UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ALINE FERNANDA CAMPAGNA

**Toxicidade dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio
Monjolinho (São Carlos – SP): ênfase nas substâncias cobre, aldrin
e heptacloro.**

Pirassununga
2005

ALINE FERNANDA CAMPAGNA

Toxicidade dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho (São Carlos – SP): ênfase nas substâncias cobre, aldrin e heptacloro.

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientadora: Prof. Dra. Márcia Noélia Eler

Pirassununga
2005

FICHA CATALOGRÁFICA

preparada pela

Biblioteca da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo

C186t	<p>Campagna, Aline Fernanda</p> <p>Toxicidade dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho (São Carlos-SP) : ênfase nas substâncias cobre, aldrin e heptacloro / Aline Fernanda Campagna</p> <p>Pirassununga, 2005.</p> <p>268 f.</p> <p>Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos -- Universidade de São Paulo.</p> <p>Departamento de Ciências Básicas.</p> <p>Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Joanir Pereira Eler.</p> <p>Unitermos: 1. Sedimento 2. Toxicidade 3.Aldrin</p> <p>4. Heptacloro 5. Rio Monjolinho I. Título.</p>
-------	---

DEDICATÓRIA

A os meus pais Wilson e Elizabeth...

A minha avó Olinda...

A o meu irmão Paulo...

A o meu noivo Fernando...

...com amor, admiração e gratidão pela compreensão e
incansável apoio durante a elaboração deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dra. Márcia Noélia Eler, pela orientação, ensinamentos, amizade e pelo grande esforço dispensado na elaboração deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Joanir Pereira Eler, pela atenção e apoio durante o processo de definição de orientação e pela oportunidade;

Ao Prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola, pelo constante apoio e orientação, contribuindo para meu crescimento profissional e intelectual;

À Prof. Dra. Nelsy Fenerich Verani, que acreditou neste trabalho e forneceu o laboratório para seu desenvolvimento;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio concedido para o desenvolvimento deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Alberto Carvalho Peret, e ao Mercival pelo auxílio nas análises estatísticas;

Às amigas Monjoletes: Renata, Beatriz, Andréa, Carolina e Sabrina, pelo convívio, amizade e paciência durante a elaboração do trabalho;

Aos funcionários e técnicos do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA/USP), Amândio, Claudete, Mara, Marcelo, Achilles, pelo incentivo e auxílio nas análises químicas e físicas;

Aos funcionários e técnicos do Departamento de Hidrobiologia da Universidade Federal de São Carlos, D. Amábile, Sr. Laércio (*in memorian*); Fátima, Sheila e Ditão, pelo carinho e incansável apoio;

Aos amigos que compartilharam o laboratório de dinâmica e de reprodução de peixes da UFSCar, Evelise, Jussara, Marcela, Maura, Rafael, pelos momentos de descontração, alegria, e por me proporcionar um ambiente maravilhoso de convivência;

Aos amigos do CRHEA, Janete, Mariana, Julieta, Clarice, Vivi, Suze, Lucy Zanata que me ensinaram os primeiros conceitos e metodologias de ecotoxicologia, e pelo carinho durante estes anos;

Aos amigos do CEPTA – IBAMA, José Senhorini, Rodrigo, Luiz, Angélica, Piu, pelos ensinamentos e por terem me acolhido com carinho no início deste trabalho;

Às minhas amigas do coração: Ana Karina, Daniela, Elizabeth, Raquel e Sabrina, pela amizade e constante incentivo durante a realização deste trabalho;

Ao mais novo membro da família, minha sobrinha Paola, que chegou no final do trabalho, me alegrando e incentivando com seu sorriso;

Aos amigos e funcionários do CDCC, Alessandra, Ivan, Gilmar, Jahyr, Mara, Evandro, João, Adriano, Alexandro, Chris, Fernando, Josué, Joana, Gildete, Loide, Tatiana, que me receberam com carinho e conviveram comigo nos momentos mais difíceis deste trabalho. Em especial à Silvia Martins dos Santos, pela oportunidade, apoio, amizade, humildade e carinho, sempre.

Ao meu noivo Fernando, pela atenção, carinho, incentivo, compreensão e incansável apoio na elaboração deste trabalho;

Aos meus pais, Wilson e Elizabeth, à minha avó Olinda, ao meu irmão Paulo, que são os meus incentivos para crescer como ser humano e profissionalmente;

*Em especial, agradeço à amiga **Renata Fracácio**, pelos ensinamentos, pela paciência e apoio no desenvolvimento do trabalho; pela compreensão, carinho, e amizade sincera, sempre. OBRIGADA!*

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
 1. INTRODUÇÃO.....	 1
 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	 4
2.1. O metal cobre no ambiente.....	6
2.1.1. Toxicidade do cobre.....	8
2.2. Pesticidas no ambiente.....	10
2.2.1. Toxicidade dos pesticidas organoclorados.....	14
2.3. Bioensaios ecotoxicológicos na avaliação da qualidade ambiental.....	15
 3. OBJETIVOS.....	 18
3.1. Objetivos gerais.....	18
3.2. Objetivos específicos.....	18
 4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	 19
4.1. Área de estudo.....	19
4.2. Períodos de amostragem e pontos de coleta.....	20
4.3. Vazão.....	26
4.4. Análise física, química e biológica da água.....	26
4.4.1. Metais totais.....	26
4.4.2. Pesticidas organoclorados.....	27
4.5. Análise física e química do sedimento.....	27
4.5.1. Metais biodisponíveis.....	28
4.5.2. Pesticidas organoclorados.....	28
4.6. Estudos ecotoxicológicos.....	29
4.6.1. Organismos-teste.....	29
4.6.2. Manutenção dos organismos teste.....	29
4.6.3. Homogeneidade dos organismos teste.....	30
4.6.4. Testes de sensibilidade.....	30

4.6.5. Bioensaios de toxicidade crônico parcial com amostras de sedimento.....	30
4.6.6. Bioensaios de toxicidade com metais e pesticidas.....	31
4.6.7. Avaliação dos resultados de toxicidade.....	32
4.7. Estudos histológicos.....	33
4.8. Análise numérica.....	34
 5. RESULTADOS.....	 35
5.1. Variáveis hidrológicas.....	35
5.1.1. Vazão.....	35
5.2. Variáveis Limnológicas.....	36
5.2.1. Condutividade elétrica e pH.....	36
5.2.2. Turbidez.....	37
5.2.3. Temperatura e oxigênio dissolvido.....	37
5.2.4. Material em suspensão.....	38
5.2.5. Clorofila a total.....	40
5.2.6. Compostos nitrogenados.....	41
5.2.7. Compostos fosfatados.....	44
5.2.8. Silicato reativo.....	46
5.2.9. Coliformes fecais e totais.....	47
5.2.10. Cloretos, sulfatos e sulfetos.....	48
5.2.11. Metais totais.....	50
5.2.12. Pesticidas organoclorados.....	54
5.3. Análise física e química do sedimento.....	56
5.3.1. Porcentagem de matéria orgânica e inorgânica.....	56
5.3.2. Granulometria.....	57
5.3.3. Fósforo total.....	62
5.3.4. Nitrogênio orgânico total.....	63
5.3.5. Metais biodisponíveis.....	64
5.3.6. Pesticidas organoclorados.....	69
5.4. Avaliação da toxicidade do sedimento do sistema Monjolinho.....	70
5.4.1. Biometria inicial dos organismos-teste.....	70
5.4.2. Testes de sensibilidade utilizando ao dicromato de potássio.....	72

5.4.3. Bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento.....	76
5.4.4. Biometria final dos organismos-teste.....	81
5.5. Análises histológicas dos organismos-teste.....	83
5.6. Análise numérica.....	94
5.7. Avaliação da toxicidade do metal cobre.....	98
5.7.1. Padronização da faixa de sensibilidade.....	98
5.7.2. Biometria inicial dos organismos-teste.....	99
5.7.3. Bioensaios de toxicidade crônicos parciais.....	101
5.7.4. Biometria final dos organismos-teste em relação ao controle.....	102
5.7.5. Análise histológica das brânquias.....	104
5.8. Avaliação da toxicidade dos pesticidas organoclorados: aldrin e heptacloro.....	109
5.8.1. Padronização da faixa de sensibilidade.....	109
5.8.2. Biometria inicial dos organismos-teste.....	109
5.8.3. Bioensaios de toxicidade crônicos parciais.....	111
5.8.4. Biometria final dos organismos-teste em relação ao controle.....	112
5.8.5. Análise histológica das brânquias.....	115
6. DISCUSSÃO.....	127
6.1. Caracterização limnológica do rio Monjolinho.....	127
6.1.1. Variáveis físicas e químicas da água.....	127
6.1.2. Avaliação da concentração de metais na água.....	141
6.1.3. Avaliação da concentração de pesticidas organoclorados na água.....	147
6.1.4. Variáveis físicas e químicas do sedimento.....	151
6.1.5. Avaliação da concentração de metais no sedimento.....	156
6.1.6. Avaliação da concentração de pesticidas organoclorados no sedimento.....	164
6.2. Estudos ecotoxicológicos do sistema Monjolinho.....	168
6.2.1. Avaliação dos efeitos na sobrevivência e crescimento dos organismos-teste utilizados nos bioensaios com amostras de sedimento.....	168

6.2.2. Avaliação das alterações histopatológicas nas brânquias dos organismos expostos em amostras de sedimento.....	178
6.3. Avaliação da toxicidade do metal cobre e dos pesticidas organoclorados (aldrin e heptacloro).....	187
6.3.1. Cobre.....	187
6.3.2. Aldrin e heptacloro.....	198
7.CONCLUSÕES.....	210
8.RECOMENDAÇÕES.....	213
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	215
ANEXO A: Variáveis físicas, químicas e biológicas da água do rio Monjolinho e seus tributários.....	236
ANEXO B: Variáveis físicas e químicas do sedimento do rio Monjolinho e seus tributários.....	243
ANEXO C: Resultados dos bioensaios de toxicidade com amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários.....	248
ANEXO D: Resultados dos bioensaios de toxicidade com substâncias de referência (cobre, aldrin e heptacloro).....	251

APRESENTAÇÃO

Este trabalho foi parte de um projeto integrado intitulado por “*Estudos limnológicos e ecotoxicológicos (laboratoriais e in situ) no rio Monjolinho (São Carlos, SP), com ênfase na avaliação da toxicidade de metais e pesticidas organoclorados no zooplâncton (Daphnia similis e Ceriodaphnia dubia), bentos (Chironomus xanthus) e peixes (Danio rerio e Poecilia reticulata)*”, coordenado pelo Prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola (USP/ São Carlos) e auxiliado financeiramente pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Deste projeto foram elaborados dois trabalhos no nível de doutorado, um pela Universidade Federal de São Carlos (FRACÁCIO, em andamento) e outro pela USP de São Carlos (DORNFELD, em andamento); três trabalhos no nível de mestrado, sendo um pela FZEA/USP (CAMPAGNA, 2005) e dois pela USP de São Carlos (NOVELLI, 2005 e VIANA, 2005) e uma monografia de graduação (RODRIGUES, 2005).

RESUMO

CAMPAGNA, A. F. **Toxicidade dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho (São Carlos – SP): ênfase nas substâncias cobre, aldrin e heptacloro.** 2005, 268f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade do Rio Monjolinho (São Carlos – SP) através de análises físicas, químicas, biológicas, e ecotoxicológicas. Para tanto foram realizadas quatro coletas (julho/03, outubro/03, janeiro/04 e abril/04) nos quais foram amostrados água e sedimento em quatorze pontos localizados neste sistema. Estudos sobre a sobrevivência, crescimento e morfologia de brânquias também foram realizados em organismos expostos em concentrações crônicas de cobre, aldrin e heptacloro, ou seja, alguns poluentes detectados no sistema em estudo que estiveram acima da resolução CONAMA 357/05. Os resultados das análises físicas, químicas, biológicas e ecotoxicológicas demonstraram a degradação geral do sistema desde sua nascente, sendo possível observar variabilidade espacial e temporal da qualidade. A toxicidade das amostras de sedimento variou entre períodos de coleta, sendo que as maiores porcentagens foram encontradas em janeiro/04 para ambas as espécies testadas (*D. rerio* e *P. reticulata*). Ocorreu também, uma variabilidade nas respostas das diferentes espécies, sendo que *P. reticulata* apresentou-se mais sensível que *D. rerio* nos dois períodos em que foram realizados estudos ecotoxicológicos (julho/03 e janeiro/04). A análise histológica dos tecidos branquiais dos organismos expostos aos sedimentos confirmou a degradação deste sistema, revelando alterações de primeiro grau em sete dias de exposição na maioria dos pontos amostrados. Exceção foi encontrada na estação UFSCar, onde as brânquias dos organismos apresentaram lesões de segundo estágio. As substâncias de referência: cobre, aldrin e heptacloro demonstraram efeitos na sobrevivência, crescimento e na morfologia das brânquias dos organismos-teste, expostos em concentrações sub-letais (permitidas pelo CONAMA 357/05) durante sete dias de bioensaio. Estes resultados permitiram considerar que, em concentrações detectadas no rio Monjolinho, estas substâncias poderão representar riscos para a perpetuação de espécies de peixes, bem como, para o equilíbrio da comunidade aquática.

Palavras-chave: sedimento, toxicidade, cobre, aldrin, heptacloro, rio Monjolinho.

ABSTRACT

CAMPAGNA, A. F. **Sediment toxicity of the Monjolinho river basins (São Carlos - SP): emphasis in the substances copper, aldrin and heptachlor.** 2005, 268 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

This work aimed evaluates the Monjolinho river quality through physical, chemical, biological and ecotoxicological analysis. Samples of water and sediment were collected in July/03; October/03; January/04 and April/04 in fourteen locations. Moreover studies about survival, growth and gills morphology were performed in organisms exposed to copper, aldrin and heptachlor in chronic concentrations (some pollutants detected in this system). The overall results showed that system is all degraded. The sediment toxicity presented seasonal variation, in the manner that the highest mortality percentage occurred in January/04. Besides, the specie *P. reticulata* was further sensitive than *D. rerio* in both seasons (july/03 and January/04). Histological analysis of test organisms exposed in sediment samples showed gills alterations after seven days. The reference substances: copper, aldrin and heptachlor presents negative effects on survival, growth and gills morphology en tests organisms exposed in sub-lethal concentrations after seven days. These results suggesting that these substances can represents risks for the maintenance of the fish species, as well as, for the aquatic community's balance.

Key-words: sediment, toxicity, copper, aldrin, heptachlor, Monjolinho river.

1 – INTRODUÇÃO

As pesquisas que focalizam o uso e destino de metais, bem como o uso de pesticidas em agroecossistemas, são de extrema importância. Além disso, o emprego de bioensaios de toxicidade, como uma ferramenta de avaliação, vem contribuir para uso criterioso de tais produtos na indústria e na agricultura. Geralmente, os metais e os pesticidas são levados aos ambientes aquáticos como contribuição da agropecuária, esgoto industrial e municipal e pelo controle de insetos aquáticos. De certa forma, os corpos d'água funcionam como receptores finais das atividades antrópicas (RAND et al, 1995).

Um exemplo disto é o rio Monjolinho, que atravessa a cidade de São Carlos (SP), no sentido nordeste-sudeste, apresentando como característica marcante o desenvolvimento urbano da cidade e, conseqüentemente, os impactos decorrentes destas atividades, como o lançamento *in natura* de esgotos domésticos, industriais e agropastoris. É o principal afluente do Rio Jacaré-Guaçu, na parte alta (PELÁEZ-RODRIGUES, 2001), o qual correspondente a um dos tributários do rio Tietê.

Segundo Silva; Battistelle e Cabral (2000), a bacia do rio Monjolinho apresenta-se com 26,3% do remanescente vegetal, sendo que deste total apenas 17,5% são fragmentos de vegetação natural e 8,8% são fragmentos de capoeira. A maioria da área vegetal (73,7%) consiste basicamente de áreas de cultivo de cana-de-açúcar (35,7%) e pasto cultivado (20,0%). Criscuolo; Vasconcelos e Silva (2000), comparando o percentual de área alterada em relação a agricultura, verificou que de 1965 para 1998, ocorreu um aumento de 10,8% na área cultivada com cana-de-açúcar, chegando a totalizar 35,7% de toda a área, sendo esta a única cultura a ter um aumento significativo. Em relação à área urbana, São Carlos ocupava 6,4% em 1965, atingindo 15,0% em 1998.

A consequência do crescimento desta área cultivada de cana-de-açúcar é o uso intensivo de pesticidas organoclorados, os quais são indicados para o controle de insetos neste tipo de cultura. É o caso do Aldrin, Heptacloro e Endosulfan, (BRONDI, 2000; CBH-Mogi, 1999;), que foram detectados no rio Monjolinho por Peláez-Rodrigues (2001). De acordo com a resolução CONAMA 357/05, estes três pesticidas não devem ultrapassar as concentrações de 0,005; 0,01 e 0,056 µg/L, respectivamente, em rios de classe 2, como é o caso do rio Monjolinho até a confluência com o Córrego do Gregório. Apesar de proibidos no Brasil (Portaria

329/85, Ministério da agricultura), em decorrência do seu elevado potencial tóxico, os pesticidas mencionados podem ser liberados, em caráter emergencial, pela portaria 95/85 pela Secretaria Nacional de Desenvolvimento Agrícola - SNDA. No entanto, os mesmos são utilizados com freqüência nas áreas agrícolas.

Além da atividade agropastoril, dados divulgados pela SEADE (1998), demonstram que São Carlos tem uma economia de base industrial, sendo este setor constituído por cerca de 600 estabelecimentos. A maior parte é representada pela metalurgia, transformação de minerais não metálicos, siderurgia e por atividades tradicionais como calçados e vestuários, couros e peles. De uma forma geral, estas atividades estão associadas aos processos de produção geradores de efluentes líquidos responsáveis por impactos ambientais significativos como metais pesados, óleos, solventes, etc (CÔRTEZ, et. al. 2000). Nas atividades metalúrgicas destaca-se a utilização do cobre, que tem ocorrido em diversas aplicações: ligas; manufaturas de fios e condutores; galvanoplastia; tubulações, utensílios de cozinha; baterias, eletrodos, entre outras. Ressalta-se ainda, sua utilização em formulações de pesticidas, algicidas e desinfetantes (ASTDR, 1990; ÇOGUN; KARGIN, 2004; GUNTHER, 1998; SPEHAR et al., 1982; WHO, 1998).

Em relação aos efluentes gerados, há um sistema coletor de 100% do esgoto doméstico, o qual é lançado *in natura* no rio Monjolinho, pois a cidade não apresenta sistemas de tratamento de esgoto. Em relação aos efluentes industriais, 45% representam resíduo inorgânico e 17% os resíduos orgânicos, contribuindo para a poluição do rio Monjolinho.

Em decorrência do problema exposto, trabalhos realizados no Rio Monjolinho têm demonstrado sua degradação no gradiente Nascente-Confluência (BARRETO, 1999; MARINELLI et.al., 2000). Assim, considerando-se não apenas a importância deste rio para a população local, quanto ao abastecimento urbano (20% da população da cidade de São Carlos), irrigação e lazer, mas também em consideração a biota deste ambiente e de outros no qual este rio deságua (Jacaré-Guaçu e conseqüentemente no Tietê), é necessário que haja informações complementares para que se possa pensar em um futuro manejo e plano de monitoramento.

Visando contribuir com a geração de informações científicas adicionais para melhor avaliar e monitorar as condições do Rio Monjolinho, este trabalho avaliou a qualidade da água e sedimento deste sistema através da caracterização física e

química, juntamente com os bioensaios de toxicidade aguda e crônica parcial, bem como análises histológicas com a fase juvenil das espécies de peixes *Danio rerio* (exótica) e *Poecilia reticulata* (adaptada ao sistema). Tais efeitos poderão ser extrapolados, mesmo que em grau incerto, para as espécies de peixes que deverão ser protegidas na bacia hidrográfica do rio Monjolinho.

Além disso, os dados deste trabalho poderão contribuir para o estabelecimento do *Poecilia reticulata* como organismo teste em bioensaios crônicos parciais, bem como sugerir concentrações-limite com o objetivo de cumprir exigências de regulamentação do emprego de metais e pesticidas em áreas industriais e agroecossistemas.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O volume de água doce na Terra é extremamente menor do que o de água salgada, sendo 2,5% e 97,5%, respectivamente. Desses 2,5%, apenas 0,3% representa os rios e lagos, sendo 68,9% a parcela das calotas polares e geleiras, 29,9% a porção de águas subterrâneas e o restante (0,9%) abrange outros reservatórios.

Os rios são os canais de drenagem de uma bacia hidrográfica e sofrem influências da topografia, clima, hidrologia, vegetação, morfometria, além das atividades antrópicas (REBOUÇAS, 1999). Assim, o uso inadequado do solo e as atividades instaladas nas bacias hidrográficas, podem comprometer a qualidade dos recursos hídricos (TUNDISI, 1986).

O fluxo unidirecional é o que difere o rio dos demais ecossistemas aquáticos. Desta forma, na extensão da nascente até sua confluência com outro corpo d'água, muitos processos ecológicos são explicados a partir dos fenômenos de transporte (de matéria e de energia) e da interação entre as paisagens que compõe a bacia hidrográfica.

Segundo Ward (1989), os sistemas lóticos são tetradimensionais, isto é, possuem componentes laterais, verticais, longitudinais que se modificam ao longo do tempo. Em seguida, uma quinta variável de controle no sistema de um rio foi incorporada, que é a intervenção humana (BOON, 1992).

O homem sempre interferiu nas atividades naturais utilizando os recursos e, descartando pelo menos parte dele no ambiente. A partir da revolução Industrial, tal situação agravou-se, pois muitas substâncias químicas começaram ser lançadas nos ecossistemas aquáticos, terrestres e na atmosfera (OCHIAI, 1995). Como resultado do crescimento exponencial das atividades humanas, a maioria dos rios do mundo vêm sofrendo degradação (FRASER; MEYBECK; ONGKLEY; 1995).

Neste contexto, os principais fatores desencadeadores de poluição hídrica são os despejos de efluentes domésticos e industriais, que são considerados fontes de poluição pontual, e as fontes mais difíceis de visualizar e quantificar, como o escoamento urbano, agrícola, além da precipitação atmosférica (poluição difusa) (BILLEN; GARNIER; HANSET, 1994; RAND; PETROCELLI, 1985; REBOUÇAS, 1999; TUNDISI, 1986).

Dentre essas fontes de degradação, os despejos industriais e o escoamento agrícola são considerados os mais prejudiciais, uma vez que introduzem produtos químicos sintéticos estranhos aos ecossistemas aquáticos, os quais serão difíceis de serem assimilados, interferindo na estrutura e funcionamento de tal sistema (STRASKRABA, 1994; TUNDISI, 1996, 1999;). Esta contaminação tem ocorrido de forma intencional ou acidental (GUTHRIE; PERRY, 1980).

Os contaminantes chegam no ambientes aquático em solução ou ligado a algum material suspenso do continente. Durante este transporte, permanente ou temporário, ocorre um armazenamento dos poluentes no sedimento de rios, lagos, estuários, águas costeiras e oceanos (SALOMONS, 1987).

Desta forma, os sedimentos representam um importante papel, pois funcionam como um depósito de poluentes que, mediante processos naturais e interferência humana, podem ser disponibilizados para a coluna d'água por meio de ressuspensão, atingindo os organismos bentônico e nectônicos (GIESY; HOKE, 1989; JURACEK e MAU, 2003; LIU et al., 1999; SALOMONS, 1987; SOARES et al., 1999). Assim, o compartimento sedimento pode ser considerado uma fonte potencial de poluição difusa dentro do ambiente aquático (ADAMS, 1995; BAUDO; MUNTAU, 1990; SOARES et al., 1999).

Diante deste fato, é evidente a necessidade da avaliação da qualidade da água e sedimentos dos rios, uma vez que a presença de agentes químicos no ambiente sempre representa riscos aos seres vivos em qualquer ecossistema, não existindo, portanto, o que poderia ser chamado de “risco zero” à exposição dessas substâncias (CAIRNS, 1980).

Ao longo do tempo padrões desejáveis de qualidade de água têm sido estabelecidos para vários usos. Naturalmente, em função da preocupação humana em preservar sua espécie, o uso destinado ao consumo humano tem merecido maior atenção. Em decorrência disto, muitas são as interpretações errôneas a respeito da qualidade da água, pois muitas vezes a água considerada apropriada para o consumo humano é, também, considerada adequada para a proteção de comunidades aquáticas (BERTOLETTI, 2000). Atualmente, a Resolução CONAMA nº 357/05 dispõe sobre o uso da água para a proteção das comunidades aquáticas.

Entre os parâmetros de qualidade de água que se tornam clássicos e de uso generalizado em todo o mundo, podem ser citados os números mais prováveis de coliformes, a demanda bioquímica de oxigênio, e de uso mais recente, os bioensaios

para avaliar a toxicidade (BRANCO, 1999). Em relação ao último, é necessário conhecer a ecologia aquática, a fisiologia, bioquímica, histologia, e o comportamento animal para se entender os efeitos tóxicos de poluentes nos ecossistemas aquáticos (CHAPMAN, 1992; RAND; PETROCELLI, 1985).

Considerando-se a crescente demanda de água para diferentes fins, é preciso administrar sua disponibilidade e uso, além de rever o quadro de degradação e desperdício dos recursos hídricos, por meio de um processo que os gerencie. Esse gerenciamento deve incluir uma visão inter e multidisciplinar do problema, articulando tecnologias, aspectos sócio-econômicos e ambientais das bacias hidrográficas, saúde pública e bases científicas, de forma interativa e integrada (RAND; PETROCELLI, 1985).

2.1 – O metal cobre no ambiente

O cobre apresenta ampla distribuição na natureza em seu estado elementar como, sulfetos, arsenitos, cloretos, e carbonatos. Na crosta terrestre é encontrada uma abundância natural de aproximadamente 60mg/Kg (50 ppm) e $2,5 \times 10^{-4}$ mg/L nos mares (FLEMMING; TREVORS, 1989; PEDROZO, 2001; WHO, 1998).

O aumento da industrialização provocou um deslocamento massivo do cobre da litosfera para a superfície terrestre, o que o tornou um poluente (ELLGAARD; GUILLOT, 1988).

Em função de suas propriedades como, durabilidade, condutividade elétrica e térmica e maleabilidade, o cobre tem sido utilizado em diversas aplicações: ligas; manufaturas de fios e condutores; galvanoplastia; utensílios de cozinha; tubulações residenciais e para linhas de serviço; manufatura de moedas; inseticidas, algicidas e desinfetantes; tintas antiincrustantes; baterias; eletrodos; pigmentos; materiais explosivos; mineração; fundição; efluentes industriais e domésticos; queima de carvão para obtenção de energia e incineradores de resíduos municipais (ASTDR, 1990; ÇOGUN; KARGIN, 2004; GUNTHER, 1998; SPEHAR et al., 1982; WHO, 1998).

O cobre é ainda constituinte do dispositivo intra-uterino de contracepção e está presente como constituinte dos cigarros em teores que variam de 9 a 66 µg/g. Além disso, várias ligas de cobre foram introduzidas no mercado para fabricação de pontes e coroas dentárias (WHO, 1998).

Diante da grande utilidade do cobre, sua demanda mundial é de 15×10^6 toneladas de cobre por ano (PEDROZO, 2001). Para suprir esta necessidade, a produção mundial de concentrado de cobre, em metal contido, alcançou em 1999, uma quantidade de 12,6 milhões de toneladas, sendo a produção brasileira responsável por 31.371 toneladas (DNPM, 1999).

De um modo geral, o fluxo de cobre atmosférico decorrente de fontes antropogênicas é três vezes maior do que o fluxo do metal proveniente de fontes naturais (HSDB, 2000). No ambiente aquático, o cobre pode se apresentar em três formas: particulado, coloidal e solúvel. A parte dissolvida pode conter íons livres ou estar complexado por ligantes orgânicos ou inorgânicos. Além disso, o cobre também forma complexos com bases duras como carbonatos, nitratos, sulfatos, cloretos, amônia e hidróxidos (MANTOURA; DIXON; RILEY, 1978).

No compartimento sedimento, os metais resultantes de atividades antropogênicas podem se associar com a matéria orgânica do sedimento, se adsorverem com hidróxidos, óxidos de ferro ou manganês, e até mesmo precipitarem na forma de hidróxidos, sulfitos ou carbonatos (FÖRSTNER, 1985).

Apesar de a maioria dos poluentes serem adsorvidos pelos sedimentos, eles não são prontamente disponíveis para os organismos aquáticos. Fatores físicos e químicos como, pH, salinidade, potencial redox e quantidade de agentes quelantes orgânicos, influenciam na liberação dos metais para a coluna d'água, tornando o sedimento uma fonte poluidora dentro deste ecossistema (SOARES, et al., 1999).

Em relação ao cobre, estudos realizados pela CETESB (1992-2002) demonstraram que entre os fatores físicos e químicos da água, o pH exerce maior influência na disponibilidade deste metal para os organismos aquáticos. Essa influência torna-se acentuada em águas moles e pobres em íons, como no caso da maioria das águas do Brasil.

Em águas doces não contaminadas, os níveis de cobre variam de 0,5 a 1,0 $\mu\text{g/L}$ (ALABASTER, 1982; MOORE; RAMAMOORTHY, 1984), podendo este valor atingir níveis acima de 2,0 $\mu\text{g/L}$ em áreas urbanas (MOORE; RAMAMOORTHY, 1984). As concentrações de cobre nas águas doces brasileiras estão, geralmente, abaixo de 5,0 $\mu\text{g/L}$, entretanto, os rios do Sul e Sudeste do Brasil têm apresentado um aumento nas concentrações de cobre nas últimas décadas, devido a intensa industrialização destas regiões. Isto tem sido agravado por acidentes ecológicos,

atingindo concentrações de 50 µg/L e pela utilização de sulfato de cobre como algicida nas corpos d'água eutrofizados (CETESB, entre 1992 e 1998).

A resolução CONAMA 357/05 estabelece o limite de 0,009 mg/L na água, em relação à preservação da vida aquática. Já para Demayo e Taylor (1981), este limite é 4,5 vezes menor, ou seja, 0,002 mg/L. Quanto ao sedimento, a concentração máxima recomendada para a manutenção da vida aquática é de 25,0 mg/Kg (PRATER; ANDERSON, 1977).

2.1.1. – Toxicidade do cobre

O cobre é um elemento essencial para toda a biota. A carência deste nutriente pode desencadear disfunções enzimáticas, como por exemplo das enzimas envolvidas na respiração celular, na defesa de radicais livres, na função neurotransmissora, na biossíntese de tecidos e no metabolismo de ferro celular e, conseqüentemente, em inúmeros processos fisiológicos. Na síntese de proteínas, o cobre tem alta afinidade com nitrogênio, oxigênio e enxofre (FLEMMING; TREVORS, 1989; HEALTH, 1995; WHO, 1998).

Em peixes, altas concentrações de cobre no meio aquático podem ser letais (DOUDOROFF; KATZ, 1953; PICKERING; HENDERSON, 1966). Segundo a USEPA (1976), as concentrações de cobre que têm sido associadas experimentalmente com efeitos a várias espécies aquáticas está entre 5,0 e 15,0 µg/L.

Nas últimas quatro décadas, os estudos têm demonstrado que o cobre causa efeitos no desenvolvimento de larvas, na sobrevivência e crescimento (¹MCKIM; BENOIT, 1971 apud USEPA, 1976; NGUYEN; JANSSEN; VOLCKAERT, 1999); pode bioacumular em brânquias, fígado, rins, intestino, estômago, vísceras e músculo (JORDÃO et al., 1999; KALAY; AY; CANLI, 1999; MAZON, 1997; OLSVIK et al., 2000); diminui a capacidade de natação (BEAUMONT; BUTLER; TAYLOR, 2000); provoca mudanças histopatológicas em fígado, brânquias e rins (BAKER, 1969; CERQUEIRA; FERNANDES, 2002; MAZON; FERNANDES, 2002; Van HEERDEN; VOSLOO; NIKINMAA, 2004); desencadeia efeitos na estrutura e função de macromoléculas, como DNA (WHO, 1998); promove inibição ou alteração de

¹ MCKIM; J.M.; BENOIT, D.A. Effects of long term exposures of copper on survival, growth, and reproduction brook trout *Salvelinus fontinalis*. *Jour. Fish. Res. Bd. Can.*, v.28, p.655 apud UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Quality Criteria for water*. Washington, DC, 1976.

processos reprodutivos (BILLIARD; BRY; GILLET, 1981); interfere na regulação osmótica e iônica (EDDY, 1981); e, finalmente, pode provocar deformidades vertebrais (BENGTSSON; LARSSON, 1986).

As disfunções energéticas, associadas aos diferentes acúmulos de cobre nas brânquias, fígado, rins e plasma, bem como mudanças nos níveis de glicose e lactato no sangue e fígado, e de glicogênio e lactato nos músculos, têm sido determinados mediante períodos de exposição ao cobre (TAKASUSUKI; ARAUJO; FERNANDES, 2004).

Devido às funções vitais das brânquias (respiração, osmorregulação e excreção), elas apresentam uma vasta área de contato com o ambiente externo, o que facilita a interação com substâncias tóxicas presentes. Por este motivo, elas são consideradas excelentes indicadores da qualidade ambiental (MALLATT, 1985; WENDELAAR BONGA, 1997; WENDELAAR BONGA; LOCK, 1992). Na presença de íons metálicos, por exemplo, pode ocorrer o processo de adsorção destes através de sítios de ligações iônicas presentes nestes tecidos, desencadeando efeitos tóxicos nos organismos (HOLLIS; PLAYLE, 1997).

Há mais de duas décadas, as alterações histopatológicas e fisiológicas em brânquias sob exposições agudas e crônicas a metais pesados têm sido estudadas em muitas espécies de peixes (BENEDETTI et al., 1989; CERQUEIRA; FERNANDES, 2002; DANG et al., 2000; GALVEZ et al., 1998; LACROIX et al., 1993; LAURÉN; McDONALD, 1987; MATEI; KOMOV, 1992; MAZON; FERNANDES, 2002; RAJBANSHI; GUPTA, 1988; SOLA; ISAIA; MANSONI, 1995; Van HEERDEN; VOSLOO; NIKINMAA, 2004).

A intensidade das lesões é diretamente dependente do tipo de poluente, concentração e tempo de exposição. O processo de recuperação do tecido depende da severidade do dano e da melhora das condições ambientais (POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994).

A exposição a metais pesados associados a baixos valores de pH causa produção excessiva de muco nas brânquias (PLAYLE; WOOD, 1991; WOOD; McDONALD, 1987), que resulta em distúrbios na regulação de ferro e trocas gasosas (LAUREN; McDONALD, 1985; WOOD et al., 1988).

O cobre pode ainda desencadear necroses e apoptoses (DANG et al., 2000; Li et al., 1998; MAZON; CERQUEIRA; FERNANDES, 2002), hiperplasia, hipertrofia, descolamento epitelial, aneurismas, fusão lamelar em concentrações abaixo de 0,03

mg/L. Tais alterações podem diminuir a efetividade das trocas gasosas, necessária ao metabolismo, à alteração na regulação iônica e ao equilíbrio ácido-base (MAZON, 1997).

As concentrações limitantes de cobre para vários peixes, dadas por muitos autores, cobrem a faixa surpreendente de 0,02 a 200 mg/L (JONES, 1964 apud DAMATO et al., 1989.). Esta amplitude está relacionada à variação de determinados fatores no ambiente que influenciam na toxicidade do metal. Entre eles estão o pH, dureza (quanto maior a dureza menor a toxicidade do cobre), alcalinidade das águas e temperatura. Além destes estão a concentração de oxigênio dissolvido (PILGAARD; MALTE; JENSEN, 1994), alimentação (PELGROM et al., 1994) e fatores bióticos.

2.2 – Pesticidas no ambiente

O esforço para aumentar a cada ano a produção de alimentos para o mercado interno e externo culminou com o desenvolvimento da agricultura brasileira. Este desenvolvimento teve início a partir da década de 70, quando a mesma sofreu drásticas modificações tecnológicas, pela queda acentuada na mão-de-obra, o que foi substituída por máquinas e especialmente pelos insumos químicos (IBGE, 1979 apud RODRIGUES; PARAÍBA; BUSCHINELLI, 1997).

Entretanto, pela falta de informação ou pelo interesse no lucro fácil e sem atentar pelas conseqüências do meio ambiente, a produção agrícola ainda contribui de forma significativa para a contaminação das águas superficiais e subterrâneas. Os poluentes oriundos da agricultura chegam aos corpos d'água via despejos de fertilizantes e pelo uso inadequado dos agrotóxicos.

A definição de agrotóxico é dada pela Lei Federal de nº 7802 de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto Lei 98816, no Artigo 2, Inciso I (MACHADO, 1991). De acordo com esta Lei, o termo agrotóxico é definido da seguinte forma: “Os produtos e os componentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados

² JONES, J.R.E. *Fish and river pollution*. London, Butterworth, 1964 apud DAMATO, M.; BEYRUTH, Z.; MUCCI, J.L.N.; ALVARENGA, C.D.; ROCHA, A.A. O sulfato de cobre como agente tóxico. *Ambiente*, v.3, n.1, p. 26 – 31, 1989.

³ INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Anuário estatístico*. Rio de Janeiro, 1979 apud RODRIGUES, G.S.; PARAÍBA, L.C.; BUSCHINELLI, C.C. Estimativa da carga de pesticidas e nitrato para as águas subterrâneas no estado de São Paulo. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente: Pesticidas*, v.7, p.89-108, 1997.

ao uso nos setores de produção armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas”.

Agrotóxicos, pesticidas, praguicidas, defensivos agrícolas, biocidas, xenobióticos e fitossanitários são os vários termos utilizados para definir uma série de compostos químicos utilizados no controle de insetos, ácaros, ervas daninhas, fungos, e outras formas de vida animal ou vegetal, que prejudicam a lavoura, pecuária e os produtos delas advindos (RIGOLIN-SÁ, 1998).

Segundo Lara (1982) o neologismo pesticida é mais abrangente que praguicida e defensivo agrícola, além disto é mais específico que agrotóxico ou biocidas, sendo assim, esta é a terminologia mais adequada a estes produtos.

Os pesticidas representam um grupo químico único por serem ministrados intencionalmente no ambiente para destruir ou controlar alguma forma de vida indesejada (DORES; FREIRE, 1999). As pesquisas e a industrialização dos pesticidas teve como objetivo o aumento da produtividade agrícola, bem como a eliminação de pragas e vetores de doenças. Porém, um dos maiores problemas do emprego destes produtos no meio rural é a falta de especificidade dos compostos. Sabe-se que eles não afetam apenas os organismos alvos, mas agem sobre os outros animais ou plantas que estão no entorno. Um segundo aspecto negativo é que esses produtos persistem por longo tempo no meio ambiente. Existem relatos que os compostos organoclorados, por exemplo, podem permanecer por um período de 30 anos no solo e em seres vivos após a sua aplicação (ALMEIDA, 2002).

O surgimento de compostos orgânicos sintéticos no mundo teve início após a descoberta das propriedades inseticidas do DDT em 1939 (MACEDO, 2002), e a partir deste momento, eles passaram a ser utilizados em larga escala, especialmente na década de 60, quando estavam ocorrendo modificações na estrutura dos processos produtivos rurais (BRIGANTE et al., 2003). Este consumo atingiu mais de dois milhões de toneladas por ano no mundo todo (LAMBERT, 1997), sendo que atualmente, acredita-se que ainda estejam disponíveis cerca de 15000 substâncias ou princípios ativos diferentes rotulados como agrotóxicos, pesticidas ou praguicidas (ALMEIDA, 2002).

Num período de 30 anos, a área ocupada com lavouras agrícolas no Brasil cresceu 76%, passando de 28,4 milhões de hectares em 1960 (IBGE, 1985) para 50 milhões de hectares em 1991 (IBGE, 1993). Em função disto, o aumento do consumo de pesticidas no mesmo período foi de 276,2%.

Em 1991, o Brasil utilizou cerca de 3.186.276 toneladas de pesticidas, sendo que destas, apenas 300.000 toneladas cumprem sua função. Macedo (2002) salienta que, em média somente 1% do pesticida que foi aplicado consegue atingir efetivamente as pragas ou insetos a que se destina, sendo que o restante vai para o solo, ar e água.

De acordo com Pimentel e Levitan (1991), os pesticidas podem ser pulverizados via aérea, pelo trator ou manualmente sobre as plantações. Entretanto, estes autores ressaltam que apenas 0,1 % de produto aplicado atinge seu objetivo, e o restante percorre rotas indesejadas, tais como infiltração no solo e escoamento superficial para os corpos d'água. Além disso, pode ocorrer o desrespeito às concentrações adequadas descritas no receituário, o que intensifica o grau de contaminação no ambiente.

De acordo com seu modo de ação nos organismos, os pesticidas podem ser classificados como: herbicidas, inseticidas, acaricidas e fungicidas. Em relação à natureza química, em organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides (ALMEIDA, 2002; RAND; PETROCELLI, 1985).

Sabendo-se que os pesticidas não apenas contaminam os aquíferos, mas também apresentam características acumulativas no ambiente e nos seres humanos, permanecendo até por três décadas após a aplicação do produto, os organoclorados tiveram seu uso limitado no Brasil pela Portaria 329 de 02/09/1985. Poderão ser utilizados somente em caráter emergencial no controle de formigas (Aldrin) e em campanhas de Saúde Pública (DDT e BHC) (ALMEIDA, 2002; PEREIRA, 1999). Entretanto, é crítica a situação brasileira, haja vista a permanência de uso do Aldrin, Heptacloro e Endosulfan nos dias atuais nas áreas agrícolas. Tais organoclorados são os mais utilizados nas culturas de cana-de-açúcar (BRONDI, 2000; CBH-Mogi, 1999).

Sobre a toxicidade de alguns desses compostos, considera-se o aldrin como altamente tóxico e de longa persistência no solo, na água e nos organismos vivos. É muito utilizado no combate as pragas de solo, na conservação de madeira e no tratamento de sementes. É altamente tóxico aos seres humanos. Já o trans-heptachlor é medianamente tóxico e de longa persistência no ambiente. O endossulfan e o endrin são altamente tóxicos e o δ -BHC, cujo nome comercial é lindane, constitui-se um inseticida altamente persistente nos organismos e no ambiente (BRIGANTE et al., 2003).

Geralmente, os pesticidas são levados ao ambiente aquático via escoamento agrícola, esgotos industriais e municipais, controle de ervas e insetos aquáticos. No ambiente aquático, eles podem sofrer diversos tipos de interações, principalmente com o material em suspensão e com o sedimento. A natureza destas interações é dependente da solubilidade do pesticida em água e das características do sedimento, dentre as quais, a matéria orgânica, o teor de argila e o pH (DORES; DELAMONICA-FREIRE, 1999) são as mais importantes.

O destino final da maioria dos pesticidas não é completamente conhecido. Contudo seus efeitos nos organismos aquáticos são determinados primariamente pelas quantidades disponíveis na água e no sedimento. Pesticidas que são adsorvidos firmemente à matéria orgânica podem estar pouco disponíveis aos peixes e a outros organismos na coluna d'água, mas podem ter significado importante sobre os organismos bentônicos (RIGOLIN-SÁ, 1998).

De certa forma, há um contínuo intercâmbio de pesticidas entre os sedimentos e água, influenciado pelo movimento de turbulência da água e temperatura (RAND; PETROCELLI, 1985).

O grande problema dos pesticidas organoclorados é sua baixa solubilidade em água. Este fato indica baixa dispersão e diluição nos corpos d'água, alta volatilidade, podendo assim contribuir para dispersão pelo vento (LLOYD-JONES, 1971) e alta afinidade a gorduras, sugerindo este último um grande potencial de bioacumulação nos tecidos dos organismos (RAND; PETROCELLI, 1985).

Neste contexto, é necessário mencionar que os pesticidas organoclorados têm sido detectados no ambiente aquático em vários países do mundo: rio Turia na Espanha (BORDAJANDI et al., 2003); rio Reconquista, na Argentina (ROVEDATTI et al., 2001); em tecidos de peixes, na água e no sedimento do Lago Manzala e Rio Nilo no Egito (OSFOR; ABD EL WAHAB; DESSOUKI, 1998); em peixes dos rios da Catalunha na Espanha (LÓPEZ-MARTIN; RUIZ-OLMO; BORRELL, 1995); na água dos rios Batalha e Bauru no Brasil (RISSATO et al., 2004); nos sedimentos do rio Mogi-Guaçu no Brasil (BRIGANTE et al., 2003); no rio Paraná (km 600) na Argentina (LENARDÓN; LORENZATTI; ENRIQUE, 1998) e até mesmo no ambiente ártico, ainda que em pequenas concentrações (AYOTTE et al., 1995).

Outros trabalhos também relatam a presença de organoclorados em várias regiões do globo em que estes produtos jamais foram usados (ATLAS; GIAM, 1981; LOGANATHAN; KANNAN, 1994).

Assim, é indiscutível a importância deste grupo químico, sendo necessário salientar que o crescente e inadequado uso dos mesmos tem refletido na instabilidade dos ecossistemas, principalmente o aquático, provocando injúrias na própria saúde humana.

2.2.1 – Toxicidade dos pesticidas organoclorados

Apesar de proibidos, os pesticidas organoclorados não tiveram o uso totalmente interrompido no Brasil. Um exemplo disto é a utilização do DDT, que embora a importação, exportação, comercialização e fabricação tenham sido proibidas em 40 países, hoje ainda é utilizado em lavouras que não são fiscalizadas (FOLHA DE SÃO PAULO, 2002).

De acordo com Macedo (2002), um dos problemas cruciais do uso de pesticidas é de ordem ocupacional, isto é, o produtor rural nem sempre sabe usar a concentração recomendada e de forma correta. Este fato explica o número crescente de doenças causadas por intoxicação por pesticidas no país. Segundo este mesmo autor, a maioria dos agricultores ignora os efeitos nocivos dos produtos, ao próprio agricultor e ao meio ambiente. Observa-se um desrespeito ao prazo de carência dos produtos, transformando-se em vítima desta situação tanto o agricultor, como todo o consumidor final.

A forma indireta de contaminação do homem por pesticidas organoclorados é via cadeia alimentar. Assim, é incontestável a importância dos estudos com peixes expostos a estes produtos, uma vez que tais organismos ocupam posição superior na cadeia alimentar e constituem importante fonte de alimento para o homem.

Os peixes podem absorver os pesticidas diretamente da água bem como pela ingestão de alimento contaminado. As brânquias e a superfície corporal são os locais primários de absorção, sendo que depois de ingeridos ou absorvidos, os pesticidas aparecem no sangue e podem se distribuir nos tecidos. Além disso, os peixes e outros organismos aquáticos podem transformar tais compostos, tornando-os mais ou menos tóxicos que os compostos originais (RAND; PETROCELLI, 1985.).

O mecanismo de ação dos organoclorados não é inteiramente conhecido, mas sabe-se que atinge o sistema nervoso periférico e central, acumulando-se em tecidos adiposos e entrando facilmente na cadeia trófica (OKI; PEREIRA, 1999).

Alguns estudos verificaram os efeitos de pesticidas organoclorados em peixes de água doce. Tais efeitos incluem hiperglicemia e diminuição de conteúdos

protéicos no fígado e músculos; hipocalcemia; hipermagnesemia, hiperfosfatemia (SINGH; DAS; SINGH, 1996); disfunções renais (RASHATWAR; ILYAS, 1984); diminuição da capacidade respiratória de mitocôndrias das células do fígado (MISHRA; SHUKLA, 1994); afeta a sobrevivência e diminui a taxa de eclosão de ovos (ROEX; VRIES; VAN GESTEL, 2002); crescimento e reprodução (GORMLEY; TEATHER, 2003); prejuízos no tamanho populacional, no crescimento, na reprodução, no ciclo de vida e na quantidade e qualidade da prole em gerações posteriores à exposição (NJIWA; MÜLLER; KLEIN, 2004); desordenação neuromuscular, má formação esquelética e tremores (OWENS; BAER, 1999), declínio no conteúdo de ácidos nucléicos (SINGH; SRIVASTAVA, 1992); danos aos tecidos epiteliais das brânquias (SINGH; DAS; SINGH, 1996), bioacumulação em órgãos e efeitos teratogênicos, entre outros.

Os efeitos citados acima são mais comuns no ambiente natural, uma vez que os organismos aquáticos geralmente estão expostos a concentrações sub-letais de pesticidas, afetando comportamento, hábitos alimentares, reprodução e ocasionando alterações de ordem morfológica, fisiológica e bioquímica. A mortalidade em massa dos organismos aquáticos é decorrente de efeitos agudos, resultantes de situações acidentais ou de pulverizações direta sobre os corpos d'água (JONSSON, 1995).

O uso inadequado dos compostos organo-sintéticos pode desencadear efeitos nos organismos aquáticos ao nível de espécie, população e comunidade, resultando em desequilíbrio do ambiente. Dada a importância dos sistemas aquáticos para a manutenção da biodiversidade, para sistemas de abastecimentos urbanos e na criação de animais, inclusive para a saúde de agroecossistemas é necessário que o uso de pesticidas seja praticado de forma criteriosa a fim de evitar os riscos de contaminação. Para tanto, é fundamental a compreensão da dinâmica destas substâncias no ambiente físico, bem como os efeitos nos organismos.

2.3 – Bioensaios ecotoxicológicos na avaliação da qualidade ambiental

A ecotoxicologia aquática pode ser definida como o estudo dos efeitos dos agentes tóxicos nos organismos aquáticos a níveis celulares, individual, populacional e nas comunidades (ADAMS, 1995). Para compreender os riscos que o ambiente oferece aos organismos, é utilizada uma integração multidisciplinar, onde a química e física, a toxicologia e fisiologia, a ecologia e matemática são ciências fundamentais (KRUIJF, 1994).

Análises que medem as concentrações de substâncias tóxicas nos ecossistemas aquáticos são importantes para se avaliar o possível impacto, porém são limitadas e insuficientes para compreender os processos e interações entre o meio e a biota.

Os testes de toxicidade apresentam-se como mecanismos para a compreensão dos efeitos de impactos antropogênicos sobre os compartimentos bióticos, utilizando-se de organismos vivos que atuam como biosensores. Além disto, por estes testes também pode-se prever antecipadamente impactos de um determinado poluente sobre a biota. Pelo menos cinco propósitos distintos podem ser dados para qualquer teste de toxicidade: predição, diagnóstico, classificação, regulação e o mapeamento da contaminação (CAIRNS; NIEDERLEHNER; BIDWELL 1998).

A extrapolação dos resultados de bioensaios em laboratório para prever os reais efeitos em campo pode à vezes ser inadequada, porém isto tem sido compensado pela grande facilidade e economia na aplicação destes testes. Através destes, tem sido possível avaliar o efeito de um grande número de produtos sobre um número substancial de espécies. Apesar das limitações, esta prática tem melhorado satisfatoriamente a indicação de qualidade da água e a proteção dos ecossistemas.

De acordo com Adams (1995), existem os testes de toxicidade aguda, que medem os efeitos severos sofridos pelos organismos a um curto período de exposição. Porém, os testes de toxicidade crônica e crônica-parcial se caracterizam pela longa duração (utilizam todo o ciclo de vida do organismo ou parte dele) e medem os efeitos indiretos do agente na vida dos mesmos, tais como alterações no crescimento, na reprodução e nos efeitos subletais. Nestes últimos, observam-se mudanças no comportamento (dificuldade de movimentação; aumento na frequência da abertura do opérculo), aspectos fisiológicos, bioquímicos e histológicos. (BURTON, 1995).

O teste de toxicidade que abrange o ciclo completo dos peixes é o mais adequado. Entretanto, estes testes são substituídos pelos bioensaios que priorizam alguns estágios de vida, substituição, esta, em decorrência do custo do experimento, bem como, pela rapidez na obtenção dos resultados (ROEX *et al.*, 2002).

Os estágios empregados podem ser ovos, embriões, larvas e juvenis que são mais sensíveis aos impactos de agentes químicos (McKIM, 1977, 1985; RAND;

PETROCELLI, 1985; WOLTERING, 1984), sendo várias espécies utilizadas nestas condições em estudos ecotoxicológicos (BANERJEE; BHATTACHARYA, 1995; MANDEL; KULSHESTHA, 1980).

Os parâmetros mais sensíveis num estágio de vida inicial são: mortalidade e crescimento de larvas e juvenis seguidos pela habilidade de eclosão, fragilidade de córion e más formações de alevinos (KRISTENSEN, 1994), além de alterações histológicas.

De acordo com Polecsic e Mitrovic-Tutundizc (1994) os estudos histopatológicos de brânquias de peixes são fundamentais nas avaliações de efeitos crônicos dos poluentes sobre uma comunidade de peixes. Conforme a severidade da lesão encontrada, pode-se extrapolar os resultados para o ambiente, substância ou efluente no qual se trabalha. Geralmente, os danos histológicos são precedidos por respostas bioquímicas e fisiológicas e, quando detectados em organismos expostos a tais testes ou bioensaios, os efeitos adversos são inquestionáveis (EWALD, 1995).

Para tanto, um organismo teste não é tomado à revelia, existem alguns critérios a ser considerados. Dentre os muitos, destacam-se a ampla faixa de sensibilidade; abundância e disponibilidade; preferência por espécies endógena, o que pode garantir uma melhor representatividade dos ecossistemas; importância comercial, recreacional ou ecológica do ambiente; facilidade de cultivo em laboratório; grande quantidade de informações literárias a respeito da biologia da espécie e ciclo de vida relativamente curto (RAND; PETROCELLI, 1985). No entanto, é praticamente impossível encontrar uma espécie com todas estas propriedades ideais. Por isso, muitas espécies padronizadas podem ser utilizadas nos testes em laboratório, sendo extremamente importante à realização de bioensaios com espécies nativas que melhor responderão as condições encontradas nos ambientes naturais onde vivem.

No Brasil, poucas espécies de água doce são empregadas em métodos padronizados. Dentre os peixes, destacam-se as espécies de pequeno porte, como: as indígenas *Cheirodon notomelas*, *Hemigrammus marginatus*; *Hyphenobrycon callistus* e as exóticas *Poecilia reticulata* e *Danio rerio* (BERTOLETTI, 2000).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a qualidade da água e do sedimento do Rio Monjolinho, São Carlos, SP, através do estudo das condições físicas e químicas, da realização de bioensaios de toxicidade crônico-parcial, utilizando como organismos-teste juvenis de *Danio rerio* (paulistinha) e *Poecilia reticulata* (guaru), bem como análises histológicas das brânquias.

3.2. Objetivos específicos

- Analisar física e quimicamente a água e os sedimentos do Rio Monjolinho em 14 pontos de amostragem, com ênfase nas concentrações de metais (cádmio, cobre, cromo, zinco, ferro e manganês) e dos pesticidas organoclorados (aldrin, heptacloro e endosulfan).
- Avaliar a toxicidade das amostras de sedimento do Rio Monjolinho em laboratório, através de bioensaios de toxicidade crônicos-parciais com juvenis de *Danio rerio* e *Poecilia reticulata*, bem como análises histológicas.
- Avaliar os efeitos da toxicidade dos organoclorados aldrin e heptacloro e do cobre sobre as espécies *Danio rerio* e *Poecilia reticulata* através de respostas agudas (mortalidade); crônicas (alterações corpóreas, como peso e comprimento) e alterações histológicas (brânquias), após a exposição à diferentes concentrações.
- Comparação das respostas de toxicidade da espécie *Danio rerio* (exótica) com a espécie *Poecilia reticulata* (adaptada ao sistema).
- Avaliar a adequabilidade de juvenis de *Poecilia reticulata* para bioensaios de toxicidade crônico parcial com amostras de sedimento.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Área de estudo

A bacia hidrográfica do rio Monjolinho abrange uma área de aproximadamente 275 Km², com a maior parte de sua área contida no município de São Carlos, no Estado de São Paulo. Essa sub-bacia integra a bacia hidrográfica do rio Jacaré-Guaçu, sendo este um dos importantes afluentes da margem direita do rio Tietê, desaguando no reservatório de Ibatinga, um dos sistemas pertencentes ao complexo de reservatórios construídos em cascata no rio Tietê (ESPÍNDOLA, 2000).

A bacia do rio Monjolinho apresenta como característica marcante o desenvolvimento urbano da cidade de São Carlos, bem como os impactos provenientes de suas atividades.

O rio Monjolinho, com uma extensão de aproximadamente 43,25 Km, nasce no planalto de São Carlos, a leste do município, na cota de 900 m, percorrendo o sentido leste-oeste, originando, segundo Mendes (1998), uma planície de inundação na qual se deposita a maior parte do material em suspensão. Na área urbana este rio foi canalizado recebendo contribuições de diversos tributários como os córregos Santa Maria, Tijuco Preto e do Gregório. Recebe também águas residuárias da região norte de São Carlos e despejos provenientes de aproximadamente 400 indústrias (curtumes, papel, tintas, alimentos, etc.). Após o trecho urbano, o rio percorre áreas agropastoris (predomínio de cultura de cana-de-açúcar) e finalmente se encontra com o rio Jacaré-Guaçu.

Em relação aos trabalhos realizados no rio Monjolinho, pode-se citar Marinelli et al. (2000), que avaliou a qualidade da água desde a nascente até sua confluência. Os autores concluíram que vários parâmetros, inclusive os nutrientes, demonstraram o efeito da ação antrópica, comprovada por um gradiente decrescente da qualidade da água desde a nascente. Consideraram ainda que as principais funções de força que determinam a qualidade da água deste rio foram os lançamentos de esgoto doméstico e industrial, além da expansão das atividades agrícolas (principalmente a cana-de-açúcar).

FRACÁCIO et al. (2000) avaliando a toxicidade aguda do rio Monjolinho em maio de 1998, com organismos de diferentes níveis tróficos, verificaram que para um curto período de tempo houve toxicidade para algas e microcrustáceos em relação a

alguns pontos mais urbanizados do rio. No entanto, concluíram que seria necessária uma avaliação mais cautelosa da toxicidade, tanto espacial, quanto temporalmente, enfoques a testes crônicos e *in situ*, e com fases mais sensíveis (larvas) de espécies nativas de peixes, sendo que desta maneira poderia conhecer o potencial tóxico deste rio frente às atividades do seu entorno.

Barreto (1999), observou um decréscimo da qualidade da água do rio Monjolinho em direção a confluência e concluiu que em relação às concentrações de metais obtidas na água, apenas a nascente se enquadra como rio de classe 1 (abastecimento após tratamento simples), sendo as demais estações classificadas como 3 e 4, ou seja, usos menos exigentes. Além da água, este autor encontrou concentrações de metais biodisponíveis nos sedimentos bastante elevadas.

4.2. Períodos de amostragem e pontos de coleta

As coletas foram realizadas em quatro períodos de amostragem (julho/03; outubro/03, janeiro/04 e abril/04) e em 14 pontos de coleta (FIGURA 1), sendo seis pontos no rio Monjolinho (Nascente, UFSCar, USP, Usina (Alois Partel), Ponte Caída e Confluência) e oito pontos nos principais tributários (Córregos Madalena, Tijuco, Mineirinho, Gregório, Água Quente, Água Fria, Cancã e Serra) (TABELA 1; FIGURAS 2 a 8). Na época seca e chuvosa foram feitas coletas em todos os pontos, já nas intermediárias optou-se por amostrar apenas os seis pontos do rio principal.

Estas estações de coleta foram escolhidas baseando-se em trabalhos realizados no rio Monjolinho, bem como nos critérios de qualidade da água e do sedimento (SÉ, 1992; GUERESCHI, 1995; MENDES, 1998; BARRETO, 1999; PÉLAEZ-RODRIGUÊS, 2000; FRACÁCIO et al. 2000 e MARINELLI, et al. 2000). Em relação aos tributários, foi realizada uma coleta preliminar (março/03) com o objetivo de avaliar a contribuição dos possíveis impactos destes sistemas no rio Monjolinho.

BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO MONJOLINHO

FIGURA1: Localização da área de estudo no estado de São Paulo e distribuição dos pontos de coleta. Fonte: CDCC/USP

TABELA 1: Principais características das estações de coleta no rio Monjolinho e seus tributários, São Carlos-SP.

Pontos de coleta	Características principais
Nascente (FIGURA 2)	Trecho de cabeceira do rio Monjolinho, em uma área de mananciais e, aproximadamente, 3 Km de sua nascente principal. Localiza-se na Fazenda Santa Terezinha. Predomínio de atividades agropecuárias e ausência de vegetação, com um acelerado processo de erosão. Há um sistema de captação de água para cultivo de hortaliças a 200 m desta estação de coleta.
UFSCar (FIGURA 2)	Localiza-se a alguns metros da montante da confluência com o córrego do Tijuco Preto e a jusante da desembocadura do córrego Santa Maria Madalena, na transição entre a zona rural e urbana do Município de São Carlos. Caracteriza-se pela ausência de vegetação e pelo aporte dos primeiros despejos domésticos e industriais.
Córrego Maria Madalena (FIGURA 3)	Área urbana, próximo ao antigo cartódromo de São Carlos.
Córrego Tijuco Preto (FIGURA 3)	Área urbana, em frente a USP, na Avenida trabalhador Sancarlense.
USP (FIGURA 4)	Localiza-se a alguns metros à jusante da confluência com o córrego do Tijuco Preto, inserida em área urbanizada, à 20 metros do maior despejo de esgoto doméstico.
Córrego Mineirinho (FIGURA 4)	Área urbana, próximo ao Shopping Iguatemi São Carlos.
Córrego Gregório (FIGURA 5)	Área urbana, próximo ao Sesc São Carlos.
Usina (Alois Partel) (FIGURA 5)	Situa-se no trecho médio do Monjolinho, logo após o mesmo drenar a área urbana. Caracteriza-se por extensas áreas de cultura de cana-de-açúcar, pertencentes à refinaria de açúcar Usina da Serra.
Córrego Água Fria (FIGURA 6)	Área rural, logo após ao canil e ao matadouro municipal.
Córrego Água Quente (FIGURA 6)	Área rural, antes do canil e do matadouro municipal, sofrendo influência do bairro Cidade Aracy e Antenor Garcia.
Ponte Caída (FIGURA 7)	Situa-se em área rural, apresentando cultivo de cana - de- açúcar no entorno.
Córrego Cancã (FIGURA 7)	Área rural, apresentando cultivo de cana-de-açúcar (Usina da Serra) no entorno.
Córrego Serra	Área rural, apresentando cultivo de cana-de-açúcar (Usina da Serra) no entorno.
Confluência (FIGURA 8).	Área rural, antes da confluência com o rio Jacaré-Guaçu.

FIGURA 2: Esquerda: Nascente do rio Monjolinho, demonstrando as pastagens no entorno. Direita: UFSCar, próximo à rodovia Washington Luiz..

FIGURA 3: Esquerda: córrego Madalena. Direita: córrego Tijuco (ambos em área urbana).

FIGURA 4: Esquerda: USP, localizado no Rio Monjolinho em frente à USP. Direita: córrego Mineirinho, próximo ao shopping de S. Carlos.

FIGURA 5: Esquerda: córrego Gregório, próximo ao SESC. Direita: Usina, localizado no rio Monjolinho, logo após a área urbana.

FIGURA 6: Esquerda: Água Fria, localizado na área rural. Direita: Água Quente, próximo ao matadouro municipal.

FIGURA 7: Esquerda: Ponte Caída, localizado no rio monjolinho. Direita: córrego Cancã. Ambos localizados na área rural, próximo ao cultivo de cana-de-açúcar.

FIGURA 8: Confluência, localizada na área rural antes da confluência com o Jacaré-Guaçu.

De acordo com Decreto nº 10755 de 22 de novembro de 1977 (SÃO PAULO, 1977), o Rio Monjolinho pode ser enquadrado como classe dois até a confluência com o córrego do Gregório, sendo que daí até a confluência com o Jacaré-Guaçu, é classificado como rio de classe quatro (TABELA 2).

TABELA 2: Classificação da Bacia do Rio Monjolinho, em relação ao uso dos corpos dá água, de acordo com o Decreto nº 10755 de 22 de novembro de 1977.

Pontos de coleta	Enquadramento
Nascente	Classe 2
UFSCar	Classe 2
Córrego Madalena	Classe 2
Córrego Tijuco	Classe 2
USP	Classe 2
Córrego Mineirinho	Classe 2
Córrego Gregório	Classe 2
Usina (Alois Partel)	Classe 4
Córrego Água Fria	Classe 4
Córrego Água Quente	Classe 4
Ponte Caída	Classe 4
Córrego Cancã	Classe 4
Córrego da Serra	Classe 4
Confluência	Classe 4

4.3 - Vazão

A velocidade da corrente foi medida com um molinete, em sua maioria, em 20 e 80% da profundidade de cada estação de coleta.

4.4 – Análise física, química e biológica da água.

As amostras de água foram coletadas com garrafas de Van Dorn, sendo acondicionadas e preservadas até o momento da análise, seguindo as metodologias específicas para cada análise. Para a caracterização do ambiente, foram realizadas as análises da água listadas na tabela abaixo:

TABELA 3: Variáveis utilizadas na avaliação da qualidade água, metodologia e referências.

Variáveis	Símbolo	Unidade	Metodologia	Referência
Temperatura	T	° C	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
pH	pH	-	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Condutividade elétrica	Cond	µS/cm	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Oxigênio dissolvido	OD	mg/L	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Turbidez	Turb.	FTU	Medidor portátil - HORIBA U-10	-
Material em suspensão	MST	mg/L	Gravimetria em filtros GF/C Millipore (0,45 µm)	Teixeira et al. (1965)
Nitrito e nitrato	NO ₂ -N NO ₃ -N	µg/L	Espectrofotometria	Machereth et al.(1978)
Íon amônio	NH ₄ -N	µg/L	Espectrofotometria	Koroleff (1976)
Nitrogênio orgânico total	NT	mg/L	Espectrofotometria	APHA (1995)
Fósforo total e dissolvido; fosfato inorgânico	PT PTD PID	µg/L	Espectrofotometria	APHA (1995)
Silicato	SiO ₂	mg/L	Espectrofotometria	Golterman (1978)
Clorofila a	Chl	µg/L	Espectrofotometria	Nush (1980)
Coliformes	Colif.	NMP	Colorimétrico (Collilert)	APHA (1995)
Sulfeto, sulfato e cloreto		mg/L	Kit-Hach	APHA (1995)

4.4.1. Metais totais

As amostras de água coletadas para análise de metais foram acondicionadas em garrafas plásticas com capacidade para um litro. A quantificação dos metais

totais presentes na água do rio Monjolinho foi realizada segundo metodologia descrita em APHA (1995) na qual a água amostrada em cada estação de coleta deve ser preservada no campo com 1,5 mL de ácido nítrico concentrado. No laboratório a amostra de 1 litro foi concentrada até 100 mL.

Durante o processo de concentração foi adicionado um total de 5 mL de ácido nítrico para cada amostra. O material concentrado foi filtrado em filtros de fibra de vidro, GFC, com 0,45 μm de porosidade, e colocados em balões volumétricos de 100 mL. O volume foi então diluído para 100 mL e a leitura dos metais totais foi realizada em Espectrofotômetro de Absorção Atômica por chama (modelo SpectrAA 220, Varian). Os resultados foram expressos em mg.L^{-1} de água.

4.4.2. Pesticidas organoclorados

Para a análise de pesticidas na água, as amostras foram coletadas em garrafas de vidro âmbar com capacidade para 1L. No campo foi adicionado à amostra ácido sulfúrico até que atingisse pH 2. Em laboratório foi feito o condicionamento da coluna C18 passando 10 ml de metanol e 10 ml de água milli-Q. Foram aguardadas 10 horas para a passagem da amostra. A extração de organoclorados consistiu na passagem de 1L da amostra através de um cartucho de C 18 (1 g) eluídos com 10 ml de hexano. O extrato foi concentrado para 1 ml e foi feita a determinação por CE/ECD (LANÇAS, 1997).

4.5 – Análise física e química do sedimento.

As amostras de sedimento para as análises físicas e químicas foram obtidas com o auxílio de uma draga do tipo Eckman-Birge, com três réplicas por ponto, sendo imediatamente homogeneizadas. Uma alíquota permaneceu em temperatura ambiente para secagem e posterior análise conforme apresentado na TABELA 4. A segunda alíquota foi preservada a 4°C, para a realização dos bioensaios de toxicidade.

TABELA 4 - Metodologia de análise dos principais parâmetros de qualidade de sedimento considerados no presente estudo.

Variável (unidade)	Metodologia	Referência
Matéria orgânica (%)	Incineração	TRINDADE (1980)
Granulometria (%)	Peneiramento e densímetro	ABNT (1968)
Fósforo total ($\mu\text{g/g}$)	Espectrofotometria	ANDERSEN (1976)
Nitrogênio orgânico total (%)	KJELDHAL	APHA (1995)
Metais (Cd, Cr, Cu- $\mu\text{g.g}^{-1}$) (Fe, Mn e Zn- mg.g^{-1})	Espectrofotometria (Absorção Atômica por Chama)	SILVÉRIO (1999)
Pesticidas (aldrin, heptacloro e endosulfan) ($\mu\text{g.Kg}^{-1}$)	Cromatografia gasosa	LANÇAS (1997)

4.5.1. Metais biodisponíveis

Para a quantificação dos metais potencialmente biodisponíveis no sedimento foi utilizada a metodologia descrita em Silvério (1999) na qual se pesou 1,0 grama de sedimento finamente pulverizado em almofariz, o qual foi transferido para um *erlenmeyer* e adicionou-se 25 mL de ácido clorídrico 0,1 N. Esta mistura foi submetida à mesa agitadora a 200 rpm por 2 horas. Posteriormente a suspensão foi filtrada em membrana de acetato de celulose 0,45 μm e a amostra, diluída em balão volumétrico de 100 mL, sendo que a leitura foi realizada em Espectrofotômetro de Absorção Atômica por chama (modelo SpectrAA 220, Varian). Os resultados obtidos foram expressos em mg.Kg^{-1} de sedimento seco.

4.5.2. Pesticidas organoclorados

Para a extração de organoclorados foi utilizada a técnica Soxhlet, adicionando-se 150 ml de hexano tratado a 10 g de sedimento in natura. O sistema permaneceu em extração por 8 horas. Em seguida, o extrato foi evaporado em um rotaevaporador até 1 ml e realizou-se o clean up das amostras com 2,0 g de florizil ativados. A eluição foi realizada com 10 ml de hexano que em seguida foram evaporados até 1ml em fluxo de nitrogênio para análise de aldrin, endosulfan e heptacloro por GC/ECD (DEL GRANDE, 2000; LANÇAS, 1997).

4.6 – Estudos ecotoxicológicos

4.6.1 – Organismos-teste.

A espécie *Danio rerio* foi escolhida como organismo-teste porque apresenta baixo custo, facilidade de obtenção e manutenção em laboratório, facilidade de reprodução em condições apropriadas e uma vasta informação literária de sua biologia (BARRIONUEVO, 1995). Além disso, é considerada como uma espécie sensível, sendo recomendada pelas normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1993a); pela CETESB (1991) e pelo IBAMA (1990) em bioensaios.

A espécie *Poecilia reticulata* foi escolhida como organismo-teste porque atende a todos os critérios necessários para ser utilizada em testes de toxicidade; trata-se de uma espécie adaptada aos ecossistemas tropicais, sendo ainda uma espécie sensível; e recomendada pelas normas da ABNT (1993a) e CETESB (1990).

Segundo Kristensen (1994), estudos com peixes desde 1967 têm demonstrado que os primeiros estágios de vida (embriões, larvas e juvenis) são os mais sensíveis aos impactos ambientais, uma vez que os testes de toxicidade com estes estágios demonstram um possível comprometimento das fases de crescimento, reprodução e sobrevivência dos organismos em ambientes poluídos, constituindo uma ferramenta importante para um adequado monitoramento ambiental. Além disso, testes realizados com as fases iniciais de vida prevêm a melhor informação possível de decisões de proteção ambiental, ao contrário de testes reativos com indivíduos adultos que apenas comprovam os problemas previamente existentes (KRISTENSEN, 1994; ZAGATTO, 1999).

Em decorrência do exposto e para haver possibilidade de comparação dos resultados dos bioensaios entre ambas as espécies, escolheu-se a fase juvenil para a realização dos testes, uma vez que a espécie *Poecilia reticulata* é vivípara, não apresentando o estágio larval (WOURMS, 1981).

4.6.2 – Manutenção dos organismos teste.

Os juvenis de ambas as espécies foram obtidos comercialmente e, em laboratório, foram mantidos separadamente em aquários de 25 L com metade do volume composto pela água do próprio cultivo e outra parte com água de manutenção recomendada pela norma ABNT (2003c). A água foi aerada constantemente, com a temperatura controlada em torno de $26^{\circ}\text{C} \pm 2$. A troca de

água foi de 1/3 do volume do aquário a cada 24hs, até o momento da montagem dos testes. Em relação à alimentação dos peixes, utilizou-se ração comercial Tetramim[®] para ambas as espécies.

4.6.3 – Homogeneidade dos organismos teste

No início dos bioensaios, os organismos juvenis foram avaliados biometricamente, para assegurar a homogeneidade dos lotes adquiridos. As medidas foram realizadas em 10% do total de organismos utilizados nos bioensaios, sendo estes descartados posteriormente, pois o seu manuseio poderia acarretar estresse, não sendo possível a sua utilização em bioensaios. O comprimento padrão foi obtido através de um paquímetro profissional, marca Mitutoyo, e o peso total de cada indivíduo foi obtido em balança Scientech, modelo AS 210.

4.6.4 – Testes de sensibilidade

Cada lote de organismos adquiridos teve sua sensibilidade avaliada empregando-se a substância de referência $K_2Cr_2O_7$ (dicromato de potássio) (ABNT, 2003). A finalidade desse procedimento é assegurar que a mortalidade nos bioensaios de toxicidade seja atribuída somente às substâncias tóxicas presentes, e não por problemas relativos à saúde dos organismos teste. O procedimento consiste na exposição dos peixes a diferentes concentrações da substância de referência por 96 horas, tendo sido avaliada a mortalidade (ABNT, 2003). Para juvenis de *Danio rerio* e *Poecilia reticulata* as faixas de sensibilidade ao dicromato de potássio não foram estabelecidas. Para tanto, foram realizados três testes de caráter preliminar e doze de caráter definitivo para *D. rerio*. Para juvenis de *P. reticulata* foram realizados três testes de caráter preliminar e treze de caráter definitivo. O valor da CL_{50} foi obtido utilizando-se o programa computacional Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977), e a faixa de sensibilidade foi estabelecida a partir das recomendações da USEPA (1985).

4.6.5 – Bioensaios de toxicidade crônico parcial com amostras de sedimento.

Os bioensaios crônicos parciais com amostras de sedimento foram realizados apenas nas épocas de coleta referentes ao período seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04).

A metodologia utilizada foi descrita por Burton; MacPerson (1995), que consistiu na manutenção da proporção 1:4 de sedimento e água reconstituída (neste trabalho foram utilizados 200g de sedimento e 800 mL de água reconstituída).

Neste trabalho, cada amostra conteve geralmente três réplicas com dez organismos em cada (dependendo da disponibilidade dos mesmos), expostos em materiais plásticos descartáveis por um período de sete dias, sob condições de temperatura (25° C) e fotoperíodo (12:12 hs claro/escuro) controlados. A água do controle foi preparada de acordo com as normas descritas acima para água reconstituída, isto é, uma solução de água destilada enriquecida com alguns sais e aerada durante 24 horas. No final do preparo, esta água deve apresentar os parâmetros pH, dureza total e condutividade correspondentes a 7,4 ($\pm 0,2$), 40 a 48 mg de CaCO₃ e 160 μ S/cm, respectivamente (ABNT, 2003)

A cada 48 horas, os parâmetros pH, dureza, condutividade e mortalidade foram acompanhados. Durante os bioensaios foi fornecido alimento diariamente, com exceção dos finais de semana.

4.6.6 – Bioensaios de toxicidade com metais e pesticidas

De acordo com as análises realizadas no presente estudo, os respectivos metais encontrados com valores acima do recomendado pela resolução CONAMA 20/86 (vigente no início do trabalho) foram cádmio e cobre, e os organoclorados foram aldrin, heptacloro e endosulfan. Neste trabalho, optou-se pela realização dos bioensaios de toxicidade com o metal cobre, e os pesticidas organoclorados aldrin e heptacloro, seguindo a metodológica descrita nas normas brasileiras (IBAMA, 1990) para melhor compreensão dos efeitos destes compostos nos organismos testados.

Os bioensaios foram divididos em duas etapas: testes agudos com duração de 96 horas, nos quais se pretendia encontrar a CL₅₀ e padronizar a faixa de sensibilidade do metal e dos pesticidas para a espécie *D. rerio*, e testes crônicos parciais, tendo sido realizados a partir dos dados obtidos nos testes preliminares e definitivos dos bioensaios agudos (ABNT, 2003).

Nos bioensaios agudos, adotou-se o método estático para metais e semi-estático com renovação da solução a cada 24 horas para os pesticidas organoclorados, uma vez que estes apresentam baixa solubilidade em água. Por este motivo, foi utilizada a acetona como um veículo de dispersão destes compostos na água reconstituída tanto nos testes agudos como crônicos. As concentrações dos

pesticidas organoclorados foram preparadas a partir de padrões puros adquiridos da empresa SUPELCO (Heptachlor: 1000 µg/mL em metanol; Aldrin: 200 µg/mL em isoctano).

O volume de acetona nas concentrações mais elevadas dos bioensaios não ultrapassou 0,1 mL/L como sugerido pelo IBAMA (1990). Neste caso, utilizou-se também um controle com a máxima concentração de acetona nos bioensaios, com o objetivo de assegurar que os efeitos deletérios nos peixes fossem decorrentes das substâncias tóxicas. O agente químico (íon cobre) foi utilizado na forma de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), e expresso em µg/L.

Os experimentos foram conduzidos com duas réplicas contendo seis organismos cada (respeitando a proporção 1g de peixe por litro de solução) sob condições de temperatura (25° C) e fotoperíodo (12:12 hs claro/escuro) controladas. Os parâmetros pH, condutividade, dureza, oxigênio dissolvido e mortalidade foram acompanhados tanto no início quanto no final dos testes.

Os testes de toxicidade crônicos parciais foram realizados do tipo semi-estático com renovação a cada 24 horas tanto para o metal quanto para os pesticidas, de acordo com as normas do IBAMA (1990). Os experimentos foram conduzidos com três réplicas contendo 10 organismos cada sob condições de temperatura (25° C) e fotoperíodo (12:12 hs claro/escuro) controladas. Os parâmetros pH, condutividade, dureza, oxigênio dissolvido e mortalidade foram acompanhados a cada 24hs. Durante os bioensaios os organismos não receberam alimento, evitando-se que as substâncias testadas ficassem ligadas ao alimento.

4.6.7 – Avaliação dos resultados de toxicidade

Os organismos mortos foram retirados e contados após o término dos bioensaios. Para a obtenção dos resultados de mortalidade e grau de toxicidade dos diferentes pontos amostrados no sistema. A avaliação de mortalidade seguiu às recomendações de Prater e Anderson (1977) e Meletti (1997), sendo: 0-30% - baixa toxicidade; 31-50% - média toxicidade e de 51-100% - alta toxicidade, este método foi comparado com a análise de Fisher's exact test. Esta análise estatística foi realizada com base no *software* Bio Estat.

Quanto à avaliação crônica dos resultados, os organismos sobreviventes nos bioensaios foram avaliados biometricamente quanto ao peso e comprimento total. Estes parâmetros foram comparados estatisticamente em relação ao lote controle

para a avaliação de efeitos crônicos no desenvolvimento dos organismos. O teste estatístico utilizado foi o Mann-Withney (não paramétrico).

4.7. – Estudos histológicos

Os estudos histológicos foram realizados nos organismos que sobreviveram nos testes crônicos parciais com amostras ambientais (em julho/03 e janeiro/04), bem como nos peixes que sobreviveram nas diferentes concentrações do cobre e dos pesticidas organoclorados aldrin e heptacloro, cujos resultados da contagem foram utilizados para expressar o grau de toxicidade responsável pela mortalidade dos organismos nas amostras. Após o término dos testes, os organismos foram fixados em *bouin* e posteriormente desidratados para a inclusão em parafina.

A trimagem para a obtenção dos cortes seriados de 4,0 – 6,0 micrômetros foram efetuadas em micrótomo MICRON HM 340E, navalha de aço, corados com hematoxilina-eosina (HE), sendo posteriormente analisados sob microscópio óptico. Analisou-se tecidos da brânquia, uma vez que esta representa um alvo primário de contato com a água. O tipo e grau das alterações foram baseados em Poleksic e Mitrovic-Tutundisic (1994) (TABELA 5).

TABELA 5: Classificação das alterações histológicas, segundo Poleksic e Mitrovic-Tutundisic (1994), utilizadas em tecidos brânquiais de *D. rerio* e *P. reticulata*, expostos em amostras de sedimento do sistema Monjolinho, bem como, metais e pesticidas.

Alterações histológicas	Estágio
a) Hipertrofia ou hiperplasia do tecido respiratório	
✓ Hipertrofia de células epiteliais	I
✓ Adelgamento epitelial	I
✓ Deslocamento ou elevação das células do epitélio	I
✓ Ruptura epitelial	II
✓ Hiperplasia das células epiteliais na base das lamelas secundárias	I
✓ Hiperplasia das células epiteliais ao longo das lamelas secundárias	I
✓ Fusão parcial (na base ou no topo) das lamelas secundárias	I
✓ Fusão completa de algumas lamelas secundárias	I
✓ Fusão completa de todas as lamelas secundárias	II
✓ Degeneração celular	II
✓ Infiltração de leucócitos no epitélio branquial	I
b) Alterações nas células mucosa e cloreto	
✓ Hipertrofia e/ou hiperplasia das células mucosas	I
✓ Presença de células mucosas nas lamelas secundárias	I
✓ Hipertrofia e/ou hiperplasia das células cloreto	I
✓ Presença de células cloreto nas lamelas secundárias	I
c) Alterações nos vasos sanguíneos e lamelares	
✓ Dilatação dos capilares	I
✓ Desarranjo dos capilares	I
✓ Hemorragia causada por rupturas de capilares	II
✓ Aneurisma lamelar	II
d) Estágio terminal	
✓ Fibrose	III
✓ Necrose	III
e) Parasitas branquiais	I

4.8 – Análise numérica.

A análise estatística foi realizada entre os dados dos quatro períodos de amostragem (julho/03; outubro/03; janeiro/04 e abril/04). Verificou-se a influência das variáveis utilizadas nos diferentes pontos de coleta. Foi realizada uma “Análise de discriminantes”, baseada em matriz de co-variância das variáveis transformadas em distância de Mahalanobis, possibilitando a observação gráfica da distância entre os grupos e entre os indivíduos dentro dos respectivos grupos. O *software* utilizado foi xlstat Addin versão 5.02.

5 – RESULTADOS

5.1 – VARIÁVEIS HIDROLÓGICAS

5.1.1. Vazão

Neste estudo foram feitas secções transversais no rio, onde se mediu, com o auxílio de um molinete, a velocidade da corrente. A velocidade da corrente, em sua maioria, foi medida em 20% e 80% da profundidade em cada estação de coleta.

De acordo com os resultados obtidos (FIGURA 9) verifica-se que os pontos: Nascente, UFSCar, Usina, Água Fria e Confluência apresentaram maiores valores de vazão no período seco (julho/2003) em relação aos demais períodos, com valores máximos de 2,28 m³/s e 3,36 m³/s nos pontos Usina e Confluência, respectivamente. Nos demais pontos os maiores valores ocorreram no período chuvoso (janeiro/2004), sendo os valores máximos encontrados nos pontos Ponte Caída (2,85 m³/s) e Confluência (3,19 m³/s). Exceção foi verificada no ponto USP, no qual obteve-se maior valor de vazão em abril de 2004, com 0,724 m³/s.

Os valores mínimos de vazão foram detectados na Nascente, sendo que em janeiro de 2004 foi encontrado o valor mínimo (0,012 m³/s). Dentre os tributários do Rio Monjolinho, o córrego Santa Maria Madalena foi o que apresentou maiores valores de vazão (0,69 m³/s em julho de 2003 e 1,63 m³/s em janeiro de 2004) no período seco e chuvoso. Depois do córrego Santa Maria Madalena, os córregos que apresentaram as maiores vazões foram o córrego da Água Fria, com valores similares em julho de 2003 e janeiro de 2004 (0,461 m³/s e 0,44 m³/s, respectivamente) e o córrego do Cancã (0,169 m³/s em julho de 2003 e 0,508 m³/s em janeiro de 2004).

Como esperado, a vazão do Rio Monjolinho aumenta da Nascente em direção a Confluência devido à contribuição de seus tributários e ao aporte de efluentes domésticos e industriais, principalmente após a entrada deste no perímetro urbano.

FIGURA 9 – Variação da vazão (m^3/s) nos pontos de amostragem do Rio Monjolinho e seus tributários durante todo o período de estudo.

5.2 -VARIÁVEIS LIMNOLÓGICAS

5.2.1. Condutividade elétrica e pH

As medidas de condutividade elétrica da água efetuadas em todas as estações de coleta durante o período de estudo revelaram altos valores no Tijuco, Gregório, Usina, Água Quente, Ponte Caída e Confluência. Nesses locais, variaram de 115 a 290 $\mu\text{S}/\text{cm}$, ultrapassando o limite esperado para águas naturais, que é de 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (ANEXO A – TABELA 6).

Em geral, os valores de condutividade durante todo o período de estudo, particularmente para estas estações de coleta, se mantiveram sempre acima do limite de 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$, sendo registrado os maiores valores para Confluência (em julho/2003) e os menores para a Nascente. Além disso, verificou-se valores constantes de out/03 a abril/04 na nascente (8 $\mu\text{S}/\text{cm}$).

Em relação ao pH, os valores obtidos não apresentaram variações entre os períodos de amostragem em 2003 e 2004, sendo verificados valores entre 5,65 (Nascente) e 7,47 (Água fria) em julho/03, em outubro entre 6,13 (Nascente) e 6,95

(Usina); em janeiro de 2004 entre 4,77 (Nascente) e 7,70 (Tijuco) e em abril entre 5,29 (Nascente) e 6,49 (Ponte Caída).

De um modo geral, os menores valores de pH foram verificados no período chuvoso, com exceção dos localizados na Usina, Ponte caída e Confluência, que apresentaram valores mais baixos na estação intermediária (6,48, 6,49 e 6,20, respectivamente). Além disso, o ponto Tijuco, apresentou menor valor de pH em julho/03 (6,98) (ANEXO A – TABELAS 6).

5.2.2. Turbidez

As medidas de turbidez realizadas entre todos os pontos estudados registraram altos valores nos pontos Água quente e Gregório nos períodos seco e chuvoso, com valores de 100 e 175 UNT e 344 e 113 UNT, respectivamente. Os resultados do córrego do Gregório estiveram acima dos limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 para rios de classe dois, o qual determina o nível máximo de 100 UNT. (ANEXO A – TABELA 6).

5.2.3. Temperatura e oxigênio dissolvido

As maiores temperaturas foram registradas durante o verão, em janeiro de 2004, com uma variação de 20,4 a 25,2°C, nos pontos Nascente e UFSCar, respectivamente. A temperatura mínima registrada ocorreu no mês de julho de 2003 (17,5 °C) no Madalena. Neste mesmo período, a máxima temperatura foi verificada no ponto Água quente (23,8 °C), representando, dessa forma, a maior variação de temperatura durante o período de estudo (com 6,3 °C).

Em relação ao oxigênio dissolvido, verificou-se valores abaixo do limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 (limite mínimo igual a 5 mg/L) em alguns pontos de coleta. Essas concentrações foram encontradas em julho/03 nos pontos Gregório e USP com valores 3,70 e 4,38 mg/L, respectivamente; em outubro/03 os valores foram de 2,7 mg/L para UFSCar e 4,66 mg/L no ponto USP.

Em janeiro/2004 foi registrado o menor valor de oxigênio dissolvido durante o estudo, 1,56 mg/l na estação em Ponte Caída. Salienta-se que este resultado está abaixo do limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe quatro (não

inferior a 2,0 mg/L). Ressalta-se, que neste local o rio é enquadrado como classe 4.. Neste mesmo período, o valor encontrado no ponto UFSCar foi de 3,29 mg/L, abaixo do limite estabelecido para rios de classe dois. Os pontos Usina e Ponte Caída apresentaram valores baixos no período de abril/2004, com 4,07 e 4,29 mg/L de oxigênio dissolvido, respectivamente (ANEXO A – TABELA 6).

5.2.4. Material em suspensão

As concentrações mais elevadas de material em suspensão total, inorgânico e orgânico foram verificadas na estação Água Quente, cujos valores foram 130,06 (jan/04), 105,0 (jan/04) e 34,73 mg/L (jul/03), respectivamente. Os valores mais baixos de material em suspensão total, orgânico e inorgânico foram encontrados na Nascente em julho/03 (2,35 mg/L); abril/04 (0,53 mg/L) e julho/3 (1,01 mg/L), respectivamente.

No mês de julho/03 o valor máximo de material em suspensão orgânico foi 34,76 mg/L no ponto Água Quente e o mínimo de 1,01 mg/L ocorreu na Nascente. Em relação ao material inorgânico, neste mesmo período, a concentração de 35,9 mg/L no ponto Água Quente e o valor mínimo de 1,34 mg/L na Nascente.

Em outubro/03, os valores máximos e mínimos de material em suspensão orgânico foram de 13,53 e 1,65 mg/L nos pontos Confluência e Nascente, respectivamente. A concentração máxima de material em suspensão inorgânico, neste período, foi de 26,26 mg/L na Confluência, e o mínimo na Nascente (0,81 mg/L).

No mês de janeiro/04, foram encontrados valores máximos e mínimos de material em suspensão orgânico nos pontos Ponte Caída (26,44mg/L) e Nascente (1,48 mg/L), respectivamente. Já o material em suspensão inorgânico teve os valores máximos e mínimos registrados nos pontos Água Quente (105,0 mg/L) e Tijuco (1,18 mg/L).

No período de abril/04, pode-se verificar valores máximos e mínimos, tanto de material em suspensão orgânico quanto inorgânico, nos pontos Usina e Nascente, respectivamente, cujos valores foram de 8,28 e 1,83 mg/L para material em suspensão orgânico e de 21,13 e 0,53 mg/L para material em suspensão inorgânico (FIGURAS 10 e 11; ANEXO A – TABELA 7).

FIGURA 10: Variação da concentração de material em suspensão total (MST), inorgânico (MSI) e orgânico (MSO), nos diferentes pontos de amostragem do Rio Monjolinho e tributários, em julho/03; outubro/03 e janeiro/04.

FIGURA 11: Variação da concentração de material em suspensão total (MST), inorgânico (MSI) e orgânico (MSO) nos diferentes pontos de amostragem do Rio Monjolinho, em abril/04.

5.2.5. Clorofila a total

As maiores concentrações de clorofila a foram obtidas na UFSCar, Tijuco e Gregório (85,09 µg/L, 65,56 µg/L e 42,31 µg/L respectivamente). Em julho/03 o valor máximo foi encontrado na UFSCar (85,09 µg/L) e o mínimo na Nascente (zero). No mês de outubro/03, a máxima concentração foi de 39,99 µg/L no UFSCar e a mínima na Nascente (2,79 µg/L).

Em janeiro/04, caracterizado pela época chuvosa, foi verificada a concentração máxima de clorofila no ponto Tijuco (65,56 µg/L) e a mínima no ponto USP (zero). No mês de abril/04, pode-se registrar valor máximo de 39,99 µg/L no ponto Usina e o valor mínimo de 0,93 µg/L na Nascente (FIGURA 12; ANEXO A – TABELA 7). Ressalta-se, que os pontos UFSCar, Tijuco e Gregório (que são enquadrados como classe 2) apresentaram valores de clorofila a acima do CONAMA 357/05 (30,0 µg/L).

FIGURA 12: Variação espacial e temporal da concentração de clorofila a nos pontos amostrados no Rio Monjolinho (SP).

5.2.6. Compostos nitrogenados

As concentrações obtidas para as diferentes formas de nitrogênio demonstraram em geral, a predominância no nitrogênio orgânico total em todos os períodos de amostragem. Exceções foram encontradas nos pontos Tijuco, Gregório, Serra e USP no período de julho/03, nos quais ocorreram concentrações mais elevadas de nitrato (NO_3^-) para os três primeiros e íon amônio (NH_4^+) para o último. Em relação a janeiro/04, as exceções foram verificadas nos pontos Nascente, UFSCar e USP, onde ocorreram maiores concentrações do íon amônio (FIGURAS 13, 14, 15 e 16; ANEXO A – TABELA 8).

Os valores obtidos para nitrogênio orgânico total demonstraram em geral, pequenas variações espaciais e temporais no rio Monjolinho e seus tributários. As maiores concentrações detectadas foram de 15,183 mg/L (em janeiro/04), no córrego Gregório e Tijuco. A concentração mínima obtida foi de 0,018 mg/L, na nascente do rio Monjolinho, em janeiro/04 (FIGURA 13).

FIGURA 13: Variação espacial e temporal das concentrações de nitrogênio orgânico total no Rio Monjolinho e seus tributários

As concentrações do íon amônio variaram tanto em escala espacial, como em escala temporal. Nos pontos de coleta Ponte Caída e Confluência foram obtidas elevadas concentrações nos diferentes períodos, com exceção de janeiro/04. Na Confluência foi registrado o valor máximo de 2.668 $\mu\text{g/L}$ em outubro/03. Em relação aos tributários, os córregos Cancã e Serra apresentaram concentrações menores nas diferentes épocas de coleta. O menor valor obtido foi de 24,17 $\mu\text{g/L}$ em abril/04, na nascente (FIGURA 14; ANEXO A – TABELA 8).

FIGURA 14: Variação espacial e temporal das concentrações do íon amônio no Rio Monjolinho e seus tributários

Em relação ao nitrato, verificou-se que os pontos Tijuco e Gregório apresentaram as maiores concentrações nas diferentes épocas do ano, em relação a todo o sistema. A maior concentração foi medida no córrego Tijuco (4.084,0 µg/L) em janeiro/04. Nos demais tributários e pontos do rio, percebem-se pequenas oscilações temporais. A mínima concentração foi medida no córrego Madalena (45,568 µg/L), em janeiro/04 (FIGURA 15; ANEXO A – TABELA 8). Os valores de nitrato não estiveram acima do CONAMA 357/05 (10.000 µg/L), em nenhum ponto de amostragem.

FIGURA 15: Variação espacial e temporal das concentrações de nitrato no Rio Monjolinho e seus tributários.

Os córregos do Tijuco e Gregório apresentaram os valores mais elevados de nitrato. O valor máximo foi encontrado no córrego Tijuco Preto (528,22 µg/L), seguido pelo Gregório (519,80µg/L), no mês de julho/03. No rio Monjolinho, as concentrações mais elevadas foram no ponto da Usina (246,94 µg/L) e a menor foi de 1,574 µg/L no córrego Cancã, ambas obtidas em janeiro/04 (FIGURA 16; ANEXO A – TABELA 8). Nenhum ponto amostrado apresentou valores acima do CONAMA 357/05 (1000 µg/L).

FIGURA 16: Variação espacial e temporal das concentrações de nitrito no Rio Monjolinho e seus tributários.

5.2.7. Compostos fosfatados

As medidas de concentrações elevadas de fósforo total foram obtidas nos pontos Água Quente, Gregório, Ponte Caída e Confluência em diferentes períodos de coleta. Durante o período seco, a concentração máxima ocorreu no ponto Água Quente (982,85 $\mu\text{g/L}$), destacando-se por apresentar o maior valor registrados durante o período de estudo. Em outubro/03, a concentração máxima ocorreu no ponto Ponte Caída (787,37 $\mu\text{g/L}$). O córrego do Gregório apresentou valor máximo no período chuvoso, representado por 917,29 $\mu\text{g/L}$. A menor concentração foi registrada na nascente do rio Monjolinho, em julho/03, com o valor de 17,997 $\mu\text{g/L}$ (FIGURA 17; ANEXO A – TABELA 9).

FIGURA 17: Variação espacial e temporal das concentrações de fósforo total no Rio Monjolinho e seus tributários.

As maiores concentrações de fosfato total dissolvido ocorreram no final do rio Monjolinho, nos pontos Ponte Caída (405,41 – abril/04) e Confluência (357,96 μ g/L – jul/03), nos quais verificou-se pequenas variações nas diferentes épocas de amostragem. Em relação aos tributários, o córrego Gregório apresentou o valor mais elevado (675,97 μ g/L) em janeiro/04, destacando-se por apresentar a maior concentração de fosfato total dissolvido em todos os períodos de amostragem. As menores concentrações foram registradas na Nascente, sendo o menor valor obtido em julho/03 (6,1179 μ g/L) (FIGURA 18; ANEXO A – TABELA 9).

FIGURA 18: Variação espacial e temporal das concentrações de fosfato total dissolvido no Rio Monjolinho e seus tributários.

No rio Monjolinho, as menores concentrações de fosfato inorgânico ocorreram na Nascente e UFSCar, além dos córregos Madalena, Água Fria, Cancã e Serra, os quais demonstraram pequenas variações nas diferentes épocas de coleta. O valor mínimo obtido foi de 5,22µg/L, na Nascente, em julho/03. O córrego do Gregório apresentou a concentração de fosfato inorgânico mais elevada da bacia hidrográfica (418,77µg/L, em janeiro/04), seguido de valores obtidos na Água Quente (407,97 µg/L) em julho/03. Em relação aos pontos localizados no Rio Monjolinho, os pontos Ponte Caída e Confluência demonstraram concentrações mais elevadas em todos os períodos, com valores máximos de 353,28 µg/L (abril/04) e 355,1 µg/L (julho/3), respectivamente (FIGURA 19; ANEXO A – TABELA 9).

FIGURA 19: Variação espacial e temporal das concentrações de fosfato inorgânico no Rio Monjolinho e seus tributários.

5.2.8. Silicato reativo

As concentrações de silicato reativo foram mais elevadas em janeiro/04, em todo o sistema Monjolinho, com valores máximo e mínimo de 19,386 µg/L e 6,0981 µg/L, no córrego Água Quente e Nascente, respectivamente. As menores concentrações foram registradas em abril/04, na Nascente (0,64 µg/L) e valor máximo na Confluência (1,9539 µg/L). A Nascente apresentou os menores valores em todo o período amostrado,

atingindo a concentração máxima de 7,29 µg/L em outubro/ 03 (FIGURA 20; ANEXO A – TABELA 9).

FIGURA 20: Variação espacial e temporal das concentrações de silicato reativo no Rio Monjolinho e seus tributários.

5.2.9. Coliformes totais e fecais

De acordo com a TABELA 10, verifica-se que os maiores valores para coliformes totais foram registrados em julho/03, com destaque para o córrego Tijuco (86.460.000 NMP). O menor valor foi obtido na Nascente (13.740 NMP). Em relação à variável coliforme fecal, verifica-se que os menores valores foram detectados em janeiro/04. No córrego Água Quente, foi obtido o valor máximo (163.800 NMP) e o mínimo córrego Água Fria (107.1 NMP). Tomando-se as épocas intermediárias (outubro/03 e abril/04) os valores máximos e mínimos do número de coliformes fecais e totais foram representados pelos pontos Ponte Caída e Nascente, respectivamente. A exceção foi encontrada para a concentração máxima de coliformes fecais no mês de abril, a qual foi obtida no ponto Usina (1.413.600 NMP). Ressalta-se, que 95% e 80% das estações apresentaram valores de coliformes totais (5.000,00 NMP/100 mL) e fecais (1.000,00/100 mL) acima do CONAMA 357/05, respectivamente.

TABELA 10: Números mais prováveis de coliformes totais e fecais no sistema Monjolinho em diferentes períodos de amostragem.

COLIFORMES (NMP)								
	jul/03		out/03		jan/04		abr/04	
Ponto	totais	fecais	totais	fecais	totais	fecais	totais	fecais
Nascente	13.740**	648.8	2419.2**	73.3**	13.130**	143.9	11.000	49.4**
UFSCar	198.628	2.560	129.965	2.090	173.287	1.630	83.600	71.200
Madalena	1.299.650	12.230	-	-	29.240	1.580	-	-
USP	1.046.240	32.700	34.360	4.220	198.628	17.790	163.100	145.000
Tijuco	86.640.000*	3.255.000*	-	-	189.300	32.400	-	-
Mineirinho	1.119.850	26.020	-	-	104.624	18.600	-	-
Gregório	1.986.280	98.700	-	-	1.986.250*	39.300	-	-
Usina	2.400.000	57.100	231.000	100.000	184.700	4.100	1.413.600*	163.100
A. Quente	5.475.000	137.4	-	-	1.732.870	163.800*	-	-
A. Fria	2.019.780	137.4	-	-	15.760	107.1**	-	-
P. Caída	19.862.800	100.000	3.076.000*	121.000*	223.000	50.000	387.300	318.000*
Cancã	104.624	34.1	-	-	1.046.240	38.730	-	-
Serra	111.985	30.5**	-	-	22.540	2.280	-	-
Confluência	4.160.000	19.700	1.281.000	10.000	686.700	50.400	441.000	59.100

(-) Pontos não amostrados; (**) valor mínimo; (*) valor máximo.

5.2.10. Cloretos, sulfatos e sulfetos

De acordo com a resolução CONAMA 357/05, os limites permitidos de cloretos e sulfatos para rios de classe 2 são 250 mg/L e para sulfetos 0,002 mg/L.

Para cloreto foram encontrados valores muito abaixo do limite permitido pela resolução. O valor máximo (20,4 mg/L) encontrado no córrego do Gregório (em julho/03), e o valor mínimo na Nascente (0,04 mg/L). Os resultados de sulfatos também ficaram muito abaixo do limite permitido para rios de Classe 2. Os valores variaram de zero (Mineirinho – jan/04, Água Fria – jul/03, Cancã – jul/03 e Serra – jul/03), a 59 mg/L (Gregório).

Para sulfetos, a maioria das estações, em todo o período amostral, ultrapassou os limites permitidos pelo CONAMA 357/05 para rios de classe 2. O menor valor foi registrado na estação Serra (0,001 mg/L, em janeiro/04) e o maior para o Gregório (com 0,151 mg/L, em julho/03) (FIGURA 21; ANEXO A – TABELA 11).

FIGURA 21: Variações nas concentrações dos íons cloreto, sulfato e sulfeto nos pontos amostrados no Rio Monjolinho e seus tributários.

5.2.11. Metais totais

CROMO

Os resultados obtidos demonstraram, em geral, que as concentrações de cromo foram maiores no período seco (jul/03). Na Ponte Caída a maior concentração de cromo foi verificada no período de abril/04 (9,097 $\mu\text{g/L}$), representando o valor mais alto durante todo o período de estudo. Verifica-se a existência de uma variação espacial e temporal nas concentrações deste metal, entretanto, todos os valores obtidos estiveram abaixo do limite estabelecido pela resolução CONAMA 357/05 (50 $\mu\text{g/L}$) (FIGURA 22; ANEXO A – TABELA 12).

FIGURA 22: Variação espacial e temporal nas concentrações de cromo nos pontos amostrados no Rio Monjolinho e seus tributários.

COBRE

A FIGURA 23 apresenta as concentrações de cobre obtidas neste estudo. As concentrações foram mais elevadas no período seco, onde foi observado o valor máximo de 32,0 $\mu\text{g/L}$ (córrego do Gregório). Ressalta-se, que todos os pontos enquadrados como classe 2 apresentaram concentrações acima do limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 (9,0 $\mu\text{g/L}$). Em janeiro/04, os pontos Serra, Água Quente,

Gregório, Ponte Caída e Confluência, registraram valores elevados, sendo o mesmo observado em outubro/03 nos pontos Usina, Ponte Caída e Confluência..

No mês de abril/04, as concentrações de cobre em alguns pontos (Nascente, UFSCar e USP) estiveram abaixo do limite de detecção pelo método empregado. Neste período, encontrou-se uma concentração de 4,916 µg/L no Ponte Caída (FIGURA 23; ANEXO A – TABELA 12).

FIGURA 23: Variação espacial e temporal nas concentrações de cobre nos pontos amostrados no Rio Monjolinho e seus tributários.

CÁDMIO

A análise de cádmio no sistema demonstrou que em julho/03, os níveis foram mais elevados em quase todos os pontos amostrados, atingindo o valor máximo de 4,0 µg/L na Confluência. Alguns pontos amostrados neste mesmo período (Água Fria, Ponte Caída e Tijuco) apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção do método. A exceção foi encontrada para os pontos Água Quente e Cancã, nos quais as maiores concentrações do metal foram obtidas em janeiro/04. A concentração máxima no Cancã foi de 4,25 µg/L. Ressalta-se, no entanto, que as concentrações obtidas em algumas estações de coleta (UFSCar, Madalena, USP e Gregório - julho/03) estiveram

abaixo do padrão estabelecido pelo CONAMA 357/05 (1,0 µg/L) (FIGURA 24; ANEXO A – TABELA 12).

FIGURA 24: Variação espacial e temporal nas concentrações de cobre nos pontos amostrados no Rio Monjolinho e seus tributários.

FERRO

Em relação às concentrações de ferro ocorreu, em geral, um acréscimo no eixo longitudinal do rio, isto é, da Nascente em direção à Confluência. Pode-se perceber que as maiores concentrações foram registradas em julho/03 e outubro/03, sendo que a maior foi observada na estação Confluência, em outubro/03 (13,81 mg/L).

Nos períodos seco e chuvoso as concentrações máximas e mínimas de ferro foram obtidas no ponto Água Quente (8,4684 e 5,0812 mg/L) e na Nascente (0,5807 e 0,3484 mg/L). Em abril/04 foram detectados os menores valores de ferro em todo o rio Monjolinho, atingindo o valor máximo de 0,4146 mg/L na Confluência.

A maior parte das estações apresentou concentração superior ao limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para águas classe 2, que é de 0,30 mg/L excetuando-se as estações Nascente, UFSCar e USP (abril/04). (FIGURA 25; ANEXO A – TABELA 12).

FIGURA 25: Variação espacial e temporal nas concentrações de ferro nos pontos amostrados no Rio Monjolinho e seus tributários.

MANGANÊS

Em geral, as concentrações de manganês elevaram-se gradualmente em função do gradiente longitudinal do rio, isto é, da nascente em direção à Confluência. Para a maioria dos pontos amostrados, em diferentes períodos de coleta, foi observada a presença do elemento manganês, em concentrações inferiores a recomendada pelo CONAMA 357/05 (0,1 mg/L). O ponto Água Quente, no mês de julho/03, apresentou a maior concentração de todo o sistema, com um pico de 0,4 mg/L (FIGURA 26; ANEXO A – TABELA 12).

FIGURA 26: Variação espacial e temporal nas concentrações de manganês nos pontos amostrados no Rio Monjolinho e seus tributários.

ZINCO

As concentrações obtidas para o zinco apresentaram valores que foram aumentando de acordo com o gradiente longitudinal do rio. No entanto, estes resultados estiveram abaixo das recomendações da resolução CONAMA 357/05 para rios de classe 2 (0,18 mg/L). O tributário Gregório apresentou o maior valor registrado em todos os períodos de amostragem (0,0978 mg/L). Nos pontos Nascente, UFSCar, Madalena e Tijuco, as concentrações estiveram abaixo do limite de detecção do método no período chuvoso (FIGURA 27; ANEXO A – TABELA 12).

FIGURA 27: Variação espacial e temporal nas concentrações de zinco nos pontos amostrados no Rio Monjolinho e seus tributários.

5.2.12. Pesticidas organoclorados

Os resultados das concentrações de aldrin indicaram valores elevados nos pontos Nascente (janeiro/04), UFSCar (julho/03); USP (janeiro/04), Usina (julho/03 e janeiro/04) e córrego do Cancã (julho/03). A maior concentração foi obtida no ponto USP (0,621 µg/L) e o menor no Ponte Caída (0,003 µg/L). Salienta-se, no entanto, que as concentrações de aldrin nos pontos UFSCar foi cerca de 17 vezes superiores ao padrão CONAMA 357/05 (0,005 µg/L), para rios de classe dois no mês, de julho. No mesmo período, verificou-se que os valores na Usina foram muito elevados (0,113

µg/L), no entanto, este ponto do rio é considerado classe 4, não sendo possível comparar com CONAMA. No mês de janeiro/04, as concentrações superaram o padrão CONAMA cerca de 30 vezes (Nascente) e no ponto USP este valor ultrapassou 124,2 vezes a resolução CONAMA 357/05.

Quanto ao pesticida endosulfan, as concentrações estiveram no limite da resolução CONAMA 357/05 (0,056 µg/L), exceto no ponto USP, que ultrapassou 2 vezes o limite permitido.

As concentrações de heptacloro estiveram acima dos limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 (0,01 µg/L). Observa-se que no mês de julho estes limites ultrapassaram este padrão estabelecido cerca de 10 vezes (UFSCar) e no mês de janeiro/04 cerca de 15 vezes (Nascente). Ressalta-se, que as concentrações de heptacloro na Usina (0,381) em julho/03 e Confluência (0,062) em janeiro/04 foram elevadas, entretanto, estes pontos estão no trecho classificado como classe 4 do rio Monjolinho, cuja CONAMA 357/05 não dispõe sobre os limites para estas substâncias (TABELA 13).

TABELA 13 - Concentrações de pesticidas organoclorados na água em julho/03 e em janeiro/04 nos pontos do rio e em dois tributários, em relação ao CONAMA 357/05.

Pesticidas → CONAMA 357/05 →	Aldrin		Endosulfan sulfato		Heptacloro	
	0,005 (mg/L)		0,056 (mg/L)		0,01 (mg/L)	
Pontos de coleta ↓	Julho/03	Janeiro/04	Julho/03	Janeiro/04	Julho/03	Janeiro/04
Nascente**	ND	0,147	< LD	ND	<LD	0,148
UFSCar**	0,087	ND	ND	0,012	0,098	ND
USP**	-	0,621	-	0,113	-	ND
Usina**	0,113	0,154	ND	0,014	0,381	ND
Ponte Caída**	ND	0,003	ND	ND	ND	ND
Córrego Cancã*	0,078	ND	0,015	ND	ND	ND
Córrego Serra*	< LD	ND	ND	0,022	ND	ND
Confluência**	ND	ND	ND	ND	0,062	0,027

** Pontos do rio Monjolinho; * tributários do rio Monjolinho; ND – Não detectado; <LD – abaixo do limite de detecção (.-) não coletada;

5.3 –ANÁLISE FÍSICA E QUÍMICA DO SEDIMENTO

5.3.1 Porcentagem de matéria orgânica e inorgânica

Foi possível verificar que os sedimentos do rio Monjolinho e de seus tributários apresentaram porcentagens de matéria orgânica muito menor do que de inorgânica, em todos os períodos de amostragem. Os resultados da porcentagem de matéria orgânica no sedimento variaram de 0,05% (Água Fria, julho/03) a 4,95% (Confluência, julho/03) (FIGURAS 28 e 29; ANEXO B – TABELA 14).

FIGURA 28: Porcentagem de matéria orgânica e inorgânica nas amostras de sedimento do Rio Monjolinho e seus tributários em julho e outubro de 2003.

FIGURA 29: Porcentagem de matéria orgânica e inorgânica nas amostras de sedimento do Rio Monjolinho em janeiro e abril de 2004.

5.3.2 Granulometria

A composição granulométrica dos sedimentos do rio Monjolinho e tributários apresentou alterações nos diferentes períodos de amostragem, bem como ao longo do sistema. Em geral, o sedimento do rio Monjolinho e tributários é do tipo arenoso, sendo que 46,87% das amostras são compostas, predominantemente, pelas frações areia

média, 31,25%, areia fina e 15,62% pela areia grossa. As frações de pedregulho muito fino foram predominantes em apenas 3,12% das amostras. Não foi observada predominância da fração silte+argila em nenhum dos pontos de amostragem. A porcentagem máxima foi obtida na Confluência (29,7%) no período seco. (FIGURAS 30, 31, 32 e 33; ANEXO B – TABELA 15).

Na Nascente e UFSCar houve predominância de areia média em três épocas de coleta (jul/03; jan/04 e abril/04), sendo que em outubro/03 a maior porcentagem foi de areia fina. No mês de Janeiro/04, a maioria dos pontos amostrados apresentou maiores porcentagens de areia média, com exceção dos pontos Ponte Caída e Confluência, nos quais ocorreu a predominância de areia fina.

Os valores obtidos de pedregulho muito fino no ponto Tijuco foram mais elevados do que as demais frações granulométricas no mês de julho/03 (63%). Neste ponto, em janeiro/04 foi observada a predominância de areia média sobre as demais frações (49%).

Houve predominância de areia grossa no ponto USP nos meses de julho/03, outubro/03 e abril/04, com valores de 33%, 73% e 40%, respectivamente. Em janeiro/04, este mesmo ponto apresentou maiores porcentagens de areia média. No córrego Mineirinho e no ponto Usina, os resultados nos períodos seco e chuvoso foram semelhantes ao ponto USP no rio Monjolinho, com porcentagens de areia grossa de 41% (julho/03) e areia média de 58% (janeiro/04).

Os tributários Água Quente e Água Fria apresentaram predominância de areia fina em julho/03 (47% e 65%, respectivamente) e de areia média em janeiro/04 (46% e 49%, respectivamente).

A fração areia fina prevaleceu predominante nos pontos Ponte Caída e Confluência, com exceções nos meses de julho/03 e abril/04, respectivamente, onde foram encontradas maiores porcentagens de areia média.

AG: areia grossa; **AM:** areia média; **AF:** areia fina; **PMF:** pedregulho muito fino; **S+A:** silte + argila.

FIGURA 30: Variação espacial na composição granulométrica do Rio Monjolinho e seus tributários, em julho/03.

AG: areia grossa; **AM:** areia média; **AF:** areia fina; **PMF:** pedregulho muito fino; **S+A:** silte + argila.

FIGURA 31: Variação espacial na composição granulométrica do Rio Monjolinho, em outubro/03.

AG: areia grossa; **AM:** areia média; **AF:** areia fina; **PMF:** pedregulho muito fino; **S+A:** silte + argila.

FIGURA 32: Variação espacial na composição granulométrica do Rio Monjolinho e seus tributários, em janeiro/04.

AG: areia grossa; **AM:** areia média; **AF:** areia fina; **PMF:** pedregulho muito fino; **S+A:** silte + argila.

FIGURA 33: Variação espacial na composição granulométrica do Rio Monjolinho, em abril/04.

5.3.3. Fósforo total

As concentrações de fósforo total aumentaram progressivamente da Nascente em direção à Confluência. Em abril/04 foi possível detectar maiores concentrações de fósforo no ponto UFSCar, com o valor de 462,05 µg/g. Pode-se verificar uma variação na concentração de fósforo total de 16,84 µg/g (Nascente, abril/04) a 766,5 µg/g (Confluência, outubro/03), sendo os menores valores observados em Água Fria (julho/03 e janeiro/04) e Nascente (outubro/03 e abril/04). As maiores concentrações foram observadas na UFSCar (abril/04) e na Confluência (julho/03, outubro/03 e janeiro/04) (FIGURA 34; ANEXO B – TABELA 16).

FIGURA 34: Variação espacial e temporal das concentrações de fósforo total nas amostras de sedimento do Rio Monjolinho e seus tributários.

5.3.4. Nitrogênio orgânico total

Em relação à porcentagem de nitrogênio orgânico total, verifica-se o mesmo padrão de matéria orgânica e fósforo total, com os maiores valores observados nas estações de coleta UFSCar e Confluência, com as maiores porcentagens (0,165% e 0,256%) ocorrendo em abril/04 e outubro/03, respectivamente.

A concentração mínima registrada, em janeiro/04, foi de 0,0046% na Nascente. Este mesmo ponto apresentou os menores valores em quase todos os períodos de coleta. Em julho/03, o valor mínimo foi detectado no córrego Água Quente (0,007%), e em outubro/03, juntamente com a Nascente, os pontos USP e Ponte Caída apresentaram as concentrações mínimas (0,007%) (FIGURA 35; ANEXO B – TABELA 16).

FIGURA 35: Variação espacial e temporal das concentrações de nitrogênio orgânico total nas amostras de sedimento do Rio Monjolinho e seus tributários.

5.3.5. Metais biodisponíveis

CROMO

Os resultados de cromo potencialmente biodisponível no sedimento demonstraram que as concentrações mais elevadas do metal foram registradas no ponto UFSCar em quase todos os períodos de amostragem (4,0023 $\mu\text{g/g}$ - julho/03; 4,5035 $\mu\text{g/g}$ - outubro/03 e 2,317 $\mu\text{g/g}$ - janeiro/04), exceto em abril/04 onde os valores máximos foram encontrados no ponto USP (2,5312 $\mu\text{g/g}$).

A maior concentração de cromo foi encontrada em outubro/03 (4,5035 $\mu\text{g/g}$ – UFSCar) e a mínima foi de 0,025 $\mu\text{g/g}$ no ponto Cancã, em julho/03. Deve-se ressaltar, que, embora na estação UFSCar os resultados obtidos tenham sido maiores em quase todos os períodos, os pontos USP e Confluência apresentaram as maiores concentrações de cromo em relação aos demais pontos amostrados. Na Confluência, foi verificada a concentração máxima de 2,801 $\mu\text{g/g}$ (outubro/03), 1,7105 $\mu\text{g/g}$ em julho/03 e 0,858 $\mu\text{g/g}$ em janeiro/04.

Os resultados apontam para a Nascente, Água Fria, Cancã e Usina como sendo as estações com menor concentração de cromo em diferentes períodos de amostragem (FIGURA 36; ANEXO B – TABELA 17).

FIGURA 36: Variação espacial e temporal das concentrações de cromo nas amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários.

COBRE

Foi detectado cobre nos sedimentos do rio Monjolinho e tributários ao longo do sistema nos diferentes períodos de amostragem, podendo-se observar uma variação espacial e temporal no sistema. As concentrações máxima e mínima foram de 27,719 $\mu\text{g/g}$ (Confluência, em outubro/03) e 0,15 $\mu\text{g/g}$ (Cancã, em julho/03), respectivamente.

Os resultados obtidos apontam a Nascente com sendo a estação com menores concentrações de cobre nos diferentes períodos de amostragem, com valores de 0,3275 $\mu\text{g/g}$ (outubro/03), 0,392 $\mu\text{g/g}$ (janeiro/04) e 0,258 $\mu\text{g/g}$ (abril/04).

O mês de abril/04 apresentou concentrações mais baixas do metal em relação aos demais períodos de coleta, nas diferentes estações de amostragem. Apenas no ponto USP, a menor concentração de cobre foi verificada em julho/03, com o valor de 0,50 $\mu\text{g/g}$ (FIGURA 37; ANEXO B – TABELA 17).

FIGURA 37: Variação espacial e temporal das concentrações de cobre nas amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários.

CÁDMIO

Em relação ao metal cádmio, pode-se observar também uma variação espacial e temporal das concentrações no sedimento do sistema Monjolinho. Os valores máximos e mínimos obtidos foram de 0,0871 $\mu\text{g/g}$ e 0,00005 $\mu\text{g/g}$, nos pontos Confluência (outubro/03) e Nascente (abril/04), respectivamente. Em janeiro/04, a Nascente apresentou a maior concentração em relação aos demais pontos amostrados, com o valor de 0,0318 $\mu\text{g/g}$ (FIGURA 38; ANEXO B – TABELA 17).

FIGURA 38: Variação espacial e temporal das concentrações de cádmio nas amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários.

FERRO

Em geral, as concentrações mais elevadas de ferro no sedimento ocorreram em janeiro/04 para maioria dos pontos amostrados, sendo que o valor máximo registrado foi de 8560 mg/Kg (UFSCar) e o mínimo de 1045 mg/Kg (Água Quente). Entretanto, os picos de concentração foram verificados em outubro/03 nos pontos UFSCar (109360 mg/Kg) e Confluência (191960 mg/Kg).

Foi possível registrar na Nascente ausência de ferro em três períodos de amostragem (julho/03, outubro/03 e janeiro/04), sendo que em abril/04 a concentração detectada foi de 2,05 mg/Kg. A mesma situação foi observada na Confluência do rio Monjolinho, onde a ausência de ferro foi constatada nos meses de julho/03 e janeiro/04. Entretanto, no mês de outubro/03, a Confluência foi o local que apresentou a maior concentração de ferro, com o valor de 191960 mg/kg (FIGURA 39; ANEXO B – TABELA 17).

FIGURA 39: Variação espacial e temporal das concentrações de ferro nas amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários.

MANGANÊS

As concentrações do elemento manganês apresentaram oscilações nas estações de coleta nos diferentes períodos de amostragem, podendo variar de zero (Nascente, em julho/03 e janeiro/04) a 2470 mg/kg na Confluência (outubro/03). Os menores valores detectados foram de 0,15 mg/Kg e 4,0 mg/Kg nos pontos Nascente

(abril/04) e Confluência (julho/03), respectivamente (FIGURA 40; ANEXO B – TABELA 17).

FIGURA 40: Variação espacial e temporal das concentrações de manganês nas amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários.

ZINCO

As maiores concentrações de zinco ocorreram no mês de outubro/03 nos pontos UFSCar e Confluência, localizados no rio Monjolinho, com os valores máximos de 486 mg/Kg e 1328 mg/Kg, respectivamente. Pode-se verificar a ausência de zinco nos pontos Nascente (julho/03, outubro/03 e janeiro/04) e Água Fria (janeiro/04).

Os valores máximos detectados, em julho/03 e janeiro/04 foram de 253 mg/Kg (Tijuco) e 195 mg/Kg (UFSCar), respectivamente.

Os pontos que apresentaram as concentrações mais baixas nos diferentes períodos de amostragem foram a Confluência (1,0 mg/Kg - julho/03), USP (42 mg/Kg – outubro/03), Mineirinho (21 mg/Kg – janeiro/04) e a Nascente (0,125 mg/Kg – abril/04) (FIGURA 41; ANEXO B – TABELA 17).

FIGURA 41: Variação espacial e temporal das concentrações de zinco nas amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários.

5.3.6 – Pesticidas organoclorados

Dentre os pesticidas organoclorados avaliados, a maior concentração de heptacloro observada foi de 10,64 $\mu\text{g/Kg}$, no ponto Confluência, em julho/03. Neste mesmo ponto de coleta, na época chuvosa, foi registrado o menor valor de heptacloro (0,219 $\mu\text{g/Kg}$). Na maioria dos tributários não foi detectado heptacloro, sendo que o tributário Cancã apresentou a concentração de 0,892 $\mu\text{g/Kg}$.

Em relação ao aldrin, este foi registrado na maioria dos pontos amostrados com valores máximo e mínimo de 0,07 $\mu\text{g/Kg}$ (na Confluência em julho/03) e 0,003 $\mu\text{g/Kg}$ (no ponto USP em janeiro/04), respectivamente.

Quanto ao endosulfan o maior valor ocorreu na Usina, em julho/03, com uma concentração de 9,11 $\mu\text{g/Kg}$. No mesmo período amostral, obteve-se a concentração mínima de 0,029 $\mu\text{g/Kg}$ na Ponte Caída. Este pesticida organoclorado não foi detectado nos pontos amostrados na época chuvosa (TABELA 18).

TABELA 18 - Concentrações de pesticidas organoclorados nos sedimentos, em julho/03 e em janeiro/04, nos pontos do rio Monjolinho e em dois tributários localizados na área rural.

Pesticidas →	Aldrin (mg/Kg)		Endosulfan (mg/Kg)		Heptacloro (mg/Kg)	
	Julho/03	Janeiro/04	Julho/03	Janeiro/04	Julho/03	Janeiro/04
Nascente**	ND	ND	ND	ND	ND	ND
UFSCar**	ND	0,059	ND	ND	ND	ND
USP**	<LD	0,003	5,88	ND	ND	ND
Usina**	ND	0,041	9,11	ND	ND	ND
Ponte Caída**	0,034	ND	0,029	ND	ND	ND
Cancã*	0,054	-	0,52	-	0,892	-
Serra*	0,062	-	ND	-	ND	-
Confluência**	0,07	0,044	ND	<LD	10,64	0,219

** Pontos do rio Monjolinho; * tributários do rio Monjolinho; ND – Não detectado; <LD – abaixo do limite de detecção (.-) não coletada.

5.4 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO SEDIMENTO DO SISTEMA MONJOLINHO.

5.4.1 – Biometria inicial dos organismos – teste.

A relação peso-comprimento dos organismos utilizados nos testes de toxicidade com sedimento, nos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04), foi considerada satisfatória, sendo que o lote de organismos de *P. reticulata*, obtidos em 05/02/04, apresentou o maior coeficiente de correlação, correspondente a 0,9624. O lote de indivíduos adultos de *D. rerio* adquiridos em 05/02/03 foi o que apresentou menor coeficiente de correlação, correspondendo a 0,8524, entretanto o valor demonstra uma boa correlação (FIGURA 42; ANEXO C – TABELAS 19 e 20).

FIGURA 42: Correlação peso-comprimento dos organismos utilizados em bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento dos períodos seco (julho/03) e chuvoso (janeiro/04); (CP - comprimento padrão; PT - peso total).

5.4.2 – Testes de sensibilidade utilizando ao dicromato de potássio.

Os lotes utilizados em todos os bioensaios foram submetidos à avaliação da sensibilidade ao dicromato de potássio. Para tanto, as faixas de sensibilidade dos juvenis de ambas as espécies foram padronizadas. Em relação à padronização de *P. reticulata*, foram realizados três testes de caráter preliminar e treze de caráter definitivo. Inicialmente, os testes foram realizados com duração de 96 horas, entretanto, em decorrência da quantidade excessiva de excreção dos peixes, optou-se por fazer testes com duração de 48 horas e sem renovação de solução (TABELAS 21 e 22).

TABELA 21: Valores de CL₅₀ referente aos testes de sensibilidade preliminares utilizando *P. reticulata* como organismo-teste e dicromato de potássio como substância de referência.

Substância de referência	Data do teste		Conc. (mg/L)	Organismos		% mortalidade	CL ₅₀
	Inicial	final		Inicial	final		
Dicromato de potássio	28/08/03	01/09/03	50	20	16	80	-
			100	20	18	90	
			150	20	20	10	
			200	20	20	100	
	22/01/04	26/01/04	25	12	7	58,33	-
			50	12	9	75	
			75	12	10	83,33	
			100	12	10	83,33	
	18/03/04	20/03/04	15	12	5	41,66	92,58
			30	12	4	33,3	
			60	12	6	50	
			90	12	7	58,33	
			120	12	9	75	

TABELA 22: Valores de CL_{50} obtidos nos testes definitivos (48 horas) utilizando *P. reticulata* como organismo-teste e dicromato de potássio como substância de referência.

TESTES DE SENSIBILIDADE					
Número do teste	Data		CL_{50} (mg/L)	Limite de Confiança (95%)	
	inicial	final		Superior	Inferior
1	18/03/03	20/03/03	68.04	44.69	103.58
2	21/03/04	23/03/04	92.58	75.24	113.92
3	02/06/04	04/04/04	86.02	56.22	131.61
4	02/06/04	04/04/04	101.22	73.78	138.88
5	16/06/04	18/06/04	71.49	62.25	82.12
6	30/06/04	02/07/04	35.68	23.5	54.15
7	07/07/04	09/07/04	57.75	47.57	70.1
8	19/07/04	21/07/04	89.81	71.49	112.83
9	19/07/04	21/07/04	59.64	48.88	72.77
10	21/07/04	23/07/04	71.12	53.14	95.18
11	28/07/04	30/07/04	106.16	100.37	112.29
12	28/07/04	30/07/04	105.6	92.81	120.14
13	27/10/04	29/10/04	87.6	74.12	103.52

Segundo o modelo da USEPA (1994), a média dos valores de CL_{50} , 48 horas, foi de 79,43 mg/L de dicromato de potássio. O desvio padrão (DP) foi de 21,020, sendo o limite superior ($X+2DP$) situado em 121,48 mg/L e o limite inferior ($X-2DP$) situado em 37,39 mg/L. Nenhum teste se apresentou fora da faixa estabelecida (FIGURA 43).

CL₅₀: concentração letal a metade da população exposta; M: média; DP: desvio padrão.

FIGURA 43: Faixa de sensibilidade ao dicromato de potássio para juvenis de *P. reticulata*.

Para estabelecer a faixa de sensibilidade de juvenis de *D. rerio*, foram realizados três testes preliminares (com base nas concentrações já existentes para adultos de mesma espécie) e doze testes de caráter definitivo (TABELAS 23 e 24).

TABELA 23: Valores de CL₅₀ referente aos testes de sensibilidade preliminares utilizando *D. rerio* como organismo-teste e dicromato de potássio como substância de referência.

Substância de referência	Data do teste		Conc. (mg/L)	Organismos		% mortalidade	CL ₅₀
	Inicial	final		Inicial	final		
Dicromato de potássio	29/07/03	02/08/03	50	12	9	25	115,32
			75	12	8	33,3	
			100	12	5	58,33	
			125	12	5	58,33	
			150	12	0	100	
	22/01/04	26/01/04	50	12	10	16,6	84,31
			75	12	7	41,6	
			100	12	4	66,6	
			125	12	4	66,6	
			150	12	0	100	
	26/04/04	30/04/04	50	12	12	0	77,49
			100	12	2	83,3	
			150	12	0	100	
			200	12	0	100	

TABELA 24: Valores de CL_{50} obtidos nos testes definitivos (96 horas) utilizando *D. rerio* como organismo-teste e dicromato de potássio como substância de referência.

TESTE DE SENSIBILIDADE					
Número do teste	Data		CL_{50} (mg/L)	Limite de Confiança (95%)	
	inicial	final		Superior	Inferior
1	27/05/04	31/05/04	91.5	108.01	77.52
2	17/06/04	21/06/04	127.01	140.33	114.96
3	24/06/04	28/06/04	147.7	190.51	114.51
4	02/07/04	06/07/04	98.32	122.47	78.92
5	08/07/04	12/07/04	90.73	111.35	73.93
6	16/07/04	20/07/04	104.97	123.11	89.5
7	22/07/04	26/07/04	112.01	129.16	97.14
8	27/08/04	31/08/04	93.06	109.05	79.41
9	16/09/04	20/09/04	100.27	118.36	84.95
10	21/09/04	25/09/04	86.68	101.57	73.97
11	29/11/04	03/12/04	88.9	103.94	76.03
12	28/02/05	04/03/05	74.47	91.44	60.64

De acordo com USEPA (1994), a média dos valores de CL_{50} , 96 horas, foi de 101,3017 mg/L de dicromato de potássio. O desvio padrão (DP) foi de 19,8, sendo o limite superior ($X+2DP$) situado em 140,91 mg/L e o limite inferior ($X-2DP$) situado em 61,68 mg/L. O teste de número 3 esteve fora da faixa estabelecida (FIGURA 44).

CL_{50} : concentração letal a metade da população exposta; M: média; DP: desvio padrão.

FIGURA 44: Faixa de sensibilidade ao dicromato de potássio para juvenis de *D. rerio*.

5.4.3 – Bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento

Empregando-se a espécie *D. rerio* como organismo-teste em amostras de sedimento, no período seco, verificou-se baixa toxicidade ou mesmo, ausência de toxicidade. No entanto, nos bioensaios empregando-se a espécie *P. reticulata* nas mesmas amostras obtidas na seca (julho/03), observou-se ocorrência de alta toxicidade, exceto no ponto do córrego da Serra (média toxicidade).

A porcentagens de mortalidade de *D. rerio* foram: zero (nenhuma toxicidade) nos pontos Nascente, UFSCar, Mineirinho, Ponte Caída, Cancã e Serra; 5% nos pontos Água Quente, Água Fria e Confluência; 10% nos pontos USP e Tijuco e 15% nos pontos Usina e Madalena, (TABELA 25; FIGURA 45). Entretanto, As porcentagens de mortalidade de *P. reticulata* foram: 55% (Água Fria); 65% (Mineirinho); 70% (Tijuco, Ponte Caída e Cancã); 75% (Nascente); 85% (UFSCar e Confluência); 90% (Água Quente e USP); 95% (Usina) e 100% (Madalena) (TABELA 26; FIGURA 45). Estes resultados demonstraram que a espécie *P. reticulata* foi muito mais sensível nos testes com sedimento do que a espécie *D. rerio* (FIGURA 47).

TABELA 25: Resultados dos bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários, referente a coleta de julho/03, utilizando juvenis de *D. rerio* como organismo-teste.

Pontos de coleta	Início: 28/08/03				Término: 04/09/03			Toxicidade
	Espécie: <i>D. rerio</i>				20 organismos por ponto			
	pH		Condutividade (mS/cm)		Dureza (mg/CaCO ₃)		Mortalidade (%)	
	I	F	I	F	I	F		
Controle	7.2	7.34	109	260	42	64	0	ACEITO
Nascente	6.89	7.04	39	178.1	22	26	0	NT
UFSCar	6.82	5.94	89	178.2	20	24	0	NT
Madalena	6.69	6.6	74.6	182.1	28	44	15	BT
USP	7.07	6.88	89	259	44	51	10	BT
Tijuco	7.21	7.47	145	367	32	130	10	BT
Mineirinho	6.99	7.11	96	177.9	54	42	0	NT
Usina	6.71	6.61	62.2	189.8	26	42	15	BT
A Quente	6.99	6.77	90.1	191.9	24	46	5	BT
A. Fria	6.8	6.93	91.2	168.5	34	38	5	BT
P. Caída	6.62	6.54	94.3	196.4	28	26	0	NT
Cancã	6.86	6.68	93.8	148.8	36	38	0	NT
Serra	6.4	6.85	81.7	180.6	38	51	0	NT
Confluência	6.93	6.72	96.1	146.3	26	14	5	BT

NT: nenhuma toxicidade; BT: baixa toxicidade.

TABELA 26: Resultados dos bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários, referente a coleta de julho/03, utilizando juvenis de *P. reticulata* como organismo-teste.

Ponto de coleta	Início: 28/08/03				Término:05/09/03			Toxicidade
	Espécie: <i>Poecilia reticulata</i>				20 organismos por ponto			
	pH		Condutividade (mS/cm)		Dureza (mg/CaCO ₃)		Mortalidade (%)	
I	F	I	F	I	F			
Controle	7.2	7.4	109	123	42	46	5	ACEITO
Nascente	6.89	7.21	39	241	22	34	75	AT
UFSCar	6.82	7.04	89	206	20	20	85	AT
Madalena	6.69	7.03	74.6	242	28	46	100	AT
USP	7.07	7.42	89	350	44	58	90	AT
Tijuco	7.21	7.29	145	376	32	144	70	AT
Mineirinho	6.99	6.9	96	267	54	54	65	AT
Usina	6.71	6.29	62.2	270	26	64	95	AT
A Quente	6.99	6.84	90.1	310	24	32	90	AT
A Fria	6.8	7.31	91.2	314	34	62	55	AT
P Caída	6.62	7.23	94.3	333	28	36	70	AT
Cancã	6.86	6.9	93.8	233	36	48	70	AT
Serra	6.4	6.73	81.7	237	38	62	51	MT
Confluência	6.93	7.24	96.1	260	26	13	85	AT

MT: media toxicidade; AT: alta toxicidade.

FIGURA 45: Porcentagens de mortalidade de *D. rerio* e *P. reticulata* em amostras de sedimento, ao longo do rio Monjolinho e seus tributários em julho/03.

No mês de janeiro/04, foi possível verificar um aumento nas porcentagens de mortalidade de *D. rerio* em todos os pontos de coleta. Enquanto no período seco

(julho/03) foi encontrada baixa toxicidade ao longo de todo o sistema, no mês de janeiro/04 apenas o ponto Confluência apresentou baixa toxicidade (25% de mortalidade). Nos pontos Nascente, UFSCar, Mineirinho, Usina e Água Fria pôde-se registrar alta toxicidade, com porcentagens de mortalidade 85%, 60%, 75%, 85% e 58,33%, respectivamente. A toxicidade média foi observada para os pontos Tijuco, USP, Água Quente e Ponte Caída, com os respectivos valores de mortalidade 33,3%, 40%, 41,66% e 45%. Ressalta-se, que na Nascente foi observado o maior aumento nas porcentagens de mortalidade em relação ao período seco (TABELA 27; FIGURAS 46 e 47).

TABELA 27: Resultados dos bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários, referente a coleta do mês de janeiro/04, utilizando juvenis de *D. rerio* como organismo-teste.

Ponto de coleta	Início: 05/02/04				Término: 12/02/04			
	Espécie: <i>Danio rerio</i>		20 organismos nos pontos do rio e 12 nos tributários					
	pH		Condutividade (mS/cm)		Dureza (mg/CaCO ₃)		Mortalidade (%)	Toxicidade
I	F	I	F	I	F			
Controle	7.6	7.97	89.4	212	40	55	25	ACEITO
Nascente	7.74	7.74	81.1	162	33	33	85	AT
UFSCar	7.46	7.33	82.4	168	32	26	60	AT
Tijuco	7.91	8.18	147.6	294	34	93	33.3	MT
USP	7.77	7.71	88	191	38	48	40	MT
Mineirinho	7.8	7.61	84.1	156	37	39	75	AT
Usina	7.74	7.59	92.3	193	42	48	85	AT
A Quente	7.64	7.87	96.6	187	39	40	41.66	MT
A Fria	7.69	7.57	80.5	157	36	34	58.33	AT
P Caída	7.66	7.74	91.2	198	39	42	45	MT
Confluência	7.65	7.78	97.3	227	35	36	25	BT

BT: baixa toxicidade; MT: média toxicidade; AT: alta toxicidade.

Os resultados dos bioensaios com sedimento utilizando *P. reticulata* no mês de janeiro/04, também foram caracterizados por um aumento nas taxas de mortalidade com relação ao período seco, com exceção do ponto Usina que apresentou diminuição de 7%. Todos os pontos amostrados apresentaram alta toxicidade, sendo a maior porcentagem foi de 100% nos pontos Tijuco, USP e Água Fria. A menor foi verificada

no ponto Mineirinho (66,6%), o qual apresentou 1% de aumento na mortalidade em relação ao período seco. Os demais pontos (Nascente, UFSCar, Água Quente, Ponte Caída e Confluência) foram caracterizados com 91,66% de mortalidade. No mês de janeiro/04 não foi possível coletar amostras de sedimento dos pontos Madalena, Cancã e Serra em virtude da grande quantidade de cascalhos presentes nos locais.

Na maioria dos pontos coletados, a espécie *P. reticulata* apresentou maior sensibilidade às amostras de sedimento em relação à espécie *D. rerio*. A exceção foi verificada nos pontos Mineirinho e Usina, onde *D. rerio* demonstrou sensibilidade ligeiramente maior, sendo a diferença de mortalidade registrada entre as duas espécies de 9% e 2%, respectivamente (TABELA 28; FIGURAS 46 e 47).

TABELA 28: Resultados dos bioensaios de toxicidade crônica parcial com amostras de sedimento do rio Monjolinho e seus tributários, referente a coleta do mês de janeiro/04, utilizando juvenis de *P. reticulata* como organismo-teste.

Início: 05/02/04					Término: 12/02/04			
Espécie: <i>Poecilia reticulata</i>					12 organismos por ponto			
Ponto de coleta	pH		Condutividade (mS/cm)		Dureza (mg/CaCO ₃)		Mortalidade (%)	Toxicidade
	I	F	I	F	I	F		
Controle	7.43	7.98	182.6	259	40	70	20	ACEITO
Nascente	7.34	7.8	175.9	191	34	46	91.66	AT
UFSCar	7	7.65	183.4	257	34	44	91.66	AT
USP	7.29	7.89	181	228	40	60	100	AT
Tijuco	7.76	8.14	195	373	40	136	100	AT
Mineirinho	7.39	7.84	177.7	255	40	60	66.66	AT
Usina	7.47	7.77	181.7	266	42	76	83.33	AT
A. Quente	7.55	7.95	186.6	253	38	66	91.66	AT
A. Fria	7.31	7.63	175.3	218	38	44	100	AT
P. Caída	7.37	7.76	183.7	253	38	68	91.66	AT
Confluência	6.98	7.8	202	321	40	56	91.66	AT

AT: alta toxicidade.

FIGURA 46: Porcentagens de mortalidade de *D. rerio* e *P. reticulata* em amostras de sedimento, ao longo do rio Monjolinho e seus tributários em janeiro/04.

FIGURA 47: Porcentagens de mortalidade de *D. rerio* e *P. reticulata* em amostras de sedimento, ao longo do rio Monjolinho e seus tributários em julho/03 e janeiro/04.

Os resultados da análise estatística de Fisher demonstraram que as porcentagens de mortalidade de *D. rerio* acima de 58%, em amostras de sedimento, apresentaram diferença significativa em relação ao lote. Em relação à *P. reticulata*, a diferença significativa foi, em relação ao controle, nas porcentagens de mortalidade acima de 51%. De acordo com a TABELA 29, as diferenças significativas em relação ao controle que poderiam ser preocupantes corresponderam a um grau de alta

toxicidade (acima de 51% de mortalidade) proposto por Prater e Anderson (1977) e Meletti (1997).

TABELA 29: Comparação da toxicidade proposta por Prater e Anderson (1977); Meletti (1997) e da análise estatística de Fisher, referentes às amostras de sedimento.

Período de amostragem ®	JULHO/03				JANEIRO/04			
Espécie ®	<i>D. rerio</i>		<i>P. reticulata</i>		<i>D. rerio</i>		<i>P. reticulata</i>	
Comparação da toxicidade ® Pontos de coleta -	Prater e Anderson (77); Meletti (97).	Fisher	Prater e Anderson (77); Meletti (97).	Fisher	Prater e Anderson (77); Meletti (97).	Fisher	Prater e Anderson (77); Meletti (97).	Fisher
Controle	0		5		20		20	
Nascente	0 (NT)		75 (AT)		85 (AT)		91.66 (AT)	
UFSCar	0 (NT)		85 (AT)		60 (AT)		91.66 (AT)	
Madalena	15 (BT)		100 (AT)		-		-	
USP	10 (BT)		90 (AT)		40 (MT)		100 (AT)	
Tijuco	10 (BT)		70 (AT)		33.3 (MT)		100 (AT)	
Mineirinho	0 (NT)		65 (AT)		75 (AT)		66.66 (AT)	
Usina	15 (BT)		95 (AT)		85 (AT)		83.33 (AT)	
A. Quente	5 (BT)		90 (AT)		41.66 (MT)		91.66 (AT)	
A. Fria	5 (BT)		55 (AT)		58.33 (AT)		100 (AT)	
P. Caída	0 (NT)		70 (AT)		45 (MT)		91.66 (AT)	
Cancã	0 (NT)		85 (AT)		-		-	
Serra	0 (NT)		70 (AT)		-		-	
Confluência	5 (BT)		51 (AT)		25 (BT)		91.66 (AT)	

■ Significativo em relação ao controle.

AT: alta toxicidade; MT: média toxicidade; BT: baixa toxicidade; NT: não tóxico; - não coletados.

5.4.4 – Biometria final do organismos-teste.

Foram comparadas as variações de peso e comprimento dos indivíduos pelo teste de Mann-Withney. A análise foi realizada aos indivíduos dos bioensaios de toxicidade crônica-parcial em relação ao lote controle.

Nas amostras de sedimento foi encontrada diferença significativa entre os parâmetros peso e comprimento somente para *P. reticulata* expostos em julho/03, nos pontos UFSCar, Tijuco, Cancã, Serra, Ponte Caída e Confluência, em relação ao controle. O sedimento do ponto Tijuco apresentou diferença significativa apenas no parâmetro comprimento. Não foi possível aplicar a análise estatística nos pontos que

obtiveram porcentagens de mortalidade superiores a 90%, visto que sobrou uma quantidade pequena de organismos (TABELA 30 – ANEXO C – TABELAS 19 e 20).

TABELA 30: Análise estatística (Mann-Whitney) dos parâmetros peso e comprimento dos indivíduos expostos em amostras de sedimento do rio Monjolinho, em relação ao controle.

COMPRIMENTO PADRÃO (cm)												
Período ®	Julho/03						Janeiro/04					
Espécie®	D. rerio			P. reticulata			D. rerio			P. reticulata		
Pontos de coleta -	S	NS	p	S	NS	p	S	NS	p	S	NS	p
Nascente		x	0.9705		x	0.9530	x		0.6354			-
UFSCar		x	0.2799	x		0.0490	x		0.4747			-
Madalena		x	0.3527		x	-	x		*			*
USP		x	0.6305			0.2727	x		0.1457			-
Tijuco		x	0.6842	x		0.0420	x		0.2743			-
Mineirinho		x	0.4813		x	0.1613	x		0.1419		x	>0.9999
Usina		x	0.9118			-	x		0.7333			-
A. Quente		x	0.6305		x	0.1212	x		0.8968			-
A. Fria		x	0.4359		x	0.2428	x		0.4396			-
P. Caída		x	0.7394	x		0.0010	x		0.7394			-
Cancã		x	0.7959	x		0.0047			*			*
Serra		x	0.9118	x		0.0185			*			*
Confluência		x	0.8534	x		0.0049	x		0.2475			-
PESO TOTAL (g)												
Nascente		x	0.7959		x	0.2544	x		0.1419			-
UFSCar		x	0.3930	x		0.0280	x		0.7396			-
Madalena		x	0.6842			-			*			*
USP		x	0.4813		x	0.1212	x		0.7618			-
Tijuco		x	0.2475		x	0.0559	x		0.6334			-
Mineirinho		x	0.1431		x	0.0702	x		0.6354		x	0.6042
Usina		x	>0.9999			-	x		0.6354			-
A. Quente		x	0.7959		x	0.0606	x		0.3599			-
A. Fria		x	0.3150		x	0.0789	x		0.6354			-
P. Caída		x	0.9705	x		0.0010	x		0.7394			-
Cancã		x	0.7959	x		0.0030			*			*
Serra		x	0.5787	x		0.0089			*			*
Confluência		x	0.8534	x		0.0490	x		0.9705			-

S: significativo; NS: não significativo; - alta mortalidade; * não coletado.

5.5 – ANÁLISES HISTOLÓGICAS DOS ORGANISMOS-TESTE.

As análises histológicas dos indivíduos expostos em amostras de sedimento demonstraram algumas alterações teciduais em relação aos organismos expostos em situação controle, confirmando a degradação ambiental já caracterizada pelas análises físicas e químicas deste compartimento.

Nos cortes dos indivíduos controle, verificou-se condições normais nas estruturas branquiais, com lamelas secundárias bem desenvolvidas e espaços entre elas bem definidos, bem como epitélio estratificado do filamento. Em relação à área não respiratória, foram verificados o desenvolvimento das cartilagens e a presença do seio venoso central (FIGURA 48).

FIGURA 48: Corte longitudinal ao filamento branquial de indivíduos controle de *D. rerio*. Observar as lamelas secundárias bem desenvolvidas (**LS**), os espaços interlamelares bem definidos (**X**) e o epitélio estratificado do filamento (**seta**). Detalhes: **E**; eritrócito; **CP**: célula pilar; **F**: filamento branquial (**X**) (aumentos: 40x e 63x) (HE, 6,0µm).

Em decorrência da alta mortalidade de *P. reticulata* nos bioensaios com sedimento, em ambos os períodos de amostragem (julho/03 e janeiro/04), foi realizada análise histológica das brânquias apenas dos organismos-teste da espécie *D. rerio*.

De uma forma geral, as alterações encontradas nos organismos expostos aos sedimentos de todos os pontos amostrados (em julho/03 e janeiro/04), foram proliferações de células epiteliais entre lamelas secundárias, tendo como consequência redução da área respiratória; fusão parcial no topo e ao longo das lamelas secundárias; proliferação de células nas lamelas secundárias e dilatação de capilares sanguíneos, provocando espessamento destas estruturas e difícil distinção das células pilares.

Na maioria dos indivíduos, as alterações foram mais severas em janeiro/04, sendo a exceção observada no ponto Confluência, onde os indivíduos apresentaram alterações com intensidade semelhante nos dois períodos de coleta (FIGURAS 49 e 50).

FIGURA 49: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em amostras de sedimento da Confluência do rio Monjolinho em janeiro/04. **A** Observar proliferação de células entre lamelas secundárias (**setas**) e nas lamelas secundárias com dilatação de capilares sanguíneos (**x**); Detalhe: **SVC** -seio venoso central (aumento: 40x); (HE, 6,0 μm).

FIGURA 50: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em amostras de sedimento da Confluência do rio Monjolinho em julho/03. **B.** dilatação de capilares sanguíneos (x) e desarranjo de células pilares. **C.** Proliferação de células epiteliais entre lamelas secundárias com fusão total de algumas lamelas (seta). Detalhe no suporte cartilaginoso (C). (aumentos: 40x e 63x), respectivamente (HE, 6,0 µm).

As brânquias dos organismos expostos ao sedimento do ponto UFSCar apresentaram proliferação excessiva de célula entre lamelas, com fusão lamelar completa de todas as lamelas secundárias (alteração de segundo estágio) e descaracterização do filamento branquial, bem como dilatação em regiões do seio

venoso central. Em julho/03, foram observadas proliferações de células menos intensas entre lamelas secundárias e dilatação de capilares nas mesmas (FIGURA 51).

FIGURA 51: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos expostos em amostras de sedimento do ponto UFSCar no rio Monjolinho. **A** – *D. rerio*, em julho/03. Observar a pequena proliferação de células entre lamelas secundárias (**setas**); proliferação de células nas lamelas secundárias e dilatação e congestão sanguínea, (**x**). **B** - *D. rerio*, em janeiro/04. Proliferação de células epiteliais nas lamelas secundárias e dilatação de capilares sanguíneos (**x**); proliferação de células na área respiratória com fusão completa de todas as lamelas secundárias e descaracterização da brânquia (**seta**); dilatação em regiões do seio venoso central (**D**). Detalhe no suporte cartilaginoso (**C**). (aumento: 63x). (HE, 6,0 µm).

Em relação aos tributários Madalena, Tijuco e Água Quente, as proliferações celulares encontradas nos indivíduos foram menos pronunciadas, uma vez que os espaços interlamelares são mais nítidos. No entanto, no córrego Madalena, as brânquias apresentaram congestão sanguínea com tendência à formação de aneurismas (FIGURAS 52 e 53). Também foram caracterizadas dilatações de capilares no ápice das lamelas secundárias.

O mesmo foi observado nos indivíduos expostos aos sedimentos (julho/03) da Nascente, Ponte Caída e USP, entretanto, em janeiro/04 as alterações teciduais nas brânquias destes organismos foram mais acentuadas (FIGURAS 54, 55 e 56).

FIGURA 52: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em amostras de sedimento do córrego Madalena (julho/03). Observar proliferação de células nas lamelas secundárias e dilatação de capilares sanguíneos (x) com tendência à congestão sanguínea. Detalhe: C – Cartilagem. (aumento: 63x). (HE, 6,0 μm).

FIGURA 53: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em amostras de sedimento de tributários do rio Monjolinho. **A.** Córrego Tijuco Preto (julho/03). Notar proliferação de células epiteliais nas lamelas secundárias e dilatação de capilares sanguíneos (x); proliferação de células entre as lamelas secundárias (**seta**) e fusão total de algumas lamelas. **B.** Água Quente, julho/03 - pequena proliferação de células entre as lamelas secundárias (**seta**). Detalhe: seio venoso central (**SVC**). (aumento: 63x). (HE, 6,0 µm).

FIGURA 54: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em amostras de sedimento da Nascente no rio Monjolinho. **A** – Julho/03. Observar proliferação menos intensa de células entre lamelas secundárias (**seta**) e dilatação no ápice das lamelas secundárias (**x**). **B** – Janeiro/04. Notar intensa proliferação de células epiteliais na região respiratória e fusão total de lamelas secundárias (**setas**); dilatação de capilares nas lamelas secundárias (**x**). Detalhes: cartilagem (**C**); seio venoso central (**SVC**). Aumentos: 40x e 63x, respectivamente. (HE, 6,0 µm).

FIGURA 55: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em amostras de sedimento de Ponte Caída no rio Monjolinho. **A** – Julho/03. Observar dilatação de capilares nas lamelas secundárias e proliferação de células epiteliais (x). **B** – Janeiro/04. Notar intensa proliferação de células epiteliais na região respiratória e fusão total de várias de lamelas secundárias (**setas**); dilatação de vasos sanguíneos em lamelas secundárias (x). Detalhe: cartilagem (**C**); (aumento: 63x). (HE, 6,0 μm).

FIGURA 56: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em amostras de sedimento de USP no rio Monjolinho. **A** – Julho/03. Notar proliferação de células e fusão total em algumas lamelas da região da área respiratória (**setas**); dilatação de capilares sanguíneos (**x**). **B** – Janeiro/04. Observar acentuada proliferação de células epiteliais em quase toda extensão da área respiratória e conseqüente diminuição dos espaços interlamelares (**setas**), proliferação de células nas lamelas secundárias com dilatação de capilares sanguíneos (**x**) e deslocamento do epitélio lamelar (**➔**). Detalhe: cartilagem (**C**); (aumento: 40 x). (HE, 6,0 µm).

A análise histológica dos organismos expostos ao sedimento dos córregos Água Fria e Cancã demonstraram resultados mais pronunciados que os demais tributários, dentre os quais, verificou-se a existência de proliferações de células epiteliais na região respiratória mais acentuadas (FIGURA 57).

FIGURA 57: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em amostras de sedimento tributários do rio Monjolinho no período seco. **A** – Água Fria. Notar proliferação de células e de muco (**seta maior**) em algumas regiões da área respiratória (**setas**). **B** – Cancã. Observar proliferação acentuada de células entre lamelas secundárias (**setas**), proliferação de células nas lamelas secundárias com dilatação de capilares sanguíneos (x); (aumentos: 40 x e 63x). (HE, 6,0 µm).

No ponto Usina, nos organismos submetidos ao teste com sedimentos (julho/03) verificaram-se proliferações acentuadas de células epiteliais nas lamelas secundárias e dilatação dos capilares sanguíneos, bem como tendência à formação de aneurismas. Entretanto, a proliferação de células epiteliais nos espaços interlamelares foi menos pronunciada. Em janeiro/04, pôde-se observar proliferação de células entre lamelas secundárias seguida da fusão dos ápices. Além disso, observou-se dilatação de regiões no seio venoso central e dos capilares das lamelas secundárias (FIGURA 58).

FIGURA 58: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em amostras de sedimento do ponto Usina no rio Monjolinho. **A** – Julho/03. Dilatação e congestão de capilares e tendência à formação de aneurismas (x). **B** – Janeiro/04. Fusão no ápice de lamelas secundárias, decorrentes de proliferações de células epiteliais (setas), dilatação de capilares sanguíneos (x); dilatação em regiões do seio venoso central (D); (aumento: 40x e 63x). (HE, 6,0 µm).

5.6 – ANÁLISE NUMÉRICA

O sistema Monjolinho sofre influência negativa da baixa concentração de oxigênio, e dos elevados teores de íon amônio e clorofila a em escala temporal na coluna d'água. Entretanto, o compartimento sedimento foi influenciado pelas concentrações de fósforo total e cromo. Fato verificado na seca, chuva e período intermediário (abril/04). O mês de outubro/03 foi influenciado pelos metais zinco, manganês, ferro e cobre (FIGURAS 59 e 60).

FIGURA 59: Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de água do sistema Monjolinho nos quatro períodos amostrados.

FIGURA 60: Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de sedimento do sistema Monjolinho nos quatro períodos amostrados.

Através da mesma análise estatística, pode-se verificar a influência das variáveis em relação ao espaço, ou seja, nos diferentes pontos de coleta em todo o período de estudo. Nas amostras de água foi possível observar dois grupos distintos, sendo que um deles recebeu maior influência de oxigênio dissolvido, cromo e cádmio, e o outro

das concentrações de nitrito, nitrato, fósforo total dissolvido, cloreto, sulfato e sulfeto. No primeiro grupo estão os pontos: Nascente, Madalena, Mineirinho, Água Quente e Serra, e no segundo grupo estão os demais pontos (UFSCar, Tijuco, USP, Gregório, Usina, Água Fria, Ponte Caída, Cancã e Confluência) (FIGURA 61).

FIGURA 61: Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de água dos diferentes pontos do sistema Monjolinho, nos quatro períodos amostrados.

Em relação ao sedimento, os pontos: Nascente e Água quente permaneceram no grupo que sofre maior influência do metal cromo, e os demais pontos amostrados (UFSCar, Tijuco, USP, Mineirinho, Usina, Água Fria, Ponte Caída e Confluência), foram agrupados em decorrência da maior influência de nitrogênio orgânico total e fósforo total (FIGURA 62).

FIGURA 62: Análise de discriminantes baseada na co-variância das variáveis das amostras de sedimento dos diferentes pontos do sistema Monjolinho, nos quatro períodos amostrados.

5.7 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO METAL COBRE

5.7.1 - Padronização da faixa de sensibilidade

Para estabelecer a faixa de sensibilidade de juvenis de *D. rerio* ao íon cobre foram realizados seis testes de caráter preliminar e cinco testes de caráter definitivo (TABELAS 31 e 32).

TABELA 31: Valores de CL₅₀ referentes aos testes de sensibilidade preliminares utilizando *D. rerio* como organismo-teste e o íon cobre como substância de referência.

Substância de referência	Data do teste		Concentrações (mg/L)	Organismos		M (%)	CL ₅₀
	Inicial	final		Inicial	final		
Cobre (mg/L)	18/06/04	22/06/04	20	12	0	0	-
			40	12	11	8,33	
			80	12	0	0	
	24/06/04	28/06/04	20	12	0	0	63,67 (45,17-63,67)
			100	12	9	75	
			300	12	12	100	
			500	12	12	100	
	08/07/04	12/07/04	20	10	3	30	28,44 (21,02 – 38,49)
			30	10	5	50	
			40	10	8	80	
			60	10	10	100	
			80	10	10	100	
	15/07/04	19/07/04	100	10	9	90	25,54 (21,24 – 30,71)
			20	12	3	25	
			30	12	8	66,6	
			40	12	11	91,6	
	22/07/04	26/07/04	60	12	11	91,6	23,61 (21,49 – 25,93)
			20	20	6	30	
			30	20	18	90	
			40	20	16	80	
	20/08/04	24/09/04	50	20	18	90	62,07 (31,18 – 123,6)
			40	20	8	44	
			120	20	13	65	
	27/08/04	31/08/04	360	20	20	100	81,14 (61,69 – 106,7)
			20	20	0	0	
			60	20	8	40	
			120	20	13	65	
			360	20	20	100	

TABELA 32: Valores de CL₅₀ referentes aos testes de sensibilidade definitivos utilizando *D. rerio* como organismo-teste e o íon como substância de referência.

Testes de sensibilidade com CuSO ₄					
Número do teste	Data		CL ₅₀ (96) mg/L	Limite de confiança 95%	
	Inicial	Final		Inferior	Superior
1	27/08/04	31/08/04	81.14	61.69	106.70
2	03/09/04	07/09/04	116.41	85.19	159.07
3	16/09/04	20/09/04	80.81	57.73	113.11
4	06/12/04	10/12/04	46.70	35.55	61.33
5	20/12/04	24/12/04	44.09	31.11	62.50

Aplicando-se o modelo proposto pela USEPA (1994), temos a média ($\bar{X}$) dos valores de CL50 96 horas, que foi de 73,83 $\mu\text{g/L}$ de cobre. O desvio padrão (DP) destes valores foi de 29,73 $\mu\text{g/L}$, e desta forma, o limite superior ($\bar{X}+2\text{DP}$) esteve situado em 133,29 $\mu\text{g/L}$ e o limite inferior ($\bar{X}-2\text{DP}$) em 14,37 $\mu\text{g/L}$. A faixa de sensibilidade é de 14,37 a 133,29 $\mu\text{g/L}$ e o coeficiente de variação foi de 40,26% (FIGURA 63).

M = média; **DP** = desvio padrão; **CL50 (96h)** = concentração letal a metade da população em 96 horas de exposição

FIGURA 63: Faixa de sensibilidade ao íon cobre para juvenis de *Danio rerio*.

Não foi possível estabelecer a faixa de sensibilidade para a espécie *P. reticulata*, pois os organismos estavam muito sensíveis e não responderam de forma satisfatória aos testes (ANEXO D – TABELA 33 a;b;c;d;e;f;g;h).

5.7.2 - Biometria inicial dos organismos-teste

A correlação peso-comprimento dos lotes utilizados nos bioensaios de toxicidade crônica parcial apresentou-se satisfatória, sendo que a melhor correlação foi obtida nos lotes 25/10/04 e 23/12/04, com o coeficiente de correlação de 0,9431. O menor coeficiente de correlação foi registrado no lote do dia 22/02/05, com o coeficiente de correlação de 0,8227 (FIGURA 64; ANEXO D – TABELA 34 a;b;c).

FIGURA 64: Correlação peso-comprimento dos organismos de *D. rerio* utilizados em bioensaios de toxicidade crônica parcial com cobre.

5.7.3 - Bioensaios de toxicidade crônicos parciais

De acordo com as normas do IBAMA (1990), a seleção das soluções-teste empregadas em bioensaios crônicos parciais é baseada na menor concentração que causa letalidade aos organismos em testes de toxicidade aguda.

A partir desta concentração, as demais são estabelecidas levando-se em conta o fator de diluição, sendo que o mesmo pode ser maior ou igual a 0,5. Desta forma, tendo-se em conta os resultados obtidos nos bioensaios de toxicidade aguda, as concentrações de cobre utilizadas em testes crônicos parciais foram 0,16; 0,8; 4,0; e 20,0 µg/L, cujo fator de diluição foi 5 (cinco).

Para melhor compreender os efeitos na sobrevivência e no desenvolvimento dos organismos-teste, foram realizados quatro testes de toxicidade crônica parcial com cobre, sendo que o maior valor de mortalidade foi de 26,6% detectado na concentração de 20 µg/L referente ao teste de número 4 (TABELA 35; ANEXO D – TABELA 35).

Os resultados foram analisados pelo teste de Fisher, o que possibilitou a determinação das porcentagens de mortalidade que foram significativas em relação ao controle. No primeiro e quarto testes, a diferença significativa em relação ao controle ocorreu na concentração de 20 µg/L. Já no segundo teste não verificou-se diferença significativa. No terceiro bioensaio, ocorreu diferença significativa entre a concentração de 4µg/L e o controle (TABELA 36; ANEXO D – TABELA 35).

TABELA 36 – Porcentagens de mortalidade de D. rerio expostos em bioensaios crônicos parciais com cobre, cujos resultados da análise de Fisher foram significativos em relação ao controle.

nº do teste	Concentração de cobre (ug/L)	pH (I - F)	Condutividade (I - F)	Dureza (I - F)	%M	p
1	20.0	7,70-7,46	108,0-157,2	36-58	25	0,0471
3	4.0	7,55-7,36	168,9-176,2	46-44	20	0,0210
4	20.0	7.54-7.34	140.5-205	38-44	26.66	0.0257

M=mortalidade;

Tomando-se em conta os resultados de mortalidade que foram significativos em relação ao controle, calculou-se a CEO (menor concentração de efeito observado); a CENO (maior concentração de efeito não observado), bem como os valores crônicos (média geométrica entre os valores da CEO e CENO) de cada bioensaio com cobre.

De acordo com a TABELA 37, é possível verificar que dentre os quatro bioensaios realizados, os valores de CENO (4,0 µg/L); CEO (20,0 µg/L), bem como o valor crônico (8,9) foram idênticos (testes de número 1 e 4). Em relação ao experimento de número 2, não foi possível calcular tais valores, visto que não ocorreu mortalidade em nenhuma das concentrações. Finalmente, o teste número 3, apresentou mortalidade significativa entre a concentração de 4,0 µg/L e o controle, mas isto não foi observado na concentração de 20,0 µg/L, o que impossibilitou o cálculo da CENO, CEO e VC. Entretanto, utilizando-se estes resultados realizou-se o cálculo da média dos VC para o parâmetro sobrevivência, cujo valor esteve em 8,9 µg/L.

TABELA 37 – Resultados calculados da CEO, CENO e Valores crônicos para o parâmetro sobrevivência dos bioensaios crônicos parciais com cobre.

Substância	Teste nº	CEO	CENO	Valor Crônico	Média dos Valores Crônicos
Cobre (µg/L)	1	20,0	4,0	8,9	8,9
	2	NC	NC	NC	
	3	NC	NC	NC	
	4	20,0	4,0	8,9	

NC: não calculável

5.7.4 – Biometria final dos organismos-teste em relação ao controle

Utilizando-se a análise estatística de Mann-Withney, pôde-se comparar os parâmetros comprimento padrão e peso total dos peixes nos tratamentos com cobre e no controle. Em relação ao comprimento padrão, foi possível detectar diferença significativa na concentração de 20,0 µg/L no bioensaio de número 4. Quanto ao peso, as diferenças foram encontradas no primeiro teste (0,8µg/L) e no teste número quatro (nas concentrações 4,0 e 20,0 µg/L). Não foi possível realizar a biometria final dos organismos expostos no segundo teste, pois ocorreu um problema com o lote controle (TABELA 38; ANEXO D – TABELA 33 a;b;c;d;e;f;g;h).

TABELA 38: Comparação dos parâmetros peso e comprimento dos indivíduos de *D. rerio* expostos em concentrações de cobre em relação ao lote controle, através da análise estatística de Mann-Withney.

TESTE 1	Comprimento padrão (cm)				Peso total (g)			
Concentrações (ug/L)	p	Mann-Withney	S	NS	p	Mann-Withney	S	NS
0,16	0.0999	89.000		x	0.0928	88.000		x
0,8	0.0999	127.000		x	0.0072	71.000	x	
4,0	0.9136	131.50		x	0.0517	100.00		x
20,0	0.0929	71.500		x	0.5388	117.50		x
TESTE 3	Comprimento padrão (cm)				Peso total (g)			
Concentrações (ug/L)	p	Mann-Withney	S	NS	p	Mann-Withney	S	NS
0,16	0.4646	345.000		x	0.1860	309.000		x
0,8	0.2985	313.000		x	0.1903	297.000		x
4,0	0.1847	182.000		x	0.2173	186.000		x
20,0	0.3611	240.000		x	0.2723	231.000		x
TESTE 4	Comprimento padrão (cm)				Peso total (g)			
Concentrações (ug/L)	p	Mann-Withney	S	NS	p	Mann-Withney	S	NS
0,16	0.7915	403.00		x	0.6860	394.00		x
0,8	0.6746	393.00		x	0.3121	355.00		x
4,0	0.4677	360.00		x	0.0331	272.00	x	
20,0	0.0419	211.50	x		0.0391	210.00	x	

S: significativo em relação ao controle; NS: não significativo em relação ao controle

Os valores da CENO, CEO e VC para o parâmetro crescimento foram calculados para cada bioensaio, exceto o teste de número 2, cuja biometria final não foi realizada. Foram encontrados os valores de 4,0 µg/L (CEO); 0,8 µg/L (CENO) e 1,78 (VC) no bioensaio de número 4, sendo que para demais testes isto não foi possível (TABELA 39). Desta forma, verificou-se que o parâmetro crescimento (VC=1,78) foi cerca de 5 vezes mais sensível que a sobrevivência (VC=8,9) para avaliar dos efeitos crônicos do cobre em organismos juvenis da espécie *D. rerio*.

TABELA 39 - Resultados calculados da CEO, CENO e Valores crônicos para o parâmetro crescimento dos bioensaios crônicos parciais com cobre.

Substância	Teste nº	CEO	CENO	Valor Crônico	Média dos Valores Crônicos
Cobre (µg/L)	1	0,8	NC	NC	1,78
	2	NE			
	3	NC	NC	NC	
	4	4.0	0.8	1.78	

5.7.5 – Análise histológica das brânquias

Os organismos de *D. rerio* expostos em situação controle, apresentaram brânquias com morfologia normal, ou seja, com espaços interlamelares bem definidos, lamelas secundárias bem desenvolvidas e eritrócitos bastante visíveis, bem como desenvolvimento normal da região respiratória e do suporte cartilaginoso (FIGURA 65).

Figura 65: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos no controle, mostrando a disposição das lamelas secundárias (LS) ao longo do filamento branquial (F). Observar o epitélio estratificado do filamento braquial com espaços interlamelares bem definidos (X), suporte cartilaginoso (C) e eritrócitos (E). (aumento: 100X) (HE, 6,0 µm).

Os tecidos brânquias de *D. rerio* após sete dias de exposição ao íon cobre (0,16, 0,8, 4,0 e 20,0 µg/L) apresentaram várias alterações histopatológicas, dentre as quais destacam-se proliferação de células epiteliais em região respiratória e não-respiratória; dilatação de capilares nas lamelas secundárias e no seio venoso central; espessamento de lamelas secundárias; além de fusão completa de algumas lamelas secundárias (FIGURAS 66; 67; 68 e 69). Ressalta-se, que no tratamento com 0,8 µg/l foram observadas alterações como fusão de paredes dos vasos sanguíneos seguida de desarranjo; ruptura de lamelas secundárias e hemorragia (segundo estágio) (FIGURA 67). Nas últimas concentrações (4,0 e 20,0 µg/L),

observou-se proliferações mais intensas e lesões de segundo estágio, como aneurismas (FIGURAS 68 e 69).

FIGURA 66: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em 0,16 µg/L de cobre. **A.** Observar proliferação de células epiteliais e fusão entre lamelas secundárias, bem como diminuição dos espaços interlamelares (**setas**). Aumento 63x. **B.** Proliferação de células entre lamelas (**setas**) e no ápice das lamelas secundárias; dilatação de capilares sanguíneos (**X**); dilatação do seio venoso central (**D**); aumento: 40x. (HE, 6,0 µm).

FIGURA 67: Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em 0,8 µg/L de cobre. **A.** Notar a proliferação de células mais intensas entre lamelas secundárias seguida de fusão total de várias lamelas (**setas pretas**), espessamento de lamelas secundárias, ficando difícil distinguir células pilares (**X**); fusão de paredes dos vasos sanguíneos e rompimento de lamelas. **B.** Fusão completa de algumas lamelas secundárias (**cabeça de seta**) e hemorragia (**seta amarela**); dilatação de capilares e espessamento de lamelas secundárias (**X**). Detalhe: cartilagem (**C**). Aumento: 40x. (HE, 6,0 µm).

FIGURA 68: Corte longitudinal ao filamento branquial de *D. rerio* expostos em 4,0 µg/L de cobre. **A.** Observar aneurisma (*); dilatação de capilares sanguíneos nas lamelas secundárias (X). Aumento: 40X. **B.** intensa proliferação de células entre lamelas secundárias seguida de fusão total de várias lamelas e redução da área respiratória (setas); proliferação de células no ápice das lamelas secundárias, com dilatação de capilares (X); dilatação em regiões do seio venoso central (D). Detalhe: carilagem (C). Aumento: 40X. (HE, 6,0 µm).

FIGURA 69: Corte longitudinal ao filamento branquial de *D. rerio* expostos em 20,0 µg/L de cobre. **A.** Dilatação de capilares sanguíneos nas lamelas secundárias e desarranjo (X); dilatação no seio venoso central (D). Aumento: 40X. **B.** intensa proliferação de células entre lamelas secundárias seguida de fusão total de várias lamelas (**setas**); proliferação de células no ápice das lamelas secundárias, com dilatação de capilares (X); aneurisma (*). Detalhe: cartilagem (C). Aumento: 40X. (HE, 6,0 µm).

5.8 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS PESTICIDAS ORGANOCLORADOS: ALDRIN E HEPTACLORO.

5.8.1 - Padronização da faixa de sensibilidade

Não foi possível realizar a padronização da faixa de sensibilidade para *D. rerio* com ambos os pesticidas organoclorados. Os resultados dos bioensaios agudos não apresentaram 50% de mortalidade em 96 horas, mesmo em concentrações 10000 vezes mais elevadas que os limites estabelecidos pela resolução CONAMA 357/05 (ANEXO D – TABELAS 40 a;b;c;d e 41 a;b;c;d;e). Em decorrência disto, tomou-se a decisão por realizar experimentos do tipo crônico parcial. Adotou-se as mesmas concentrações utilizadas nos testes agudos.

Em relação à espécie *P. reticulata*, não foi possível empregá-la em bioensaios crônicos parciais, visto que as porcentagens de mortalidade apresentaram um padrão variável, sendo, portanto, considerados insatisfatórios (ANEXO D – TABELAS 42 a;b;c;d;e e 43 a;b;c;d;e).

5.8.2 - Biometria inicial dos organismos-teste

A correlação peso-comprimento dos lotes de organismos da espécie *D. rerio* utilizados nos bioensaios crônicos-parciais com os pesticidas organoclorados, apresentaram-se satisfatórias, sendo que o melhor coeficiente de correlação foi de 0,9679, obtido no lote do dia 14/02/05. O menor coeficiente de correlação foi obtido no lote do dia 22/02/05, com o valor de 0,8227, entretanto, este valor demonstra uma boa correlação (FIGURA 70 – ANEXO D – TABELAS 44 a;b;c;d e 45 a;b;c;d). A biometria inicial do lote 29/11/04 não foi realizada em função da pequena disponibilidade de organismos.

FIGURA 70: Correlação peso-comprimento dos organismos de *D. rerio* utilizados em bioensaios de toxicidade crônica parcial com os pesticidas organoclorados aldrin e heptacloro.

5.8.3 - Bioensaios de toxicidade crônicos parciais

Os resultados mostraram diferentes porcentagens de mortalidade em cada experimento. No primeiro bioensaio com aldrin (29/11/04 a 06/12/04) encontrou-se porcentagens de mortalidade de *D. rerio* inferiores a 10% (0,1 µg/L). No segundo, a porcentagem máxima de mortalidade foi de 40%, detectada na concentração de 0,1 µg/L.

Em relação ao terceiro teste com aldrin (14/02/05 a 21/02/05) as taxas de mortalidade dos organismos atingiram 25% dos indivíduos na concentração máxima (10,0 µg/L). Entretanto, no quarto bioensaio, 6,6% morreram na concentração de 0,01 µg/L. De acordo com a análise estatística de Fisher, as porcentagens de mortalidade que apresentaram diferenças significativas em relação ao controle foram 40 e 23% de mortalidade, nas concentrações de 0,1 e 10,0 µg/L (teste 2), respectivamente (TABELA 47 - ANEXO D - TABELA 46). Ressalta-se, que não foram encontradas diferenças significativas entre as porcentagens de mortalidade do controle e controle adicionado de acetona em nenhum dos bioensaios realizados.

TABELA 47 – Porcentagens máximas de mortalidade nos bioensaios crônicos parciais realizados com aldrin, utilizando indivíduos juvenis de *D. rerio* como organismos-teste, bem como resultados da análise estatística de Fisher.

Nº DO TESTE	Concentração de aldrin (mg/L)	% Mortalidade	Valor de p	S	NS
1	0,10	10	0,2373		X
2	0,10	40	0,0001	X	
3	10,0	25	0,7480		X
4	0,01	6,6	1,0000		X

Em relação ao heptacloro, no primeiro teste (29/11/04 a 06/12/04), a maior porcentagem de mortalidade foi observada na concentração de 0,1µg/L, correspondendo a 6,6% de mortalidade. No segundo teste (20/12/04 a 27/12/04), a porcentagem máxima de mortalidade (53 % dos indivíduos) ocorreu na concentração de 10,0 µg/L. O teste de número três registrou 20% de mortalidade na concentração de 0,01 µg/L e, o quarto bioensaio (14/02/05 a 21/02/05), apresentou a porcentagem

máxima de mortalidade abaixo de 6,6% na concentração de (0,01 µg/L). Segundo a análise estatística de Fisher, a qual comparou as porcentagens de mortalidade entre as concentrações de heptacloro o controle, registrou diferenças significativas em todas as concentrações do segundo bioensaio. Nos demais bioensaios, não ocorreram diferenças significativas em relação ao controle (TABELA 48; ANEXO D – TABELA 49).

TABELA 48 – Porcentagens máximas de mortalidade nos bioensaios crônicos parciais realizados com heptacloro, utilizando indivíduos juvenis de *D. rerio* como organismos-teste, bem como resultados da análise estatística de Fisher.

Nº DO TESTE	Concentração de aldrin (mg/L)	% Mortalidade	Valor de p	S	NS
1	0,1	6,6	0,4915		X
2	10,0	53	<0,0001	X	
3	0,01	20	0,5062		X
4	0,01	6,6	1,0000		X

Em decorrência da baixa mortalidade dos indivíduos nos bioensaios crônicos parciais com aldrin e heptacloro, não foi possível calcular os valores crônicos, CENO e CEO para ambas as substâncias. Entretanto, no teste de número 2 com heptacloro, o valor da CEO foi de 0,01 µg/L e a CENO foi considerada <0,01, uma vez que ocorreu mortalidade significativa desde a concentração mais baixa. Assim, o cálculo do valor crônico (média geométrica da CENO e CEO) para este bioensaio ficou impossibilitado (ANEXO D – TABELAS 46 e 49).

5.8.4 - Biometria final dos organismos-teste em relação ao controle

Não foram observadas diferenças significativas entre os indivíduos do controle com água e controle com acetona, tendo como variáveis, o peso e comprimento.

Nos testes de número um (1) e dois (2) com aldrin não foi observada diferença significativa no comprimento, entre as concentrações-teste e o controle. Entretanto, houve diferença significativa nas concentrações 0,01, 1,0 e 10,0µg/L, em

relação ao peso. Já nos dois últimos testes (3 e 4), foi houve diferença significativa entre o controle e as variáveis peso e comprimento em todas as concentrações testadas (TABELA 50).

TABELA 50: Comparação dos parâmetros peso e comprimento dos organismos-teste de *D. rerio* expostos em concentrações de aldrin em relação ao lote controle, através da análise estatística de Mann-Withney.

TESTE 1		Comprimento padrão (cm)			Peso total (g)			
Concentrações de aldrin (ug/L)	p	Mann-Withney	S	NS	p	Mann-Withney	S	NS
Controle + acetona	0.2432	99.500		x	0.1470	91.000		x
0.01	0.6461	390.00		x	0.0004	193.00	x	
0.1	0.9149	383.00		x	0.9738	387.50		x
1	0.4540	316.50		x	0.4972	320.50		x
10	0.7012	380.50		x	0.8043	389.00		x
TESTE 2		Comprimento padrão (cm)			Peso total (g)			
Concentrações de aldrin (ug/L)	p	Mann-Withney	S	NS	p	Mann-Withney	S	NS
Controle + acetona	0.4020	338.50		x	0.6873	365.00		x
0.01	0.2744	323.00		x	0.3533	333.00		x
0.1	0.5228	239.50		x	0.4246	232.00		x
1	0.0689	255.00		x	0.0035	191.50	x	
10	0.1670	267.50		x	0.0005	151.50	x	
TESTE 3		Comprimento padrão (cm)			Peso total (g)			
Concentrações de aldrin (ug/L)	p	Mann-Withney	S	NS	p	Mann-Withney	S	NS
Controle + acetona	0.8538	93.000		x	0.7510	90.000		x
0.01	<0.0001	12.000	x		<0.0001	11.000	x	
0.1	0.0107	49.000	x		0.0065	45.000	x	
1	0.0029	45.500	x		0.0058	51.000	x	
10	0.0012	26.500	x		0.0057	37.000	x	
TESTE 4		Comprimento padrão (cm)			Peso total (g)			
Concentrações de aldrin (ug/L)	p	Mann-Withney	S	NS	p	Mann-Withney	S	NS
Controle + acetona	0.4020	338.50		x	0.6873	365.00		x
0.01	0.0013	204.00	x		0.0030	219.50	x	
0.1	0.0067	235.50	x		0.0019	211.00	x	
1	0.0030	239.00	x		0.0012	221.00	x	
10	0.0004	174.50	x		0.0001	159.50	x	

S: significativo em relação ao controle; **NS:** não significativo em relação ao controle

Nos testes com heptacloro, houve diferença significativa no comprimento entre as concentrações-teste e o controle. Estas diferenças ocorreram nas concentrações de 1,0 µg/L (primeiro bioensaio); 0,01 e 0,1 µg/L (terceiro bioensaio),

e 10,0 µg/L (quarto bioensaio). Além do comprimento padrão, o peso dos indivíduos também apresentaram alterações significativas entre as concentrações testadas e o lote controle. No primeiro teste, houveram diferenças entre todas as concentrações e o controle; no terceiro teste (1,0; 0,1 e 10,0 µg/L); e no quarto teste (10,0 µg/L). No segundo bioensaio, não houveram diferenças significativas tanto no comprimento quanto no peso (TABELA 51).

TABELA 51: Comparação dos parâmetros peso e comprimento dos organismos-teste de *D. rerio* expostos em concentrações de heptacloro em relação ao lote controle, através da análise estatística de Mann-Withney.

TESTE 1	Comprimento padrão (cm)				Peso total (g)			
Concentrações de heptacloro (ug/L)	p	Mann-Withney	S	NS	p	Mann-Withney	S	NS
Controle + acetona	0.2432	99.500		x	0.1470	91.000		x
0.01	0.1039	315.00		x	0.0209	271.00	x	
0.1	0.1006	314.00		x	0.0006	199.50	x	
1	0.0207	282.00	x		0.0307	292.00	x	
10	0.2847	245.50		x	0.0185	180.50	x	
TESTE 2	Comprimento padrão (cm)				Peso total (g)			
Concentrações de heptacloro (ug/L)	p	Mann-Withney	S	NS	p	Mann-Withney	S	NS
Controle + acetona	0.4020	338.50		x	0.6873	365.00		x
0.01	0.2195	237.50		x	0.1598	228.50		x
0.1	0.6407	318.50		x	0.8225	332.00		x
1	0.2760	244.50		x	0.4638	262.50		x
10	0.3212	157.00		x	0.3829	161.50		x
TESTE 3	Comprimento padrão (cm)				Peso total (g)			
Concentrações de heptacloro (ug/L)	p	Mann-Withney	S	NS	p	Mann-Withney	S	NS
Controle + acetona	0.8538	93.000		x	0.7471	90.000		x
0.01	0.0311	58.500	x		0.0214	55.000	x	
0.1	0.0004	33.000	x		0.0005	35.500	x	
1	0.0776	104.50		x	0.2577	93.500		x
10	0.0516	63.500		x	0.0266	57.000	x	
TESTE 4	Comprimento padrão (cm)				Peso total (g)			
Concentrações de heptacloro (ug/L)	p	Kruskal-Wallis	S	NS	p	Kruskal-Wallis	S	NS
Controle + acetona	0.4020	338.50		x	0.6873	365.00		x
0.01	0.3302	344.50		x	0.1216	308.50		x
0.1	0.3349	358.00		x	0.7264	397.50		x
1	0.7559	414.00		x	0.6767	407.00		x
10	0.0093	263.00	x		0.0100	264.50	x	

S: significativo em relação ao controle; **NS:** não significativo em relação ao controle.

5.8.5 – Análise histológica das brânquias

Os organismos expostos no controle com acetona, apresentaram brânquias com morfologia normal, ou seja, desenvolvimento da área respiratória com espaços bastante definidos entre lamelas secundárias, lamelas secundárias desenvolvidas sendo possível distinguir a célula pilar e eritrócitos; desenvolvimento normal do suporte cartilaginoso desenvolvido na área não-respiratória, bem como a disposição do epitélio estratificado do filamento branquial (FIGURA 71).

FIGURA 71: Corte longitudinal ao filamento branquial de *D. rerio* exposto em controles com acetona, mostrando a disposição das lamelas secundárias (**LS**) ao longo do filamento branquial (**F**). Observar o epitélio estratificado do filamento branquial (seta) com espaços interlamelares bem definidos (**X**), suporte cartilaginoso (**C**) e eritrócitos (**E**). Aumento: 100X. (HE, 6,0 µm).

As lesões encontradas nas brânquias de *D. rerio* expostos em concentrações de heptacloro foram, em geral, consideradas de primeiro estágio, apresentando proliferações entre as lamelas secundárias; redução da área respiratória; dilatação de capilares sanguíneos nas lamelas secundárias; proliferação de células seguido de espessamento da lamela; deslocamento do epitélio branquial na área respiratória; bem como dilatação em regiões do seio venoso central. Verificou-se que a

proliferação celular foi intensa em todas as concentrações de heptacloro, inclusive na mais baixa (FIGURAS 72, 73, 74, 75 e 76).

FIGURA 72. Corte longitudinal ao filamento brnquial de *D. rerio* exposto em 0,01 µg/L de heptacloro. Observar proliferação de células epiteliais entre lamelas secundárias (**setas**) e fusão de algumas delas; proliferação de células epiteliais nas lamelas secundárias com dilatação de capilares (**X**). Notar a redução da área respiratória, e possivelmente a diminuição na eficiência das trocas gasosas. Detalhe: suporte cartilaginoso (C). Aumento: 63x. (HE, 6,0 µm).

FIGURA 73. Corte longitudinal ao filamento branquial de *D. rerio* exposto em 0, 1 µg/L de heptacloro. **A.** Observar proliferação de células epiteliais entre lamelas secundárias (**setas**) e fusão de algumas delas; proliferação de células epiteliais nas lamelas secundárias com dilatação de capilares (**X**); dilatação do seio venoso central (**D**); aumento 40x. **B.** Notar a intensa proliferação de células epiteliais, bem como redução da área respiratória, e possivelmente a diminuição na eficiência das trocas gasosas; deslocamento do epitélio das lamelas secundárias (**seta amarela**). Detalhe: suporte cartilaginoso (**C**). Aumento: 40x. (HE, 6,0 µm).

FIGURA 74. Corte longitudinal ao filamento branquial de *D. rerio* exposto em 1,0 µg/L de heptacloro. **A.** Observar proliferação de células epiteliais entre lamelas secundárias (**setas**) e fusão de algumas delas; proliferação de células epiteliais nas lamelas secundárias com dilatação de capilares (**X**) (notar o espessamento das lamelas sendo difícil a distinção de células pilares); deslocamento do epit[elio nas lamelas secundárias (**seta amarela**); aumento 40x. **B.** Notar proliferação de células e fusão total de algumas lamelas; dilatação de capilares (**X**). Detalhe: suporte cartilaginoso (**C**). Aumento: 63x. (HE, 6,0 µm).

FIGURA 75: Corte ao filamento branquial de *D. rerio* expostos em 10,0 µg/L de heptacloro. **A.** Deslocamento do epitélio branquial (**seta**), aumento: 40x. **B.** Intensa proliferação celular na região respiratória, com completa ocupação dos espaços interlamelares (**seta**) e possível perda na eficiência das trocas gasosas. Aumento 63x. (HE, 6,0 µm).

FIGURA 76: Corte ao filamento branquial de *D. rerio* expostos em 10,0 µg/L de heptacloro. Notar Proliferação de células epiteliais (**seta**); dilatação de capilares nas lamelas secundárias (**X**). Observar o espessamento das lamelas secundárias e desorganização de células pilares (cabeça de seta). Aumento: 40x. (HE, 6,0 µm).

Em relação ao aldrin, as brânquias dos indivíduos expostos em progressivas concentrações apresentaram alterações mais graves (de segundo estágio), com aneurismas nas concentrações mais baixas. Dentre as lesões mais freqüentes citam-se a proliferação celular entre lamelas secundárias, descolamento de epitélio branquial; espessamento de lamelas secundárias e dilatação de vasos sanguíneos. Além disto, notificou-se a presença de aneurismas em todas as concentrações de aldrin, o que mostra a capacidade deste produto em afetar os tecidos branquiais dos peixes (FIGURAS 77, 78, 79; 80; 81 e 82).

FIGURA 77. Corte longitudinal ao filamento branquial de indivíduos de *D. rerio* expostos em 0,01 $\mu\text{g/L}$ de aldrin. **A.** Proliferação celular na área respiratória e fusão de lamelas (**seta**), aumento: 40x. **B.** Proliferação de células epiteliais nas lamelas secundárias e dilatação de capilares (**x**); deslocamento do epitélio nas lamelas secundárias (**seta amarela**) e pequeno desenvolvimento das lamelas; proliferação de células na área respiratória (**seta preta**); aumento: 63x. Detalhe: cartilagem (**C**); seio venoso central (**V**). (HE, 6,0 μm).

FIGURA 78. Corte longitudinal ao filamento branquial de indivíduos de *D. rerio* expostos em 0,01 µg/L de aldrin. **A.** Proliferação celular na área (**seta**); deslocamento do epitélio nas lamelas secundárias (cabeça de seta); aneurisma (*). Aumento: 40x. **B.** Proliferação de células epiteliais nas lamelas secundárias e fusão total de algumas lamelas; deslocamento do epitélio nas lamelas secundárias e pouco desenvolvimento das lamelas (**seta amarela**). Aumento: 40x. (HE, 6,0 µm).

FIGURA 79. Corte longitudinal ao filamento branquial de indivíduos de *D. rerio* expostos em 0,1 $\mu\text{g/L}$ de aldrin. **A.** Dilatação no seio venoso central (D) e nos capilares sanguíneos das lamelas secundárias (X). Aumento: 100x. **B.** Proliferação celular na área respiratória e fusão total de lamelas secundárias (seta preta), aneurisma (*). Aumento: 63x. (HE, 6,0 μm).

FIGURA 80. Corte longitudinal ao filamento branquial de indivíduos de *D. rerio* expostos em 1,0 µg/L de aldrin. **A.** Observar proliferação celular entre lamelas secundárias (**seta preta**) e ocupação completa dos espaços interlamelares (**seta amarela**); dilatação de capilares nas lamelas secundárias e proliferação de células epiteliais (**X**). Aumento 40x. **B.** Proliferação de células epiteliais na região respiratória (**setas**). Detalhe: cartilagem (**C**). Aumento: 63x. (HE, 6,0 µm).

FIGURA 81. Corte longitudinal ao filamento branquial de indivíduos de *D. rerio* expostos em aldrin. **A.** 1,0 µg/L. Observar proliferação celular entre lamelas secundárias (**seta preta**); dilatação de capilares nas lamelas secundárias e proliferação de células epiteliais (**X**); aneurisma (*). Detalhe: cartilagem (**C**). **B.** 10,0 µg/L; aumento 63x Proliferação de células epiteliais na região respiratória (**setas**) e fusão total de algumas lamelas secundárias (**seta amarela**); dilatação de capilares nas lamelas secundárias e proliferação de células epiteliais (**X**); dilatação no seio venoso central (**D**). Aumento: 63x. (HE, 6,0 µm).

FIGURA 82. Corte longitudinal ao filamento branquial dos indivíduos de *D. rerio* expostos em 10,0 µg/L de aldrin. **A.** Observar proliferação celular entre lamelas secundárias (**seta preta**); dilatação de capilares nas lamelas secundárias e proliferação de células epiteliais (**X**); deslocamento do epitélio (**seta amarela**); aumento: 40x. **B.** Proliferação de células na área respiratória e fusão total de algumas lamelas (seta); dilatação de capilares nas lamelas secundárias (**X**); aneurisma (*). Aumento: 63x. (HE, 6,0 µm).

6 – DISCUSSÃO

6.1. CARACTERIZAÇÃO LIMNOLÓGICA DO RIO MONJOLINHO

6.1.1. *Variáveis físicas e químicas da água*

Ambientes lóticos apresentam, em geral, um gradiente que envolve mudanças longitudinais nas características físicas e químicas, que impõem igualmente, uma organização diferenciada das comunidades bióticas. As variações físicas e químicas de um rio ou córrego podem se tornar mais estáveis à medida que seu canal se expande, aumentando o volume de água e diminuindo a influência de outros cursos d'água confluentes. Desta forma, o fluxo de água em um rio impõe um determinado sentido e um contínuo arraste de material orgânico e inorgânico, sendo que fatores ecologicamente importantes e que mostram mudança progressiva ao longo dos rios são: tipo de substrato, velocidade de corrente, concentração de oxigênio dissolvido, nutrientes inorgânicos, vazão e temperatura, metabolismo da comunidade, diversidade biótica e tamanho das partículas (MARGALEF, 1983; VANNOTE et al., 1980).

Os rios nunca devem ser considerados de forma singular, uma vez que o papel das áreas adjacentes é de extrema importância. As propriedades físicas e químicas, por exemplo, refletem as características da água da chuva, da geologia, do declive, da cobertura vegetação e das diversas formas da ação antrópica (GOLDMAN e HORNE, 1983). Os impactos das atividades humanas nos sistemas lóticos vêm aumentando a preocupação com a qualidade do ambiente físico e com a própria qualidade de vida (SÉ, 1992), o que tem levado pesquisadores a buscar diferentes técnicas metodológicas para analisar os efeitos destas atividades.

Variações na disponibilidade de luz, velocidade de corrente e recursos são fatores fundamentais para a avaliação dos rios, visto que são responsáveis pela predominância de processos como produção e respiração, os quais caracterizam diversos trechos de um rio (BRIGANTE et al., 2003). Entre estes fatores, a vazão é fundamental na caracterização de um rio, uma vez que é responsável pelo tempo de permanência das partículas, pelo transporte de materiais, pela diluição de componentes dissolvidos na água durante o verão, entre outros. Portanto, a vazão é um fator indispensável na qualidade das águas, já que os fluxos de qualquer

componente aumenta com a vazão, mesmo que a concentração de alguns deles seja diluída durante as cheias (SÉ, 1992).

No presente estudo, o maior valor de vazão foi registrado em julho de 2003 na Confluência do rio Monjolinho ($3,36 \text{ m}^3/\text{s}$), embora este período seja considerado de estiagem e, conseqüentemente, de baixas vazões. Dentre os tributários do Rio Monjolinho, o córrego Santa Maria Madalena foi o que apresentou maiores valores de vazão ($0,69 \text{ m}^3/\text{s}$ em julho de 2003 e $1,63 \text{ m}^3/\text{s}$ em janeiro de 2004) no período seco e chuvoso. Depois do córrego Santa Maria Madalena, os córregos que apresentaram as maiores vazões foram o córrego da Água Fria, com valores similares em julho de 2003 e janeiro de 2004 ($0,461 \text{ m}^3/\text{s}$ e $0,44 \text{ m}^3/\text{s}$, respectivamente) e o córrego do Cancã ($0,169 \text{ m}^3/\text{s}$ em julho de 2003 e $0,508 \text{ m}^3/\text{s}$ em janeiro de 2004). Como esperado, a vazão do Rio Monjolinho aumentou da Nascente em direção à Confluência devido à contribuição de seus tributários e ao aporte de efluentes domésticos e industriais, principalmente após a entrada deste no perímetro urbano.

BARRETO (1999) obteve valores similares de vazão para os córregos do Tijuco Preto ($0,04 \text{ m}^3/\text{s}$ e $0,06 \text{ m}^3/\text{s}$ nos meses de julho de 1997 e fevereiro de 1998 respectivamente) e córrego do Gregório ($0,18 \text{ m}^3/\text{s}$ em julho de 1997 e $0,22 \text{ m}^3/\text{s}$ em fevereiro de 1998).

SANTOS (1993) obteve valores ligeiramente menores de vazão no córrego da Água Quente ($0,194 \text{ m}^3/\text{s}$) em dezembro de 1992 em relação ao encontrado nesta pesquisa em janeiro de 2004 ($0,223 \text{ m}^3/\text{s}$). Para o mesmo ponto de coleta no córrego da Água Fria, o valor encontrado foi similar ($0,434 \text{ m}^3/\text{s}$ contra $0,441 \text{ m}^3/\text{s}$ do presente trabalho).

Comparando com os valores de vazão obtidos em anos anteriores (BARRETO, 1999; GUERRESCHI, 1995; PERES, 2002; SALAMI, 1996) nos mesmos pontos de coleta e período de amostragem (levando-se em consideração o regime de seca e chuva), as vazões do mês de julho de 2003 mostraram-se mais baixas que as demais. Os outros valores mostraram-se próximos aos encontrados neste trabalho. Entretanto, convém ressaltar que as variações obtidas ocorrem pelo fato de que a vazão é altamente dependente do regime de chuvas.

A temperatura realiza importante papel sobre as propriedades ambientais, sendo citadas, entre outras, a solubilidade dos gases, a velocidade e reações e o equilíbrio de substâncias químicas e os processos metabólicos em animais e

plantas. No ambiente aquático, a temperatura está relacionada com a variação da temperatura no ambiente terrestre, com a sazonalidade, vazão, condições climáticas, autodepuração das águas, distância das nascentes, largura e profundidade do leito, condições do rio à montante, escoamento superficial e grau de sombreamento.

A variação da temperatura da água no rio Monjolinho não se comportou de forma esperada, diferindo-se com o perfil obtido por outros autores que apresentaram um esquema de sazonalidade definida (BARRETO, 1999; SÉ, 1992).

Segundo Matheus e Tundisi (1988), nos locais onde há ausência de mata ciliar e, portanto não há sombreamento, a temperatura da água tende a ser mais elevada, devido a sua maior exposição à radiação solar direta. Entretanto, no rio Monjolinho, devido ao pequeno tempo de residência e a velocidade de escoamento, este efeito não foi observado, corroborando com os resultados encontrados por Salami (1996).

Um estudo realizado em alguns pontos do rio Mogi-Guaçu mostra variações de temperatura com uma sazonalidade bem definida, com progressivo aumento de temperatura variando da nascente até a confluência. Neste trabalho, verificou-se também a elevada amplitude térmica entre os pontos do rio localizados no território de São Paulo (12,1 °C) e Minas Gerais (12,4 °C), com temperaturas mínimas e máximas de 11,5° C e 23,6° ; e 16,2 °C e 28,6° C, respectivamente.

No presente estudo, as maiores temperaturas foram registradas durante o verão, em janeiro de 2004, com uma variação de 20,4 a 25,2°C (Nascente e UFSCar, respectivamente), com águas mais frias a montante, aumentando em direção à jusante, o que pode ser justificado pela diferença do horário das coletas. A temperatura mínima registrada ocorreu no inverno, em julho de 2003, com uma variação de 17,5 a 23,8 °C, representando, dessa forma, a maior variação de temperatura durante o período de estudo (com 6,3 °C).

O oxigênio dissolvido é um dos mais importantes parâmetros para avaliar as condições de um ambiente aquático, uma vez que é indispensável nos processos metabólicos dos seres vivos. Segundo Esteves (1988), a concentração de oxigênio na água depende de fatores físicos (difusão entre a atmosfera e a água; turbulência na água) de fatores químicos, como os processos de oxidação de substâncias inorgânicas reduzidas, e de fatores biológicos, como a fotossíntese (que libera oxigênio na água) e a respiração dos organismos, associada à oxidação bioquímica

da matéria orgânica por microrganismos. Ainda deve ser mencionada a relação entre a quantidade de oxigênio dissolvido e a matéria orgânica no sistema, podendo esta ser de origem natural ou antropogênica.

Nos rios, a concentração de oxigênio dissolvido é alta, devido à turbulência. No entanto, teores de oxigênio variam de um ambiente para outro, bem como dentro do mesmo curso d'água, em decorrência das características geomorfológicas e variações climáticas. A solubilidade deste gás depende diretamente da temperatura e pressão, sendo que a combinação do aumento da temperatura e diminuição da pressão desencadeia uma redução na solubilidade do oxigênio das águas.

As concentrações de oxigênio dissolvido em alguns pontos do rio Monjolinho (aqueles que pertencem ao trecho considerado de classe dois), apresentaram-se abaixo do limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe dois (não inferior a 5,0 mg/L). Foram eles: córrego Gregório e USP na época seca (3,7 e 4,38 mg/L, respectivamente); pontos UFSCar e USP em outubro/03 (2,7 e 4,66); federal na época chuvosa (3,29 mg/L).

Todos os pontos mencionados acima estão localizados na área urbana de São Carlos, sofrendo o impacto das atividades humanas localizadas na bacia. A entrada de esgotos domésticos e efluentes industriais nestes pontos aliada às altas temperaturas justifica a depleção de oxigênio nestes locais. Na época seca e intermediária (out/03) o fator vazão exerceu influência nas baixas concentrações de oxigênio no Gregório e USP, uma vez que o índice pluviométrico é menor em relação a janeiro/04 e abril/04. Em relação à baixa concentração de oxigênio no ponto UFSCar na época chuvosa, deve-se considerar que as temperaturas mais elevadas, o aporte de matéria orgânica proveniente de áreas do entorno carregadas pela chuva e a ressuspensão dos sedimentos provocada pela turbulência foram fatores determinantes.

Analisando-se dados de anos anteriores (BARRETO, 1999; MENDES, 1998; MARINELLI et al. 2000; SÉ 1992), foi possível observar que os pontos críticos na concentração de oxigênio dissolvido iniciam a partir da entrada na área urbana, decaindo mais, após o rio Monjolinho receber toda carga poluidora da cidade de São Carlos, concordando com os resultados obtidos no presente trabalho.

Há uma variação espacial e temporal no teor de oxigênio dissolvido no sistema estudado, onde não foi possível encontrar um comportamento similar em todos os períodos de coleta (julho/03; outubro/03; janeiro/04; abril/04).

Entretanto, verificou-se, de uma forma geral, que na Nascente foi possível registrar concentrações de oxigênio dissolvido compatíveis à manutenção da vida aquática em todos os períodos de coleta (acima do CONAMA 357/05). Após o aporte de efluentes industriais e lançamentos de esgotos domésticos pontuais, na área urbana, foram registrados, pelo menos em um dos períodos amostrais, teores abaixo de 5,0 mg/l. A recuperação do sistema iniciou-se após o ponto Ponte Caída, com valores satisfatórios de oxigênio na confluência. Apesar de ser constatada a autodepuração do rio Monjolinho, notou-se que os valores de oxigênio registrados na Confluência, não atingiram os valores encontrados no início do sistema (Nascente) na maioria dos períodos de coleta.

Mendes (1998) encontrou um comportamento similar nas campanhas seca e chuvosa no rio Monjolinho, em relação ao oxigênio dissolvido, sendo que a montante da área urbana, foram encontrados teores acima do limite estabelecido pelo CONAMA 357/05, depois do aporte de efluentes da área urbana, foram encontradas concentrações abaixo das condições de manutenção da vida aquática, iniciando-se a recomposição dos teores de oxigênio um pouco antes da entrada do tributário Água quente.

Resultados similares também foram verificados por Barreto (1999), onde a autora classificou o rio Monjolinho em dois grandes trechos baseados na concentração de oxigênio dissolvido. Entre a Nascente até o córrego Mineirinho (trecho 1), ocorreu um decréscimo na concentração de oxigênio dissolvido e um aumento da DBO pelo aporte de efluentes industriais e esgotos sanitários, sendo possível observar uma leve recuperação de oxigênio antes da confluência com córrego Gregório. Após esta zona de degradação, o trecho entre o córrego Mineirinho e a Confluência (trecho 2), apresentou uma zona com baixos valores de oxigênio dissolvido (entre os córregos Mineirinho e Água quente), sendo considerada como zona de degradação e início da zona de decomposição ativa, onde ocorre o predomínio do gênero *Chironomus* sp e as espécies de peixes desaparecem até o ponto após a entrada do Água fria. O trecho compreendido entre o ponto Ponte Caída e a Confluência foi considerado como uma zona de recuperação, no qual foi observado o aumento da concentração de oxigênio dissolvido e o decréscimo nos valores de DBO, bem como o aparecimento de peixes e organismos bentônicos.

A reaeração no sistema após o ponto Ponte Caída, se deve principalmente a entrada dos córregos Cancã e Serra, os quais possuem grande quantidade de oxigênio dissolvido, decorrente do acentuado declive com afloramento de rochas basálticas. Em julho de 2003, estes pontos apresentaram 11,87 e 17,18 mg/L de oxigênio dissolvido, respectivamente. Em janeiro/04, estes valores foram 8,71 e 6,16 mg/L.

Durante todos os períodos de amostragem, o ponto Ponte Caída no rio Monjolinho apresentou valores relativamente baixos de oxigênio dissolvido, com a preocupante concentração de 1,56 mg/L detectada em janeiro de 2004 (abaixo de 2,0 mg/L, ou seja, valor limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 para rios de classe quatro). Embora os tributários Água Quente e Água Fria tenham apresentado valores satisfatórios de oxigênio dissolvido, o que poderia oxigenar as águas de Ponte Caída. Ressalta-se que o córrego Água quente recebe efluentes domésticos, visto que nascente deste córrego, bem como alguns afluentes estão situados na periferia da cidade de São Carlos em bairros densamente povoados.

A condutividade elétrica está diretamente relacionada com a concentração de íons dissolvidos na água, os quais possuem a capacidade de conduzir a corrente elétrica. Em águas continentais, os íons responsáveis pelos valores de condutividade são, entre outros, cálcio, magnésio, potássio, sódio, carbonatos, sulfatos e cloretos.

Os valores de condutividade podem ser utilizados como um critério para caracterizar índices de poluição (BARRETO, 1999), uma vez que estes valores são influenciados pela intervenção antrópica (efluentes industriais e esgotos domésticos), as quais aumentam o conteúdo mineral (BRIGANTE et al., 2003).

As medidas de condutividade do sistema Monjolinho mostraram uma tendência de aumento da Nascente em direção à Confluência em todos os períodos de amostragem, o que demonstra o aporte de materiais alóctones (naturais e antropogênicos) e a deterioração da qualidade da água, corroborando com resultados encontrados no rio Mogi-Guaçu (BRIGANTE op. cit.).

Foi possível verificar padrão de sazonalidade, sendo que os valores mais elevados de condutividade foram registrados no período de seca (179 $\mu\text{S}/\text{cm}$ - Confluência), provavelmente pela menor diluição dos efluentes urbanos e principalmente pelo aporte de efluentes industriais, esgotos sanitários provenientes

dos córregos Gregório, Tijuco e Água Quente, para os quais foram obtidos valores elevados em relação ao rio Monjolinho (290; 193 e 212 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectivamente).

Barreto (1999) e Mendes (1999) encontraram resultados similares no rio Monjolinho, atribuindo os altos valores de condutividade na época vazante e no gradiente Nascente - Confluência, à carga de efluentes urbanos e industriais provenientes, principalmente dos tributários citados e ao processo de diluição dos poluentes. Os valores mais elevados encontrados pelos autores foram 264,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Usina em julho/03) e 213 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Usina em julho/03), respectivamente.

A condutividade no rio Monjolinho esteve diretamente relacionada com concentrações dos íons sulfato e cloreto, uma vez que a os maiores valores de condutividade acompanharam valores também elevados destes íons. Os picos de concentração do íon cloreto foram encontrados no Gregório (20,4 mg/L) e em Água Quente (19,7 mg/L) na época seca. Em relação ao íon sulfato foram verificados picos no Gregório (59 mg/L) na época seca e no rio Monjolinho (Ponte Caída) na época chuvosa, com valores de 32 mg/L. Os valores elevados de íons cloreto na região urbana podem ser atribuídos aos processos de tratamento da água para abastecimento seguido do uso e descarte desta água, bem como o reflexo do impacto de esgotos sanitários (liberação de cloreto pela urina).

Na Nascente, os valores de condutividade foram baixos em todos os períodos de coleta, com picos de 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (seca) demonstrando a presença de poucos íons dissolvidos. Sé (1992) atribui estes resultados à influência das águas subterrâneas que apresentam baixas concentrações de eletrólitos, sendo corroborados por Barreto (1999); Marinelli et al. (2000). Outro fator que possivelmente contribuiu com estes valores de condutividade na nascente, foi a presença de mata ciliar, que minimiza a erosão e conseqüentemente, a entrada de material mineral proveniente da bacia hidrográfica.

O pH do sistema Monjolinho demonstrou uma tendência à neutralidade da Nascente em direção à Confluência, com valores variando entre 5,65 a 7,47 no inverno e 4,77 a 7,7 no verão. Os baixos valores de pH na nascente podem ser atribuídos à decomposição de matéria orgânica proveniente da vegetação ripária, que acidifica a água através do processo de liberação de gás carbônico (MARGALEF, 1983; SALAMI, 1996).

A variação espacial de pH pode estar relacionada com diferença na qualidade e quantidade dos solos drenados das bacias, ocupação das bacias, entrada de esgoto doméstico (carga orgânica em decomposição por bactérias implica em liberação de gás carbônico e diminuição de pH), atividade fotossintética, sendo esta última intensamente verificada no córrego Tijuco no verão (65,56 µg/L), maior valor encontrado durante todo o estudo (7,7). A relação entre valores elevados de pH e concentração de clorofila a, consiste na utilização por organismos autotróficos de gás carbônico do meio para a atividade fotossintética, conseqüentemente ocorreu um aumento no pH.

Os pontos de coleta onde foram obtidos os maiores valores de clorofila foram UFSCar, Tijuco e Usina (85,09 µg/L, 65,56 µg/L e 39, µg/L respectivamente). Na UFSCar, em geral, foram obtidos valores mais elevados de clorofila pelo fato deste se encontrar relativamente próximo à saída da represa situada dentro da Universidade Federal de São Carlos. Além disso, neste local a vazão é baixa, propiciando ambiente para o desenvolvimento das algas. No ponto Usina, as concentrações mais elevadas podem ser decorrentes da influência da área represada pela barragem da UHE Alois Partel (UHE Monjolinho).

Sé (1992) também encontrou valores elevados de clorofila (33,24 µg/L e 32,78 µg/L) a jusante de uma série de represamentos localizados próximos à região da nascente do Rio Monjolinho. Os valores encontrados por este mesmo autor, na região da nascente, em julho e dezembro de 1990 (1,65 µg/L) foram superiores aquele encontrado no presente trabalho. A concentração obtida em dezembro de 1990 (1,92 µg/L), se comparada ao valor de janeiro de 2004, foi ligeiramente inferior.

No ponto Usina, Sé (op cit.) obteve valores de 8,79 µg/L (julho de 1990) e 13,92 µg/L (dezembro de 1990), relativamente próximos ao obtidos em 2003 e 2004. Com relação aos córregos do Tijuco Preto, Gregório, Água Quente e Cancã os valores obtidos em agosto de 1990 (1,92 µg/L, 0,55 µg/L, 1,92 µg/L e 0,83 µg/L, respectivamente) foram muito superiores aos de julho de 2003, entretanto, os obtidos em dezembro de 1990 foram inferiores ao do presente trabalho, exceto o do Córrego Maria Madalena (4,58 µg/L), Tijuco (0,55 µg/L), Gregório (1,65 µg/L), Água Fria (2,20 µg/L), Água Quente (2,38 µg/L) e Cancã (3,3 µg/L).

A turbidez de uma amostra de água é o grau de atenuação da intensidade que um feixe de luz sofre ao atravessá-la, em presença de sólidos em suspensão (orgânicos ou inorgânicos). No presente estudo, foram encontrados valores médios

(máximos e mínimos) para a turbidez das águas nos pontos Tijuco (3 UNT, época chuvosa) e Gregório (344 época seca). Em relação à variação temporal, em geral, foram encontrados valores mais elevados na época seca (8 e 344 UNT), sendo que na época chuvosa, este intervalo foi de 3 a 175 UNT. O córrego do Gregório apresentou valores acima dos recomendados pela resolução CONAMA 357/05 para rios de classe dois (100UNT) nas épocas seca e chuvosa. Em relação aos pontos localizados no rio Monjolinho, aqueles que apresentaram valores mais elevados foram Usina (87 UNT) em julho/03 e Ponte Caída (57,6 UNT) em janeiro/04.

Barreto (1999) encontrou valores mais elevados de turbidez na época chuvosa, sendo que o registro máximo foi no ponto referente ao ponto Usina deste trabalho (267 UNT). Tais resultados foram atribuídos à elevada pluviosidade, a qual propicia ressuspensão do sedimento do fundo e carreamento de material alóctone. Em relação aos tributários, a autora verificou que os valores máximos estavam abaixo dos recomendados pela resolução CONAMA 20/86, sendo 35 UNT (chuvosa) no córrego Tijuco e 78 UNT (chuvosa) no córrego Gregório.

É possível relacionar os elevados valores de turbidez encontrados no Gregório com a entrada de esgotos domésticos, efluentes industriais e ausência de vegetação ripária, demonstrado a influência deste tributário no ponto coletado a jusante (Usina).

O córrego Água Quente também apresentou valores elevados de turbidez, sendo na seca de 100 UNT e na época chuvosa de 175 UNT, sendo possível verificar a influência destes altos valores no ponto Ponte Caída (57,6 UNT) no rio Monjolinho na época chuvosa. Os fatores que influenciam estes valores podem estar relacionados à entrada de efluentes domésticos, e além disto, ressalta-se que durante anos prevaleceu o funcionamento de mineração de areia na sua área de drenagem, que como resultados, pode causar aumento excessivo na quantidade de partículas sólidas na água (CETESB, 2005).

A concentração de sólidos nos ecossistemas aquáticos está fortemente relacionada à precipitação, pedologia, tipologia da vegetação, trechos de corredeiras, pedologia e causas antrópicas, como a presença de emissários de efluentes urbanos (BARRETO, 1999). Além disto, em rios e córregos, a turbulência é suficiente para manter suspensas grandes e pesadas partículas além de outras mais leves (SANTOS, 1993).

A carga de material em suspensão total aumenta em direção à Confluência, com picos na concentração de materiais orgânicos e inorgânicos em Ponte Caída (26,44 e 34,02 mg/L, respectivamente) na época chuvosa, corroborando com resultados encontrados para o sistema por outros autores (BARRETO, 1999; PERES, 2002; SALAMI, 1996; SÉ, 1992).

Em geral, o material inorgânico predominou sobre o orgânico, demonstrando as contribuições tanto naturais, representada por intemperismos físico e químico das rochas, quanto antrópicas, como a lixiviação do solo da bacia e seu transporte por meio da área de drenagem e a erosão. Em alguns pontos de amostragem (USP, Usina, Tijuco, Gregório, UFSCar) em determinados períodos de coleta, ocorreu a predominância de material orgânico em suspensão, possivelmente oriundos da carga de esgotos domésticos provenientes da área urbana.

Em Ponte Caída foi verificada a situação mais crítica em relação às concentrações de material em suspensão (orgânico e inorgânico), apresentando valores máximos de 26,44 e 34,02 mg/L (janeiro/04), respectivamente. Tal situação pode ser atribuída à entrada de efluentes domésticos e industriais, aliada à erosão da bacia e transporte dos materiais alóctones, agravada pela entrada dos tributários Água Fria e Água Quente.

Para avaliar as condições sanitárias do rio Monjolinho, determinou-se o número de coliformes totais e fecais. As bactérias do grupo coliformes são consideradas os principais indicadores da poluição ambiental, uma vez que a determinação da concentração dos coliformes assume importância no sentido de indicar a possibilidade da presença de microrganismos patogênicos, responsáveis pela transmissão de doenças e veiculação hídrica, tais como a febre tifóide, febre paratífóide, cólera e desintéria bacilar (CETESB, 2005).

No rio Monjolinho, foram encontradas situações preocupantes em relação ao número de coliformes totais e fecais, principalmente na época seca, quando a diluição das águas é menor. Os valores máximos encontrados para coliformes totais e fecais durante este período foram de 86.640.000 NMP e 3.255.000 NMP, no córrego Tijuco, ultrapassando os números aceitáveis estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05 (5.000,00 e 1.000,00, respectivamente).

No mesmo período, outros pontos de coleta apresentaram valores elevados em relação aos coliformes totais, sendo eles Água Quente (5.475.000 NMP), Ponte

Caída (19.862.800 NMP) e Confluência (4.160.000 NMP). Os números mínimos foram verificados na Nascente (13.740 NMP totais) e 30.5 NMP no córrego da Serra.

Em outubro/03, foi possível detectar 3.076.000 NMP de coliformes totais e 121.000 de coliformes fecais em Ponte Caída, sendo que em janeiro/04 o valor para fecais no mesmo ponto caiu para 50.000 NMP, em função da diluição das águas e vazão. Em abril/04, o ponto Usina registrou o maior número de coliformes totais, com o valor de 1.413.600 NMP, sendo o maior valor de coliformes fecais verificado na Ponte Caída (33318.000 NMP).

Os resultados de coliformes demonstram a entrada e esgotos domésticos em vários pontos do rio Monjolinho e tributários, evidenciando a degradação do sistema, e podendo impossibilitá-lo em relação a determinados usos, como: irrigação, abastecimento e lazer. Um exemplo evidente da degradação do sistema é registrado na Nascente do rio Monjolinho, onde já foram detectados números elevados de coliformes totais (2.419,2 em outubro/03). Nesta área, o entorno caracteriza-se pela ocupação de pastagens, sendo que em alguns trechos os animais têm acesso à água do rio. Desta forma, a pressão de pastagem que descompacta o solo próximo às margens, tornando-os mais suscetíveis à erosão carregam excretas dos animais para dentro do sistema, sendo possivelmente responsáveis pela presença de coliformes totais e fecais na cabeceira o rio.

Estudos no rio Mogi-Guaçu (BRIGANTE et al., 2003) demonstraram a poluição por coliformes totais e fecais em três nascentes do sistema, as quais estavam enquadradas como classe especial pela resolução CONAMA 20/86, não sendo permitida nenhuma presença destes números. Em contraste a não aceitabilidade de coliformes nestas nascentes, foram encontrados 1.299 e 130 NMP de coliformes totais e fecais na nascente do rio do Peixe (Bom repouso); 1.986 e 46 NMP na nascente do rio Espriado (Bom repouso) e 1.046 e 3 NMP na nascente do rio Mogi-Guaçu (Bom repouso).

As formas nitrogenadas também são importantes na caracterização de um ambiente aquático, principalmente se ele sofre intensas influências antrópicas e eutrofização natural.

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes no metabolismo dos ecossistemas aquáticos, uma vez que é fundamental na formação de proteínas. Em baixas concentrações, o elemento pode se tornar um fator limitante na produção primária (ESTEVES, 1988). Entre as formas nitrogenadas (nitrogênio total, nitrato,

nitrito e nitrogênio amoniacal) o íon nitrito é um dos mais relevantes para se avaliar um corpo d'água, visto que em ambientes aquáticos suas concentrações são geralmente reduzidas (ESTEVES, 1988; GOLDMAN; HORNE, 1983). Desta forma, valores muito elevados de nitrito sugerem áreas intensamente poluídas, caracterizando este íon como um indicador (BARRETO, 1999).

Para o sistema estudado, verificou-se um aumento na concentração de nitrito no sentido montante-jusante, principalmente no ponto Usina (246, 94 $\mu\text{g/L}$ em janeiro/04), condicionados pela poluição orgânica (BRIGANTE et al., 2003; GOLDMAN; HORNE, 1983), corroborando com os resultados obtidos por Marinelli et al. (2000) para o mesmo sistema.

O ponto Usina também recebe grande carga de esgotos domésticos e industriais do córrego do Gregório, o qual apresentou elevada concentração de nitrito (519,8 $\mu\text{g/L}$) principalmente na época seca, quando a diluição das águas é reduzida. As altas concentrações de nitrito no Gregório provavelmente estão relacionadas com a expressiva carga orgânica proveniente de esgotos domésticos e industriais aliada a baixos valores de oxigênio dissolvido na época seca (3,7 mg/L).

Barreto (1999), estudando a qualidade do rio Monjolinho, encontrou uma variação de 10 – 1850 $\mu\text{g/L}$ nas concentrações de nitrito, nos pontos localizados no rio principal, mostrando valores bem mais elevados em relação àqueles encontrados no presente estudo (1,574 – 528,22 $\mu\text{g/L}$, em Cancã (janeiro/04) e Tijuco (julho/03), respectivamente).

Peres (2002) registrou valores elevados de nitrito no ponto localizado após a entrada do córrego Gregório no rio Monjolinho, atribuindo os resultados à entrada de esgotos domésticos e industriais.

Marinelli et al. (2000) observaram, em maio de 1999, no rio Monjolinho, que os valores de nitrito aumentavam no ponto a jusante dos rios Gregório e Mineirinho, entretanto, as concentrações máximas registradas no sistema permaneceram em torno de 80 $\mu\text{g/L}$. As concentrações de nitrito verificadas neste trabalho, foram semelhantes às encontradas no rio Mogi-Guaçu, nos anos de 2000 e 2001 (BRIGANTE et al., 2003), com valores máximos em torno de 70 $\mu\text{g/L}$.

Segundo Barreto (1999) as variações nas concentrações das formas de nitrogênio (espacial e temporal), estão correlacionadas com as flutuações das variáveis físicas, químicas e biológicas, principalmente pH, oxigênio, temperatura,

fitoplâncton, zooplâncton e bactérias, e às atividades humanas, o que explicam as variações nestas formas nos diferentes estudos mencionados.

De uma forma geral, as formas de nitrogênio apresentaram uma tendência ao aumento no sentido Nascente-Confluência, sendo os pontos Usina e USP muito influenciados pelos tributários Gregório e Tijuco, respectivamente. Dentre as formas de nitrogênio analisadas, o nitrogênio orgânico total apresentou concentrações superiores às obtidas pelas formas de nitrogênio amoniacal, nitrato e nitrito, demonstrando a predominância da forma orgânica no sistema, como também foi observado por Barreto (1999).

Vale ressaltar que foi possível verificar os processos de nitrificação e amonificação ao longo do rio Monjolinho nos diferentes períodos de coleta, sendo que apenas em janeiro/04 foi observado o processo de nitrificação. A prevalência da amonificação do sistema nos demais períodos de coleta está principalmente relacionada ao lançamento de esgotos sanitários a partir da área urbana e aos índices pluviométricos registrados, visto que os valores de DBO foram menores neste período de coleta para maioria dos pontos amostrados (FRACÁCIO, em andamento).

Apesar da nascente estar em um trecho de cabeceira, localizado fora da área urbana, a alta concentração de íon amônio registrado em janeiro/04 (1815,4 µg/L) pode ser justificada pelo carreamento e entrada de excreções de animais pela água da chuva para o leito do rio, uma vez que há o predomínio de pastagens no entorno desta área.

Marinelli et al. (2000) encontrou altos valores de nitrato em áreas de cabeceira em maio de 1999 (500 µg/L) para o mesmo sistema, entretanto, os valores de nitrogênio amoniacal estiveram muito baixos. Os autores atribuíram elevados valores de nitrato à entrada de nitrogênio pelo carreamento de insumos agrícolas químicos, os quais são intensamente utilizados na cultura de hortaliças, que até o momento é adotado nesta área de cultivo.

O fósforo é um dos principais constituintes do metabolismo aquático, podendo influenciar a produção primária e o principal responsável pela eutrofização de rios, lagos e lagoas. Em ambientes tropicais, é considerado fator limitante da produção primária (ESTEVES, 1988).

A tendência geral observada durante o período de estudo foi um aumento em todas as formas de fósforo no sentido montante-jusante, demonstrando que em todo

o sistema há o impacto de esgotos sanitários e industriais, além de efluentes agrícolas. Das diferentes formas analisadas de fósforo (fósforo total, fosfato total dissolvido e fosfato inorgânico dissolvido), foram observadas concentrações mais elevadas no período seco, para a maioria dos pontos de coleta no rio Monjolinho, sendo obtida uma maior concentração de fósforo total e fosfato inorgânico nos pontos Ponte Caída (682,56 $\mu\text{g/L}$, em julho/03) e Confluência (355,1 $\mu\text{g/L}$, em julho/03), em decorrência de despejos de esgotos domésticos e industriais provenientes dos grandes centros urbanizados, de fertilizantes utilizados nas áreas agrícolas presentes principalmente neste trecho do sistema, detergentes de uso doméstico e industrial (GUERESCHI, 1995), bem como o aporte destes nutrientes pela entrada do tributário Água Quente, o qual apresentou valores expressivos durante todo o período de coleta.

Além dos fatores acima mencionados, é importante ressaltar que os nutrientes (nitrogênio e fósforo) estão associados às partículas finas em suspensão, cujo transporte depende da descarga. Desta forma, as variações nas concentrações e nutrientes dependem principalmente do regime hidrológico, sendo possível observar neste trabalho, as maiores concentrações no período seco quando a diluição de poluentes é menor. Os menores valores detectados para todas as formas de fósforo, em geral foram encontrados no período chuvoso e de transição para o seco (abril/04), podendo este fato estar relacionado com o regime pluviométrico, diluindo as cargas de despejo sanitário e industrial.

Resultados semelhantes para o mesmo sistema, foram encontrados por Barreto (1999), que verificou maiores valores das formas de fosfato no período seco, com picos nos pontos referentes à Usina e Ponte caída deste trabalho. Os valores registrados pela autora foram, de uma forma geral, mais elevados em relação aos encontrados neste trabalho para o todo o sistema, apresentando intervalos de 40 $\mu\text{g/L}$ a 1330 $\mu\text{g/L}$ (fósforo total); 0 a 1990 $\mu\text{g/L}$ (fosfato inorgânico dissolvido) e 0 a 2240 $\mu\text{g/L}$ (fosfato total dissolvido). No presente trabalho, os intervalos registrados para as mesmas formas de nutrientes foram: 17 a 982 $\mu\text{g/L}$ (fósforo total); 5,22 a 418,77 $\mu\text{g/L}$ (fosfato inorgânico) e 6,11 a 675,97 (fosfato total dissolvido).

Em relação aos tributários, os córregos Tijuco, Gregório e Água Quente apresentaram os valores mais elevados de todas as formas de fósforo em relação aos outros afluentes. Vale ressaltar, que todos os córregos mencionados recebem

carga de esgotos domésticos e industriais, principalmente pelo fato de grande parte deles se localizarem em áreas urbanas de São Carlos (BARRETO, 1999; SANTOS, 1993; SÉ, 1992). Vale ressaltar, que as concentrações de fosfato total verificadas neste trabalho estiveram acima dos níveis permitidos pela resolução CONAMA 357/05 para rios de classe dois (100 µg/L), exceto na Nascente e no Córrego Madalena.

Em relação ao nutriente fósforo, é possível caracterizar o rio Monjolinho com lenta capacidade de autodepuração, uma vez que as concentrações das formas fosfatadas apresentam-se iguais ou maiores àquelas encontradas no trecho anterior (Ponte Caída). Isto pode ser atribuído, principalmente à influência tributários, onde as concentrações de poluentes variam de acordo com a variação de parâmetros físicos, químicos, biológicos, hidrológicos, descargas de efluentes domésticos, industriais e agrícolas, bem como às próprias características da bacia de drenagem.

Os valores de silicato reativo demonstraram pouca variação ao longo do sistema nos diferentes períodos amostrados. Segundo Esteves (1988), em decorrência da abundância de sílica nos solos tropicais, principalmente pela frequência de aluminossilicatos, não há diferença significativa nas concentrações deste elemento nos diferentes ecossistemas brasileiros. De fato, Brigante et al., (2003) encontraram valores para este elemento próximos aos obtidos neste estudo ao avaliarem o rio Mogi-Guaçu desde a nascente até a confluência, compreendidos nos estados de Minas Gerais e São Paulo.

6.1.2. Avaliação da concentração de metais na água.

As concentrações de metais totais detectadas nas amostras de água serão avaliadas baseadas na resolução CONAMA 357 (2005), que estabelece limites para alguns parâmetros físicos, químicos e biológicos, incluindo determinados poluentes orgânicos e inorgânicos. De acordo com as características dos corpos de água em relação aos parâmetros citados acima, a resolução CONAMA 357 enquadra os ecossistemas de água doce em cinco classes distintas.

A primeira classe é denominada especial, sendo que o uso se destina ao abastecimento humano (com desinfecção) e preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas. A classe 4 (quatro) possui padrões menos restritivos em função dos usos menos exigentes a que ela se destina, como a navegação e harmonia paisagística.

O rio Monjolinho está enquadrado dentro de duas classes segundo o Decreto Estadual nº 10.755, de 22 de novembro de 1977, ou seja, classe 2 (dois) da área de nascentes até a confluência com o córrego do Gregório, e classe 4 (quatro) deste ponto até a Confluência. Neste caso, as concentrações de metais na água serão avaliadas segundo o CONAMA 357 apenas até a confluência com o Gregório, visto que não há restrição para estes parâmetros em rios de classe 4 (quatro).

As águas de rios pertencentes à classe 2 se destinam ao abastecimento humano após tratamento convencional, à proteção das comunidades aquáticas e à recreação de contato primário; à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte; e à aquicultura e atividades de pesca (CONAMA 357, 2005).

No início deste trabalho, a resolução vigente que dispunha sobre as concentrações limites de poluentes em águas doces era CONAMA 20 de 1986, entretanto, em relação aos metais aqui avaliados (cádmio, cromo, cobre, manganês, zinco e ferro), apenas o metal cobre teve as suas restrições modificadas no CONAMA 357/05, passando de 20 µg/L para 9 µg/L para rios de classe 2.

Dentre os metais estudados, o zinco, o manganês, o ferro e o cobre são considerados elementos essenciais ao metabolismo de seres vivos, e normalmente estão presentes em pequenas concentrações nos organismos. Já os metais cromo e cádmio não têm função biológica conhecida, e geralmente são tóxicos a uma grande variedade de organismos. De certa forma, tanto os metais essenciais quanto aqueles sem função biológica conhecida, em altas concentrações podem apresentar toxicidade aos animais e vegetais (ESTEVES, 1988).

Em geral, os metais que apresentaram suas concentrações acima do padrão da resolução CONAMA 357 foram cádmio, cobre, manganês e ferro, sendo que na época seca e de transição para a chuvosa (outubro/03) esses valores foram mais acentuados.

O cromo, apesar de não ser encontrado acima dos limites do CONAMA 357 (50µg/L), esteve presente em todas as amostras durante todos os períodos de coleta, exceto no córrego Tijuco na época chuvosa. As concentrações máxima e mínima registradas foram respectivamente de 0,392 µg/L (Madalena, janeiro/04) e 8,4 µg/L (Ponte Caída, julho/03). Pelo fato do cromo ser um metal raramente encontrado em locais não poluídos, é possível atribuir a presença deste metal nas

amostras de água, aos efluentes gerados pelas indústrias localizadas na cidade de São Carlos, uma vez que o cromo é utilizado, entre outros, em curtumes, cromagem de metais, galvanoplastia, fabricação de corantes, explosivos, cerâmica, vidro e papel (CPRM, 1999; SEILER; SIGERL, 1988).

Em relação ao metal cádmio, foram encontrados valores acima dos limites estabelecidos pela resolução CONAMA 357 (1,0 µg/L) para rios de classe 2 apenas no período seco, entretanto, foi observada a presença do metal em quase todo o sistema, em todos os períodos de coleta. Os valores variaram entre 0 e 4,24 µg/L (Cancã, em janeiro/04), ou seja, cerca de 4,2 vezes superior à concentração recomendada.

A presença de cádmio em todo o sistema, com valores elevados apenas em dois períodos de amostragem (julho/03 e janeiro/04), pode estar relacionada com a utilização de fertilizantes e agrotóxicos em culturas específicas. O cádmio também é muito utilizado em galvanoplastia, mineração, metalurgia, processos de combustão e na fabricação de canalizações plásticas, sendo a maioria destas atividades desenvolvidas em São Carlos, sugerindo um grande impacto do metal por meio de descargas de efluentes industriais.

As concentrações de cobre apresentaram uma variabilidade semelhante ao cádmio, ou seja, as concentrações mais elevadas foram verificadas nas épocas seca e chuvosa, entretanto, todos os pontos pertencentes à classe dois na época seca registraram concentrações acima dos padrões de restrições da resolução CONAMA 357 (9 µg/L). Em janeiro de 2004, apenas no córrego Gregório foi detectada uma concentração acima do CONAMA 357, com valor de 9,758 µg/L. As concentrações mínima e máxima de cobre no sistema Monjolinho foram 0 (zero) e 32 µg/L (Gregório, julho/03), respectivamente, o que é aproximadamente 3,5 vezes superior aos limites estabelecidos.

Provavelmente, a presença do cobre no sistema em estudo é resultante principalmente de atividades agrícolas, uma vez que o metal é largamente utilizado como algicida e fungicida, estando presente em formulações de pesticidas. Vale ressaltar que o cobre também é utilizado, entre outros, na preservação de madeiras, em dejetos de produção intensiva de aves e porcos, em canalizações para abastecimento de água (podendo ocorrer o desgaste), o que demonstra o impacto da industrialização e da agricultura no rio e afluentes.

Quanto ao zinco, foram observadas concentrações abaixo dos limites estabelecidos pela resolução CONAMA 357 (0,18 mg/L) e, portanto, considerado um elemento não problemático para este sistema. Entretanto, o elemento zinco foi detectado em quase todos os pontos de amostragem em todos os períodos de coleta, o que pode ser atribuído aos resíduos gerados em decorrência das queimadas de cana-de-açúcar, cultura predominante nesta bacia hidrográfica.

Os elementos ferro e manganês estiveram presentes em todos os pontos amostrados durante todo o estudo, como observado por Barreto (1999) avaliando o mesmo sistema.

Em relação ao manganês, em geral, as concentrações estiveram abaixo dos limites estabelecidos pelo CONAMA 357 (0,1 mg/L), exceto no córrego do Gregório na época seca, quando os valores atingiram 0,195 mg/L. Analisando todo o sistema, inclusive o trecho enquadrado como classe 4, as concentrações de manganês variaram de 0,007 mg/L (USP, abril/04) a 0,339 (Confluência, em julho/03), demonstrando ser superior aos limites do CONAMA 357 cerca de 3,39 vezes.

Já para o elemento ferro, foi verificada situação mais agravante, visto que as concentrações para todos os pontos em quase todas as coletas estiveram acima das restrições do CONAMA 357 (0,3 mg/L). Para este metal, as concentrações encontradas estiveram cerca de 43 vezes acima dos limites estabelecidos, com valores entre 0,124 mg/L (Nascente, em abril/04) e 13,814 mg/L (Confluência, em outubro/03).

Os elevados teores de ferro podem estar relacionados à composição dos solos da bacia de drenagem do rio Monjolinho, que se caracteriza por solos de composição mineral ricos neste elemento. De acordo com Sperling (1998) o ferro é um dos elementos mais abundantes da crosta terrestre, e por isto, é constantemente encontrado em todos os corpos de água. Ainda, o autor ressalta que as águas de muitas regiões brasileiras, como é o caso de São Carlos, em função das características geoquímicas da bacia de drenagem, apresenta teores de ferro e manganês muitas vezes acima dos limites de potabilidade.

Em decorrência da intensa atividade industrial em São Carlos, os efluentes de atividades metalúrgicas provavelmente contribuem com os valores de ferro registrados neste estudo.

Os dados obtidos por Barreto (1999) para o mesmo sistema, indicaram a presença dos metais zinco, ferro, manganês, cobre, cádmio, níquel, cromo e chumbo

em amostras de água. Grande parte dos metais analisados esteve acima da resolução CONAMA 20/86, sendo que as máximas concentrações detectadas para os metais zinco, ferro, manganês, cobre, cádmio e cromo, foram: 1,92 mg/L, 51,26 mg/L, 0,27mg/L; 80 µg/L; 20 µg/L e 90 µg/L, respectivamente. Comparando os resultados da autora com o presente trabalho, é possível verificar que o sistema Monjolinho se encontra em melhores situações atualmente, uma vez que as concentrações dos metais em 1999 estiveram muito acima dos valores registrados no presente trabalho.

As concentrações de metais dissolvidos em ambientes lóticos estão relacionadas a uma série de fatores como, variações sazonais no fluxo de água, descargas de efluentes urbanos e industriais, pH e condições redox, níveis de detergentes, salinidade e temperatura (FÖRSTNER; WITTMANN, 1983), o que significa que a variabilidade nas concentrações de metais ao longo dos anos pode não estar somente relacionada à tomada de medidas preventivas e corretivas.

Os dados obtidos por Eysink et al. (1988) para o rio Ribeira de Iguapé e o complexo estuarino-lagunar Iguape-Cananéia, demonstraram a contaminação por metais pelos metais pesados (zinco, chumbo e cobre) e por pesticidas. A partir destes resultados, os autores observaram a contribuição de metais, principalmente de chumbo, do rio Ribeira para o complexo lagunar, sendo possível verificar valores cerca de 730 vezes superior aos limites recomendados para a proteção da vida aquática em um dos afluentes (ribeirão das rochas).

Fracácio (2001), estudando o sistema de reservatórios em cascata dos trechos médio e baixo Tietê, verificou que os valores elevados de metais nos reservatórios, principalmente cádmio, eram provenientes dos rios Tietê e Piracicaba. Um estudo realizado pela CETESB (1997) para os mesmos rios, verificou valores de metais acima do CONAMA 20, sendo que o manganês e o cromo apresentaram-se excedentes no rio Piracicaba. O cádmio, o mercúrio e o zinco estiveram em excesso no rio Tietê.

Meletti (1997), estudando a presença de metais no rio Piracicaba (enquadrado como classe 2), verificou concentrações superiores em relação aos limites estabelecidos para os metais zinco em Limeira (2,52 mg/L) e Sumaré (0,25). Neste último ponto, o autor verificou também a presença acima das exigências de cádmio (0,051mg/L) e chumbo (0,0017 mg/L), considerando este local mais impactado em relação aos demais pontos avaliados.

Brigante et al. (2003) verificaram ao longo do rio Mogi-Guaçu (nos estados de São Paulo e Mina Gerais), que as concentrações dos metais cobre, cádmio, cromo, cobalto, zinco, ferro, e manganês estavam acima dos limites estabelecidos pela resolução CONAMA 20 para rios de classe 2. Foram observados valores 20 vezes acima do nível permitido para cobre; 50 vezes para cádmio, 3 vezes para cromo e 30 vezes para ferro. Os autores consideraram que as concentrações de zinco poderiam causar toxicidade para os peixes, uma vez que a CL_{50} estabelecida para estes organismos está em entre 0,026 e 1,36 mg/L, e os valores encontrados atingiram 0,2 mg/L.

Lemes (2001), aos estudar os metais na água e no sedimento rios Mogi-guaçu e Pardo verificou que as concentrações de manganês, alumínio e ferro estavam acima dos níveis permitidos pelo CONAMA 20/86, sendo que cobre, cádmio, cromo e zinco permaneceram em baixas concentrações. O autor observou que as concentrações mais sensíveis foram registradas no período seco, atribuindo estes resultados à baixa capacidade de diluição de poluentes desta época.

Tomazelli (2003), avaliando as concentrações dos metais cádmio, mercúrio e o chumbo, em seis bacias hidrográficas do estado de São Paulo (Alto Paranapanema, Peixe, Aguapeí, São José dos Dourados, Mogi-Guaçu e Piracicaba), observou que as concentrações de cádmio permaneceram abaixo de 0,04 µg/L em todas as amostras, sendo que nos tecidos musculares de peixes, estes valores foram abaixo de 0,05 µg/L). Para chumbo, as concentrações encontradas na água foram inferiores a 0,8 µg/L e nos tecidos de peixes foram inferiores a 0,08 µg/L. No caso do mercúrio, a concentração máxima observada nas amostras de água foi de $24,31 \pm 0,31$ ng/L no rio Peixe (na época seca), já nos tecidos de peixes o valor máximo detectado foi de $1,342 \pm 0,588$ µg/g de peso úmido. A autora considerou que as concentrações de cádmio e chumbo em peixes foram relativamente menores do que nos bivalvia, concluindo que estava ocorrendo ausência de biomagnificação destes metais nos sistemas estudados.

Comparando alguns trabalhos citados é possível observar que as concentrações de metais variam de ambiente para ambiente, podendo ocorrer em maior ou menor grau. De certa forma, na maioria dos estudos com metais em corpos de água, as concentrações verificadas permanecem muito próximas ou acima dos limites estabelecidos pela resolução vigente. Neste contexto, é preocupante a

situação dos ecossistemas aquáticos em relação aos metais, uma vez que a maioria destes elementos é tóxica para os animais, vegetais e o homem, podendo bioacumular em tecidos bem como biomagnificar através da cadeia alimentar.

6.1.3. Avaliação da concentração de pesticidas organoclorados na água.

Durante muitas décadas os pesticidas organoclorados foram utilizados de forma indiscriminada na agricultura e no controle de pragas, entretanto, o uso destes compostos foi proibido devido à constatação de efeitos acumulativo e prejudicial.

Desde a década de 80 o uso de pesticidas organoclorados está proibido no Brasil, no entanto, em inúmeros casos, os resíduos destas espécies químicas têm sido encontrados nos solos, água, sedimentos, organismos terrestres e aquáticos, cuja origem está relacionada ao combate de pragas em diversas culturas agrícolas (SILVA; TONIAL, 2004a).

A entrada de pesticidas no ambiente aquático pode ocorrer de diversas formas, sendo que as fontes principais são provavelmente seu uso na agropecuária, esgoto industrial e municipal, controle de ervas aquáticas e de insetos, e ainda acidentes em depósitos ou durante o transporte de pesticidas ou por descarte inadequado de embalagens utilizadas (DORES; DE-LAMONICA-FREIRE, 1999).

Os compostos organoclorados são os que mais causam impactos no ambiente, uma vez que suas características químicas lhes conferem persistência no ambiente aquáticos por longo período de tempo, podendo levar à sua acumulação na cadeia alimentar em níveis que possam produzir efeitos nocivos principalmente aos organismos que ocupam o topo da cadeia, incluindo o homem. Pesquisas demonstraram que a bioconcentração de compostos lipofílicos, como é o caso dos organoclorados, é mais elevada em organismos que ocupam os níveis tróficos maiores (STEVENS et al., 2003).

Uma vez na água, os pesticidas organoclorados, dependendo de suas características químicas, podem tanto se ligar ao material particulado em suspensão quanto se depositar no sedimento ou ser absorvido por organismos, podendo então ser detoxicados ou acumulados (NIMMO, 1985).

O destino e a distribuição deste compostos na água irá depender de suas propriedades inertes, como estrutura molecular, estabilidade, concentração, solubilidade em água, polaridade, pressão de vapor, reatividade, polaridade e da natureza do ambiente no qual ele está presente, isto é, quantidade de matéria

orgânica, pH, temperatura, materiais em suspensão, etc. (PELAËZ-RODRIGUES, 2001).

No presente trabalho, os pesticidas organoclorados analisados foram os mais utilizados em culturas de cana-de-açúcar para o combate aos insetos, ou seja, aldrin, heptacloro e endosulfan (BRONDI, 2000; CBH-Mogi, 1999), os quais têm o uso proibido no Brasil desde 1985 (Portaria 329/85, Ministério da agricultura), no entanto, ainda utilizados com frequência em áreas agrícolas.

A análise destes compostos na água revelou a presença de aldrin, heptacloro e endosulfan em todos os pontos de amostragem, em pelo menos um período de estudo. De uma forma geral, as concentrações de aldrin e heptacloro ultrapassaram, em todos os pontos de coleta durante o estudo, os limites estabelecidos pela resolução CONAMA 357/05 para rios de classe dois. Já o endosulfan, apenas no ponto USP no período chuvoso a concentração esteve acima do CONAMA 357/05 ($0,056 \mu\text{g/L}$), com valores variando entre 0 e $0,113 \mu\text{g/L}$. Vale lembrar, que entre os pesticidas organoclorados, o endosulfan é o único que ainda tem seu uso permitido no Brasil.

Os valores de heptacloro estiveram entre 0 e $0,0381 \mu\text{g/L}$ (Usina, julho/03), ou seja, chegando atingir cerca de 38,1 vezes acima do CONAMA 357/05 ($0,01 \mu\text{g/L}$). Na nascente, foi possível verificar concentrações cerca de 5 vezes acima do CONAMA 357/05 em janeiro/04 ($0,148 \mu\text{g/L}$) e 5 vezes acima do padrão de potabilidade estabelecido pela Portaria nº 1469/2001 ($0,03 \mu\text{g/L}$).

As concentrações de aldrin foram as mais elevadas encontradas em todo o sistema, sendo possível detectar cerca de 124,2 vezes acima do limite permitido pelo CONAMA 357/05 ($0,005 \mu\text{g/L}$), no ponto USP no período chuvoso. Em relação ao padrão de potabilidade, todos estiveram acima do limite estabelecido ($0,03 \mu\text{g/L}$), sendo que na Nascente, foi registrada uma concentração cerca de 5 vezes acima no período chuvoso.

Em relação ao endosulfan, foram registradas concentrações abaixo do padrão de potabilidade ($20 \mu\text{g/L}$), sendo que no período seco, o pesticida só foi detectado no ponto Cancã ($0,015 \mu\text{g/L}$) e na Nascente (abaixo do limite de detecção).

Os resultados obtidos permitem observar que os pesticidas organoclorados apresentaram uma variação espacial e temporal no sistema, podendo estar presentes em um determinado local no período seco e ausente neste mesmo local

no período chuvoso e vice-versa. Em geral, as concentrações de heptacloro nas amostras de água foram mais elevadas no período seco, enquanto que as concentrações de endosulfan foram mais elevadas no período chuvoso. Em relação ao aldrin, não foi possível determinar um padrão temporal.

Os organoclorados estão sujeitos à degradação e transformação no ambiente, cuja concentração varia muito dependendo do composto e das condições ambientais. As maiores concentrações de heptacloro no período seco podem estar relacionadas ao regime pluviométrico do período, no qual ocorre menor diluição dos poluentes. No entanto, as elevadas concentrações de endosulfan no período chuvoso, podem estar relacionadas ao uso destes compostos em maior quantidade nesta época, demonstrando que o mesmo possa ter chegado ao rio via escoamento superficial dos resíduos agrícolas, bem como pela ressuspensão dos sedimentos, os quais podem ter liberado o pesticida para a coluna d'água.

Pelaéz-Rodrigues (2001), avaliando a água e do sedimento da bacia do alto Jacaré-Guaçu, quantificou 16 tipos de pesticidas organoclorados e de policlorinados bifenis. Em relação aos ciclodienos avaliados no presente estudo, o autor encontrou cerca de 0,010 a 0,195 µg/L de aldrin; 0,049 a 1,036 µg/L de heptacloro e 0,014 a 0,028 µg/L de endosulfan, sendo que as concentrações de aldrin e heptacloro foram mais elevadas no período de estiagem e os valores de endosulfan maiores no período chuvoso, corroborando de certa forma com o presente trabalho.

É importante lembrar que a CL_{50} de aldrin para diferentes espécies de peixes varia entre 0,013 e 0,089 µg/L (CALHEIROS, 1993), ou seja, as concentrações de aldrin detectadas no rio Monjolinho estiveram cerca de 7 vezes acima da concentração superior estabelecida, indicando potencial tóxico deste produto nos pontos onde foram detectados. As elevadas concentrações de aldrin e heptacloro podem estar relacionadas com o emprego das mesmas nas culturas de cana-de-açúcar e em áreas de reflorestamento que são predominantes em grande parte da bacia hidrográfica. Além disto, o uso do aldrin ainda é permitido em tratamento de sementes (fungicida).

As concentrações mais elevadas, em relação aos três compostos avaliados, foram encontradas nos pontos Usina e USP, ou seja, localizados dentro da área urbana de S. Carlos. Assim, os resultados obtidos permitem considerar que apesar de proibidos por lei, os compostos organoclorados continuam sendo utilizados na

bacia hidrográfica do rio Monjolinho, sejam nas grandes áreas com cultivo de cana-de-açúcar ou reflorestamento (depois da área urbana), ou até mesmo por pequenos proprietários que utilizam áreas da bacia para pastagem e culturas temporárias, onde poderiam estar sendo utilizados os compostos em questão.

Um estudo no rio Chopim (Palmas-PR) e seus afluentes (SILVA; TONIAL, 2004a) demonstrou a presença dos organoclorados γ BHC, clordano, DDT, isoclordano, aldrin e metoxicloro em praticamente todas as amostras de água (nove resultados positivos de dez amostras). Em quase toda extensão do rio Chopin, foram encontrados os pesticidas analisados, sendo que para clordano e isoclordano as concentrações estiveram cerca de 2 vezes acima do CONAMA20/86 (0,04 μ g/L); para DDT cerca de 6 vezes acima (0,002 μ g/L). Ainda, os autores detectaram no afluente Caldeiras, onde existe uma captação de água para abastecimento da cidade, concentrações de aldrin cerca de 3 vezes acima do CONAMA20/86 (0,01 μ g/L).

Moraes et al. (2003) detectaram pesticidas organoclorados e organofosforados em todas as amostras de água de rios pertencentes à reserva de floresta brasileira PETAR. Dentre os organoclorados, o heptacloro foi registrado em concentrações cerca de duas vezes acima do CONAMA 20/86, indicando riscos à proteção da vida aquática. Ainda, foram detectados DDT e isômeros (DDE, DDD) e heptacloro nos tecidos de peixes em todos os pontos de coleta.

Rissato et al. (2004), avaliando as concentrações de organoclorados em amostras de água de mananciais, água potável solos da região de Bauru (rios Batalha e Bauru) observaram a presença dos compostos BHC, dieldrin, endosulfan, aldrin, heptacloro e DDT nas três faces avaliadas, sendo que estiveram acima do CONAMA 20 o dieldrin (cerca de 23 vezes), o aldrin (cerca de 44 vezes) e o heptacloro (cerca de 18 vezes). Os autores relacionaram as elevadas concentrações ao uso intensivo destes compostos nas culturas de cana-de-açúcar.

A TABELA 52 mostra as concentrações máximas registradas em amostras de água dos organoclorados aldrin, heptacloro e endosulfan em diversos corpos de água do Brasil, inclusive os resultados obtidos no presente trabalho.

TABELA 52: Concentrações máximas dos organoclorados aldrin, heptacloro e endosulfan ($\mu\text{g/L}$) em amostras de água de diferentes corpos d' água do Brasil, inclusive o presente trabalho.

Corpo de água	Aldrin	Heptacloro	Endosulfan
Rio Monjolinho^a	0,621	0,381	0,113
Rio Monjolinho ^b	0,019	1,036	0,028
Alto Jacaré-Guaçu ^b	0,195	0,941	nd
Rio Chopim ^c	0,003	nd	-
Rio Caldeiras ^c	0,032	nd	-
Rio Bandeira ^c	nd	nd	-
Rio Lontras ^c	nd	nd	-
Rios Bauru e Batalha ^d	0,440	0,180	0,810
Rios do PETAR ^e	-	0,020	-
Ribeirão do Feijão ^b	0,098	0,411	0,020
Rio Paraná (Km 600) ^f	0,018	0,005	-

^a (Presente trabalho); ^b (PELAEZ-RODRIGUES, 2001); ^c (SILVA; TONIAL, 2004);

^d (RISSATO et al., 2004); ^e (MORAES et al., 2003); ^f (LENARDÓN.; LORENZATTI; ENRIQUE, 1998); nd – não detectado; - não analisado.

Comparando-se os resultados obtidos no presente trabalho com alguns reportados na literatura, é possível observar que as concentrações dos pesticidas organoclorados analisados no presente trabalho, estão em concentrações próximas ou superiores nas águas dos rios reportadas por diferentes autores. Entretanto, quase todas as concentrações detectadas em todos os corpos de água estão acima dos limites estabelecidos pela resolução CONAMA 357/05, exceto para aldrin no Rio Chopim (0,003 $\mu\text{g/L}$); heptacloro no rio Paraná (0,005 $\mu\text{g/L}$) e endosulfan no rio Monjolinho em 2001 (0,028 $\mu\text{g/L}$) e no Ribeirão do Feijão (0,020 $\mu\text{g/L}$). Portanto, o uso dos pesticidas organoclorados no Brasil nos dias atuais é fato, podendo estes ser comercializados de forma ilegal, o que torna mais difícil a fiscalização por parte das autoridades.

6.1.4. Variáveis físicas e químicas do sedimento

Para avaliação e caracterização mais abrangente de ecossistemas aquáticos, incluem-se as variáveis relacionadas ao sedimento, uma vez que inúmeros mecanismos e processos de funcionamento destes ambientes ocorrem neste

compartimento, o qual reflete não apenas as influências antropogênicas do meio externo, como também relaciona-se com fatores naturais, dentre os quais a geologia da bacia de drenagem, o clima da região, as condições físicas, químicas e biológicas do sistema. Desta forma, são requeridos estudos específicos da qualidade dos sedimentos em determinados rios e reservatórios (JURACEK; MAU, 2003).

Os contaminantes são transportados para o ambiente aquático em solução ou ligados ao material em suspensão. Durante o transporte, ocorre um armazenamento dos mesmos no sedimento de rios, lagos, estuários, águas costeiras e finalmente oceanos, o que pode representar um grande problema, visto que o sedimento pode constituir uma fonte de poluentes por muito tempo após a descarga dos mesmos (SOARES, 1999). Assim, o sedimento pode ser considerado um reservatório potencial de poluentes, onde sua liberação para a coluna d'água está associada a processos naturais e antrópicos.

No presente estudo, foi possível verificar uma variação espacial e temporal na qualidade dos sedimentos do rio Monjolinho e tributários, com a tendência ao aumento das concentrações de nitrogênio e fósforo no sentido montante-jusante. Entretanto, as concentrações de nitrogênio apresentaram-se baixas para todo o sistema, variando entre 0,007 e 0,256 %. Concomitantemente, neste sistema, ocorreu a predominância de frações de areia na composição granulométrica (areia fina, média e grossa), sendo possível verificar, em menor quantidade, a presença de silte e argila nos pontos UFSCar e Confluência.

Segundo Soares (1999) e Burton (2002), o tamanho das partículas do sedimento está diretamente relacionado à capacidade de adsorver poluentes, sendo que as frações mais finas (silte e argila) possuem maior superfície de contato e, portanto, maior capacidade de ligação. Desta forma, os teores reduzidos de nutrientes no sedimento de todo o sistema podem ser atribuídos à sua composição granulométrica (predominantemente arenosa), que possui baixa capacidade de adsorção. Além disto, neste sistema, também foi observada a predominância de matéria inorgânica sobre a orgânica, variando de 0,05 a 4,95% (Água Fria e Confluência, em julho de 2003, respectivamente).

Segundo Esteves (1988) o sedimento pode ser classificado como orgânico ou inorgânico dependendo do teor de matéria orgânica, ou seja, acima de 10% são considerados orgânicos e abaixo de 10% inorgânicos ou minerais, sendo estes locais com predominância de sílica, argila e compostos com cálcio, ferro, manganês

e outros. Uma vez que a matéria orgânica apresenta alta capacidade de adsorver poluentes e nutrientes, (transformando o sedimento em um grande reservatório de poluentes) (BURTON, 2002; SALOMONS et al., 1987), as baixas concentrações verificadas neste sistema explicam os baixos teores de nitrogênio e fósforo registrados no sedimento.

Apesar de baixas porcentagens de matéria orgânica verificadas no presente estudo, os picos foram registrados nos pontos UFSCar, Tijuco, Usina (dentro da área urbana), demonstrando indícios de poluição orgânica por esgotos sanitários, e nos pontos Cancã, Serra e Confluência (na área rural), representados pelo impacto de pesticidas e fertilizantes utilizados nas culturas de cana-de-açúcar, predominantes na área.

O teor de matéria orgânica no sedimento depende de fatores externos e internos ao meio, como: a precipitação pluviométrica, o escoamento superficial, tipo de substrato, vegetação aquática e marginal, decomposição e influência antrópica na forma de lançamento de efluentes domésticos e industriais, esgotos sanitários e presença de resíduos sólidos no local ou nas proximidades (BARRETO, 1999).

No presente trabalho, as baixas concentrações de matéria orgânica provavelmente estão relacionadas ao transporte de sedimento, uma vez que em sistemas lóticos, a vazão tem forte influência sobre a dinâmica de poluentes.

Resultados semelhantes foram obtidos para o mesmo sistema por Barreto (1999). Os teores de matéria orgânica estiveram abaixo de 10% em todo o sistema, exceto para o ponto Usina (32,2%), atribuindo este valor à entrada de esgotos domésticos. As concentrações de nitrogênio registradas foram baixas quando comparadas com outros sistemas da região (Jacaré-Guaçu), sendo observado o valor máximo de 1,14 % no período chuvoso. A autora também verificou a relação entre composição granulometria (arenosa), a porcentagem de matéria orgânica e os baixos valores de nitrogênio orgânico total.

Guereschi (1995), também verificou os mesmos resultados obtidos pelo presente trabalho e por Barreto (1999) ao estudar o rio Monjolinho, atribuindo os baixos valores nutrientes à predominância de areia nos sedimentos. As concentrações de matéria orgânica neste trabalho foram inferiores a 3,5%.

Em relação ao fosfato, verificou-se que seguiu o mesmo perfil obtido para o nitrogênio, ou seja, em geral as concentrações registradas foram baixas, exceto para os pontos UFSCar, Usina, e Confluência que apresentaram os valores mais

elevados, com o registro máximo de 766,55 $\mu\text{g/g}$ na Confluência (outubro/03). Os tributários Tijuco, Cancã e Serra, também apresentaram concentrações elevadas de fosfato, o que provavelmente influenciou nos altos valores detectados no pontos do rio acima mencionado. De acordo com Thomas (1987), os sedimentos com concentrações inferiores a 420 ppm, podem ser considerados não poluídos assim, 17,4 % dos pontos amostrados durante todo o estudo podem ser considerados preocupantes.

São várias as fontes de matéria orgânica e nutrientes nos ecossistemas aquáticos: folhas que caem das árvores da mata ciliar; partículas finas dos solos das matas; escoamento superficial pelo solo; material húmico e detritos de carbono; nitrogênio na forma de material adsorvido sobre partículas minerais do solo (SOLLINGS; GLASSMAN; DAHM, 1985), sendo que a coluna d'água funciona como interseção entre as fontes citadas e o sedimento.

Neste estudo, as elevadas concentrações de fosfato ocorreram apenas em alguns pontos de coleta, podendo ser relacionadas ao aporte antrópico de fósforo dos efluentes domésticos, industriais, bem como a entrada de resíduos gerados pela intensa agricultura desenvolvida após a área urbana da bacia.

Mendes (1998) ao avaliar a qualidade do sedimento em vários pontos do rio Monjolinho, verificou que as concentrações de fosfato total apresentaram-se mais elevadas no sedimento em relação à coluna d'água. Já para nitrogênio, as concentrações foram mais elevadas na água, chegando a apresentar teores cerca de 220 vezes mais elevados. Os valores elevados de nitrogênio e fósforo foram relacionados à entrada de matéria orgânica proveniente dos esgotos domésticos, uma vez que na área urbana foram registrados picos de concentração.

Quanto à variabilidade temporal, foi possível observar que as concentrações de nitrogênio e fosfato no sedimento foram obtidas no período seco e transição (outubro/03), exceto para os pontos UFSCar e USP. Possivelmente, isto ocorreu em função da baixa pluviosidade, promovendo menor ressuspensão dos sedimentos neste período, e também pelo menor escoamento superficial de fertilizantes provenientes de áreas cultivadas.

Um estudo no rio Mogi-Guaçu (LEMES, 2001) verificou que as maiores concentrações de fosfato no sedimento foram detectadas no período seco, variando entre 4,94 e 63,43 $\mu\text{g/g}$. Neste trabalho, o autor encontrou uma relação entre a porcentagem de matéria orgânica nos sedimentos com a decomposição de vegetais,

a qual variou entre 0,11 e 26,5 %. Semelhante ao verificado neste trabalho, foram observadas baixas porcentagens de matéria orgânica e de fosfato total foram relacionadas ao sedimento predominantemente arenoso. Vale ressaltar, que em análises mineralógicas no sedimento, o autor encontrou predominância de certos grupos argilominerais (caulinita, illita, vermiculita), sugerindo que em alguns pontos de amostra poderia ocorrer maior ou menor troca de elementos entre sedimento e coluna d'água.

Silva (2002), estudando o mesmo sistema (Mogi-Guaçu), verificou a predominância de matéria inorgânica sobre orgânica no sedimento, com porcentagens de matéria orgânica variando entre 0,89 e 48%, relacionando as porcentagens elevadas com as regiões densamente povoadas no entorno dos locais de coleta. A granulometria predominante foi arenosa, entretanto, variando em relação aos períodos estudados (seco e chuvoso).

Já o estudo realizado por Brigante et al. (2003) para o rio Mogi, revelou variações entre 0,9 % e 48% de matéria orgânica; 0,01 e 0,39 % de nitrogênio e 100 e 610 $\mu\text{g/g}$ de fosfato total, sendo os maiores valores observados no período seco. Os autores encontraram uma variação espacial e temporal na composição granulométrica dos sedimentos, e associaram ao regime pluviométrico e vazão do rio.

Comparando-se os resultados obtidos pelos autores acima para o rio Mogi-Guaçu, é possível notar que os ambientes lóticos são extremamente variáveis em curtos períodos de tempo, podendo apresentar valores mais elevados de nutrientes e matéria orgânica ora no período seco, ora no período chuvoso.

Se por um lado o período seco é caracterizado pela baixa diluição de poluentes, o período chuvoso é característico pelo escoamento superficial de fertilizantes e de pesticidas. Esta situação pode ser observada no rio Monjolinho comparando-se estudos anteriores (BARRETO 1999; GUERESCHI, 1995; MARINELLI et al., 2000; MENDES, 1998). Em geral, os sedimentos da bacia hidrográfica do rio Monjolinho são predominantemente arenosos, apresentando alta capacidade de liberar poluentes para a coluna d'água, representando assim, um risco potencial para os organismos planctônicos e nectônicos.

Andrade (2003), ao avaliar a qualidade do sedimento no trecho médio da bacia do Rio Doce, verificou que as concentrações de fósforo eram mais elevadas que as concentrações de nitrogênio, obtendo valores que variavam entre 0,04 e 0,53

$\mu\text{g/g}$; e 0,05 a 0,197 %, respectivamente. O autor considerou que o sedimento predominantemente arenoso aliado às baixas concentrações de matéria orgânica, constituem uma fonte com alta capacidade de liberação de poluentes para a coluna d'água, concordando, de certa forma com o presente trabalho.

6.1.5. Avaliação da concentração de metais no sedimento.

Os sedimentos têm sido utilizados como indicadores ambientais, principalmente em função de sua capacidade de acumular metais, e disponibiliza-los para a coluna d'água (SOARES, 1999). Além de armazenadores de metais, os sedimentos são berços de inúmeras transformações químicas destes elementos, uma vez que os processos ocorridos podem modificar as características físicas e químicas, alterando o equilíbrio entre as fases sólidas e dissolvidas.

As fontes de metais no sedimento podem ser naturais (intemperismo de rochas, lixiviação de solos e entrada de minerais) (ESTEVES, 1988;) e antrópicas (atividades industriais, escoamento urbano e agrícola), sendo que a última tem sido alvo de preocupações, pois podem afetar o funcionamento do ecossistema aquático (LLOYD, 1992).

A biodisponibilidade de metais é influenciada por fatores físicos (temperatura, fase de associação, adsorção, regime deposicional) químicos (equilíbrio termodinâmico, cinética de complexação, solubilidade em lipídios) e biológicos (interações tróficas, adaptações fisiológicas ou bioquímicas, microhabitats, tamanho e idade dos organismos, características da espécie) (NEWMAN; JAGOE, 1994).

Segundo Salomons et al. (1987), a interface sedimento-água é marcada por um gradiente de oxidação-redução, sendo que, como consequência da degradação de matéria orgânica por bactérias, por exemplo, as zonas de redução e oxidação podem migrar acima ou abaixo das camadas superiores de sedimento, promovendo um fluxo de metais entre os compartimentos.

Fatores importantes que podem alterar a disponibilidade de metais são os ligantes químicos. Eles podem ser de natureza orgânica ou inorgânica, incluindo carbonatos, sulfatos, cloretos, fluoretos, hidróxidos, nitratos, matéria orgânica, ácidos húmicos, entre outros (STUMM; MORGAN, 1981), agindo de forma direta ou indireta na disponibilidade de metais. O seqüestro de um metal e complexação e influência sobre o funcionamento das brânquias de peixes, são exemplos da influência direta e

indireta de ligantes na disponibilidade de metais, respectivamente (YOUNG; HARVEY, 1989).

No presente trabalho foram realizadas análises de metais biodisponíveis no sedimento ao invés de metais totais, uma vez que, a fração biodisponível é aquela que está pronta para interagir com a biota. Segundo Moalla et al (1998), para avaliação de impacto de sedimentos poluídos, a determinação de metais totais não é suficiente, visto que ela não prevê o comportamento de mobilidade dentro do compartimento referido.

Os metais biodisponíveis analisados foram Cd, Cr, Cu, Zn, Mn e Fe. As concentrações obtidas neste trabalho foram comparadas com o guia de qualidade de sedimentos elaborado pelo “Canadian Council of Ministers of the Environment” (CCME, 2003), com o nome de “Canadian Environmental Sediment Quality Guidelines” uma vez que a resolução CONAMA 357/2005 não estabelece critérios para sedimentos. Este guia estabelece as concentrações de metais que devem ou não causar efeitos adversos aos organismos aquáticos. Para classificar o grau de poluição dos sedimentos, foi utilizada a classificação de Thomas (1987), que considera a concentração de metais totais.

De uma forma geral, foi possível observar que entre todos os pontos amostrados, aqueles que estão localizados na área urbana (UFSCar, Tijuco, USP, Usina), juntamente com o ponto Confluência, foram os que apresentaram maiores teores de todos os metais estudados. As exceções foram encontradas para o elemento manganês, o qual os pontos Água Fria e Serra apresentaram valores mais elevados.

Dentre os metais analisados, o cobre esteve presente em todos os pontos amostrados, e durante todo o período de estudo, com concentrações mais elevadas nos pontos UFSCar, Tijuco, Usina e Confluência nos períodos seco e intermediário (de transição para chuva). Vale ressaltar, que a utilização de cobre ocorre principalmente em indústrias elétricas e automobilísticas, sendo encontrado também em formulações de pesticidas e fertilizantes, o que justifica os valores mais elevados encontrados na área urbana e na Confluência do sistema.

Barreto (1999) também verificou, para o mesmo sistema, concentrações mais elevadas de cobre nos pontos localizados na área urbana, sendo que os picos foram registrados no período seco, corroborando com o presente trabalho.

Em relação ao elemento cádmio, as concentrações variaram em relação ao período de coleta e ao gradiente longitudinal, podendo observar ausência do elemento em determinado período, e concentrações significativas em outra coleta para o mesmo ponto de amostragem. Os pontos Madalena, Cancã e Serra não apresentaram cádmio no período seco, entretanto não foi realizada coleta no período chuvoso. Já no ponto USP, o elemento não foi registrado durante todo o estudo. Os resultados obtidos levam a considerar que as concentrações de cádmio no sistema têm influência de despejos pontuais de atividades industriais e pesticidas, visto que os valores variam em relação ao tempo e ao espaço. Ainda, na Nascente foi detectada a presença de cádmio em quase todos os períodos de coleta (máximo 0,03 µg/g), exceto em outubro/03, demonstrando a utilização de pesticidas e fertilizantes que contém este elemento em sua formulação. Foi observado no entorno a predominância de pastagens e estufas de hortaliças que possivelmente utilizam água do manancial (PELATTI, 2004).

Outros trabalhos demonstraram a presença de cádmio em área de nascentes (MOREIRA, 2001; SILVA, 2002). Moreira (2001), estudando o ribeirão Preto e o rio Pardo detectou concentrações de 1,90 mg/Kg (nascente) e 4,0 mg/Kg (confluência). Silva (2002), avaliando as concentrações de metais biodisponíveis no rio Mogi-Guaçu, verificou a presença de 5,0 mg/Kg de cádmio na nascente em março de 2001, atribuindo os elevados valores registrados à intensa utilização de pesticidas nas culturas de bata e morango, que são predominantes na área do entorno. Já Andrade (2003), ao estudar a bacia do Rio Doce (MG) não detectou a presença de cádmio durante todos os períodos de coleta, sendo que o limite de detecção do método era de 0,002 mg/Kg.

O cromo foi registrado em maiores concentrações nos pontos UFSCar, USP e Confluência, com concentrações entre 0 – 4,50 µg/g. Em condições naturais, o cromo é encontrado em concentrações muito baixas, sendo que em regiões consideradas não impactadas, os valores se apresentam em torno de 0,3 mg/Kg (MOORE; RAMAMOORTHY, 1984). Desta forma, as elevadas concentrações deste metal certamente estão relacionadas ao despejo de efluentes industriais, uma vez que o metal é utilizado na metalurgia, cromagem, fabricação de aço, corante de tecidos, purificação de óleos e gordura, dessecador em colas, tintas e gels, entre outros (LARINI, 1993).

Barreto (1999), avaliando a biodisponibilidade de metais no rio Monjolinho, verificou concentrações de cromo extremamente elevadas (0,3 a 18,50 mg/Kg), principalmente na área urbana. Comparando os resultados do presente trabalho com os obtidos pela autora, é possível verificar que as concentrações de cromo biodisponíveis apresentadas neste trabalho foram cerca de 4,11 vezes menores, no entanto, as concentrações dos metais nos sedimentos de ambientes aquáticos, dependem de inúmeros fatores. Desta forma, a redução nos teores de cromo no sistema não significa necessariamente uma melhoria no processo de tratamento de efluentes, tampouco no monitoramento das emissões em questão.

De acordo com Moore e Ramamoorthy (1984.), em regiões naturais não impactadas as concentrações de metais no sedimento são de 0,2 mg/Kg para o cádmio, 0,2 mg/Kg para o cobre, 0,3 mg/Kg para o cromo, 7,4 mg/Kg a 53,8 mg/Kg para o chumbo e de 47 a 50 mg/Kg para o zinco. Dentre os metais avaliados, apenas o cádmio apresentou concentrações dentro do intervalo estabelecido para condições naturais. O zinco, por exemplo, apresentou valores cerca de 26,56 vezes acima da concentração esperada para regiões não impactadas, sendo que apenas na nascente o elemento esteve ausente em quase todos os períodos, exceto abril/04 (0,125 mg/Kg). A acentuada concentração de zinco na Confluência em outubro/03 pode ter ocorrido em decorrência das queimadas da cana-de-açúcar e da utilização de inseticidas e fertilizantes à base do elemento (MAHAN, 1995).

Os íons ferro e manganês são elementos abundantes na crosta terrestre naturalmente, e mesmo em concentrações reduzidas, são sempre encontrados em ecossistemas aquáticos (ESTEVES, 1988).

As concentrações de ferro e manganês foram as mais elevadas em relação aos demais metais avaliados, sendo que o máximo registrado foi de 192 g/Kg de ferro e 2,5 g/Kg de manganês na Confluência em outubro/03. No entanto, Barreto (1999) também verificou valores próximos aos encontrados no presente trabalho para teores de ferro no mesmo sistema. Deve-se considerar que, apesar do elemento ferro e manganês serem utilizados em indústrias metalúrgicas e provavelmente estarem contidos nos efluentes industriais da área urbana de São Carlos, as concentrações verificadas para os dois elementos possivelmente também recebem contribuições dos solos da região, originários de decomposição mineral, os quais são abundante em ferro e manganês.

Peláez-Rodrigues (2001), ao avaliar a concentração de metais biodisponíveis no Alto Jacaré-Guaçu, verificou que os íons ferro e manganês estavam presentes em todas as amostras, sendo que os valores máximos analisados em pontos do rio Monjolinho foram de 936 mg/Kg e 87 mg/Kg, respectivamente. Em comparação com os resultados obtidos no presente trabalho e no estudo apresentado por Barreto (1999) para o mesmo sistema, é possível notar que as concentrações de ferro foram extremamente menores.

Uma análise comparativa dos resultados obtidos no presente trabalho com alguns reportados na literatura (ANDRADE, 2003; BARRETO, 1999; BRIGANTE et al., 2003; PELAÉZ-RODRIGUES, 2001) estão apresentados na TABELA 53.

TABELA 53: Resultados da concentração máxima detectada de metais biodisponíveis (mg/Kg) em trabalhos reportados na literatura para diferentes corpos de água, comparados com os resultados obtidos no presente trabalho.

Corpo de água	Cd	Cr	Cu	Mn	Zn	Fe
Rio Monjolinho ^a	0,0871	4,50	27,719	2470,0	1328,0	19196,0
Rio Monjolinho ^b	nd	18,50	23,0	158,0	139,90	18678,10
Rio Monjolinho ^c	*	0,35	10,48	87,0	24,89	936,0
Córrego do São José ^c	*	0,39	5,86	308,0	8,49	3025,0
Rio Jacaré-Guaçu ^c	*	nd	2,31	157,0	3,15	1306,0
Bacia do Rio Doce ^d	nd	0,214	0,114	20,338	0,771	59,130
Rio Mogi-Guaçu ^e	0,55	4,1	17,4	1161,0	16,35	5760,0

^a Presente trabalho; ^b BARRETO (1999); ^c PELAÉZ-RODRIGUES (2001); ^d ANDRADE (2003); ^e BRIGANTE et al. (2003); nd – não detectado; * não analisado.

Comparando as concentrações máximas de metais biodisponíveis com os teores determinados por Barreto (1999) para o rio Monjolinho, Pelaéz-Rodrigues (2001) para o rio Monjolinho e Córrego São José, Andrade (2003), para a bacia do Rio Doce e no rio Mogi-Guaçu (Brigante et al., 2003) é possível observar que as concentrações de metais em sistemas lóticos são extremamente variáveis para um mesmo sistema e entre os ecossistemas aquáticos. Neste sentido, é importante lembrar que a poluição de sedimentos de rios pode apresentar grandes variações, em função da periodicidade, intensidade e natureza na introdução dos mesmos, por modificações na vazão da água, por precipitação ou pela água de drenagem que

podem provocar modificações na granulometria, no conteúdo de carbono e na taxa de sedimentação (Barreto, 1999).

Em relação à proteção da vida aquática, foi possível observar que apenas as concentrações de zinco nos pontos UFSCar (exceto abril/04), Tijuco (jul/03 e jan/04) e Confluência (outubro/03 e janeiro/04), estiveram acima dos valores estabelecidos para a proteção da vida aquática no Sediment Quality Criteria (CCME, 2003), atingindo valores cerca de 10,79 vezes acima, na Confluência. Para os metais ferro e manganês não foi possível avaliar, pois não existem os critérios.

SQG^a	Cd (mg/Kg)	Cr (mg/Kg)	Cu (mg/Kg)	Zn (mg/Kg)
TEL [*]	0,60	37,3	35,7	123
PEL ^{**}	3,53	90	197	315

SQG, Sediment quality guideline

^{*}Threshold effect level – Concentração abaixo da qual raramente são esperados efeitos adversos para os organismos.

^{**} Probable effect level - Concentração acima da qual é freqüentemente esperado o efeitos adversos para os organismos.

^a CCME, 2003.

É necessário lembrar que os metais avaliados são aqueles que estão “prontos” para os organismos absorverem. Segundo Moore; Ramamoorthy (1984), a CL₅₀ (96h) para peixes varia de 0,5 a 5,0 mg/L de zinco. Considerando os valores de zinco biodisponíveis obtidos no presente trabalho (Confluência - 1328 mg/Kg, outubro/03; UFSCar – 486 mg/Kg, em outubro/03; Tijuco – 253 mg/Kg, em julho/03), ou seja, cerca de 265,6, 3,95 e 2,05 vezes acima do valor máximo estabelecido de toxicidade para peixes, respectivamente, é possível concluir que o sedimento dos pontos citados representam um risco potencial para a sobrevivência dos organismos. Além disto, o zinco tem um potencial bioacumulativo, podendo se concentrar nos órgãos dos peixes.

As baixas concentrações de metais biodisponíveis no sedimento também podem estar relacionadas aos baixos teores de matéria orgânica e à predominância arenosa dos sedimentos, como já mencionado neste capítulo. No entanto, apesar das concentrações de metais biodisponíveis no presente trabalho, em quase sua totalidade, não apresentarem prováveis efeitos adversos aos organismos aquáticos segundo o critério Canadense, futuramente esta situação pode se reverter se caso não houver um monitoramento dos lançamentos de efluentes industriais, da

utilização de pesticidas e fertilizantes agrícolas e da elaboração de uma estação de tratamento de esgotos da cidade de São Carlos.

Para avaliar os sedimentos em relação ao grau de poluição por metais, foi utilizada a classificação de Thomas (1987), onde existem três categorias de poluição (não poluído, moderadamente poluído, altamente poluído) determinadas com base na concentração de metais totais em sedimentos (TABELA 54).

TABELA 54: Classificação do grau de poluição de sedimentos, utilizando a concentração de metais totais (mg/Kg).

Metal	Não poluído	Moderadamente poluído	Altamente Poluído
Cd	-	-	6
Cr	<25	25 - 70	>70
Cu	<25	25 - 50	>50
Mn	<300	300 - 500	>500
Zn	90	90 - 200	>200
Fe	<17000	17000 - 25000	>25000

Fonte: Thomas (1987).

Em relação aos metais Cd e Cr, os sedimentos de todos os pontos avaliados no presente trabalho podem ser considerados não poluídos. O ponto Confluência foi considerado moderadamente poluído em relação aos metais cobre (out/03) e zinco (jan/04), e altamente poluído em relação ao manganês (out/03 e jan/04) e zinco (out/03). Em outubro/2003, também pode ser considerado moderadamente poluído com ferro. Foi possível classificar o ponto UFSCar em relação ao zinco e manganês, sendo que em relação ao primeiro o local foi considerado não poluído em abril/04, moderadamente poluído (jul/03 e jan/04) e altamente poluído em outubro/03. Em relação ao manganês, o sedimento passou de moderadamente poluído em julho/03 para altamente poluído em outubro/03. Os pontos Madalena (jul/03), Usina (jan/04), Ponte Caída (jul/03) e Tijuco (jan/04) foram considerados moderadamente poluídos em relação ao zinco, sendo que em julho/03, o córrego do Tijuco passou a ser altamente poluído. Água Fria e Serra em julho/03 foram considerados altamente poluídos por manganês, os córregos Tijuco e Cancã foram moderadamente poluídos no mesmo período para o mesmo metal (TABELA 55).

TABELA 55: Avaliação do comportamento dos sedimentos do rio Monjolinho e tributários em diferentes épocas de amostragem, em relação ao grau de poluição por metais biodisponíveis, segundo Thomas (1987).

Metais ►	Cu				Zn				Mn				Fe			
Períodos de amostragem ►	J	O	Ja	A	J	O	Ja	A	J	O	Ja	A	J	O	Ja	A
Pontos de coleta ▼																
UFSCar																
Madalena																
Tijuco																
Usina																
Água Fria																
Ponte Caída																
Cancã																
Serra																
Confluência																

J: julho/03; O: outubro/03; Ja: janeiro/04; Ab: abril/04.

Não poluídos (**branco**); Moderadamente poluídos (**cinza**), Altamente poluídos (**preto**).

A partir da classificação na tabela acima é possível observar que os sedimentos do rio Monjolinho e tributários podem apresentar variações em relação ao grau de poluição por compostos metálicos em diferentes períodos do ano. Estas variações podem estar relacionadas a todos os fatores mencionados anteriormente, no entanto, é possível visualizar que o sistema recebe contribuição pontual de zinco e manganês, principalmente nos meses de julho e outubro, ou seja, os períodos de menor diluição dos poluentes.

Diante do exposto, torna-se evidente a influência antropogênica nos sedimentos de pontos localizados principalmente na área urbana e na Confluência do sistema. Embora as concentrações de metais biodisponíveis tenham sido detectadas em menor grau em relação aos estudos realizados anteriormente no mesmo sistema, não necessariamente isto significa que houve uma melhora no grau de poluição do rio Monjolinho, uma vez que ainda é possível verificar concentrações mais elevadas de metais em pontos localizados dentro da área urbana.

6.1.6. Avaliação da concentração de pesticidas organoclorados no sedimento.

A determinação de compostos organoclorados em sedimentos pode ser uma fonte importante de informações para avaliar a contaminação de origem antrópicas nos ecossistemas aquáticos (SILVA; TONIAL, 2004b). Embora sua análise não conduza exatamente à toxicidade em meios aquosos, ela pode permitir estudos comparativos das fontes de poluição (FÖRSTNER; WITTMANN, 1983).

Os pesticidas provenientes de áreas agrícolas podem se acumular nos sedimentos, sendo que estas concentrações estão relacionadas com o diâmetro das partículas (COPE, 1966), quantidade de argila e temperatura (HUANG, 1971) e principalmente teor de matéria orgânica (BURTON, 2002).

As amostras de sedimento do presente trabalho apresentaram maiores valores de pesticidas organoclorados no período seco, com exceção do pesticida aldrin nos pontos UFSCar, USP, Usina. As concentrações de aldrin estiveram entre zero e 0,07 $\mu\text{g/Kg}$; de heptacloro entre zero e 10,64 $\mu\text{g/Kg}$; e de endosulfan entre zero e 9,11 $\mu\text{g/Kg}$.

Em relação ao “Canadian Environmental Sediment Criteria Guidelines” (CCME, 2003), só existe limites estabelecidos para o organoclorado heptacloro, sendo 0,6 $\mu\text{g/Kg}$ o valor de TEL e 2,74 $\mu\text{g/Kg}$ o valor de PEL. Desta forma, apesar do pesticida em questão ser detectado apenas nos pontos Ponte Caída e Confluência, as concentrações na estiagem estiveram acima do limite estabelecido, atingindo cerca de 18 vezes acima.

Os maiores valores detectados no período seco se devem principalmente à menor remobilização dos sedimentos neste período, uma vez que há menor turbulência das águas. Este fato pode ser observado principalmente para endosulfan, o qual esteve presente no sedimento apenas no período seco, onde não esteve presente na água, indicando a liberação deste composto para a coluna d'água no período de chuvas.

Silva (2000) ao avaliar a concentração de compostos organoclorados nos sedimentos do rio Piracicaba, verificou que as concentrações de endosulfan estiveram mais elevadas no período de estiagem, corroborando com o presente trabalho.

Em relação ao heptacloro, as concentrações no período de estiagem foram mais elevadas nos sedimentos dos pontos Cancã e Confluência, e na água dos

pontos UFSCar e Usina. Já no período chuvoso, o pesticida só foi detectado nos pontos Nascente (concentração mais elevada na água) e na Confluência, onde os valores foram mais elevados no compartimento sedimento.

O aldrin foi detectado, na época seca, em concentrações mais elevadas nos sedimentos dos pontos Ponte Caída, Serra e Confluência, sendo que os pontos UFSCar, Usina e Cancã, apresentaram maiores valores na água. Em janeiro/04, as concentrações de aldrin foram maiores nos sedimentos dos pontos UFSCar e Confluência, e na água dos pontos Nascente, USP e Usina.

Diante do exposto, é possível observar que a presença de compostos organoclorados aldrin e heptacloro não apresentaram um padrão, podendo variar nos compartimentos água e sedimento nos diferentes períodos amostrados. Apenas no ponto Confluência foi possível observar um padrão, uma vez que durante todo o período de estudo, os três pesticidas analisados estiveram presentes em maiores concentrações no compartimento sedimento, o que provavelmente está relacionado às maiores porcentagens de matéria orgânica registradas neste ponto.

Segundo Castilho et al. (2000) a concentração de compostos organoclorados e a matéria orgânica aumentam com a diminuição do tamanho das partículas. Assim, no presente trabalho a tendência é que os pesticidas organoclorados, ao invés de serem depositados nos sedimentos eles se tornem livres na coluna d'água, e conseqüentemente disponíveis à biota, face ao elevado teor de areia e ao baixo teor de matéria orgânica. Além disto, os organoclorados apresentam baixa solubilidade em água, o que representa uma tendência à deposição nos sedimentos.

No entanto, a concentração destes compostos na água ou no sedimento, não depende somente de fatores físicos, como a presença de matéria orgânica, ou tamanho das partículas. Deve-se também considerar os fatores químicos, como temperatura, pH e potencial de óxido-redução, natureza dos ligantes químicos, natureza do composto organoclorados, bem como a mistura de vários compostos e diferentes formulações, e fatores biológicos (absorção e transformação dos compostos) que dependem da espécie, e de fatores intrínsecos como idade, sexo, tamanho do organismo, etc. Ainda, é necessário considerar a intensidade e o tipo de utilização dos compostos organoclorados nos diferentes locais de estudo e períodos de amostragem.

No mesmo sistema, a avaliação de compostos organoclorados no sedimento (PELÁEZ-RODRIGUES, 2001) demonstrou a presença de aldrin, heptacloro, e

endosulfan em concentrações máximas de 0,69µg/Kg (Nascente); 14,0 µg/Kg (Nascente) e 0,52 µg/Kg (Ponte caída), respectivamente. O autor verificou que no período chuvoso, as concentrações de pesticidas no sedimento foram mais elevadas que na água, atribuindo estes resultados ao processo de lixiviação dos solos e entrada de material particulados com resíduos provenientes da bacia hidrográfica. O heptacloro foi detectado em elevadas concentrações nos períodos seco e chuvoso, indicando possíveis efeitos adversos à biota.

Como é possível observar, as concentrações de compostos organoclorados num mesmo sistema pode variar no decorrer dos anos em função dos fatores acima mencionados, no entanto, as concentrações de heptacloro registradas pelo autor no ano de 2001 já se apresentavam elevadas com alto risco para os organismos aquáticos. No presente trabalho, as concentrações de heptacloro no sedimento ultrapassaram os limites estabelecidos pelo critério de qualidade de sedimento (CCME, 2003), corroborando com o trabalho citado. Alguns trabalhos avaliaram as concentrações de pesticidas organoclorados nos sedimentos de corpos d'água brasileiros. Na TABELA 56 estão apresentadas as máximas concentrações detectadas em diversos rios brasileiros reportadas por diferentes autores.

TABELA 56: Concentrações máximas dos compostos organoclorados aldrin, heptacloro e endosulfan (µg/Kg) em amostras de sedimento de diferentes corpos d'água do Brasil, inclusive o presente trabalho.

Corpo de água	Aldrin	Heptacloro	Endosulfan
Rio Monjolinho ^a	0,07	10,64	9,11
Rio Monjolinho ^b	0,69	14,00	0,41
Ribeirão do Feijão ^b	0,70	21,87	0,35
Rio Piracicaba ^c	45,00	7,00	38,00
Rio Mogi-Guaçu ^d	29,30	nd	nd
Rio Chopim ^e	0,12	1,02	-
Rios PETAR ^f	-	0,40	-

^a (Presente trabalho); ^b (PELÁEZ-RODRIGUES, 2001); ^c (SILVA, 2000); ^d (BRIGANTE et al., 2003); ^e (SILVA; TONIAL, 2004b); ^f (MORAES et al., 2003); nd – não detectado; - não analisado.

Comparando-se o presente trabalho com resultados das concentrações de pesticidas organoclorados em sedimento de diferentes rios reportados pelos autores acima, pode-se considerar que o rio Monjolinho apresenta-se, de certa forma, menos

impactado em relação ao composto aldrin, o que não foi notado para os pesticidas heptacloro e endosulfan, que apresentaram concentrações próximas ou superiores aos demais corpos d'água.

De acordo com Silva e Tonial (2004b), a presença de pesticidas organoclorados em elevadas concentrações em sedimentos de superfície, principalmente aldrin e DDT, mostra um elevado grau de contaminação de um sistema. Neste caso, o heptacloro foi o único que esteve acima do critério de qualidade de sedimento, indicando uma situação preocupante que requer medidas urgentes de remediação.

Os inseticidas avaliados no presente trabalho são substâncias que não ocorrem naturalmente no ambiente e sua presença é resultante principalmente de alterações na paisagem e na forma de manejo dos solos agrícolas. São produtos extremamente perigosos, que podem desencadear efeitos mutagênicos e cancerígenos, cujos produtos de degradação no ambiente podem se apresentar tão ou mais tóxicos que os compostos originais.

A contaminação de ecossistemas aquáticos com pesticidas organoclorados não se restringe ao Brasil. Inúmeros estudos têm reportado elevadas concentrações destes compostos em vários sistemas aquáticos do mundo (BORDAJANDI *et al.*, 2003; JURACEK; MAU, 2003; LÓPEZ-MARTIN; RUIZ-OLMO; BORRELL *et al.*, 1995; OSFOR; ABD EL WAHAB; EL DESSOUKI, 1998; ROVEDATTI *et al.*, 2001), inclusive na região do Ártico, onde estes compostos jamais foram utilizados (AYOTTE *et al.*, 1995).

Diante do exposto, verifica-se que apesar das leis, a contaminação dos rios por pesticidas continua preocupante, considerando o elevado número de habitantes que utilizam a água para abastecimento, irrigação, piscicultura, etc. No presente trabalho, é possível considerar que as principais fontes destes compostos são o escoamento superficial e lixiviação dos solos cultivados com cana-de-açúcar e o reflorestamento, atividades que são predominantes na bacia hidrográfica, além da provável utilização destes pelos pequenos proprietários.

6.2. – ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS DO SISTEMA MONJOLINHO.

6.2.1 – Avaliação dos efeitos na sobrevivência e crescimento dos organismos-teste utilizados nos bioensaios com amostras de sedimento

A ecotoxicologia permite avaliar e compreender os efeitos de poluentes em diversos organismos aquáticos por meio de bioensaios de toxicidade em laboratório ou *in situ*. Estes testes podem avaliar a toxicidade relativa de diversos agentes químicos para uma ou diversas espécies, e a sensibilidade dessas espécies ao agente tóxico. São importantes ainda na determinação de concentrações seguras de agentes químicos para a preservação da vida aquática e para a qualidade das águas e sedimentos (ZAGATTO, 1999).

A espécie *Danio rerio* é bastante utilizada em bioensaios ecotoxicológicos com peixes, uma vez que já foi padronizada por órgãos ambientais. No entanto, no presente trabalho optou-se também pela utilização da espécie *Poecilia reticulata* como organismos-teste, visto que além de ser recomendada para tal finalidade, trata-se de uma espécie introduzida em grande parte do mundo (ENDLER, 1980) e adaptada ao sistema Monjolinho (BARRETO, 1999), a qual responde melhor às condições encontradas nos ambientes naturais onde vivem.

A confiabilidade de um teste de toxicidade depende da saúde dos organismos a serem testados. Para tanto, alguns requisitos são avaliados como a homogeneidade e a sensibilidade dos lotes a uma substância de referência. De acordo com a ABNT (2003) os organismos-teste devem ser homogêneos e não apresentar más formações. Neste trabalho, todos os lotes utilizados nos bioensaios de toxicidade apresentaram-se homogêneos, proporcionando melhor confiabilidade nos resultados obtidos.

Em relação à sensibilidade, todos os lotes de *D. rerio* e *P. reticulata* se apresentaram dentro das faixas estabelecidas no presente trabalho. Na literatura, não foi encontrada uma faixa de sensibilidade para a fase juvenil de *P. reticulata*, exigindo um grande número de testes para a padronização. Assim, a CL₅₀ (48hs) encontrada para juvenis de *P. reticulata* foi de 79,43 mg/L, sendo o limite superior de 121,48 mg/L e o inferior de 37,39 mg/L de dicromato de potássio.

Meletti (1997), avaliando a sensibilidade de várias espécies de peixes ao cromo, verificou que em dois bioensaios agudos, a CL₅₀ (24hs) para adultos de *P.*

reticulata situaram-se em 71,91 mg/L (50,15 – 103,11 mg/L) e 97,74 (91,55 – 104,36).

Em relação à espécie *D. rerio*, os testes agudos com dicromato de potássio no presente trabalho resultaram numa CL₅₀ (96hs) para os organismos juvenis, de 101,30 mg/L, sendo o limite superior de 140,91 mg/L e o limite inferior de 19,80 mg/L.

Bertoletti (2000) obteve uma CL₅₀ (96hs) média de dicromato de potássio para organismos jovens de *D. rerio* de 19,0 mg/L, não apresentando uma faixa de sensibilidade. Ainda, aumentando o período de exposição para 168 horas nas mesmas condições, a concentração letal permaneceu no mesmo valor. O autor verificou que os efeitos tóxicos de dicromato para juvenis de *D. rerio* não se altera em função dos períodos de exposição, entretanto, os jovens se apresentaram mais sensíveis que os embriões em 168 horas de teste.

De acordo com Fracácio (2001), as larvas de *D. rerio* expostas ao dicromato de potássio apresentam uma CL₅₀ (24 hs) de 52,68 mg/L (36,53 – 68,87) mg/L.

Tonissi (1999) verificou a CL₅₀ (96 hs) de 35,35 mg/L e 40,93 mg/L de dicromato de potássio para adultos de *D. rerio*. As condições mantidas nos bioensaios com dicromato de potássio no presente trabalho se assemelham mais às condições utilizadas por Bertoletti (2000), ou seja, bioensaios com organismos na fase juvenil e tempo de exposição de 96 horas. Por este motivo, somente há possibilidade da comparação dos resultados obtidos no presente trabalho com o autor em questão. Neste contexto, a concentração letal encontrada pelo autor (19,0 mg/L de dicromato) apresentou-se menor que a CL₅₀ obtida neste trabalho (101,30 mg/L). Entretanto, estes resultados não apresentam grandes significados, uma vez que a sensibilidade é um fator intrínseco a cada organismo, e está diretamente ligada às características genéticas do indivíduo. Desta forma, as diferenças quanto à sensibilidade dos organismos entre diferentes laboratórios bem como numa mesma prole, são esperados.

Em relação aos bioensaios crônicos parciais, em geral, foi possível observar que em janeiro de 2004 as porcentagens de mortalidade foram mais elevadas para as duas espécies estudadas quando comparadas com os bioensaios realizados na época seca. No entanto, o esperado era que as porcentagens de toxicidade fossem mais elevadas em julho de 2003, uma vez que as concentrações de metais e

pesticidas foram mais elevadas, bem como as concentrações de fosfato, nitrogênio orgânico e matéria orgânica.

Segundo Sprague (1985) são vários os fatores que podem influenciar na toxicidade de compostos orgânicos e inorgânicos. Em águas moles, por exemplo, a toxicidade de compostos químicos inorgânicos é maior, e esta situação tem sido observada para várias espécies em relação ao zinco, cobre, cádmio e mistura destes elementos (SPRAGUE op. cit.).

O pH exerce maior influência na toxicidade da maioria dos compostos químicos do que a dureza (MAYER et al, 1994). Existem duas situações diferentes que ocorrem mediante valores ácidos de pH. Uma delas é que em meios mais ácidos, os compostos orgânicos e inorgânicos, principalmente metais, passam para a forma aquosa livre, sendo mais tóxicos para os organismos aquáticos do que as formas não dissociadas. Outra forma consiste na competição entre íons H^+ e íons metálicos pelos sítios de adsorção/complexação com nas paredes celulares dos organismos. O autor enfatiza, que em pH muito ácido, os íons H^+ vencem esta competição, e a toxicidade é desencadeada pelos baixos valores de pH ao invés da intoxicação por metais.

Os valores de potencial redox são importantes para a compreensão da disponibilidade de metais em sedimentos. Estes valores se tornam negativos (reduzidos), quando os sedimentos apresentam um excesso de matéria orgânica aliados à elevada atividade oxidativa, criando condições propícias à maior remoção de metais, e conseqüentemente, à maior toxicidade deste compostos aos organismos.

Acompanhando-se as variáveis pH e dureza durante os bioensaios do presente trabalho, não foi possível verificar a relação descrita acima em nenhuma das épocas de coleta, uma vez que, não necessariamente, estes valores estiveram mais baixos no final dos bioensaios.

Os valores de potencial redox no presente trabalho (NOVELLI, 2005) foram mais reduzidos no período seco, indicando que as elevadas porcentagens de mortalidade para *D. rerio* e *P. reticulata* em janeiro/04 não tiveram relação direta com este parâmetro.

Em decorrência das condições químicas e físicas do compartimento sedimento no presente trabalho, esperava-se que a toxicidade das amostras fosse mais elevada em julho/03, uma vez que neste período as concentrações de metais

biodisponíveis, nutrientes, pesticidas, apresentaram-se mais elevadas. Ainda, a menor diluição das águas nesta época e os valores reduzidos de potencial redox são fatores que poderiam elevar a toxicidade dos poluentes. No entanto, verificou-se que a quantificação de poluentes nos sedimentos não está diretamente relacionada aos graus de toxicidade verificados nos organismos aquáticos.

De fato, ESPÍNDOLA; BRIGANTE; DORNFELD (2003), ao realizarem a correlação entre a concentração de metais biodisponíveis em amostras de sedimento do rio Mogi-Guaçu e as respostas de toxicidade dos organismos testados (*Ceriodaphnia dubia*; *Daphnia similis* e *Chironomus xanthus*) verificaram resultados contraditórios. Os autores enfatizam que em amostras ambientais, em que ocorrem misturas de elementos, a relação entre a concentração e o efeito tóxico não é direta.

Tal situação pode ser confirmada pelos resultados dos bioensaios com amostras de água relacionadas ao presente trabalho (FRACÁCIO, em andamento). Neste compartimento, verificou-se que nos bioensaios crônicos parciais com *D. rerio* e *P. reticulata* as porcentagens de mortalidade também foram mais elevadas em janeiro/04, ou seja, no período em que as concentrações de metais foram mais baixas, indicando que pode estar ocorrendo a influência de outros fatores na toxicidade das amostras de água e sedimento do rio Monjolinho. Em relação à água deve ser considerada a presença de elevadas concentrações de pesticidas organoclorados neste período.

De certa forma, mesmo em concentrações mais baixas de poluentes (janeiro/04), foram observados neste trabalho resultados preocupantes em relação à sobrevivência dos organismos. Analisando-se as características físicas e químicas ao início e término dos bioensaios com ambas as espécies nos dois períodos amostrados foi possível verificar um aumento nos valores de condutividade, que pode estar relacionado com a liberação de compostos a partir do sedimento.

Fracácio (2001) realizou análises limnológicas em amostras de água ao término de bioensaios com sedimentos de reservatórios do Médio e Baixo Tietê, e verificou que a liberação de materiais para a coluna d'água era significativa, indicando que a mortalidade dos organismos-teste (peixes) nos bioensaios pode ter ocorrido em função desta liberação de poluentes. A autora verificou que as maiores concentrações de metais na água dos bioensaios foram registradas no período de maio/2000, onde ocorreram menores porcentagens de mortalidade dos indivíduos. De certa forma, os resultados obtidos no presente trabalho corroboram com a

autora, uma vez que as maiores porcentagens de mortalidade dos organismos-teste foram observadas em períodos com menores concentrações de metais e pesticidas nos sedimentos.

Vale ressaltar, que o efeito tóxico dos metais biodisponíveis depende, entre outros fatores, de sua especiação (que não foi determinada no presente trabalho) e das características físicas e químicas do sedimento. A especiação é uma característica muito importante na toxicidade de metais a organismos aquáticos, uma vez que diferentes espécies químicas de um mesmo elemento apresentam diferentes efeitos biológicos (MORRISON; BATLEY; FLORENCE; 1989). Ainda, no presente trabalho foram realizadas análises de compostos orgânicos e inorgânicos individualmente, o que não oferece informações em relação à consequência de misturas de poluentes. Os poluentes orgânicos ou inorgânicos nos sedimentos e na coluna podem estar sofrendo efeitos sinérgico ou antagônicos, modificando a toxicidade dos compostos individualmente.

Segundo Zagatto (1999) o antagonismo é o fenômeno em que a mistura de poluentes apresenta menor toxicidade em relação à esperada pela simples soma da toxicidade de cada agente químico. Já o sinergismo, é o fenômeno em que a toxicidade da mistura de poluentes é maior do que à esperada pela soma da toxicidade de cada composto químico.

Estudos realizados em laboratório utilizando bioensaios agudos e de longa duração com *D. rerio* com misturas de 3,4-dicloroanilina e lindane (ENSENBACH; NAGEL, 1995), demonstraram que as substâncias testadas separadamente exerciam maior toxicidade que a mistura binária. No entanto, Broderius e Kahl (1985), ao examinarem a toxicidade a *Pimephales promelas* de 27 químicos orgânicos em misturas complexas verificaram o efeito sinérgico na maioria dos casos.

As maiores porcentagens de mortalidade observadas no período chuvoso, com concentrações menores dos compostos químicos analisados podem estar relacionadas com a pluviosidade, responsável pelo maior carreamento de poluentes para o sistema e maior revolvimento do sedimento, que favorece a liberação dos poluentes fracamente adsorvidos às partículas do sedimento, tornando-os mais disponíveis para a coluna d'água e, conseqüentemente, para os organismos-teste.. Ainda deve-se considerar, que no presente trabalho não foram avaliados os sulfetos volatilizáveis por acidificação. Os metais podem se apresentar na forma de sulfetos

metálicos altamente insolúveis, e portanto, não disponíveis para os organismos. Neste caso, quando presentes em altas concentrações, os sulfetos exercem forte controle na distribuição dos metais (ESPÍNDOLA; BRIGANTE; DORNFELD, 2003).

É importante mencionar que no presente trabalho não foram realizadas análises de outros compostos orgânicos e inorgânicos na água e sedimentos, como mercúrio, chumbo, níquel, alumínio, DDT e isômeros, metoxicloro, clordano, policlorinados bifenis e outros, os quais poderiam estar desencadeando toxicidade nos diferentes períodos amostrados.

De fato, Pelaéz-Rodrigues (2001), ao avaliar a concentração de pesticidas organoclorados e policlorinados bifenis no sedimento da bacia do Alto Jacaré-Guaçu, verificou, no rio Monjolinho, a presença de isômeros de DDT (4,4 DDE + Dieldrin; 4,4 DDD) em concentrações elevadas (21,55; 3,42; mg/Kg, respectivamente). O autor ainda detectou os compostos metoxicloro, lindane, e PCBs, bem como os compostos analisados neste trabalho, sendo que, as concentrações mais elevadas foram observadas no período chuvoso. Considerando que o Critério de Qualidade de Sedimento (CCME, 2003) estabelece uma concentração TEL (limiar de proteção à vida aquática) de 1,42 µg/Kg de DDE, verifica-se que a concentração de DDE+ dieldrin na nascente detectada pelo autor esteve cerca de 15 vezes acima do referido limite.

Dentre os pontos amostrados no presente trabalho, tanto no período seco quanto no período chuvoso, as porcentagens de mortalidade para *D. rerio* foram mais elevadas nos pontos localizados dentro área urbana, demonstrando o impacto dos efluentes domésticos e industriais nestes locais. No entanto, para a espécie *P. reticulata* no período chuvoso, todos os pontos amostrados apresentaram-se altamente tóxicos.

Em relação aos demais pontos de coleta, merece destaque a Nascente, que apresentou-se altamente tóxica em ambos os períodos, com porcentagens de mortalidade de 75% para *P. reticulata* (julho/03); e 85% e 91,66% de mortalidade para *D. rerio* e *P. reticulata* em janeiro/04, respectivamente. Considerando-se o critério estabelecido pela USEPA (1976) para assegurar a sobrevivência de várias espécies de peixes e organismos aquáticos mais resistentes (4,0 a 12,0 µg/L de cádmio), verificou-se que as concentrações de cádmio biodisponíveis detectadas na Nascente do presente trabalho, no período chuvoso (0,032 mg/Kg), poderiam estar desencadeando alta toxicidade, uma vez que foram cerca de 2 a 8 vezes acima dos

limites estabelecidos citados. Além disto, a análise de discriminantes também demonstrou uma forte influência de cromo no sedimento da nascente.

Os resultados dos bioensaios demonstraram uma variação nas respostas das diferentes espécies estudadas. Em relação à *D. rerio*, tanto no período seco quanto no período chuvoso, as porcentagens de mortalidade apresentaram uma tendência à diminuição no sentido montante-jusante, com picos de toxicidade no ponto Usina (15% no período seco e 85% no chuvoso), indicando a influência dos tributários a montante. Em julho/03, como o córrego Mineirinho não apresentou toxicidade, provavelmente o córrego do Gregório pode ter contribuído para a toxicidade no ponto Usina, que apesar de baixa, foi um pico neste período. Apesar da impossibilidade de coletar amostras de sedimento do Gregório, as análises de nutrientes, metais e outras (pH, oxigênio dissolvido, turbidez, condutividade) em amostras de água demonstraram uma situação preocupante neste tributário.

Em relação aos bioensaios com *P. reticulata*, as porcentagens de mortalidade foram elevadas em todos os pontos amostrados. Em julho/03, as porcentagens de mortalidade no rio Monjolinho estiveram acima de 70%, sendo possível registrar 75% de mortalidade na Nascente. Dentre os tributários, a porcentagens de mortalidade estiveram entre 51 e 100%, nos córregos Serra e Madalena, respectivamente. No período chuvoso, a situação foi mais preocupante, visto que a maioria dos pontos amostrados apresentou quase 100% de mortalidade, exceto nos pontos Mineirinho (66,6%) e Usina (83,33%).

Diante dos resultados apresentados, foi possível observar que a espécie *P. reticulata* demonstrou ser mais sensível que a espécie *D. rerio*, uma vez que em todos os pontos amostrados nos dois períodos de coleta esta apresentou maiores porcentagens de mortalidade.

A sensibilidade de uma espécie está intimamente relacionada a fatores genéticos, fisiológicos e bioquímicos, sendo que a capacidade de metabolizar compostos e estabelecer um equilíbrio dependem de cada organismos. Desta forma, tal situação já era esperada, uma vez que os sedimentos, principalmente aqueles de locais poluídos apresentam uma gama de compostos tóxicos dissolvidos, sendo que alguns deles podem ser nocivos a uma espécie de peixe e outros, a outras espécies de peixes.

Neste sentido, Vitozzi e De Angelis (1991) avaliando a sensibilidade de cerca de 200 compostos químicos considerados tóxicos a diferentes espécies de peixes

(*Lepomis macrochirus*, *Cyprinus carpio*, *Salmo gairdneri*, *Poecilia reticulata*, *Pimephales promelas*, *Brachydanio rerio*, *Oryzias latipes* e *Leuciscus idus*) verificaram que entre espécies de peixes pode acontecer o que se chama de “toxicidade aguda e espécie seletiva”, ou seja, que cada espécie apresenta uma sensibilidade à determinada substância.

Diferenças nas respostas de espécies de peixes submetidos a bioensaios de toxicidade com amostras de sedimento também foram detectados por Meletti (1997). O autor realizou bioensaios ecotoxicológicos com as espécies *Poecilia reticulata*, *Hyphessobrycon bifasciatus*, *Cheirodon atenodon* e *Prochilodus scrofa* com amostras de sedimento da bacia do rio Piracicaba, e verificou que a sensibilidade das espécies variavam nas diferentes amostras.

De acordo com STEPHAN et al. (1983) a sensibilidade de espécies de peixes pertencentes à mesma família é muito mais semelhante do que entre espécies de diferentes famílias. De fato, Bertoletti (2000) testando a sensibilidade de *D. rerio* a diversos tipos de poluentes e comparando com as respostas de *Pimephales promelas*, verificou uma semelhança para a maioria dos compostos estudados, atribuindo este resultado ao fato de as duas espécies pertencerem à família Cyprinidae,

Diante dos resultados apresentados é possível considerar a importância da utilização de diferentes espécies como organismos-teste, uma vez que nenhuma espécie apresenta sensibilidade a todos os compostos químicos (BURTON, 1992). Neste sentido, também é necessário mencionar a relevância de testes de toxicidade crônicos-parciais, uma vez que os bioensaios de toxicidade aguda, muitas vezes não representam as condições reais do ambiente, podendo subestimar os efeitos tóxicos das substâncias em concentrações sub-letais.

Fracácio et al. (2001), realizou bioensaios de toxicidade aguda com amostras de sedimento do rio Monjolinho em alguns pontos que coincidem com o presente trabalho, utilizando indivíduos adultos de *D. rerio* como organismos-teste. Os resultados obtidos pelos autores revelaram ausência de toxicidade aguda em todos os pontos amostrados, concluindo que seria necessária a realização de bioensaios com períodos de exposição mais extensos e com organismos-teste mais jovens.

Tonissi (1999), ao realizar bioensaios agudos com amostras de sedimento do reservatório de Salto Grande (Americana) com *D. rerio* (adultos) também verificou ausência de mortalidade. Durante uma exposição crônica com larvas da mesma

espécie, o autor constatou indícios de toxicidade e até mesmo, amostras que se apresentavam altamente tóxicas.

No entanto, quando se pretende avaliar os efeitos sub-letais de substâncias tóxicas em peixes, devem ser considerados outros parâmetros, como: crescimento, alterações fisiológicas e bioquímicas, lesões em tecidos, reprodução (BRAUNBECK, 1994), visto que, em muitos casos, não ocorre o efeito extremo (mortalidade).

No presente trabalho foram avaliados os parâmetros peso e comprimento padrão dos indivíduos sobreviventes nos testes de toxicidade crônicos-parciais, por meio da estatística de Mann-Withney, comparando-se os organismos submetidos às amostras de sedimento com os organismos expostos no grupo controle. Nos locais onde foi verificada mortalidade acima de 90% não foi possível realizar a biometria final, pois a quantidade de organismos restante não seria suficiente para a aplicação da análise estatística.

Em julho/03, foram verificadas diferenças significativas em relação ao parâmetro comprimento de *P. reticulata* expostos nos pontos UFSCar, Tijuco, Ponte Caída, Cancã, Serra e Confluência. Em relação ao peso no mesmo período, dos pontos citados apenas o Tijuco não apresentou diferenças significativas em relação ao controle. Na espécie *D. rerio* não foram detectadas diferenças em relação ao controle em nenhum dos parâmetros analisados.

Em janeiro/04, em decorrência da elevada mortalidade de *P. reticulata* não foi possível realizar a biometria na maioria dos pontos amostrados, exceto para o córrego Mineirinho, onde não foram detectadas diferenças em relação ao peso e comprimento dos organismos-teste em relação ao controle. Em relação à *D. rerio* não foram detectadas diferenças nos parâmetros em questão.

Diante do exposto é possível verificar que as espécies apresentaram diferentes sensibilidades aos compostos dissolvidos no sedimento, como já mencionado anteriormente, e que além do efeito na sobrevivência dos organismos-teste nos bioensaios de toxicidade crônicos parciais, as condições do ambiente não se mostraram satisfatórias para o crescimento dos organismos, como o ganho de biomassa, por exemplo. Portanto, pode-se considerar que em determinadas amostras de sedimento do rio Monjolinho e dos tributários (UFSCar, Tijuco, Ponte Caída, Cancã, Serra e Confluência) no período seco, está ocorrendo efeitos crônicos sobre os organismos avaliados.

Fracácio (2001), por meio de bioensaios crônicos-parciais com amostras de sedimento de reservatórios do sistema Médio e Baixo Tietê, utilizando larvas de *D. rerio*, observou efeitos crônicos nos parâmetros peso e comprimento dos organismos-teste. A autora verificou que nos períodos de amostragem que foram detectadas as maiores porcentagens de sobrevivência, foram registradas alterações significativas nos parâmetros peso e comprimento dos indivíduos expostos às amostras de sedimento em relação ao lote controle.

Woltering (1984), ao realizar uma revisão dos resultados de bioensaios de toxicidade realizados num período de 25 anos, enfatizando os efeitos crônicos no crescimento de inúmeras espécies de peixes marinhos e de água doce expostos às várias classes de compostos químicos (pesticidas, metais, efluentes complexos, e outros), verificou um alto grau de variabilidade nas respostas dos organismos. Os resultados extremamente variáveis foram atribuídos à biologia das espécies, às diferenças nos procedimentos laboratoriais, e à toxicidade específica de cada espécie, ou seja, algumas espécies são mais sensíveis a determinados poluentes do que outras espécies.

Spliid e Torslov (1994) atribuem diferentes graus de inibição em bactérias *Pseudomonas fluorescens* expostas ao PCP e à anilina, ao tipo de substância e concentração das mesmas, indicando as diferenças na sensibilidade dos organismos mediante compostos com diferentes modos de ação.

Roex; Vries e Van Gestel (2002), avaliando a sensibilidade de fases iniciais de *D. rerio* a compostos com diferentes modos de ação (1,2,3 – trichlorobenzene, um narcótico não-polar e paration) observaram que a eclosão e sobrevivência das larvas foram afetadas depois de 28 dias de exposição elevadas concentrações de 123TCB (263 µg/L), sendo que nos tratamentos com paration isto não foi observado. Por outro lado, o crescimento das larvas foi negativamente afetado após exposição ao paration na concentração de 20 µg/L, enquanto que com o 123TCB não foram observados efeitos neste parâmetro. Os autores consideraram que os bioensaios com parte do ciclo de vida de peixes (28 dias de exposição) são mais sensíveis que os testes agudos e menos sensíveis que estudos crônicos, sendo este fator dependente do modo de ação dos compostos.

Diante das informações expostas, é evidente que as diferenças observadas nos parâmetros peso e comprimento dos indivíduos de *D. rerio* e *P. reticulata* estão relacionadas às diferenças na sensibilidade das espécies aos diferentes compostos

presentes nas amostras de sedimento. No entanto, os efeitos sub-letais foram detectados de forma mais intensa na espécie representativa do ambiente, indicando que os impactos no rio Monjolinho provenientes de atividades industriais e agrícolas, bem como de esgotos sanitários, podem representar riscos à vida aquática e, conseqüentemente, ao equilíbrio do sistema.

Além dos efeitos na sobrevivência e crescimento, a alteração dos tecidos é outro parâmetro extremamente importante para avaliar os efeitos sub-letais de poluentes em peixes. O capítulo seguinte discute as alterações nos tecidos branquiais de organismos expostos nas amostras de sedimento do presente trabalho.

6.2.2. Avaliação das alterações histopatológicas nas brânquias dos organismos expostos em amostras de sedimento

A avaliação histopatológica das brânquias foi realizada nos organismos que sobreviveram aos bioensaios de toxicidade crônicos-parcial com amostras de sedimento, com o objetivo de observar os danos que precedem os efeitos extremos, ou seja, a mortalidade.

Em ambientes degradados, onde os poluentes ocorrem em concentrações crônicas e sub-letais, as modificações na estrutura e função dos organismos aquáticos ocorrem mais freqüentemente do que a mortalidade em massa (POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994). Segundo Ewald (1995) os danos histológicos são precedidos por respostas bioquímicas e fisiológicas, e quando são detectados em organismos expostos em bioensaios de toxicidade, os efeitos adversos são inquestionáveis.

As brânquias da maioria de peixes teleósteos são formadas por quatro arcos branquiais nos quais estão inseridas duas fileiras de filamentos branquiais ou lamelas primárias, as quais são denominadas holobrânquias. Na região interbranquial se encontram os vasos sanguíneos, músculos e terminações nervosas. Na superfície dos filamentos braquiais ocorre uma série de dobras em espaços regulares que dão origem às lamelas secundárias, onde ocorrem as trocas gasosas (HUGHES, 1984).

As brânquias são compostas basicamente por três tipos de células, as pavimentosas ou respiratórias, as células cloreto (que são responsáveis pelas trocas iônicas) e as células mucosas (que desempenham a função de proteção das

brânquias a partir de produção de muco) (NEWMAN; JAGOE, 1994). O epitélio não respiratório é formado por várias camadas de células, enquanto que o epitélio respiratório (lamelas secundárias) é formado por duas camadas de células pavimentosas (PERRY; LAURENT, 1993), sendo que o primeiro representa a maior parte da superfície branquial (96%), e o restante (4%) é constituído pelo epitélio dos filamentos branquiais (não respiratório) (LAURENT; DUNEL, 1980).

Desta forma, as brânquias apresentam uma grande área superficial, através da qual as trocas gasosas entre o sangue e o meio externo ocorrem (NEWSTEAD, 1987), e pelo fato deste órgão estar constantemente em contado direto com a água, facilmente as substâncias tóxicas presentes no ambiente aquático podem interferir na função das mesmas, tornando-as um alvo primário para a toxicidade.

Segundo Poleksic e Mitrovic-Tutundzic (1994), além de trocas gasosas, as brânquias desempenham outras funções vitais (como excreção, osmorregulação) e pelo fato deste órgão não ser protegido como a pele e a boca, sua sensibilidade é maior.

As trocas gasosas entre a água que passa nos espaços interlamelares e o sangue que circula no interior das lamelas secundárias ocorre via difusão por um sistema de contra-corrente, ou seja, a direção do fluxo sanguíneo é sempre oposta ao fluxo d'água. Este mecanismo mantém um gradiente de difusão, de modo que o oxigênio difunde-se para o meio interno e o CO₂ para o meio externo (HUGHES; SHELTON, 1962).

No presente trabalho foram realizadas análises histológicas apenas nos organismos da espécie *D. rerio* que sobreviveram nos bioensaios crônicos-parcial com amostras de sedimento, uma vez que a espécie *P. reticulata* apresentou elevada mortalidade em ambos os períodos de amostragem, demonstrando a toxicidade aguda deste compartimento para a espécie em questão.

As brânquias dos organismos de *D. rerio* expostos às amostras de sedimento apresentaram lesões mais acentuadas no período chuvoso do que no período seco, exceto no ponto Confluência, onde foi possível observar que a intensidade das alterações foi semelhante. Este resultado demonstra que realmente o sistema apresentou maior toxicidade aos organismos estudados em janeiro/04, confirmando a tendência de efeitos tóxicos mais pronunciados demonstrados pelas porcentagens de mortalidade no mesmo período.

De forma geral, as alterações encontradas foram hiperplasia de células epiteliais no filamento branquial e nas lamelas secundárias com fusão parcial e total de várias lamelas, dilatação de capilares sanguíneos nas lamelas secundárias e no seio venoso central, congestão vascular nas lamelas secundárias e deslocamento do epitélio estratificado das lamelas secundárias.

Com exceção do ponto UFSCar, nos demais pontos localizados no rio Monjolinho, não foi possível verificar quais apresentaram as alterações de forma menos intensa, visto que os organismos expostos pareciam ter sofrido lesões com intensidade semelhantes. No entanto, as amostras de sedimento do ponto UFSCar foram as que apresentaram maiores impactos sobre as brânquias dos organismos-teste, uma vez que foi detectada fusão total de todas as lamelas secundárias, o que representa uma lesão de segundo grau.

A proliferação do epitélio respiratório tanto quanto outras mudanças como a hiperplasia em grande área e fusão de lamelas, são mecanismos de defesa das brânquias que promovem o aumento da barreira água-sangue, dificultando ou até mesmo impedindo as trocas gasosas.

Segundo Pawert; Müller e Triebkorn (1998) a hiperplasia de lamelas secundárias geralmente ocorre em animais expostos em ambientes altamente poluídos, sendo que estes sintomas, conseqüentemente, levam à fusão de lamelas vizinhas. Os mesmos autores desenvolveram uma classificação que relaciona o grau de alteração em tecidos branquiais de acordo com o grau de poluição do sistema aquático. Neste contexto, dentre outras lesões, os autores consideraram que um epitélio hiperplástico com a fusão total de duas lamelas secundárias já pode ser considerado tecido exposto em ambiente altamente poluído. Tal situação pôde ser verificada no ponto UFSCar, onde os indivíduos apresentaram fusão total de todas as lamelas secundárias, demonstrando um alto grau de impacto deste trecho do rio Monjolinho.

Em relação aos tributários, os córregos Madalena, Tijuco e Água quente apresentaram proliferações entre as lamelas secundárias menos acentuadas que os demais, no entanto, dilatação de vasos sanguíneos e tendência à congestão vascular foram alterações também verificadas, sendo que estas lesões estiveram mais pronunciadas nos dois primeiros córregos.

Segundo Temmink et al. (1989), a fusão de lamelas secundárias é induzida por altas concentrações de substâncias tóxicas, e o deslocamento do epitélio pode

ser considerado uma resposta inicial da brânquia, podendo ser induzida por baixas concentrações destas substâncias (ROBERTS, 1989). No presente trabalho, apenas os organismos expostos nos pontos USP e Confluência apresentaram deslocamento do epitélio. Entretanto, os indivíduos submetidos aos sedimentos de todos os pontos do Monjolinho apresentaram diversos tipos de alterações nas brânquias, não apenas de um tipo.

Nas brânquias dos organismos expostos à amostra de sedimento no córrego Água Fria, foi possível observar a produção excessiva de muco entre as lamelas secundárias. Segundo HEATH (1987), metais como cádmio, chumbo, zinco, e cobre estimulam a secreção de muco pelas células mucosas, os quais são consideradas importantes barreiras contra agentes patogênicos, na regulação e difusão iônica (HANDY; EDDY; ROMAIN, 1989).

Assim como a hiperplasia, a hipersecreção e a elevação epitelial aumentam a barreira água-sangue, podendo ser considerados mecanismos de defesa contra agentes tóxicos (POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994).

Alguns estudos têm demonstrado que a perda na integridade das brânquias pode estar relacionada a uma deficiência na concentração de eletrólitos no sangue, como sódio, cloreto e cálcio, a qual vem sendo observada depois da exposição de peixes de água doce à pesticidas, à metais, tais como mercúrio, cromo, zinco, cobre e cádmio (FU; LOCK; WENDELAAR BONGA, 1989; LOCK; CRIJSEN; VAN OVERBEEKR, 1981; MALLATT; STINSON, 1990; REID; McDONALD, 1988; SPRY; WOOD, 1985). Isto ocorre, porque em relação aos metais os mesmos podem afetar a permeabilidade da brânquia, uma vez que eles deslocam os íons cálcio das membranas, estabilizando-se em locais das brânquias (LAURÉN; McDONALD, 1985). É por este motivo, que geralmente em águas mais duras, os metais podem ser menos tóxicos aos peixes.

Em razão das concentrações de metais e pesticidas organoclorados detectados na água e sedimento dos pontos amostrados no rio Monjolinho, é possível supor que as lesões identificadas nos organismos-teste possam ser em decorrência da presença de tais substâncias. No entanto, deve-se considerar que não foram realizadas análises de pesticidas organofosforados, PCBs, mercúrio, chumbo, alumínio, e outras substâncias que poderiam estar presente no sistema.

Fanta et al. (2003), avaliando os efeitos de Folidol 600 (metil paration 600g/L) nas brânquias da espécie *Corydoras paleatus*, por meio de bioensaios agudos com

concentrações sub-letais, verificou que depois de uma hora de teste, 23,33 % das brânquias expostas já apresentavam alterações significativas em relação ao controle, sendo que depois de quatro horas este número aumentava para 65%. Neste período, os autores verificaram hiperplasia de células epiteliais, edemas e afinamento de vasos sanguíneos, que causaram o aumento da barreira para a difusão de oxigênio cerca de 10 vezes maior que nos controles, onde o tamanho se apresentava entre 7,5 e 15,8 μm . No período entre oito horas de teste até as 96 horas finais ocorreram necroses, rompimento do epitélio provocado por forte edema, deformação de células pilares, vasos sanguíneos expandidos e irregulares, diminuição de núcleos de eritrócitos, expansão de células cloreto, e conseqüentemente, o surgimento de uma barreira com cerca de 40 μm para difusão de oxigênio. Nestas condições, 80% das brânquias já exibiam mudanças morfológicas.

Cerqueira e Fernandes (2002), avaliando a recuperação de tecidos branquiais de indivíduos da espécie *Prochilodus scrofa* expostos em concentrações de 29 $\mu\text{g/L}$ de cobre num período de 96 horas, verificaram severas alterações histopatológicas, como hipertrofia de células epiteliais e células cloreto, hiperplasia do epitélio do filamento, elevação do epitélio branquial e redução da área respiratória. As mudanças vasculares eram caracterizadas por aneurismas e ruptura de vasos sanguíneos acompanhado de hemorragias, além de fusão parcial e total de lamelas e células necróticas. Os autores observaram que o tempo necessário para a recuperação do tecido branquial, depois que os peixes foram removidos para água limpa, foi no mínimo de 30 dias.

As brânquias de indivíduos juvenis de *D. rerio* expostos às concentrações de aldrin e heptacloro consideradas seguras para a proteção da vida aquática (0,01 $\mu\text{g/L}$), vigentes em 2004 durante a realização deste trabalho (CONAMA 20/86) causaram lesões significativas nos tecidos braquiais de *D. rerio*. As alterações mais comuns foram hiperplasia e redução da área respiratória; dilatação de capilares sanguíneos nas lamelas secundárias e proliferação de células seguido de espessamento da lamela, deslocamento do epitélio branquial na área respiratória; e dilatação em regiões do seio venoso central.

O pesticida aldrin apresentou maior toxicidade aos organismos-teste, uma vez que foram encontradas lesões mais severas, como aneurismas, logo nas

concentrações mais baixas (0,01 µg/L). Vale lembrar, que as concentrações de aldrin e heptacloro detectadas na maioria das amostras de água e sedimento do rio Monjolinho foram mais elevadas do que a mínima concentração utilizada nos bioensaios realizados em laboratório (0,01µg/L) que causou alterações branquiais nos organismos-teste. Estes resultados demonstram que as condições do rio Monjolinho podem afetar a vida dos peixes que habitam estes ambientes.

O estudo de De Silva e Samayawardhena (2002), demonstrou que juvenis de *guarus* expostos à concentrações sub-letais de Lorsban (composto organofosforado) durante 14 dias demonstravam sinais de paralisia, deformações e alterações histopatológicas nas brânquias. Na concentração de 1,0 µg/L do produto comercial, as lamelas secundárias apresentavam-se menos desenvolvidas que no grupo controle e algumas delas fundidas, sendo que na concentração de 2,0 µg/L observavam-se também produção de muco e completa destruição de algumas lamelas, bem como aumento da vacuolização no tecido branquial.

De acordo com Sorensen (1991), a espécie *Fundunculus heteroclitus* exposta a 50 ppm de cádmio num período de 48 horas, apresentou alterações branquiais do tipo hiperplasia, hipertrofia e hipersecreção (aumento no número de células mucosas).

Rigolim-Sá (1998) avaliando a toxicidade dos compostos organofosforados “Omite” e “Roundup” nas fases iniciais da ontogenia de *Rhamdia hilarii* (bagre) verificou hiperplasia nas diferentes concentrações testadas, sendo que na maioria das concentrações de “Roundup” a autora observou completa alteração das lamelas secundárias e fusão completa das mesmas. Outras alterações como dilatação de vasos sanguíneos, aneurisma e células necróticas também foram verificadas.

Assim, a presença de compostos orgânicos e inorgânicos no rio Monjolinho podem estar sendo responsáveis pelas injúrias detectadas nos tecidos branquiais dos organismos expostos às amostras de sedimento, sendo possível considerar que as análises histológicas nas brânquias constituem uma ferramenta confiável para avaliar a toxicidade de um sistema.

Vários trabalhos têm demonstrado que as alterações em tecidos branquiais são ferramentas confiáveis e eficientes para detectar e monitorar ambientes que sofrem influência de atividades antrópicas (ANDRADE, 2003; FRACÁCIO et al., 2003; GERNHÖFER et al., 2001; MELETTI, 2003; PAWERT; MÜLLER;

TRIEBSKORN, 1998; TRIEBKORN et al., 2003), bem como para prever possíveis riscos ambientais (ADAMS; GREELEY; RYON, 2000; PEAKALL, 1994).

O presente trabalho demonstrou situação semelhante quando comparado com os trabalhos citados anteriormente, onde os autores detectaram vários tipos de alterações em brânquias de organismos expostos em amostras de ecossistemas aquáticos altamente poluídos. Ainda, deve-se considerar que a intensidade das lesões em tecidos branquiais varia em função do nível de poluição dos ambientes (ANDRADE, 2003; FRACÁCIO et al., 2003; GERNHÖFER et al., 2001; MELETTI, 2003; PAWERT; MÜLLER; TRIEBKORN, 1998; TRIEBKORN et al., 2003) e, portanto, constituem importantes ferramentas para avaliar riscos à comunidade aquática.

Triebkorn et al. (2002) utilizando análises histológicas de brânquias, fígado e rins, parâmetros hematológicos e estresse protéico nos órgãos em questão das espécies *Salmo trutta* f. *fario* e microcrustáceo *Gammarus pulex* para avaliar o impacto de dois tributários do rio Reno na Alemanha que recebem efluentes industriais e agrícolas, verificaram que existem vantagens e desvantagens no empregos destes tipos de bioindicadores. No entanto, os autores enfatizaram que entre os parâmetros avaliados, as respostas das brânquias são as mais rápidas mediante agentes estressores, uma vez que estão constantemente em contato com o ambiente externo. As brânquias dos indivíduos expostos em amostras de sedimento apresentaram hiperplasia de células cloreto e de lamelas secundárias, sendo que em poucas vezes ocorreu fusão total de lamelas; células necróticas e reações inflamatórias adversas.

Mallatt (1985) ao realizar uma extensa revisão sobre as alterações morfológicas em brânquias de peixes expostos a diversas substâncias tóxicas verificou que as alterações mais comuns eram elevação epitelial, necrose, hipertrofia, hiperplasia, fusão de lamelas, ruptura de tecido branquial, hipersecreção e proliferação de células mucosas, mudanças nas células cloreto e vascularização.

A classificação proposta por Polëksic e Mitrovic-Tutundzic (1994) para alterações branquiais compreende três estágios de lesões, ocorrendo danos mais agravantes do primeiro ao terceiro estágio. Segundo os autores, as lesões de primeiro estágio podem ser revertidas se caso houver uma melhoria na qualidade do ambiente. Caso contrário estas lesões podem se desenvolver e atingir o segundo estágio. Neste caso, as alterações são mais graves, e dificilmente se revertem. Em

caso de uma exposição crônica, as lesões atingem o terceiro estágio, no qual a recuperação das brânquias é praticamente impossível em função do comprometimento das funções vitais, levando os organismos provavelmente à morte.

No presente trabalho, as alterações verificadas nos organismos submetidos às amostras de sedimento da maioria dos pontos de coleta foram de primeiro estágio (hiperplasia de células do filamento branquial e lamelas secundárias; dilatação de capilares, produção de muco, descolamento do epitélio branquial nas lamelas secundárias, congestão sanguínea), exceto para o ponto UFSCar, onde foram detectadas lesões de segundo estágio (fusão total de todas as lamelas secundárias). Neste local, provavelmente as elevadas concentrações de poluentes contidas nas amostras de sedimento estavam mais disponibilizados, demonstrando seu potencial tóxico para organismos no ambiente natural. No entanto, as lesões de primeiro estágio também devem ser alvo de preocupações, pois além de demonstrarem que as condições do meio não estão satisfatórias para o desenvolvimento, sobrevivência e reprodução dos organismos, elas podem progredir para lesões mais graves mediante condições desfavoráveis do sistema.

Segundo Triebkorn et al. (2002), os organismos são capazes de tolerar e compensar qualquer tipo de estresse sub-letal, sendo que o grau de tolerância varia de espécie para espécie. No entanto, os autores enfatizam que quando os organismos já vivem sob condições de estresse, qualquer variação no ambiente (aumento de temperatura, poluição adicional, mudanças nos parâmetros físicos e químicos naturais) pode levar à morte imediata.

Desta forma, verifica-se por meio desta abordagem de estudo, a degradação geral do sistema Monjolinho, e os riscos este ambiente oferece aos organismos aquáticos, principalmente pela entrada de efluentes domésticos, industriais e agrícolas. Deve-se ainda mencionar, que os organismos expostos no ponto UFSCar, talvez se fossem submetidos em maiores períodos de exposição, poderiam apresentar lesões de terceiro estágio, ou seja, irreversíveis.

Neste contexto, é importante ressaltar que a duração do bioensaio e a idade dos organismos são fatores que podem influenciar na caracterização de um ambiente em função de seu grau de poluição, isto é, talvez se fossem utilizados organismos-teste na fase adulta, não seriam detectados efeitos sub-letais, e o ambiente poderia ser considerado não poluído. Assim, é evidente a importância dos

bioensaios com organismos em estágios iniciais de vida, uma vez que indivíduos juvenis ainda não apresentam mecanismos de adaptação e defesa, respondendo melhor às condições do ambiente.

6.3 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO METAL COBRE E DOS PESTICIDAS ORGANOCLORADOS (ALDRIN E HEPTACLORO).

O metal cobre e os pesticidas organoclorados (aldrin e heptacloro) foram escolhidos como substâncias-teste no presente trabalho pelo fato de ocorrerem em concentrações extremamente elevadas no sistema Monjolinho. Desta forma, um estudo mais abrangente a respeito dos efeitos destes compostos na espécie *D. rerio* pode auxiliar na interpretação dos resultados de toxicidade com as amostras ambientais do rio em questão, bem como enriquecer os dados já existentes destes efeitos em outras espécies de peixes, e conseqüentemente, facilitar na elaboração de medidas preventivas e corretivas em ambientes poluídos com tais substâncias.

6.3.1. Cobre.

A contaminação de ambientes aquáticos pelo metal cobre tem aumentado nos últimos anos em decorrência das atividades antrópicas, como produção de pesticidas, fungicidas, fertilizantes, equipamentos elétricos, explosivos, antiincrustantes de pinturas, ferro e aço, e em atividades mineradoras (VENKATARAMANA; RADHAKRISHNAIAH, 2001). Apesar deste elemento representar fundamental importância na atividade enzimática dos organismos, quando as concentrações estão presentes em excesso podem desencadear uma série de problemas.

A partir dos resultados obtidos nos bioensaios definitivos de toxicidade aguda, foi possível estabelecer a CL_{50} – 96h e a faixa de sensibilidade para a fase juvenil da espécie *D. rerio*, as quais foram de 73,83 µg/L e de 14,37 – 133,29 µg/L. Em decorrência de problemas laboratoriais (perda de cultivos) e do tempo dispensado na tentativa de recuperar os lotes de peixes de *P. reticulata*, não foi possível realizar os bioensaios com o metal cobre e os pesticidas organoclorados aldrin e heptacloro com a espécie em questão. Entretanto, os dados obtidos no presente trabalho para *D. rerio* permitem uma comparação com os valores encontrados para a espécie *P. reticulata* na literatura.

Sprague (1985) considera que dentro de cada experimento com metais devem ser avaliadas sensivelmente as diferenças biológicas encontradas, tais como a

sensibilidade da espécie, o estágio de vida, o tamanho dos organismos, e ainda a condição nutricional dos organismos-teste (PELGROM et al., 1994), pois estas características também podem influenciar a toxicidade e conseqüentemente o valor da CL₅₀. De fato, comparando-se os valores da CL₅₀ calculados para *D. rerio* no presente trabalho com os valores estimados para outras espécies de peixes para o mesmo metal (TABELA 57) é possível observar uma grande variação, o que dificulta a realização de conclusões sobre a sensibilidade da espécie.

TABELA 57 – Comparação da CL₅₀ de cobre (Cu) para diferentes espécies de peixes.

Espécie *	CL ₅₀ 96h (mg/L) ^{TE}	Peso (g)/ Comprimento padrão (cm)	pH	Dureza (mg de CaCO ₃)	Temperatura ° C
<i>D. rerio</i> ^a	145 (91,0-197,4) ^{FC}	0,27/2,53	7,92	100	23,2
<i>P. reticulata</i> ^b	20,3 (17,2- 25,4) ^E	0,11/1,74	6,7	10,5	27,0
<i>P. reticulata</i> ^c	764 (603 – 902) ^E	0,18/1,62	7,5	240	26,5
<i>P. scrofa</i> ^d	29,0 (26 – 32) ^E	15-25 / 10-15	7,3	24	25,0
<i>P. promelas</i> ^e	5,8 ^E	1-2/---	7,5	20	25,0
<i>P. promelas</i> ^e	368,8 ^E	1-2/---	7,5	360	25,0
<i>L. macrochirus</i> ^e	167,9 ^E	1-2/---	7,5	20	25,0
<i>L. macrochirus</i> ^e	2.594,0 ^E	1-2/---	7,5	360	25,0
<i>C. auratus</i> ^e	9,1 ^E	1-2/---	7,5	20	25,0
<i>G. affinis</i> ^e	50,8 ^E	adultos	7,5	32	27,0
<i>D. rerio</i> ^f	234,0 ^E	juvenis	7,5 (6,3-8,0)	45,3 (35,0- 62,0)	24,5 (23,0-27,5)
Rainbow trout ^g	20,0 ^{FC}	7g/---	6,8-7,0	20-25	11,6-12,4
<i>P. promelas</i> ^h	560 – 990 ^E	---/2,0-6,9	8,0-8,5	120-336	4,0-30,0
<i>D. rerio</i> ⁱ	73,83 (14,37 – 133,3) ^E	0,04±0,02/ 1,37±0,22	7,2-7,6	40-48	25,0 (± 2,0)

* Referência; **TE** – tipo de exposição; **FC** – fluxo contínuo; **E** – estático.
^a Bertoletti; Goldstein e Zagatto (1989); ^b Damato et al. (1989); ^c Khangarot, 1981; ^d Mazon, 1997; ^e Pickering e Henderson (1966); ^f Bertoletti (2000); ^g Chapman (não publicado) apud USEPA (1976); ^h Brungs et al. (1974) apud USEPA, 1976; ⁱ Presente trabalho.

Analisando a tabela acima, verifica-se que o pH e a dureza podem influenciar na toxicidade do cobre para uma mesma espécie sob as mesmas condições de teste. Tal fato pode ser observado para a as espécies *Pimephales promelas* e *Lepomis macrochirus*, onde a CL₅₀ passou de 5,8 para 368,8 µg/L quando a dureza foi alterada

de 20 para 360 mg/L CaCO_3 para a primeira espécie; e a CL_{50} passou de 167,9 para 2594,0 $\mu\text{g/L}$ nas mesmas condições para a segunda espécie. Tal relação também foi encontrada para a espécie *P. reticulata*.

Segundo Peterson; Healey e Wagemann (1984), a toxicidade do cobre aos peixes depende de fatores bióticos e abióticos. Dentre eles, o pH e a dureza parecem ser os mais relevantes. Baixos valores de pH (concentrações elevadas de íons H^+) podem agir diretamente afetando os locais de captura de compostos essenciais e trocas gasosas nas brânquias e indiretamente na composição química e solubilidade do metal. Quando estes valores ácidos de pH estão aliados as água moles e elevadas temperaturas, como na maioria das águas continentais brasileiras, a toxicidade do cobre é maior (TAKASUSUKI; ARAUJO; FERNANDES, 2004).

A salinidade e temperatura também interferem na toxicidade do metal cobre aos organismos aquáticos, uma vez que podem alterar sua disponibilidade para a absorção. A diminuição nos valores de salinidade e o aumento da toxicidade deste metal estão associados aos distúrbios fisiológicos provocados nos indivíduos (BLASCO; ARIAS; SÁENZ, 1999). Outros fatores como alcalinidade e turbulência da água também parecem exercer influência na toxicidade do cobre (DAMATO et al., 1989).

O valor da CL_{50} calculada para *D. rerio* é comparável apenas aos valores encontrados para a própria espécie no estudo de Bertoletti (2000), cujas variáveis pH, dureza e temperatura e idade dos organismos são semelhantes. Neste caso, foi possível verificar que os indivíduos utilizados no presente trabalho foram mais sensíveis do que os organismos utilizados pelo autor em questão, visto que a CL_{50} encontrada no primeiro caso foi cerca de quatro vezes menor que a encontrada pelo autor. Ainda, um estudo realizado com a mesma espécie (BERTOLETTI; GOLDSTEIN; ZAGATTO, 1989) demonstraram que os organismos também se apresentaram mais resistentes que no presente trabalho (CL_{50} 145 (91,0-197,4)), entretanto, a concentração da dureza foi mais elevada (100 mg/L CaCO_3); o sistema adotado pelos autores foi fluxo contínuo, e os organismos utilizados estavam na fase adulta.

De acordo com Liang; Cheung e Wong (1999) o acúmulo de metais em peixes é inversamente proporcional ao seu tamanho, ou seja, organismos menores apresentam uma taxa metabólica mais elevada que organismos maiores, que por sua vez, está

correlacionada à velocidade de seqüestro e eliminação de metais. Assim, peixes mais jovens podem absorver metais mais rapidamente que peixes adultos de uma mesma espécie. No entanto, Mazon (1997) verificou que a espécie *P. sacrofa* se apresentou muito sensível em relação às outras espécies de menor tamanho (*P. promelas*, *C. auratus* e *L. reticulatus*) quando expostos às concentrações de cobre nas mesmas condições de bioensaio.

Considerando que a espécie *P. reticulata* apresentou uma CL_{50} de 20,3 µg/L de cobre (DAMATO et al, 1989) sob condições de água mole (10 mg/L de $CaCO_3$ mg/L), e valores de pH inferiores em relação ao presente trabalho, é possível sugerir que talvez em condições semelhantes de pH, dureza e temperatura, a CL_{50} para esta espécie poderia se apresentar mais elevada, estando mais próxima da encontrada no presente trabalho para *D. rerio*. No entanto, as respostas dos organismos em bioensaios de toxicidade com substâncias tóxicas são inesperadas, uma vez que mesmo dentro de uma espécie existe uma diferença individual na resistência dos organismos (SPRAGUE, 1985). Isto pode ser observado na amplitude da faixa de sensibilidade proposta para *D. rerio* no presente trabalho (14,37 – 133,29) e no coeficiente de variação dos respectivos valores (40,26%) e nos demais mostrados na TABELA 57. Bertoletti; Goldstein e Zagatto (1989), também verificaram elevado coeficiente de variação em testes de toxicidade aguda com sulfato de cobre (17,8%) para a espécie *D. rerio*. Já Sprague (1985), descreveu um coeficiente de variação de 9,2% para uma série de testes com trutas expostas ao cobre.

Diante do exposto, é possível considerar que a espécie *D. rerio* é sensível ao cobre, uma vez que apresentou CL_{50} próxima às concentrações encontradas para os organismos de tamanho semelhante, que foram expostos em condições de dureza e pH menores, ou seja, que possivelmente seriam menos sensíveis em condições de valores mais elevados destes parâmetros.

Quando se pretende avaliar a toxicidade aguda o parâmetro mortalidade é considerado o mais apropriado, e as concentrações que poderiam causar letalidade a uma determinada espécie são expressas em CL_{50} . O limite estabelecido pela resolução CONAMA 357/05 para rios de classe dois, que assegura a proteção da vida aquática é de 9,0 µg/L de cobre. Como é possível notar, a CL_{50} de cobre estabelecida para *D.*

rerio, está muito acima das concentrações que poderiam causar danos à vida aquática segundo o CONAMA 357, entretanto, os testes de toxicidade aguda auxiliam no âmbito de fornecer dados para adoção de critérios para melhoria de qualidade de água (GOLDSTEIN et al., 1983), mas podem não evidenciar os efeitos que possivelmente ocorreriam em tempos de exposição mais longos, como efeitos sobre crescimento e reprodução.

Para tanto, foram realizados bioensaios crônicos-parciais utilizando-se a maior concentração que não causou efeito letal nos organismos expostos em bioensaios de toxicidade aguda, e a partir desta, foram calculadas as demais concentrações por meio de um fator cinco de diluição. Foram realizados quatro bioensaios com o objetivo de melhor avaliar os efeitos sub-letais aos organismos-teste (crescimento e alterações morfológicas) partindo do pressuposto que dentro de uma espécie e até mesmo de um estágio de vida possam ocorrer diferenças nas respostas dos organismos.

Os resultados dos bioensaios crônicos-parciais demonstraram que a menor concentração que causa efeitos na sobrevivência dos organismos (CEO) era de 20,0 µg/L, ou seja, cerca de 3 vezes mais baixa que a CL₅₀ estabelecida para a mesma espécie em testes de toxicidade aguda. A máxima concentração de efeito não observado (CENO) girou em torno de 4,0 µg/L (18 vezes abaixo da CL₅₀), sendo que o valor crônico encontrado para este parâmetro foi de 8,9 µg/L (8 vezes abaixo da CL₅₀).

Em relação ao parâmetro crescimento (comprimento padrão e peso total) verificou-se que a CEO foi de 4,0 µg/L e a CENO de 0,8 µg/L (cerca de 5 vezes abaixo da CEO para sobrevivência), sendo que o valor crônico calculado esteve em 1,78 µg/L.

Desta forma, é possível considerar que o parâmetro crescimento é o mais sensível para se detectar os efeitos do cobre sobre a espécie *D. rerio*, uma vez que o valor crônico e as concentrações CEO e CENO foram cerca de cinco vezes mais baixas que para os efeitos na sobrevivência.

Kristensen (1994) ao avaliar a sensibilidade dos parâmetros mortalidade e crescimento (peso e comprimento) em 100 experimentos realizados durante o período de 1969 a 1989, com diversos compostos químicos (orgânicos e inorgânicos), utilizando peixes em fases iniciais do ciclo de vida, verificou que em 90% dos testes os efeitos sobre o crescimento era o parâmetro mais sensível no estágio juvenil, cujos resultados

podiam ser registrados no valor da CEO. Além disto, o autor observou que as concentrações que causavam efeitos no crescimento dos organismos apresentavam-se, na maioria das vezes, três vezes abaixo das concentrações determinadas para a mortalidade, corroborando com os resultados encontrados para o metal cobre no presente trabalho.

Tal situação também foi verificada por Pickering e Lazorchac (1995) avaliando sobrevivência e crescimento larval da espécie *Pimephales promelas* expostas em concentrações sub-letais de cromo hexavalente e cobre bivalente. Segundo os autores, a efeito no crescimento foi o parâmetro mais sensível que a sobrevivência na maioria dos bioensaios realizados com cromo e cobre, exceto para bioensaios com cobre onde a água utilizada nas diluições continha baixa dureza. Em relação ao cobre, a CEO atingiu valores cerca de 4 a 8 vezes abaixo dos valores encontrados para sobrevivência.

Em relação à diferença significativa entre o peso dos organismos expostos na concentração de 0,8 µg/L e no controle no primeiro bioensaio, a explicação pode estar relacionada à utilização de organismos menores neste tratamento em relação aos demais, apesar da aleatoriedade, uma vez que os organismos expostos em concentrações mais elevadas não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle. Deve-se ressaltar também, que dentro de uma espécie podem ocorrer diferenças individuais, que podem ser refletidas nos processos fisiológicos, como a tolerância a um agente tóxico, por exemplo. Ainda, a baixa mortalidade verificada nesta concentração pode ter influenciado no peso dos indivíduos. Segundo Goodman et al. (1982) a competição dependente da densidade por alimento e espaço freqüentemente resultam em comportamento agressivo e pode levar a uma variação no crescimento dos indivíduos.

Segundo Wlodék e Skóra (1985), a relação peso/comprimento obviamente difere entre as espécies, mas, às vezes, isto pode ocorrer dentro de uma mesma espécie devido à particularidade das variações ambientais e às condições nutricionais.

Rigolim-Sá (1998) avaliando a toxicidade do herbicida "Roundup" e do acaricida "Omite" sobre as fases iniciais da ontogenia do bagre (*Rhamdia hilarii*), constatou que a menor concentração de "Roundup" testada não foi a que apresentou o menor efeito

sobre o crescimento, mesmo sendo utilizados organismos-teste provenientes de uma mesma prole, indicando que organismos semelhantes (de uma mesma reprodução) não têm comportamentos iguais e, conseqüentemente, não têm a mesma capacidade de tolerância a um agente tóxico.

Assim, a variabilidade das respostas dos organismos-teste nos quatro experimentos realizados pode ser atribuída a alguns fatores, tais como a sensibilidade dos organismos-teste, o que pode refletir na capacidade de tolerância às substâncias tóxicas; a variabilidade do tamanho dos organismos utilizados em cada experimento (ocorreu uma pequena diferença entre os lotes) e talvez fatores mais intrínsecos a cada organismo como comportamento dentro do grupo (competição como citado acima). Ressalta-se, ainda, que os peixes de água doce são capazes de regular os elementos essenciais em seus organismos em função da concentração no meio externo (NIMMO, 1985). Assim, a capacidade de regulação de cobre pelos organismos-teste no presente trabalho pode ter variado de indivíduo para indivíduo.

De fato, Pickering e Lazorchac (1995) verificaram que a utilização de um método para avaliação da toxicidade de cromo e cobre às larvas de *P. promelas* (U.S. PEA 1000.0) foi eficiente dentro de um grupo de mesma idade, visto que não ocorreu variabilidade nas respostas entre os grupos com idade de um a sete dias. Assim, em razão dos organismos na fase juvenil apresentarem uma maior variabilidade no tamanho, é possível supor que tal fato tenha refletido na variabilidade das respostas no presente trabalho.

Bertoletti (2000) avaliando a estimativa de efeitos tóxicos crônicos de diversos compostos químicos em diferentes fases iniciais do ciclo de vida de *D. rerio*, encontrou uma CENO estimada de 92 µg/L para a sobrevivência de organismos jovens durante sete dias de exposição. Ao analisar os resultados do autor verificou-se que entre quatro bioensaios crônicos-parciais com larvas de *D. rerio* expostas em concentrações de cobre ocorreram respostas variáveis dos organismos em relação à sobrevivência, sendo que no último bioensaio não foi possível estabelecer o valor da CENO. No entanto, autor verificou que a escolha da análise estatística para estimar efeitos crônicos influencia nas respostas encontradas.

Em decorrência da semelhança nas condições dos bioensaios realizados por Bertoletti (op. cit.) e o presente trabalho, é possível comparar a CENO para sobrevivência de juvenis de *D. rerio*. Desta forma, nota-se que a CENO encontrada pelo autor é cerca de 23 vezes mais elevada que a CENO deste trabalho, indicando que a variabilidade é realmente um fator que ocorre na resposta dos organismos. No entanto, ainda neste caso, deve-se ressaltar a variabilidade das respostas dos organismos pode ser influenciada, entre outras, pelas diferentes práticas laboratoriais.

Em concentrações moderadas os organismos aquáticos podem desenvolver resistência às substâncias tóxicas (LOCK; BALM; WENDELAAR BONGA, 1994), sendo que o grau desta tolerância pode variar de espécie para espécie. Diante dos resultados expostos é possível supor que a tolerância ao cobre pode também ser variável dentro de uma mesma espécie, o que demonstra a importância da realização de vários testes crônicos-parciais para melhor assegurar os reais efeitos de poluentes sobre a sobrevivência e crescimento de peixes.

Segundo Olsvik et al (2000) a adaptação de peixes a elevadas concentrações de metais podem ocorrer por meio do seqüestro e imobilização destes compostos através de ligações com proteínas. Os autores verificaram que a formação de cobre-metalotioneína nas brânquias de trutas (*Salmo trutta*), capturadas em dois rios Noruegueses que sofrem influência de metais devido à atividade de mineração no entorno (rio Rugla, contaminado com cobre; e rio Naustebekken, contaminado com cádmio e zinco), poderia ser um importante mecanismo de tolerância à toxicidade, uma vez que, os peixes que foram capturados no rio Naustebekken apresentavam níveis mais elevados de cobre nos rins do que aqueles expostos ao rio Rugla.

De acordo com Wood et al (1997) o efeito tóxico inicial dos metais ocorre no bloqueio do transporte de cálcio e sódio nas brânquias, sendo que o cobre e a prata interferem na tomada de sódio e o cádmio e o zinco na tomada de cálcio. McGeer et al. (2000), analisando a concentração de cobre nas brânquias de trutas em exposição crônica (75 µg/L), observaram que os níveis são mais elevados nos primeiros dias de exposição, sendo que depois ocorre o declínio e estabilização da concentração do metal em teores mais elevados que o lote controle.

Como é possível observar, o cobre é considerado um agente tóxico puramente íon-regulatório, e desta forma, as brânquias são os órgãos que sofrem diretamente à exposição a estes metais, uma vez que também são responsáveis pelo equilíbrio osmorregulatório dos peixes. Mallatt (1985), num estudo mais detalhado das alterações morfológicas em tecidos branquiais em organismos expostos a metais pesados, classificou as respostas em duas categorias: danos causados pelo acúmulo e respostas compensatórias. Em níveis moderados de exposição, os danos causados pelo acúmulo são: edemas, deslocamento do epitélio do filamento branquial, proliferação celular, entre outras, em níveis mais severos: necroses, rupturas e fusão lamelar. As respostas compensatórias incluem hipertrofia e hiperplasia do tecido branquial, aumento de frequência relativa de células cloreto e mucosas.

A proliferação de células no epitélio respiratório foi observada nas lamelas secundárias e no filamento branquial de *D. rerio*. Tais lesões são mecanismos de defesa das brânquias que promovem um aumento a barreira água-sangue, o que dificulta as trocas gasosas.

Segundo Takashima e Hibiya (1995), a proliferação de células do epitélio respiratório e as microprojeções da superfície epitelial em lamelas primárias e secundárias são os primeiros sinais de exposição á agentes químicos e físicos, constituindo uma resposta inicial do aparelho branquial. A fusão total das lamelas secundárias é induzida por altas doses de agentes tóxicos, podendo também ser respostas a infecções por parasitas e bactérias (TEMMINK et al., 1989). No entanto, Takashima e Hubiya (1995) consideram que o total preenchimento dos espaços entre as lamelas também é resultado de exposição crônica.

Nas brânquias de *D. rerio* foi possível verificar um aumento progressivo na proliferação de células do epitélio respiratório em função do aumento da concentração de cobre, sendo que em alguns casos, a intensa hiperplasia levou a uma fusão lamelar. Segundo Rajabanshi e Gupta (1988) a fusão lamelar pode conduzir a uma notável redução da superfície respiratória, pelo desaparecimento das lamelas secundárias, que conseqüentemente, pode dificultar as trocas gasosas e outras funções das brânquias.

Respostas semelhantes foram observadas para *Ictalurus nebulosus* em 48h e 40 dias de exposição a concentrações de 5mg/L de cobre (BENEDETTI; ALBANO; MOLA,

1989); para *Oncorhynchus mykiss* em 30 minutos de exposição a 6,4 mg/L de cobre (SOLA; ISAIA; MANSONI, 1995); para *Solea senegalensis* expostos por sete dias em 0,1 mg/L de cobre (ARELLANO et al., 1999); para *P. scrofa* em 20; 25 e 29 µg/L de cobre durante 96 horas de exposição (MAZON, 1997; CERQUEIRA; FERNANDES, 2002; MAZON; CERQUEIRA; FERNANDES, 2002).

Estas alterações epiteliais geralmente são as respostas mais comuns em organismos expostos à agente tóxicos (MALLATT, 1985) e tem sido reportadas em peixes expostos aos metais zinco (GALVEZ et al., 1998); cádmio (ORONSAYE; BRAFIELD, 1984; SORENSEN, 1991; FRACÁCIO, em andamento); e alumínio (MATEI; KOMOV, 1992).

Os organismos-teste de *D. rerio* expostos às concentrações de cobre utilizadas no presente trabalho apresentaram alterações em vasos sanguíneos, sendo que foi possível notar um agravamento destas modificações com o aumento da concentração, incluindo dilatação de capilares em lamelas secundárias seguidas de congestão sanguínea, fusão de paredes de vasos sanguíneos e aneurismas (nas concentrações de 4,0 e 20,0 µg/L). Também foi possível observar dilatações em regiões do seio venoso central.

Nos estreitos vasos sanguíneos das lamelas secundárias são observados de uma a dois eritrócitos dentro do lúmen capilar. Quando este lúmen se expande e induz uma congestão sanguínea com desintegração de células pilares, pode ocorrer o aneurisma (TAKASHIMA; HIBYA, 1995). Os aneurismas podem prejudicar a função branquial interferindo na composição sanguínea. Se a condição desfavorável persistir por longo tempo poderá ocorrer o rompimento do aneurisma e conseqüentemente o extravasamento de sangue (focos hemorrágicos), o que possivelmente levará a condição de anemia, além de uma porta de entrada para agentes patogênicos como bactérias e fungos. A conseqüência de tais efeitos é a morte dos organismos ao longo do tempo podendo levar a uma diminuição da densidade populacional (RAND; PETROCELLI, 1985; POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994; MAZON, 1997; ANDRADE, 2003) dos animais expostos a agentes como o cobre.

Mazon (1997) avaliando os efeitos do íon cobre em juvenis da espécie *P. scrofa* durante uma exposição de 96 horas, verificou a presença de aneurismas nas lamelas

secundárias dos organismos expostos em 20; 25 e 29 $\mu\text{g/L}$, sendo que em alguns casos foi possível observar o rompimento das lamelas secundárias e o extravasamento de sangue. No presente trabalho, a espécie *D. rerio* apresentou-se mais sensível, uma vez que os aneurismas (lesões de segundo estágio) foram encontrados em concentrações menores (4,0 e 20,0 $\mu\text{g/L}$). Tal fato pode estar relacionado ao período de exposição, o qual foi mais extenso no presente trabalho e à composição genética da espécie, uma vez que se trata de espécies provenientes de continentes diferentes.

No presente trabalho não foi detectada a produção excessiva de muco nas lamelas secundárias, apesar deste efeito ser bastante encontrado em brânquias de organismos expostos aos metais (HEATH, 1987). Em relação às células cloreto não foi possível realizar a contagem das mesmas em razão da espessura dos cortes (4,0 a 6,0 μm) seriados.

A partir dos resultados obtidos neste estudo verificou-se que a severidade das lesões encontradas nas brânquias de *D. rerio* dependeu da concentração de cobre. De fato, Mallatt (1985) considera que a intensidade das alterações depende da concentração dos poluentes, especialmente no caso de baixas e moderadas concentrações, sendo que o tempo de exposição dos organismos e o de recuperação em água limpa também influenciam nas lesões branquiais.

No último ano, a resolução CONAMA 20/86 passou por uma reestruturação, e atualmente a resolução vigente é a CONAMA 357/05. Em relação à primeira, o limite estabelecido para a concentração de cobre na água, em rios de classe dois, era de 20,0 $\mu\text{g/L}$, sendo que este nível diminuiu para 9,0 $\mu\text{g/L}$ na nova resolução. Apesar do limite para cobre no ambiente aquático abaixar cerca de 2,2 vezes segundo a legislação vigente no Brasil, verifica-se que ainda assim, estes níveis permitidos podem não assegurar a proteção da vida aquática, uma vez que no presente trabalho a CENO para sobrevivência e crescimento de *D. rerio* foram 4,0 e 0,8 $\mu\text{g/L}$ de cobre. Ainda é importante ressaltar, que a partir de 0,16 $\mu\text{g/L}$ de cobre, foram verificadas alterações estruturais nas brânquias dos organismos que podem ser agravadas mediante maior tempo de exposição a estes agentes, ocasionado efeitos letais.

Diante dos efeitos letais e sub-letais (sobrevivência, crescimento e alterações histopatológicas nas brânquias) que o metal cobre é capaz de causar em peixes, e

considerando-se as concentrações elevadas de cobre encontradas no rio Monjolinho e tributários, é possível que este agente tóxico possa ser um dos responsáveis pelos efeitos letais e sub-letais verificados nos organismos-teste expostos às amostras ambientais do sistema. Além disto, os níveis elevados de cobre detectados no sistema em questão podem ser fatores determinantes para manutenção da saúde dos peixes, bem como para a sobrevivência, reprodução e, conseqüentemente, para a perpetuação das espécies.

Assim, considerando-se que no ambiente natural as substâncias tóxicas são normalmente encontradas em concentrações sub-letais, exceto em ocasiões acidentais, é imprescindível a realização de bioensaios de toxicidade crônica ou crônica-parcial com organismos aquáticos em fases iniciais do ciclo de vida, uma vez que os resultados de toxicidade aguda podem subestimar os reais efeitos de um agente tóxico sobre um organismo e até mesmo uma população.

6.3.2. Aldrin e Heptacloro.

Dentre os compostos utilizados no presente trabalho, o aldrin é classificado como altamente tóxico e o heptacloro medianamente tóxico. Muitas vezes, a poluição por pesticidas além de afetar os organismos aquáticos pode ser biomagnificada na cadeia alimentar, contaminando outros organismos e provavelmente provocando um desequilíbrio no sistema. Os peixes podem absorver os pesticidas diretamente da água bem como pela ingestão de alimento contaminado. As brânquias e a superfície corporal são os locais primários de absorção, sendo que depois de ingeridos ou absorvidos, os pesticidas aparecem no sangue e podem se distribuir nos tecidos. Além disso, os peixes e outros organismos aquáticos podem transformar tais compostos, tornando-os mais ou menos tóxicos que os compostos originais (RAND; PETROCELLI, 1985). O mecanismo de ação dos organoclorados não é inteiramente conhecido, mas sabe-se que atinge o sistema nervoso periférico e central, acumulando-se em tecidos adiposos e entrando facilmente na cadeia trófica (OKI; PEREIRA, 1999).

A forma indireta de contaminação do homem por pesticidas organoclorados é através da cadeia alimentar. Assim, é incontestável a importância dos estudos com peixes expostos a estes produtos, uma vez que tais organismos ocupam posição

superior na cadeia alimentar e constituem importante fonte de alimento para o homem. Neste sentido, a realização de bioensaios de toxicidade aguda e crônica-parcial pode auxiliar na compreensão dos efeitos de aldrin e heptacloro em peixes, bem como, na elaboração de padrões de emissão destes compostos no ambiente.

Para realizar bioensaios crônicos e crônicos-parciais é necessário estabelecer a CL_{50} das substâncias-teste para os organismos-teste. No entanto, no presente trabalho não foi possível determinar a CL_{50} de ambos os pesticidas organoclorados para a espécie *D. rerio*, uma vez que, depois de realizados sete bioensaios agudos do tipo semi-estáticos e fluxo contínuo, os organismos-teste não apresentaram mortalidade significativa para tal cálculo. A concentração dos padrões puros de tais substâncias (200 e 1000 $\mu\text{g/mL}$, de aldrin e heptacloro respectivamente) não permitiram aumentar as concentrações nos testes agudos (máximo 50 e 100 $\mu\text{g/L}$ de aldrin e heptacloro, respectivamente) e além disto, também tinha a questão da quantidade máxima de acetona a ser utilizada como solvente em cada concentração (100 $\mu\text{g/L}$), e do pequeno volume das substâncias padrões (10,0 e 1,0 mL de aldrin e heptacloro, respectivamente).

Desta forma, optou-se por utilizar as concentrações que não causaram efeito agudo nos organismos-teste da espécie *D. rerio* (0,01; 0,1; 1,0; 10,0 e 100 $\mu\text{g/L}$ de heptacloro e 0,01; 0,1; 1,0; 10,0 e 50,0 $\mu\text{g/L}$ de aldrin), e aumentar o tempo de exposição para sete dias, supondo-se que poderiam ocorrer efeitos sub-letais. As concentrações de 50 e 100 $\mu\text{g/L}$ de aldrin e heptacloro, respectivamente, não foram utilizadas na baterias de bioensaios crônicos-parciais em função da pequena quantidade de material disponível para a realização dos mesmos. Entretanto, as concentrações utilizadas englobaram a concentração limite estabelecida pela resolução CONAMA 20/86 para aldrin (0,01 $\mu\text{g/L}$) e heptacloro (0,01 $\mu\text{g/L}$).

Em relação à espécie *P. reticulata* foram realizados alguns bioensaios de toxicidade aguda com as mesmas concentrações utilizadas para a espécie *D. rerio*, no entanto, as respostas dos organismos foram muito variáveis não apresentando confiabilidade para a realização dos bioensaios crônicos-parciais. Tal fato pode ter ocorrido em função de alguns problemas com a criação de tal espécie em laboratório, o qual pode ter influenciado nas respostas oscilatórias. Apesar disto, é possível fazer

algumas suposições em relação à sensibilidade de ambas as espécies aos compostos organoclorados utilizados neste trabalho, comparando-se alguns resultados obtidos com aqueles reportados na literatura.

Diante dos resultados obtidos dos bioensaios de toxicidade aguda com *D. rerio*, é possível considerar que a CL_{50} esteja acima de 50 e 100 $\mu\text{g/L}$ de aldrin e de heptacloro, respectivamente, visto que não ocorreu mortalidade nestas concentrações. De acordo com Rehboldt *et al.* (1977) a CL_{50} 96h de aldrin para juvenis de *P. reticulata* é de 20 $\mu\text{g/L}$ e de heptacloro para adultos da mesma espécie a CL_{50} é de 107,0 $\mu\text{g/L}$ (U.S.EPA, 1976). Assim, é possível sugerir que a espécie *P. reticulata* é mais sensível (em relação ao parâmetro sobrevivência) aos compostos organoclorados aldrin e heptacloro que a espécie *D. rerio*.

Os testes crônicos-parciais foram realizados para avaliar os efeitos sub-letais (crescimento e alterações nas brânquias) dos organismos juvenis de *D. rerio*, sendo que para cada substância foram realizados quatro bioensaios com o objetivo de assegurar as respostas dos indivíduos.

Para ambos os compostos não foi possível calcular a CENO e CEO para o parâmetro sobrevivência, pois não ocorreram porcentagens de mortalidade significativas em quase todos os bioensaios, em relação ao lote controle. Tal situação já era esperada, visto que em concentrações mais elevadas não ocorreu mortalidade. Exceções foram observadas no segundo teste com aldrin e heptacloro, onde ocorreram diferenças significativas de mortalidade das concentrações de 0,1 e 10,0 $\mu\text{g/L}$ (aldrin) e todas as concentrações (heptacloro) e o lote controle. De qualquer forma, mesmo para estes bioensaios não foi possível calcular a CENO e CEO.

A sobrevivência dos organismos-teste em bioensaios de toxicidade está relacionada a diversos fatores abióticos e bióticos. Neste caso, como a metodologia utilizada nos quatro bioensaios foi idêntica, apesar de todos os lotes apresentarem-se dentro da faixa de sensibilidade de dicromato de potássio, é possível atribuir as mortalidades verificadas nos bioensaios de número dois à maior sensibilidade do lote utilizado, visto que este foi o mesmo para ambas as substâncias. Nos demais testes crônicos-parciais, tanto para aldrin quanto para heptacloro, as respostas dos organismos foram semelhantes.

Apesar da sobrevivência de juvenis de *D. rerio* não ser afetada em concentrações cerca de 2000 e 1000 vezes acima dos limites estabelecidos pelo CONAMA 357/05 para aldrin (0,005 µg/L) e heptacloro (0,01 µg/L), foram observados efeitos no crescimento destes organismos.

Em relação ao aldrin, a CENO, CEO e VC calculados foram de 0,1, 1,0 e 0,36 µg/L. No entanto, é necessário ressaltar que estes valores não puderam ser calculados nos bioensaios 3 e 4, uma vez que desde a concentração mais baixa (0,01 µg/L) já foram verificados efeitos no peso e comprimento dos organismos, fornecendo uma CENO e CEO com valores <0,01 e 0,01 µg/L, respectivamente. Desta forma, é provável que uma concentração 10 vezes mais diluída que a menor concentração de efeito observado ofereça possibilidade de calcular a CENO, ou seja, valores próximos ao limite estabelecido pelo CONAMA 357/05 (0,005 µg/L).

Resultados semelhantes foram observados para heptacloro, onde os valores da CENO, CEO e VC puderam ser calculados somente no quarto bioensaio sendo 1,0, 10,0 e 3,16 µg/L, respectivamente. Foram observadas diferenças significativas entre as concentrações 0,01 e 0,1 (comprimento) e 0,01; 0,1; 10,0 (peso) e o controle no bioensaio 3, no entanto os cálculos da CENO, CEO e VC não puderam ser realizados, pelo fato da CENO ser considerada <0,01.

Os resultados obtidos no primeiro bioensaio demonstraram que os organismos expostos nas concentrações de aldrin e heptacloro apresentaram-se maiores que os organismos-teste do controle, sendo que em 0,01 µg/L de aldrin e todas as concentrações de heptacloro foram verificadas diferenças significativas em relação ao parâmetro peso. Em 1,0 µg/L de heptacloro o comprimento dos organismos apresentaram diferenças significativas em relação aos indivíduos do controle.

O ganho de biomassa e de tamanho verificados neste bioensaio (primeiro) podem estar relacionados ao tamanho médio dos indivíduos deste lote utilizados nos experimentos, os quais apresentaram-se cerca de 1,6 vezes menores no comprimento e 30 vezes menores no peso que os indivíduos dos demais lotes. Isto pode ter interferido no crescimento dos organismos de duas maneiras diferentes, sendo a primeira baseada no fato de organismos menores apresentarem um metabolismo mais acelerado e maior taxa de crescimento que organismos maiores, os quais poderiam

estar utilizando os organoclorados como fonte alimentar (BRIGANTE, comunicação pessoal), outro fator, é que a densidade populacional no recipiente teste foi menor quando comparada com os lotes de indivíduos maiores, em razão do menor tamanho dos organismos, o que aumenta o volume de substância testada por indivíduo, que neste caso, em razão da ausência de alimento, tais compostos podem ter servido de fonte energética para o crescimento.

Em decorrência da escassez de trabalhos com os pesticidas organoclorados utilizados neste trabalho não foi possível encontrar valores de CENO e CEO para os parâmetros sobrevivência e crescimento em peixes de água doce, o que impossibilitou a comparação com o presente estudo. No entanto, sabendo-se que os pesticidas organoclorados apresentam semelhantes modos de ação (atuam na inibição da enzima acetilcolinesterase), é possível discutir os resultados obtidos no presente trabalho com outros compostos da mesma classificação.

Ao analisar quatro bioensaios realizados com aldrin e heptacloro, é possível considerar que a partir de 0,01 µg/L já são verificados efeitos no crescimento dos organismos, sendo este parâmetro mais sensível para se avaliar os efeitos sub-letais que a sobrevivência. Ainda é necessário mencionar que os efeitos no crescimento dos organismos não estiveram relacionados diretamente com o aumento das concentrações testadas, e que a forma e intensidade das respostas dos organismos-teste foram variadas entre os experimentos.

De fato, Gormley e Teather (2003) estudando os efeitos no desenvolvimento, comportamento de reprodução de *Oryzias latipes* em curtos períodos de exposição em ao endosulfan verificaram que a taxa de eclosão e número de ovos, o crescimento e mobilidade de larvas não eram dependentes da concentração do composto organoclorado, sendo que em doses intermediárias as respostas eram mais intensas. Os autores enfatizaram que diferentes exposições ao endosulfan podem induzir diferentes respostas fisiológicas nos organismos testados em diferentes concentrações.

Respostas não dependentes da dose também foram observadas por Bresh et al. (1990) ao avaliarem a toxicidade de 4-Chloroanilina na reprodução e crescimento de *D. rerio* durante três gerações do peixe. Em doses intermediárias, os autores observaram um aumento no peso dos indivíduos o qual diminuía na concentração mais elevada, no

entanto, com valores não diferentes significativamente do controle. Os autores também verificaram que a taxa de mortalidade não era influenciada pelas doses da substância.

Neste sentido, Bresh et al. (1990) traçou dois caminhos hipotéticos na tentativa de explicar pesos mais elevados de *D. rerio* em concentrações intermediárias de 4-Chloroanilina, sendo que a primeira consiste no fato de que baixas concentrações são suficientes para saturar sítios de ligação levando a efeitos tóxicos. A segunda, relata que elevadas concentrações podem ocorrer distúrbios em outros locais, levando a resultados equivalentes.

Em contrapartida, o estudo de Njiwa; Müller e Klein (2004) sobre a toxicidade do DDT nas fases iniciais do ciclo de vida de *D. rerio*, demonstrou a redução na taxa de eclosão de ovos, no crescimento, na sobrevivência dos indivíduos e um aumento na duração dos estágios do ciclo de vida, com o aumento progressivo das concentrações da substância testada. A segunda geração de peixes (F2), provenientes de uma geração já contaminada com DDT sofriam mais intensamente os efeitos do composto representando. Os autores também não encontraram a CENO para a substância, e sugeriram outros bioensaios com uma concentração 10 vezes abaixo da CEO (0,05 µg/L). Também verificaram que a taxa de mortalidade nos experimentos não estava relacionada com a taxa de crescimento dos organismos juvenis.

A redução no crescimento é um resultado comumente verificado em peixes expostos em pesticidas (GORMLEY; TEATHER, 2003; HEATH et al., 1997; NJIWA; MÜLLER; KLEIN, 2004; RIGOLIM-SÁ, 1998; ROEX; VRIES; VAN GESTEL 2002). No entanto, Woltering (1984) considera que este parâmetro não é totalmente proveitoso, podendo ser menos sensível que outras medidas mais consistentes. De certa forma, no presente trabalho foram detectados efeitos no crescimento dos indivíduos expostos em baixas concentrações dos pesticidas organoclorados aldrin e heptacloro, enquanto que mesmo em elevadas concentrações não foi possível calcular a CL₅₀. Em decorrência destes resultados é possível considerar que o parâmetro crescimento é sensível para avaliar efeitos de aldrin e heptacloro em juvenis de *D. rerio*. Ainda, deve-se considerar que num ambiente natural, a diminuição do tamanho dos organismos pode implicar em redução na habilidade competitiva (KARPLUS; POPPER; GOLDEN, 2000) aumento na susceptibilidade a predação (NILSSON; BRONMARK, 2000) e diminuição no sucesso de

acasalamento (KUWAMURA; KARINO; NAKASHIMA, 2000), demonstrando a importância de estudos sobre os efeitos no crescimento de organismos.

Kristensen (1994) ao avaliar a sensibilidade dos parâmetros mortalidade e crescimento (peso e comprimento) em 100 experimentos realizados durante o período de 1969 a 1989, com diversos compostos químicos (orgânicos e inorgânicos), utilizando peixes em fases iniciais do ciclo de vida, verificou que em 90% dos testes os efeitos sobre o crescimento era o parâmetro mais sensível no estágio juvenil, cujos resultados podiam ser registrados no valor da CEO. Além disto, o autor observou que as concentrações que causavam efeitos no crescimento dos organismos apresentavam-se, na maioria das vezes, três vezes abaixo das concentrações determinadas para a mortalidade.

Diante do exposto, observa-se que em bioensaios com concentrações sub-letais, não necessariamente as respostas dos organismos-teste são mais intensas com o aumento progressivo das concentrações dos agentes tóxicos, sugerindo que existam diversos caminhos fisiológicos para o metabolismo de tais substâncias. Estes resultados também foram verificados por Singh e Narain (1982); Bresch et al (1990); Gormley e Teather (2003).

Estudos realizados por Singh e Narain (1982) a respeito da toxicidade aguda de Thiodan (endosulfan comercial) ao peixe *Heteropneustes fossilis* demonstraram que a relação entre a CL_{50} e o peso/comprimento dos indivíduos era indireta, sugerindo que diferentes caminhos metabólicos podem resultar em diferentes biotransformações pelos organismos, e conseqüentemente, em maior ou menor toxicidade.

Neste sentido, alguns estudos com endosulfan (pesticida organoclorado) demonstraram que exposições em baixas concentrações diminuía a atividade da fosfatase alcalina em peixes de água doce e, em elevadas concentrações a atividade desta enzima aumentava (SHAFI, 1980 apud GORMLEY E TEATHER, 2003). Já o estudo de Rao et al. (1988) verificou que a exposição do peixe *Mytilopsis sallei* em baixos níveis de endosulfan reduzem o batimento cardíaco, sendo que em altas concentrações o batimento acelerava. Estes estudos sugerem que exposições à diferentes doses de endosulfan acarretam diferentes respostas fisiológicas.

Os efeitos do aldrin no metabolismo de *Heterpneustes fossilis* foram estudados por Singh; Das e Singh (1996). Durante 12 dias de exposição, os autores observaram a diminuição na taxa de glicogênio dos músculos e fígado e associaram à inibição da enzima acetilcolinesterase, cuja diminuição resulta no aumento dos níveis de acetilcolina (responsável pela transferência dos impulsos nervosos) e, conseqüentemente, no aumento do gasto energético. Além disto, também verificaram que peixes mais estressados produzem maior quantidade do hormônio cortisol, o qual induz a síntese de glicogênio a partir de outras fontes reservas de carboidratos. Outros distúrbios fisiológicos relatados foram diminuição na quantidade de proteínas no músculo e fígado (conseqüência da diminuição da síntese de RNA); diminuição de cálcio pelas brânquias e aumento de magnésio e fosfato no sangue (provocando excitabilidade e tremores) ocasionado pelas disfunções renais.

Assim, as variações detectadas nas respostas (crescimento) dos organismos expostos em quatro bioensaios sob mesmas condições podem ter ocorrido em função das diferenças particulares de cada indivíduo, cujos mecanismos utilizados na tentativa de estabelecer um equilíbrio entre a taxa de absorção e eliminação dos compostos podem ser divergentes. Neste sentido, Wlodék e Skóra (1985) enfatizaram que a relação peso/comprimento obviamente difere entre as espécies, mas, às vezes, isto pode ocorrer dentro de uma mesma espécie devido à particularidade das variações ambientais e às condições nutricionais.

Rigolim-Sá (1998) avaliando a toxicidade do herbicida "Roundup" e do acaricida "Omite" sobre as fases iniciais da ontogenia do bagre (*Rhamdia hilarii*), constatou que a menor concentração de "Roundup" testada não foi a que apresentou o menor efeito sobre o crescimento, mesmo sendo utilizados organismos-teste provenientes de uma mesma prole, indicando que organismos semelhantes (de uma mesma reprodução) não têm comportamentos iguais e, conseqüentemente, não têm a mesma capacidade de tolerância a um agente tóxico.

Comparando-se os valores crônicos de ambas as substâncias calculados para o parâmetro crescimento (0,36 e 3,16 µg/L de aldrin e heptacloro, respectivamente) pode-se considerar que o aldrin é mais tóxico para a espécie *D. rerio* que o heptacloro, com valor crônico cerca de 8,7 vezes abaixo. Tal situação é comprovada por meio da

análise das lesões encontradas nas brânquias dos organismos, cuja severidade foi maior nos indivíduos expostos em aldrin, uma vez que as alterações de segundo grau (aneurismas) foram verificadas em todas as concentrações-teste, inclusive na mais baixa.

As lesões encontradas nas brânquias de *D. rerio* expostos em diferentes concentrações de heptacloro foram, em geral, consideradas de primeiro estágio, como hiperplasia e fusão total de algumas lamelas secundárias, com redução da área respiratória; dilatação de capilares sanguíneos e nas lamelas secundárias e espessamento de lamelas, deslocamento do epitélio branquial na área respiratória; e dilatação em regiões do seio venoso central. As brânquias dos indivíduos expostos em aldrin apresentaram alterações de segundo estágio (aneurismas) em todas as concentrações testadas.

A proliferação de células epiteliais entre as lamelas secundárias dos organismos expostos em ambas substâncias não foi mais acentuada com o aumento das concentrações-teste como observado para o metal cobre. No entanto, desde a concentração de 0,01 µg/L a proliferação de células já foi intensa e a fusão total de algumas lamelas foram observadas em todas as concentrações de ambos compostos.

Segundo Takashima e Hibiya (1995) a proliferação de células do epitélio respiratório e as microprojeções da superfície epitelial em lamelas primárias e secundárias são os primeiros sinais de exposição a agentes químicos e físicos, constituindo uma resposta inicial do aparelho branquial. A fusão total das lamelas secundárias é induzida por altas doses de agentes tóxicos, podendo também ser respostas a infecções por parasitas e bactérias (TEMMINK et al., 1989).

É importante ressaltar que a proliferação de células epiteliais na região respiratória e a fusão das mesmas pode conduzir a uma notável redução da superfície respiratória, pelo desaparecimento das lamelas secundárias e aumento da barreira água-sangue, que conseqüentemente, pode dificultar as trocas gasosas (RAJABANSHI; GUPTA; 1988; POLEKSIC; MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994).

As brânquias estão diretamente relacionadas com processos osmorregulatórios, balanço ácido-base, excreção de compostos nitrogenados, paladar e trocas gasosas e, desta forma, são peças fundamentais na regulação fisiológica dos peixes. De fato,

Singh; Das e Singh (1996) verificaram que aumento dos níveis de magnésio e fosfato no plasma sanguíneo estava relacionado à diminuição da entrada de cálcio através brânquias danificadas dos organismos expostos ao aldrin. Assim, lesões em tecidos branquiais podem ser o início de desequilíbrio de processos fisiológicos e metabólicos dos peixes.

Alguns estudos têm demonstrado que a perda na integridade das brânquias pode estar relacionada a uma deficiência na concentração de eletrólitos no sangue, como sódio, cloreto e cálcio, a qual vem sendo observada depois da exposição de peixes de água doce a pesticidas e aos metais, tais como mercúrio, cromo, zinco, cobre e cádmio (FU; LOCK; WENDELAAR BONGA, 1989; LOCK; CRIJSEN; VAN OVERBEEKR, 1981; MALLATT; STINSON, 1990; REID; McDONALD, 1988; SPRY; WOOD, 1985).

Um estudo realizado por Singh; Das e Singh (1996) demonstrou a ocorrência de hipocalcemia, hipermagnesemia e hiperfosfatemia no plasma sanguíneo de organismos expostos à concentrações subletais de aldrin. Também foi verificada queda na quantidade de proteínas e na concentração de glicogênio em tecidos musculares e no fígado, bem como o aumento dos teores de glicose no sangue. Os autores consideraram estas as alterações fisiológicas como mecanismos utilizados na tentativa de estabelecer o equilíbrio do metabolismo.

As alterações em vasos sanguíneos (dilatações de capilares e aneurismas) verificados no presente trabalho demonstram o potencial tóxico dos compostos organoclorados.

Segundo Bettex-Galland e Hughes (1973) os níveis de acetilcolina no sangue favorecem a contração das células pilares. Isto, juntamente com a dilatação de vasos sanguíneos diminuem intensamente a circulação sanguínea nas brânquias e, conseqüentemente, a tomada de oxigênio. Assim, o potencial tóxico dos pesticidas organoclorados é fato, visto que eles são compostos inibidores da enzima acetilcolinesterase e estão diretamente relacionados ao aumento dos níveis de acetilcolina no sangue.

Mudanças inflamatórias como inchaço, deslocamento do epitélio e hiperplasia das lamelas têm sido freqüentemente verificadas nas brânquias de várias espécies expostas a compostos orgânicos (BHAVAN; GERALDINE, 2000; FANTA et al., 2003;

NOWARK; BARBARA, 1992; RIGOLIM-SÁ, 1998; RIJI JOHN; JAYABALAN, 1993; ROY; MUNSHI, 1991). De acordo com Mallatt (1985), estas alterações inflamatórias podem refletir uma adaptação fisiológica ao estresse. Entretanto, estes mecanismos apesar de protegerem as áreas branquiais para assegurar a manutenção das funções osmorregulatórias, podem levar à disfunção ou ao não-funcionamento das brânquias, e resultar em asfixia (TAMSE; GACUTAN; TAMSE 1995).

É importante ressaltar, que os compostos organoclorados aldrin e heptacloro podem ser metabolizados pelos organismos aquáticos e transformados em outros compostos mais tóxicos, como o dieldrin (conversão do aldrin) e heptacloro epóxido (conversão de heptacloro). Desta forma, estes “sub-produtos” muito mais tóxicos que os primeiros são metabolizados no fígado e podem ser distribuídos por todo o organismo do animal via corrente sanguínea, causando danos ainda maiores às lamelas branquiais de peixes mantidos em ambientes contaminados (FANTA et al., 2003).

Diante dos resultados obtidos, é possível considerar que os compostos organoclorados (aldrin e heptacloro) podem apresentar um risco potencial para a saúde dos organismos aquáticos, uma vez que em concentrações muito baixas (0,01 µg/L) afetaram o crescimento e as funções vitais das brânquias dos organismos juvenis de *D. rerio*. É importante mencionar, que no início do trabalho a legislação vigente era a resolução CONAMA20/86, a qual estabelecia o limite de 0,01 µg/L de aldrin para a proteção da vida aquática, e por este motivo, não foi utilizada a concentração que está estabelecida na nova resolução CONAMA 257/05 (0,005 µg/L). Entretanto, os níveis de 0,01 µg/L de aldrin que demonstraram efeitos prejudiciais aos organismos-teste do presente trabalho foram permitidos pela resolução CONAMA20/86 durante quase 20 anos. Em relação ao heptacloro, não ocorreram mudanças na legislação, sendo que o limite permitido continua sendo 0,01 µg/L. Diante destes fatos, pode-se considerar que o limite estabelecido de heptacloro pela nova resolução poderá não assegurar a proteção da vida aquática, e que durante quase 20 anos, os limites estabelecidos de aldrin também não eram os ideais.

A partir da constatação dos efeitos sub-letais que o aldrin e heptacloro são capazes de ocasionar em peixes (crescimento e alterações histopatológicas nas brânquias), e conhecendo-se as concentrações elevadas de tais substâncias

verificadas no rio Monjolinho e tributários, é possível considerar que este agente tóxico pode ser um dos responsáveis pelos efeitos letais e sub-letais verificados nos organismos-teste expostos às amostras de sedimento do sistema. Além disto, os níveis excessivos destas substâncias detectadas no sistema em questão podem ser fatores determinantes para manutenção da saúde dos peixes, bem como para a sobrevivência, reprodução e, conseqüentemente, para a perpetuação das espécies.

7 – CONCLUSÕES

1) As análises limnológicas das amostras de água e sedimento do rio Monjolinho demonstraram uma elevada degradação do sistema no sentido Nascente-Confluência, sendo esta acentuada com a entrada dos tributários, os quais também apresentaram elevados impactos, principalmente os Córregos do Tijuco Preto; Gregório e Água quente. Os pontos localizados no rio Monjolinho, onde foram verificadas situações mais agravantes, foram o UFSCar e a Confluência, uma vez que o primeiro possui a maior quantidade de matéria orgânica e menor fração granulométrica dos sedimentos além do recebimento pontual de efluentes industriais e esgotos domésticos, e o segundo pelo fato de receber toda a contribuição poluidora do sistema, inclusive de efluentes agrícolas.

2) A análise de metais e pesticidas na água do rio Monjolinho e tributários demonstrou o elevado impacto antrópico no sistema, sendo que os metais cobre, cádmio, manganês e ferro e os pesticidas organoclorados aldrin, heptacloro e endosulfan foram detectados em concentrações acima dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05.

3) Em relação ao sedimento, apesar da maioria dos metais e pesticidas analisados terem sido encontrados em concentrações abaixo do Critério Canadense de Qualidade de Sedimento, os valores detectados foram elevados, e possivelmente contribuíram para a alta toxicidade observada nos bioensaios ecotoxicológicos com peixes em quase todos os pontos amostrados, confirmando a degradação ambiental do sistema. Ainda, os estudos em laboratório com cobre, aldrin e heptacloro, demonstraram a possibilidade da contribuição destes compostos no sedimento para a toxicidade dos organismos-teste.

4) As maiores porcentagens de mortalidade dos organismos-teste de ambas as espécies em amostras de sedimento foram observadas no período chuvoso, sendo que as concentrações da maioria poluentes (metais e pesticidas) estiveram mais elevadas no período seco. As possíveis explicações para as maiores porcentagens de mortalidade observadas no período chuvoso foram a mistura de substâncias (que

podem ser diferenciadas a cada período, e desta forma, mais ou menos tóxica) e a maior pluviosidade. Em relação ao último fator, deve-se considerar, que em função da maior pluviosidade no período chuvoso pode ter ocorrido um maior revolvimento das partículas já sedimentadas. Tal situação pode favorecer a instabilidade das ligações entre os poluentes adsorvidos às partículas dos sedimentos, tornando-os mais disponíveis à coluna d'água e, conseqüentemente, aos organismos-teste.

5) A espécie *P. reticulata* apresentou maior sensibilidade em amostras de sedimento que a espécie *D. rerio*. Além disto, ela teve sensibilidade ao dicromato de potássio semelhante à de espécies exóticas padronizadas; é adaptada a sistemas tropicais; é de fácil cultivo em laboratório e apresenta ciclo reprodutivo durante todo o ano. Portanto, a utilização da espécie *P. reticulata* como organismo-teste deve ser intensificada.

6) Os bioensaios de toxicidade crônicos-parciais com sedimento, utilizando-se juvenis de *D. rerio* e *P. reticulata*, demonstraram-se adequados para a avaliação deste compartimento, uma vez que a liberação de poluentes para a coluna d'água ocasionou efeitos agudos (mortalidade) ou sub-letais (crescimento/alterações histológicas) nos organismos.

7) Os estudos histológicos dos organismos sobreviventes às exposição crônica-parcial nas amostras de sedimento do sistema Monjolinho demonstraram a degradação geral do sistema, sendo que situação mais grave foi verificada no ponto UFSCar, indicando novamente o potencial tóxico para a biota. Ressalta-se que a análise histológica evidenciou os impactos ambientais e, portanto, são ferramentas adequadas para avaliar a toxicidade de amostras ambientais, juntamente com os parâmetro mortalidade e crescimento.

8) Os resultados físicos, químicos e ecotoxicológicos do sedimento e físicos e químicos da água do rio Monjolinho e tributários, demonstraram a degradação da qualidade do sistema para a manutenção da vida aquática, bem como para a utilização deste manancial para o consumo humano (abastecimento, irrigação e lazer), indicando as conseqüências dos impactos dos efluentes industriais e

domésticos da cidade de São Carlos, da utilização inadequada de compostos orgânicos e da modificação da paisagem no sistema.

9) Em relação ao metal cobre, a CL_{50} 96h média encontrada para juvenis de *D. rerio* foi de 73,83 $\mu\text{g/L}$ (14,37-133,29). Os valores crônicos para o crescimento e sobrevivência foram 8,9 e 1,78 $\mu\text{g/L}$, respectivamente, demonstrando a maior sensibilidade do *endpoint* crescimento para avaliação da toxicidade deste metal. Os Resultados da CENO para sobrevivência (4,0 $\mu\text{g/L}$) e para crescimento (0,8 $\mu\text{g/L}$), aliadas à alterações histológicas verificadas nos organismos-teste a partir de 0,16 $\mu\text{g/L}$, indicam que a concentração de cobre estabelecido pela resolução CONAMA 357/05 não é adequada para assegurar a proteção da vida aquática.

10) Os efeitos sub-letais verificados nos organismos expostos em concentrações de aldrin e heptacloro (crescimento e alterações histológicas) demonstraram a elevada toxicidade destes poluentes, sendo que o aldrin apresentou-se mais tóxico que o heptacloro. Os padrões estabelecidos pela resolução CONAMA357/05 para heptacloro também poderão não assegurar a proteção da biota e os padrões estabelecidos para aldrin pela resolução CONAMA 20/86 não foram adequados num período de 20 anos.

11) A elevada concentração dos poluentes cobre, aldrin e heptacloro verificadas no sistema Monjolinho pode influenciar na persistência de espécies nativas de peixes, uma vez que os organismos submetidos a concentrações crônicas apresentarão resistência diminuída e, ao invés de investir energia para o crescimento e reprodução concentrarão o gasto energético na detoxificação do poluente. Isto, possivelmente acarretará na diminuição do tamanho dos organismos, reprodução, sobrevivência dos jovens, e conseqüentemente na vulnerabilidade dos indivíduos, comprometendo assim, a existência da espécie, bem como o equilíbrio do sistema.

8 – RECOMENDAÇÕES

1) O processo de degradação da qualidade ambiental instalado no sistema Monjolinho desde sua área de nascente foi constatado no presente trabalho. Devido a necessidade da utilização dos usos múltiplos deste recurso (abastecimento, lazer, irrigação) pela população urbana, pelos agricultores e grandes proprietários de terras e pelas indústrias, algumas ações devem ser tomadas em caráter emergencial, para que tais usos não sejam restritos e atendam a demanda. Neste sentido, merece destaque a recuperação de matas ciliares em pontos do rio onde se localizam as culturas de cana-de-açúcar e principalmente na área de nascentes; a implantação de uma rede de tratamento de esgotos da cidade de São Carlos (já com licença prévia); a fiscalização mais acurada do cumprimento das leis ambientais, tais como dos padrões de emissão de poluentes (efluentes industriais e a utilização de agrotóxicos); da preservação de áreas de vegetação em propriedades particulares ou não (APPs); e a instalação de empreendimentos que possam potencializar os impactos no rio (loteamentos, indústrias, culturas perenes ou temporárias e outros).

2) Ainda neste contexto, é importante ressaltar a importância da adoção de medidas educacionais. Quando um cidadão entende a importância de um bem de uso comum (como o rio Monjolinho, por exemplo) e tem o conhecimento da sua vulnerabilidade aos impactos de atividades humanas e da necessidade de seu uso racional, ele desempenha seu papel na sociedade de forma consciente, como o cumprimento das leis ambientais (empresário, proprietários de terra e agricultores), o auxílio da fiscalização de ações que estão incoerentes com a legislação e a participação em questões ambientais que envolvam sua cidade. Para tanto, ressalta-se a necessidade da extensão ao público da situação ambiental constatada no rio Monjolinho no presente trabalho, podendo esta ser feita através de cartazes informativos, folders, palestras, mini-cursos, e se possível, a parceria com a prefeitura; ONGs; empresas e cooperativas. Assim, a mitigação dos problemas ambientais poderá ter início a partir da consciência de cada cidadão, e mais tarde, num esforço conjunto, a reconquista e manutenção da qualidade de vida da população poderão ser concretizadas.

3) Em relação às ferramentas utilizadas para avaliação ambiental do rio Monjolinho no presente estudo deve-se mencionar que futuros trabalhos intensifiquem o emprego da espécie *P. reticulata* como organismo-teste, uma vez que além de ser uma espécie adaptada aos ecossistemas tropicais; com ciclo reprodutivo durante todo o ano, e de fácil manutenção e reprodução em laboratório, ela apresentou sensibilidade satisfatória para avaliar os impactos ambientais.

4) Para melhor compreender os efeitos de aldrin e heptacloro em peixes, sugere-se a repetição dos bioensaios crônicos-parciais, bem como a utilização de outros parâmetros de avaliação como: estudos histológicos do fígado dos organismos-teste (onde ocorre a transformação dos compostos) e das gônadas (efeitos na reprodução); avaliação fisiológica os indivíduos submetidos a estas substâncias (quantidade de lactato desidrogenase no fígado e músculos; inibição de receptores GABA_A no cérebro de peixes; quantidade da proteína metalotioneína no fígado, etc). Ainda é importante destacar a necessidade da padronização da faixa da CL₅₀ em testes de toxicidade aguda com estes compostos, para auxiliar no estabelecimento das concentrações crônicas a serem utilizadas em bioensaios em longo prazo.

5) Em relação ao cobre, sugere-se também a repetição dos bioensaios crônicos-parciais para melhor compreender os efeitos sobre o crescimento e sobrevivência em peixes (em decorrência da variabilidade das respostas dos organismos), bem como a avaliação histológica de outros órgãos (fígado, gônadas, rins) e fisiológica.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, W. J. Aquatic Toxicology Testing Methods. IN: HOFFMAN, D. J. et. al. *Handbook of ecotoxicology*. Boca Raton, Lewis Publishers, 1995. Cap. 13, p. 25-46.
- ADAMS, S.M.; GREELEY, M.S.; RYON, M.G. Evaluating effects of contaminants on fish health at multiple levels of biological organization: extrapolating from lower to higher levels. *Human Ecol. Risk Assess.*, v.6, n.1, p. 1-6, 2000.
- ALABASTER, J.S. *Water Quality Criteria for freshwater fish*. 2ª ed. Butterworths, 1982.
- ALMEIDA, P.J. de. *Intoxicação por Agrotóxicos: Informações selecionadas para abordagem clínica e tratamento*. 165 p, 2002.
- ANDRADE, C.A. 2003. *Estudo ecotoxicológico no trecho médio da bacia do rio Doce – MG*. 2003, 195 f. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
- ARELLANO, J.M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of Senegales sole, *Solea senegalensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.44, p. 62-72, 1999.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *Análise granulométrica de solos*. 32p, 1968.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Projeto 00:001.44-001. *Ecotoxicologia aquática: Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes*. Rio de Janeiro, 2003.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. *Toxicological profile for copper*. Syracuse: US Department of Commerce, 1990.
- ATLAS, E.; GIMA, C.S. Global transport of organic pollutants: ambient concentrations in the remote marine atmosphere. *Science*, v. 311, p. 163 – 165, 1981.
- AYOTE, P. et al. Artic air pollution and human health: what effects should be expected? *Sci. Total. Environ.*, 2v.160 e 161, p.520 – 537, 1995.
- BAKER, J.T.P. Histological and eletron microscopical observations on copper poisonings in the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, v.26, p. 2785 – 2793, 1969.

BENEDETTI, I.; ALBANO, A.G.; MOLA, L. Histomorphological changes in some organs of the brown bullhead, *Ictalurus nebulosus* Le Sueur, following short and long-term exposure to copper. *J. Fish. Biol.*, v.34, p. 273-280, 1989.

BANERJEE, S.; BHATTACHARYA, S. Histological changes induced by chronic nonlethal levels of elsan, mercury and ammonia in the small intestine of *Channa punctatus* (Bloch). *Ecotoxicol. Environm. Saf.*, v. 31, p. 62-68, 1995.

BARRETO, A.S. *Estudo da distribuição de metais em ambiente lótico, com ênfase na assimilação das comunidades biológicas e a sua quantificação no sedimento e água*. 1999. 274 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.

BAUDO, R., MUNTAU, H. Lesser known in-place pollutants and diffuse source problems. IN: BAUDO, R., GIESY, J.P., MUNTAU, H. *Sediments: chemistry and toxicity of in-place pollutants*. Boca Raton, Lewis Publishers, INC, 1990. Cap. 1, p.1-14.

BEAUMONT, M.W.; BUTLER, P.J.; TAYLOR, E.W. Exposure of brown trout, *Salmo trutta*, to a sub-lethal concentration of copper in soft acidic water: effects upon muscle metabolism and membrane potential. *Aquatic Toxicol.*, v. 51, p. 259 – 272, 2000.

BENEDETTI, I., ALBANO, A.G.; MOLA, L. Histomorphological changes in some organs of the brown bullhead, *Ictalurus nebulosus* Le Sueur, following short and long-term exposure to copper. *J. Fish. Biol.*, v. 34, p. 273 – 280, 1989.

BENGTSSON, B.; LARSSON, A. Vertebral deformities and physiological effects in fourhorn sculpin (*Myoxocephalus quadricornis*) after long-term exposure to a simulated heavy metals containing effluent. *Aquatic Toxicology*, v. 9, p. 215 – 229, 1986.

BERTOLETTI, E.; GOLDSTEIN, E.G.; ZAGATTO, P.A. Variabilidade de testes de toxicidade com peixes. *Ambiente*, v.3, n.1, p.52-58, 1989.

BERTOLETTI, E. *Estimativa de efeitos tóxicos crônicos com Danio rerio* (Pisces, Cyprinidae). 2000, 118 f.. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

BETTEX-GALLAND, M.; HUGHES, G.M., Contractile filamentous material in the pillar cells of fish gills. *J. Cell. Sci.*, v. 13, p. 359-370, 1973.

BHAVAN, P.S.; GERALDINE, P. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. *Aquatic Toxicology*, v. 50, p. 331-339, 2000.

BILLEN, G.; GARNIER, J.; HANSET, P. Modelling phytoplankton development in whole drainage networks: the Riverstrahler Model applied to the Siene river system. *Hydrobiol.*, v. 289, p. 119-137, 1994.

BILLIARD, R.; BRY, C.; GILLET, C. Stress, environment and reproduction in teleost fish. In: *Stress and Fishes* (Edited by Pickering A.D.), Academic Press, London, 1981, p. 185 – 207.

BLASCO, J.; ARIAS, A.M.; SÁENZ, V. Heavy metals in organisms of the river Guadalquivir estuary: possible incidence of the Aznacóllar disaster. *Sci. Total. Environ.*, v.242, p. 249-259, 1999.

BOON, P.J. Essential elements in the case for the river conservation. In: BOON, P.; CALOW, J.; PETTS, G.E. (eds). *River conservation and management*. John Wiley & Sons, 1992. Cap. 2, p. 11-36.

BORDAJANDI, L.R. et al. Study on PCBs, PCDD/Fs, organochlorine pesticides, heavy metals and arsenic content in freshwater fish species from River Turia (Spain). *Chemosphere*, v.53, p. 163 – 171, 2003.

BRANCO, S.M. Água, meio ambiente e saúde. IN: REBOUÇAS, A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. *Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação*. São Paulo, Editora Escrituras, 1999. Cap.7, p. 227-247.

BRAUNBECK, T. Detection of environmentally relevant concentrations of toxic organic compounds using histological and cytological parameters: substance-specificity in the reaction rainbow trout liver? In: MULLER, R., LLOYD, R. *Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish*. United Nation, Fishing News Books., 1994. Cap. 2, p. 15-29.

BRESCHI, H. et al. A long-term toxicity test comprising reproduction and growth of zebrafish with 4-Chloroaniline. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, v.19, p. 419-427, 1990.

BRIGANTE, J. et al. Praguicidas nos sedimentos do rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. *Limnologia Fluvial*. Um estudo no Rio Mogi-Guaçu. São Carlos, Rima, 2003. Cap. 7, p.121-128.

BRODERIUS, S.; KAHL, M. Acute toxicity of organic mixtures to the fathead minnow. *Aquatic Toxicology*, v.6, p.307-322, 1985.

BRONDI, S.H.G. *Determinação de multiresíduos de agrotóxicos em águas de abastecimento do município de Araraquara: Ribeirão das Cruzes, Ribeirão das Anhumas e Córrego do Paíol*. 2000, 133 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

BURTON Jr, G.A. (Ed). *Sediment toxicity assessment*. Chelsea: Lewia Publishers, 1992.

BURTON Jr., G.A. Sediment quality criteria in use around the world. *Limnology*, v.3, p. 65-75, 2002.

BURTON, G.L., MACPERSON, C. Sediment toxicity testing issue and methods. In: HOFFMAN, D.J., et. al. *Handbook of ecotoxicology*. Boca Raton, Lewis Publishers, 1995. Cap 5, p.70-103.

CAIRNS Jr, J. Estimazing hazard. *Bioscience*, v. 30, n.2, p. 101-107, 1980.

CAIRNS JR, J.; NIEDERLEHNER, B. R.; BIDWELL, J. R. Ecological toxicity testing. In: *Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation*. Meyers, R.A. (ed). John Wiley & Sons, Inc, 1998.

CALHEIROS, D.F. (1993). *Ecotoxicologia de compostos organoclorados persistentes em um sistema eutrófico: represa de Barra Bonita (Médio Tietê)*. 1993, 299 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.

CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT. *Summary of existing Canadian Environmental Quality Guidelines – Summary Table*, 2003. Disponível em: http://www.ccme.ca/assets/pdf/e1_062.pdf, acesso em 12 nov. 2004.

CASTILHO, J.A.A. et al. Organochlorine and organophosphorus pesticides residues in the Atata river basin, Chinandega, Nicaragua. *Environmental Pollution*., v.10, p. 523-533, 2000.

CBH-MOGI. Diagnóstico da Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho "Relatório Zero", 319 p, 1999.

CERQUEIRA, C.C.C., FERNANDES, M.N. Gill tissue recovery copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. *Ecotoxicol. Environm. Saf.*, v.52, p. 83 – 91, 2002.

CHAPMAN, D. (ed). *Water quality assessments* - CHAPMAN and HALL, London, 1992.

ÇOGUN, H.Y., KARGIN, F. Effects of pH on the mortality and accumulation of copper in tissues of *Oreochromis niloticus*. *Chemosphere*, v.55, p. 277-282, 2004.

_____. *Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo*. São Paulo, 1992-2002.

_____. *Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo*. São Paulo, 1990 – 2000.

_____. Ano 1986: *Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo*. São Paulo, 1997

_____. Ano 2004: *Relatório da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo*, São Paulo, 2005.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA 20 – 12 de junho de 1986. In: *Coletânea De Legislação Ambiental Federal - Estadual*, 1991. Imprensa Oficial do Estado do Paraná, 1986.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA 357 – 17 de março de 2005.

COPE, O.B. Contamination of the freshwater ecosystems by pesticides. *Journal Applied Ecology*, v. 3, n.1, p. 33-44, 1966.

CÔRTEZ, M.R. et al. Uso e ocupação da terra na área urbana. In: ESPÍNDOLA, E.L.G; SILVA, J.S.V; MARINELLI, C.E; ABDON, M.M. *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*, 2000. Cap.10, p 114-132.

CPRM (Serviço Geológico do Brasil). Projeto Araxá: *Estudo Geoambiental das Fontes Hidrominerais*, São Paulo, 125 p, 1999.

CRISCUOLO,C; VASCONCELOS, C.H; SILVA, J.S.V. (2000). Uso e Ocupação da terra em 1965 e 1968. In: ESPÍNDOLA, E.L.G; SILVA, J.S.V; MARINELLI, C.E; ABDON, M.M. *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*, 2000. Cap.9, p 104-113.

DAMATO, M. et al. O sulfato de cobre como agente tóxico. *Ambiente*, v. 3, n. 1, p. 26 – 31, 1989.

DANG, Z. et al. Effects of copper on cortisol receptor and metallothionein expression in gills of *Oncorhynchus mykiss*. *Aquat. Toxicol.*, v.51, p.45 – 54, 2000.

DANG, Z.C. et al. Na¹/K¹-ATPase immunoreactivity in branchial chloride cells of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper. *J. Experiment. Biol.*, v.203, p. 379 – 387, 2000.

DE SILVA, P.M.C.S.; SAMAYAWARDHENA, L.A. Low concentrations of Lorsban in water result in far reaching behavioral and histological effects in early life stages in guppy. *Ecotoxicology and environmental Safety*, v. 53, p.248-254, 2002.

DEMAYO, A.; TAYLOR, M.C. (1980). Copper. In: *Guidelines for surface water quality: inorganic chemical substances*. Ottawa, Environmental Canada, 1980. v.1, 55p.

DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL. *Informe mineral*. Brasília: Diretoria de Desenvolvimento e Economia Mineral e Divisão de Economia Mineral, 1999.

DORES, E.F.G.C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E.M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas: via de contaminação e dinâmica dos pesticidas no ambiente aquático. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente: Pesticidas*, v. 9, p. 1-18, 1999.

DOUDOROFF, P.; KATZ, M. Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and their components to fish II. The metals as salts. *Sewage Ind. Wastes*, v.25, p. 802-839, 1953.

EDDY, F.B. Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish. In: *Stress and Fish* (Eddited Pickering, A.D.), Academic Press, London, 1981. p. 77-102.

ELLGAARD, E.G.; GUILLOT, J.L. Kinetic analysis of the swimming behavior of bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus* Rafinesque, exposed to copper: hypoactivity induced by sublethal concentrations. *J. Fish Biol.* V.33, p.601-608, 1998.

ENDLER, J.A. (1980). Natural selection on color patterns in *Poecilia reticulata*. *Evolution*, 34: 76-91.

ENSEBACH, U.; NAGEL, R. Toxicity of complex chemical mixtures: acute and long-term effects on different life stages of zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental safety*, v.30, p.151-157, 1995.

ESPÍNDOLA, E.L.G. O Rio Monjolinho: um estudo de caso. In: ESPÍNDOLA, E.L.G; SILVA, J.S.V; MARINELLI, C.E; ABDON, M.M. *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*. 2000. Cap.3, p 36-40.

ESPÍNDOLA, E.L.G; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C.B. Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. *Limnologia Fluvial: Um estudo no rio Mogi-Guaçu*, 2003. Cap. 8. p.129-180.

ESTEVES, F.A. *Fundamentos de limnologia*. Rio de Janeiro, Interciência: FINEP, 1988.

EYSINK, G.G.J. et al. *Ambiente*, v. 2, n.1, 1988.

EWALD, G. Chronic measures of toxicant - induced effects on fish. *Ann Zool. Fenici*, v.32, p.311-316, 1995.

FANTA, E. et al. 2003. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 54, p. 119-130, 2003.

FLEMMING, C.A., TREVORS, J.T. Cooper toxicity and chemistry in the environment: A review. *Water Air Soil Pollut.*, v.44, p.43-158, 1989.

FOLHA DE SÃO PAULO. Senado aprova proibição do inseticida DDT. São Paulo, 28 fev., 2002.

FÖRSTNER, U. Chemical forms and reactivities of metals in sediments. In: LESCHBER, R., DAVIS, R.D., L'HERMITE, P. (Eds.), *Chemical Methods for Assessing Bioavailable Metals in Sludges and Soils*. Elsevier, London, 1985. p. 1-30.

FÖRSTNER, U.; WITTMANN, G.T.W. *Metal pollution in the aquatic environment*, 2^a ed., Berlin, Springer-Verlag, 1983.

FRACÁCIO, R. *Utilização de bioensaios ecotoxicológicos com Danio rerio (Cypriniformes, Cyprinidae) e análises limnológicas para a avaliação ambiental dos reservatórios do médio e baixo Tietê (SP)*. 2001, 233 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

FRACÁCIO, R. et al. Alterations on growth and gill morphology of *Danio rerio* (Pisces, Ciprinidae) exposed to the toxic sediments. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. v.46, n.4, p. 685-695, 2003.

FRASER, A.D.; MEYBECK, M.; ONGKLEY, E.D. *Water quality of world river basins*, UNEP, Nairobi, Earthwatch Environment Library, 1995.

FU, H.; LOCK, R.A.C.; WENDELAAR BONGA, S.E. Effect of cadmium on prolactin cell activity and plasma electrolytes in the freshwater teleost *Oreochromis mossambicus*. *Aquatic toxicology*, v.14, p.295-306, 1989.

GALVEZ, F. et al. Zinc binding to the gills of rainbow trout: The effect of long-term exposure to sublethal zinc. *J. Fish. Biol.*, v.52, p. 1089 – 1104, 1998.

GERNHÖFER, M. et al. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *J. of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, v.8, p.241-260, 2001.

GIESY, J.P.; HOKE, R.A. Freshwater sediment toxicity bioassessment: rationale for species selection and test design. *J. Great. Lakes Res.*, v.15, n.4, p. 539-569, 1989.

GOODMAN, L.R. et al. Effects of Kepone on the sheepshead minnow in an entire life cycle toxicity test. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, v.11, p. 335-342, 1982.

GOLDMAN, C.R.; HORNE, A.J. *Limnology*. International student, Mc Graw-Hill, Tokyo, 1983.

GOLDSTEIN, E.G. et al. Avaliação da toxicidade dos principais despejos industriais da região de E.R.Q. – Suzano, através de ensaios biológicos. *Rev. DAE*, v.132, p. 42-47, 1983.

GORMLEY, K.L.; THEATHER, K.L. Developmental, behavioral, and reproductive effects experienced by *Japanese medaka* (*Oryzias latipes*) in response to short-term exposure to endosulfan. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.54, p. 330-338, 2003.

GUERESCHI, R.M., (1995). *Monitoramento biológico da bacia hidrográfica do rio Monjolinho pelo uso de invertebrados bentônicos*. 1995, 43 f. Monografia (Graduação) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1995.

GUNTHER, W.M.R. *Contaminação ambiental por disposição inadequada de resíduos industriais contendo metais pesados: estudo de caso*. 1998. Tese (Doutorado) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

GUTHRIE, F.F.; PERRY, J.J. *Introduction to environmental toxicology*. North Holland: Elsevier, 1980.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.U. Trimmed Sperman-Karber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, v.11, n.7, p.714-719, 1977. [Correction, v.12, n.4, p.417, 1978].

HANDY, R.D.; EDDY, F.B.; ROMAIN, G. In vitro evidence for the ionoregulatory role of rainbow trout mucus in acid, acid/aluminum and zinc toxicity. *J. Fish Biol.* V.35, p.373, 1989.

HEATH, A.G. *Water pollution and fish physiology*. Boca Raton, CRC Press., 1987.

HEATH, A.G. *Water pollution and fish physiology*. Boca Raton, CRC Press, 1995.

HEATH, A.G. et al. Physiological responses of fathead minnow larvae to rice pesticides. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.37, p.280-288, 1997.

HAZARDOUS SUBSTANCE DATA BANK. Copper. In: TOMES CPS TM SYSTEM. *Toxicology occupational medicine and environmental series*. Englewoos: Micromedex, 2000. CD-ROM.

HOLLIS, L.; PLAYLE, R.C. Influence of dissolved organic matter on copper binding and calcium on cadmium binding, by gills of rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, v.50, p. 703-720, 1997.

HUANG, J.C. Effect of selects factors on pesticides sorption and desorption in the aquatic system. *J. Water. Poll. Control Federation*, v. 48, n.3, p. 1739-1748.

HUGHES, G.M. Measurement of gill area in fishes. Practices and Problems. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, v.64, p. 367-655, 1984.

HUGHES, G.M.; SHELTON, G. 1962. Respiratory mechanisms and their nervous control in fish. In: LOWENSTEIN, O. (Eds). *Advances in comparative physiology and biochemistry*. Academic Press, London, 1962. v.1, p. 275-364.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE. *Manual de testes para avaliação da ecotoxicologia de agentes químicos*. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 1990.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Sinopse preliminar do censo agropecuário*. Rio de Janeiro, v.4, p.1-90, 1985.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. *Levantamento sistemático da produção agrícola*. Rio de Janeiro, v.5, p. 1-76, 1993.

JONSSON, C.M. Impactos dos agrotóxicos: efeitos em organismos aquáticos. *Rev. Bras. Toxicol.*, v.8, n.1, p.13 – 14, 1995.

JORDÃO, C.P. et al. Distribution of heavy metals in environmental samples near smelters and mining areas in Brazil. *Environ. Technol.*, v.20, p. 489 – 498, 1999.

JURACEK, E.K.; MAU, D.P. Metals, trace elements, and organochlorine compounds in bottom sediment of Tuttle creek Lake, Kansas, USA. *Hydrobiol.*, v. 494, p. 277-282, 2003.

KALAY, M.; AY, Ö.; CANLI, M.. Heavy metal concentrations in fish tissues from the northeast Mediterranean sea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* V.63, p. 673 – 681, 1999.

KHANGAROT, B.S. (1981). Chelating agent EDTA decreases the toxicity of copper to fish. *Current Science*, v.50, n.5, p. 246-248, 1981.

KARPLUS, I., POPPER, D., GOLDEN, O. The effect of food competition and relative size of group members on growth of juvenile gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Fish Physiol. Biochem.*, v.22, p. 119-123, 2000.

KRISTENSEN, P. Sensitivity of embryos and larvae in relation to other stages in the life cycle of fish: a literature review. In: MÜLLER, R.; LLOYD, R. (Eds). *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. United Nation, fishing News Books, 1994. Cap. 14, p. 155-174.

KRUIJF, H.A.M.. What is a ecotoxicology? In: KRUIJF, H.A.M.. ZWART, D. (eds). *Manual on aquatic ecotoxicology*. Kluwer Academic Publishers, London, 1988. Cap. 4, 332p.

KUWAMURA, T.; KARINO, K.; NAKASHIMA, Y. Male morphological characteristics and mating success in a protogynous coral reef fish *Halichoeres melanurus*. *J. Ethol.*, v.18, p. 17-23, 2000.

LACROIX, G.L. et al. Aluminium dynamics on gills of Atlantic salmon fry in the presence of citrate and effects on integrity of gill structures. *Aquat. Toxicol.*, v.27, p. 373 – 402, 1993.

LAMBERT, M. *Agricultura e meio ambiente*, 4e. São Paulo: Scipione, 1997.

LARA, W.H. Pesticidas e contaminação de alimentos. In: LARA, W.H. (Coordenadora). *Manual de análises de resíduos de pesticidas*. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1982.

LARINI, L. *Toxicologia*. 2ed. Manole, São Paulo, 1993.

LAURÉN, D.J.; McDONALD, D.G. Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri*: Physiology. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v.4, p. 99 – 104, 1987.

LAURÉN, D.J.; McDONALD, D.G. Effects of copper on branchial ion regulation in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Richardson modulation by water hardness and pH. *J. Comp. Physiol.*, v.155, p. 635 – 644, 1985.

LAURENT, P.; DUNEL-ERB, S. Morphology of gill epithelia in fish. *Am. J. Physiol.*, v.238, p. 147-519, 1980.

LEMES, M.J.L. *Avaliação de metais e elementos-traço em águas e sedimentos das bacias hidrográficas dos rios Mogi-Guaçu e Pardo, São Paulo.*, 2001, 215 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, 2001.

LENARDÓN, A.M.L.; LORENZATTI, E.A.; ENRIQUE, S.N. 1998. Monitoreo de inseticidas organoclorados e organofosforados en el Rio Paraná (Km 600). *Revista de Ecotoxicología e Meio Ambiente: Pesticidas*, v.8, p. 57 – 66, 1998.

LI, J. et al. Effects of water-borne copper on branchial chloride cells and Na¹/K¹ – ATPase activities in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Aquatic Toxicology*, v.43, p. 1 – 11, 1998.

LIANG, Y.; CHEUNG, R.Y.H.; WONG, M.H. Reclamation of wastewater for polyculture of freshwater fish: bioaccumulation of trace metals in fish. *Wat. Res.*, v. 33, n.11, p. 2690-2700, 1999.

LIU, W. et al. The application of preliminary sediment quality criteria to metal contamination in the Le An River. *Environ. Pollut.*, v.105, p. 335-366, 1999.

LLOYD, R. (1992). *Pollution and freshwater fish*. Oxford, Fishing News Books, 1992.

LLOYD-JONES. (1971). *Evaporation of DDT*. Nature (Lond), 1971.

LOCK, R.A.C.; CRIJSEN, P.M.J.M.; VAN OVERBEEKR, A.P. Effects of mercuric chloride and methylmercuric chloride on the osmoregulatory function of the gills in rainbow trout *salmo gairdneri* Richardson. *Comp. Biochem. Physiol. C.*, v.68, p. 151-159, 1981.

LOCK, R.A.C.; BALM, P.H.M.; WENDELAAR BONGA, S.E. Adaptation of freshwater fish to toxicants: stress mechanisms induced by branchial malfunctioning. In: MULLER, R., LLOYD, R. *Sublethal and Chronic effects of Pollutants on freshwater fish*. United Nation, Fishing News Books, 1994. Cap. 11, p. 214-134.

LOGANATHAN, B.G.; KANNAN, K. Global organochlorine contamination trends: an overview. *Ambio*, v. 23, n.3, p. 187 – 191, 1994.

LÓPEZ-MARTIN, J.M.; RUIZ-OLMO, J.; BORRELL, A. Levels of organochlorine compounds in freshwater fish from Catalonia, N.E. Spain. *Chemosphere*, v. 31, n.6, p. 3523 – 3535, 1995.

MACEDO, J.A.B. *Introdução a Química Ambiental. (Química, Meio Ambiente & sociedade)*. Juiz de Fora-MG: Jorge Macêdo (CRQ-MG), 2002.

MACHADO, P.A.L. *Direito ambiental brasileiro*. 3.ed. São Paulo: Revista dos Tribunais, 1991.

MAHAN, B.H. *Química. Um curso universitário*. 4ed. São Paulo, Edgard Blucher, 1995.

MALLATT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A statistical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v.42, p. 630 – 648, 1985.

MALLATT, J.; STINSON, C. Toxicant extraction efficiency and branchial NaCl fluxes in lampreys exposed to Kepone. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 19, p.307-313, 1990.

MANDEL, P.K.; KULSHESTHA, A.K. Histopathological changes induced by sublethal sumithion in *Claris batrachus* (1ln). *Indian J. Exp. Biol.*, v. 18, p. 547-552, 1980.

MANTOURA, R.F.; DIXON, A.; RILEY, J.P. The speciation of trace metals with humic compounds in natural waters. *Thalassia Jugols.*, v.14, p. 127-145, 1978.

MARGALEF, R. *Limnologia*. Barcelona: Omega, 1983.

MARINELLI, C.E. et al. Limnologia. In: ESPÍNDOLA, E.L.G; SILVA, J.S.V; MARINELLI, C.E; ABDON, M.M. *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*, 2000. Cap.11, p 133-149.

MATEI, V.E.; KOMOV, V.T. The effect of aluminum and low pH of water on gill ultrastructure and electrolyte content in blood plasma of juvenile *Salmo salar*. *J. Evol. Biochem. Physiol.*, v.28, p. 453 – 460, 1992.

MAYER et al. *Physicochemical factors affecting toxicity in freshwater: hardness, ph, and temperature*. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., EPA/600/A-94/199 (NTIS PB95122990), 1994.

MAZON, A.F. *Efeitos do íon cobre sobre o Curimatá, Prochilodus scrofa (STEINDACHNER, 1881)*, 1997, 160 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1997.

MAZON, A.F., CERQUEIRA, C.C.C., FERNANDES, M.N. Gill cellular changes induced by copper exposure in the South American tropical fish *Prochilodus scrofa*. *Environm. Res. Section.*, v.88, p. 52 – 63, 2002.

McGEER, J. et al. Effects of chronic sub-lethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout: tissue specific metal accumulation. *Aquatic Toxicology*, v.50, p. 245-256, 2000.

McKIM, J.M. Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long-term toxicity. *J. Fish Board. Can.*, v.34, p. 1148-1154, 1977.

McKIM, J.M. 1985. Early life stages toxicity tests. In: RAND, G.M. (Ed.), *Fundamentals of aquatic toxicology*. Taylor and Francis, London, 1985. p. 974-1011.

MELETTI, P.C. *Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba através de testes de toxicidade aguda com peixes*. 1997. 148f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

MELETTI, P.C. *Avaliação da degradação ambiental por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes*. 2003. 209f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

MENDES, A.J.S. *Avaliação dos impactos sobre a comunidade macrozoobentônica, no córrego do Monjolinho (São Carlos, SP)*. 1998. 106f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.

MEYBECK, M. iver water quality Global ranges, time and space variabilities, proposal for some redefinitions. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, v.26, p. 81-96, 1996.

MISHRA, R.; SHUKLA, S.P. Effects of endosulfan on bioenergetic properties of liver mitochondria from the freshwater catfish *Clarias batrachus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* v. 50, p. 240 – 246, 1994.

MOALLA, S.M.N. et al. Distribution and chemical fractionation of some heavy metal in bottom sediments of lake Nasser. *Hidrobiologia*, v.364, p. 31-40, 1998.

MORAES, R.; ELFVENDAHL, S.; KYLIN, H.; MOLANDER, S. Pesticide residues in rivers of a Brazilian forest reserve: Assessing potential concern for effects on aquatic life and human health. *Ambio*, v.32, n.4, p. 258-263, 2003.

MOREIRA, A.S. *Avaliação da influência da agricultura na presença de metais pesados nas águas do Baixo Rio Pardo – SP*. 2001. 111f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

MOORE, J.W.; RAMAMOORTHY, S. *Heavy metals in Natural Waters: Applied Monitoring and Impact Assessment* 1 ed. Springer-verlag, NY, 1984.

MORRISON, G.M.P.; BATLEY, G.E.; FLORENCE, T.M. Metal speciation and toxicity. *Chemistry in Britain*, p. 792 – 795, 1989.

NEWMAN, M.C.; JAGOE, C.H. 1994. Ligands and the bioavailability of metals in aquatic environments. In: HAMELINK, J.L.; LANDRUN, P.F.; BERGMAN, H.L.; BENSON, W.H.. *Bioavailability, physical, chemical, and biological interactions*. Seção 3, 1994. Cap. 1. p.39-62.

NEWSTEAD, J.D. Fine structure the respiratory lamellae of Teleostean gills. *Zeitschrift für Zellforschung*, v.70, p. 420-445, 1987.

NGUYEN, L.T.H.; JANSSEN, C.R.; VOLCKAERT, F.A.M. 1999. Susceptibility of embryonic and larval African catfish (*Clarias gariepinus*) to toxicants. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 62, p. 230– 237, 1999.

NILSSON, P.A.; BRONMARK, C. Prey vulnerability to a gape-size limited predator: behavioral and morphological impacts on northern pike piscivory. *Oikos*, v.88, p.539-546, 2000.

NIMMO, D.R. Pesticides. In: RAND, G.M. e PETROCELLI, S.R. (Eds). *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*. New York: Hemisphere, 1985. p.335-373.

NJIWA, J.R.K.; MÜLLER, P.; KLEIN, R. Life cycle stages and length of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to DDT. *Journal of Health Science*, v.50, n.3, p. 220 – 225, 2004.

NOVELLI, A. *Estudo limnológico e ecotoxicológico da água e sedimento do rio Monjolinho – São Carlos (SP), com ênfase nas substâncias de referência cádmio e cobre*. 2005, 211f. Dissertação de mestrado - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2005.

NOWARK, BARBARA. Histological changes in gills induced by residues of endosulfan. *Aquat. Toxicol.*, v.23, p. 65-83, 1992.

OCHIAI, E. I. Toxicity of heavy metals and biological defense. Principles and Applications in bioinorganic chemistry – VII. *Journal of Chemical Education*, v.72, n.6, p. 479-483, 1995.

OKI, J; PEREIRA, E.M. *Poluição ambiental causada por descarte de organoclorados: o impacto do uso de organoclorados como pesticidas*. <http://junoki.vila.bol.com.br/organoclorados/organoclorados.html>, 1999.

OLSVIK, P.A. et al. Metal accumulation and metallothionein in two populations of brown trout, *Salmo trutta*, exposed to different natural water environments during a run-off episode. *Aquatic Toxicol.*, v.50, p. 301 – 316, 2000.

ORONSAYE, J.A.O.; BRAFIELD, A.E. The effect of dissolved cadmium on the chloride cells of the gills of the stickleback. *Gasterosteus aculeatus* L. *J. Fish Biol.*, v.25, p. 253-258, 1984.

OSFOR, M.M.H.; ABD EL WAHAB, A.M.; EL DESSOUKI, S.A. Occurrence of pesticides in fish tissues, water and soil sediment from Manzala Lake and River Nile. *Nahrung*, v.42, p. 39 – 41, 1998.

OWENS, K.D.; BAER, K.N. Modifications of the tropical Japanese medaka (*Oryzias latipes*) embryo larval assay for assessing developmental toxicity of Pentachlorophenol and p,p'-Dichlorodophenyltrichloroethane. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.47, p. 87 – 95, 2000.

PAWERT, M; MÜLLER, E; TRIEBSKORN, R. Ultrastructural changes in fish gills as biomarker to assess small stream pollution. *Tissue and Cell*, v.30, n.6, p. 617-626, 1998.

PEAKALL, D.B. The role of biomarkers in environmental assessment (1). Introduction. *Ecotoxicology*, v.3, p. 157-160, 1994.

PEDROZO, M.F.M. *Ecotoxicologia do cobre e seus compostos*. Salvador: Cadernos de referência ambiental, 128p., v.2, 2001.

PELAÉZ-RODRIGUES, M. *Avaliação da qualidade da água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu / SP (Ribeirão do Feijão e Rio do Monjolinho) através de variáveis físicas, químicas e biológicas*. 2001. 145f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

PELATTI, I. *Impacto do desenvolvimento urbano da cidade de São Carlos (SP) sobre o Rio Monjolinho e avaliação de sua condição desde as nascentes até a captação do Espraiado*. 2001. 212f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

PELGROM, S.M.G.J. et al. Interactions between copper and cadmium during single and combined exposure in juvenile tilapia *Oreochromis mossambicus*: Influence of feeding condition on whole body metal accumulation and the effect of the metals on tissue water and ion content. *Aquat. Toxicol.*, v.30, p. 117 – 135, 1994.

PERES, A.C. (2002). *Uso de macroalgas e variáveis físicas, químicas e biológicas para a avaliação da qualidade da água do rio Monjolinho, São Carlos, Estado de São Paulo*. 2002. 116f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.

PERRY, S.F.; LAURENT, P. Environmental effects on fish gill structure and function. In: RAKIN, J.C.; JENSEN, F.B. (Eds). *Fish Ecophysiology*. Chapman and Hall, London, 1993. p. 231-264.

PETERSON, H.G.; HEALEY, F.P.; WAGEMANN, R. Metal toxicity to algae. A highly pH dependent phenomenon. *Can. J. Aquat. Sci.*, v. 41, p. 974-979, 1984.

PICKERING, Q.H.; HENDERSON, P. The acute toxicity of some heavy metals to different species of warm water fishes. *Air Water Pollut. Int. J.* v.10, p. 453 – 463, 1966.

PICKERING, Q.H.; LAZORCHAK, J.M. Evaluation of the robustness of the Fathead minnow, *Pimephales promelas*, larval survival and growth test, U.S.EPA Method 1000.0. *Environ. Toxicol. and Chem.*, v.14, n.4, p. 653-659, 1995.

PILGAARD, L.; MALTE, H.; JENSEN, F.B. Physiological effects and tissue accumulation of copper in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under normoxic and hypoxic conditions. *Aquatic Toxicology*, v.29, p.197-212, 1994.

PIMENTEL, D., LEVITAN, L. Pesticides: amount applied and amounts reaching pests. In: PIMENTEL, D. *CRC Handbook of pest management in agriculture*. 2ed. Boca Raton: CRC Press, 1991. p. 741-750.

PLAYLE, R.C.; WOOD, C.M. Mechanisms of aluminum extraction and accumulation at the gills of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in acidic soft water. *J. Fish. Biol.*, v.38, p. 791 – 805, 1991.

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

PRATER, B.L.; ANDERSON, M.A. A 96-hour bioassay of Otter Creek. *J. Water Pollution Control Federation*, v.49, p. 2090 – 2106, 1977.

RAJBANSHI, V.K.; GUPTA, A.K. Alterations in the architecture of gill surface produced by water-borne copper in *Hepteteroneusters fossilis* (Bloch). *Acta Hydrochem. Hydrobiol.*, v.16, p. 325 – 332, 1988.

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

RAO et al. Effect of endosulfan on cardiac activity of *Mytilopsis sallei*. *Biol. Bull. India.*, v.10, p. 1-4, 1988.

RASHATWAR, S.S.; ILYAS, R. Effect of phosphomidon in a freshwater teleost fish, *Nemachelius demisonii* (Day) Histopathological and biochemical studies. *J. Environ. Biol* , v.5, n.1, p. 1 – 8, 1984.

REBOUÇAS, A.C. *Água Doce no Mundo e no Brasil*. In: REBOUÇAS , A.C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J.G. *Águas Doces no Brasil: Capital Ecológico, Uso e Conservação*. São Paulo, Ed. Escrituras, 1999. Cap. 1, g . 12-21.

REID, S.D.; McDONALD, D.G. Effects o cadmium, copper, and low oH on ion fluxes in the raibow trout. *Salmo gairdneri*. *Can. J. Fish. Aquatic. Sci.*, v.45, p.244-253, 1988.

RIGOLIM-SÁ, O. *Toxicidade do herbicida Roundap (glifosfato) e do acaricida Omite (propargito) nas fases iniciais da ontogenia do bagre, Rhandia hilari (VALENCIENNES, 1840) (Pimelodidade, Siluriforme)*. 1998. **pág.** Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1998.

RIJI JOHN, K.; JAYABALAN, N. Sublethal effects on endosulfan on the histology and protein pattern of *Cyprinus carpio gill*. *J. Appl. Ichtyol.*, v.9, p. 45-56, 1993.

RISSATO, S.R. et al. Determinação de pesticidas organoclorados em água de manancial, água potável e solo na região de Bauru (SP). *Química Nova*, v.27, n.5, p. 739 – 743, 2004.

ROBERTS, R.J. *Fish pathology*. London: Bailliere Tindall, 1989.

ROEX, E.W.M., VRIES, E.; VAN GESTEL, C.A.M. Sensitivity of the zebrafish (*Danio rerio*) early life stage test for compounds with different models of action. *Environ. Pollution*, v.120, p. 355-362, 2002.

RODRIGUES, G.S.; PARAÍBA, L.C.; BUSCHINELLI, C.C. Estimativa da carga de pesticidas e nitrato para as águas subterrâneas no estado de São Paulo. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente: Pesticidas*, v.7, p. 89-108, 1997.

ROVEDATTI, M.G. et al. Monitoring of organochlorine and organophosphorus pesticides in the water of the Reconquista river (Buenos Aires, Argentina). *Wat. Res.*, v.35, n.14, p. 3457 – 3461, 2001.

ROY, P.K.; MUNSHI, S. Malathion induced structural and morphometric changes of gills of a freshwater major carp *Cirrhinus mrigala* (Ham). *J. Environ. Biol.*, v.12, p. 79-87, 1991.

SÃO PAULO (Estado). Decreto n.10755, de 22 de novembro de 1977. Dispõe sobre o enquadramento dos corpos d'água na classificação prevista no Decreto n. 8468, de 8 de setembro de 1976, e dá providência correlatas.

SALAMI, L.N.B.P. *Estudo das influencias climáticas e antropogênicas nas características físico-químicas no rio Monjolinho*. 1996. 136f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1996.

SALOMONS, W. et al. J. 1987. Sediments as a source for contaminants? *Hydrobiol.*, v.149, p. 13-30, 1987.

SANTOS, M.J. dos. *Estudo limnológico dos córregos Água fria e Água quente*. São Carlos. 1993. 291f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.

STRAKSRABA, M. Vltava cascade as teaching grounds for reservoir limnology. *Wat. Sci. Tech.*, v.30, n.10, p. 289-297, 1994.

SÉ, J.A. S. *O rio Monjolinho e sua bacia hidrográfica como integradores de sistemas ecológicos: um conjunto de informações para o início de um processo de pesquisas ecológicas, de educação e gerenciamento ambientais a longo prazo*. 1992. 381f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1992.

SEAD. São Paulo em dados, 1998.

SEILER, H.G.; SIGEL, H. *Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds*, Marcel Dekker Inc. New York, 1998.

SILVA, D.M.L. *Avaliação dos compostos organoclorados na bacia do rio Piracicaba*. 2000. 81f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

SILVA, M.R.C. (2002). *Estudos de sedimentos da bacia hidrográfica do rio Moji-Guaçu com ênfase na determinação de metais*. 2002. 98f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

SILVA, A.C; BATTISTELLE, R.A.G; CABRAL, N.R.A.J. Clima. In: ESPÍNDOLA, E.L.G; SILVA, J.S.V; MARINELLI, C.E; ABDON, M.M. *A Bacia Hidrográfica do rio Monjolinho*, 2000. Cap.6, p. 60-76.

SILVA, M.R.; TONIAL, I.B. Verificação dos teores residuais de agroquímicos organoclorados em águas no Rio Chopim e seus afluentes; Rio Caldeiras, Rio Bandeira e Rio Lontras no município de Palmas – PR. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, v.9, n.4, p. 45-55, 2004a

SILVA, M.R.; TONIAL, I.B. Verificação dos teores residuais de agroquímicos organoclorados em sedimentos de superfície no Rio Chopim e seus afluentes; Rio Caldeiras, Rio Bandeira e Rio Lontras no município de Palmas – PR. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, v.9, n.4, p. 57-66, 2004b.

SILVÉRIO, P.F. *Partição, biodisponibilidade e toxicidade de metais pesados a organismos bentônicos em sedimentos*. 1999. 78f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1999.

SINGH, B.B.. NARAIN, A.S. Acute toxicity of Thiodan to catfish (*Heteropneustes fossilis*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v.28, p. 122-127, 1982.

SINGH., N.N.; SRIVASTAVA, A.K. Effect of aldrin on some biochemical parameters of Indian catfish, *Heteropneustes fossilis*. *J. Freshwater Biol.* V.4, n.4, p. 289 – 293, 1992.

SINGH, N.N.; DAS, V.K.; SINGH, S. Effect of aldrin on carbohydrate, protein, and ionic metabolism of a freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v.57, p. 204 – 210, 1996.

SOARES, H.M.V.M. et al. Sediments as monitors of heavy metal contamination in the Ave River Basin (Portugal): Multivariate analysis of data. *Environ. Pollut.*, v.105, p. 311-323, 1999.

SOLA, F., ISAIA, J.; MANSONI, A. Effects of copper on gill structure and transport function in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Appl. Toxicol.*, v.15, n.5, p. 391 – 398, 1995.

SOLLINGS, P.; GLASSMAN, C.A.; DAHM, C.N. Composition and possible origin of detrital material in streamns. Ecology, In: ALLAN, J.D. (1977). *Stream ecology – structure running wa ters*. London: Chapman e Hall. 1985. p. 297 – 299.

SORENSEN, E.M.B. *Metal poisoning in fish*. Boca Raton, Press, 1991.

SPEHAR, R.C. et al. Effects of pollution on freshwater fish. *J. Wat. Pollut.* V.54, p. 877-922, 1982.

SPERLING, E.V. Qualidade da água em atividades de mineração. In: DIAS, L.E.; VARGAS DE MELLO, J.W. *Recuperação de áreas degradadas*. Universidade Federal de Viçosa, Dept. de solos, Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas Degradadas, Viçosa/MG, 1998. p. 95 - 105.

SPLIID, H.; TORSLOV, J. Statistical analysis of joint toxicity in biological growth experiments. *Ecotoxicology and Environmental safety*, v.28, p. 181-192, 1994.

SPRAGUE, J.B. Factors that modify toxicity. In: RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. (Eds.). *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and application*. London, Hemisphere Publishing Corporation, 1985. p. 124-163.

SPRY, D.J.; WOOD, C.M. Ion flux rates, acid-base status, and blood gases in rainbow trout *Salmo girdneri*, exposed to toxic zinc in natural soft water. *Can. J. Fish. Aquatic. Sci.*, v.42, p. 1332-1341, 1985.

STEPHAN, C.E. et al. *Guidelines for deriving numerical national water quality criteria for protection of aquatic life and its uses*. Draft (july, 5). U.S.EPA., 1983.

STEVENS, J.L. et al. *Environ. Science Technol.*, v.37, p. 462, 2003.

STUMM, W.; MORGAN, J.J. *Aquatic Chemistry: an introduction emphasizing chemical equilibrium in natural waters*. John Wiley e Sons, NY, 1984.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. (Eds) *An Atlas of Fish Histology: Normal and pathological features*. Kodansha Ltd., Tóquio, 1995.

TAKASUSUKI, J.; ARAUJO, M.R.R., FERNANDES, M.N. Effect of water pH on copper toxicity in the Neotropical fish, *Prochilodus scrofa* (Prochilodondidae). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v.72, p. 1075 – 1082, 2004.

TAMSE, C.T.; GACUTAN, R.G.; TAMSE, A.F. Changes induced in the gills of Milkfish (*Chanos chanos*, Forsskal) fingerlings after acute exposure to Nifurprinol (Furanace; P-7138). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v.54, p. 591-596, 1995.

TEMMINK, J.H.M. et al. Acute and subacute toxicity of bark tannins in carp (*Cyprinus carpio*). *Water Research*, v.23, n.3, p. 341-344, 1989.

THOMAS, R.L.A. Protocol for selection of process-oriented remedial options to control in situ sediment contaminants. Ecological effects of *in situ* sediment contaminants. *Hydrobiol.*, v. 49, p. 247-258, 1987.

TOMAZELLI, A.C. *Estudo comparativo das concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio em seis bacias hidrográficas do estado de São Paulo*. 2003. 124f. Tese

(Doutorado) – Faculdade de Filosofia, ciências e letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

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

TRIEBSKORN, R. et al. Biomarkers as diagnostic tools for evaluating effects of unknown past water quality conditions on streams organisms. *Ecotoxicology*, v.11, p. 451-465, 2002.

TRINDADE, M. (1980). *Nutrientes em sedimentos da represa do Lobo (Brotas - Itirapina)*. 1980. 129f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1980.

TUNDISI, J.G. Limnologia de represas artificiais. *Boletim de hidráulica e saneamento*. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1986, v.11, 46p.

TUNDISI, J.G. Reservoir as complex systems. *Ciênc. Cult.*, v.48, n.5 e 6, p. 383-387, 1996.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Quality Criteria for water*. Washington, DC, 1976.

Van HEERDEN, D.; VOSLOO, A.; NIKINMAA, M. Effects of short-term copper exposure on gill structure, metallothionein and hypoxia-inducible factor α (HIF - 1 α) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicol.*, v.69, p. 271 – 280, 2004.

VANNOTE, R.L. et al. The river continuum concept. *Can Fish. Aquatic. Sci.*, v.37, p. 130-137, 1980.

VENKATARANAMA, P.; RSDHAKRISHNAIAH, K. Copper-induced changes in lactate dehydrogenase and G-6-PDH activities of the freshwater teleost, *Labeo rohita*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v.67, p. 257-263, 2001.

VIANA, S.M. *Riqueza e distribuição de macrófitas aquáticas no rio Monjolinho e tributários (São Carlos, SP) e análise de sua relação com variáveis físicas e químicas*. 2005, 130f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

VITTOZZI, I; DE ANGELIS, G. A critical review of comparative acute toxicity data on freshwater fish. *Aquatic Toxicology*, v.19, n.2, p.167-204, 1991.

WARD, J.V. The four dimensional nature of lotic ecosystems. *J.N. Am. Benthol. Soc.*, v.8, n.1, p.: 2-8, 1989.

WENDELAAR BONGA, S.R. The stress response in fish. *Physiology Reviews*, v.77, p. 591 – 625, 1997.

WENDELAAR BONGA, S.E.; LOCK, R.A.C. Toxicants and osmoregulation in fish, *Netherlands Journal of Zoology*, v.42, p. 478 – 493, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Copper*. Geneva: WHO, 1998. (Environmental Health Criteria), 1998.

WLÓDEK, J.M.; SKÓRA, S. Redression investigation of the length onweight dependence in seven freshwater fish. *Acta Hydrobiol.Krakov*, v.25/26, p. 497-506, 1985.

WOLTERING, D.M. The growth response in fish chronic and early life stages toxicity tests: a critical review. *Aquat. Toxicol.*, v.5, p. 1-21, 1984.

WOOD, C.M.; McDONALD, D.G.. The physiology of acid/aluminum stress in trout. *Ann. Soc. Roy. Zool. Bel.*, v.117, p. 399– 410, 1987.

WOOD, C.M. et al. Effects of water acidity, calcium, and aluminum on whole body ions of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) continuously exposed from fertilization to swim-up: a study by instrumental neutron activation analysis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v.47, p. 1593 – 1603, 1988.

WOOD, C.M. et al. Environmental toxicology of metals. In: BERGMAN, H.L.; DORWARD-KING, E. J. (Eds). *Reassessment of metals criteria for aquatic life protection*. Pensacola (FL). SETAC Press, 1997. p.31-56.

YOUNG, L.B.; HARVEY, H.H. Concentrations and distribution of Fe, Zn and Cu in tiucker (*Catostomus commersoni*) in relation elevated levels of metals and low pH. *Hydrobiol.*, v.176/177, p. 349-354, 1989.

ZAGATTO, P. A. “Mini-curso: ecotoxicologia aquática”. VII Congresso Brasileiro de Limnologia, 124 p. Florianópolis, 1999.

ANEXO A

**VARIÁVEIS FÍSICAS, QUÍMICAS E BIOLÓGICAS DA ÁGUA DO RIO
MONJOLINHO E SEUS TRIBUTÁRIOS.**

TABELA 6 – Resultados dos valores de pH, condutividade, turbidez, oxigênio dissolvido e temperatura medidos durante o período de estudo no rio Monjolinho e tributários.

Períodos coleta [®] Pontos -	pH				Condutividade (mS/cm)				Turbidez (UNT)				O.D. (mg/L)				Temperatura (° C)			
	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04
Nascente	5.65	6.13	4.77	5.29	10.0	8	8.0	8	8.0	10	10.6	10	7.87	6.48	8.07	8.83	18.6	21.7	20.4	21.0
UFSCar	5.76	6.63	5.54	5.93	47.0	58	57.0	34	13.0	10	6.0	10	6.31	2.7	3.29	7.52	21.3	22.0	25.2	23.0
Madalena	5.69	nc	5.06	nc	23.0	nc	22.0	nc	40.0	nc	7.5	nc	7.71	nc	6.41	nc	17.5	nc	21.2	nc
Tijuco	6.98	nc	7.70	nc	193.0	nc	158.0	nc	34.0	nc	3.0	nc	8.26	nc	8.41	nc	21.1	nc	22.1	nc
USP	6.97	6.69	6.56	6.15	77.0	66	71.0	33	13.0	10	6.0	10	4.38	4.66	6.54	7.48	20.9	21.2	22.4	22.3
Mineirinho	7.04	nc	6.78	nc	53.0	nc	39.0	nc	5.0	nc	14.0	nc	8.66	nc	8.38	nc	19.7	nc	21.2	nc
Gregório	7.27	nc	7.06	nc	290.0	nc	229.0	nc	344.0	nc	113.0	nc	3.70	nc	7.15	nc	22.4	nc	24.1	nc
Usina	7.42	6.95	6.92	6.48	138.0	111	106.0	68	87.0	10	5.6	10	6.15	6.7	6.46	4.07	21.8	20.6	22.8	21.7
Água Quente	7.47	nc	6.99	nc	212.0	nc	164.3	nc	100.0	nc	175.0	nc	5.27	nc	6.97	nc	23.8	nc	22.0	nc
Água Fria	7.47	nc	6.07	nc	20.0	nc	17.0	nc	13.0	nc	21.3	nc	7.92	nc	6.94	nc	19.9	nc	22.3	nc
Ponte caída	7.12	6.65	6.82	6.49	165.0	159	185.0	115	54.0	10	57.6	10	3.59	3.66	1.56	4.29	19.1	19.5	22.9	21.1
Cancã	7.35	nc	6.46	nc	32.0	nc	28.0	nc	10.7	nc	42.0	nc	11.87	nc	8.71	nc	19.6	nc	22.4	nc
Serra	7.27	nc	6.45	nc	59.0	nc	43.0	nc	23.0	nc	10.33	nc	17.18	nc	6.16	nc	19.6	nc	22.7	nc
Confluência	7.14	6.70	7.35	6.20	179.0	168	156.0	116	27.0	10	47.3	10	7.03	7.08	7.11	8.03	20.4	18.4	24.0	20.6

nc – não coletado

TABELA 7 – Valores de material em suspensão total, orgânico e inorgânico (mg/L), e clorofila a (µg/L) no rio Monjolinho e tributários durante o período de estudo (julho/03; outubro/03; janeiro/04 e abril/04).

Período de coleta® Pontos ⁻	Mat. suspensão total				Mat.suspensão inorgânico				Mat.suspensão orgânico				Clorofila a			
	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04
Nascente	2.35	2,46	3,56	2,36	1.34	0,81	2,08	0,53	1.01	1,65	1,48	1,83	0	2.79	3.25	0.93
UFSCar	9.4	6,53	9,13	5,48	16.65	3,16	5,6	1,58	-6.25	3,36	3,53	3,89	85.09	39.99	25.11	29.76
Madalena	7.34	nc	4,58	nc	4.52	nc	2,9	nc	2.82	nc	1,68	nc	1.11	nc	3.72	nc
Tijuco	34.4	nc	5,33	nc	23.45	nc	1,18	nc	10.95	nc	4,15	nc	38.01	nc	65.56	nc
USP	7.586	4,63	17,16	3,70	3.0575	1,30	12,05	0,90	4.5285	5,21	5,11	2,8	19.18	17.67	0	11.16
Gregório	12.167	nc	33,23	nc	6.3665	nc	23,96	nc	5.8	nc	9,26	nc	7.67	nc	42.31	nc
Mineirinho	38.9	nc	3,96	nc	32.22	nc	1,20	nc	6.68	nc	2,76	nc	0.27	nc	9.3	nc
Usina	31.667	8,75	22,25	29,41	22.6335	3,45	12,10	21,13	9.033	5,3	10,15	8,28	11.16	7.44	10.23	39.99
Água Quente	70.66	nc	130,06	nc	35.9	nc	105,0	nc	34.76	nc	25,06	nc	18.83	nc	16.04	nc
Água Fria	12.088	nc	33,1	nc	9.2625	nc	26,83	nc	2.825	nc	6,26	nc	1.11	nc	3.72	nc
Ponte Caída	46.95	12,90	60,46	11,98	23.6	15,96	34,02	6,65	23.35	11,6	26,44	5,33	6.27	4.65	16.74	9.3
Cancan	6.5	nc	21,1	nc	4.51	nc	15,88	nc	1.99	nc	5,21	nc	7.47	nc	7.44	nc
Serra	10.5	nc	5,86	nc	5.9375	nc	3,50	nc	4.5625	nc	2,36	nc	6.2	nc	7.44	nc
Confluência	15.575	39,8	31,916	13,05	6.675	26,26	23,03	8,1	8.9	13,53	8,88	4,95	6.69	3.25	13.48	10.69

nc: não coletado

TABELA 8 – Concentrações de nitrogênio orgânico total (mg/L); íon amônio (µg/L); nitrato (µg/L) e nitrito (µg/L), no rio Monjolinho e tributários durante o período de estudo (julho/03; outubro/03; janeiro/04; abril/04).

Períodos de coleta® Pontos ⁻	Nitrogênio orgânico total				Íon amônio				Nitrato				Nitrito			
	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04
Nascente	0.233	0.7	0.018	0.28	31.89	278.52	1815.4	24.17	164.98	131.34	104.3	86.887	2.1891	2.29	2.2994	3.9224
UFSCar	0.606	0.3733	0.261	0.793	151.29	313.15	432.98	103.68	166.93	163.72	282.57	121.06	2.551	4.52	20.474	11.465
Madalena	0.42	nc	0.559	nc	137.33	nc	121.02	nc	189.68	nc	45.568	nc	3.1408	nc	1.8206	nc
Tijuco	0.606	nc	15.183	nc	1006.7	nc	1933.1	nc	3979.1	nc	4084	nc	528.22	nc	386.49	nc
USP	0.84	1.7267	0.475	0.42	1496.7	1226.9	1970.3	133.76	317.47	466.8	1146.6	196.03	32.232	29.8	100.47	12.949
Mineirinho	0.7	nc	0.447	nc	457.27	nc	333.89	nc	442.51	nc	342.34	nc	48.935	nc	60.001	nc
Gregório	1.96	nc	15.183	nc	1923.5	nc	1009.3	nc	3755.8	nc	3599.8	nc	519.8	nc	27.699	nc
Usina	1.26	2.38	10.573	1.026	1110.8	1446.2	88.142	469.41	810.08	2291.1	1823	641.97	125.89	174.5	246.94	53.241
Água quente	4.34	nc	1.81	nc	2220.3	nc	307	nc	158.77	nc	490.98	nc	25.076	nc	43.956	nc
Água fria	0.42	nc	2.967	nc	119.73	nc	702.62	nc	269.83	nc	206.69	nc	6.5277	nc	1.8206	nc
Ponte caída	3.5	4.4333	1.997	2.94	1819.2	2389.6	29.795	1597.8	180.07	347.53	64.018	207.99	31.051	82.76	11.918	46.272
Cancã	0.373	nc	0.205	nc	29.084	nc	48.499	nc	142.1	nc	64.278	nc	3.2395	nc	1.574	nc
Serra	0.186	nc	0.485	nc	187.71	nc	103.36	nc	276.94	nc	93.123	nc	20.587	nc	4.4762	nc
Confluência	4.01	4.5733	0.335	3.546	2218.6	2668	217.06	2453.8	110.91	212.21	214.74	197.23	38.321	61.94	105.69	78.783

nc – não coletado

TABELA 9 – Concentrações de fosfato total, fosfato total dissolvido, e fosfato inorgânico (µg/L) e silicato reativo (mg/L) em amostras de água do rio Monjolinho e tributários durante o estudo (julho e outubro/03; janeiro e abril/04).

Período de coleta [®] Pontos ⁻	Fosfato total				Fosfato total dissolvido				Fosfato inorgânico				Silicato reativo			
	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04
Nascente	17.997	46.52	61.38	58.384	6.1179	13.56	15.802	19.018	5.2225	7.5	11.995	16.266	0.6361	7.29	6.0981	0.6437
UFSCar	97.613	67.79	87.401	108.47	14.978	22.79	33.317	19.234	10.159	13.47	20.525	11.006	3.0041	7.51	10.049	1.3685
Madalena	36.126	nc	42.095	nc	12.342	nc	24.594	nc	10.735	nc	15.167	nc	2.5856	nc	12.683	nc
Tijuco	444.34	nc	136.77	nc	218.11	nc	46.21	nc	202.95	nc	31.887	nc	5.1706	nc	17.286	nc
USP	284.11	197.65	116.95	116.77	167.98	124.78	48.691	21.613	150.45	98.97	32.889	15.672	4.1607	9.17	17.06	1.7086
Mineirinho	108.37	nc	166.32	nc	50.609	nc	51.353	nc	42.466	nc	39.627	nc	3.8178	nc	15.418	nc
Gregório	390.18	nc	917.29	nc	211.46	nc	675.97	nc	179.11	nc	418.77	nc	7.3892	nc	19.298	nc
Usina	271.4	480.58	288.47	235.6	92.363	326.05	187.26	62.098	74.694	249.7	121.94	47.497	4.4444	10.81	18.949	1.7643
Água Quente	982.85	nc	481.95	nc	9.634	nc	197.18	nc	407.97	nc	156.24	nc	6.1491	nc	19.386	nc
Água Fria	61.108	nc	74.138	nc	22.575	nc	25.558	nc	19.501	nc	16.632	nc	1.7042	nc	12.118	nc
Ponte Caída	682.56	787.37	632.88	644.09	241.25	387.58	250.18	405.41	233.99	341.77	180.14	353.28	4.646	11.1	17.741	1.7978
Cancã	53.261	nc	73.812	nc	9.9072	nc	25.824	nc	8.713	nc	12.487	nc	3.9533	nc	13.786	nc
Serra	54.08	nc	58.443	nc	9.634	nc	35.61	nc	8.4157	nc	23.091	nc	3.5417	nc	13.353	nc
Confluência	615.27	747.52	603.63	464.95	357.96	250.6	399.93	273.76	355.1	176.31	343.44	22.7	5.5059	10.54	18.94	1.9539

nc – não coletado

TABELA 11 – Concentrações dos íons cloreto, sulfato e sulfeto (mg/L) em amostras de água do rio Monjolinho e tributários durante o estudo (julho/03; outubro/03; janeiro/04; abril/04).

Períodos de coleta [®] Pontos ⁻	Cloreto				Sulfeto				Sulfato			
	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04
Nascente	0.04	0.5	0.1	0.4	0.006	0.003	0.008	0.008	2,0	6,0	5,0	5,0
UFSCar	4.50	5.2	6.5	2.7	0.010	0.004	0.005	0.006	7,0	5,0	7,0	5,0
Madalena	0.08	nc	0.2	nc	0.007	nc	0.003	nc	4,0	nc	5,0	nc
Tijuco	10.7	nc	6.3	nc	0.017	nc	0.005	nc	8,0	nc	2,0	nc
USP	5.30	4,0	2.7	2.2	0.010	0.004	0.003	0.006	6,0	4,0	9,0	4,0
Mineirinho	3.80	nc	1.5	nc	0.005	nc	0.014	nc	0	nc	0	nc
Gregório	20.40	nc	11.6	nc	0.151	nc	0.010	nc	59,0	nc	27,0	nc
Usina	11.60	6.4	5.6	6.8	0.037	0.006	0.006	0.046	12,0	6,0	9	15,0
Agua Quente	19.70	nc	16.4	nc	0.043	nc	0.066	nc	15,0	nc	24,0	nc
Agua Fria	2.10	nc	1.8	nc	0.006	nc	0.012	nc	0	nc	8,0	nc
Ponte Caída	14.9	15.5	15.2	10.9	0.036	0.024	0.027	0.021	17,0	23,0	32,0	15,0
Cancã	3,00	nc	3.7	nc	0.033	nc	0.010	nc	0	nc	7,0	nc
Serra	2.40	nc	1.8	nc	0.026	nc	0.001	nc	0	nc	6,0	nc
Confluência	12.10	16.9	16.6	10.3	0.032	0.019	0.019	0.019	16,0	23,0	18,0	14,0

nc – não coletado

TABELA 12 – Resultados das análises de metais totais na água do rio Monjolinho e tributários durante o estudo (julho e outubro/03; janeiro e abril/04).

Período de coleta [®] Pontos ⁻	CROMO (ug/L)				COBRE (ug/L)				CÁDMIO (ug/L)			
	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04
Nascente	8.0	5.042	1.390	2.100	19.2	3.364	0.508	nd	0.40	nd	0.309	0.000
UFSCar	4.4	1.242	1.504	0.454	13.6	0.712	nd	nd	1.20	nd	0.272	0.179
Madalena	6.4	nc	0.392	nc	19.6	nc	1.24	nc	1.20	nc	0.080	nc
Tijuco	3.6	nc	nd	nc	16.8	nc	2.462	nc	0.00	nc	0.156	nc
USP	3.6	0.702	0.834	1.052	18.4	5.718	nd	nd	1.20	0.0168	0.397	nd
Mineirinho	4.0	nc	1.092	nc	12.8	nc	nd	nc	0.80	nc	0.188	nc
Gregório	4.0	nc	0.636	nc	32	nc	9.758	nc	1.20	nc	0.351	nc
Usina	6.4	1.688	0.518	5.970	22	12.57	nd	2.216	2.00	0.2616	0.118	0.337
A.Quente	5.2	nc	5.310	nc	25.6	nc	17.482	nc	0.80	nc	1.967	nc
Agua Fria	3.6	nc	0.808	nc	12	nc	nd	nc	0.00	nc	1.842	nc
P.caída	8.4	2.828	6.320	9.097	21.2	8.732	9.372	4.916	0.00	0.1464	2.213	0.417
Cancã	2.4	nc	1.640	nc	18.4	nc	nd	nc	4.00	nc	4.250	nc
Serra	1.6	nc	0.742	nc	22.4	nc	11.766	nc	1.20	nc	0.341	nc
Confluência	8.4	4.896	1.926	4.448	29.6	19.092	8.646	1.744	4.00	0.8742	1.213	0.355
Período de coleta [®] Pontos ⁻	MANGANÊS (mg/L)				FERRO (mg/L)				ZINCO (mg/L)			
	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04
Nascente	0.024	0.029	0.0284	0.0086	0.5807	5.451	0.3484	0.1240	0.02767	0.022	nd	0.0030
UFSCar	0.070	0.099	0.0842	0.0072	1.7720	2.058	1.0632	0.1124	0.01700	0.0238	nd	0.0024
Madalena	0.078	nc	0.0334	nc	1.6377	nc	0.9826	nc	0.04767	nc	nd	nc
Tijuco	0.040	nc	0.0392	nc	2.1967	nc	1.3180	nc	0.01667	nc	nd	nc
USP	0.072	0.049	0.0478	0.0070	2.1340	2.4462	1.2804	0.1700	0.02667	0.0176	0.0248	0.0022
Mineirinho	0.022	nc	0.0212	nc	1.1893	nc	0.7136	nc	0.03467	nc	0.0190	nc
Gregório	0.195	nc	0.0470	nc	3.2163	nc	1.9298	nc	0.03600	nc	0.0978	nc
Usina	0.168	0.098	0.0638	0.0124	4.0183	3.742	2.4110	0.3098	0.03833	0.034	0.0348	0.0044
A.Quente	0.400	nc	0.2334	nc	8.4687	nc	5.0812	nc	0.05100	nc	0.0156	nc
Agua Fria	0.066	nc	0.0976	nc	1.7900	nc	1.0740	nc	0.03400	nc	0.0074	nc
P.caída	0.201	0.172	0.1888	0.0084	5.0890	8.1272	3.0534	0.3424	0.06400	0.014	0.0054	0.0048
Cancã	0.080	nc	0.1324	nc	1.8233	nc	1.0940	nc	0.02800	nc	0.0096	nc
Serra	0.232	nc	0.1334	nc	3.4677	nc	2.0806	nc	0.03167	nc	0.0034	nc
Confluência	0.339	0.228	0.2080	0.0222	6.9973	13.814	4.1984	0.4146	0.06367	0.0386	0.0192	0.0046

nc – não coletado

nd – não detectado pelo método.

ANEXO B

**VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS DO SEDIMENTO DO RIO MONJOLINHO E
SEUS TRIBUTÁRIOS.**

TABELA 14 – Porcentagem de matéria orgânica e inorgânica nos sedimentos do Rio Monjolinho e tributários em todos os períodos de amostragem (julho e outubro/03; janeiro e abril/04).

Períodos→ de coleta Pontos ⁻	Julho/03		Outubro/03		Janeiro/04		Abril/04	
	MO	MI	MO	MI	MO	MI	MO	MI
Nascente	0.4	99.6	0.39	99.61	0.19	99.81	0.21	99.79
UFSCar	2.15	97.85	2.62	97.38	0.63	99.37	3.53	96.47
Madalena	1.57	98.43	nc	nc	nc	nc	nc	nc
Tijuco	1.97	98.03	nc	nc	0.32	99.68	nc	nc
USP	0.31	99.69	0.06	99.94	0.18	99.82	1.65	98.35
Mineirinho	0.12	99.88	nc	nc	0.34	99.66	nc	nc
Gregório	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
Usina	5.5	94.5	0.17	99.83	0.35	99.65	nc	nc
A. Quente	0.4	99.6	nc	nc	0.2	99.8	nc	nc
A. Fria	0.05	99.95	nc	nc	0.18	99.82	nc	nc
Ponte Caída	1.04	98.96	0.13	99.87	0.14	99.86	0.34	99.66
Cancã	2.95	97.05	nc	nc	nc	nc	nc	nc
Serra	1.36	98.64	nc	nc	nc	nc	nc	nc
Confluência	4.95	95.05	3.49	96.51	0.61	99.39	0.64	99.36

nc – não coletado; MO: matéria orgânica; MI: matéria inorgânica.

TABELA 15 – Granulometria (%) dos sedimentos do Rio Monjolinho e tributários em todos os períodos de amostragem (julho e outubro/03; janeiro e abril/04).

Períodos→ de coleta Pontos	JULHO/03					OUTUBRO/03					JANEIRO/04					ABRIL/04				
	PMF	AG	AM	AF	S+A	PMF	AG	AM	AF	S+A	PMF	AG	AM	AF	S+A	PMF	AG	AM	AF	S+A
Nascente	3.03	22.13	42	32.71	0.13	1.93	14.75	37.63	45.27	0.42	0.29	18.26	50.25	30.97	0.21	0.06	5.06	47.74	46.75	0.2
UFSCar	0	22.3	56.7	4.1	17.5	0	3.6	26.4	50.3	18.9	0	2.5	51	36.2	10.3	1.9	16.8	51.3	9	21
Madalena	0	38.6	36	3.8	21.6	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
Tijuco	62.86	20.39	11.72	4.77	0.26	nc	nc	nc	nc	nc	1.11	16.36	48.46	33.12	0.93	nc	nc	nc	nc	nc
USP	20.77	32.94	33.62	12.52	0.15	1.42	72.23	25.84	0.47	0.04	16.88	35.53	39.48	8.05	0.05	9	41	32.7	3.6	13.8
Mineirinho	6.74	41.32	37.68	14.21	0.02	nc	nc	nc	nc	nc	0	25	58	8	9	nc	nc	nc	nc	nc
Usina	2.65	46.32	38.03	12.1	0.9	0.33	18.23	57.53	23.71	0.2	5.24	32.08	45.91	16.27	0.46	nc	nc	nc	nc	nc
A. Quente	10.31	8.55	33.62	47.22	0.3	nc	nc	nc	nc	nc	0.41	16.95	45.84	36.69	0.12	nc	nc	nc	nc	nc
A. Fria	0	6.19	27.44	64.73	1.63	nc	nc	nc	nc	nc	0.26	4.4	48.36	46.22	0.74	nc	nc	nc	nc	nc
P. caída	0	1.8	73.2	7.4	16.8	0.04	8.72	42.56	48.4	0.28	3.11	10.48	37.37	48.97	0.04	0.004	0.45	19.69	79.33	0.47
Confluência	0	1	5.2	64.1	29.7	0	11	24.7	48	16.3	0	0	35	58.5	5.3	0	3.3	89.8	4.1	2.8

nc – não coletado; PMF: pedregulho muito fino; AG: areia grossa; AM: areia média; AF: areia fina; S+A: silte + argila.

TABELA 16 – Resultados das análises de fósforo total ($\mu\text{g/g}$) e nitrogênio orgânico total (%) nas amostras de sedimento do rio Monjolinho e tributários durante o período de estudo (julho e outubro/03; janeiro e abril/04).

Períodos de coleta® Pontos -	FÓSFORO TOTAL				NITROGÊNIO ORGÂNICO TOTAL			
	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04
Nascente	57.4	17.3	35.03	16.6	0.035	0.007	0.004667	0.014
UFSCar	191.95	382.9	168.3	462.05	0.081667	0.063	0.028	0.165667
Madalena	163.7	nc	nc	nc	0.060667	nc	nc	nc
Tijuco	470.75	nc	50.4	nc	0.060667	nc	0.021	nc
USP	120	72.25	62.7	235.3	0.021	0.007	0.011667	0.056
Mineirinho	49.89	nc	45.025	nc	0.016333	nc	0.021	nc
Usina	163.5	33.105	93.9	nc	0.021	0.009333	0.025667	nc
A. Quente	52.25	nc	22.455	nc	0.007	nc	0.011667	nc
A. Fria	18.905	nc	18.705	nc	0.023333	nc	0.011667	nc
Ponte Caída	337.15	21.25	51.15	157.25	0.044333	0.007	0.007	0.028
Cancã	443.2	nc	nc	nc	0.107333	nc	nc	nc
Serra	411.1	nc	nc	nc	0.074667	nc	nc	nc
Confluência	626.8	766.55	284.15	452.85	0.128333	0.256667	0.037333	0.039667

nc – não coletado

TABELA 17 – Concentração de metais biodisponíveis nas amostras de sedimento o rio Monjolinho e tributários durante o estudo (julho e outubro/03; janeiro e abril/04).

Período de coleta [®] Pontos -	CROMO (ug/g)				COBRE (ug/g)				CADMIO (ug/g)			
	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04
Nascente	0.08	nd	0.06	0.05	0.39	0.32	0.39	0.25	0.007	nd	0.031	0.00005
UFSCar	4.00	4.5	2.31	1.27	9.51	13.87	10.39	5.48	0.039	0.031	nd	0.058
Madalena	0.05	nc	nc	nc	1.8	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
Tijuco	0.86	nc	0.55	nc	9.72	nc	6.24	nc	0.053	nc	0.003	nc
USP	0.05	0.19	0.34	2.53	0.5	2.81	1.60	1.69	nd	nd	nd	nd
Mineirinho	nd	nc	0.13	nc	0.27	nc	1.82	nc	nd	nc	0.001	nc
Usina	0.43	0.13	0.13	nc	10.64	3.49	6.75	nc	0.040	0.002	nd	nc
A. quente	0.048	nc	0.046	nc	0.52	nc	0.74	nc	0.006	nc	0.007	nc
A. fria	0.048	nc	0.033	nc	0.56	nc	1.12	nc	0.012	nc	nd	nc
P. caída	0.546	0.13	0.053	0.16	7.04	1.72	1.29	0.66	0.028	nd	nd	nd
Cancã	0.025	nc	nc	nc	0.15	nc	nc	nc	nd	n	nc	nc
Serra	0.075	nc	nc	nc	3.5	nc	nc	nc	nd	nc	nc	nc
Confluência	1.71	2.8	0.858	0.67	13.54	27.71	8.46	3.43	0.049	0.087	nd	0.014

Período de coleta [®] Pontos -	FERRO (mg/Kg)				MANGANÊS (mg/Kg)				ZINCO (mg/Kg)			
	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04	jul/03	out/03	jan/04	abr/04
Nascente	nd	nd	nd	2.05	nd	10	nd	0.25	nd	nd	nd	0.125
UFSCar	3595	109360	8560	286.9	368	573	86	19.85	136	486	195	6.825
Madalena	1835	nc	nc	nc	176	nc	nc	nc	103	nc	nc	nc
Tijuco	2464	nc	7863	nc	394	nc	232	nc	253	nc	129	nc
USP	786	3593	7593	20.6	75	127	80	1.82	35	42	62	0.825
Mineirinho	255	nc	2259	nc	22	nc	123	nc	8	nc	21	nc
Usina	1979	2046	6299	nc	240	162	229	nc	69	85	116	nc
A. quente	56	nc	1172	nc	60	nc	73	nc	29	nc	24	nc
A. fria	927	nc	1045	nc	1403	nc	29	nc	40	nc	0	nc
P. caída	778	2022	2612	33.82	206	65	67	0.92	98	64	37	0.825
Cancã	99	nc	nc	nc	311	nc	nc	nc	71	nc	nc	nc
Serra	2153	nc	nc	nc	1775	nc	nc	nc	61	nc	nc	nc
Confluência	0	191960	0	116	4	2470	610	4.75	1	1328	185	1.875

nc – não coletado;

nd – não detectado pelo método

ANEXO C

**RESULTADOS DOS BIOENSAIOS DE TOXICIDADE COM AMOSTRAS DE
SEDIMENTO DO RIO MONJOLINHO E SEUS TRIBUTÁRIOS**

TABELA 19 – Resultados da biometria dos bioensaios crônicos parciais com amostras de sedimento rio Monjolinho no período seco (julho/03), utilizando as espécies *D. rerio* e *P. reticulata*.

DATA DO TESTE: 28/08/03 BIOMETRIA INICIAL – <i>Danio rerio</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
260	26 (10%)	1,51 ($\pm$ 0,16)	0,04570 ($\pm$ 0,013)

DATA FINAL DO TESTE: 04/09/03 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Pontos de coleta	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	20-20	1,56 ($\pm$ 0,11)	0,04277 ($\pm$ 0,010)
Nascente	20-20	1,59 ($\pm$ 0,36)	0,04518 ($\pm$ 0,010)
UFSCar	20-20	1,50 ($\pm$ 0,12)	0,04034 ($\pm$ 0,012)
Madalena	20-17	1,65 ($\pm$ 0,18)	0,04899 ($\pm$ 0,018)
Tijuco	20-18	1,61 ($\pm$ 0,16)	0,03768 ($\pm$ 0,008)
USP	20-18	1,60 ($\pm$ 0,14)	0,04849 ($\pm$ 0,013)
Mineirinho	20-20	1,58 ($\pm$ 0,16)	0,04944 ($\pm$ 0,015)
Usina	20-17	1,54 ($\pm$ 0,13)	0,04481 ($\pm$ 0,014)
Água Quente	20-19	1,53 ($\pm$ 0,11)	0,04227 ($\pm$ 0,011)
Água Fria	20-19	1,59 ($\pm$ 0,08)	0,04618 ($\pm$ 0,008)
Ponte Caída	20-20	1,52 ($\pm$ 0,19)	0,04341 ($\pm$ 0,018)
Cancã	20-20	1,54 ($\pm$ 0,11)	0,04114 ($\pm$ 0,009)
Serra	20-20	1,56 ($\pm$ 0,12)	0,04340 ($\pm$ 0,011)
Confluência	20-19	1,56 ($\pm$ 0,12)	0,04198 ($\pm$ 0,012)

DATA DO TESTE: 28/08/03 BIOMETRIA INICIAL – <i>Poecilia reticulata</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
260	26 (10%)	1,74 ($\pm$ 0,20)	0,10303 ($\pm$ 0,054)

DATA FINAL DO TESTE: 04/09/03 BIOMETRIA FINAL – <i>Poecilia reticulata</i>			
Pontos de coleta	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	20-19	1,96 ($\pm$ 0,20)	0,17031 ($\pm$ 0,072)
Nascente	20-5	1,90 ($\pm$ 0,14)	0,12333 ($\pm$ 0,034)
UFSCar	20-3	1,74 ($\pm$ 0,10)	0,09147 ($\pm$ 0,015)
Madalena	20-0	-	-
Tijuco	20-6	1,70 ($\pm$ 0,21)	0,09870 ($\pm$ 0,043)
USP	20-2	-	-
Mineirinho	20-7	1,84 ($\pm$ 0,12)	0,12145 ($\pm$ 0,034)
Usina	20-1	-	-
Água Quente	20-2	-	-
Água Fria	20-9	1,86 ($\pm$ 0,29)	0,10438 ($\pm$ 0,037)
Ponte Caída	20-6	1,57 ($\pm$ 0,11)	0,07683 ($\pm$ 0,015)
Cancã	20-6	1,70 ($\pm$ 0,16)	0,08886 ($\pm$ 0,024)
Serra	20-10	1,68 ($\pm$ 0,24)	0,09783 ($\pm$ 0,047)
Confluência	20-3	1,75 ($\pm$ 0,08)	0,10440 ($\pm$ 0,013)

TABELA 20 – Resultados da biometria dos bioensaios crônicos parciais com amostras de sedimento rio Monjolinho no período chuvoso (janeiro/04), utilizando as espécies *D. rerio* e *P. reticulata*.

DATA DO TESTE: 05/02/04 BIOMETRIA INICIAL – <i>Danio rerio</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
200	20 (10%)	1,31 ($\pm$ 0,23)	0,02629 ($\pm$ 0,016)

DATA FINAL DO TESTE: 12/02/04 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Pontos de coleta	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	20-16	1,56 ($\pm$ 0,17)	0,03697 ($\pm$ 0,021)
Nascente	20-3	1,63 ($\pm$ 0,13)	0,04515 ($\pm$ 0,010)
UFSCar	20-6	1,52 ($\pm$ 0,12)	0,03607 ($\pm$ 0,013)
Tijuco	12-8	1,47 ($\pm$ 0,10)	0,02956 ($\pm$ 0,010)
USP	20-12	1,44 ($\pm$ 0,18)	0,03113 ($\pm$ 0,011)
Mineirinho	12-3	1,39 ($\pm$ 0,14)	0,02770 ($\pm$ 0,010)
Usina	20-3	1,54 ($\pm$ 0,09)	0,03623 ($\pm$ 0,010)
Água Quente	12-7	1,57 ($\pm$ 0,14)	0,03950 ($\pm$ 0,013)
Água Fria	12-5	1,49 ($\pm$ 0,12)	0,03710 ($\pm$ 0,006)
Ponte Caída	20-11	1,52 ($\pm$ 0,15)	0,03126 ($\pm$ 0,012)
Confluência	20-15	1,47 ($\pm$ 0,12)	0,03129 ($\pm$ 0,010)

DATA DO TESTE: 05/02/04 BIOMETRIA INICIAL – <i>Poecilia reticulata</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
132	15 (11,36%)	1,98 ($\pm$ 0,24)	0,14780 ($\pm$ 0,053)

DATA FINAL DO TESTE: 12/02/04 BIOMETRIA FINAL – <i>Poecilia reticulata</i>			
Pontos de coleta	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	20-16	1,86 ($\pm$ 0,27)	0,15460 ($\pm$ 0,067)
Nascente	12-1	-	-
UFSCar	12-1	-	-
Tijuco	12-0	-	-
USP	12-0	-	-
Mineirinho	12-4	1,73 ($\pm$ 0,30)	0,11588 ($\pm$ 0,057)
Usina	12-2	-	-
Água Quente	12-1	-	-
Água Fria	12-0	-	-
Ponte Caída	12-1	-	-
Confluência	12-1	-	-

- mortalidade acima de 90%.

ANEXO D

**RESULTADOS DOS BIOENSAIOS DE TOXICIDADE COM SUBSTÂNCIAS DE
REFERÊNCIA (COBRE, ALDRIN E HEPTACLORO)**

TABELA 33 – Testes agudos estáticos com cobre (96 horas), utilizando juvenis da espécie *P. reticulata* como organismo-teste.

a)

TESTE1 - Data inicial-final: 18/06 /04 - 22/06/04 (nº org. p/ concentração: 6)						
Concentr ações de cobre (ug/L)	Nº de organismos mortos	% M	Variáveis (i - f)			CL ₅₀ (96h) e limite de confiança 95%
			pH	Condutividade	Dureza	
Controle	0	0	7,41-7,54	82,2-96,0	40-38	não calculou
20	0	0	7,65-7,61	101,3-133,9	40-48	
40	4	66.6	7,55-7,62	80,1-109,6	38-40	
80	1	16.6	7,23-7,53	25,1-45	24-28	

b)

TESTE2 - Data inicial-final: 24/06 /04 - 28/06/04 (nº org. p/ concentração: 6)						
Concentr ações de cobre (ug/L)	Nº de organismos mortos	% M	Variáveis (i - f)			CL ₅₀ (96h) e limite de confiança 95%
			pH	Condutividade	Dureza	
Controle	0	0	7,50-7,51	102,2-107,1	42-56	29.21 (não calculou)
20	2	33.3	7,55-7,55	106,5-121,2	44-46	
100	6	100	7,51-7,51	98,4-122,7	40-48	
300	6	100	7,38-7,45	77,5-93,6	34-38	
500	6	100	7,16-7,29	59,0-72,6	32-34	

c)

TESTE 3 - Data inicial-final: 01/07 /04 - 05/07/04 (nº org. p/ concentração: 6)						
Concentr ações de cobre (ug/L)	Nº de organismos mortos	% M	Variáveis finais			CL ₅₀ (96h) e limite de confiança 95%
			pH	Condutividade	Dureza	
Controle	0	0	7,44	74	40	não calculou
20	5	83.3	7,51	68.4	40	
40	5	83.3	7,50	68.1	34	
80	6	100	7,43	65.1	36	
100	6	100	7.4	63.8	36	

d)

TESTE 4 - Data inicial-final: 08/07 /04 - 12/07/04 (nº org. p/ concentração: 8)						
Concentr ações de cobre (ug/L)	Nº de organismos mortos	% M	Variáveis finais			CL ₅₀ (96h) e limite de confiança 95%
			pH	Condutividade	Dureza	
Controle	0	0	7,42	90,1	42	não calculou
20	8	100	7,42	91,1	44	
30	8	100	7.36	91,1	42	
40	8	100	7,59	91,9	40	
60	8	100	7,46	88,4	40	
80	8	100	7,49	87,3	40	
100	8	100	7.47	85.3	40	

e)

TESTE 5 - Data inicial-final: 27/08 /04 - 31/08/04 (nº org. p/ concentração: 10)						
Concentr ações de cobre (ug/L)	Nº de organismos mortos	% M	Variáveis (i - f)			CL ₅₀ (96h) e limite de confiança 95%
			pH	Condutividade	Dureza	
Controle	3	30	7,34	94	44	11.47 (não calculou)
10	6	60	7.72	97.9	60	
30	10	100	7.71	96.2	42	
90	10	100	7.53	84.6	38	

TABELA 33 – Testes agudos semi-estáticos com cobre (96 horas), utilizando juvenis da espécie *P. reticulata* como organismo-teste.

f)

TESTE 6 - Data inicial-final: 22/07/04 - 26/07/04 (nº org. p/ concentração: 12)						
Concentrações de cobre (ug/L)	Nº de organismos mortos	% M	Variáveis (i - f)			CL ₅₀ (96h) e limite de confiança 95%
			pH	Condutividade	Dureza	
Controle	4	33.3	7.6-7.61	85,6-90.8	40-42	não calculou
30	9	75	7,61-7,73	83,8-93,2	36-40	
90	12	100	7,71-7,83	79,4-89,0	36-34	
270	12	100	7,74-7,74	65,5-76,3	32-30	

g)

TESTE 7 - Data inicial-final: 16/09/04 - 20/09/04 (nº org. p/ concentração: 10)						
Concentrações de cobre (ug/L)	Nº de organismos mortos	% M	Variáveis (i - f)			CL ₅₀ (96h) e limite de confiança 95%
			pH	Condutividade	Dureza	
Controle	0	0	7,44-7.65	135.4-140.2	42-44	14.14 (6.62 - 30.22)
10	4	40	7,65-7,82	134,5-179,0	44-54	
20	6	60	7,28-7,76	130,3-164,8	44-58	
40	6	60	7,58-7,68	133,2-167,5	50-62	

h)

TESTE 8 - Data inicial-final: 08/11/04 - 12/11/04 (nº org. p/ concentração: 20)						
Concentrações de cobre (ug/L)	Nº de organismos mortos	% M	Variáveis (i - f)			CL ₅₀ (96h) e limite de confiança 95%
			pH	Condutividade	Dureza	
Controle	0	0	7,44-7.65	135.4-140.2	42-44	não calculou
1	19	95	7,73-7,22	154,2-155,7	44-50	
5	9	45	7,72-7,13	153,8-159,4	56-50	
25	17	85	7,65-7,37	154,3-152,7	56-50	
125	20	100	7,59-7,37	141,2-149,6	46-52	

TABELA 34 – Resultados da biometria dos bioensaios crônicos parciais com cobre, utilizando juvenis da espécie *D. rerio*.

a)

DATA DO TESTE 1: 27/09/04 BIOMETRIA INICIAL – <i>Danio rerio</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
100	10 (10%)	1,16 ($\pm$ 0,16)	0,01797 ($\pm$ 0,007)

DATA FINAL DO TESTE 1: 04/10/04 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Concentrações de cobre (mg/L)	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	20 - 20	1,31 ($\pm$ 0,15)	0,0260 ($\pm$ 0,028)
0,16	20 - 16	1,23 ($\pm$ 0,15)	0,0195 ($\pm$ 0,011)
0,8	20 - 17	1,21 ($\pm$ 0,07)	0,0164 ($\pm$ 0,006)
4,0	20 - 18	1,21 ($\pm$ 0,09)	0,0204 ($\pm$ 0,010)
20,0	20 - 15	1,29 ($\pm$ 0,11)	0,0225 ($\pm$ 0,007)

b)

DATA DO TESTE 3: 23/12/04 BIOMETRIA INICIAL – <i>Danio rerio</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
130	18 (13,84%)	1,24 ($\pm$ 0,10)	0,0278 ($\pm$ 0,009)

DATA FINAL DO TESTE 3: 30/12/04 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Concentrações de cobre (mg/L)	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	30 - 30	1,19 ($\pm$ 0,08)	0,0197 ($\pm$ 0,007)
0,16	30 - 29	1,22 ($\pm$ 0,09)	0,0219 ($\pm$ 0,007)
0,8	30 - 28	1,23 ($\pm$ 0,12)	0,0234 ($\pm$ 0,012)
4,0	20 - 16	1,22 ($\pm$ 0,07)	0,0215 ($\pm$ 0,006)
20,0	20 - 19	1,17 ($\pm$ 0,09)	0,0175 ($\pm$ 0,004)

c)

DATA DO TESTE 4: 22/02/05 BIOMETRIA INICIAL – <i>Danio rerio</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
150 (	19 (12,6%)	1,61 ($\pm$ 0,16)	0,0667 ($\pm$ 0,02)

DATA FINAL DO TESTE 4: 01/03/05 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Concentrações de cobre (mg/L)	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	30 - 29	1,62 ($\pm$ 0,15)	0,0627 ($\pm$ 0,02)
0,16	30 - 29	1,64 ($\pm$ 0,19)	0,0603 ($\pm$ 0,02)
0,8	30 - 29	1,61 ($\pm$ 0,16)	0,0554 ($\pm$ 0,02)
4,0	30 - 29	1,60 ($\pm$ 0,16)	0,0507 ($\pm$ 0,02)
20,0	30 - 22	1,54 ($\pm$ 0,15)	0,0492 ($\pm$ 0,01)

TABELA 35: Porcentagens de mortalidade dos indivíduos de *D. rerio* expostos nos quatro bioensaios crônicos parciais com cobre, bem como resultado da análise estatística de Fisher, mostrando os resultados que foram significativos em relação ao controle.

TESTE 1	Início: 27/09/04		Término: 04/10/04							
	20 organismos por concentração									
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (I - F)	Dureza (I - F)	%M	p	S	NS			
Controle	7,46-7,77	150,2-172,3	48-46	0						
0.16	7,65-7,37	109,6-156,9	44-50	20				0,1060		X
0.8	7,72-7,41	109,3-162,0	40-50	15				0,2308		X
4	7,69-7,45	108,9-156,5	36-52	10				0,4872		X
20	7,70-7,46	108,0-157,2	36-58	25				0,0471	X	
TESTE 2	Início: 25/10/04		Término: 01/11/04							
	20 organismos por concentração									
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (I - F)	Dureza (I - F)	%M	p	S	NS			
Controle	7,46-7,77	150,2-172,3	48-46	5						
0.16	7,58-7,40	146,3-166,7	48-54	0				1.0000		X
0.8	7,53-7,47	143,3-172,6	46-46	10				1.0000		X
4	7,52-7,29	144,9-173,1	48-48	5				1.5128		X
20	7,54-7,46	142,0-181,4	50-46	10				1.0000		X
TESTE 3	Início: 23/12/04		Término: 30/12/04							
	30 organismos por concentração									
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (I - F)	Dureza (I - F)	%M	p	S	NS			
Controle	7,57-7,42	754,4-193,2	46-46	0						
0.16	7,66-7,44	166,4-180,7	48-44	3.33				1.0000		X
0.8	7,53-7,40	167,7-177,4	48-46	6.66				0,4915		X
4	7,55-7,36	168,9-176,2	46-44	20				0,0210	X	
20	7,51-7,35	168,5-175,8	46-44	5				0,4000		X
TESTE 4	Início: 22/02/05		Término: 01/13/05							
	30 organismos por concentração									
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (I - F)	Dureza (I - F)	%M	p	S	NS			
Controle	7.18-7.52	102.5-199	44-44	3.33						
0.16	7.47-7.50	132.3-211	34-44	3.33				1.5085		X
0.8	7.50-7.54	142.8-217	38-44	3.33				1.5085		X
4	7.51-7.53	132-210	34-44	3.33				1.5085		X
20	7.54-7.34	140.5-205	38-44	26.66				0.0257	X	

S: significativo em relação ao controle; **NS:** não significativo em relação ao controle

TABELA 40 – Bioensaios de toxicidade aguda (fluxo contínuo e semi-estático) com aldrin, utilizando organismos juvenis de *D. rerio* como organismos-teste.

a)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 1 – Data: 25/06/04 – 29/06/04 (12 organismos no controle e 10 nas concentrações)						
Concentrações de aldrin (ug/L)	PH (I - F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,48-7,44	101,3-146,4	44-60	1	8.3	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,51-7,74	108,6-119,0	36-50	0	0	
0.001	7,64-7,63	110,4-122,1	44-52	1	20	
0.01	7,53-7,62	108,8-118,3	46-48	0	0	
0.10	7,61-7,59	108,0-117,3	48-52	2	20	

b)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 2 – Data: 01/07/04 – 05/07/04 (12 organismos em cada concentração)						
Concentrações de aldrin (ug/L)	PH (I - F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,44-7,71	74,0-136,1	46-64	2	16.6	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,49-7,64	70,4-81,9	36-28	0	0	
0.001	7,57-7,55	69,1-79,7	34-46	1	8.3	
0.01	7,50-7,53	69,4-79,3	34-36	1	8.3	
0.10	7,57-7,71	70,8-79,9	36-36	0	0	

c)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 3 – Data: 08/07/04 – 12/07/04 (8 organismos em cada concentração)						
Concentrações de aldrin (ug/L)	PH (I - F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,39-7,44	92,2-136,1	44-46	0	0	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,48-7,39	89,2-100,9	40-44	0	0	
0.1	7,44-7,50	89,3-103,2	42-44	0	0	
1.0	7,40-7,40	91,5-101,8	40-46	0	0	
50.0	7,41-7,46	92,2-103,1	44-44	0	0	

d)

TIPO DO TESTE: SEMI-ESTÁTICO 96 HORAS						
TESTE 4 – Data: 08/07/04 – 12/07/04 (30 organismos em cada concentração)						
Concentrações de aldrin (ug/L)	PH (I - F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,52-7,57	126,7-142,9	48-42	0	0	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,52-7,39	128,4-145,0	38-52	0	0	
0,01	7,47-7,50	127,6-141,7	50-54	0	0	
0,1	7,49-7,41	128,3-143,1	44-44	3	10	
1,0	7,59-7,44	128,0-145,6	46-42	0	0	
10,0	7,61-7,42	128,6-145,0	54-48	1	3	

%M = porcentagem de mortalidade.

TABELA 41 – Bioensaios de toxicidade aguda (fluxo contínuo e semi-estático) com heptacloro, utilizando organismos juvenis de *D. rerio* como organismos-teste.

a)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 1 – Data: 04/06/04 – 08/06/04 (12 organismos no controle e 10 nas concentrações)						
Concentrações de heptacloro (ug/L)	PH (I -F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,48-7,44	101,3-146,4	44-60	1	8.3	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,48-7,74	101,3-119,0	44-50	0	0	
0.001	7,48-7,74	116,3-128,9	48-52	0	0	
0.01	7,70-7,66	110,3-115,6	48-46	1	20	
0.10	7,66-7,59	113,8-119,8	46-54	1	20	

b)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 2– Data: 02/07/04 – 06/07/04 (12 organismos em cada concentração)						
Concentrações de heptacloro (ug/L)	PH (I -F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,59-7,71	99,8-136,1	46-64	2	16.6	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,49-7,64	70,4-81,9	36-28	0	0	
0.001	7,58-7,49	82,2-101,1	44-50	1	8.3	
0.01	7,58-7,65	102,3-111,1	48-44	0	0	
0.10	7,64-7,50	103,5-111,0	42-52	0	0	

c)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 3 – Data: 02/07/04 – 06/07/04 (8 organismos em cada concentração)						
Concentrações de heptacloro (ug/L)	PH (I -F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7.39-7,59	92.2-99,8	44-46	0	0	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,48-7,39	89,2-100,9	40-44	0	0	
0.1	7,50-7,42	85,8-107,3	44-48	0	0	
10.0	7,48-7,70	91,8-107,0	40-44	0	0	
50.0	7,49-7,69	89,5-104,3	44-46	0	0	

d)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 4 – Data: 16/07/04 – 20/07/04 (20 organismos em cada concentração)						
Concentrações de heptacloro (ug/L)	PH (I -F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7.39-7,59	92.2-99,8	44-46	0	0	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,54-7,70	106,4-123,6	46-52	0	0	
80	7,55-7,63	107,5-108,0	46-52	0	0	
100	7,57-7,76	105,8-124,0	46-56	0	0	
160	7,54-7,70	106,5-123,5	44-58	0	0	

TABELA 41 – Bioensaios de toxicidade aguda (fluxo contínuo e semi-estático) com heptacloro, utilizando organismos juvenis de *D. rerio* como organismos-teste (continuação...).

e)

TIPO DO TESTE: SEMI-ESTÁTICO 96 HORAS						
TESTE 5 – Data: 03/11/04 – 07/11/04 (14 organismos em cada concentração)						
Concentrações de heptacloro (ug/L)	PH (I -F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL₅₀ (96h)
Controle	7,56-7,80	109,7-158,0	42-48	2	14.28	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,93-7,74	116,4-166,4	40-50	1	7.14	
0.1	7,69-7,73	111,2-158,5	42-46	0	0	
1.0	7,63-7,68	111,9-156,2	38-52	1	7.14	
10.0	7,58-7,64	117,5-156,7	54-46	0	0	
100.0	7,78-7,65	115,5-157,7	40-48	0	0	

TABELA 42 – Bioensaios de toxicidade aguda (fluxo contínuo) com aldrin, utilizando organismos juvenis de *P. reticulata* como organismos-teste.

a)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 1 – Data: 04/06/04 – 08/06/04 (20 organismos no controle e 12 nas concentrações)						
Concentrações de aldrin (ug/L)	PH (I -F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,48-7,84	-151,6	44-46	4	20	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,46-7,68	77,9-121,0	46-38	7	58,3	
0.001	7,52-7,88	78,2-148,5	52-38	10	91	
0.01	7,56-7,76	78,3-110,9	46-40	3	25	
0.10	7,51-7,67	79,2-137,1	42-44	6	50	

b)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 2 – Data: 25/06/04 – 29/06/04 (10 organismos em cada concentração)						
Concentrações de aldrin (ug/L)	PH (I -F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,48-7,43	101,3-112,4	46-42	0	0	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,51-7,67	108,6-113,4	44-54	1	9	
0.001	7,64-7,47	110,4-116,3	44-48	0	0	
0.01	7,53-7,52	108,8-113,3	46-48	1	20	
0.10	7,61-7,51	108,0-111,0	48-50	1	20	

c)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 3 – Data: 01/07/04 – 05/07/04 (5 organismos em cada concentração)						
Concentrações de aldrin (ug/L)	PH (I -F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,58-7,43	122,4-106,4	46-421	0	0	0,10
Cont + acetona	7,49-7,29	70,4-74,8	36-36	1	16	
0.001	7,57-7,52	69,1-75,8	34-38	1	16	
0.01	7,50-7,51	69,4-76,8	34-38	3	50	
0.10	7,57-7,53	70,8-76,4	36-38	5	83,3	

d)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 4 – Data: 08/07/04 – 12/07/04 (6 organismos em cada concentração)						
Concentrações de aldrin (ug/L)	PH (I -F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,58-7,43	122,4-106,4	46-42	0	0	0,10
Cont + acetona	7,48-7,48	89,2-104,4	40-40	5	83	
0.001	7,66-7,49	88,7-101,6	42-42	2	33	
0.01	7,54-7,44	94,6-104,4	42-50	2	33	
0.10	7,44-7,43	89,3-102,4	42-48	2	33	
10.0	7,40-7,46	91,5-101,5	40-42	5	83	

TABELA 42 – Bioensaios de toxicidade aguda (fluxo contínuo e semi-estático) com aldrin, utilizando organismos juvenis de *P. reticulata* como organismos-teste (continuação..).

e)

TIPO DO TESTE: SEMI-ESTÁTICO 96 HORAS (renovação a cada 24 horas).						
TESTE 5 – Data: 16/07/04 – 20/07/04 (6 organismos em cada concentração)						
Concentrações de aldrin (ug/L)	PH (I - F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL₅₀ (96h)
Controle	7,42-7,38	98,0- 90,0	48-46	0	0	19,04 (9,20 -39,38)
Cont + acetona	7,54-7,96	106,4-124,9	46-62	2	33.3	
0.01	7,92-7,83	107,9-123,6	48-50	2	33.3	
0.1	7,66-7,70	101,8-117,8	44-52	2	33.3	
10.0	7,57-8,00	105,9-124,9	44-56	1	16.6	
50.0	7,61-7,72	106,0-127,1	46-54	5	83.3	

TABELA 43 – Bioensaios de toxicidade aguda (fluxo contínuo) com heptacloro, utilizando organismos juvenis de *P. reticulata* como organismos-teste.

a)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 1 – Data: 04/06/04 – 08/06/04 (12 organismos no controle e 5 nas concentrações)						
Concentrações de aldrin (ug/L)	PH (I - F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,48-7,43	101,3-112,4	46-42	0	0	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,48-7,67	101,6-113,4	44-54	1	20	
0.001	7,70-7,53	116,3-120,2	48-54	1	20	
0.01	7,66-7,55	110,3-116,5	48-52	0	0	
0.10	7,84-7,54	113,8-116,8	46-48	0	0	

b)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 2 – Data: 02/07/04 – 07/07/04 (6 organismos em cada concentração)						
Concentrações de heptacloro (ug/L)	PH (I - F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,58-7,43	122,4-106,4	46-42	0	0	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,49-7,29	70,4-74,8	36-36	1	16	
0.001	7,58-7,53	82,2-110,5	44-50	2	33.3	
0.01	7,58-7,55	102,3-111,9	48-52	3	50	
0.10	7,64-7,58	103,5-111,5	42-52	1	16.6	

c)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 3 – Data: 08/07/04 – 12/07/04 (6 organismos em cada concentração)						
Concentrações de heptacloro (ug/L)	PH (I - F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,58-7,43	122,4-106,4	46-42	0	0	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,48-7,48	89,2-104,4	40-40	5	83	
0.001	7,48-7,76	89,7-107,5	40-42	1	16.6	
0.01	7,47-7,38	89,8-101,8	44-44	0	0	
0.10	7,50-7,55	85,8-104,0	44-42	3	50	
10.0	7,48-7,39	91,8-101,2	40-42	1	16.6	

d)

TIPO DO TESTE: FLUXO-CONTÍNUO 96 HORAS						
TESTE 4 – Data: 16/07/04 – 20/07/04 (12 organismos no controle e 6 nas concentrações)						
Concentrações de heptacloro (ug/L)	PH (I - F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL ₅₀ (96h)
Controle	7,42- 7,36	122,4-106,4	48-44	0	0	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,54-7,96	106,4-124,9	46-62	2	16	
0.001	7,51-8,33	107,0-124,4	44-60	1	16	
0.01	7,60-7,94	107,8-118,0	52-52	0	0	
0.10	7,66-7,86	107,8-117,9	46-50	1	16	
10.0	7,52-7,94	107,0-119,0	48-52	1	16	

TABELA 43 – Bioensaios de toxicidade aguda (fluxo contínuo) com heptacloro, utilizando organismos juvenis de *P. reticulata* como organismos-teste (continuação...).

e)

TIPO DO TESTE: SEMI-ESTÁTICO 96 HORAS (renovação a cada 24 horas)						
TESTE 5 – Data: 03/11/04 – 07/11/04 (14 organismos em cada concentração)						
Concentrações de heptacloro (ug/L)	PH (I - F)	Conutividade (I - F)	Dureza (I - F)	Mortos	%M	CL₅₀ (96h)
Controle	7,56-7,70	109,7-159,4	4242	9	64	NÃO CALCULOU
Cont + acetona	7,93-7,73	116,4-169,8	40-52	10	71	
0.1	7,69-7,72	111,2-155,3	42-46	12	85	
1.0	7,63-7,76	111,9-164,3	38-52	12	85	
10.0	7,58-7,69	117,5-160,6	54-46	8	57.14	
100.0	7,78-7,63	115,5-157,6	40-46	10	71	

TABELA 44 – Resultados da biometria dos bioensaios crônicos parciais com aldrin utilizando as espécies *D. rerio*.

a)

DATA DO TESTE 1: 29/11/04-06/12/04 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Concentrações de aldrin (mg/L)	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	30 – 30	0,78 ($\pm$ 0,07)	0,00254 ($\pm$ 0,0010)
Controle+acetona	30 – 27	0,81 ($\pm$ 0,05)	0,00294 ($\pm$ 0,0007)
0,01	30 – 30	0,79 ($\pm$ 0,04)	0,00351 ($\pm$ 0,0010)
0,1	30 – 27	0,78 ($\pm$ 0,05)	0,00253 ($\pm$ 0,0012)
1,0	30 – 30	0,80 ($\pm$ 0,06)	0,00270 ($\pm$ 0,0011)
10,0	30 – 29	0,79 ($\pm$ 0,05)	0,00243 ($\pm$ 0,0009)

b)

DATA INICIAL DO TESTE 2: 20/12/04 BIOMETRIA INICIAL – <i>Danio rerio</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
180	18 (10%)	1,24 ($\pm$ 0,10)	0,0278 ($\pm$ 0,0099)

DATA FINAL DO TESTE 2: 27/12/04 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Concentrações de aldrin (mg/L)	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	30 – 30	1,20 ($\pm$ 0,08)	0,01975 ($\pm$ 0,0072)
Controle+acetona	30 – 27	1,22 ($\pm$ 0,12)	0,02147 ($\pm$ 0,0088)
0,01	30 – 25	1,21 ($\pm$ 0,07)	0,02027 ($\pm$ 0,0051)
0,1	30 – 18	1,16 ($\pm$ 0,09)	0,01789 ($\pm$ 0,0061)
1,0	30 – 25	1,15 ($\pm$ 0,08)	0,01478 ($\pm$ 0,0041)
10,0	30 – 23	1,15 ($\pm$ 0,07)	0,01432 ($\pm$ 0,0031)

c)

DATA INICIAL DO TESTE 3: 14/02/04 BIOMETRIA INICIAL – <i>Danio rerio</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
120	15 (12,5%)	1,64 ($\pm$ 0,20)	0,07515 ($\pm$ 0,0347)

DATA FINAL DO TESTE 3: 21/02/04 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Concentrações de aldrin (mg/L)	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	20 – 16	1,62 ($\pm$ 0,15)	0,06488 ($\pm$ 0,0253)
Controle+acetona	20 – 16	1,62 ($\pm$ 0,17)	0,06329 ($\pm$ 0,0273)
0,01	20 – 16	1,36 ($\pm$ 0,12)	0,03258 ($\pm$ 0,0105)
0,1	20 – 18	1,49 ($\pm$ 0,14)	0,04498 ($\pm$ 0,0141)
1,0	20 – 19	1,51 ($\pm$ 0,15)	0,05008 ($\pm$ 0,0235)
10,0	20 – 15	1,46 ($\pm$ 0,07)	0,04373 ($\pm$ 0,0107)

TABELA 44 – Resultados da biometria dos bioensaios crônicos parciais com aldrin utilizando as espécies *D. rerio* (continuação...).

d)

DATA INICIAL DO TESTE 4: 22/02/05 BIOMETRIA INICIAL – <i>Danio rerio</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
180	19 (10,5%)	1,61 ($\pm$ 0,16)	0,06673 ($\pm$ 0,0209)

DATA FINAL DO TESTE 4: 01/03/05 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Concentrações de aldrin (mg/L)	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	30 – 29	1,62 ($\pm$ 0,15)	0,06272 ($\pm$ 0,0237)
Controle+acetona	30 – 30	1,54 ($\pm$ 0,13)	0,04891 ($\pm$ 0,0160)
0,01	30 – 28	1,47 ($\pm$ 0,16)	0,04425 ($\pm$ 0,0174)
0,1	30 – 29	1,51 ($\pm$ 0,14)	0,04593 ($\pm$ 0,0206)
1,0	30 – 30	1,50 ($\pm$ 0,12)	0,04397 ($\pm$ 0,0156)
10,0	30 - 29	1,46 ($\pm$ 0,12)	0,04018 ($\pm$ 0,0133)

TABELA 45 – Resultados da biometria dos bioensaios crônicos parciais com heptacloro utilizando as espécies *D. rerio*.

a)

DATA DO TESTE 1: 29/11/04-06/12/04 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Concentrações de heptacloro (mg/L)	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	30 – 30	0,78 ($\pm$ 0,07)	0,00254 ($\pm$ 0,0010)
Controle+acetona	30 – 27	0,81 ($\pm$ 0,04)	0,00294 ($\pm$ 0,0007)
0,01	30 – 30	0,82 ($\pm$ 0,09)	0,00325 ($\pm$ 0,0014)
0,1	30 – 28	0,81 ($\pm$ 0,07)	0,00354 ($\pm$ 0,0010)
1,0	30 – 29	0,83 ($\pm$ 0,05)	0,00312 ($\pm$ 0,0010)
10,0	30 – 29	0,81 ($\pm$ 0,05)	0,00308 ($\pm$ 0,0006)

b)

DATA INICIAL DO TESTE 2: 20/12/04 BIOMETRIA INICIAL – <i>Danio rerio</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
180	18 (10%)	1,24 ($\pm$ 0,10)	0,0278 ($\pm$ 0,0099)

DATA FINAL DO TESTE 2: 27/12/04 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Concentrações de heptacloro (mg/L)	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	30 – 30	1,19 ($\pm$ 0,08)	0,01975 ($\pm$ 0,0072)
Controle+acetona	30 – 27	1,22 ($\pm$ 0,12)	0,02147 ($\pm$ 0,0088)
0,01	30 – 21	1,23 ($\pm$ 0,08)	0,02130 ($\pm$ 0,0058)
0,1	30 – 24	1,21 ($\pm$ 0,11)	0,02016 ($\pm$ 0,0072)
1,0	30 – 21	1,23 ($\pm$ 0,13)	0,02119 ($\pm$ 0,0091)
10,0	30 – 14	1,23 ($\pm$ 0,11)	0,02205 ($\pm$ 0,0095)

c)

DATA INICIAL DO TESTE 3: 14/02/04 BIOMETRIA INICIAL – <i>Danio rerio</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
120	15 (12,5%)	1,64 ($\pm$ 0,20)	0,07515 ($\pm$ 0,0347)

DATA FINAL DO TESTE 3: 21/02/04 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Concentrações de heptacloro (mg/L)	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	20 – 16	1,62 ($\pm$ 0,15)	0,06488 ($\pm$ 0,0253)
Controle+acetona	20 – 16	1,62 ($\pm$ 0,17)	0,06329 ($\pm$ 0,0273)
0,01	20 – 16	1,52 ($\pm$ 0,13)	0,04965 ($\pm$ 0,0173)
0,1	20 – 20	1,44 ($\pm$ 0,12)	0,04245 ($\pm$ 0,0138)
1,0	20 – 19	1,58 ($\pm$ 0,15)	0,05763 ($\pm$ 0,0271)
10,0	20 – 18	1,55 ($\pm$ 0,14)	0,0520 ($\pm$ 0,0233)

TABELA 45 – Resultados da biometria dos bioensaios crônicos parciais com heptacloro utilizando as espécies *D. rerio* (continuação)...

d)

DATA INICIAL DO TESTE 4: 22/02/05 BIOMETRIA INICIAL – <i>Danio rerio</i>			
Nº de peixes utilizados no bioensaio	Nº e porcentagem de peixes medidos inicialmente	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
180	19 (10,5%)	1,61 ($\pm$ 0,16)	0,06673 ($\pm$ 0,0209)

DATA FINAL DO TESTE 4: 01/03/05 BIOMETRIA FINAL – <i>Danio rerio</i>			
Concentrações de aldrin (mg/L)	Nº de peixes em teste. (inicial-final)	Comprimento médio ($\pm$ desvio padrão) (cm)	Peso médio ($\pm$ desvio padrão) (g)
Controle	30 – 29	1,62 ($\pm$ 0,15)	0,06272 ($\pm$ 0,0237)
Controle+acetona	30 – 30	1,55 ($\pm$ 0,13)	0,04931 ($\pm$ 0,0160)
0,01	30 – 28	1,58 ($\pm$ 0,16)	0,05374 ($\pm$ 0,0211)
0,1	30 – 29	1,67 ($\pm$ 0,15)	0,06552 ($\pm$ 0,0253)
1,0	30 – 30	1,63 ($\pm$ 0,19)	0,06154 ($\pm$ 0,0257)
10,0	30 - 30	1,51 ($\pm$ 0,16)	0,04852 ($\pm$ 0,0243)

TABELA 46: Porcentagens de mortalidade dos indivíduos de *D. rerio* expostos nos quatro bioensaios crônicos parciais com aldrin, bem como resultado da análise estatística de Fisher, mostrando as porcentagens estatisticamente significativas em relação ao controle.

TESTE 1	Início: 29/11/04		Término: 04/12/04				
	30 organismos por concentração						
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (uS/cm) (I - F)	Dureza (mgCaCO3/L) (I - F)	%M	p	S	NS
Cont + acetona	7,52-7,51	128,4-146,3	44-44	10	0.2373		X
0.01	7,47-7,43	127,6-156,7	50-44	0	NC		X
0.10	7,49-7,40	128,3-152,3	44-50	10	0.2373		X
1.00	7,59-7,49	128,0-154,1	46-48	0	NC		X
10.00	7,61-7,36	128,6-152,4	54-44	3.33	1.0000		X
TESTE 2	Início: 20/12/04		Término: 27/12/04				
	30 organismos por concentração						
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (I - F)	Dureza (I - F)	%M	p	S	NS
Cont + acetona	7,48-7,43	161,1-186,0	44-38	10	0.2373		X
0.01	7,47-7,43	159,5-189,0	46-48	16.66	0.0522		X
0.10	7,60-7,44	160,0-193,0	48-50	40	0.0001	X	
1.00	7,51-7,44	158,4-192,0	48-50	16.66	0.0522		X
10.00	7,55-7,31	160,3-203,0	42-50	23.33	0.0105	X	
TESTE 3	Início: 14/02/05		Término: 21/02/05				
	20 organismos por concentração						
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (uS/cm) (I - F)	Dureza (mgCaCO3/L) (I - F)	%M	p	S	NS
Cont + acetona	7.60-7.17	183.7-201	46-52	20	0.5062		X
0.01	7.58-7.38	128.8-212	46-56	20	0.5062		X
0.10	7.51-7.35	181.5-215	46-56	10	0.1455		X
1.00	7.58-7.38	182.7-222	50-56	5	0.0523		X
10.00	7.61-7.30	181.1-217	46-58	25	0.7480		X
TESTE 4	Início: 22/02/05		Término: 01/03/05				
	30 organismos por concentração						
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (uS/cm) (I - F)	Dureza (mgCaCO3/L) (I - F)	%M	p	S	NS
Cont + acetona	7.68-7.48	102.2-190	26-44	0	1.0000		X
0.01	7.64-7.45	98.9-199	30-42	6.66	1.0000		X
0.10	7.59-7.42	100.2-197	28-44	3.33	1.0000		X
1.00	7.56-7.43	99.5-205	26-46	0	NC		X
10.00	7.57-7.50	99.7-199	28-44	3.33	1.0000		X

NC = não calculável; M= mortalidade. S: significativo em relação ao controle; NS: não significativo em relação ao controle;

TABELA 49: Porcentagens de mortalidade dos indivíduos de *D. rerio* expostos nos quatro bioensaios crônicos parciais com heptacloro, bem como resultado da análise estatística de Fisher, mostrando as porcentagens estatisticamente significativas em relação ao controle.

TESTE 1	Início: 29/11/04		Término: 04/12/04				
	30 organismos por concentração						
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (uS/cm) (I - F)	Dureza (mgCaCO3/L) (I - F)	%M	p	S	NS
Cont + acetona	7,52-7,51	128,4-146,3	38-44	13.33	0.2373		X
0.01	7,59-7,49	128,8-150,7	50-46	0	1.0000		X
0.10	7,5-7,45	127,8-149,5	44-46	6.6	0.4915		X
1.00	7,6-7,41	130149.9	54-44	3.33	1.0000		X
10.00	7,56-7,37	130,7-149,1	56-50	3.33	0.4000		X
TESTE 2	Início: 20/12/04		Término: 27/12/04				
	30 organismos por concentração						
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (I - F)	Dureza (I - F)	%M	p	S	NS
Cont + acetona	7,48-7,43	161,1-186,0	44-38	10	0.2373		X
0.01	7,51-7,38	158,3-189,0	46-48	30	0.0019	X	
0.10	7,42-7,32	153,3-178,0	44-46	20	0.0237	X	
1.00	7,47-7,45	155,1-176,0	44-48	30	0.0019	X	
10.00	7,56-7,39	156,5-177,0	44-50	53.33	<0.0001	X	
TESTE 3	Início: 14/02/05		Término: 21/02/05				
	20 organismos por concentração						
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (uS/cm) (I - F)	Dureza (mgCaCO3/L) (I - F)	%M	p	S	NS
Cont + acetona	7.60-7.17	183.7-201	46-52	20	0.5062		X
0.01	7.61-7.39	184.7-216	48-56	20	0.5062		X
0.10	7.61-7.31	185-217	48-58	0	NC		X
1.00	7.64-7.25	183.2-217	48-62	5	0.0523		X
10.00	7.66-7.39	184.5-223	48-58	10	0.1455		X
TESTE 4	Início: 22/02/05		Término: 01/03/05				
	30 organismos por concentração						
Concentrações ug/L	pH (I - F)	Condutividade (uS/cm) (I - F)	Dureza (mgCaCO3/L) (I - F)	%M	p	S	NS
Cont + acetona	7.68-7.48	102.2-190	26-44	0	1.0000		X
0.01	7.48-7.49	99.5-199	26-24	6.66	1.0000		X
0.10	7.53-7.37	99.2-202	30-42	3.33	1.5085		X
1.00	7.54-7.43	100.5-199	28-44	0	1.0000		X
10.00	7.57-7.44	99.1-198	26-46	0	1.0000		X

S: significativo em relação ao controle; **NS:** não significativo em relação ao controle; **NC:** não calculável; **M:** mortalidade.