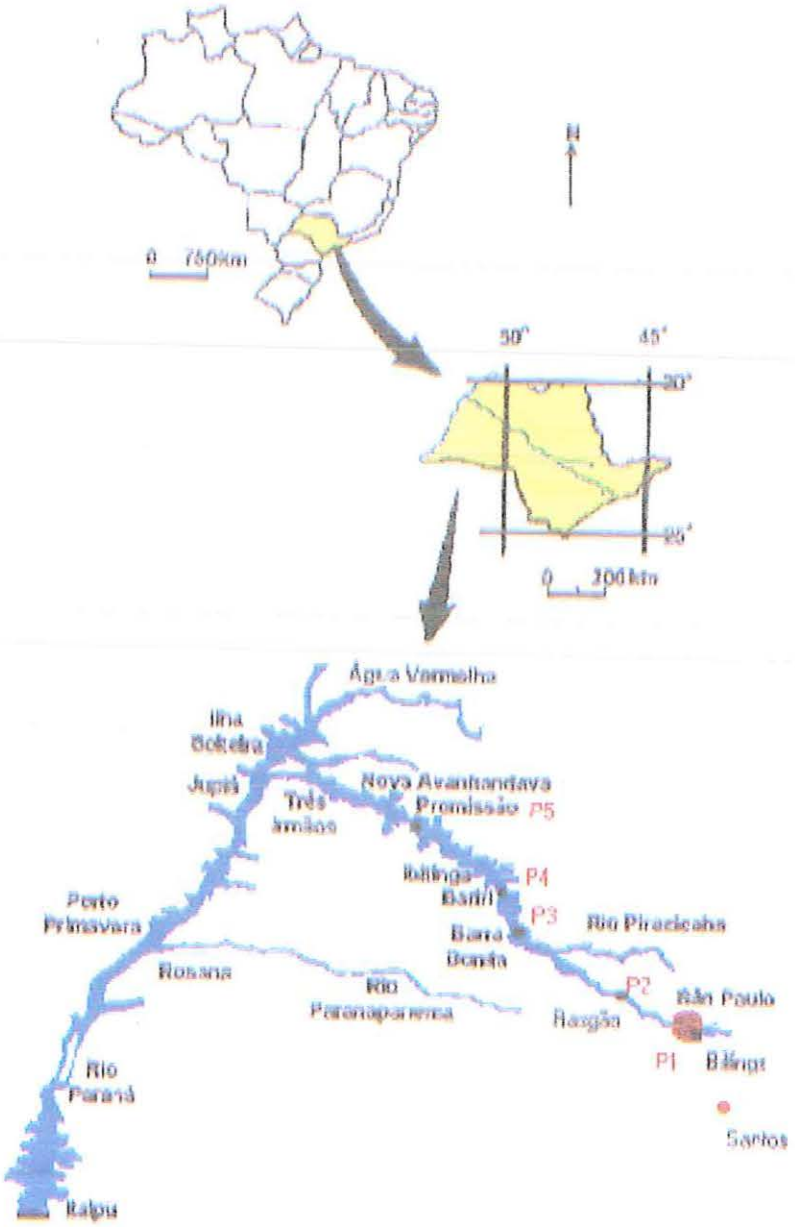

Figura 4 – Mapa do Estado de São Paulo, com a localização dos pontos de amostragem em alguns reservatórios do sistema Tietê/Paraná.

As amostras de sedimento foram coletadas com draga de Eckman-Birge modificada (Figuras 5 e 6). O sedimento coletado foi vertido em bandeja plástica, sendo que somente a porção superior do sedimento (0 a 6 cm) foi separada para utilização nos testes de toxicidade. O restante do sedimento foi descartado. As amostras foram acondicionadas em frascos plásticos descartáveis de boca larga para facilitar o manuseio em laboratório. A estocagem do material foi feita sob refrigeração (4°C) por no máximo quinze dias.

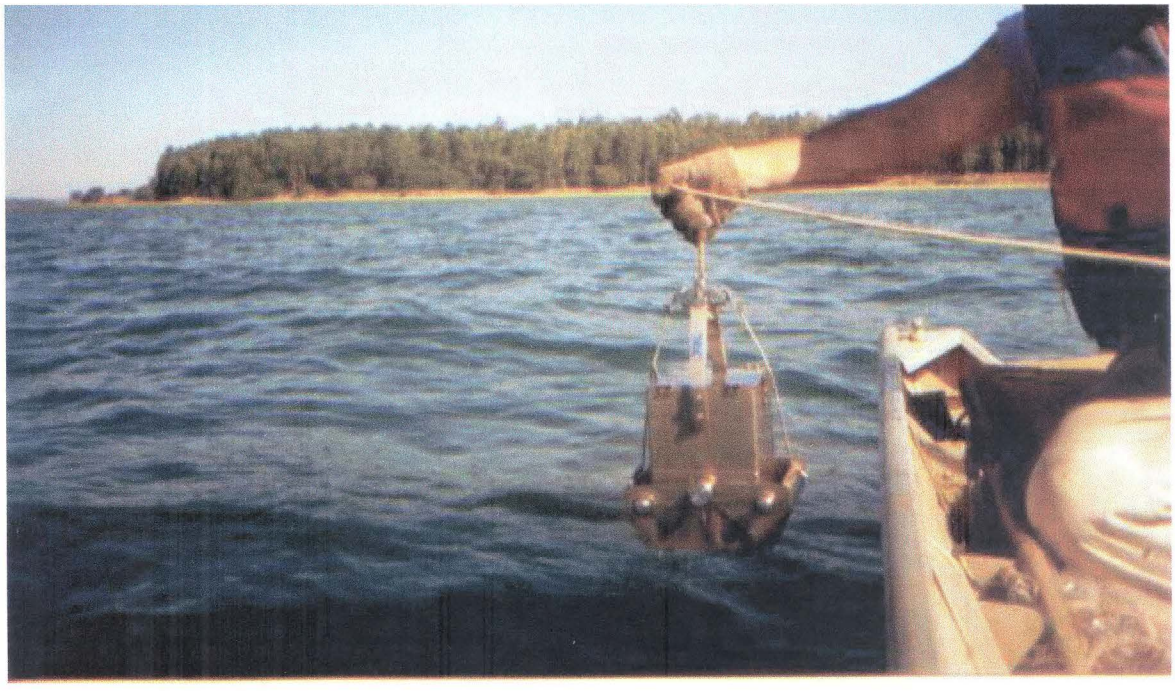

FIGURA 5 – Draga de Eckman-Birge modificada utilizada nas coletas de amostras de sedimento.

FIGURA 6 – Draga de Eckman-Birge modificada, evidenciando-se o "corte" da porção superior do sedimento.

4.3- Análises de Laboratório

Na tabela abaixo encontram-se as variáveis que foram analisadas em laboratório e os respectivos procedimentos metodológicos.

TABELA 2 – Variáveis analisadas na água de diluição dos testes realizados em laboratório.

Variáveis analisadas	Equipamento utilizado
pH	Potenciômetro Methrom Herisau E588
Condutividade	Condutivímetro Orion modelo 162
Oxigênio dissolvido	Oxímetro YSI modelo 58

4.3.1- Determinação de amônia total

A determinação de amônia total no sedimento foi realizada de acordo com os procedimentos descritos no Standard Methods (APHA *et. al.*, 1995).

Para a determinação de amônia total nas amostras de sedimento efetuou-se a preservação com ácido sulfúrico (pH $\leq$ 2). Posteriormente, foi utilizado o método colorimétrico automático com nitroprussiato de sódio, segundo o Standard Methods (APHA *et. al.*, 1989). O aparelho utilizado para medir a concentração de amônia total foi medidor de íons Orion Research modelo EA 920. A conversão para amônia não ionizada foi realizada associando-se os valores de amônia total, pH, temperatura e salinidade de cada amostra, através de uma planilha do Microsoft Excel originária do Southern Califórnia Coastal Water Research Project (Califórnia). A referida planilha produziu os mesmos resultados, calculados manualmente, conforme descrito por BOWDER & BIDWELL (1978).

4.4- Caracterização do organismo-teste

Os organismos da espécie *Hyalella azteca* são crustáceos da ordem dos anfípodos. Os anfípodos desempenham um papel importante nas comunidades aquáticas. Devido aos seus hábitos herbívoros e detritívoros, eles constituem um elo importante nas cadeias alimentares dos corpos de água em que ocorrem, possibilitando a transferência de energia produzida pelas algas e vegetais superiores para consumidores de nível trófico mais elevado (MOORE, 1975; MINSHALL, 1967 *apud* SAMPAIO, 1988). O gênero *Hyalella* é um importante componente da dieta de várias espécies de peixes, aves e salamandras (De MARCH, 1981; SAMPAIO, op. cit.).

Nos Estados Unidos, os anfípodos são amplamente distribuídos e comuns em águas claras e não poluídas, incluindo nascentes, córregos, poças, lagoas e lagos (PENNAK, 1989). Ocorrem também em águas de diferentes salinidades, incluindo-se estuários e lagos salgados (BURTON *et. al.*, 1992).

O gênero *Hyalella* apresenta o corpo abaulado, sendo comprimido lateralmente com a região posterior arredondada (NARCHI, 1973). O seu ciclo de vida pode ser dividido em três fases: imaturo, incluindo os primeiros cinco estágios; um estado juvenil, consistindo dos estágios seis e sete e um estágio adulto a partir do oitavo, sendo que o tempo de desenvolvimento e a duração do ciclo de vida destes organismos dependem da temperatura. Assim, à 15°C o crescimento e a maturação ocorrem muito mais lentamente (98 dias) do que a 20 ou 25°C (36 dias) (COOPER, 1965).

Segundo NARCHI (op. cit.), nos primeiros cinco estágios o sexo não pode ser distinguido. No sexto e no sétimo estágios, os sexos podem ser diferenciados. As fêmeas apresentam na superfície mediana das patas, dois, três, quatro e cinco lamelas finais terminando por longas cerdas situadas internamente às brânquias (Figura 7). Estas lamelas, denominadas oostegitos, formam uma larga bolsa contendo ovos em desenvolvimento, enquanto que no macho o segundo par de gnatópodos apresenta-se muito mais desenvolvido do que nas fêmeas. O acasalamento ocorre a partir do oitavo estágio e consiste no macho carregar a fêmea pela parte posterior, mantendo-a com o auxílio do segundo par de gnatópodos. Os indivíduos assim pareados permanecem por um a sete dias, ou até que a fêmea esteja pronta para passar para o primeiro estágio adulto. Os dois animais separam-se neste período por alguns minutos ou algumas horas, enquanto a fêmea está em processo de muda. O macho retorna, e os dois indivíduos tornam a se acasalar novamente, sendo que a copulação geralmente ocorre nas 24 horas subseqüentes (CETESB, 1998).

A copulação e a transferência do esperma ocorre rapidamente, sendo que o processo de transferência do esperma pode se repetir várias vezes, em intervalos de poucos minutos (PENNAK, 1989). Os animais geralmente se separam e a fêmea libera os seus óvulos do oviduto para o marsúpio, onde serão fertilizados. O número de ovos liberados pela fêmea depende do seu tamanho e idade, assim como da espécie (PENNAK, op. cit.; COOPER, op. cit.).

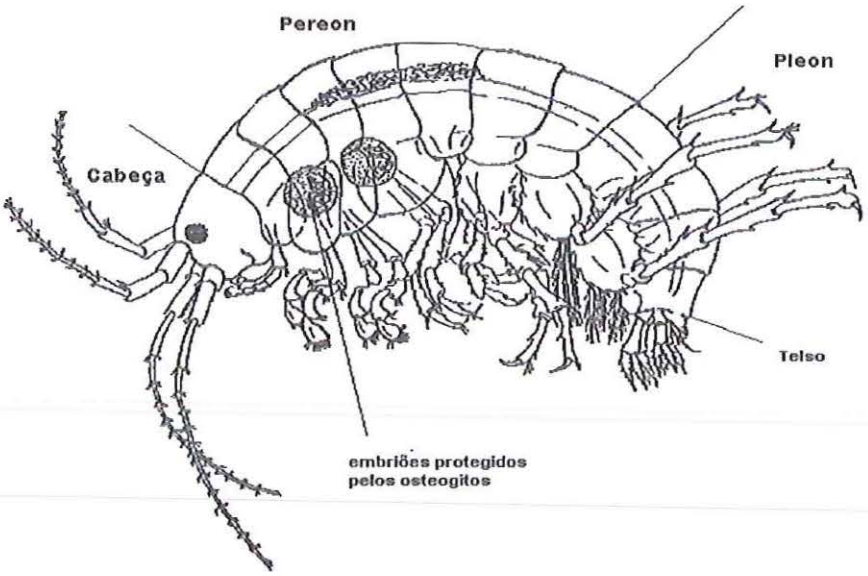

Figura 7 – Vista lateral de *Hyalella azteca* (fêmea), segundo NARCHI (1973).

4.5- Cultivo e manutenção de *Hyalella azteca*

De acordo com os procedimentos estabelecidos pela CETESB (2000), utilizou-se para o cultivo de *Hyalella azteca* cristalizadores de 4 litros com cerca de 2,5 litros de água de manutenção (Figura 8) com dureza entre 40 e 48 mg de $CaCO_3$/L, mantendo-se os organismos sob aeração branda, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 500 a 1000 lux, tendo como fonte luminosa duas lâmpadas fluorescentes de 40 W colocadas a 50-60 cm acima das culturas. A temperatura do local foi mantida a 23±2°C, utilizando-se ar condicionado. Além disso, as culturas foram mantidas em local limpo, isento de vapores tóxicos e substâncias químicas.

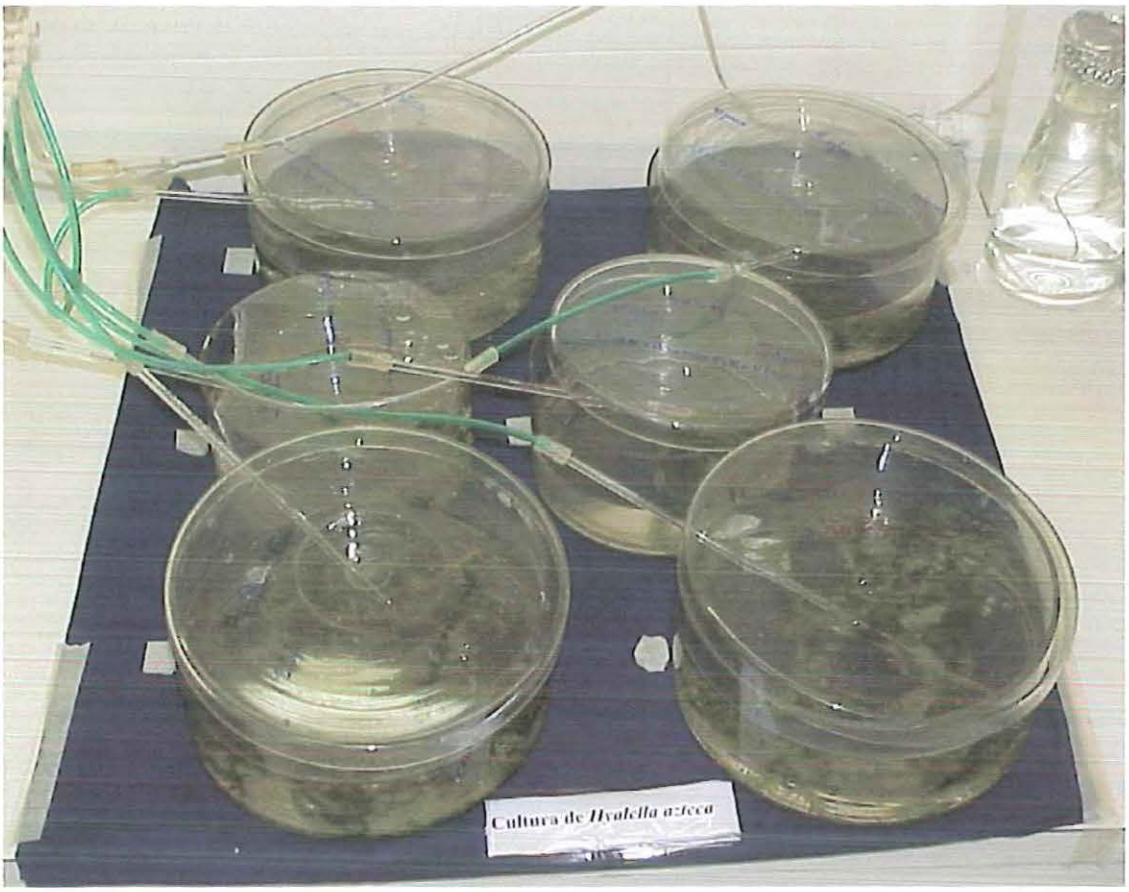

FIGURA 8 – Cultura de *Hyalella azteca.*

Hyalella azteca pode ser cultivada em uma variedade de substratos, sendo que as macrófitas aquáticas dos gêneros *Elodea* e *Salvinia* têm sido consideradas adequadas como substratos naturais para o cultivo destes organismos. Neste estudo, utilizou-se *Elodea* como substrato.

A alimentação apropriada é um outro aspecto a ser considerado no cultivo de organismos em condições de laboratório, de forma a garantir uma boa reprodução dos organismos. Forneceu-se diariamente aos cultivos, 2 mL/2,5L de alimento composto de ração de peixes e levedura (RL) (vide anexo) e um pouco de ração para coelho Purina® (15 a 20 mg/2,5L) para as culturas, contendo cerca de 100 organismos adultos. Todos os dias, após o fornecimento de alimento, registrou-se a temperatura da água e a temperatura máxima e mínima do ambiente.

Semanalmente, os organismos adultos (Figura 9) foram transferidos, com a ajuda de uma pipeta, para cristalizadores limpos. As plantas aquáticas foram

transferidas manualmente. Os organismos jovens foram transferidos para um outro cristalizador com o auxílio de uma peneira de 175μm de malha. Em cada novo lote de água, foram verificados os valores de temperatura, pH, dureza, condutividade e oxigênio dissolvido. A diferença de temperatura da água das culturas e do novo lote de água foi inferior a 2°C.

Além disso, nos dias de manutenção, foram observadas as condições da cultura, isto é, se os organismos adultos estavam acasalados, a coloração dos mesmos e a presença de jovens.

Periodicamente, deve-se dar início a novas culturas com os organismos jovens e reduzir o número de anfípodos de cada cultura, se necessário, sendo que os organismos devem ser manuseados cuidadosamente para se evitar condições estressantes. Isso foi feito uma vez a cada 4 (quatro) meses. Os recipientes das culturas foram usados apenas para esta finalidade e foram lavados com água de torneira, usando gazes cirúrgicas para remoção de materiais aderidos às paredes dos mesmos. O enxágüe foi feito com água de torneira e depois com água destilada três vezes.

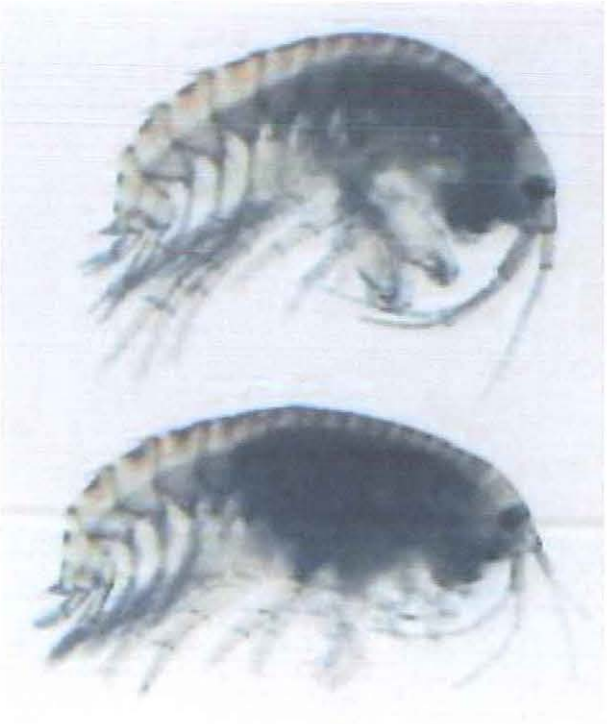

FIGURA 9 - *Hyalella azteca* fêmea (acima) e *H. azteca* macho (abaixo).

Hyalella azteca foi cultivada em água reconstituída, segundo KEATING (1985). Esta água, denominada de meio MS, consiste de uma solução de vários traços de metais e de nutrientes. A Tabela 3 apresenta os componentes deste meio.

Este meio tem sido utilizado com sucesso pelo Laboratório de Ecotoxicologia Aquática da CETESB desde 1995 para o cultivo de *Hyalella meinerti* e posteriormente para o cultivo de *Hyalella azteca*.

Antes e após o preparo de cada lote de água foram determinados o pH, a dureza, a condutividade e o oxigênio dissolvido, utilizando-se as metodologias e equipamentos descritos no item 4.3.

TABELA 3 – Componentes do Meio MS (KEATING, 1985)

COMPONENTES	**QUANTIDADE (mg/L)**
SOLUÇÃO M	
EDTA dissódico	5000,0
Ácido bórico (H_3BO_3)	1000,0
Cloreto férrico ($FeCl_3$)	400,0
Cloreto de manganês ($MnCl_2$)	200,0
Cloreto de lítio (LiCl)	100,0
Cloreto de rubídio (RbCl)	100,0
Cloreto de estrôncio ($SrCl_2.6H_2O$)	100,0
Brometo de sódio (NaBr)	50,0
Molibidato de sódio ($NaMoO_4.2H_2O$)	50,0
Cloreto de cobre ($CuCl_2.6H_2O$)	25,0
Cloreto de zinco ($ZnCl_2$)	25,0
Cloreto de cobalto ($CoCl_2.6H_2O$)	5,0
Iodeto de potássio (KI)	5,0
Óxido de selênio (SeO_2)	1,0
Metavanadato de amônio (NH_4VO_3)	0,5
Glicilglicina	250.000,0
Nitrato de sódio ($NaNO_3$)	50.000,0
Cloreto de cálcio ($CaCl_2.2H_2O$)	38.000,0
Sulfato de magnésio ($MgSO_4.7H_2O$)	20.000,0
Meta silicato de sódio ($NaSiO_3.9H_2O$)	10.000,0
Cloreto de potássio (KCl)	10.000,0
Fosfato de potássio dibásico ($K_2HPO_4.4H_2O$)	10.000,0
Fosfato de monobásico (KH_2PO_4)	10.000,0
VITAMINAS	
Vitamina B12	1,0

4.6- Testes de Toxicidade

4.6.1- Organismo-teste

Nos ensaios de toxicidade foram utilizados jovens de *Hyalella azteca* com 7 a 14 dias de vida, sendo que uma semana antes de iniciar-se os experimentos, os organismos foram separados com uma rede de malha de 375μm para se reter os adultos, e uma rede de malha de 175μm para se reter os organismos menores. Neste período, os organismos jovens foram mantidos nas mesmas condições da cultura.

4.6.2- Avaliação de Toxicidade em Sistema Estático utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (ASTM, 1993)

Foram realizados testes de toxicidade aguda em sistema estático, ou seja, sem renovação de água, de acordo com os procedimentos preconizados por ASTM (1993). Na tabela 4 estão apresentadas, resumidamente, as condições para a realização do testes de toxicidade com sedimento com *Hyalella azteca*.

TABELA 4 – Condições para a realização de testes de toxicidade com sedimento com *Hyalella azteca*, segundo ASTM (1993).

Sistema	Estático
Temperatura (°C)	23 ± 2
Qualidade/intensidade de luz	Lâmpadas fluorescentes/500 a 1000 lux
Fotoperíodo	16h claro/ 8h escuro
Recipiente	Béqueres de 400 ml
Razão água/sedimento	4 : 1
Volume de água (ml)	300
Volume de sedimento	75 gramas
Aeração	Sim
Idade dos organismos	7 a 14 dias
N ° de organismos por réplica	10
N ° de réplicas	4
Duração do teste	10 dias (agudo)
Regime de alimentação	1,5 ml de RL a cada dois dias
Aceitabilidade	80% de sobrevivência no controle
Expressão dos resultados	% mortalidade

4.6.3-Avaliação de Toxicidade em Sistema Estático utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (BORGMANN & NORWOOD, 1999)

Foram realizados testes de toxicidade aguda, de acordo com os procedimentos recomendados por BORGMANN & NORWOOD (1999). A tabela 5 apresenta as condições para a realização de testes de toxicidade com *Hyalella azteca*, segundo BORGMANN & NORWOOD (op. cit.), de forma resumida.

TABELA 5 - Condições para a realização de testes de toxicidade com sedimento com *Hyalella azteca*, segundo BORGMANN & NORWOOD (1999).

Sistema	Estático
Temperatura (°C)	23 ± 2
Qualidade/intensidade de luz	Lâmpadas fluorescentes/500 a 1000 lux
Fotoperíodo	16h claro/ 8h escuro
Recipiente	Cones de Imhoff de 1 litro
Razão água/sedimento	67: 1
Volume de água (ml)	1000
Volume de sedimento	15 gramas
Aeração	Sim
Idade dos organismos	7 a 14 dias
N ° de organismos por réplica	10
N ° de réplicas	4
Duração do teste	10 dias (agudo)
Regime de alimentação	1,5 ml de RL a cada dois dias
Aceitabilidade	80% de sobrevivência no controle
Expressão dos resultados	% mortalidade

4.6.4 -Avaliação de Toxicidade em Sistema Semi-estático utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (USEPA, 1994)

Foram realizados testes de toxicidade aguda, de acordo com os procedimentos recomendados pela USEPA (1994). A tabela 6 apresenta as condições para a realização de testes de toxicidade com *Hyalella azteca*, segundo USEPA (op. cit.), de forma resumida.

TABELA 6 - Condições para a realização de testes de toxicidade com sedimento com *Hyalella azteca*, segundo USEPA (1994).

Sistema	Semi-estático
Temperatura (°C)	23 ± 2
Qualidade/intensidade de luz	Lâmpadas fluorescentes/500 a 1000 lux
Fotoperíodo	16h claro/ 8h escuro
Recipiente	Béqueres de 400 mL
Razão água/sedimento	1,75:1
Volume de água (ml)	175
Volume de sedimento	100mL
Renovação da água	2 vezes ao dia
Aeração	Sim
Idade dos organismos	7 a 14 dias
N ° de organismos por réplica	10
N ° de réplicas	4
Duração do teste	10 dias (agudo)
Regime de alimentação	1,5 ml de RL a cada dois dias
Aceitabilidade	80% de sobrevivência no controle
Expressão dos resultados	% mortalidade

4.7 - Controle dos ensaios de toxicidade

4.7.1- Sensibilidade do organismo-teste

É considerada prática importante a realização de testes de toxicidade com uma substância de referência como procedimento de garantia de qualidade. Os testes de toxicidade com uma substância de referência podem fornecer uma estimativa da variabilidade da sensibilidade dos organismos-teste (USEPA, 2000).

Desta maneira, mensalmente foi avaliada a sensibilidade de um lote de organismos-teste através da CL50: 48h à substância dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$).

O dicromato de potássio tem sido indicado como substância de referência na avaliação da sensibilidade de culturas de microcrustáceos e peixes, pela Organização Internacional de Padronização (ISO, 1982 a e b), Environmental Canada (1990) e CETESB (1990c; 1994c). CETESB (2000), recomenda o uso de dicromato de potássio como substância referência para avaliação da sensibilidade de *Hyalella azteca e Hyalella meinerti*..

TABELA 7 – Condições para a realização de testes de toxicidade aguda com dicromato de potássio como substância de referência utilizando *Hyalella azteca).*

Sistema	Estático
Água de diluição	Natural
Dureza da água	40 – 48 mg/L $CaCO_3$
Temperatura	24 ± 1°C
Qualidade/intensidade da luz	Lâmpadas fluorescentes do tipo luz do dia/500 a 1000 lux
Fotoperíodo	16 horas luz e 8 horas escuro
Recipiente	Béqueres de 400 mL
Aeração	Não
Idade dos organismos	7 a 14 dias
Número de organismos/béquer	10
Número de réplicas	4
Número de concentrações	5 a 6
Volume de solução-teste	250m l
Duração	48h
Alimentação	Nenhuma
Controle	Água de diluição + organismos-teste
Aceitabilidade	80% de sobrevivência no controle
Expressão dos resultados	CL50 48h, em mg/L

4.8- Análise estatística dos resultados

Para a realização da análise estatística dos resultados foi utilizado o programa TOXTAT 3.5 (WEST INC. & GULLEY, 1996), tendo sido considerados válidos os resultados que no término do período de teste, apresentaram uma porcentagem de organismos mortos no controle inferior a 20%, mantendo-se a temperatura para os testes na faixa de 23 a 25°C.

Com os resultados, foi feita uma comparação do controle com as outras amostras quanto a mortalidade dos organismos. Esta comparação foi feita através de testes estatísticos, que podem detectar se há diferença significante entre o controle e alguma amostra, sendo que quando isto ocorreu, a amostra foi considerada tóxica. Para tanto, foi aplicada aos dados uma análise estatística, verificando-se a existência ou não de diferença significativa entre o controle e as amostras dentro de um determinado nível de erro fixado. Inicialmente aplicou-se aos dados um teste de normalidade como o do X^2, Shapiro-Wilk, para avaliar se existem diferenças entre observações individuais e o valor médio dos tratamentos. Posteriormente, foi testada a homogeneidade de variâncias, isto é, a homocedasticidade, podendo ser aplicados os testes de Bartlett e Hartley. Quando os dados tiveram uma distribuição normal e foram homocedásticos, foram aplicados os testes t-Student e análise de variância (ANOVA). Quando os dados não seguiram uma distribuição normal ou não foram homocedásticos, foram aplicados os testes não paramétricos Steel many-one rank e Wilcoxon rank-sum (USEPA, 1994).

CAPÍTULO I

COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS PARA A REALIZAÇÃO DE TESTES DE TOXICIDADE COM SEDIMENTO, UTILIZANDO *Hyalella azteca* COMO ORGANISMO-TESTE

1. INTRODUÇÃO

O sedimento fornece habitat para muitos organismos aquáticos e é o principal depósito de muitas das mais persistentes substâncias químicas que são introduzidas nas águas superficiais. No ambiente aquático, muitas substâncias químicas antropogênicas e resíduos de materiais incluindo orgânicos tóxicos e químicos inorgânicos, eventualmente acumulam-se no sedimento (USEPA, 2000). Os sedimentos contaminados podem ser diretamente tóxicos à vida aquática ou podem ser uma fonte de contaminantes para bioacumulação na cadeia alimentar.

A capacidade do sedimento em acumular compostos faz deste compartimento um dos mais importantes na avaliação da qualidade de ecossistemas aquáticos (ESTEVES, 1988; REYNOLDSON & DAY, 1993), tornando-se assim necessário avaliar o grau de contaminação destes ambientes de forma a se obter informações úteis para o gerenciamento dos ecossistemas aquáticos. Para tanto, pode-se utilizar três abordagens: análises físicas e químicas que irão fornecer dados sobre o grau de contaminação, análise da estrutura da comunidade bentônica e testes

de toxicidade, para avaliar os possíveis efeitos sobre a biota aquática (BURTON, 1994), sendo que os testes de toxicidade com sedimento são uma importante parte dos procedimentos usados para avaliar efeitos ecológicos de sedimentos contaminados (KUBITZ *et. al.*, 1995)

O objetivo de testes de toxicidade com sedimento é determinar se contaminantes no sedimento são prejudiciais ou são bioacumulados por organismos bênticos e planctônicos. Eles podem ser usados para determinar a relação entre efeitos tóxicos e biodisponibilidade; investigar interações entre contaminantes, comparar a sensibilidade de diferentes organismos, determinar a distribuição espacial e temporal de contaminação, avaliar riscos de material dragado, medir a toxicidade como parte de licenciamento de produtos, além de classificar áreas para limpeza e determinar objetivos de limpeza, estimando a eficiência da remediação ou práticas de manejo (INGERSOLL, 1995; USEPA, 2000).

Para interpretar e comparar resultados obtidos em testes de toxicidade, é necessário que haja uma padronização dos bioensaios (WALL *et. al.*, 1998). Nos últimos anos, tem havido um grande interesse no desenvolvimento e aperfeiçoamento de metodologias para avaliar o grau de contaminação de sedimentos.

BENOIT *et. al.* (1993), descreveram um sistema de renovação intermitente de água para testar a toxicidade de sedimentos. Segundo os autores, este sistema não só reduz o trabalho laboratorial associado à renovação de água, mas também permite que a troca de água seja feita suavemente, evitando assim a ressuspensão do sedimento.

ZUMWALT *et. al.* (1994), também descreveram um sistema de liberação de água para distribuir pequenos volumes de água nos béqueres-teste na condução de testes com sedimento. Este sistema seria vantajoso por ser relativamente barato, fácil de construir, fácil de calibrar sendo capaz de liberar pequenos volumes de água com precisão.

Em 1994, a U.S. Environmental Protection Agency (USEPA), publicou métodos padronizados para determinar a toxicidade e bioacumulação de contaminantes associados a sedimentos com organismos de água-doce. Nesta publicação, foram descritos métodos para a realização de testes de toxicidade aguda (10 dias) com *Hyalella azteca e Chironomus tentans.* A USEPA indicou que o

sistema de liberação de água poderia seguir as recomendações de BENOIT *et. al.* (1993) ou de ZUMWALT *et. al.* (1994), uma vez que os dois métodos são comparáveis. De acordo com o protocolo descrito pela USEPA (1994), a ASTM (1995) adotou o procedimento de renovação da água de diluição.

WINGER & LASIER, (1993), compararam a sensibilidade de *Hyalella azteca* em testes com sedimento em sistema estático e estático com renovação. Neste último, durante o processo de renovação os animais foram transferidos com o auxílio de uma pipeta para o béquer com água e sedimento "renovado".

WALL *et. al.*, (1998), desenvolveram um sistema de fluxo contínuo para renovar a água intermitentemente em testes de toxicidade com sedimento. Em seus experimentos, utilizando o quironomídeo *Chironomus riparius* como organismo-teste, concluíram que a renovação intermitente da água de diluição mantém a qualidade da água em níveis aceitáveis, sendo necessário, entretanto, submeter os organismos-teste a um aumento de variabilidade das condições da água. A renovação intermitente da água sem a aeração artificial provocou um decréscimo no crescimento de *C. riparius*. Por outro lado, o custo da construção deste tipo de aparelho é alto.

BORGMANN & NORWOOD (1999), sugeriram a utilização de testes estáticos com elevada razão de água para sedimento como alternativa à realização dos testes estáticos tradicionalmente utilizados, onde a proporção de água/sedimento é 4/1, e aos testes de renovação de água.

A proporção de água/sedimento proposta por BORGMANN & NORWOOD (1999), foi de 67/1. Em razão da grande proporção de água para sedimento e para que uma razoável profundidade de sedimento fosse mantida, foram selecionados como câmaras-teste os cones de Imhoff de 1L. O cone de Imhoff, por não possuir laterais verticais como os béqueres, facilita a sedimentação e impede que os organismos grudem em sua superfície por longos períodos.

Em 2000, a USEPA publicou a segunda edição de métodos para medidas de toxicidade e bioacumulação de contaminantes associados ao sedimento utilizando invertebrados de água doce. Nesta publicação, a conceituada agência americana descreveu a metodologia para testar os efeitos de contaminantes associados a

sedimentos sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução de *H. azteca* em testes de longo prazo (28 a 42 dias), a 23± °C.

Para a realização de testes de toxicidade, deve-se levar em conta que vários fatores podem afetar a precisão dos testes, incluindo os organismos-teste, sua idade, condições, sensibilidade, sistema/controle de qualidade da água, manuseio e alimentação dos organismos, qualidade da água de diluição e treinamento do pessoal de laboratório (BURTON, *et. al.*, 1996; WALL *et. al.*, 1998).

A espécie epibêntica *Hyalella azteca* tem se mostrado um dos organismos mais promissores em testes de toxicidade aguda e crônica com sedimentos de água-doce (BURTON *et. al.*, 1992; ASTM, 1995; USEPA, 2000). Este organismo possui uma série de características adequadas para o seu uso em testes de toxicidade, tais como tempo de geração relativamente curto, fácil coleta em ambiente natural e fácil cultivo em laboratório. Em estudos comparativos com outras espécies, tem sido verificado que *Hyalella azteca* apresenta boa sensibilidade, além de boa tolerância a diferentes tipos de sedimentos. (USEPA, op. cit.)

Outra característica desejável para um organismo-teste é ter um banco de dados para comparações interlaboratoriais. BURTON *et. al.* (1996), realizaram um estudo interlaboratorial de precisão de testes de toxicidade com sedimentos, utilizando como organismos-teste *Hyalella azteca* e *Chironomus tentans.* Participaram do estudo, laboratórios do governo americano, laboratórios contratados e laboratórios acadêmicos e os testes de toxicidade aguda foram feitos em sistema semi-estático, utilizando o sistema automático de renovação de água sugerido por BENOIT *et. al.*, (1993). Os resultados mostraram que há precisão interlaboratorial em níveis aceitáveis.

No Estado de São Paulo, testes de toxicidade têm sido utilizados pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB, assim como pela Universidade de São Carlos (UFSCar) e o Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA) da Universidade de São Paulo, para avaliar a qualidade das águas de diferentes regiões, bem como oferecer parâmetros em relação aos padrões de emissão de substâncias tóxicas geradas pelas indústrias nos corpos receptores.

A avaliação da qualidade do sedimento através de testes de toxicidade aguda em sistema estático (ASTM, 1993), utilizando o anfípodo *Hyalella azteca* como organismo-teste, vem sendo utilizado há alguns anos pela CETESB.

Entretanto, não há renovação de água no decorrer do teste e com isso a qualidade da água de diluição em alguns casos, pode se deteriorar, chegando a níveis inaceitáveis. Este fato pode inviabilizar os testes, sobretudo quando se trata de testes de toxicidade crônica que têm duração de 28 dias. Desta maneira, em relação a testes com sedimento, a CETESB tem como procedimento realizar apenas testes de toxicidade aguda.

Alguns pesquisadores têm encontrado como solução para esse problema, a renovação da água de diluição (ANKLEY *et. al.*, 1993, USEPA, 1994; 2000). Entretanto, a renovação de água é trabalhosa ou requer a construção e manutenção de um aparelho especial, o que tornaria a realização do teste mais cara.

Além disso, alguns estudos demonstraram que a renovação de água tem o potencial de volatilizar algumas substâncias tóxicas para fora da câmara-teste, reduzindo a toxicidade artificialmente (INGERSOLL & NELSON, 1990; ANKLEY *et. al.*, 1993). Como exemplo, segundo WHITEMAN *et. al.* (1996), a amônia é removida do sedimento durante a renovação da água de diluição, podendo alterar o resultado de um teste de toxicidade com sedimento.

Assim, com o objetivo de comparar os resultados obtidos de metodologias utilizadas em testes toxicidade de sedimentos, preconizadas por ASTM (1993), BORGMANN & NORWOOD (1999) e USEPA, (1994) e avaliar a viabilidade da implantação destas metodologias em laboratórios brasileiros, levando-se em conta a realidade dos mesmos, foram realizados testes de toxicidade aguda em sistemas estático e semi-estático, com sedimentos de cinco reservatórios do Estado de São Paulo.

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo comparar três metodologias diferentes para a realização de testes de toxicidade com sedimento, avaliar a viabilidade de sua implantação no laboratório de Ecotoxicologia Aquática da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB e fornecer subsídios para que outros laboratórios possam implantar a metodologia que melhor se enquadrar à sua realidade. Para tanto, foram realizados:

- Testes de toxicidade aguda com *Hyalella azteca*, em sistema estático, segundo a ASTM (1993).

- Testes de toxicidade aguda com *Hyalella azteca*, em sistema estático, segundo BORGMANN & NORWOOD (1999).

- Testes de toxicidade aguda com *Hyalella azteca*, em sistema semi-estático, segundo USEPA (1994).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Áreas de estudo

Para a realização deste trabalho metodológico, foram coletados sedimentos de 6 reservatórios localizados no Estado de São Paulo, já descritos no item 4.1: Pedro Beicht, Billings, Rasgão, Bariri, Barra Bonita e Promissão.

Todo teste de toxicidade com sedimento deve incluir um sedimento controle (controle negativo), ou seja, um sedimento que seja livre de contaminantes e que seja rotineiramente usado para avaliar a aceitabilidade do teste. Para esta finalidade, utilizou-se o sedimento do reservatório de Pedro Beicht, o qual vem sendo utilizado com sucesso pela CETESB para este mesmo propósito.

3.2 – Comparação das metodologias descritas por ASTM (1993), USEPA (1994) e BORGMANN & NORWOOD (1999)

Foram realizados testes de toxicidade aguda, utilizando-se simultaneamente as três metodologias citadas. Entretanto, para viabilizar a realização dos testes, levando-se em conta o espaço físico disponível no laboratório, os testes foram realizados em três etapas:

ETAPA 1:

Foram realizados testes com os sedimentos dos reservatórios Billings, Rasgão e o sedimento controle Pedro Beicht. Os testes de toxicidade aguda iniciaram-se em 17/10/2000 e foram encerrados em 27/10/2000.

ETAPA 2:

Foram realizados testes com o sedimento do reservatório Barra Bonita e com o sedimento controle Pedro Beicht. Os testes de toxicidade aguda iniciaram-se em 31/10/2000 e foram encerrados em 10/11/2000.

ETAPA 3:

Foram realizados testes com os sedimentos dos reservatórios Bariri, Promissão e o sedimento controle Pedro Beicht. Os testes de toxicidade aguda iniciaram-se em 19/06/2001 e foram encerrados em 29/06/2001.

3.2.1 Avaliação de Toxicidade em Sistema Estático utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (ASTM, 1993)

Os testes foram realizados em béqueres de vidro com capacidade para 400 mL na proporção 1:4. Assim, aos béqueres de 400 mL foram adicionados 75 mL de

sedimento e 300 mL de água de diluição, considerando-se 4 réplicas por amostra (Figuras 10A e 10B).

Os sedimentos foram previamente homogeneizados e colocados no recipiente-teste um dia antes da adição dos organismos. Após a adição do sedimento nos frascos, foi adicionada cuidadosamente a água de diluição, tentando-se evitar ao máximo a ressuspensão de sedimento. Os frascos foram então recobertos com placas transparentes de PVC.

No dia seguinte logo pela manhã, as amostras foram colocadas em aeração branda. Cerca de duas horas antes do início do teste, foram feitas medidas de oxigênio dissolvido, pH, condutividade e amônia em duas réplicas de cada amostra. Feito isto, foram adicionados 10 organismos-teste em cada frasco experimental., desde que a medida de oxigênio dissolvido estivesse igual ou superior a 4,0 mg/L. Neste momento, iniciou-se o teste, por um período de 10 dias.

Durante os experimentos, os organismos foram alimentados com uma suspensão de 1 g de ração para coelho em 300 mL de água destilada, uma vez a cada dois dias (0,15 mL/organismo). A temperatura do local do teste foi mantida a 23±2°C, com fotoperíodo de 16h e intensidade luminosa de 500 a 1000 lux.

Segundas, quartas e sextas-feiras foram feitas medidas de pH, condutividade, oxigênio dissolvido e amônia de duas réplicas de cada amostra. No dia do término dos testes, foram feitas medidas de oxigênio dissolvido, pH, condutividade e amônia da água de diluição dos béqueres-teste.

No final do teste, o sedimento foi passado por peneira com malha de 175 μm e lavado em água corrente. O material retido na peneira foi transferido com o auxílio de água corrente, para um recipiente de plástico, onde se procedeu a contagem do número de organismos vivos e mortos. Os organismos desaparecidos foram considerados mortos.

FIGURA 10A – Testes de toxicidade em sistema estático em proporção de água/sedimento de 4/1, segundo ASTM, 1993.

FIGURA 10B – Testes de toxicidade aguda em sistema estático em proporção de água/sedimento de 4/1, segundo ASTM, 1993.

3.2.2 Avaliação de Toxicidade em Sistema Estático utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (BORGMANN & NORWOOD, 1999)

Os testes foram realizados em cones de Imhoff de vidro com capacidade de 1 litro. A proporção de água e sedimento foi de 67 (sessenta e sete) partes de água para 1 (uma) de sedimento. Desta maneira, aos cones de Imhoff foi adicionado 1 L de água de diluição e 15 mL de sedimento, considerando-se 4 réplicas por amostra.

BORGMANN & NORWOOD (1999), quando sugeriram este procedimento, tinham a preocupação com a diminuição do diâmetro que ocorre na utilização dos cones como câmara-teste e se isto poderia causar problemas relacionados à densidade, já que a adição de 15 mL de sedimento resultou em uma profundidade de sedimento de cerca de 2,3 cm e uma superfície circular de 3,1 cm de diâmetro. Já em um béquer de 250 mL, segundo os autores, a profundidade seria de cerca de 1,3 cm e o diâmetro de 6,3 cm (Figura 11).

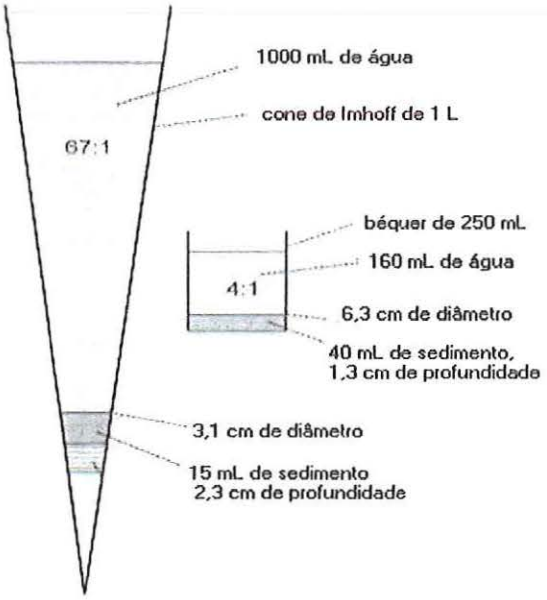

FIGURA 11 - Representação diagramática de 1 cone de Imhoff (1 litro) usado como câmara-teste (razão água/sedimento de 67/1) e comparação com béquer de 250 mL (razão água/sedimento de 4/1).

As amostras de sedimento foram previamente homogeneizadas e colocadas no recipiente-teste um dia antes da adição dos organismos, não tendo sido necessária a triagem do sedimento devido à ausência de outros organismos. Após a adição do sedimento nos frascos, foi adicionada cuidadosamente a água de diluição, tentando-se evitar ao máximo a ressuspensão do mesmo. Os cones foram cobertos com filme plástico para evitar a evaporação da água de diluição (Figuras 12A e 12B).

FIGURA 12A – Testes de toxicidade realizados na proporção água/sedimento 67/1, segundo BORGMANN & NORWOOD (1999).

FIGURA 12B – Testes de toxicidade realizados na proporção água/sedimento 67/1, segundo BORGMANN & NORWOOD (1999).

No dia da adição dos organismos às amostras, logo pela manhã, foi adicionada aeração branda. No período da tarde, foram feitas medidas de pH, condutividade, amônia e oxigênio dissolvido em duas réplicas de cada amostra e os organismos foram adicionados às amostras desde que o oxigênio dissolvido estivesse igual ou superior a 4,0 mg/L. Foram adicionados 10 (dez) organismos-teste em cada frasco experimental e o período do teste foi de 10 dias, avaliando-se a sobrevivência dos organismos após este período.

Durante os experimentos, os organismos foram alimentados com uma suspensão de 1g de ração para coelho em 300 mL de água destilada, uma vez a cada dois dias (0,15 mL/organismo). A temperatura do local do teste foi mantida a 23±2°C, com fotoperíodo de 16h e intensidade luminosa de 500 a 1000 lux.

Segundas, quartas e sextas-feiras foram feitas medidas de pH, condutividade, oxigênio dissolvido e amônia de duas réplicas de cada amostra. No dia do término dos testes, foram feitas medidas de oxigênio dissolvido, pH, condutividade e amônia

da água de diluição dos cones de Imhoff. No final dos testes, o sedimento foi passado por peneira com malha de 175μm e lavado em água corrente. O material retido na peneira foi transferido com o auxílio de água corrente, para um recipiente de plástico, onde se procedeu a contagem do número de organismos vivos e mortos. Os organismos desaparecidos foram considerados mortos.

3.2.3 Avaliação de Toxicidade em Sistema Semi-estático utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (USEPA, 1994)

Para a realização dos testes de toxicidade, segundo a USEPA (1994), foram construídos equipamentos especiais para a liberação uniforme de água. O sistema foi idealizado por ZUMWALT *et. al.* (1994), como mostra a Figura 13. Segundo os autores, o sistema é barato, fácil de construir e de calibrar, liberando com precisão, pequenos volumes de água.

Para a construção do sistema de liberação de água foi utilizado o seguinte material:

- Placas de acrílico
- Placas de PVC
- Seringas de 25 mL de polipropileno
- Agulhas calibre 18
- Béqueres recortados
- Tela de aço inoxidável
- Silicone adesivo
- Parafusos em aço inox rosca de 1/8 x 1
- Barras roscadas em aço inox 7/16 mm
- Tubos ("mangueiras" de silicone)
- rolhas

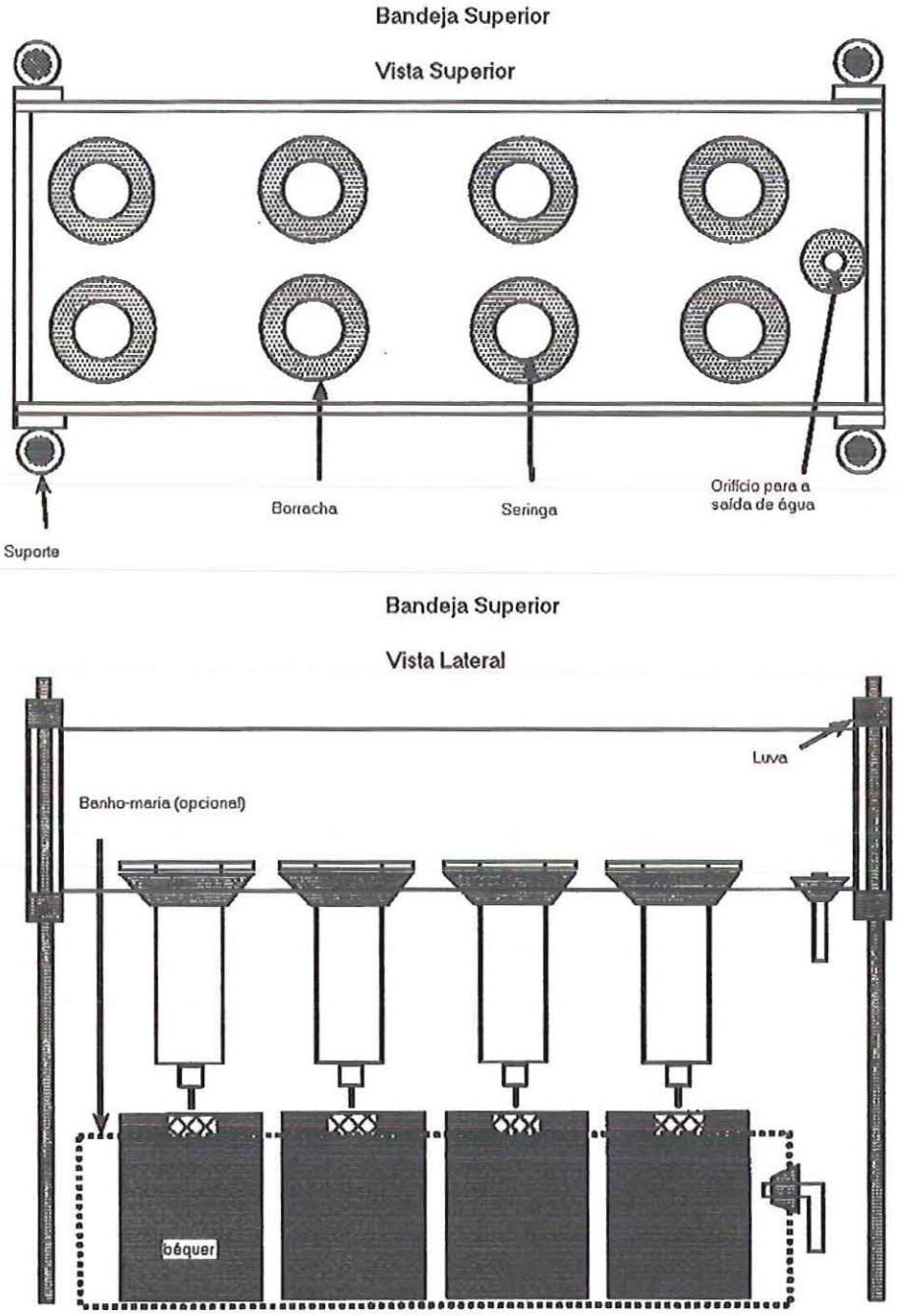

FIGURA 13 - Desenho esquemático do Sistema de liberação de água descrito por ZUMWALT *et. al.* (1994)

Após sua construção, o equipamento foi calibrado e testado várias vezes antes dos testes de toxicidade serem iniciados.

Os testes foram realizados em béqueres de vidro com capacidade para 400 mL. A proporção de água e sedimento indicada é de 2:1. Assim, aos béqueres de 400 mL, foram adicionados 175 mL de água e 100 mL de sedimento, considerando-se 4 réplicas por amostra.

Os sedimentos foram previamente homogeneizados e colocados no recipiente-teste um dia antes da adição dos organismos. Após a adição do sedimento nos frascos, foi adicionada cuidadosamente a água de diluição, tentando-se evitar ao máximo a ressuspensão do mesmo. Os frascos foram então recobertos com placas transparentes de PVC (Figura 14A e 14B).

No dia seguinte, logo pela manhã, as amostras foram colocadas em aeração branda. Cerca de duas horas antes do início do teste, foram feitas medidas de oxigênio dissolvido, pH, condutividade e amônia em duas réplicas de cada amostra. Feito isto, foram adicionados 10 organismos-teste em cada frasco experimental, desde que a medida de oxigênio dissolvido estivesse igual ou superior a 4,0 mg/Litro. Neste momento iniciou-se o teste. O período do teste de toxicidade aguda foi de 10 dias, avaliando-se a mortalidade dos organismos após este período.

Durante os experimentos, os organismos foram alimentados com uma suspensão de 1g de ração para coelho em 300 mL de água destilada, uma vez a cada dois dias (0,15 mL/organismo). A temperatura do local do teste foi mantida a 23±2°C, com fotoperíodo de 16h e intensidade luminosa de 500 a 1000 lux.

Diariamente, inclusive aos finais de semana, a água de diluição foi renovada às 08:00 horas e às 18:00 horas. A troca de água foi feita manualmente, utilizando-se o sistema de renovação de água, o qual foi calibrado todos os dias, logo pela manhã. Segundas, quartas e sextas-feiras foram feitas medidas de pH, condutividade, oxigênio dissolvido e amônia de duas réplicas de cada amostra. No dia do término dos testes, foram feitas as medidas de oxigênio dissolvido, pH, condutividade e amônia da água de diluição dos béqueres-teste.

No final dos testes, o sedimento foi passado por peneira com malha de 175 μm e lavado em água corrente. O material retido na peneira foi transferido com o auxílio de água corrente, para um recipiente de plástico, onde se procedeu a contagem do número de organismos vivos e mortos. Os organismos desaparecidos foram considerados mortos.

EESC-USP Biblioteca Campus de S. Carlos

FIGURA 14A - Sistema de renovação de água, segundo ZUMWALT *et. al.* .(1994).

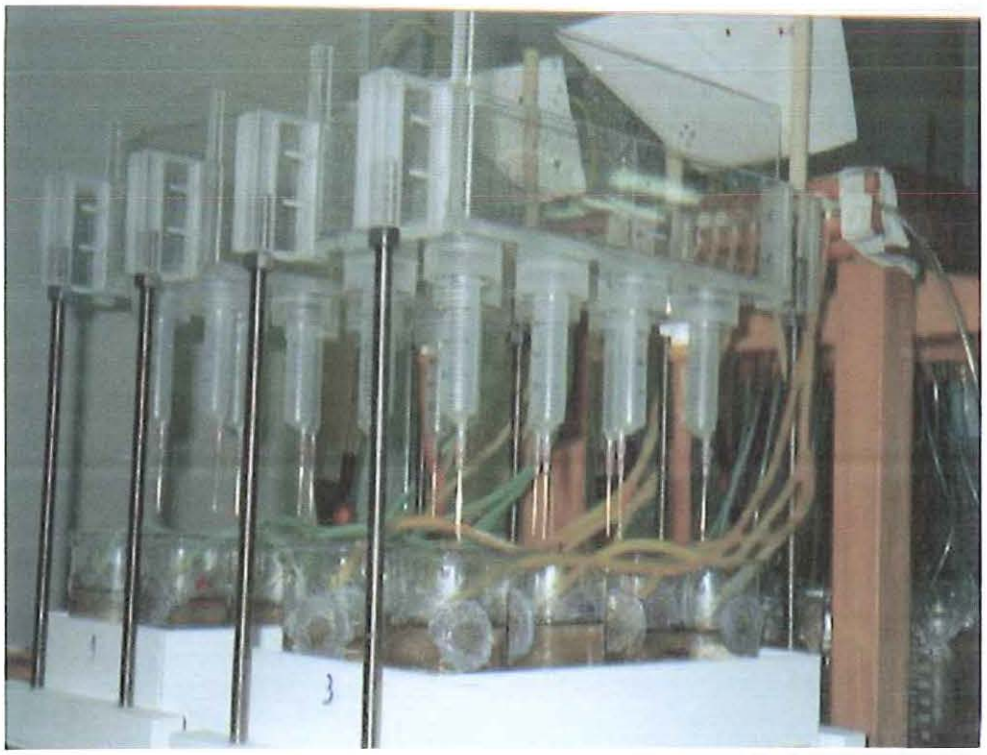

FIGURA 14B - Detalhamento do sistema de renovação de água, segundo ZUMWALT *et. al.*(1994).

A Tabela 8, a seguir, mostra o resumo dos procedimentos adotados em cada uma das metodologias testadas:

TABELA 8 – Resumo dos procedimentos adotados em cada uma das metodologias testadas.

Sistema	**Quantidade de Água (mL)**	**Quantidade de Sedimento (mL)**	**Nº de organismos/ recipiente**	**Recipiente-teste**	**Referência**
Estático	300	75	10	Béqueres (400 mL)	ASTM (1993)
Estático	1000	15	10	Cones de Imhoff (1000 mL)	BORGMANN & NORWOOD (1999)
Semi-Estático	175	100	10	Béqueres (400 mL)	USEPA (1994)

3.3 Métodos de análise dos dados

Para avaliar a viabilidade de implementação de cada uma das metodologias propostas, tendo em vista as condições físicas, financeiras e técnicas de cada laboratório, adotou-se os seguintes critérios:

- espaço físico
- tempo de montagem
- tempo para calibração e manutenção
- tempo de leitura
- tempo de troca de água

- quantidade de sedimento
- quantidade de água
- sobrevivência dos organismos nas amostras testadas
- qualidade da água no decorrer do teste
- custo

Para a análise destes parâmetros, a seguinte ponderação e pontuação foi adotada: ótimo (4 pontos), bom (3 pontos), regular (2 pontos), e ruim (1 ponto).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhum método para teste de toxicidade com sedimento é perfeito. Todos os métodos envolvem manuseio do sedimento em algum grau e é improvável que a qualidade da água durante o teste seja idêntica à observada no campo. No entanto, não se tem poupado esforços no desenvolvimento de metodologias que proporcionem a manutenção de qualidade adequada da água em laboratório.

O presente trabalho teve como proposta, realizar testes de toxicidade com sedimento, utilizando diferentes protocolos internacionalmente reconhecidos para comparar os resultados obtidos no que se refere à qualidade da água de diluição no decorrer do teste, a toxicidade e também a dinâmica e custo. Entretanto, a questão primária que motivou a realização deste trabalho comparativo foi a preocupação com a qualidade da água no decorrer do teste.

Comparando os valores encontrados de variáveis como pH, condutividade, oxigênio dissolvido e amônia nas amostras dos diferentes métodos empregados, verificou-se que existem diferenças entre as metodologias testadas.

4.1 pH

Os valores de pH medidos durante os experimentos encontram-se na Tabela 1 do Anexo I e Figuras 15 a 17.

Os valores de pH nas amostras que foram testadas segundo a ASTM (1993), permaneceram na maior parte das amostras entre 6,0 e 7,0. Ocorreram reduções nos valores de pH nas amostras do reservatório Billings, Pedro Beicht e Promissão no final do teste, embora os valores nunca tenham ficado abaixo de 5,5. Já as amostras que foram testadas segundo a metodologia sugerida por BORGMANN & NORWOOD (1999), apresentaram valores mais estáveis de pH, entre 6,5 e 7,5. As amostras testadas em sistema semi-estático mostraram maiores variações nos valores de pH, mas os valores também não foram inferiores a 5,5, nem superiores a 8,0.

KUBITZ & GIESY (1996), observaram, em um experimento realizado para testar a sobrevivência de *Hyallela azteca* em testes de toxicidade com sedimento com renovação da água de diluição (sistema semi-estático), redução do pH em alguns dos sedimentos testados e, nestes casos, houve baixa sobrevivência quando o pH foi menor que 6,0.

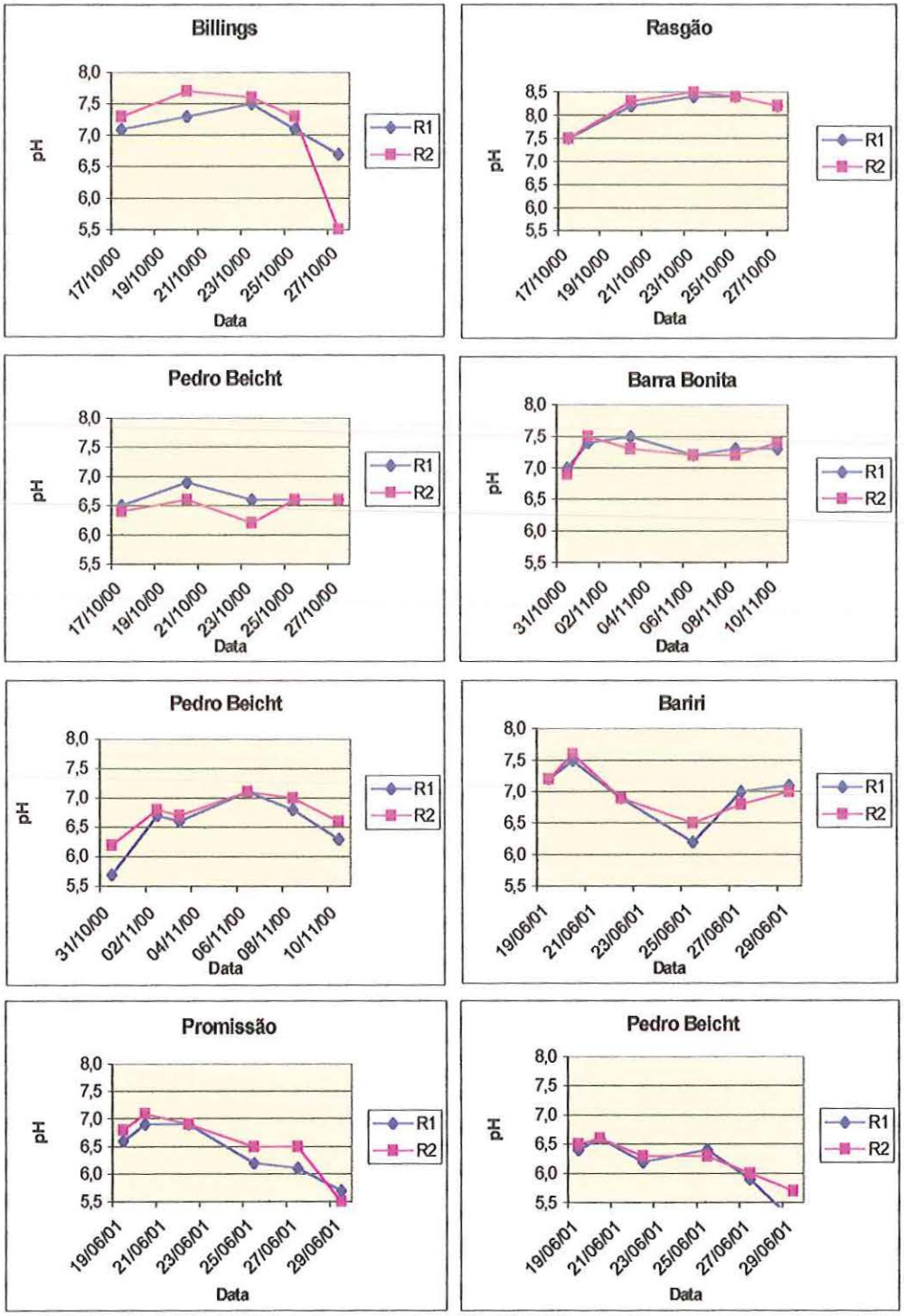

FIGURA 15 – Valores de pH nas amostras testadas em sistema estático (ASTM, 1993) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente

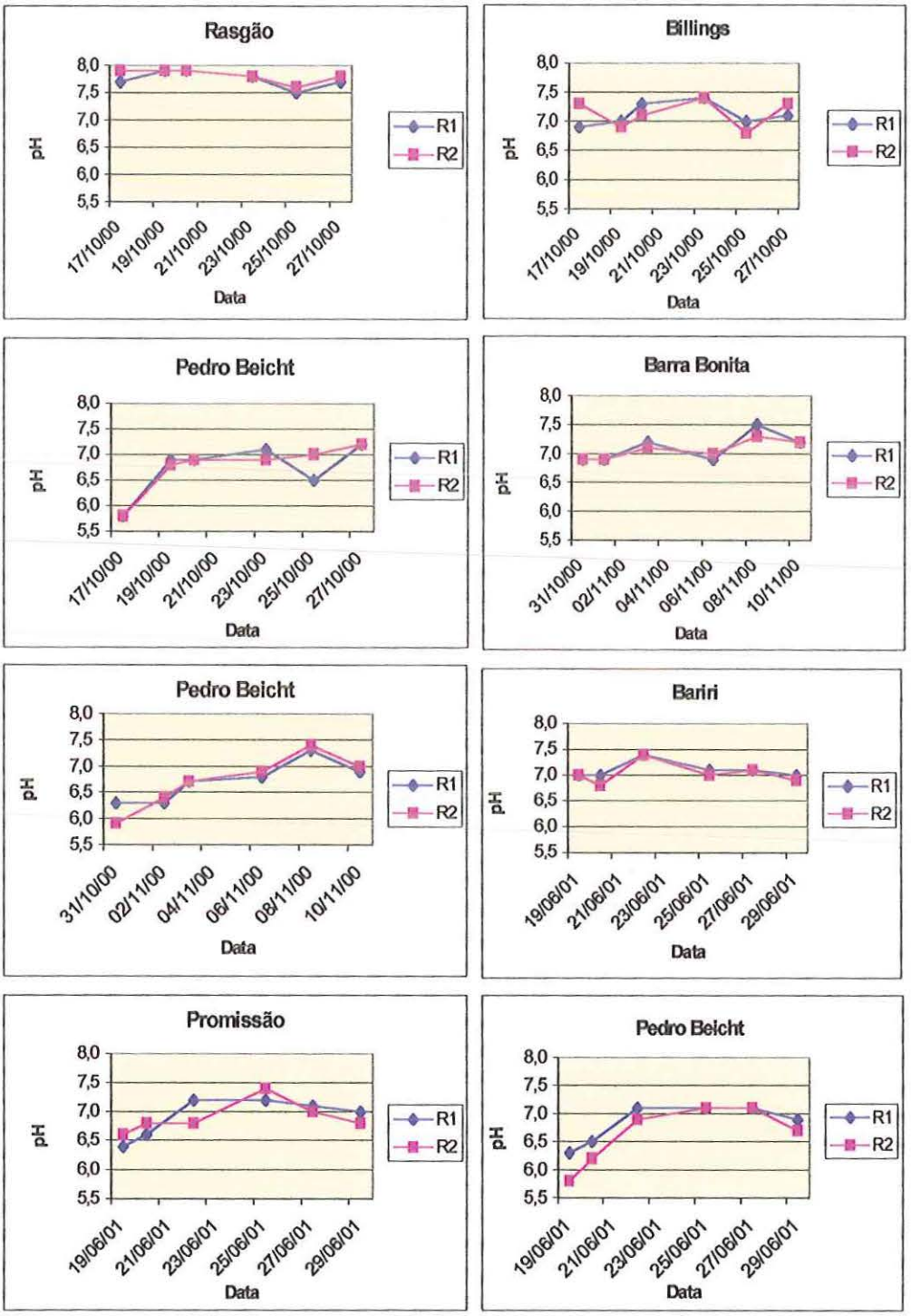

Figura 16 – Valores de pH nas amostras testadas em sistema semi-estático (USEPA, 1994) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente

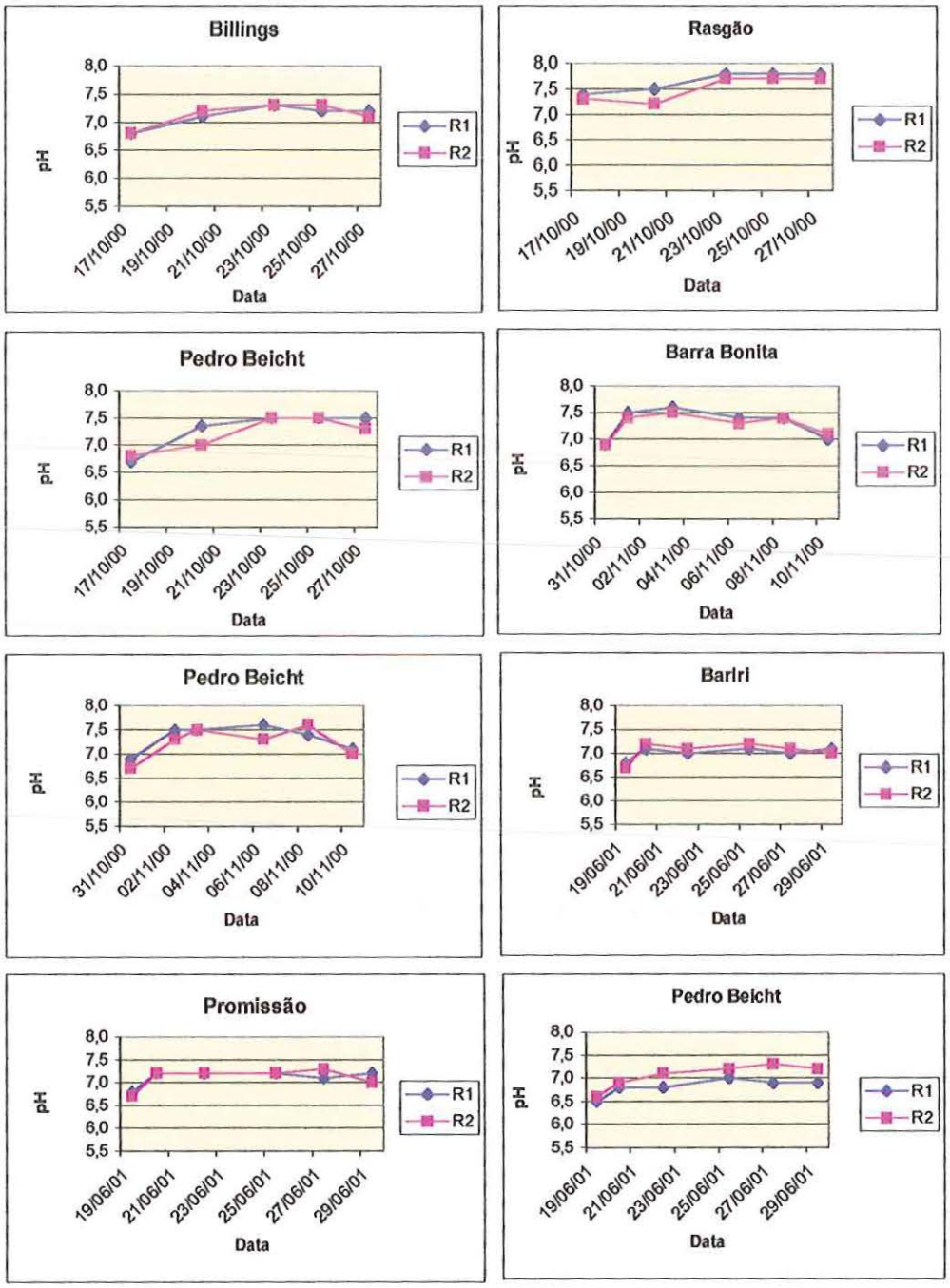

FIGURA 17 – Valores de pH nas amostras testadas em sistema estático (BORGMANN & NORWOOD, 1999) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente

4.2 Oxigênio Dissolvido

Os valores das concentrações de oxigênio dissolvido, obtidas nas amostras testadas, encontram-se na tabela 2 (Anexo I) e Figuras 18 a 20.

As concentrações de oxigênio dissolvido nas amostras testadas em sistema estático (ASTM, 1993), em geral, variaram entre 5,5 e 7,0 mg/L, não ficando abaixo de 4,0 mg/L, com exceção apenas de uma amostra de Barra Bonita no início do teste, que apresentou 3,1 mg/L na réplica 1.

Nas amostras testadas com cones de Imhoff, foram verificados ótimos níveis de concentração de oxigênio dissolvido, sempre próximos a 8,0, inclusive nas amostras que no início do testes apresentavam baixa concentração, como as de Barra Bonita.

Os valores de oxigênio dissolvido apresentaram grande variação nas amostras testadas segundo a USEPA (1994), principalmente no que se refere aos reservatórios Billings e Rasgão, que chegaram a apresentar concentração abaixo de 2,0mg/L.

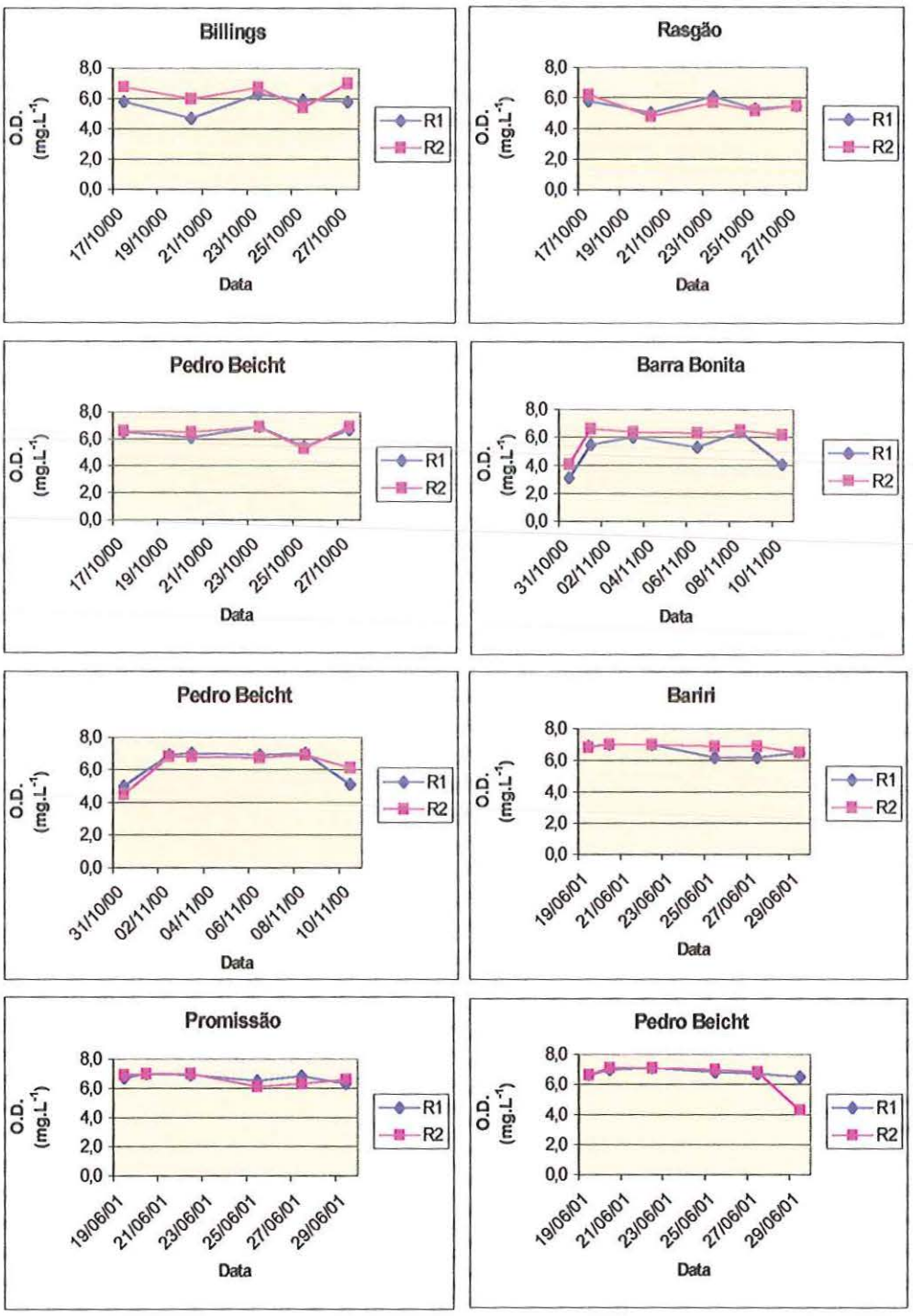

FIGURA 18 - Valores de oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$) nas amostras testadas em sistema estático (ASTM, 1993) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente

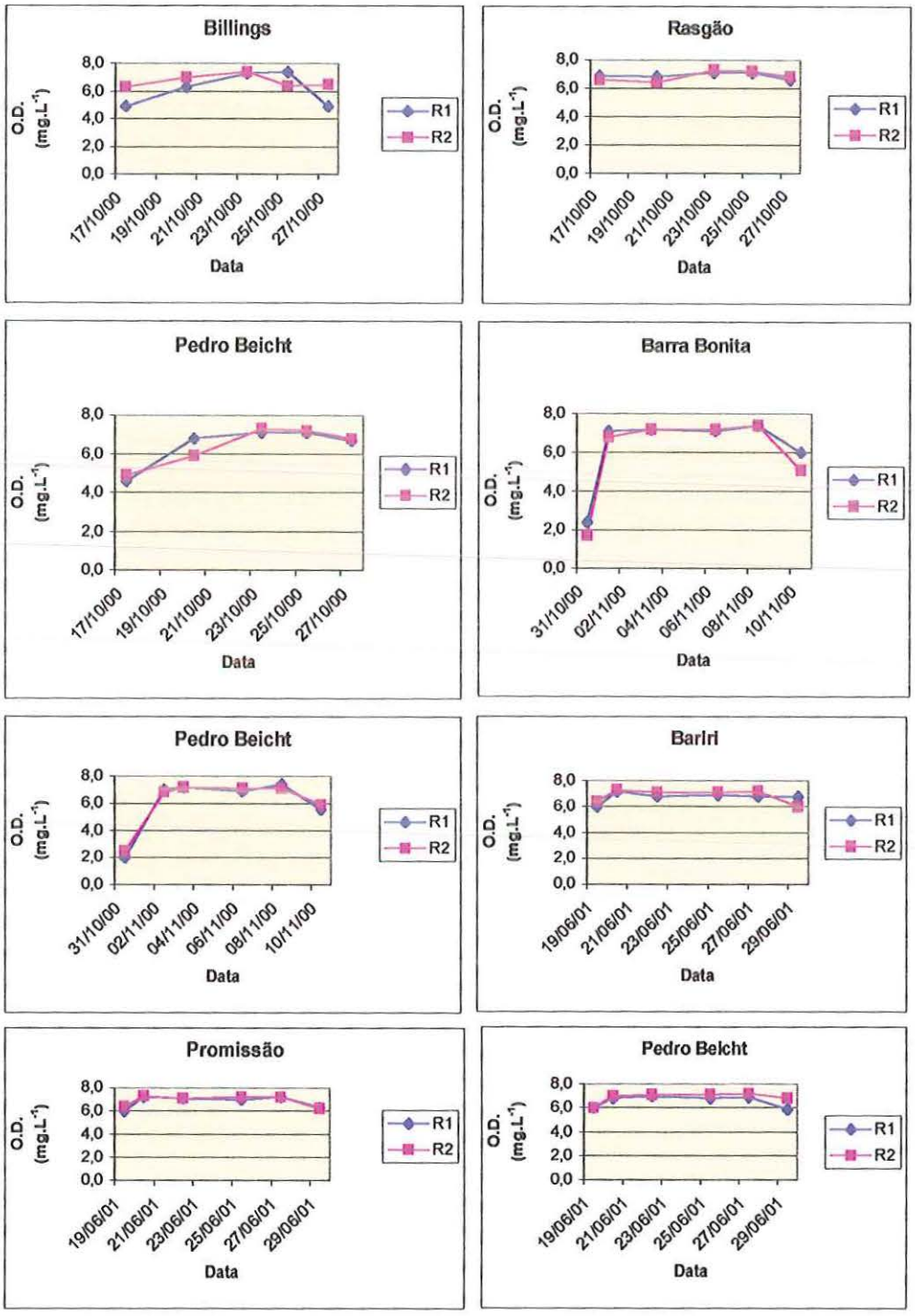

FIGURA 19 – Valores de oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$) nas amostras testadas em sistema estático (BORGMANN & NORWOOD, 1999) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente

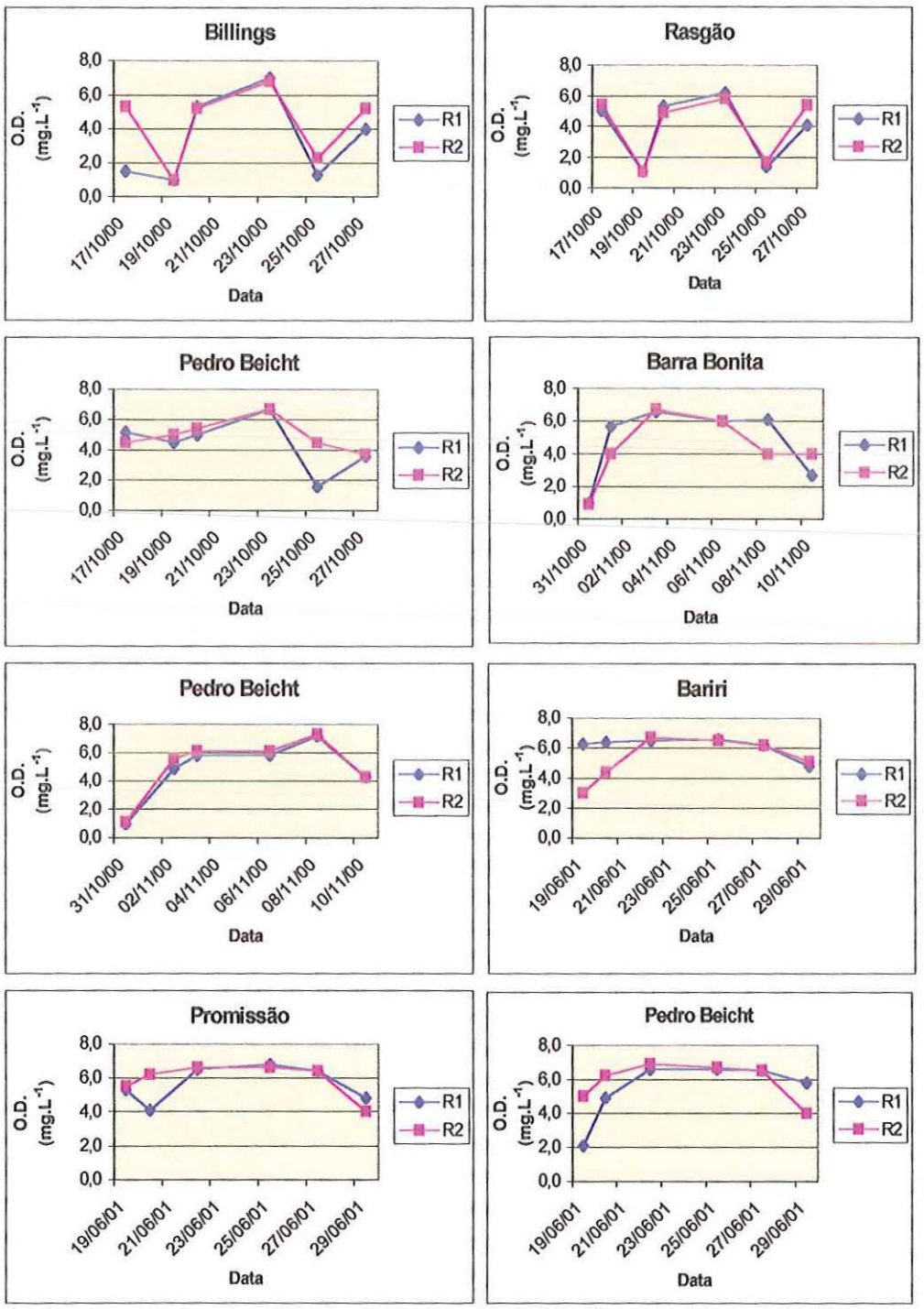

FIGURA 20 – Valores de oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$) nas amostras testadas sistema semi-estático (USEPA, 1994) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente

4.3 Condutividade

A variação dos valores de condutividade nas amostras testadas, é apresentada na Tabela 3 (Anexo I) e Figuras 21 a 23.

As amostras testadas de acordo com a ASTM (1993), apresentaram condutividade estável, com exceção das amostras do reservatório Rasgão, que apresentaram condutividade muito alta e com ascensão durante o teste.

As amostras testadas de acordo com BORGMANN & NORWOOD (1999), apresentaram valores de condutividade estáveis, inclusive no que se refere ao reservatório Rasgão. Já as amostras testadas de acordo com a USEPA (2000), apresentaram variação um pouco maior do que nos testes realizados com os cones de Imhoff, na maioria das amostras. Por outro lado, as amostras do reservatório Rasgão apresentaram declínio no decorrer do teste.

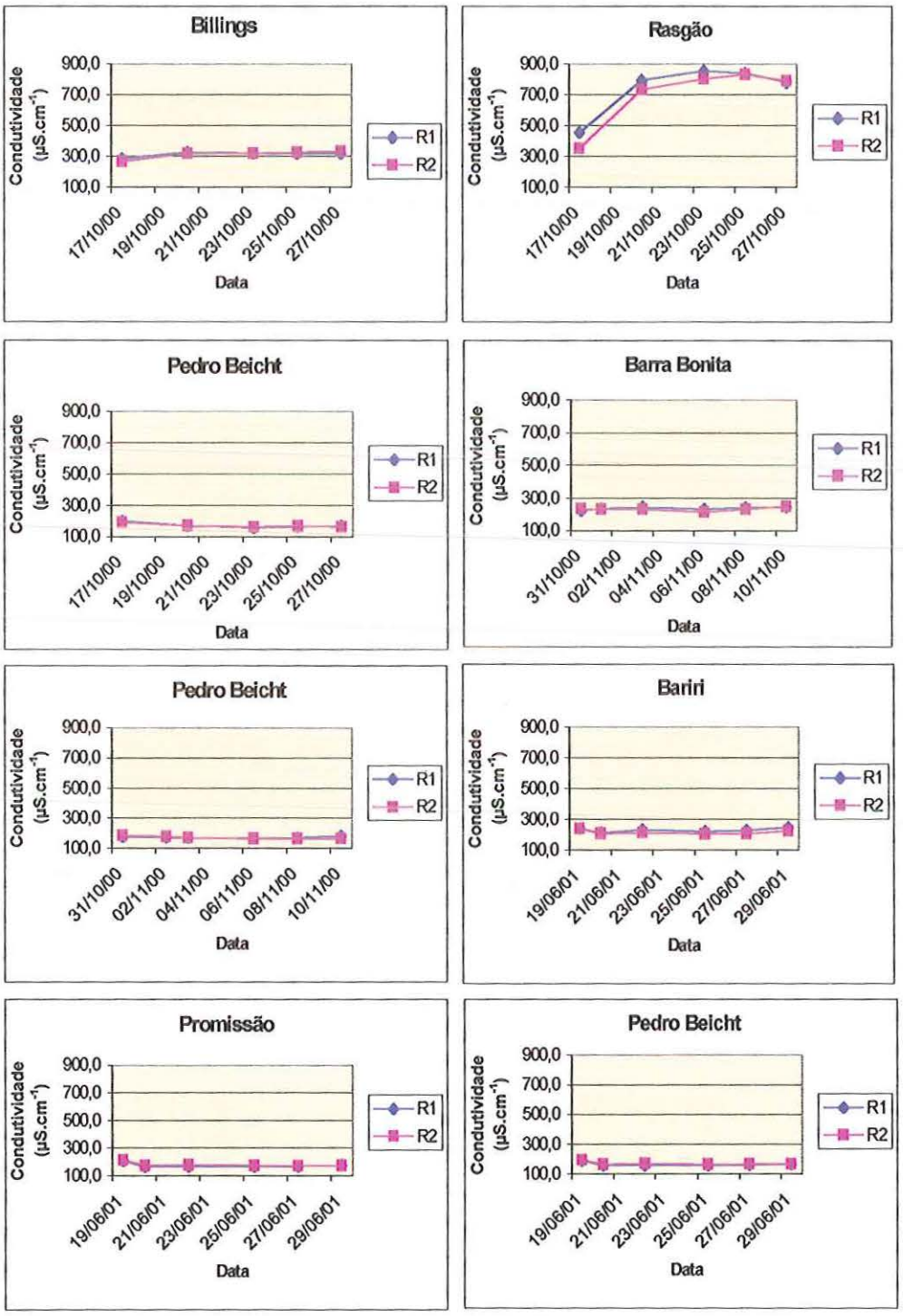

FIGURA 21 – Valores de condutividade ($\mu S.cm^{-1}$) nas amostras testadas em sistema estático (ASTM, 1993) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente

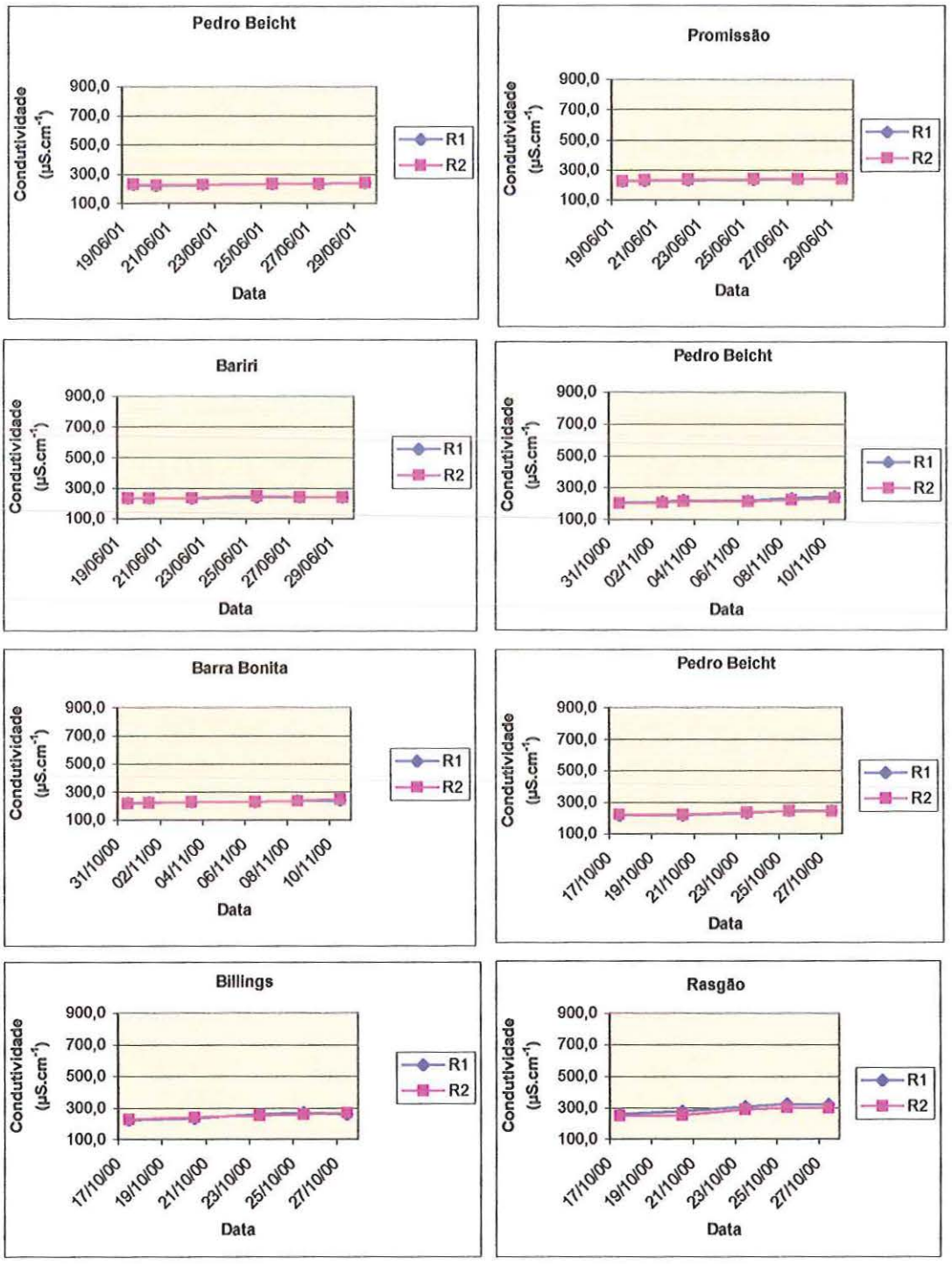

FIGURA 22 – Valores de condutividade ($\mu S.cm^{-1}$) nas amostras testadas em sistema estático (BORGMANN & NORWOOD, 1999) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente

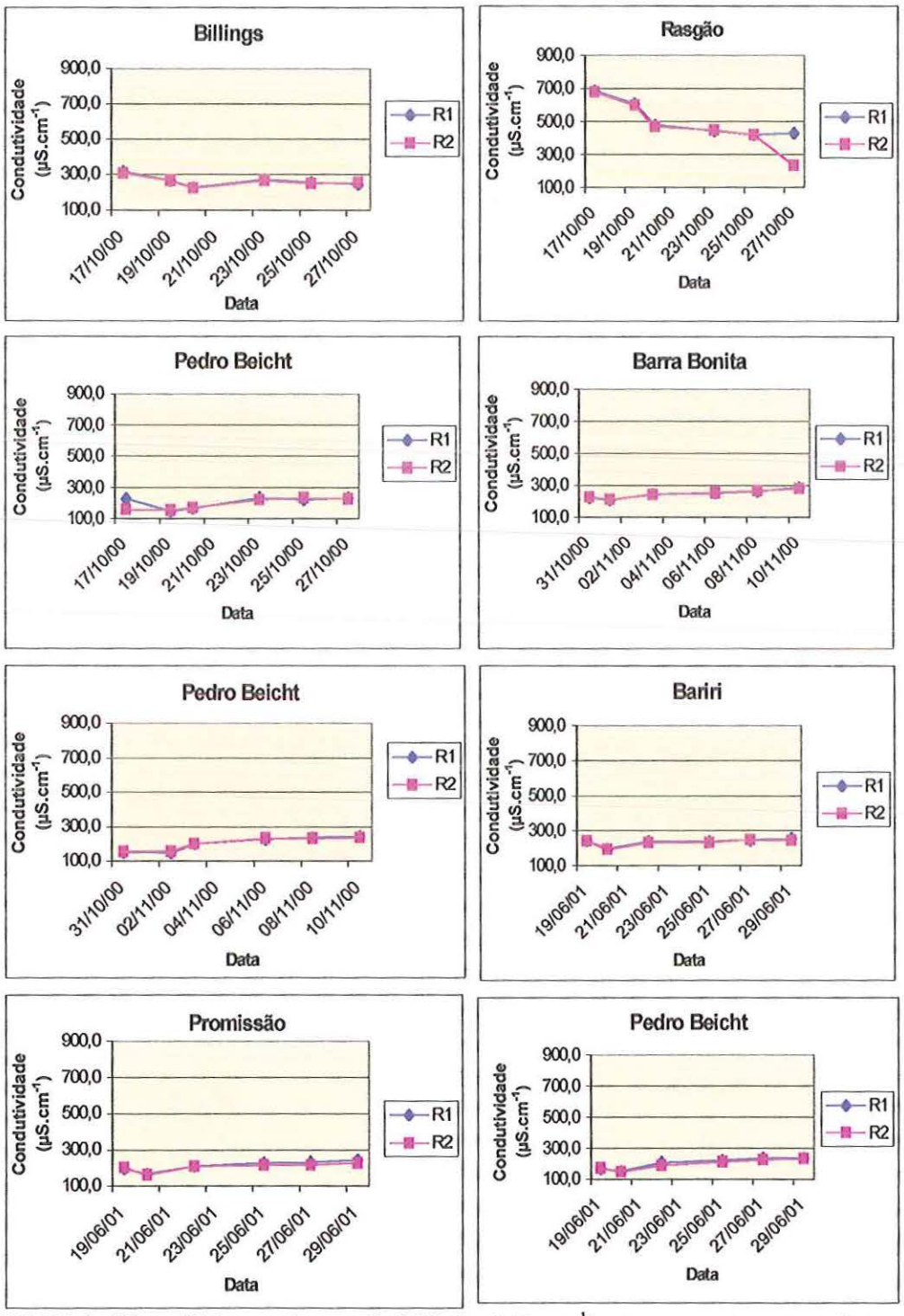

FIGURA 23 – Valores de condutividade ($\mu S.cm^{-1}$) nas amostras testadas em sistema semi-estático (USEPA, 1994) entre 17/10/00 e 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/00 e 10/11/00 (Barra Bonita) e 19/06/01 e 29/06/01 (Bariri e Promissão). R1 e R2 correspondem as réplicas 1 e 2, respectivamente

4.4 Amônia

As concentrações de amônia nas amostras testadas pelas três metodologias foram, em geral, baixas ou abaixo do limite de detecção do método utilizado apresentando muitas vezes, decréscimo no decorrer do teste.

Entretanto, o sedimento do reservatório de Rasgão apresentou valores mais elevados de amônia, na metodologia estabelecida pela USEPA (1994), quando comparado com os resultados verificados nas amostras testadas pelos demais métodos (Tabelas 9).

TABELA 9 – Valores de amônia não ionizada (mg. L^{-1}) nos testes de toxicidade aguda.

RESERVATÓRIO/ DATA		AMÔNIA NÃO IONIZADA (mg. L^{-1})					
		ASTM (1993)		BORGMANN & NORWOOD (1999)		USEPA (1994)	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2
Billings	17/10/00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,043	0,106
	27/10/00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,002
Rasgão	17/10/00	0,002	0,005	0,024	0,011	1,246	2,059
	27/10/00	0,121	0,026	0,219	0,079	0,575	0,779
Pedro Beicht	17/10/00	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000
	27/10/00	0,000	0,000	0,001	0,011	0,008	0,001
Barra Bonita	31/10/00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	10/11/00	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000
Pedro Beicht	31/10/00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000
	10/11/00	0,000	0,000	0,000	0,001	0,005	0,002
Bariri	21/11/00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,0107
	01/12/00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000
Promissão	21/11/00	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,001
	01/12/00	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000
Pedro Beicht	21/11/00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000
	01/12/00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

4.5 – Resultados dos Testes de Toxicidade Aguda

Os resultados dos testes de toxicidade aguda estão apresentados na tabela 11.

TABELA 10 – Resultados dos testes de toxicidade aguda com *Hyalella azteca* para as diferentes metodologias adotadas, realizados no período de 17/10/00 a 27/10/00 (Billings e Rasgão), 31/10/2000 a 10/11/2000 (Barra Bonita) e 19/06/2001 a 29/06/2001 (Bariri e Promissão).

	Sistema/Método		
Reservatório	**Estático (ASTM, 1993)**	**Estático (Borgmann & Norwood, 1999)**	**Semi-estático (USEPA, 1994)**
Billings	NT	NT	T
Rasgão	T	T	T
Pedro Beicht (1)	NT	NT	NT
Barra Bonita	T	T	T
Bariri	NT	NT	NT
Promissão	NT	NT	NT
Pedro Beicht (2)	NT	NT	NT

Legenda:

NT (não tóxico)

T (toxicidade aguda)

O reservatório Billings apresentou efeito de toxicidade aguda apenas nos testes realizados em sistema semi-estático. Esta toxicidade pode ter sido acarretada

por problemas no sistema de aeração, o que refletiu nos baixos teores de oxigênio dissolvido, observados na água de diluição.

As amostras de sedimento do reservatório Rasgão, apresentaram efeito de toxicidade aguda em todas as amostras nas diferentes metodologias testadas, sendo que a qualidade da água dos testes apresentou diferenças no que se refere à concentração de oxigênio dissolvido e condutividade. Nas amostras testadas pelo método da USEPA (1994), houve grande variação nas concentrações de oxigênio dissolvido e ocorreu declínio nos valores de condutividade. Nas amostras testadas, segundo BORGMANN & NORWOOD (1999), a concentração de oxigênio dissolvido manteve-se estável, assim como os valores de condutividade. Já nas amostras testadas segundo a ASTM (1993), o nível de oxigênio dissolvido manteve-se estável, mas os valores de condutividade se elevaram no decorrer do teste.

Nos testes realizados com o sedimento de Barra Bonita, os quais apresentaram efeito de toxicidade aguda, os parâmetros físicos e químicos determinados ao longo dos testes se mantiveram dentro da faixa adequada.

4.6 - Análise comparativa das metodologias utilizadas para testes de toxicidade com *H. azteca.*

Os resultados da análise comparativa das três metodologias propostas para testes de toxicidade aguda com *H. azteca,,* encontram-se na Tabela 11.

TABELA 11 – Análise comparativa dos diferentes métodos utilizados para os testes de toxicidade aguda realizados com *Hyalella azteca.*

	SISTEMA		
	ESTÁTICO		SEMI-ESTÁTICO
Parâmetros	**ASTM (1993)**	**BORGMANN & NORWOOD (1999)**	**USEPA (1994)**
Espaço físico	***	**	***
Tempo de montagem	**	***	**
Tempo p/calibração e manutenção	****	****	*
Tempo de leitura	***	****	**
Tempo de troca de água	****	****	*
Custo	****	***	*
Quantidade de sedimento	***	****	**
Quantidade de água	****	***	*
Sobrevivência dos organismos nas amostras testadas	***	***	**
Qualidade da água	*	****	*
TOTAL	31	34	16

Critérios: ** ótimo *** bom ** regular * ruim**

Em relação aos critérios adotados para avaliar a viabilidade de implementação das metodologias testadas pode-se destacar que:

4.6.1 Espaço físico

Os experimentos realizados com cones de Imhoff (BORGMANN & NORWOOD, 1999), ocuparam maior espaço físico do que os experimentos realizados segundo ASTM (1993) e USEPA (1994), nos quais os recipientes-teste são béqueres de 400 mL. Isto pode ser considerado uma desvantagem, principalmente quando o laboratório necessita realizar muitos testes simultaneamente.

4.6.2 Tempo de montagem

O tempo despendido para a montagem dos testes foi muito parecido para as três metodologias testadas. Ainda assim, considerou-se mais prática a montagem dos testes utilizando cones de Imhoff, que foi um pouco mais rápida pela facilidade de movimentar os recipientes. Além disso, com esta metodologia, fica muito mais fácil adicionar a água de diluição sem ressuspender o sedimento, o que se explica pela pequena quantidade de sedimento (15 mL) utilizada neste método.

4.6.3 Tempo de calibração e manutenção

As duas metodologias testadas em sistema-estático, apresentaram praticidade no que se refere à calibração e manutenção. Em sistema semi-estático (USEPA, 1994) o mesmo não ocorreu, pois diariamente os equipamentos de liberação de água foram obrigatoriamente calibrados, para atestar que todos os béqueres receberiam a mesma quantidade de água. O sistema não permite que os béqueres sejam recobertos com parafilme, como nos outros testes, o que acarretou uma maior evaporação da água de diluição.

Verificou-se também o entupimento da tela presente em cada béquer, a qual permite que o excedente de água na hora da troca seja expelido. Devido a este fato e com a finalidade de evitar que o volume de água liberado de cada béquer seja diferente ao longo do experimento, deve-se proceder a limpeza das telas diariamente. Além disso, justamente devido à renovação de água, ocorreram algumas falhas no sistema de aeração, necessitando assim de maior afinco na manutenção do sistema.

4.6.4 Tempo de leitura

O tempo de leitura despendido nos testes realizados segundo BORGMANN & NORWOOD (1999) foi bem menor, além de proporcionar maior confiabilidade na leitura dos testes. Este fato se explica pela quantidade de sedimento utilizado nestes testes, o que facilita em muito a sua leitura e diminui consideravelmente a possibilidade de erro. Neste sentido, a metodologia que despendeu mais tempo foi a da USEPA (1994), por utilizar maior quantidade de sedimento (100 ml). No momento da leitura dos testes, o sedimento teve que ser dividido várias vezes para tornar possível a leitura e proporcionar confiabilidade ao teste.

4.6.5 Tempo de troca de água

Os testes realizados em sistema estático não necessitam de troca de água. Entretanto, no decorrer dos testes houve uma pequena evaporação da água de diluição. A água evaporada foi facilmente substituída por novo lote de água de diluição. Já os testes realizados em sistema semi-estático necessitaram algum tempo para a renovação de água. O responsável pelo teste esteve presente em todos os momentos em que houve troca de água. Isto significa que inclusive aos sábados e domingos há a necessidade de haver mão-de-obra qualificada logo pela manhã e no final do dia.

4.6.6 Quantidade de sedimento

Em relação à quantidade de sedimento, a metodologia preconizada por BORGMANN & NORWOOD (1999) mostrou-se extremamente vantajosa em relação às duas outras metodologias testadas. A utilização de pequena quantidade de sedimento traz vários benefícios, tais como: menor tempo gasto na coleta, utilização de menor espaço para armazenamento, maior facilidade para a montagem do teste, maior facilidade e confiabilidade na leitura final do teste.

4.6.7 Quantidade de água

Em relação à quantidade de água, os testes realizados segundo ASTM (1993), utilizam menor quantidade de água. Desta maneira, em laboratórios em que a disponibilidade de água é restrita, este método pode ser vantajoso em relação aos testes realizados com cones de Imhoff ou o teste realizado em sistema semi-estático, já que para a aplicação destas metodologias é necessária grande quantidade de água.

4.6.8 Qualidade da água

A qualidade da água, no que se refere às medidas de pH, condutividade, oxigênio dissolvido e amônia, foi melhor nos testes realizados com cones de Imhoff. Este resultado foi coerente com o método de BORGMANN & NORWOOD (1999) e mostrou que a utilização de grande quantidade de água de diluição realmente proporciona a manutenção da qualidade da água. Os testes realizados segundo a USEPA (1994) mostraram maior variabilidade no que se refere a estes parâmetros. O pH em alguns casos ficou abaixo de 6,0 e o oxigênio dissolvido atingiu níveis muito baixos.

No experimento realizado por WINGER & LASIER, 1993, o qual teve como objetivo comparar um sistema estático com um sistema de renovação-estático em testes com sedimento, no qual os organismos foram transferidos com auxílio de uma

pipeta para um béquer com água e sedimento renovados, os resultados demonstraram um aumento na mortalidade dos organismos testados com esta última metodologia. Provavelmente este resultado se deve ao manuseio durante a renovação.

Já KUBITZ & GIESY (1996), recomendam que no teste de toxicidade com renovação de água, a água seja substituída a cada 48 horas. Os autores demonstraram que a troca de água realizada a cada dois dias não é tão trabalhosa, e os resultados são satisfatórios.

Segundo WALL *et. al.* (1998), a renovação manual geralmente é menos onerosa, mas em compensação é mais laboriosa e pode resultar em ressuspensão dos sedimentos. Já os sistemas automáticos, apesar de requererem um maior investimento inicial, necessitam menor atenção durante o teste e reduzem o potencial de ressuspensão do sedimento. Por outro lado, os sistemas de renovação podem apresentar problemas de potencial mecânico.

4.6.9 Sobrevivência dos organismos-teste nas amostras testadas

Os resultados dos testes de toxicidade aguda foram satisfatórios. A porcentagem de recuperação do controle foi similar, permanecendo entre 90 e 95% nas três metodologias estudadas.

Em relação às amostras de sedimento dos reservatórios do rio Tietê, observou-se que, embora tenha ocorrido diferenças na qualidade da água nas diferentes metodologias testadas, os resultados dos testes de toxicidade não foram significativamente diferentes no que se refere aos parâmetros químicos, com exceção do reservatório Billings que apresentou toxicidade aguda para as amostras testadas segundo a USEPA (1994). Neste caso, os valores de oxigênio dissolvido sofreram grande variação, chegando a níveis muito baixos.

Embora neste estudo não tenham ocorrido diferenças nos resultados finais dos testes, sabe-se que em ambientes com elevadas quantidades de sulfeto, pode ocorrer rápida queda no pH, devido a produção de ácido sulfúrico, causando toxicidade aguda. Nestes casos, torna-se questionável a realização de testes de toxicidade aguda estáticos na proporção de 4:1 de água:sedimento. Esta situação foi demonstrada por BORGMANN & NORWOOD (1999) e CARVALHO *et. al.* (1998).

4.6.10 Custo

O custo inicial para a construção do sistema de liberação de água e implantação dos testes de toxicidade com sedimento em sistema semi-estático, ao contrário da previsão de ZUMWALT, *et. al.* (1994), foi maior que U$100,00. Entre a compra do material necessário e a construção da aparelhagem foi gasto pouco mais de R$ 5.000,00. É importante ressaltar que foram construídos 4 sistemas de liberação de água, mesmo porque não seria viável a construção de um único aparelho, pois desta maneira não seria possível avaliar mais do que um ponto de amostragem por teste e também porque parte do material, como as placas de acrílico e de PVC, não poderia ser comprado em pequena quantidade.

Já a implantação dos testes que utilizaram os cones de Imhoff como câmara-teste, tiveram custo inicial de R$ 2.200,00, ou seja, menos da metade do que foi gasto para a implantação do teste semi-estático.

Neste quesito, os testes realizados em sistema-estático com proporção de água/sedimento de 4 partes para 1, foram sem dúvida os mais vantajosos, já que podem ser realizados com béqueres comuns ou até mesmo com copinhos de plástico de boa qualidade.

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, as vantagens da realização de bioensaios em sistema estático, utilizando cones de Imhoff em uma proporção de 67/1 de água/sedimento sobre os sistemas de renovação de água são: a renovação manual da água não é necessária e a confiança no equipamento de renovação automática não é necessária para a construção ou manutenção. Isto diminui os custos iniciais e o trabalho na condução dos testes.

Além disso, o pequeno volume de sedimento faz com que o peneiramento e a separação dos animais seja mais simples. O grande volume de água fornece grandes volumes para análise da qualidade da água. Aparentemente, a única desvantagem da utilização dos cones é seu grande tamanho e sua forma incomum, que faz com que sua lavagem seja mais difícil do que a lavagem dos béqueres.

5. CONCLUSÕES

- A utilização de grandes proporções de água em relação à quantidade de sedimento proporciona estabilidade na qualidade da água do teste, mesmo tratando-se de teste estático.

- Entre as metodologias testadas, a de BORGMANN & NORWOOD (1999), que utiliza o sistema estático, mostrou-se a mais adequada, por tratar-se de método simples, fácil de ser implantado e relativamente barato. Sua única desvantagem é o espaço físico que ocupa pelo tamanho e forma incomum dos cones de Imhoff.

- O teste estático em que a proporção de água/sedimento é de 4/1, não é o procedimento ideal, pois dependendo do sedimento a qualidade da água pode deteriorar, prejudicando o resultado do teste.

- Não é necessário implantar nos laboratórios os testes semi-estáticos. Estes se mostraram mais onerosos, trabalhosos e não apresentaram qualidade da água melhor do que a água dos outros testes.

- Entre as metodologias testadas não houve diferença significativa quanto ao efeito de toxicidade aguda. A toxicidade aguda verificada nas amostras do reservatório Billings testadas segundo a USEPA (1994), provavelmente ocorreu por problemas na aeração do aparelho de renovação água. Ajustes devem ser feitos neste sentido.

CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO SEDIMENTO DE CINCO RESERVATÓRIOS DO ESTADO DE SÃO PAULO, UTILIZANDO TESTES DE TOXICIDADE COM *Hyalella azteca* COMO ORGANISMO-TESTE

1. INTRODUÇÃO

A crescente escassez de águas naturais de boa qualidade constitui um dos grandes problemas da atualidade. Tal quadro pode, em grande parte, ser atribuído à demanda crescente de água pelas populações, conjugada à deterioração dos mananciais, ocasionada pelo lançamento inadequado de esgotos sanitários, industriais e resíduos sólidos no solo e em corpos hídricos.

Embora os ecossistemas aquáticos possam ter uma série de mecanismos físicos, químicos e biológicos para a assimilação das substâncias tóxicas, prevenindo danos à biota, quando estas atingem níveis acima da capacidade assimilativa do corpo receptor, podem afetar a sobrevivência, o crescimento, a reprodução ou o comportamento dos organismos (RAND *et. al.* ,1995).

Ao atingir os ecossistemas aquáticos, estas substâncias podem causar, além dos danos ecológicos, danos à saúde humana pela ingestão de alimentos contaminados em conseqüência da bioacumulação ao longo da cadeia alimentar e pela utilização dessa água para consumo humano, irrigação ou recreação.

A maior parte dos mananciais destinados ao abastecimento público, na Área Metropolitana de São Paulo, é representada por represas, que têm diversas finalidades dentre as quais o abastecimento público, além da produção de energia elétrica, piscicultura, o transporte, a irrigação e a recreação.

Por outro lado, grande parte dos reservatórios no Estado de São Paulo encontram-se eutrofizados por diversas causas, tais como esgotos domésticos, entrada de materiais advindos de regiões rurais, águas residuárias sem tratamento oriundas de pequenos centros urbanos e rurais, entradas atmosféricas de área próximas às regiões industrializadas e descargas industriais (TUNDISI, 1988).

Estes ecossistemas apresentam dinâmica estrutural e funcional própria, possuindo mecanismos específicos e complexos de funcionamento (PAMPLIN, 1999). Desta maneira, eles desempenham importante papel ecológico, econômico e social na rede hidrológica na qual se inserem.

A caracterização ambiental de um reservatório é essencial ao conhecimento da estrutura e funcionamento deste ecossistema. Os estudos conduzidos permitem a obtenção de dados científicos que podem ser usados na introdução de medidas preventivas e corretivas que proporcionem melhoria na qualidade da água (CESP, 1998).

Considerando a importância dos recursos hídricos, sua susceptibilidade aos impactos decorrentes das atividades antrópicas e por tratar-se de um recurso natural limitado, atualmente, a importância de estudos que avaliem e monitorem sua qualidade tem sido reconhecida por muitas instituições e empresas. Segundo CHAPMAN (1989), a avaliação e o monitoramento ambiental podem fornecer importantes informações sobre a extensão e o grau de poluição no ambiente e os seus prováveis impactos. Desta maneira, é possível apresentar sugestões de medidas mitigadoras e avaliar seu grau de eficiência.

O monitoramento ambiental inclui observações e medidas de parâmetros biológicos, químicos e físicos de acordo com um programa pré-estabelecido e metodologias comparáveis. O biomonitoramento é importante, pois pode fornecer respostas através de reações biológicas e deve ser usado conjuntamente com o monitoramento químico para determinar a que os organismos estão sendo expostos e em quais concentrações (RAND *et. al.*, 1995).

O sedimento é um dos compartimentos mais importantes a serem estudados para se avaliar o nível de contaminação dos ecossistemas aquáticos. Pode ser considerado o resultado dos processos físicos, biológicos e químicos que ocorrem em um ecossistema aquático, influenciando o metabolismo de todo o sistema (ESTEVES, 1988).

Segundo MARGALEF (1993), a sedimentação em reservatórios é um problema preocupante, pois na maioria das vezes, a vida útil dos mesmos é relativamente breve (cerca de 60 a 70 anos). O autor considera que o aporte de sedimento para dentro dos reservatórios depende da conservação dos solos e da intensidade do processo erosivo, sendo preferível deixar a vegetação natural, ainda que seja escassa ou degradada.

Os sedimentos são formados por compostos de partículas de detritos, inorgânicas e orgânicas, que se depositam no fundo do corpo d'água, fornecendo também um substrato para a comunidade biológica. A comunidade biótica que faz parte do sedimento apresenta íntima relação com sua dinâmica, sendo responsável por processos físicos e bioquímicos que levam a alterações do mesmo. Há a atividade intensa de microorganismos, os quais são responsáveis pela ciclagem de nutrientes e até mesmo dos contaminantes ali existentes, além de organismos que utilizam-se do sedimento para obter alimento ou para reprodução (BURTON 1992; 1995).

Muitas substâncias químicas, incluindo químicos orgânicos e metais pesados de fontes pontuais e não pontuais podem acumular-se no sedimento. Os metais pesados, os organoclorados e pesticidas têm causado muitos problemas nos ecossistemas aquáticos e são potencialmente ameaçadores à saúde humana (MANSON, 1990).

A acumulação de metais pode representar um grande custo para a biota aquática, podendo resultar em mudança ou retardamento de ciclos de vida ou nas interações predador-presa (TIMMERMAN, 1993).

Os contaminantes orgânicos persistentes, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs) e bifenilas policloradas (BCPs), são compostos de reconhecida toxicidade. Fontes antropogênicas de HPAs incluem derramamento e descargas de petróleo, geração de energia elétrica, incineração de resíduos, aquecimento de casas, produção de asfalto e combustão interna de máquinas (ALBERS, 1995). Os BCPs são muito persistentes e possuem capacidade de se bioacumular nos sistemas vivos.

A identificação de contaminantes responsáveis pela toxicidade de sedimentos pode ser decisiva para o desenvolvimento de estratégias de remediação bem sucedidas, uma vez que muitos dos contaminantes presentes podem ficar associados a partículas, tornando-se indisponíveis. Assim, níveis elevados de contaminantes persistentes no sedimento podem ou não acarretar efeitos para a biota aquática, dependendo de uma série de fatores que alteram a sua biodisponibilidade e toxicidade.

Neste contexto, a chave para a avaliação do sedimento é a biodisponibilidade. De acordo com CAMPBELL *et al.* (1988) *apud* TIMMERMANN (1993), a biodisponibilidade de metais é definida como os metais que estão em estado de disponibilidade química e que podem ser capturados por um organismo, interferindo em seu metabolismo.

O destino dos contaminantes no sistema água-sedimento é altamente dependente de seu comportamento de adsorção, o qual afeta a biodisponibilidade e a toxicidade (POWER & CHAPMANN, 1992), sendo que níveis relativamente altos de contaminação podem ter pouca significância ecológica se a biodisponibilidade é limitada. Assim, o sedimento pode conter concentrações relativamente altas de compostos tóxicos, embora esta condição não necessariamente leve a efeitos adversos aos organismos vivos nos sedimentos, enquanto que baixas concentrações podem estar disponíveis e resultar em considerável acumulação.

Sedimentos são raramente contaminados por uma única substância, havendo correlação da concentração de muitos contaminantes. Conseqüentemente, quando uma concentração crítica é excedida, há um provável aumento do efeito tóxico, mas não é possível dizer que o efeito é devido à presença de um contaminante específico (BORGMANN & NORWOOD, 1999).

Além disso, a biodisponibilidade de metais em sedimentos é altamente variável. Se componentes do sedimento mostram-se fortemente ligados a íons de metais, a concentração de metais totais no sedimento pode não ser tóxica para a biota aquática. Por outro lado, um sedimento com uma concentração muito baixa de metais totais, pode conter mais metal biodisponível e ser tóxico. Isto torna a predição dos efeitos de metais totais no sedimento extremamente difícil (LAMBERSON, *et. al.*, 1992; BORGMANN & NORWOOD, op. cit.).

Desta forma, nos estudos para avaliar a qualidade dos ecossistemas aquáticos, os sedimentos têm atualmente ocupado posição de destaque, uma vez que podem apresentar elevados níveis de poluentes, resultantes da prática de disposição de resíduos ou efluentes líquidos, tanto no passado como no presente.

Por outro lado, a determinação da concentração de contaminantes presentes no sedimento através de análises químicas, realizadas isoladamente, não é capaz de fornecer informações suficientes sobre os possíveis efeitos para as comunidades biológicas. Neste sentido, testes de toxicidade e de bioacumulação com organismos bentônicos são um comum e eficiente método para avaliar o potencial de impactos de contaminantes associados a sedimentos nos ecossistemas aquáticos (ANKLEY *et. al.*, 1994).

Alguns estudos têm também considerado a análise integrada das análises físicas e químicas, estrutura da comunidade bentônica e testes de toxicidade, que em conjunto, tornam-se ferramentas importantes para a avaliação da qualidade dos sedimentos. É a chamada "Tríade de Qualidade de Sedimento", conceito que foi introduzido originariamente por LONG & CHAPMAN (1985).

A "Tríade de Qualidade de Sedimento" tem encontrado grande receptividade e aplicação sobretudo nos EUA, Canadá e mais recentemente, na Europa e América do Sul (ZAMBONI, 2000). A grande vantagem desta abordagem é que ao integrar vários parâmetros, o grau de incerteza para determinação do grau de contaminação ambiental de uma área torna-se bastante reduzido.

A necessidade de avaliar e manusear sedimentos contaminados tem levado ao desenvolvimento de um critério de qualidade para sedimento. Bons dados e métodos para predizer a causa e efeito dos tóxicos no sedimento, entretanto, são limitados. Muitas

diretrizes ou valores de avaliação para sedimento têm sido desenvolvidos para comparar efeitos biológicos observados com a composição química dos sedimentos (BORGMANN & NORWOOD, 1999).

O desenvolvimento de critérios para qualidade de sedimentos é uma preocupação de âmbito mundial (CRANE *et. al,* 1996). Vários estudos têm sido desenvolvidos neste sentido, adotando abordagens diferentes que levam em consideração um ou mais dos seguintes fatores: efeitos biológicos através da estrutura da comunidade bentônica e dos níveis de contaminantes presentes nos tecidos, nível de contaminação química e testes de toxicidade com sedimentos (CHAPMAN, 1989; LONG & MORGAN, 1990; USEPA, 1992; MacDONALD, 1993; USEPA, 2000).

Seguindo esta tendência mundial, o Projeto QualiSed teve como meta principal o levantamento de um conjunto de informações básicas orientadas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos para definir a qualidade dos mesmos e auxiliar na avaliação da qualidade da água de mananciais.

Inserido neste contexto, este trabalho teve como objetivo realizar testes de toxicidade com os sedimentos de cinco reservatórios do Rio Tietê utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste, visando auxiliar na avaliação da qualidade ambiental destes ecossistemas e fornecer informações que contribuam para a escolha de medidas de manejo e recuperação dos mesmos.

2. OBJETIVOS

- Avaliar a qualidade do sedimento de cinco reservatórios do rio Tietê, utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste, em testes de toxicidade aguda.

- Verificar a relação entre os testes de toxicidade aguda e as variáveis físicas e químicas presentes nas amostras de sedimento.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Área de estudo

Para a avaliação da qualidade do sedimento, foram coletadas amostras de sedimento de 6 reservatórios localizados no Estado de São Paulo: Pedro Beicht (Ponto Controle), Billings, Rasgão, Bariri, Barra Bonita e Promissão, conforme descrito no Capítulo 1 .

3.2 Períodos de coleta

Inicialmente, com o objetivo de melhor conhecer os ambientes estudados com relação a sua toxicidade, foi realizada uma campanha preliminar em junho de 2000. Nesta campanha, foram coletados sedimentos de três pontos em cada reservatório, considerando o sedimento do reservatório de Promissão como sedimento controle. Posteriormente, em outubro/novembro de 2000 e junho de 2001 foram realizadas novas coletas em um único ponto de cada reservatório estudado para novos testes, adotando-se o sedimento de Pedro Beicht como sedimento controle.

3.3 Avaliação de Toxicidade em Sistema Estático, utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (ASTM, 1993)

Na primeira etapa de coletas (junho/2000), considerou-se apenas o sistema estático descrito pela ASTM (1993) para a realização dos testes de toxicidade aguda à *H. azteca* como já descrito no capítulo 1.

Os testes foram realizados em béqueres de vidro com capacidade para 400 mL na proporção 1:4. Assim, aos béqueres de 400 mL foram adicionados 75 mL de sedimento e 300 mL de água de diluição, considerando-se 4 réplicas por amostra.

Os sedimentos foram previamente homogeneizados e colocados no recipiente-teste um dia antes da adição dos organismos. Após a adição do sedimento nos frascos, foi adicionada cuidadosamente a água de diluição, tentando-se evitar ao máximo a ressuspensão do mesmo. Os frascos foram então recobertos com placas transparentes de PVC.

No dia seguinte, logo pela manhã, as amostras foram colocadas em aeração branda. Cerca de duas horas antes do início do teste, foram feitas medidas de oxigênio dissolvido, pH, condutividade e amônia em duas réplicas de cada amostra. Feito isto, foram adicionados 10 organismos-teste em cada frasco experimental, desde que a medida de oxigênio dissolvido estivesse igual ou superior a 4,0 mg/L. Neste momento, iniciou-se o teste. O período do teste de toxicidade aguda foi de 10 dias e o parâmetro de avaliação da toxicidade foi a sobrevivência dos organismos.

Durante os experimentos, os organismos foram alimentados com uma suspensão de 1g de ração para coelho em 300 mL de água destilada, uma vez a cada dois dias (0,15 mL/organismo). A temperatura do local do teste foi mantida a 23±2°C, com fotoperíodo de 16h e intensidade luminosa de 500 a 1000 lux.

Segundas, quartas e sextas-feiras e no dia do término dos testes, foram feitas medidas de pH, condutividade, oxigênio dissolvido e amônia de duas réplicas de cada

amostra. No final do teste, o sedimento foi passado por peneira com malha de 175 μm e lavado em água corrente. O material retido na peneira foi transferido com o auxílio de água corrente, para um recipiente de plástico, onde se procedeu a contagem do número de organismos vivos e mortos. Os organismos desaparecidos foram considerados mortos.

3.4 Avaliação de Toxicidade em Sistema Estático, utilizando *Hyalella azteca* como organismo-teste (BORGMANN & NORWOOD, 1999)

Na segunda etapa de coletas (outubro-novembro/2000) e na coleta realizada em junho/2001, após a comparação metodológica dos sistemas estáticos (vide capítulo 1), adotou-se os procedimentos descritos em BORGMANN & NORWOOD (1999) para a realização dos testes de toxicidade aguda com *H.azteca.*

Os testes foram realizados em cones de Imhoff de vidro com capacidade de 1 litro. A proporção de água e sedimento foi de 67 (sessenta e sete) partes de água para 1 (uma) de sedimento. Desta maneira, aos cones de Imhoff foi adicionado 1 L de água de diluição e 15 mL de sedimento, considerando-se 4 réplicas por amostra (Figuras 10A e 10B).

Os sedimentos foram previamente homogeneizados e colocados no recipiente-teste um dia antes da adição dos organismos. Após a adição do sedimento nos frascos, foi adicionada cuidadosamente a água de diluição, tentando-se evitar ao máximo a ressuspensão de sedimento. Os cones foram cobertos com filme plástico para evitar a evaporação da água de diluição.

No dia da adição dos organismos às amostras, logo pela manhã, as amostras foram colocadas em aeração branda. No período da tarde foram feitas medidas de pH, condutividade, amônia e oxigênio dissolvido em duas réplicas de cada amostra e os

organismos foram adicionados às amostras desde que o oxigênio dissolvido estivesse igual ou superior a 4,0 mg/L. Foram adicionados 10 (dez) organismos-teste em cada frasco experimental. O período do teste de toxicidade aguda foi de 10 dias e os parâmetros de avaliação da toxicidade foram a sobrevivência e o crescimento dos organismos, sendo que o crescimento foi medido através do peso seco dos sobreviventes.

A sobrevivência é o principal parâmetro avaliado ao final do teste de toxicidade com amostras de sedimento utilizando *Hyalella azteca*. Entretanto, vários autores defendem a idéia de que o crescimento de anfípodos pode ser um parâmetro mais sensível se comparado com a sobrevivência (BURTON & INGERSOLL, 1994; KEMBLE *et. al.*, 1994). Assim, no presente estudo, estimou-se o crescimento de *Hyalella azteca* através do peso seco. Durante os experimentos, os organismos foram alimentados com uma suspensão de 1g de ração para coelho em 300 mL de água destilada, uma vez a cada dois dias (0,15 mL/organismo). A temperatura do local do teste foi mantida a 23±2°C, com fotoperíodo de 16h e intensidade luminosa de 500 a 1000 lux.

Segundas, quartas e sextas-feiras e no dia do término dos testes, foram feitas medidas de pH, condutividade, oxigênio dissolvido e amônia de duas réplicas de cada amostra. No final do teste, o sedimento foi passado por peneira com malha de 175 μm e lavado em água corrente. O material retido na peneira foi transferido com o auxílio de água corrente, para um recipiente de plástico, onde se procedeu a contagem do número de organismos vivos e mortos. Os organismos desaparecidos foram considerados mortos.

3.5 Procedimentos para a verificação das medidas de crescimento de *Hyalella azteca* através de peso seco (Environment Canadá, 1999)

Um dia antes do término dos testes, cadinhos de alumínio foram deixados para secagem em estufa a 60°C durante 24 horas. Cada cadinho foi identificado com as letras iniciais de um reservatório-teste.

A verificação dos anfípodos sobreviventes e a obtenção das medidas em peso seco foram feita da seguinte maneira:

1. Os cadinhos de alumínio foram retirados da estufa, pesados em balança analítica, colocados em dessecador e deixados próximos ao local onde seria feito o peneiramento dos organismos-teste.

2. Os organismos foram peneirados e os anfípodos vivos foram transferidos para o cadinho de alumínio correspondente;

3. O número de anfípodos vivos e mortos para cada béquer foi registrado. Organismos desaparecidos foram assumidos como mortos;

4. O sedimento no corpo dos anfípodos foi lavado com pipeta antes que os cadinhos fossem colocados para secar em estufa a 60°C durante 24 horas.

No dia seguinte, cada cadinho foi pesado em balança analítica e seu peso foi novamente registrado. As diferenças do peso final e inicial corresponderam ao peso dos organismos.

4. RESULTADOS

No estudo preliminar da toxicidade dos sedimentos dos reservatórios à *H. azteca*, realizado em junho de 2000, verificou-se efeito tóxico em todas as réplicas de sedimento dos reservatórios de Rasgão, Barra Bonita e Bariri. Os sedimentos dos reservatórios Billings e Promissão não causaram toxicidade aguda aos organismos-teste, como mostra a Tabela 12 .

TABELA 12 - Resultados dos testes de toxicidade aguda à *Hyalella azteca* com amostras de sedimento dos diferentes reservatórios estudados, realizados em junho/2000.

Reservatório	**Coleta preliminar**		
	Junho de 2000		
	R1	**R2**	**R3**
Billings	NT	NT	NT
Rasgão	T	T	T
Barra Bonita	T	T	T
Bariri	T	T	T
Promissão	NT	NT	NT

NT: não tóxico T: toxicidade aguda

Embora o sedimento do reservatório de Promissão não tenha causado toxicidade aos organismos testados, os resultados gerados pelo projeto QualiSed (ALMEIDA & JARDIM, 2001), mostraram que o reservatório pode apresentar um potencial tóxico para organismos bentônicos no que se refere a quantidade total de bifenilas policloradas (BCPs) e hidrocarbonetos poliaromáticos, não podendo, portanto, ser classificado como sistema referência.

Assim, nas coletas realizadas em outubro/novembro de 2000 e junho de 2001, o sedimento do Reservatório de Pedro Beicht foi o sedimento adotado como controle assim como os testes de toxicidade aguda em sistema estático, segundo BORGMANN & NORWOOD (1999), vide capítulo 1.

Os resultados dos testes realizados nestas duas últimas coletas encontram-se na Tabela 13. Foi encontrada toxicidade aguda à *H. azteca* nos reservatórios Rasgão e Barra Bonita na campanha de outubro/novembro de 2000. Já os testes realizados com as amostras de sedimento dos reservatórios Bariri e Promissão não tiveram validade, pois houve mortalidade maior que 80% nas amostras controle. Provavelmente houve alguma interferência química no laboratório, pois até mesmo as culturas de *H. azteca, H. meinerti e Mysidopsis juniae,* existentes no laboratório de Ecotoxicologia Aquática do laboratório da CETESB, foram afetadas.

Desta maneira, em junho de 2001, quando as culturas de *H. azteca*, estavam devidamente recuperadas, de acordo com os testes de sensibilidade e produzindo o número de jovens necessário para a realização dos testes, foi realizada nova coleta para a repetição dos testes com os reservatórios de Bariri e Promissão.

TABELA 13 – Resultados dos testes de toxicidade aguda à *Hyalella azteca* com amostras de sedimento dos diferentes reservatórios estudados, realizados em outubro-novembro/2000 e junho/2001.

Reservatório	**Coletas (mês/ano)**	
	Outubro-Novembro/2000	**Junho/2001**
Billings	NT	-
Rasgão	T	-
Barra Bonita	T	-
Pedro Beicht (1)*	NT	
Bariri	***	NT
Promissão	***	NT
Pedro Beicht (2)*	-	NT

* Pedro Beicht (1) refere-se à coleta de outubro-novembro/2000 e Pedro Beicht (2) à coleta de junho/2001.

Legenda:

NT: não tóxico

T: toxicidade aguda

- : teste não realizado

***: não foi possível realizar calculo estatístico, devido à alta mortalidade no controle.

Em relação aos resultados das medidas de peso seco como parâmetro para avaliar o crescimento dos organismos-teste, pode-se observar na Figura 24, que houve um maior crescimento dos organismos que foram expostos aos sedimentos de Promissão do que no controle (Pedro Beicht). Os organismos que foram expostos ao sedimento do reservatório Billings apresentaram um crescimento ligeiramente maior do que o

que o controle. Já os organismos que foram testados nas amostras de Bariri, tiveram seu crescimento bastante prejudicado.

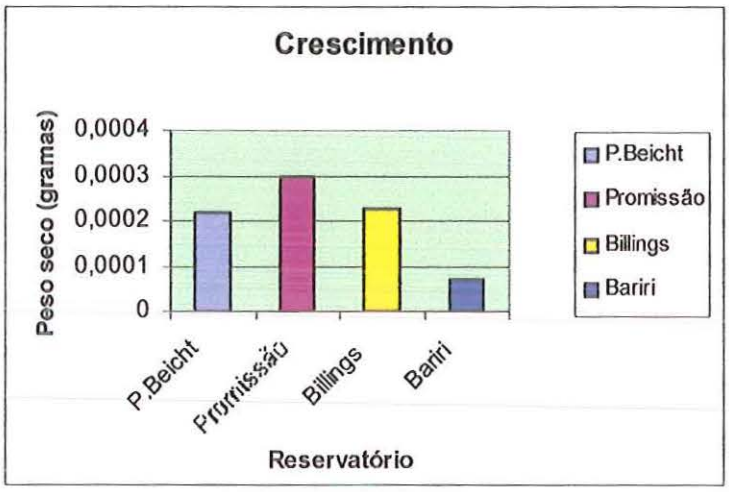

Figura 24 – Média das medidas de crescimento (peso seco) de *Hyalella azteca*, referentes ao período de 17/10/00 a 27/10/00 (Billings) e 19/06/01 a 29/06/01(Bariri e Promissão).

5. DISCUSSÃO

A Ecotoxicologia vem estudando o comportamento e a transformação das substâncias químicas no meio ambiente, assim como seus efeitos sobre os organismos que vivem nos ecossistemas aquáticos e terrestres. Atenção especial tem sido dada ao ecossistema aquático, pois a maioria das substâncias lançadas no ar e no solo poderão eventualmente atingir este sistema na sua forma original, ou através de seus produtos de degradação (CETESB, 1998).

Neste sentido, nas últimas décadas, testes de toxicidade vêm sendo realizados para avaliar o efeito dos agentes químicos sobre a biota aquática. Estes testes são de

grande importância, já que fundamentam-se na utilização de organismos vivos que podem ser diretamente afetados pelos desequilíbrios ambientais decorrentes da atividade humana.

É importante lembrar que os testes de toxicidade devem ser vistos como uma ferramenta útil na avaliação ambiental, que se torna muito mais poderosa quando utilizada conjuntamente com as análises físicas e químicas.

O monitoramento ambiental inclui observações e medidas de parâmetros biológicos, químicos e físicos de acordo com um programa pré-estabelecido e metodologias comparáveis, com o objetivo de coletar dados suficientes para avaliar a qualidade ambiental (RAND *et. al.*, 1995).

Neste contexto, os resultados dos testes de toxicidade realizados com os sedimentos de reservatórios Billings, Rasgão, Barra Bonita, Bariri e Promissão, foram analisados em conjunto com os parâmetros físicos e químicos com o objetivo de melhor compreender o que ocorre nestes sistemas.

O reservatório Billings não apresentou toxicidade aguda em nenhuma das campanhas, embora tenham sido observadas concentrações elevadas de metais totais como arsênio, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel e zinco. ARAÚJO (1998), em um estudo da avaliação da toxicidade do sedimento do reservatório Billings, realizado com *Hyalella meinerti*, observou toxicidade aguda para estes organismos em várias das amostras testadas.

Comparando-se as concentrações de metais encontradas por NASCIMENTO & MOZETO (2001), e as concentrações de HPAs encontradas por ALMEIDA & JARDIM (2001), com os critérios de qualidade de sedimentos estabelecidos pela CCME (1999), nota-se que este reservatório está contaminado por estes componentes, pois suas concentrações ultrapassam os níveis de prováveis efeitos (PEL), apresentando provável efeito deletério para a biota, como mostra a Tabela 14.

TABELA 14 – Níveis de contaminantes observados nas amostras de sedimento coletadas em reservatórios do rio Tietê (SP) em outubro-novembro/2000 e níveis que provavelmente causam efeito, segundo CCME (1999).

Parâmetros	Unidade	Reservatórios					CCME (1999)	
		BIL	RAS	BB	BAR	PRO	ISQG (1)	PEL (2)
Metais e metalóides	**(mg/kg)**							
Arsênio		14,0	8,0	7,0	10,0	20,0	5,9	17,0
Cádmio		2,2	2,3	0,99	0,05	0,48	0,6	3,5
Cromo		134,0	179,0	55,0	76,0	106,0	37,3	90,0
Cobre		235,0	257,0	74,0	93,0	60,0	35,7	197
Níquel		80,0	99,0	73,0	68,0	62,0	18,0	35,9
Chumbo		102,0	129,0	26,0	37,0	37,0	35,0	91,3
Zinco		402,0	1215,0	104,0	126,0	76,0	123,0	315,0
HPAs	**(mg/g)**							
Acenafteno		1318,0	-	1,2	0,7	0,6	6,71	88,9
Acenaftaleno		6,0	-	2,8	1,9	0,8	5,87	128
Fluoreno		1767,0	13,0	3,2	1,9	3,3	20,2	201
Fenantreno		7417,0	644,5	29,3	19,4	33,2	111,0	2355,0
Antraceno		775	0,4	18,0	10,2	26,4	46,9	245
Fluoranteno		3386,5	385,5	37,9	50,2	49,4	21,2	144
Benzo(a)antraceno		-	48,5	7,9	11,8	9,0	31,7	385
Criseno		647,0	248,5	9,8	16,8	13,1	6,22	135
Dibenzo(a,h) antraceno		1,0	7,0	0,7	8,7	0,5	41,9	515
Outros								
Carbono total	%	6,4	8,2	3,2	4,0	6,3	-	-
Nitrogênio total	%	0,64	0,81	0,31	0,47	0,55	-	-
Sulfeto volatizável por acidificação	mg/kg	719,0	4346,0	229,0	8,0	38,0	-	-

Legenda: ISQG: " interim sediment quality guideline" PEL: "probable effect level"

BIL = Billings; RAS = Rasgão; BB = Barra Bonita; BAR = Bariri; PRO = Promissão.

A diferença de resultados observada entre o presente estudo e o estudo realizado por ARAÚJO (1998), não indica necessariamente que houve uma melhora significativa na qualidade do sedimento do reservatório em questão. Pode ser que haja uma variação da toxicidade ao longo do tempo, provavelmente causada pela biodisponibilidade de contaminantes.

É fato conhecido que a concentração total de metais em sedimentos não é um indicador confiável do potencial tóxico porque a biodisponibilidade de metais em sedimentos é bastante variável (LUOMA, 1989).

BORGMANN *et.al.* (1991), realizaram um estudo comparando a bioacumulação e a toxicidade do níquel a *Hyalella*. O objetivo principal do trabalho foi determinar se a bioacumulação esteve de fato relacionada à toxicidade nos sedimentos com diferentes biodisponibilidades do metal. Os objetivos secundários foram examinar a relação entre toxicidade e níquel na água de diluição e comparar testes de toxicidade conduzidos em béqueres com os conduzidos em béqueres de Imhoff.

Os resultados demonstraram, conforme o esperado, que as concentrações de níquel nos sedimentos não foi um indicador confiável de biodisponibilidade ou toxicidade deste metal. Demonstraram ainda que a concentração do metal no corpo do organismo é um indicador mais confiável da toxicidade de níquel.

BORGMANN & NORWOOD (1995), em um estudo que avaliava a relação da toxicidade crônica com zinco e cobre, concluíram que *Hyalella* gradualmente desenvolve habilidade para regular cobre em exposições crônicas.

O grau de contaminação da represa Billings justifica-se por sua localização e por sofrer grande influência da zona industrializada da grande São Paulo. Provavelmente o fato dos testes realizados não apresentarem efeitos tóxicos aos organismos-teste, se deve às elevadas concentrações de carbono orgânico e nitrogênio total observadas (NASCIMENTO & MOZETO, 2001), o que pode implicar em menor disponibilidade dos metais.

Além disso, segundo SILVÉRIO & MOZETO (2001), no sedimento do reservatório Billings, assim como em todos os ambientes estudados, há predomínio de

argila e silte, o que poderia resultar em uma maior existência de sítios de ligação aos metais.

Este resultado está em concordância ao encontrado por RODGHER (2001), ao estudar os reservatórios em cascata do Médio e Baixo rio Tietê, tendo observado predomínio de argila e silte nos reservatórios de Barra Bonita, Bariri e Promissão.

De acordo com MANAHAM (1994), cádmio, chumbo e zinco tendem a ser altamente retidos pela argila. Como resultado de uma elevada razão entre área superficial e volume, os sedimentos de textura fina (com maiores porcentagens de argila e silte) possuem maior capacidade de reter químicos, quando comparados com os de textura mais grossa, que possuem menor número de sítios de ligação para metais (RAND, *et. al.*, 1995).

Segundo ESTEVES (1988), os freqüentes processos erosivos observados nos sistemas terrestres e as várias atividades das mineradoras têm aumentado significativamente a carga de argila dos corpos de água em diferentes regiões do Brasil.

Alguns trabalhos relatam o teor de metais no sedimento do reservatório Billings, a exemplo dos levantamentos realizados em 1974 e 1984 (CETESB, 1979; 1985) para o corpo central e alguns braços. Desde esta época, foram registrados, principalmente na região central, teores de alguns metais como cobre, chumbo, zinco, cádmio e mercúrio, cujas concentrações quando comparadas com outras regiões do mundo foram consideradas elevadas.

Em relação aos resultados observados quanto às medidas de peso seco para avaliação do crescimento, verificou-se um crescimento ligeiramente maior dos organismos que foram expostos ao sedimento do reservatório Billings comparados aos organismos expostos ao sedimento controle. Este resultado provavelmente ocorreu pelo fato de tratar-se de ambiente bastante eutrofizado, com elevada disponibilidade de alimento.

As amostras de Rasgão apresentaram toxicidade aguda (100%) à *Hyalella azteca*, tratando-se de um reservatório que também sofre grande influência da região metropolitana de São Paulo. Devido ao fato de todos os organismos testes terem morrido

após serem expostos ao sedimento do reservatório de Rasgão por 10 dias, não foi possível realizar as medidas de peso seco,

Segundo os dados apresentados por NASCIMENTO & MOZETO (2001), o sedimento apresenta altas concentrações de arsênio, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel, zinco e de sulfetos voláteis em ácidos. Em relação aos HPAs, as concentrações não foram tão elevadas quanto do reservatório Billings para a maioria dos parâmetros estudados, mas para Criseno e Fluoranteno, as concentrações superaram os valores de PEL, como mostra a tabela 14. (ALMEIDA & JARDIM, 2001; CCME, 1999).

Na coluna d'água, o reservatório de Rasgão apresentou concentrações muito baixas de oxigênio dissolvido (0,3mg/L em média), e valores elevados de condutividade, por possuir grande quantidade de material particulado em suspensão (SOARES & MOZETO, 2001).Como os valores de oxigênio dissolvido foram baixos, os valores de potencial redox também passaram de 283 mV na superfície para 43 mV no fundo da coluna d'água (SOARES & MOZETO, op.cit.).

Segundo ESTEVES (1988), a decomposição de matéria orgânica é uma das principais causas da diminuição na concentração de oxigênio. A permanência de uma condição anóxica representa um fator negativo à qualidade da água, pois sob esta condição compostos químicos no sedimento tendem a ser liberados para a água, além dos gases tóxicos, tais como metano e o gás sulfídrico (GUNNISON *et.al.*, 1983 *apud* RODGHER, 2001).

Baixas concentrações de oxigênio dissolvido, e conseqüentemente valores baixos ou negativos do potencial redox, propiciam maior liberação de compostos metálicos do sedimento e o íon S^- é o principal agente que reduz a biodisponibilidade neste tipo de sedimento (ADAMS, 1995).

De acordo com SOARES & MOZETO (op.cit), entre os reservatórios estudados, a represa de Rasgão apresentou os valores mais elevados para vários dos parâmetros analisados, como concentração de fósforo, fluoreto e sílica tanto na água quanto no sedimento. Apresentou também, os maiores resultados para amônia (5,0 mg/L, em média).

Amônia é uma das substâncias tóxicas mais comuns encontradas em ecossistemas aquáticos. É um produto do metabolismo e não um químico persistente como metais ou alguns compostos orgânicos. A toxicidade de amônia para *Hyalella azteca* é relatada como independente do pH (ANKLEY & SHUBAUER-BERIGAN, 1995). Entretanto, os autores mostraram que este foi apenas um caso em água relativamente mole; em água dura a toxicidade da amônia é dependente do pH (BORGMANN & BORGMANN, 1997).

Durante a coleta, transporte e estocagem das amostras de sedimento, variáveis como pH, condutividade, oxigênio dissolvido, conteúdo de sulfetos volatizáveis por ácidos e potencial redox, podem se alterar. Portanto, a manipulação dessas amostras pode alterar sua toxicidade, já que estes fatores são importantes controladores da biodisponibilidade dos químicos nos sedimentos (CHAPMAN *et. al.*, 1998). Desta maneira, é possível que amônia e sulfetos possam estar acarretando toxicidade no reservatório de Rasgão.

A Bacia do Médio Tietê, onde estão inseridos os reservatórios de Barra Bonita, Bariri e Promissão, tende a ser afetada por grande aporte de materiais de origem industrial e agrícola, além do desflorestamento, assoreamento e toxicidade o que, certamente, deve refletir na qualidade ambiental desses sistemas. Além dos impactos ambientais decorrentes do crescimento regional, o reservatório de Barra Bonita sofre ainda, os impactos dos processos à montante ao receber os dejetos oriundos da cidade de São Paulo e do rio Piracicaba.

Segundo um estudo realizado pelo CONSELHO ESTADUAL DE RECURSOS HÍDRICOS (1990), a região possui como principais atividades agrícolas a cana-de-açúcar, os cítricos e a pecuária. As indústrias sucroalcooleiras, sucocítricas, alimentícias e mecânicas representam seu parque industrial.

CALIJURI & TUNDISI (1990), classificaram o reservatório de Barra Bonita como um ecossistema eutrofizado, sendo a eutrofização cultural resultante do aporte de despejos domésticos, industriais e de fertilizantes químicos empregados nas culturas distribuídas por toda a bacia hidrográfica. BARBOSA *et. al.* (1999), também relatam o aumento da eutrofização no reservatório e, segundo os autores, o esgoto não tratado da

cidade de São Paulo é a maior fonte de carga orgânica para o reservatório de Barra Bonita.

No presente estudo, o sedimento do reservatório de Barra Bonita apresentou toxicidade aguda em todas as amostras testadas, não tendo sido obtidas medidas de crescimento dos organismos destas amostras assim como ocorreu no reservatório de Rasgão. Este resultado está em concordância com o estudo realizado por RODGHER (2001), no qual os bioensaios de toxicidade aguda com sedimento realizados com *Daphnia similis,* demonstraram toxicidade aguda para o sedimento de algumas estações localizadas à jusante do reservatório de Barra Bonita.

As concentrações de contaminantes no reservatório de Barra Bonita não foram tão elevadas quanto às concentrações encontradas nos reservatórios Billings e Rasgão; apenas a concentração de níquel ficou acima do PEL (NASCIMENTO & MOZETO, 2001; ALMEIDA & JARDIM, 2001). Desta maneira, não seria esperado que o sedimento do referido reservatório apresentasse toxicidade.

SILVÉRIO & MOZETO (2002), concluíram através de resultados dos dados gerados, aplicados às aproximações de determinação de sulfetos volatizáveis por acidificação (SVA) ou da fase sólida e da água intersticial, que os metais não foram os responsáveis pela toxicidade nos sedimentos dos Reservatórios de Rasgão e Barra Bonita.

ALMEIDA & JARDIM (2001), realizaram análises dos sedimentos dos reservatórios estudados e compararam os resultados obtidos referentes aos HPAs e BCPs, em relação aos limites inferior e superior propostos pelo grupo liderado por Christopher Ingersoll no trabalho intitulado "Development and Evaluation of Consensus-Based Sediment Quality Guidelines (SQG) for Freshwater Ecosystems". Neste trabalho, foi proposto um limite inferior na concentração de determinados contaminantes, chamado TEC ("Threshold Effect Concentration"), e um limite superior, chamado PEC ("Probable Effect Concentration"). Abaixo do limite inferior, a grande maioria dos sedimentos não apresenta efeito tóxico e acima do limite superior a maioria dos sedimentos avaliados apresenta potencial tóxico.

Segundo os resultados observados pelos autores, as amostras de sedimento de Barra Bonita, ultrapassaram os valores de TEC para HPAs e BCPs. Portanto, é possível que estes contaminantes, sejam a causa da toxicidade apresentada.

Por outro lado, Barra Bonita foi o reservatório com os maiores valores de nitrato e nitrito na coluna d'água, variando em aproximadamente 1,8 mg/L e 0,2 mg/L respectivamente. Este reservatório apresenta visualmente, uma grande quantidade de algas na coluna d'água; Este pode ser um dos fatores que influenciaram a alta concentração de nitrato para esta represa.

Em 2000, a CETESB classificou a qualidade da água no reservatório de Barra Bonita entre ruim e péssima, sendo este reservatório o primeiro de uma série de reservatórios construídos em cascata, seguido pelos reservatórios de Bariri, Ibitinga, Promissão, Nova Avanhandava e Três Irmãos.

Segundo FUJISAKI (2001), a compreensão dos processos internos que ocorrem na Represa de Bariri depende da observação e análise da dinâmica da Represa de Barra Bonita, a qual pode exercer grande influência sobre Bariri.

De acordo com a CETESB (2000), a qualidade da água no primeiro semestre de 2000 para o reservatório de Bariri esteve entre aceitável e boa. Em relação à quantidade de fósforo na coluna d'água, os resultados obtidos no projeto QualiSed por SOARES & MOZETO (2001), estiveram de acordo com SANDES (1990), que verificou valores superiores de fósforo no reservatório de Bariri em relação ao reservatório de Barra Bonita. Segundo o autor, a presença de cargas pontuais (resíduos domésticos e industriais) e difusas (fontes agrícolas) da bacia de drenagem podem ter contribuído para tal fato.

Segundo FUJISAKI (op.cit), a Represa de Bariri possui condições que favorecem precipitação do fósforo no sedimento, pois na maior parte do tempo a coluna d'água apresenta oxigênio dissolvido até o fundo. Desta maneira, existe uma tendência do fósforo ser um fator limitante em Bariri.

O sedimento do reservatório de Bariri apresentou toxicidade aguda para as amostras testadas na campanha de junho de 2000. Na campanha de outubro/novembro de 2001, não foi possível calcular a toxicidade das amostras por problemas ocorridos no

laboratório que provocaram alta mortalidade dos organismos nas amostras-controle e das culturas. Entretanto, na nova coleta realizada em junho de 2001 para a repetição dos testes, as amostras não provocaram efeitos deletérios à *Hyalella azteca*.

Os resultados das análises químicas realizadas com as amostras de Bariri, não foram tão diferentes dos resultados observados em Barra Bonita, sendo que novamente, apenas a concentração de níquel ultrapassou os valores de PEL (NASCIMENTO & MOZETO, 2001; ALMEIDA & JARDIM, 2001).

Através de resultados dos dados gerados aplicados às aproximações de determinação de sulfetos volatizáveis por acidificação (SVA) ou da fase sólida e da água intersticial, SILVÉRIO & MOZETO (2002) concluíram que os metais podem ser responsáveis pela toxicidade encontrada no reservatório de Bariri.

É importante reforçar que , embora apenas a concentração de níquel tenha ultrapassado o PEL (Tabela 14), as concentrações de arsênio, cromo, cobre e chumbo, estiveram acima do ISQG (Interim Sediment Quality Guideline) Segundo a CCME (1999), acima destes valores os metais podem eventualmente causar efeito.

Os resultados das medidas de crescimento dos organismos expostos ao sedimento do reservatório de Bariri, das amostras testadas em junho/2001, demonstraram que houve um efeito sub-letal, ou seja, apesar dos organismos terem sobrevivido, seu crescimento e desenvolvimento foi prejudicado pela ação dos contaminantes. O reservatório de Promissão, não apresentou toxicidade aguda para nenhuma das amostras testadas, e de acordo com a CETESB (2000), a qualidade da água no primeiro semestre de 2000 para o reservatório de Promissão, esteve entre boa e ótima.

Em relação às análises químicas, as amostras de sedimento deste reservatório apresentaram concentrações elevadas de arsênio, cromo e níquel, ultrapassando os valores de PEL (NASCIMENTO & MOZETO, 2001). Os valores de BCPs não ultrapassaram o TEC, mas os valores de HPAs foram mais elevados do que este índice (ALMEIDA & JARDIM , 2001).

Quanto ao crescimento dos organismos testados, observou-se um crescimento muito maior dos organismos expostos ao sedimento de Promissão do que no controle.

Este dado é um alerta para o processo de eutrofização que está ocorrendo neste reservatório.

A inibição do crescimento em *Hyalella azteca* foi selecionada como parâmetro subletal para os ensaios realizados por KUBITZ *et. al.* (1996), sendo considerado um indicativo das mudanças ecologicamente relevantes que podem ocorrer no ambiente. A inibição no crescimento de *Hyalella azteca* e de outros organismos bentônicos, pode diminuir a produção de biomassa e reduzir o suprimento de alimento para níveis tróficos mais elevados.

Segundo KUBITZ *et. al.* (op.cit), reduções no crescimento de *H. azteca* entre 40 e 50% são indicativos de efeitos potencialmente significativos sobre sua sobrevivência e reprodução.

O estudo realizado por STEEVENS & BENSON (1998), com o objetivo de avaliar dois diferentes métodos para avaliar o crescimento de *Hyalella azteca* (comprimento e peso seco), demonstrou através dos resultados obtidos que uma maior confiabilidade pode ser adquirida através de medidas de comprimento.

A maior limitação de métodos usados para medir crescimento relaciona-se a limitações de equipamento. O método de medida de comprimento como um indicador de crescimento, utiliza-se de um equipamento que é capaz de medir pequenas mudanças no crescimento. Já as medidas de peso seco ou úmido são limitadas pela sensibilidade da balança eletrônica.

Por outro lado, SOARES & MOZETO (2001), observaram um decréscimo no gradiente de concentrações de todas as formas de nitrogênio na cascata de represas Barra Bonita → Bariri → Promissão. Nos estudos realizados por BARBOSA *et. al.* (1999) e RODGHER (2001), o mesmo foi observado. Quanto às formas fosfatadas, embora menos evidente, também observou-se um decréscimo nas concentrações de fosfato na cascata de represas Barra Bonita → Bariri → Promissão.

No sedimento, houve uma atenuação na concentração de sulfato ao longo da cascata de represas. Já em relação à concentração de sílica no sedimento, houve uma inversão ao longo da cascata de represas, ocorrendo um aumento no gradiente de

concentrações desde Barra Bonita até Promissão (SOARES & MOZETO, 2001). Segundo os autores, ficou bem caracterizado que o sedimento é uma fonte de sílica para a coluna d'água, fato também observado por BARBOSA *et. al.* (1999) e RODGHER (2001).

SOARES & MOZETO (2002), ao avaliarem as principais características bioquímicas da qualidade da água, da coluna d'água e das águas intersticiais, observaram que ocorre uma atenuação na concentração dos nutrientes, assim como dos dados físico-químicos, ao longo da cascata de represas representada por Barra Bonita, Bariri e Promissão, demonstrando uma maior degradação no reservatório de Barra Bonita.

Os resultados obtidos por FRACÁCIO (2001), que realizou bioensaios de toxicidade crônica com amostras de sedimento dos reservatórios em cascata do Médio e Baixo Tietê (SP), utilizando larvas pré-eclodidas de *Danio rerio* como organismos-teste, também demonstrou uma diminuição da toxicidade ao longo dos reservatórios em cascata.

RODGHER (2001), também notou nos testes de toxicidade crônica, realizados com amostras de sedimento com *Ceriodaphnia dubia,* uma toxicidade em ordem decrescente no sentido do reservatório de Barra Bonita ao de Três Irmãos, assim como observado nos testes de toxicidade crônica com amostras de água.

Neste contexto, é necessário que sejam colocados em prática programas de manejo, recuperação e conservação destes reservatórios. A recuperação de represas, rios e lagos, demanda um conjunto de ações integradas na bacia hidrográfica (IRWIN & WILLIAMS, 1986). É necessário que seja feito um diagnóstico inicial do sistema e seu estágio de contaminação ou degradação; diagnóstico dos custos e perdas envolvidas com o processo de degradação, levando-se em conta a perda de biodiversidade e perdas em processos e a avaliação das alternativas para a recuperação e custos de recuperação.

6. CONCLUSÕES

- O reservatório Billings, apesar de não ter apresentado toxicidade aguda à *Hyalella azteca* para nenhuma das amostras testadas, deve ser novamente avaliado, pois apresentou elevadas concentrações de contaminantes que podem apresentar variações quanto a biodisponibilidade, como demonstrado em estudos realizados anteriormente.

- O sedimento do reservatório de Rasgão foi considerado altamente tóxico, pois causou toxicidade aguda à *Hyalella azteca* em todas as amostras testadas. O reservatório encontra-se altamente impactado, necessitando de medidas efetivas de controle.

- No reservatório de Barra Bonita verificou-se efeito de toxicidade aguda de todas as amostras de sedimento à *H.azteca* tanto em junho/00 quanto em outubro-novembro/02, demonstrando condições não satisfatórias do sedimento deste reservatório.

- Nos reservatórios de Bariri e Promissão, notou-se uma atenuação da toxicidade na seqüência formada por estes reservatórios, sendo que o reservatório de Bariri apresentou toxicidade aguda à *H. azteca* apenas em junho de 2000. Assim como para o reservatório Billings, provavelmente há uma variação na toxicidade do sedimento deste reservatório ao longo do tempo.

- Embora não tenha sido verificado efeito de toxicidade aguda à *H. azteca* no reservatório de Promissão, o mesmo não está livre de contaminação, já que foram encontrados níveis elevados de arsênio, níquel e cromo.

EESC-USP
Biblioteca
CAMPUS DE S. CARLOS

7. RECOMENDAÇÕES

Em relação aos testes de toxicidade com sedimento, como subsídios para avaliação da qualidade ambiental, é recomendado que sejam realizados, além dos testes de toxicidade aguda, os testes de toxicidade crônica. Os testes de toxicidade crônica podem fornecer respostas dos efeitos que contaminantes podem causar na sobrevivência, crescimento e reprodução dos organismos testados.

No presente estudo, foram feitas tentativas no sentido de realizar testes de toxicidade crônica. Entretanto, os resultados não puderam ser utilizados, pois não foram satisfatórios.

A USEPA (1994), preconizava apenas testes agudos com duração de 10 dias com *Hyalella azteca*. Já a nova edição de métodos para medidas de toxicidade e bioacumulação de contaminantes associados ao sedimento em invertebrados de água doce publicada pela EPA em 2000, inclui a realização de testes crônicos, com até 42 dias de duração.

Adicionalmente, é recomendável que seja realizada a repetição dos testes de toxicidade aguda com a metodologia estabelecida por BORGMANN & NORWOOD (1999), utilizando-se, além da *Hyalella azteca*, outros organismos-teste, a exemplo de *Chironomus xanthus*.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, W.J. (1995). Aquatic Toxicology Testing Methods. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, G.A. Jr.; CAIRNS, J. .Jr. (Eds). *Handbook of Ecotoxicology*. Lewis Publishers. Cap. 3. 26-46p.

ALBERS, P.H. (1995). Petroleum and individual polycyclic aromatic hydrocarbons. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, G.A. Jr; CAINS, J. Jr (Eds). *Handbook of ecotoxicology*. Lewis Publishers. Cap. 15. 330-335p.

ALMEIDA, F.V. & JARDIM, W.F. (2001). Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos referentes a compostos orgânicos não-iônicos. MOZETO, A.A.; JARDIM, W.F.; UMBUZEIRO, G.A. (Eds.). *Workshop de avaliação do projeto QualiSed*. São Carlos. 69p.

ANKLEY, G.T.; BENOIT, D.A.; HOKE, R.A., LEONARD, E.N.; WEST, C.W.; PHIPPS, G.L.; MATTSON, V.R.; ANDERSON, L.A. (1993). Development and evaluation of test methods for benthic invertebrates and sediments: effects of flow rate and feeding on water quality and exposure conditions. *Arc. Environ Contam. Toxicol*. 25:12-19p.

ANKLEY, G.T.; BENOIT, D.A.; BALOGH, J.C.; REYNOLDSON, T.B.; DAY, K.E. & HOKE, R.A. (1994). Evaluation of potential confounding factors in sediment toxicity tests with three freshwater benthic invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13 (4): 627-635p.

ANKLEY, G.T. & SHUBAUER-BERIGAN. (1995). Background and overvew of current sediment toxicity identification evaluation procedures. *Jornal of Aquatic Ecosystem Health*. 4:133-149p.

AMERICAN SOCIETY TESTING MATERIALS – ASTM. (1993). *Standard guide for conducting sediment toxicity test with freshwater invertebrates*. Philadelphia. 27p.

AMERICAN SOCIETY TESTING MATERIALS – ASTM. (1994). *Standard guide for collection, storage, characterization and manipulation of sediments for toxicological testing*. Philadelphia. 21p.

AMERICAN SOCIETY TESTING MATERIALS – ASTM. (1995). *Standard guide for conducting sediment toxicity test with freshwater invertebrates*. Philadelphia. 81p.

APHA, American Public Health Association. (1989). American water works association, water environment federation. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 17th. Ed. Byrd. Prepress Springfield. Washington. 1134p.

APHA, American Public Health Association. (1995). American water works association, water environment federation. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 19a. Ed. Byrd. Prepress Springfield. Washington. 1134p.

ARAÚJO, R.P.A.; LORENZETTI, M.L.; BURATINI, S.V. (1993). *Implantação de testes com Hyalella pernix para avaliação da toxicidade de sedimentos de água doce*. São Paulo: CETESB. 20p. + anexos.

ARAÚJO, R.P.A. (1994). *Implantação de testes de toxicidade com sedimentos de água doce*. São Paulo. CETESB. 44p.

ARAÚJO, R.P.A. (1998). *Avaliação da toxicidade de sedimentos ao anfípodo de água doce Hyalella meinerti Stebbing, 1899 (Crustácea, Amphipoda).* Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. São Paulo. 184p.

ASSIS, N.M.V. (1998). *Planejamento de Participação – Reservatório Billings.* Secretaria do Meio Ambiente. São Paulo. 184p.

BARBOSA, F.A.R.; PADISAK, J.; ESPÍNDOLA, E.G.L.; BORICS, G.; ROCHA, O. (1999). The cascading reservoir continuum concept (CRCC) and its application to the river Tietê – Basin – São Paulo State, Brazil. In: TUNDISI, J.G.; STRASKRABA, M. (Eds.). *Theoretical reservoir ecology and its applications.* Rio de Janeiro, Brazilian Academy of Sciences and Backhuys Publishers.

BENOIT, D.A.; PHIPPS, G.A.; ANKLEY, G.T. (1993). A sediment testing intermittent renewal system for the automated renewal of overlying water in toxicity tests with contaminated sediments. *Water Research.* 27: 1404-1412p.

BOLDRINI, C.V.; EYSINK, G.G.J.; MARTINS, M.C.; LAMPARELLI, M.C. (1990). *Contaminates na bacia do rio Cubatão e seus reflexos na biota aquática. São Paulo: CETESB, 1990.* 81p + anexos.

BORGMANN, U; NÉRON, R.; NORWOOD, W.P. (1991). Quantification of bioavailable nickel in sediment and toxic thresholds to *Hyalella azteca. Environmental Pollution.* 111: 189-198p.

BORGMANN, U. & NORWOOD, W.P. (1995). Kinetics of excess (above background) copper and zinc in *Hyalella azteca* and their relationship to chronic toxicity. *Can j. fish. Aquat. Sci. 52:* 864-874p.

BORGMANN, U. & BORGMANN, A. I. (1997). Control of ammonia toxicity to *Hyalella azteca* by sodium, potassium and pH. ***Environmental Pollution***. 95(3): 325-331p.

BORGMANN, U.; NORWOOD, W.P. (1999). Sediment toxicity testing using large water-sediment ratios: an alternative to water renewal. *Environmental Pollution* 106: 333-339p.

BORGMANN, U. & NORWOOD, W.P. (1999). Assessing the toxicity of lead in sediments to *Hyalella azteca*: the significance of bioaccumulation and dissolved metal. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56: 1494-1503p.

BORGMANN, U; NÉRON, R. & NORWOOD, W.P. (2001). Quantification of bioavailable nickel in sediments and toxic thresholds to *Hyalella azteca*. *Environmental Pollution*. 111; 189-198p.

BOTTA-PASCHOAL, C.M.R. (2002). *Avaliação ecotoxicológicas de sedimentos em reservatórios da bacia do rio Tietê, SP, com ênfase na aplicação do estudo de AIT – Avaliação e identificação da toxicidade.* São Carlos. 146p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

BOWDER, C.E. & BIDWELL, J.P. (1978). Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH, salinity. *J. Fish. Res. Board. Can.,* 35: 1012-1016p.

BRANCO , S.M. (1991). A Água e o Homem. In: PORTO, R.L.L. (Ed.). *Hidrologia Ambiental*. Coleção ABRH de Recursos Hídricos. São Paulo, EDUSP/ABRH, vol.3. 620p.

BRASIL, *Lei 7.802 de 11 de julho de 1989.* 8p.

BURTON, G.A.; NELSON, M.K.; INGERSOLL, C. G. (1992). Freshwater benthic toxicity tests. In: BURTON, JR., A.G. (Ed.) *Sediment toxicity assessment*. Boca Ranton: Lewis Publishers. Cap. 10. 213-240p.

BURTON, G.A. (1992). *Sediment toxicity assessment.* Lewis Publishers.

BURTON, G.A., Jr & INGERSOLL, C.G. (1994). Evaluating the toxicity of sediments. In: *The assessment of contaminated Great Lakes sediment*. USEPA. Chicago.

BURTON, G.A. Jr. (1994). Why Test Sediments? In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, Jr., G.A.; CAIRNS Jr., J. (Eds.). *Handbook Ecotoxicology.* Lewis Publishers, Boca Ranton. 1-60p.

BURTON, G.A. Jr. (1995). Critical issues in sediment bioassays and toxicity testing. *J. Aquat. Ecoss. Health.* .4: 151-156p.

BURTON, G.A.; NORBERG-KING, T.J.; INGERSOLL, C.G.; BENOIT, D.A.; ANKLEY, G.T.; WINGER, P.V.; KUBITZ, J.; LAZORCHAK, J.M.; SMITH, M.E.; GREER, E.; DWYER, F.J.; CALL D.J.; DAY, K.E.; KENNEDY, P.; STINSON, M. (1996). Interlaboratory study of precision: *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans* freshwater sediment toxicity assays. E*nvironmental Toxicology and Chemistry*. 15 (8): 1355-1343p.

CAIRNS Jr., J. & SHALIE, W.H. (1980). Why test sediments? In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON Jr. G.A.; CAINS, Jr. J. (Eds.). *Handbook Ecotoxicology.* Lewis Publishers. Boca Ranton. 1-60p.

CALIJURI, M.C. & TUNDISI, J.G. (1990). Limnologia comparada das represas do Lobo (Broa) e Barra Bonita – Estado de São Paulo: mecanismos de funcionamento e bases para o gerenciamento. *Rev.Brasil. Biol.* 50(4): 893-913p.

CAMPOS, J.R.; REALI, M.A.; DANIEL, L.A. (1999). *Conceitos gerais sobre técnicas de tratamento de águas de abastecimento, esgotos sanitários e desinfecção.* Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de São Carlos. Departamento de Hidráulica e Saneamento. São Carlos. 47p.

CARVALHO, P.S.M.; ZANARDI, E.; BURATINI, S.V. LAMPARELLI, M.C.; MARTINS, M.C. (1998). Oxidizing effect on metal remobilization and *Daphnia similes* toxicity from a Brazilian reservoir sediment suspension. *Water Research* 32:193-199p.

CCME - CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT. (1999). Canadian sediment quality guidelines. In: *Canadian environmental quality guidelines.* 12p.

CCME - CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT. (1999). Protocol for derivation of Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life. In: *Canadian environmental quality guidelines.* 35p.

CHAPMAN, P.M. (1989). Current approaches to developing sediment quality criteria. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 8: 589-599p.

CHAPMAN, P.M. (1990). The sediment quality triad approach to determining pollution-induced degradation. *The Science of the Total Environment.* vol. 97/98. 815-825p.

CHAPMAN, P.M.; WANG, F.; JANSSEN, C; PERSOONE, G. (1998). Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55: 2221-2243p.

COMPANHIA ENERGÉTICA DE SÃO PAULO – CESP. (1990). *Caracterização liminológica preliminar do reservatório da UHE Mário Lopes Leão Promissão, São Paulo*. Coleção ecossistemas aquáticos. 004. 46p.

COMPANHIA ENERGÉTICA DE SÃO PAULO – CESP. (1998). *Conservação e manejo nos reservatórios*. Limnologia. Ictiologia. Pesca. 163p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB, (1979). *Estudo da represa Billings: caracterização sanitária e ecológica para avaliação de suas água.* São Paulo: CETESB. 171p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB, (1981) a, *Projeto piloto do rio Atibaia.* São Paulo. 338p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB, (1981) b, *Avaliação da qualidade ambiental do rio Atibaia através de indicadores biológicos.* São Paulo. 24p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1983). *Avaliação da toxicidade das águas e sedimentos dos rios da região de Cubatão*. São Paulo. CETESB 1983a. 10p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1983). *Ensaios biológicos com água e sedimento da represa Billings.* São Paulo. CETESB 1983b. 29p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB, (1985). *Estudo emergencial dos níveis de contaminação por metais pesados na água, sedimento e peixes no reservatório Rio das Pedras.* São Paulo. 10p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1986) a. *Desenvolvimento de métodos para o estabelecimento de critérios ecotoxicológicos.* Relatório Final 1983. São Paulo. vol. 1: 174p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1986) b. *Influência de agentes tóxicos no tratamento de esgotos por via biológica – processo de lodo ativado.* São Paulo. 31p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1986) c. *Avaliação da toxicidade das águas e sedimentos dos rios da região de Cubatão.* vol. 1 e 2. 136p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1986) d. *Avaliação da toxicidade de efluentes de indústrias de papel e celulose.* São Paulo. 70p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1987)a. *Avaliação da toxicidade de despejos industriais na região da Grande São Paulo.* São Paulo. 92p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1988). *Avaliação preliminar da contaminação por metais pesados na água, sedimento e organismos aquáticos do rio Cubatão (SP).* São Paulo: CETESB. 28p + anexos.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1990) c. *Água – Teste de toxicidade aguda com peixes.* São Paulo. 29p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1993) a. *Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo - 1992.* São Paulo. 251p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1994) c. *Água – Teste de toxicidade aguda com Daphnia similis Claus, 1876 (Cladocera: Crustácea): método de ensaio.* São Paulo. 25p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (1998). *Métodos de avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos.* Vol. 1. São Paulo. 122p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB. (1999). *Monitoramento integrado – Bacia do Alto e Médio Tietê. Avaliação da qualidade de água, sedimento e peixes - Relatório final.* Relatório Técnico. São Paulo. 138p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB (2000). *Sedimento – Avaliação de toxicidade aguda utilizando Hyalella azteca (Anfípoda).* Método de Ensaio. Norma CETESB L5 229. São Paulo. 18p.

CONSELHO ESTADUAL DE RECURSOS HÍDRICOS. (1990). *Plano Estadual de recursos hídricos: primeiro plano do Estado de São Paulo.* São Paulo, DAEE. 140p.

COOPER, W.E. (1965). Dynamics and production of a natural population of a freshwater amphipod, *Hyalella azteca. Ecological Monographs.* 35 (4): 377-394p.

COTIA NET. (2003). *Reservatório Pedro Beicht.* http:/www.cotianet.com.br.

CRANE, M; EVERTS, J.; GUCHTE, C. van de; HEIMBACH, F.; HILL, I. MATTHIESSEN, P. & STRONKHORST, J. (1996). Research needs in sediment bioassay and toxicity testing. *Development and Progress in Sediment Quality Assessment: Rationale, Challenges, Techniques & Strategies.* 49-56p.

DE MARCH, B.G.E. (1981). *Hyalella azteca* (Saussure). In: LAWRENCE, S.G. (Ed.) A manual for the culture of selected freshwater invertebrates. *Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences.* 56: 61-77p.

EMAE – Empresa Metropolitana de Águas e Energia S.A. (2003). *Foto Reservatório Billings – Vista aérea.* http://www.emae.sp.gov.br.

ENVIRONMENTAL CANADA. (1990). *Guidance document on control of toxicity test precision using reference toxicants.* Ottawa. 85p.

ENVIRONMENT CANADA. (1999). Testing of growth and survival in sediment using the freshwater amphipod, *Hyalella azteca*. Standard operating procedure. Environment Canada. North Vancouver. (In Press).

ESTEVEZ, F.A. (1988). *Fundamentos de Limnologia.* Editora Interciência/FINEP. Rio de Janeiro. 575p.

EYSINK, G.G.J. (1995). *Subsídios para o manejo de ecossistemas aquáticos contaminados por mercúrio*. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. São Paulo. 176p.

FONSECA, A.L. (1997). *Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba, SP, através de testes de toxicidade com invertebrados.* Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 211p + anexos.

FRACÁCIO, R. (2001). *Utilização de bioensaios ecotoxicológicos com Danio rerio (Cypriniformes, Cyprinidae) para a avaliação da qualidade do seidmento em reservatórios do rio Tietê (SP).* Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 240p.

FUJISAKI, E.T. (2001). *Produção primária e estrutura da comunidade fitoplanctônica nas zonas limnética e litorânea da represa Álvaro de Souza Lima (Bariri, SP) em Quatro Épocas do Ano.* Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 105p.

GANNON, J.E. & BEETON, A.M. (1971). Procedures for determining the effects of dredged sediments on biota-benthos viability and sediment selectivity tests. *Journal Water Pollution Control Federation.* 43 (3) 392-398p.

HARRIS, H.J.; SAGER, P.E.; REGIER, H.A.; FRANCIS, G.R. (1990). Ecotoxicology and ecosystem integrity: The Great Lakes examined. *Environ. Scien.* Technol. 24 (5): 598-603p.

HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON,G.A. Jr.; CAIRNS, J. Jr. (1995). Introduction. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, G.A. Jr.; CAIRNS, J. Jr (Eds.) *Handbook of Ecotoxicology.* Lewis Publishers. Cap. 1. 1-10p.

IBAMA – INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS RENOVÁVEIS. (1996). *Portaria Normativa nº 84 de 15 de outubro de 1996.* 40p.

INGERSOLL, C.G. & NELSON, M.K. (1990). Testing sediment toxicity with *Hyalella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius (Diptera).* In: LANDIS, W.G.; van der SCHALIE, W.H. (Eds.) Philadelphia: American Society for Testing and Materials. 93-109p.

INGERSOLL, C.G. (1995). Sediment Tests. In: RAND, G.M. (Ed.) *Fundamentals of aquatic Toxicology: effects, environmental fate and risk assessment.* Taylor e Francis Publishers. Washington D.C., USA. Cap. 8 231-253p.

INGERSOLL, C.G.; ANKLEY, G.T.; BENOIT, D.A.; BRUSON, E.L.; BURTON, G.A.; DWYER, F.J.; HOKE, R.A.; LANDRUM, P.F.; NORBERT-KING, T.J.; WINGER, P.V. (1995). Toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants using freshwater invertebrates: a review of methods and applications. *Environment Toxicology and Chemistry.* 14 (11): 1885-1894p.

IRWIN, F. & WILLIAMS, I.R. (1986). Catchments as planning units. *Journal of Soil Conservation.* 42 (1):6-9p.

ISO. (1982) a. *Water quality: determination of the inhibition of mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustácea).* (ISO 6341 – 1982 – E – 150) Paris: International Organization for Standartization. 9p.

ISO. (1982) b. *Water quality: determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish Brachidanio rerio (Hamilton - Buchanan, Teleostei, Cyprinidae).* (ISO/DIS 7346/1). Paris: International Organization for Standartization. 8p.

JORGENSEN, S.E. (1990). Introduction. In: JORGENSEN, S.E. (Ed.) *Development in Environmental Modelling, 16 – Modelling in Ecotoxicology.* Amsterdam, Elsevier Science Publishers. Cap 1. 11-14p.

KEATING, K.I. (1985). A system of defined (*sensu stricto*) media for Daphnid (Cladocera) culture. *Water Research, 19* (1): 73-78p.

KEMBLE, N.E.; BRUMBAUGH, W.G.; BRUNSON, E.L.; DWYER, F.J.; INGERSOLL, C.G.; MONDA, D.P.; WOODWARD, D.F. (1994). Toxicity of metal-contaminated sediments from the upper Clark Fork River, Montana, to aquatic invertebrates and fish in laboratory exposures. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 13 (12): 1985-1997p.

KNEZOVICH, J.P.; HARRISON, F.L.; WILHELM, R.G. (1987). The bioavailability of sediment-sorbed organic chemicals: A review. *Water, Air, Soil Pollut. 32:* 233-245p.

KUBITZ, J.A.; LEWEK, E.C.; BESSER, J.M.; DRAKE III, J.B.; GIESY, J.P. (1995). Effects of cooper-contaminated sediments on *Hyalella azteca*, *Daphnia magna*, and *Ceriodaphnia dubia*: survival, growth, and enzyme inhibition. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.* 29:97-103p.

KUBITZ, J. A.; GIESY, J.P. (1996). Changes in overlying water quality and sediment toxicity to *Hyalella azteca* during a 10-day sediment bioassay: Static vs. Renewal regimens. *Development and Progress in Sediment Quality assessment: Rationale Challenges, Techniques & Strategies.* Amsterdam, The Netherlands. 101-113p.

KUBITZ, J.A.; BESSER, J.M. & GIESY, J.P. (1996). A two-step experimental design for a sediment bioassay using growth of the amphipod *Hyalella azteca* for the test end point. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 15 (10) 1783-1792p.

LAMBERSON, J.O.; DE WITT, T.H.; SWARTZ, C. (1992). Assessment of sediment toxicity to marine benthos. In: BURTON, G.A. Jr. (Ed.). *Sediment toxicity assessment.* Boca Ranton. Lewis Publishers. cap.9. 183-211p.

LAMPARELLI, M.C. (1996). *Avaliação do complexo Billings: comunidades aquáticas, água, sedimento (out/92 a out/93)*. São Paulo. CETESB. 53p.

LIGHT – SERVIÇOS DE ELETRICIDADE S/A (1975). Usinas da Light em São Paulo. 10p.

LONG, E. & CHAPMAN, P.M. (1985). A sediment quality triad: measures of sediment contamination, toxicity and infaunal community composition in Puget Sound. *MarinePollution Bulletin.* 16 (10): 405-415p.

LONG, E. & MORGAN, L.G. (1990). *The potencial for the biological effects of sediment-sorbed contaminants tested in the national status and trends program.* Seattle: National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). 1-7p.

LORENZETTI, M.L.; ARAÚJO, R.P.A.; GOMES, M.J.A.; DOMINGUES, D.F.; BAPTISTA, H.A. (1991). *Desenvolvimento e implantação de testes de toxicidade com organismos aquáticos – Volume I – Testes Crônicos com Ceriodaphnia.* São Paulo. 26p + anexos.

LORENZETTI, M.L.; ARAÚJO, R.P.A.; GOMES, M.J.A.; (1992). *Testes de toxicidade com sedimento de água doce:. Resultados preliminares.* São Paulo. 7p + anexos.

LUOMA, S.N. (1989). Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements? *Hydrobiologia* 176/177: 379-396p.

MacDONALD, D.D. (1993). *Development of an approach to the assessment of sediment quality in Florida coastal waters.* British Columbia: MacDonald Environmental Sciences. 133p.

MANAHAM, S.E. (1994). *Environmental Chemistry.* Lewis Publishers. 811p.

MANSON, C.F. (1990). Biological aspects of freshwater pollution. In: HARRISON, R.M. (Ed.). *Pollution: causes, effects & control.* Royal Society of Chemistry.

MARGALEF, R. (1985). Basic ecological parameters, monitoring and biological monitors in the aquatic environment. In: NURNBERG, H. W. (Ed.). *Pollutans and their ecotoxicological significance.* John Wiley & Sons. Cap. 12. 149-1175p.

MARGALEF, R. (1993). *Limnologia.* Barcelona. Omega. 1010p.

MELETTI, P.C. (1997). *Avaliação da qualidade da água e do sedimento na bacia do rio Piracicaba, SP, através de testes de toxicidade com peixes.* Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 149p. + anexos.

MENDES, (1998). *Avaliação dos impactos sobre a comunidade macrobentônica, no córrego do Monjolinho (São Carlos, SP).* Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, 106p + anexos.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. (1992). *Portaria nº 03 de 16 de Janeiro de 1992. 25p.*

MORIARTY, F. (1983). *Ecotoxicology – The study of pollutans in ecosystems.* Academic Press. London. 280p.

NARCHI, W. (1973). *Crustáceos: estudos práticos 1.* São Paulo: Polígono/Editora da Universidade de São Paulo. 57-63p.

NASCIMENTO, M.R. & MOZETO, A.A. (2001). Valores de referência para metais pesados e contaminação em sedimentos fluviais e lacustres na bacia do rio Tietê. In: MOZETO, A.A.; JARDIM, W.F.; UMBUZEIRO, G.A. (Eds.). *Workshop de avaliação do projeto QualiSed.* São Carlos. 69p.

NEWMAN, M.C. (1995). *Quantitative methods in aquatic ecotoxicology.* Lewis Publishers. 426p.

ODUM, E.P. (1993). *Ecologia.* Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro. 434p.

OECD – Organization for Economic Co-operation and Development. (1994). *Environmental Indicators.* Paris. 159p.

ONAGA, C.; MARTINS, R. H.O. (1998). Processo histórico da ocupação econômica na bacia hidrográfica da UHE de Barra Bonita e suas conseqüências sobre o uso múltiplo do reservatório: geração de energia. Em: *Documentos ambientais: casos de gestão ambiental.* UNICAMP- CETESB. 5-30p.

PAASIRVITA, J. (1991). *Chemical Ecotoxicology.* Lewis Publishers. 175p.

PAMPLIN, P.A.Z. (1999). *Avaliação da qualidade ambiental da represa de Americana (SP – Brasil) com ênfase no estudo da comunidade de macroinvertebrados bentônicos e parâmetros ecotoxicológicos.* Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo.

PENNAK, R.W. (1989). *Freshwater invertebrates of United States.* New York: John Wiley & Sons. Cap. 21. 474-479p.

PORTO, M.F.A.; BRANCO, S.M.; de LUCA, S.J. (1991). Caracterização da qualidade da água. In: PORTO, R.L. (Org.). *Hidrologia ambiental.* Coleção ARRH de Recursos Hídricos. EDUSP/ABRH. São Paulo. Cap. 2. 27-66p.

POWER, E.A. & CHAPMAN, P.M. (1992). Assessing sediment quality. In: BURTON, Jr.G. A. (Ed.) *Sediment toxicity assessment.* Boca Ranton: Lewis Publishers, 1992. Cap. 1, 1-18p.

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.* Taylor e Francis Publishers. Washington D.C. USA. Cap.1. 3-67p.

REYNOLDSON, T.B. & DAY, K.E. (1993). Freshwater sediments. In: CALOW, P. (Ed.). *Handbook of Ecotoxicology*. Beackwell Science. Sheffield, Oxford. 83-100p.

ROCHA, A.A. (1984). *A ecologia, os aspectos sanitários e de saúde pública da represa Billings na região metropolitana de São Paulo: uma contribuição à sua recuperação.* Tese (Livre Docência – Saúde Ambiental). Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo. São Paulo. 166p.

RODGHER, S. (2001). *Estudos ecotoxicológicos e limnológicos nos reservatórios em cascata do médio e baixo rio Tietê: uma análise espacial e temporal.* Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo. São Carlos, SP. 178p.

ROSADO, R.M. (1998). *Uma abordagem integrativa da qualidade dos sedimentos de fundo da Baia de Ipanema, Porto Alegre, RS.* Porto Alegre: UFRGS. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 153p.

ROWE, W.D. (1984). *Evaluation methods for environmental standards.* CRC Press. 3-19p.

SABESP. (2003). *Plano de conservação do sistema Cotia.* http:/www.sabesp.com.br.

SANDES, M.A.L. (1990). *Flutuações e fatores ecológicos, composição e biomassa do fitoplâncton em curto período de tempo no reservatório de Álvaro de Souza Lima (Bariri, SP).* Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo. São Carlos, SP. 100p.

SAMPAIO, A.V. (1988). *Dinâmica populacional e produtividade de uma população de Amphipoda de água doce*. São Carlos. Departamento de Ciências Biológicas. Universidade Federal de São Carlos. 24p.

SILVÉRIO, P.F. & MOZETO, A.A. (2001). Bases técnico-científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos (CQS) de metais pesados: experimentos de campo e laboratório. In: MOZETO, A.A.; JARDIM, W.F.; UMBUZEIRO, G.A. (Eds.). *Workshop de avaliação do projeto QualiSed.* São Carlos. 69p.

SILVÉRIO, P.F. & MOZETO, A.A. (2002). *Derivação de Critérios de Qualidade de Sedimentos (CQS) para metais no Projeto Qualised.* 25° Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ.

SOARES, A. & MOZETO, A.A. (2001). Contribuição à caracterização biogeoquímica da coluna d'água das represas do rio Tietê: determinação de fluxos de nutrientes na interface sedimento-água. In: MOZETO, A.A.; JARDIM, W.F.; UMBUZEIRO, G.A. (Eds.). *Workshop de avaliação do projeto QualiSed.* São Carlos. 69p.

SOARES, A. & MOZETO, A.A. (2002). *Revisitando a questão da qualidade da água das represas do Rio Tietê. Estudo de caso: Represa de Barra Bonita.* 25° Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ.

STEEVENS, J.A. & BENSON, W.H. (1998). *Hyalella azteca* 10-day sediment toxicity test: comparison of growth measurement endpoints. *Inc. Environ. Toxicol. Water Qual.* 13: 243-248p.

SUEDEL, B.C. & RODGERS, J.H. (1994). Responses of *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans* to particle-size distribution and organic matter content of formulated and natural freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 13 (10):1639-1648p.

TAKENAKA, R.A. (1999). *Estudo da sensibilidade de invertebrados aquáticos a uma substância de referência e avaliação da qualidade do sedimento da Represa do Monjolinho (São Carlos, SP) através de testes de toxicidade*. Trabalho de conclusão – Bacharelado em Ciências Biológicas. Universidade Federal de São Carlos. 43p.

TIMMERMANN, K.R. (1993). Accumulation and effects of trace metals in freshwater invertebrates. In: DALLINGER, R. & RAINBOW, P.S. *Ecotoxicology of metals in vertebrates.* Lewis Publishers.

TONISSI, F.B. (1999). *Avaliação ecotoxicológicas do reservatório de Salto Grande, Americana (SP), como subsídio para a análise da qualidade ambiental do sistema.* São Carlos. 130p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

TRINDADE, M. (1980). *Nutrientes em sedimentos da Represa do Lobo (Itirapina, SP).* Dissertação (Mestrado). Departamento de Ciências Biológicas. Universidade Federal de São Carlos. 219p.

TUNDISI, J.G. (1988). *Limnologia e manejo de represas.* Série monografias em limnologia: impactos ecológicos da construção de represas. Aspectos específicos e problemas de manejo. 76p.

USEPA, U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. (1992). *Sediment classification methods compendium.* Washington D.C. Environmental Protection Agency/Sediment Oversight Technical Committee.

USEPA, U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. (1994). *Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates.* EPA/600/R-94/024. 191p.

USEPA, U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. (2000). *Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates.* EPA/600/R-99/064. 250p.

VALÊNCIO, N. F. L. S. (1996). *Banco de dados sócio-ambientais das bacias do Médio Tietê Superior e do Alto Paranapanema.* Universidade Federal de São Carlos. Depto. De Ciências Sociais. Núcleo de Pesquisa e Documentação. São Carlos. SP.

WALL, V.D.; LONDON, J.; WARREN, J.E.; GOSSET, R.; WENHOLZ, M.D.; KLAINE, S.J. (1998). Development of a continuous-flow renewal system for sediment toxicity testing. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17: 1159-1164p.

WHITEMAN, F.W.; ANKLEY, G.T.; KAHL, M.D.; RAU, D.M. & BALCER. M.D. (1996). Evaluation of intersticial water as a route of exposure for ammonia in sediment testes with benthic macroinvertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry.* Vol. 15(5): 794-801.

WEST INC. & GULLEY, D. (1996). *Toxtat 3.5.* Laramie. University of Wyoming. 38p.

WINGER, P.V.; LASIER, P.J. (1993). Sediment toxicity testing: comparison of methods and evaluation of influencing factors. In: GORSUCH, J.W. et. al. *Environmental toxicology and risk assessment: 2nd volume.* ASTM Publication 04-012169-16, 640-662p.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E.; RAMOS, M.L.L.C.; GOLDSTEIN, E.G.; SOUZA, H.B.; SILVA, E.P. (1990). *Redução da toxicidade em sistemas de tratamento secundário de despejos líquidos.* CETESB. São Paulo.

ZAMBONI, A..J. (2000). *Caracterização ecotoxicológica do estuário da lagoa dos patos no entorno de Rio Grande, RS: fundamentos e técnicas.* Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos – USP. São Carlos, SP. 185p.

ZUMWALT, D.C.; DWYER, F.J.; GREER, I.E.; INGERSOLL, C.G. (1994). A water-renewal system that accurately delivers small volumes of water to exposure chambers. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 13 (8): 1311-1314p.

ANEXO I

TABELA 1 – Valores de pH das amostras testadas segundo ASTM (1993), BORGMANN & NORWOOD (1999) e USEPA (1994)

		pH (unidades)					
		ASTM (1993)		BORGMANN & NORWOOD (1999)		USEPA (1994)	
Reservatório	**Data**	**R1**	**R2**	**R1**	**R2**	**R1**	**R2**
Billings	17/10/00	7,1	7,3	6,8	6,8	6,9	7,3
	20/10/00	7,3	7,7	7,1	7,2	7,3	7,1
	23/10/00	7,5	7,6	7,3	7,3	7,4	7,4
	25/10/00	7,1	7,3	7,2	7,3	7,0	6,8
	27/10/00	6,7	5,5	7,2	7,1	7,1	7,3
Rasgão	17/10/00	7,5	7,5	7,4	7,3	7,7	7,9
	20/10/00	8,2	8,3	7,5	7,2	7,9	7,9
	23/10/00	8,4	8,5	7,8	7,7	7,8	7,8
	25/10/00	8,4	8,4	7,8	7,7	7,5	7,6
	27/10/00	8,2	8,2	7,8	7,7	7,7	7,8
Pedro Beicht	17/10/00	6,5	6,4	6,7	6,8	5,8	5,8
	20/10/00	6,9	6,6	7,4	7,0	6,9	6,9
	23/10/00	6,6	6,2	7,5	7,5	7,1	6,9
	25/10/00	6,6	6,6	7,5	7,5	6,5	7,0
	27/10/00	6,6	6,6	7,5	7,3	7,2	7,2
Barra Bonita	31/10/00	7,0	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9
	01/11/00	7,4	7,5	7,5	7,4	6,9	6,9
	03/11/00	7,5	7,3	7,6	7,5	7,2	7,1
	06/11/00	7,2	7,2	7,4	7,3	6,9	7,0
	08/11/00	7,3	7,2	7,4	7,4	7,5	7,3
	10/11/00	7,3	7,4	7,0	7,1	7,2	7,2
Pedro Beicht	31/10/00	5,7	6,2	6,9	6,7	6,3	5,9
	01/11/00	6,7	6,8	7,5	7,3	6,3	6,4
	03/11/00	6,6	6,7	7,5	7,5	6,7	6,7
	06/11/00	7,1	7,1	7,6	7,3	6,8	6,9
	08/11/00	6,8	7,0	7,4	7,6	7,3	7,4
	10/11/00	6,3	6,6	7,1	7,0	6,9	7,0
Bariri	19/06/01	7,2	7,2	6,8	6,7	7,0	7,0
	20/06/01	7,5	7,6	7,1	7,2	7,0	6,8
	22/06/01	6,9	6,9	7,0	7,1	7,4	7,4
	25/06/01	6,2	6,5	7,1	7,2	7,1	7,0
	27/06/01	7,0	6,8	7,0	7,1	7,1	7,1
	29/06/01	7,1	7,0	7,1	7,0	7,0	6,9
Promissão	19/06/01	6,6	6,8	6,8	6,7	6,4	6,6
	20/06/01	6,9	7,1	7,2	7,2	6,6	6,8
	22/06/01	6,9	6,9	7,2	7,2	7,2	6,8
	25/06/01	6,2	6,5	7,2	7,2	7,2	7,4
	27/06/01	6,1	6,5	7,1	7,3	7,1	7,0
	29/06/01	5,7	5,5	7,2	7,0	7,0	6,8
Pedro Beicht	19/06/01	6,4	6,5	6,5	6,6	6,3	5,8
	20/06/01	6,6	6,6	6,8	6,9	6,5	6,2
	22/06/01	6,2	6,3	6,8	7,1	7,1	6,9
	25/06/01	6,4	6,3	7,0	7,2	7,1	7,1
	27/06/01	5,9	6,0	6,9	7,3	7,1	7,1
	29/06/01	5,2	5,7	6,9	7,2	6,9	6,7

TABELA 2 – Concentração de oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$) das amostras testadas segundo ASTM (1993), BORGMANN & NORWOOD (1999) e USEPA (1994)

		OXIGÊNIO DISSOLVIDO (mg/litro)					
		ASTM (1993)		BORGMANN & NORWOOD (1999)		USEPA (1994)	
Reservatório	**Data**	**R1**	**R2**	**R1**	**R2**	**R1**	**R2**
Billings	17/10/00	5,8	6,8	4,9	6,3	1,5	5,3
	20/10/00	4,7	6,0	6,3	7,0-	5,3	5,2
	23/10/00	6,3	6,7	7,3	7,4	7,0	6,8
	25/10/00	5,9	5,4	7,4	6,4	1,3	2,3
	27/10/00	5,8	7,0	4,9	6,5	4,0	5,2
Rasgão	17/10/00	5,8	6,2	6,9	6,6	5,0	5,4
	20/10/00	5,0	4,8	6,8	6,4	5,3	4,9
	23/10/00	6,1	5,7	7,1	7,3	6,2	5,8
	25/10/00	5,3	5,2	7,1	7,2	1,4	1,7
	27/10/00	5,5	5,5	6,6	6,8	4,1	5,4
Pedro Beicht	17/10/00	6,5	6,6	4,6	4,9	5,2	4,5
	20/10/00	6,1	6,5	6,8	5,9	5,0	5,4
	23/10/00	6,9	6,9	7,1	7,3	6,7	6,7
	25/10/00	5,4	5,3	7,1	7,2	1,6	4,5
	27/10/00	6,7	6,9	6,7	6,8	3,6	3,7
Barra Bonita	31/10/00	3,1	4,1	2,4	1,7	1,0	0,9
	01/11/00	5,5	6,6	7,1	6,8	5,7	4,0
	03/11/00	6,0	6,4	7,2	7,2	6,6	6,7
	06/11/00	5,3	6,3	7,1	7,2	6,0	6,0
	08/11/00	6,4	6,5	7,4	7,4	6,1	4,0
	10/11/00	4,1	6,2	6,0	5,1	2,7	4,0
Pedro Beicht	31/10/00	5,0	4,5	2,0	2,5	1,0	1,1
	01/11/00	6,9	6,8	7,0	6,8	4,9	5,6
	03/11/00	7,0	6,8	7,2	7,2	5,8	6,1
	06/11/00	6,9	6,7	6,9	7,1	5,8	6,1
	08/11/00	7,0	6,9	7,4	7,1	7,2	7,3
	10/11/00	5,1	6,1	5,6	5,9	4,3	4,3
Bariri	19/06/01	6,9	6,8	6,0	6,4	6,3	3,0
	20/06/01	7,0	7,0	7,2	7,3	6,4	4,4
	22/06/01	7,0	7,0	6,8	7,1	6,5	6,7
	25/06/01	6,2	6,9	6,9	7,1	6,6	6,5
	27/06/01	6,2	6,9	6,8	7,2	6,2	6,2
	29/06/01	6,5	6,5	6,8	6,0	4,8	5,1
Promissão	19/06/01	6,7	6,9	6,0	6,4	5,3	5,5
	20/06/01	7,0	7,0	7,2	7,3	4,1	6,2
	22/06/01	6,9	7,0	7,1	7,1	6,5	6,6
	25/06/01	6,5	6,1	7,0	7,2	6,8	6,6
	27/06/01	6,8	6,3	7,2	7,2	6,4	6,4
	29/06/01	6,3	6,6	6,3	6,2	4,8	4,0
Pedro Beicht	19/06/01	6,6	6,6	6,0	6,0	2,1	5,0
	20/06/01	7,0	7,1	6,8	7,0	4,9	6,2
	22/06/01	7,1	7,1	7,0	7,1	6,6	6,9
	25/06/01	6,8	7,0	6,8	7,1	6,6	6,7
	27/06/01	6,7	6,8	6,9	7,2	6,5	6,5
	29/06/01	6,5	4,3	5,9	6,8	5,8	4,0

TABELA 3 – Valores de condutividade ($\mu S.cm^{-1}$) das amostras testadas segundo ASTM (1993), BORGMANN & NORWOOD (1999) e USEPA (1994)

		CONDUTIVIDADE (µS/CM)					
		ASTM (1993)		BORGMANN & NORWOOD (1999)		USEPA (1994)	
Reservatório	**Data**	**R1**	**R2**	**R1**	**R2**	**R1**	**R2**
Billings	17/10/00	287,0	269,0	224,0	226,0	319,0	310,0
	20/10/00	326,0	321,0	233,0	238,0	225,0	222,0
	23/10/00	322,0	320,0	258,0	250,0	272,0	268,0
	25/10/00	322,0	327,0	269,0	256,0	255,0	249,0
	27/10/00	320,0	336,0	258,0	266,0	246,0	254,0
Rasgão	17/10/00	455,0	354,0	259,0	248,0	682,0	678,0
	20/10/00	796,0	733,0	278,0	253,0	480,0	467,0
	23/10/00	855,0	802,0	307,0	285,0	443,0	446,0
	25/10/00	840,0	835,0	320,0	300,0	420,0	420,0
	27/10/00	782,0	794,0	319,0	297,0	427,0	234,0
Pedro Beicht	17/10/00	198,0	190,7	216,0	223,0	227,0	161,2
	20/10/00	172,8	171,6	218,0	221,0	168,2	152,5
	23/10/00	158,9	161,8	232,0	236,0	235,0	170,2
	25/10/00	166,0	168,0	244,0	244,0	222,0	222,0
	27/10/00	168,9	162,3	246,0	243,0	234,0	234,0
Barra Bonita	31/10/00	223,0	232,0	220,0	218,0	225,0	229,0
	01/11/00	234,0	230,0	223,0	219,0	209,0	212,0
	03/11/00	242,0	230,0	226,0	227,0	244,0	242,0
	06/11/00	231,0	214,0	226,0	228,0	250,0	255,0
	08/11/00	239,0	231,0	237,0	233,0	263,0	267,0
	10/11/00	245,0	250,0	241,0	248,0	286,0	280,0
Pedro Beicht	31/10/00	177,0	184,0	205,0	201,0	151,0	156,0
	01/11/00	175,0	178,0	210,0	204,0	146,2	153,6
	03/11/00	170,2	172,2	220,0	212,0	201,0	199,4
	06/11/00	166,5	164,0	217,0	213,0	225,0	231,0
	08/11/00	171,1	161,8	233,0	221,0	238,0	232,0
	10/11/00	180,0	168,5	244,0	236,0	243,0	238,0
Bariri	19/06/01	239,0	237,0	230,0	229,0	242,0	240,0
	20/06/01	209,0	206,0	229,0	229,0	196,4	191,6
	22/06/01	230,0	213,0	232,0	235,0	239,0	232,0
	25/06/01	220,0	205,0	240,0	246,0	237,0	233,0
	27/06/01	226,0	207,0	239,0	240,0	247,0	247,0
	29/06/01	245,0	223,0	241,0	241,0	256,0	243,0
Promissão	19/06/01	207,0	211,0	223,0	222,0	197,5	201,0
	20/06/01	165,6	174,6	226,0	234,0	165,9	162,4
	22/06/01	168,7	175,5	229,0	235,0	207,0	208,0
	25/06/01	164,2	171,3	237,0	238,0	226,0	214,0
	27/06/01	168,4	170,1	239,0	240,0	231,0	215,0
	29/06/01	176,3	171,5	243,0	241,0	244,0	225,0
Pedro Beicht	19/06/01	191,0	192,2	227,0	231,0	168,6	170,0
	20/06/01	162,5	163,1	221,0	222,0	150,3	149,1
	22/06/01	162,5	172,1	228,0	227,0	209,0	188,0
	25/06/01	161,8	164,7	233,0	234,0	222,0	212,0
	27/06/01	164,4	167,1	235,0	234,0	237,0	225,0
	29/06/01	168,3	167,4	239,0	240,0	235,0	231,0