ERIKA CAVALCANTE SILVA

Estudo da Ação Combinada de Radiações Ionizantes com
Campos Elétricos e Magnéticos em Cianobactérias
– Viabilidade Celular e Atenuação de Toxinas

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação Interunidades em Biotecnologia
USP/Instituto Butantan/IPT, para obtenção
do título de Doutor em Biotecnologia.

São Paulo
2011

ERIKA CAVALCANTE SILVA

Estudo da Ação Combinada de Radiações Ionizantes com
Campos Elétricos e Magnéticos em Cianobactérias
– Viabilidade Celular e Atenuação de Toxinas

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação Interunidades em Biotecnologia
USP/Instituto Butantan/IPT, para obtenção
do título de Doutor em Biotecnologia.

Área de concentração:
Biotecnologia

Orientador:
João Dias de Toledo Arruda Neto

Versão original

São Paulo
2011

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

reprodução não autorizada pelo autor

Silva, Erika Cavalcante.

Estudo do efeito combinado de radiação ionizante com campos elétrico e magnético em cianobactéria - viabilidade celular e atenuação de toxinas / Erika Cavalcante Silva. -- São Paulo, 2011.

Orientador: João Dias de Toledo Arruda Neto.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/IPT/Instituto Butantan. Área de concentração: Biotecnologia. Linha de pesquisa: Biofísica; Limnologia; Ficologia.

Versão do título para o inglês: Study of the combined effect of ionizing radiation with electric and magnetic fields in cyanobacteria - cellular viability and attenuation of toxins.

Descritores: 1. *Microcystis* 2. Radiação gama 3. Feixes de elétrons 4. Microcistina 5. Ecotoxicidade I. Arruda Neto, João Dias de Toledo II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/IPT/Instituto Butantan III. Título.

ICB/SBIB098/2011

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia
Universidade de São Paulo, Instituto Butantan, Instituto de Pesquisas Tecnológicas

Candidato(a): Erika Cavalcante Silva.

Título da Tese: Estudo do efeito combinado de radiação ionizante com campos elétrico e magnético em cianobactéria - viabilidade celular e atenuação de toxinas.

Orientador(a): João Dias de Toledo Arruda Neto.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

() Aprovado(a)

() Reprovado(a)

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome:
Instituição:

Ao meu pai eterno e
minha mãe imortal

Ao meu orientador e amigo

João Arruda

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo pela bolsa de estudo concedida.

Ao prof. João Arruda pela orientação, oportunidade oferecida e bom convívio durante 4 anos de trabalho. Grata pelo incentivo, apoio, paciência e também pela liberdade de ação, que foi decisiva para que este trabalho contribuísse para o meu desenvolvimento acadêmico.

À profa. Odete Rocha pela oportunidade para a realização deste estudo no Laboratório de Ecotoxicologia e Cultivo (UFSCar), pelos ensinamentos, apoio, estímulo, orientação. Grata por acreditar em meu trabalho.

Ao prof. Alessandro Minillo pelos incentivos e sugestões. Grata por me fazer crer que na vida acadêmica temos que persistir e acreditar!

Ao prof. Antonio Quesada por ter me recebido na *Universidad Autónoma de Madrid*, pela confiança no meu trabalho, ensinamentos e apoio.

Aos alunos do Laboratório de Embalses (Madrid) Samuel Cirés, Ramsy Agha, Mariangeles Lezconan, Joanna Hernáez, Lars Wörmer pelos aprendizados, momentos no laboratório, salidas de mostreo, alegrias, fiestas, pelo carinho e amizade. Vocês são muito especiais.

A Profa. Bittencourt-Oliveira pela oportunidade concedida para a realização de parte deste trabalho no Laboratório de Cianobactérias.

As mestres Bruna Büch, Selma Gouvêa, Viviane Santos e Talita Hereman e a Paulo Jaoude pelos auxílios e amizade. Por todos os momentos dentro e fora do laboratório.

Ao Prof. Walter Arthur e ao pessoal do CENA (ESALQ-USP), pela colaboração nos experimentos realizados.

À professora Sueli Borrely (IPEN/USP) pela colaboração e disponibilidade do laboratório e uso de utensílios destinados a irradiações com feixes de elétrons.

Ao professor Renato Semmler (IPEN/USP) pela colaboração e irradiação do material tóxico no núcleo de reator.

Ao professor Paulo Rogério (IPEN/USP) pela colaboração e irradiação do material tóxico através de feixes de nêutrons rápidos.

Aos engenheiros Carlos Gaia e Elizabeth Somessari do Acelerador de elétrons (IPEN/USP) pela atenção e disponibilidade de irradiar minhas amostras tóxicas.

Ao prof. Sérgio Machado e ao técnico João Tiengo do Instituto de Química, da Universidade de São Paulo (São Carlos) pelo uso e liberdade de uso do sonicador a qualquer hora e dia. Pela simpatia e agradáveis conversas.

A Eliana Lima, do Laboratório do Acelerado Linear, Instituto de Física (USP) pelo auxílio e carinho.

A secretária Juliana Peçanha do Laboratório do Acelerado Linear, Instituto de Física (USP) pela boa vontade e auxílio.

A Eliane, Fábiana e Marcos da secretaria do Departamento de Biotecnologia, Universidade de São Paulo pelas gentis e rápidas colaborações.

A Edna secretária do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva (UFSCar) pela boa vontade e carinho.

Aos professores, técnicos, estudantes e funcionários do Instituto de Física/USP e Ciências Biomédicas, pelas cooperações.

Aos amigos de São Paulo Adriana Cunha, Dioclésio Faustino, Fábio Teixeira, Grace Paixão, Halina Olhier, Hirdan Katarina, Karla Villadeza, Lena Castro, Rafael Andrette, Renata Diório, Rodrigo Fontana, Vanessa Ribeiro, Vanicléia Santos, vocês deixam a cidade de São Paulo mais feliz com o jeito mágico de cada um. Grata pelos momentos ímpares!

Aos amigos de Piracicaba Aline Martins, Álvaro Bicudo, Ana Paula Nascimento, Anderson Ferreira, Carla dos Anjos, C-Ba, Elio Cesar, Jaime Medina, Kerli Ninov, Leandro Costa, Naiane Sangaletti, Nilza Bicudo, Priscila Vilella, Ricardo, Tatiane Oldoni, Ticiane Rossi pelos momentos inesquecíveis de alegrias, apoio, acolhimento. Sinto muito a falta de vocês.

Aos amigos de São Carlos Amanda Baldochi, Éden Shenco, Emanuela Freitas Laira Oliveira, Lidiane Silva, Marcos Vinicius Nunes, Natália Negreiros, Renata Cordis, Valdecir Lucca pelos ensinamentos, acolhimentos e amizade. Vocês são incríveis.

As doutoras Denise Okumura e Fernanda Massaro pela amizade, auxílio e momentos felizes no Laboratório de Ecotox. (UFSCar) e em São Carlos. Aprendi muito com vocês, flores. Quero-as sempre na minha vida.

A los amigos de la *Universidad Autónoma de Madrid* Adriana Illana, Amaya Blanco, Andrea Martínez, Carolina Arias, David Velazquez, Elena Galán, Esther Berrendero, Miguel Redondo, Virginia Loza gracias por recibirme tan bien um la universidad. Por nuestras fiestas, la hora de la comida, las conversas, los aprendizados, los paseos. Vosotros sóis muy amables. Gracias chicos y chicas!

A Rodrigo de Souza, Aline Teixeira e Fernando Castro e ao meu amigo Miguel Angel Casaús pelos momentos especiais que passei na Espanha. Grata pelo apoio, confiança, amizade.

Aos grandes e eternos amigos de Salvador Camila Abreu, Carolina Pedroza, Charles Trindade, Michele Gradin, Rafaela Bittencourt, Renata Bahia pela amizade de longos anos. Pelo carinho e apoio. É muito bom saber que tenho amigos como vocês a qualquer momento.

A minha eterna amiga Maria Flávia pela fiel amizade, incentivo e carinho. Grata pelos momentos em São Paulo e Salvador. Você é muito especial.

Aos meus padrinhos Jussara e Augusto e os seus filhos Raíza e Tomás, que abriram as portas para as mudanças da minha vida e incentivaram o meu crescimento. Se hoje alcancei sucesso em São Paulo vocês também são os responsáveis.

A meus tios, Pedro, Gorete, Gilmar e dinda Cida pela apoio, palavras acolhedoras e incentivo.

Aos meus irmão Mayra e Vinícius e meu cunhado Marcelo grata pelo auxílio, alegria e companheirismo. De perto ou de longe vocês serão meus eternos amigos.

Aos meus pais Jairo, Fátima e Jean pelo amor, apoio, confiança, conselhos. Sou grata pela força e sorte de ter pais tão maravilhosos. Amo vocês.

À Carmen e companheiros por sempre estarem do meu lado me apoiando com doces palavras e me dando forças para seguir e conquistar minha vida pessoal e acadêmica.

A Deus por me abençoar e guardar diariamente. Por ter colocado na minha vida anjos em forma de pessoas.

Nas grandes batalhas da vida,
o primeiro passo para a vitória
é o desejo de vencer!

Mahatma Gandhi.

RESUMO

CAVALCANTE-SILVA, E. **Estudo da Ação Combinada de Radiações Ionizantes com Campos Elétricos e Magnéticos em Cianobactérias – Viabilidade Celular e Atenuação de Toxinas**. 2011. 296 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

Microcystis são cianobactérias que apresentam formações de florações e produção de microcistina, uma hepatotoxina que causa envenenamentos e promove tumores hepáticos. As florações estão relacionadas à eutrofização artificial causada por excesso de nutrientes oriundos de efluentes domésticos, uso extenso de fertilizantes agrícolas e rejeitos industriais. Os reservatórios de água utilizados para abastecer a população estão sujeitos ao aparecimento de florações de cianobactérias que precisam ser monitoradas para evitar riscos à saúde humana. O sistema convencional de tratamento de água não remove a toxina do meio aquático. consumo de populações, o uso de radiação ionizante para o tratamento de água contaminada com células de *Microcystis* e microcistina é o principal objeto de estudo deste trabalho. Os objetivos principais são estudar o efeito combinado da radiação gama com outros agentes físicos exógenos em células de *Microcystis panniformis* e investigar a atenuação da microcistina pela ação de feixes de nêutrons e elétrons e radiação gama. Observou-se que os tratamentos combinados diminuiu a viabilidade celular. Já nos tratamentos aplicados individualmente só se observaram mortes na aplicação de radiação gama, sendo que com campo elétrico estático e magnético, o comportamento celular foi igual aos seus respectivos controles. Outro estudo realizado foi a aplicação de radiação gama e feixes de nêutrons e elétrons na toxina sintetizada pela *Microcystis aeruginosa*. Testes de ecotoxicidade foram realizados em *Ceriodaphnia silvestrii* e *Artemia salina*. Os bioensaios realizados com feixes de nêutrons evidenciaram que, mesmo em menor proporção que os outros tipos de radiação, houve atenuação da microcistina. Os resultados dos ensaios demonstraram que o extrato das células liofilizadas de *M. aeruginosa* irradiadas com 3 e 5 kGy de radiação gama resultaram em uma atenuação da microcistina menor do que quando comparadas com as amostras irradiadas com 10 e 15 kGy. Os experimentos efetuados com feixes de elétrons ocorreram nas mesmas condições dos testes anteriormente realizados para a radiação gama. Os testes de toxicidade realizados com *A. salina* e a toxina irradiada com feixes de elétrons não resultou em mortes significativas dos organismos, confirmando a atenuação da toxina. Houve análise da toxina irradiada por feixes de elétrons via LC-MS e teste de inibição da enzima fosfatase comprovando que houve atenuação da toxina. Os resultados mostraram que com a combinação de agentes físicos é possível reduzir as doses necessárias para o controle populacional de *Microcystis panniformis* e que dentre as radiações ionizantes utilizadas neste estudo, a exposição aos feixes de elétrons provou ser o tipo de radiação mais indicada para a atenuação da microcistina.

Palavras-chave: *Microcystis*, radiação gama, ecotoxicidade, microcistina, feixes de elétrons

ABSTRACT

CAVALCANTE-SILVA, E. **Study of the combined effect of ionizing radiation with electric and magnetic fields in cyanobacteria – cellular viability and attenuation of toxins**. Ph. D. Thesis – Institute for Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2011.

Microcystis are cyanobacteria exhibiting blooms formation and production of microcystin, a hepatotoxin responsible for poisoning and consequent development of hepatic tumors. Blooms are related with non natural eutrophication caused by excess of nutrients originated from domestic discharge, extensive use of agriculture fertilizers and industrial dumping. Water reservoirs used for public supply are under the risk for the occurrence of cyanobacteria blooms, which must be monitored in order to avoid harm to human health. The conventional water treatment system does not remove the toxin from the aquatic medium. Among the non chemical treatment and sterilization methods of water for populations supply, the use of ionizing radiation for treatment of water contaminated both with *Microcystis* cells and microcystin is the main goal of this work. The main goals of this work are the study of the combined effect between gamma radiation with other exogenous physical agents in cells of *Microcystis panniformis*, as well to investigate the attenuation of microcystin by neutron and electron beams and gamma radiation. It was found out that combined treatments, as radiation with another physical agent, caused lowering of the cellular viability. It was observed cell death only in treatments with gamma radiation, while in treatments using only electric or magnetic fields the behavior of cell growth was similar to the controls. In another study, the toxin synthesized by *Microcystis aeruginosa* was exposed to gamma radiation and neutron and electron beams. Ecotoxicity tests were carried out in *Ceriodaphnia silvestrii* and *Artemia salina*. Bioassays by means of neutron beams induced attenuation of the microcystin but in a smaller proportion when compared with the other types of radiation. Dry biomass of *M. aeruginosa* exposed to 3 and 5 kGy of gamma radiation presented smaller attenuation *vis-à-vis* irradiations at 10 and 15 kGy. Experiments with electron beams were carried out at the same conditions of the previously performed tests with gamma radiation. Toxicity tests of the toxin irradiated with electron beams with *A. salina* did not give rise to measurable death of the organisms, an indication of toxin attenuation. Analysis of the toxin irradiated with electron beams was also carried out with LC-MS and inhibition test with phosphatase, and attenuation of the toxin was observed as well. The results showed that with the association of physical agents it is possible to reduce the doses needed for the population control of *Microcystis panniformis* and that, among the ionizing radiations used in this study, electron beams have proved to be the most indicated radiation type for attenuation of microcystin.

Key-words: *Microcystis*, gamma radiation, ecotoxicity, microcystin, electron beams

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Disposição dos tubos com os cultivos entre as placas do capacitor	51
Figura 2 - Disposição dos tubos com os cultivos entre os ímãs e seus controles do lado externo dos ímãs.....	52
Figura 3 - Visão geral do cladócero <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	55
Figura 4 - Vista geral do cultivo da alga clorofícea <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> e, em detalhe, vista das células sob microscopia óptica.....	56
Figura 5 - Vista geral dos recipientes-teste durante a realização de testes de sensibilidade com cloreto de sódio (NaCl) com <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	57
Figura 6 – Vista geral dos recipientes-teste nos testes de toxicidade aguda com extrato bruto liofilizado de NPLJ-4 para <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> , nas concentrações de 0 (controle); 5,65; 11,25; 22,5; 45; e 90 mg L ⁻¹ , da esquerda para direita.....	59
Figura 7 – Fonte de radiação gama Modelo Gammacell 220, da MDS Nordion, instalada no Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares (IPEN).....	64
Figura 8 – Extratos-mãe do material liofilizado (NPLJ-4), dissolvido em água reconstituída, irradiadas com doses de: 3, 5, 10 e 15 kGy.....	64
Figura 9 – Visão geral do acelerador de elétrons e Extratos-mãe depois de irradiados com feixes de elétrons.....	66

Figura 10 – Representação do reconhecimento da dupla quebra (DNA) pelas proteínas de reparo. A - C: Proteínas que apresentam seus momentos de dipolo $\vec{p}$ (representado em B com mais detalhes) orientados na direção do sítio danificado (dupla-quebra) pelo campo elétrico estático ($\vec{E}_{ext}$), com mais intensidade que o $\vec{E}_{ds}$ podendo reorientar o deslocamento das proteínas de reparo ao longo de sua direção.....83

Figura 11 - Etapas referentes ao procedimento da amostra sonicada. a) Pesar material liofilizado; b) Adicionar água destilada; c) Homogeneizar solução; d) Sonicar amostra; e) Centrifugar solução; e f) Irradiação.....146

Figura 12 - Etapas referentes ao procedimento da amostra não sonicada. a) Pesar material liofilizado; b) Adicionar água destilada; c) Homogeneizar solução; d) Irradiação; e) Sonicar amostra; e f) Centrifugar solução.....147

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Gradiente aplicado para a separação cromatográfica de microcistina....	68
Tabela 2 – Condições de fragmentação da microcistina aplicada no espectrômetro de massa.....	68
Tabela 3 – Resumo dos resultados da citotoxicidade das aplicações de agentes físicos nos cultivos de <i>Microcystis panniformis</i>	98
Tabela 4 - Valores de CE(I)50 e seus respectivos intervalos de confiança para a substância de referência cloreto de sódio (NaCl), em testes de toxicidade aguda (48 h) com as neonatas de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	100
Tabela 5 - Valores de CE(I)50 e seus respectivos intervalos de confiança para microcistina, em testes de toxicidade aguda (48 h) com neonatas de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	103
Tabela 6 – Dados de mortalidade (%) de ensaios de toxicidade aguda em dafinídeo <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> (Crustacea, Cladocera) após contato com o extrato pertencente à linhagem NPLJ-4, irradiado com feixes de nêutrons.....	107
Tabela 7 - Resumo dos resultados de imobilidade dos testes de toxicidade aguda para o dafinídeo <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de <i>Microcystis aeruginosa</i> , irradiada com radiação gama nas doses de 3, 5, 10 e 15 kGy.....	111
Tabela 8 - Valores médios da CE ₅₀ (48h), seus respectivos desvios-padrão e intervalos de confiança 95%, para os extratos-mãe sonicados e não sonicados, irradiados com gamas nas doses de 3, 5, 10 e 15 kGy para o dafinídeo <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> (Crustacea, Cladocera) expostos ao extratos de <i>Microcystis aeruginosa</i> (linhagem tóxica NPLJ-4), em testes de toxicidade aguda.....	112

Tabela 9 - Resumo dos resultados de imobilidade dos testes de toxicidade aguda para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons doses de 0, 3, 5, 10 e 15 kGy.....117

Tabela 10 - Resumo dos resultados de imobilidade dos testes de toxicidade aguda para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons e gamas, nas doses de 0, 3, 5, 10 e 15 kGy.....121

Tabela 11 – Valores das áreas do fragmento m/z 599 das variantes [D-Leu]LR, [Asp³]-RR e LR encontradas na microcistina da cepa NPLJ-4 e suas respectivas médias e desvios-padrão. Amostras não irradiadas (controle) e irradiadas com 3, 5, 10 e 15 kGy por feixes de elétrons.....124

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Curva de sobrevivência e crescimento médio do grupo irradiado com uma dose de 0,8 kGy e seu respectivo controle.....72

Gráfico 2 - Curva de sobrevivência e crescimento médio do grupo irradiado com uma dose de 1,5 kGy e seu respectivo controle.....73

Gráfico 3 - Curva de sobrevivência e crescimento médio do grupo irradiado com uma dose de 2,5 kGy e seu respectivo controle.....74

Gráfico 4 - Curva de sobrevivência e crescimento médio do grupo irradiado com uma dose de 4,0 kGy e seu respectivo controle.....75

Gráfico 5 - Curva de sobrevivência e crescimento médio do grupo irradiado com uma dose de 6,0 kGy e seu respectivo controle.....76

Gráfico 6 - Curva de sobrevivência à radiação com gama nas doses de 1,5; 2,5; 4,0 e 6,0 kGy no 2º, 5º e 15º dia.....77

Gráfico 7 – Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos apenas aos campos elétricos, 20 e 100 V/cm e seu respectivo controle.....80

Gráfico 8 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 2,0 kGy + campo elétrico 20 e 100 V cm⁻¹ e seu respectivo controle.....82

Gráfico 9 – Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 1,5 kGy e de 1,5 kGy + campo elétrico 500 V cm⁻¹ e seu respectivo controle.....84

Gráfico 10 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 2,5 kGy e de 2,5 kGy + campo elétrico 500 V cm⁻¹ e seu respectivo controle.....85

Gráfico 11 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 4,0 kGy e de 4,0 kGy + campo elétrico 500 V cm⁻¹ e seu respectivo controle.....86

Gráfico 12 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos ao campo elétrico 500 V cm⁻¹ e seu respectivo controle.....87

Gráfico 13 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos ao campo elétrico pulsado 0,5 MHz (12 h) e seu respectivo controle.....89

Gráfico 14 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos ao campo elétrico pulsado 1,0 MHz (12 h) e seu respectivo controle.....90

Gráfico 15 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos ao campo elétrico pulsado 2,0 MHz (12 h) e seu respectivo controle.....91

Gráfico 16 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos ao campo elétrico pulsado 2,0 MHz (24 h) e seu respectivo controle.....92

Gráfico 17 - Curva de sobrevivência média dos grupos submetidos ao campo elétrico pulsado de 0,5; 1,0; 2,0 (12 h) e 2,0 (24 h) MHz e controle.....93

Gráfico 18 – Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 2,0 kGy e de 2,0 kGy + campo magnético e seu respectivo controle.....94

Gráfico 19 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 4,0 kGy e de 4,0 kGy + campo magnético e seu respectivo controle.....95

Gráfico 20 - Curva de sobrevivência média dos grupos submetidos ao campo magnético e seu respectivo controle.....96

Gráfico 21 - Faixa de sensibilidade de neonatas do dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera), expressa em CE(I)50-48h, quando expostas a substância de referência cloreto de sódio (NaCl).....99

Gráfico 22 – Média dos valores de CE₅₀-48h obtidos para os dafinídeos *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) nos testes de toxicidade aguda (1 – 6) com extratos brutos de culturas da linhagem NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*...103

Gráfico 23 – Valores médios da CE₅₀ (48h), para os extratos brutos não sonicados, irradiados com feixes de nêutrons rápidos para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos aos extratos de *Microcystis aeruginosa* (linhagem tóxica NPLJ-4), em testes de toxicidade aguda.....106

Gráfico 24 – Valores médios da CE₅₀ (48h), para os extratos brutos não sonicados, irradiados com feixes de nêutrons (núcleo do reator) para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos aos extratos de *Microcystis aeruginosa* (linhagem tóxica NPLJ-4), em testes de toxicidade aguda.....109

Gráfico 25 - Valores médios da CE₅₀-48h, para os extratos brutos sonicados e não sonicados, irradiados com radiação gama para neonatas de *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos aos extratos de *Microcystis aeruginosa* (linhagem tóxica NPLJ-4), em testes de toxicidade aguda.....110

Gráfico 26 – Gráfico das diferenças entre as CE₅₀-48h de extratos-mãe sonicados e não sonicados para *C. silvestrii* em função da dose.....114

Gráfico 27 – Médias da CE₅₀-48h para *C. silvestrii* após 48 h de exposição à microcistina, de extratos-mãe não irradiados e irradiados (somente sonicados) em função da dose.....115

Gráfico 28 - Valores médios da CE₅₀-48h, para os extratos brutos sonicados e não sonicados, irradiados com feixes de elétrons para neonatas de *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos aos extratos de *Microcystis aeruginosa* (linhagem tóxica NPLJ-4), em testes de toxicidade aguda.....119

Gráfico 29 - Comparação entre números de organismos-teste imóveis de extratos-mãe sonicados e não sonicados, irradiados com gamas e feixes de elétrons.....122

Gráfico 30 – Valores médios das áreas dos picos das variantes [D-Leu]LR, [Asp³]-RR e LR da microcistina intracelular da cepa NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, não irradiada (D = 0 kGy) e irradiada com 3, 5 e 10 kGy de feixes de elétrons.....125

Gráfico 31 – Representação da quantidade de biomassa seca da cepa NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* que causa a mortalidade de 50% da população de *Artemia salina* num período de 24 horas.....128

Gráfico 32 - Representação da quantidade de biomassa seca da cepa NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* que causa a mortalidade de 50% da população de *Artemia salina* num período de 48 horas.....128

LISTA DE ABREVIATURAS

AmBe	Amerício-Berílio
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
<i>A. furcatus</i>	<i>Argyrodaptomus furcatus</i>
<i>A. salina</i>	<i>Artemia salina</i>
CE ₅₀ -48h	Concentração efetiva em 48 horas
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura
<i>C. silvestrii</i>	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>
CTR	Centro de Tecnologia das Radiações
⁶⁰ Co	Colbalto 60
CNEN-SP	Comissão Nacional de Energia Nuclear
D	Dose
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EUA	Estados Unidos da América
HCl	Ácido clorídrico
IBCCF	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
IPEN	Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares
LAS	Surfactante ácido dodecil p-benzenosulfonato,
LC	Cromatografia Líquida
LETC	Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias
MC-LR	Microcistina LR
MC-RR	Microcistina RR

<i>M. panniformis</i>	<i>Microcystis panniformis</i>
MS	Espectrometria de massa
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
<i>N. iheringi</i>	<i>Notodiaptomus iheringi</i>
<i>p</i>	Índices de significância
PP1	Fosfatase tipo 1
PP2A	Fosfatase tipo 2A
UFSCar	Universidade Federal de São Carlos
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
USP	Universidade de São Paulo

LISTA DE SIGLAS

atm	atmosfera
céls mL ⁻¹	células por mililitro
céls d ⁻¹	células por dia
cm	centímetro
cm ⁻² s ⁻¹	centímetro por segundo
CE _{50-48h}	Concentração efetiva da imobilidade de 50% dos organismos em 48 h
Da	Daltons
d	dias
DL ₉₀	dose letal para matar 90% dos organismos
G	Gauss
g	grama
g L ⁻¹	grama por Litro
°C	Graus Celsius
g L ⁻¹	grama por Litro
Gy	Gray
h	horas
Hz	Hertz
keV	kiloeletron Volt
kGy	kilo Gray
kGy h ⁻¹	kilo Gray por hora

kGy s ⁻¹	kilo Gray por segundo
kHz	kilo Hertz
kV cm ⁻¹	kilo Volt por centímetro
L	Litro
MeV	megaelétron Volt
MHz	mega Hertz
μg L ⁻¹	micrograma por Litro
μL	microlitro
μm	micrometro
μmol m ⁻² s ⁻¹	micromol por metro por segundo
μg mg ⁻¹	micrograma por miligrama
mg	miligrama
mg CaCO ₃ L ⁻¹	miligrama de carbonato de cálcio por Litro
mg L ⁻¹	miligrama por Litro
mL	mililitro
mL L ⁻¹	mililitro por Litro
mm	milimetro
mM	milimolar
min	minuto
nm	nanometro
psi	força por polegada quadrada
rpm	rotação por minuto
t	tempo

T	Tesla
V cm ⁻¹	Volts por centímetro
W	Watt

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	29
1.1 Cianobactérias.....	29
1.2 Gênero <i>Microcystis</i>	30
1.3 Eutrofização e florações de cianobactérias.....	31
1.4 Cianotoxinas.....	32
1.4.1 Microcistinas.....	33
1.5 Presença de cianotoxinas em recursos hídricos.....	36
1.6 Técnicas utilizadas para a remoção de toxinas e cianobactérias.....	37
1.7 Radiações ionizantes e campos elétricos e magnéticos em cianobactérias.....	38
1.8 Ecotoxicologia aquática.....	41
1.8.1 <i>Ceriodaphnia</i> como organismo-teste em estudos ecotoxicológicos	45
2 OBJETIVOS.....	47
2.1 Objetivo geral.....	47
2.2 Objetivos Específicos.....	47
3 MATERIAIS e MÉTODOS.....	48
3.1 Ação combinada de radiações ionizantes com campos elétricos e magnéticos em cianobactérias.....	48
3.1.1 Coleta.....	48
3.1.2 Condições e cultivos.....	48
3.1.3 Experimentos e tratamentos.....	49
3.2 Atenuação de microcistina através de radiações ionizantes.....	53
3.2.1 Cultivos da cepa tóxica NPLJ-4.....	53
3.2.2 Análise de microcistinas.....	54
3.2.3 Preparo dos extratos-mãe da linhagem NPLJ-4 de <i>Microcystis aeruginosa</i>	54
3.2.4 Cultivo do dafnídeo <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> (Crustacea, Cladocera).....	55
3.2.5 Testes de sensibilidade.....	56

3.2.6 Testes de toxicidade aguda.....	58
3.2.7 Cultivo da cepa não tóxica de <i>Microcystis</i> sp.....	60
3.2.8 Tratamentos com radiações ionizantes.....	61
3.2.8.1 Tratamento com nêutrons.....	62
3.2.8.1.1 Tratamento com nêutrons rápidos.....	62
3.2.8.1.2 Tratamento com nêutrons (núcleo do reator).....	62
3.2.8.2 Tratamento com radiação gama.....	63
3.2.8.3 Tratamento com feixes de elétrons.....	65
3.3 Análise da toxina irradiada com espectrometria de massa, testes enzimáticos e bioensaios com <i>Artemia salina</i>	66
3.3.1 Análises em LC-MS.....	67
3.3.2 Ensaio de inibição de proteína fosfatase.....	68
3.3.3 Testes agudos com <i>Artemia salina</i>	69
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
4.1 Estudo da ação combinada de radiações ionizantes com campos elétricos e magnéticos no crescimento de <i>Microcystis panniformis</i>	71
4.1.1 Efeito da radiação gama em <i>Microcystis panniformis</i>	71
4.1.1.1 Efeitos biológicos das radiações ionizantes.....	76
4.1.2 Efeito combinado da radiação gama e campo elétrico estático em <i>Microcystis panniformis</i>	79
4.1.3 Efeito do campo elétrico pulsado em <i>Microcystis panniformis</i>	88
4.1.4 Efeito combinado da radiação gama e campo magnético em <i>Microcystis panniformis</i>	94
4.1.5 Representação de conjunto de resultados referente à exposição de cultivos de <i>Microcystis panniformis</i> aos agentes físicos exógenos.....	98
4.2 Atenuação de microcistina através de radiações ionizantes.....	99
4.2.1 Testes de sensibilidade.....	99
4.2.2 Linhagem não tóxica não irradiada.....	101
4.2.3 Linhagem não tóxica irradiada com radiação gama.....	102
4.2.4 Linhagem tóxica não irradiada.....	102
4.2.5 Linhagem tóxica irradiada com nêutrons.....	105

4.2.5.1 Nêutrons rápidos.....	105
4.2.5.2 Núcleo do reator.....	107
4.2.6 Linhagem tóxica irradiada com radiação gama.....	109
4.2.6.1 Comparação entre a toxicidade de extratos-mãe somente sonicados não irradiados e irradiados.....	114
4.2.7 Linhagem tóxica irradiada com feixes de elétrons.....	116
4.2.7.1 Extratos-mãe sonicados.....	116
4.2.7.2 Extratos-mãe não sonicados.....	118
4.2.7.2.1 Doses de 3 e 5 kGy de feixes de elétrons.....	118
4.2.7.2.2 Doses de 10 e 15 kGy de feixes de elétrons.....	119
4.2.8 Extratos-mãe irradiados com feixes gamas <i>versus</i> feixes de elétrons.....	120
4.2.9 Avaliação da toxina irradiada por feixes de elétrons através de LC-MS – [este tópico foi desenvolvido na UAM/Madrid].....	125
4.2.10 Ensaio de inibição de proteína fosfatase [este tópico foi desenvolvido na UAM/Madrid].....	126
4.2.11 Testes de toxicidade aguda em <i>Artemia salina</i> [este tópico foi desenvolvido na UAM/Madrid].....	126
4.2.12 Perspectivas promissoras para a continuidade desta linha de pesquisa.....	129
5 CONCLUSÕES.....	130
REFERÊNCIAS.....	132
APÊNDICE A.....	144
APÊNDICE B.....	148
APÊNDICE C.....	157
APÊNDICE D.....	161
APÊNDICE E.....	193
APÊNDICE F.....	199
APÊNDICE G.....	218
APÊNDICE H.....	228
APÊNDICE I.....	260
APÊNDICE J.....	288
ANEXO A.....	291

1 INTRODUÇÃO

1.1 Cianobactérias

Cianobactérias, cianoprocariotas ou cianofíceas (algas azuis) são procariotos Gram-negativos, fotoautotróficos que fazem parte do grupo das eubactérias, sendo que estas são as únicas bactérias com capacidade de produzir como produto colateral da fotossíntese o oxigênio (LOURENÇO, 2006).

Seus pigmentos são compostos principalmente pela clorofila *a* (algumas possuem a clorofila *b* ou *d*) e por ficobilinas, além de carotenos e xantofilas (BEUTLER, 2003; LEE, 2008; SIEJAK; FRACKOWIAK, 2007). Apresentam diversidade morfológica, podendo ser unicelulares como por exemplo *Choococcus* sp., ou filamentosas como *Anabaena* sp., *Planktothrix* sp., *Nostoc* sp. e *Cylindrospermopsis* sp.. Também podem ocorrer individualmente como nos casos de *Synechococcus* e *Aphanotece*, ou agrupadas em colônias ou agrupamentos, por exemplo *Microcystis* sp., *Gomphospheria* sp., e *Merismopedia* sp., podendo ou não apresentar envelope mucilaginoso (AZEVEDO; SANT'ANNA, 2006; CALIJURI; ALVES; SANTOS, 2006; WHITTON; POTTS, 2000).

A origem das cianobactérias foi estimada em cerca de 3,46 bilhões de anos pela descoberta de fósseis em rochas sedimentares encontradas no oeste da Austrália. As cianobactérias são alguns dos microrganismos com registro fóssil mais antigo da Terra. O número real de espécies de cianobactérias é desconhecido, especialmente porque a identificação de espécies com base em características morfológicas é bastante limitada. Apesar dessas limitações, reconhece-se a existência de 2.000 espécies de cianobactérias na natureza (LOURENÇO, 2006). Essas microalgas podem ser encontradas em diversos ambientes: aquáticos (dulcícolas, estuarinos e marinhos), terrestres e aéreos, desempenhando um papel importante nos processos funcionais do ecossistema e na ciclagem de nutrientes (BOLD; WYNNE, 1985; LOURENÇO, 2006).

As cianobactérias são dotadas de extraordinária capacidade de se adaptar com sucesso a alterações ambientais. Em geral, elas toleram grandes flutuações de temperatura, salinidade, pH e disponibilidade de nutrientes (LOURENÇO, 2006). As cianobactérias não possuem cílios nem flagelos como as bactérias; por isso, toda a mobilidade destes organismos está relacionada à expulsão de material orgânico produzido pelas células ou, no caso de espécies filamentosas, por movimentos deslizantes e de rotação. Algumas cianobactérias podem ajustar sua posição verticalmente na coluna d'água por meio de vacúolos gasosos (aerótopos). Esses vacúolos são estruturas fusiformes ocas e rígidas (CALIJURI; ALVES; SANTOS, 2006).

1.2 Gênero *Microcystis*

As cianobactérias do gênero *Microcystis* são alguns dos microrganismos encontrados com maior frequência em florações de corpos de água eutrofizados e hipereutrofizados (GER; TEH; GOLDMAN, 2009; GOUVÊA; BOYER; TWISS, 2008; WATANABE et al., 1996). Em áreas hipereutróficas, *Microcystis* geralmente é a espécie dominante e quando o clima permite ocorre durante todo o ano (WATANABE et al., 1996). As células de *Microcystis* apresentam melhor crescimento em águas com níveis de pH entre 6-9 (OKANO et al., 2009; REYNOLDS et al., 1981; CHORUS; BARTRAM, 1999). Quanto à temperatura, segundo Kappers (1984) pode-se observar que há crescimento em corpos d'água com temperaturas que variam de 10 a 30 °C e com a presença de vento suave. A tolerância da *Microcystis* à temperatura está relacionada aos regimes de temperaturas verificados nas regiões temperadas e tropicais. Um estudo realizado por Jiang et al. (2008) afirma que fatores relacionados ao meio ambiente, como exemplo temperatura, luz, nitrogênio e ferro, entre outros, afetam o crescimento de uma espécie pertencente ao gênero *Microcystis*.

1.3 Eutrofização e florações de cianobactérias

O desenvolvimento urbano acelerou na segunda metade do século XX com a concentração da população em espaço reduzido, produzindo grande competição pelos mesmos recursos naturais (solo e água), destruindo parte da biodiversidade natural (TUCCI, 2008). O conjunto de ações produzidas pelas atividades humanas foi se tornando complexo ao longo da história da humanidade, decorrente da exploração dos recursos hídricos para expandir o desenvolvimento econômico e fazer frente às demandas industriais e agrícolas e à expansão e crescimento da população e das áreas urbanas (TUNDISI, 2003).

Um dos mais importantes impactos qualitativos e quantitativos em rios, lagos e represas é o da eutrofização, que afeta, com maior ou menor intensidade, praticamente todos os ecossistemas aquáticos continentais (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2008). A eutrofização é resultante da descarga excessiva de águas de esgotos ou de despejos agrícolas não tratados, que acelera o processo de enriquecimento natural de ambientes aquáticos (TUNDISI, 2003). As altas concentrações de nutrientes decorrentes da eutrofização, associadas às temperaturas elevadas favorecem a proliferação de microalgas, principalmente nos trópicos (ROCHA et al., 2006). Muitos casos que descrevem o desenvolvimento massivo de cianobactérias têm sido registrados na literatura. Há uma preocupação geral com este problema devido aos prováveis efeitos do aquecimento global, especialmente no que diz respeito às espécies que produzem toxinas (ABOAL; PUIG, 2005).

Algumas cianobactérias planctônicas são capazes de formar florações intensas em corpos de água, alterando o aspecto e as características do ambiente. Isso ocorre devido a:

1. Intensidade de luz → quando a intensidade luminosa é baixa as cianobactérias mantêm um crescimento relativamente mais alto que outros organismos fitoplanctônicos;
2. Retenção da água → a taxa de crescimento das cianobactérias geralmente é baixa, em comparação com outras espécies de algas. Um tempo longo de

retenção da água propicia a formação de florações (*blooms*). Cianobactérias não formam florações em águas onde o tempo de retenção é curto;

3. Fósforo e nitrogênio → florações de cianobactérias geralmente são desenvolvidas em águas eutrofizadas. São necessárias altas concentrações de nitrogênio e fósforo para que ocorra a formação de florações;
4. Presença de aerótopos → habilidade para regular a sua posição na coluna d'água através das vesículas de gás. Esta é uma vantagem quando em áreas ricas em luz e/ou nutrientes;
5. Estabilidade populacional → as cianobactérias não são predadas por copépodos, dafnídeos e protozoários, como ocorre com outras algas. Assim, a sua baixa taxa de crescimento é compensada pela alta prevalência de populações no meio aquático;
6. Temperatura → sua maior taxa de crescimento e a realização de fotossíntese é melhor alcançada em temperaturas acima de 20 °C. Isso pode explicar a dominância de cianobactérias em corpos d'água de países tropicais, enquanto que em países subtropicais há aparecimento de florações durante o verão (LEE, 2008; CHORUS; BARTRAM, 1999).

1.4 Cianotoxinas

Existem aproximadamente 150 gêneros de cianobactérias, sendo que 40 destas são produtoras de toxinas. Alguns exemplos destas são: *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Coelosphaerium*, *Cylindrospermopsis*, *Gloeotrichia*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Nostoc*, *Planktothrix* e *Trichodesmium* (AZEVEDO, 1998; CARMICHAEL, 1992; CODD, 2000; LEE, 2008; ROGERS; GALLON, 1988; WHITTON; POTTS, 2000).

Três grupos de compostos tóxicos estão associados às cianobactérias: neurotoxinas, hepatotoxinas e substâncias irritantes ou alergênicas. Estas últimas causam irritação na pele e problemas gastrointestinais (YOO et al., 1995). As neurotoxinas e as hepatotoxinas são metabólitos secundários intracelulares. As neurotoxinas são toxinas que atuam especificamente no sistema nervoso, mesmo

em baixa concentração (CALIJURI; ALVES; SANTOS, 2006) e são produzidas pelos seguintes gêneros: *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix*, *Trichodesmium* e *Cylindrospermopsis*. Já são conhecidas pelo menos cinco neurotoxinas produzidas a partir de espécies desses gêneros: anatoxina-a, anatoxina-a (s), saxitoxinas (SXT), neosaxitoxinas (Neo-STX) e homoanatoxina-a (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008; AZEVEDO, 1998; CALIJURI; ALVES; SANTOS, 2006). As hepatotoxinas são as toxinas encontradas com maior frequência em ambientes de água doce em todo o mundo, sendo o tipo mais comum de intoxicação via cianobactérias (CAMPINAS; ROSA 2010; FUNASA, 2003; VASCONCELOS; PEREIRA, 2001; CHORUS; BARTRAM, 1999). A produção destas toxinas ocorre por espécies de determinados gêneros de cianobactérias, como *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix*, *Nostoc*, *Cylindrospermopsis*, *Nodularia* e *Anabaenopsis* (AZEVEDO, 1998; CARMICHAEL, 1992; MCELHINEY; LAWTON, 2005). As hepatotoxinas são reconhecidas como potentes promotores de tumores hepáticos. Elas chegam aos hepatócitos por meio de receptores dos ácidos biliares (ERIKSON et al., 1990; FALCONER, 1991; RUNNEGAR; FALCONER; SILVER, 1981) e promovem uma desorganização do citoesqueleto dos hepatócitos. Com isso o fígado perde a sua arquitetura e desenvolve lesões internas. A perda de contato entre as células cria espaços internos que são preenchidos pelo sangue que passa a fluir dos capilares para esses locais, provocando uma hemorragia intra-hepática (CARMICHAEL, 1994; HOOSER et al., 1991; LAMBERT et al., 1994). As principais hepatotoxinas até agora caracterizadas são os hepatopeptídeos cíclicos conhecidos como microcistinas e os pentapeptídeos denominados nodularinas. Há também um alcalóide hepatotóxico, denominado cilindrospermopsina. Essa toxina provoca hemorragia hepática e congestão pulmonar (AZEVEDO, 1998).

1.4.1 Microcistinas

A microcistina é uma hepatotoxina produzida pelas algas dos gêneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix*, *Nostoc* e *Anabaenopsis* que causam envenenamento em animais domésticos e silvestres ou em cultivos de peixes, além de constituir perigo à saúde humana pela sua presença em água destinada ao

consumo ou recreação (DAI et al., 2008; YUAN; CARMICHAEL; HILBORN, 2006). A estrutura geral das microcistinas é D-Ala-X-D-MeAsp-Z-Adda-D-Glu-Mdha, em que X e Z são os dois L aminoácidos variáveis, D-MeAsp é D-eritro ácido metilaspártico e Mdha é N-metildeidroalanina (AZEVEDO, 1998; SILVA-STENICO et al., 2009; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008). Existem mais de 70 variantes de microcistina e as linhagens tóxicas normalmente produzem uma mistura de diferentes microcistinas (MOMANI; SMITH; EL-DIN, 2008). A microcistina-LR (MC-LR) é a variante mais frequentemente encontrada em florações, sendo considerada a mais tóxica (CAMPINAS; ROSA, 2010).

A toxicidade da microcistina está associada à inibição das fosfatases protéicas de serina/treonina do tipo 1 (PP1) e 2A (PP2A) em uma variedade de animais e pode também causar efeito negativo em plantas, algas e protozoários (GER; TEH; GOLDMAN, 2009; MACKINTOSH et al., 1990; MCELHINEY; LAWTON, 2005; WATANABE, 1996). Intoxicações agudas como hemorragia intra-hepática, choque hipovolêmico e necrose de hepatócitos levam o indivíduo à morte em curtos intervalos de tempo, de poucas horas a alguns dias (AZEVEDO, 1998; MCELHINEY; LAWTON, 2005). Exposições a baixas concentrações de microcistina através do consumo de água podem causar efeitos crônicos em mamíferos através da hiperfosforilação de algumas proteínas celulares, resultando ao final em tumores hepáticos (LANKOFF et al., 2006; MCELHINEY; LAWTON, 2005). As enzimas PP1 e PP2A regulam diversos processos, entre eles a divisão e o crescimento celular (MACKINTOSH; MACKINTOSH, 1994). Quando a microcistina entra numa célula e inibe a função das fosfatases, as células perdem o controle normal e respondem inapropriadamente aos sinais (BARROS, 2001; MACKINTOSH; MACKINTOSH, 1994).

Cianotoxinas podem ocorrer tanto no interior das células ou dissolvidas na água, uma característica que influencia fortemente a remoção destas nas estações de tratamento de água potável. As microcistinas são quimicamente muito estáveis e o tratamento convencional (coagulação, floculação, decantação e filtração) é capaz de controlar até certo ponto as células de cianobactérias, mas é ineficaz para a remoção de cianotoxinas extracelulares (CAMPINAS; ROSA, 2010; HYENSTRAND

et al., 2003). Estas toxinas têm o potencial de persistir por longos períodos em águas superficiais naturais antes do início da degradação, mas uma vez iniciada, a degradação é normalmente concluída dentro de alguns dias (BOURNE et al., 2006). Estas cianotoxinas podem causar fortes impactos no ecossistema aquático, de toxicidade aguda a alterações na transferência trófica de energia (CHRISTOFFERSEN, 1996).

Uma série de relatos tem sido apresentada sobre os riscos associados a saúde humana devido a presença de cianobactérias e suas toxinas em mananciais de abastecimento público. No Brasil, entre março e abril de 1988 foi consumida água de um reservatório em Itaparica (Bahia), em que cerca de 200 pessoas foram intoxicadas e houve morte de 88 delas. Há fortes evidências da correlação entre a ocorrência dessas intoxicações e as florações de cianobactérias nesse reservatório (TEIXEIRA et al., 1993). Em 1996, um acidente ocorrido no Instituto de Doenças Renais em Caruaru, Pernambuco, modificou a história e a prática clínica da hemodiálise. A água utilizada para hemodiálise foi contaminada com microcistina, presente acima do nível permitido, causando morte de mais de 65 pacientes. Este foi o caso mais grave registrado mundialmente (COÊLHO, 1998; JOCHIMSEN et al., 1998) e passou a ser o primeiro caso confirmado de mortes humanas causadas por uma toxina produzida por cianobactérias (JOCHIMSEN et al., 1998). Após a confirmação de mortes ocasionadas por cianotoxinas despertou-se a atenção no Brasil para os problemas decorrentes de cianobactérias, e a monitoração de corpos d'água tem sido motivo de preocupação constante de órgãos ambientais e de saúde, institutos de pesquisa e companhias de saneamento, em nível mundial (TAKENAKA, 2007). No Brasil essa questão requer muita atenção, pois a maior parte do território brasileiro situa-se na região tropical e apresenta condições favoráveis ao aparecimento de cianobactérias durante todo o ano devido às altas temperaturas, baixa turbulência e alta concentração de nutrientes nos reservatórios. Atualmente, a população exige a melhoria constante da qualidade da água para consumo. Além disso, as estações de tratamento de água necessitam melhorar e/ou otimizar os processos, a fim de cumprir o requisito exigido pelo regulamento em vigor (HURTADO et al., 2008).

1.5 Presença de cianotoxinas em recursos hídricos

Estudos realizados no Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) têm confirmado a ocorrência de cepas tóxicas de cianobactérias em corpos d'água (reservatórios de abastecimento público, lagos artificiais, lagoas salobras e rios) dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Paraná, Bahia e Pernambuco e do Distrito Federal. Aproximadamente 82% das cepas isoladas se mostraram tóxicas quando testadas em bioensaios, sendo 9,7% neurotóxicas e as demais hepatotóxicas (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008). Por isso, essa circunstância desperta interesse científico e cria preocupações ambientais para as autoridades de saúde, devido ao frequente aparecimento e persistência de cianobactérias em águas naturais (LANKOFF, 2006; MEREL et al., 2010).

Cianobactérias produzem compostos que dão à água sabor e odor desagradáveis (LOURENÇO, 2006). Alguns métodos são utilizados para separar e/ou diminuir a quantidade de cianobactérias da superfície da água. Porém, muitas dessas técnicas resultam na lise da célula, ocorrendo então a liberação, em grande quantidade, de toxinas no meio aquático (CHORUS; BARTRAM, 1999). A remoção da toxina dissolvida na água não é fácil, pois esta pode não ser totalmente retirada através dos tratamentos convencionais das redes públicas de abastecimento. A toxina resiste a vários processos químicos e até mesmo à fervura (TUNDISI, 2003). Segundo o padrão de potabilidade da água da Portaria N° 518 do Ministério da Saúde foi estabelecido o limite máximo de 20.000 céls mL⁻¹ para a densidade de cianobactérias em amostras de águas brutas destinada ao abastecimento populacional, e 1 µg L⁻¹ para a concentração máxima de microcistina permissível em água destinada ao consumo humano diário (BRASIL, 2004).

A maioria da população de países industrializados depende de águas providas de abastecimentos públicos ou privados. Essas plantas de tratamento de água são necessárias para garantir a qualidade de água potável. A maioria desses países tem histórias de problemas com contaminações de reservatórios de água por cianobactérias (HOEGGER et al., 2005). As microcistinas requerem maior atenção não somente devido à habilidade em causar infecções agudas, mas também ao seu

potencial carcinogênico decorrente de exposição crônica (UENO et al., 1996; ZHU et al., 2005).

1.6 Técnicas utilizadas para a remoção de toxinas e cianobactérias

Desenvolvimentos tecnológicos propiciam novos meios para a remoção de toxinas da água. Esses meios não são comercialmente viáveis, pois tratam-se de técnicas difíceis, complexas e caras. Pode-se citar o tratamento fotocatalítico (ROBERTSON et al., 1997), aerações hipolimínicas e desestratificação artificial (SAITO; ARIGA 1994; SIMMONS, 1997), oxidação (GAJDEK et al., 2001), ozonização (BROOKE et al., 2006; FUNASA, 2003; MIAO; TAO, 2009), uso de dióxido de cloro (JI et al., 2008), e irradiação com ultravioleta (ZUKOVSKY et al., 1986), sendo esses processos geralmente custosos, limitando a sua implementação em sistemas de tratamento de água. Nas estações de tratamento da cidade de São Paulo utiliza-se um método caro para a remoção da microcistina, o carvão ativado, que tem sido utilizado com eficácia limitada porque satura muito rapidamente, principalmente quando há florações persistentes de cianobactérias.

Dentre os métodos não químicos de tratamento e de esterilização de águas para o consumo, menciona-se os poucos utilizados processos de tratamento com feixes de radiação gama e elétrons. Esses processos foram testados em fase piloto pela prefeitura de Miami (EUA) no tratamento de águas (KURUCZ; WAITE; COOPER, 1995). Kurucz et al. (1992) mostraram que feixes de elétrons podem ser utilizados em larga escala, e que o sistema pode ser operado com segurança e com custo adequado para tratamento de água. Verificaram também que a irradiação com feixes de elétrons é eficiente para destruir produtos orgânicos tóxicos em sistemas aquosos de qualidade muito variável. Nesse contexto, o estudo de cianotoxinas adquire grande relevância para o *design* e construção de plantas de tratamento de água.

1.7 Radiações ionizantes e campos elétricos e magnéticos em cianobactérias

A radiosensibilidade de algumas cianobactérias vem sendo estudada há algumas décadas apenas para a radiação gama (ARRUDA-NETO et al., 2009; ASATO, 1971; BILLI et al., 2000; CAVALCANTE-SILVA et al., 2011; HEREMAN et al., 2007; KRAUS, 1969; POSNER; SPARROW, 1963). Doses utilizadas para matar cianobactérias são consideradas altas quando comparadas com outros organismos procariotos. A alta resistência das cianobactérias à radiação decorre do fato desses microrganismos possuírem eficientes mecanismos de reparo do DNA, em que alvos danificados são parcialmente substituídos ou os danos são reparados sem necessitar uma nova síntese de todos os componentes (AGARWAL et al., 2008; WHITTON; POTTS, 2000). Eficientes mecanismos de reparo são esperados em cianobactérias, visto que seus antecessores se desenvolveram numa atmosfera de radiação-UV, com ausência de camada de ozônio durante a Era Pré-Cambriana.

A radiação gama é uma radiação eletromagnética semelhante aos raios-x ou luz natural, exceção feita à sua frequência muito mais elevada. Não possuem massa de repouso e nem carga, originam-se por decaimento do núcleo atômico, podendo remover elétrons (ionização) de átomos e moléculas. Ao penetrarem na célula, transferem energia para as moléculas provocando alterações em suas propriedades químicas. Trata-se de uma onda eletromagnética muito penetrante mesmo em materiais densos (ALPEN, 1991). Possui diversas aplicações em diferentes segmentos que demandam Ciência e Tecnologia, conforme demonstrado em inúmeros trabalhos da literatura científica (FAROOQ et al., 1993; IMAMURA et al. 2002; SOMMER et al., 2001; THOMPSON; BLATCHLEY, 2000). As radiações ionizantes são agentes nocivos ao material genético, causando danos no DNA da célula por ação direta e indireta. A maioria dos danos provocados pela radiação gama é do tipo “indireto” (cerca de 80%). De fato, a radiólise da água contida no citosol produz muitos radicais livres e estes são responsáveis pelos danos ao material genético e outros alvos moleculares (ALPEN, 1991). No efeito direto a radiação gama interage majoritariamente com a molécula de DNA, ionizando-a (JONES et al., 1994). O dano ao DNA é uma das principais causas de morte celular, mutações e carcinogênese (AKAMATSU, 2007).

Vários estudos demonstram a eficácia da utilização de alguns agentes físicos (radiação, campos elétricos e magnéticos, calor, etc.) quando aplicados separadamente em microrganismos. Porém, a utilização simultânea eficaz de dois ou mais desses agentes físicos foi muito pouco estudada (ARRUDA-NETO et al., 2009; GRANT; PATTERSON, 1995; HEREMAN et al., 2007; ROGOVSCHI et al., 2007; SHAMSUZZAMAN, 1988; TAGHIPOUR, 2004). Há um aumento do número de estudos que objetivam a alteração do crescimento, morfologia, fotossíntese e danos ao DNA, entre outros, em cianobactérias, através de efeitos combinados de agentes físicos (AGARWAL, 2008; ARRUDA-NETO et al., 2009; GAO; YU; BROWN, 2007; GAO et al. 2008; HEREMAN, 2007).

Campos elétricos endógenos desempenham inúmeros papéis em importantes funções biológicas. Por outro lado, campos elétricos exógenos podem, dependendo de sua intensidade, alterar a organização estrutural das células, envolvendo enzimas e membranas, resultando em metabolismo e funções anormais (ISOBE et al., 1999). O efeito mais comumente estudado é a “eletroporação”, que envolve formação de poros reversíveis ou irreversíveis na membrana das células provocando a perda da viabilidade (BENDICHO; BARBOSA-CÁNOVAS; MARTÍN, 2002; TOEPFL; HEINZ; KNORR, 2007)

Pesquisadores têm demonstrado que o campo eletromagnético modifica o comportamento celular. Dependendo da intensidade do campo elétrico aplicado e seu tempo funcional (estático, pulsado, etc.), diferentes efeitos no processo metabólico podem ocorrer (ARAÚJO et al., 2004; NOCI et al., 2009). No campo da medicina o resultado de maior importância e repercussão foi obtido por Kirson et al. (2004). Eles expuseram gliomas de pacientes terminais apenas a campos eletromagnéticos de frequências entre 100 e 300 kHz, conseguindo impedir o crescimento dos tumores e em alguns casos houve a regressão.

Já Erygin¹ et al. 1988 apud Li (2006) estudaram o efeito de campos magnéticos em microrganismos, constatando que o tratamento com campos magnéticos pode alterar a taxa de crescimento, acumulação de biomassa e atividade da biossíntese da cultura.

Feixes de elétrons têm sido utilizados como ferramentas tecnológicas para a esterilização de materiais e aparelhos médicos, pasteurização de alimentos e no tratamento de resíduos médicos e infecciosos (YAMADA, 2003). Segundo Romanelli et al. (2006), a radiação ionizante tem demonstrado elevada eficiência na decomposição de substâncias orgânicas e contaminantes ambientais de esgotos, lodos e efluentes, e, poucos trabalhos têm incluído aspectos ecotoxicológicos. Do ponto de vista da interação com a matéria, os elétrons são equivalentes à radiação gama. Enquanto que a radiação gama proveniente, por exemplo, de uma fonte de ⁶⁰Co é uma radiação gama “real”, os elétrons depositam sua energia no meio que atravessam via emissão de uma radiação gama “virtual”. A diferença está no fato de que, por possuírem carga elétrica, os elétrons são menos penetrantes. Contudo, essa limitação pode ser compensada aumentando-se sua intensidade (ou seja, a energia do feixe), tornando-a maior comparativamente à da radiação gama. De fato, em um acelerador de elétrons é possível operar em diferentes regimes de energia.

Além disso, nos aceleradores a corrente de elétrons (quantidade de elétrons acelerados por segundo) é alta e, em decorrência, obtém-se irradiações com elevadas taxas de dose, permitindo irradiar materiais em tempos muito mais curtos do que aqueles com gamas “reais” de uma fonte de ⁶⁰Co. Os conceitos de radiação real e virtual pertencem à disciplina Eletrodinâmica Quântica – a literatura é vasta (RODRIGUES et al., 2003; ZAMANI-NOOR; ONLEY, 1988). O detalhamento desse tema não faz parte do escopo deste trabalho e nem é necessário para o seu desenvolvimento.

¹Erygin, G.D., Pchelkina, V.V., Kulikova, A.K., Rurina, N.G., Bezborodov, A.M., Gogolev, M.N. Influence of nutrition medium treatment of micro-organisms by magnetic field on the growth and development. Prikladnaya Biokhimiya i mikrobiologiya, v. 24, p. 257–263, 1988.

Os nêutrons são partículas sem cargas. Por esta característica eles são altamente penetrantes quando comparados com partículas com cargas e que possuam a mesma massa e energia. São muito ionizantes produzindo conglomerados (*clusters*) de danos no material irradiado. Os nêutrons, dependendo de sua energia, também interagem com o núcleo do átomo do material absorvido, diferenciando-se dos raios-x que interagem com os elétrons que encontram-se na órbita do átomo (HALL, 1994).

1.8 Ecotoxicologia aquática

O termo ecotoxicologia foi definido pela primeira vez por em 1969 por Truhaut (1977). Este autor define a ecotoxicologia como o ramo da toxicologia preocupado com o estudo de efeitos tóxicos causados por poluentes naturais ou sintéticos, sobre quaisquer constituintes dos ecossistemas: animais (incluindo seres humanos), vegetais ou microorganismos, em um contexto integral (TRUHAUT, 1977). A ecotoxicologia nasceu como ferramenta de monitoramento ambiental, baseada principalmente na resposta de organismos individuais estressores químicos. Portanto, é uma ciência com objetivo próprio de estudo (o fenômeno da intoxicação ambiental em todas as suas nuances e consequências), com finalidade e método (AZEDO; CHASIN, 2003; MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008).

Na década de 1980, as agências ambientais no mundo todo, principalmente nos EUA e Europa, começaram a desenvolver protocolos padronizados de testes de toxicidade utilizando organismos aquáticos (OECD^{2,3}, 1984-2004; USEPA^{4,5}, 1996, 2002 apud MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008). No Brasil, em 1987 a ABNT começa a publicar suas primeiras normas relativas a testes ecotoxicológicos com organismos aquáticos (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Os resultados das análises químicas por si só não retratam o impacto ambiental causado pelos poluentes porque não demonstram os efeitos sobre o ecossistema. Somente os sistemas biológicos (organismos ou partes deles) podem detectar os efeitos tóxicos das substâncias. A aplicação dos testes de toxicidade na análise ambiental é bastante abrangente e sua importância aumenta na proporção

que cresce a complexidade das transformações químicas no meio ambiente (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008).

A ecotoxicologia iniciou-se como uma forma adequada de prevenção e controle da qualidade da água. Esta ciência utiliza, dentre outras ferramentas, os testes de toxicidade, como uma maneira de evidenciar o impacto que uma ou mais substâncias, resíduos, ou fatores ambientais, isolados ou em combinação, exercem sobre os organismos vivos, envolvendo todas ou algumas etapas do ciclo de vida dos mesmos, sob condições controladas (COSTA, 1997; ZAMBONI, 1993). O uso de organismos aquáticos para biomonitoramento é uma ferramenta importante na ecotoxicologia aquática, permitindo a avaliação da toxicidade de substâncias de origem antrópica, bem como de organismos vivos (FERRÃO-FILHO et al., 2009). O conhecimento da toxicidade de agentes químicos a diferentes organismos aquáticos possibilita, além do estabelecimento de limites permissíveis de várias substâncias químicas para a proteção da vida aquática, avaliar o impacto momentâneo que esses poluentes causam à biota dos corpos hídricos (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Os testes de toxicidade podem ser classificados de acordo com a forma e o intervalo de tempo da resposta: curto prazo (agudo) ou de longa duração (crônico) (CALOW, 1993). Na toxicidade aguda os efeitos são nocivos, em geral severos e rápidos, causados pelos agentes tóxicos da substância testada. Esses efeitos são constatados na sobrevivência dos organismos-teste em um curto período de tempo, geralmente de 48 h (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

²¹Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) Guidelines for testing Chemicals – Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-day Study. Guideline, 9 p., 1984

³Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) Guidelines for testing Chemicals – *Daphnia* sp., Acute Immobilization Test. Guideline 202. 12 p., 2004.

⁴United States Environmental Protection Agency (USEPA). **Aquatic invertebrate toxicity test, freshwater daphnids: ecological effects test guidelines**. Washington: USEPA, 1996.

⁵United States Environmental Protection Agency (USEPA). **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. Washington, D.C.: USEPA, 2002.

O objetivo de um teste de toxicidade aguda é determinar a concentração do material testado (um agente químico ou um efluente) ou o nível de um agente (temperatura ou pH) que produz um efeito deletério em um grupo de organismos-teste durante uma exposição de curto prazo sob condições controladas (RAND; PETROCELLI, 1985). Nesses ensaios usualmente o critério de avaliação é a imobilidade dos organismos-teste. Esses critérios são usados devido ao significado biológico e ecológico para o meio ambiente (VANLEEUEWEN⁶, 1988, apud ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006). Os ensaios crônicos são realizados com a finalidade de detectar efeitos adversos mais sutis ou de longo-prazo nos organismos expostos, que não são detectados com os ensaios de toxicidade aguda. Nestes testes os organismos são expostos aos níveis subletais de poluentes, os quais podem ou não levar os organismos à morte, mas podem causar distúrbios fisiológicos e/ou comportamentais em longo prazo (RAND; PETROCELLI, 1985; TAKENAKA, 2007). Embora detalhes específicos dos ensaios de toxicidade, com diferentes espécies de organismos possam diferir entre si, o princípio básico para todos é semelhante e requer condições ambientais específicas, como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, dureza da água, fotoperíodo, duração do teste, etc. Nesses ensaios, os organismos testes (peixes, microcrustáceos, algas, dentre outros) são expostos a várias concentrações da amostra a ser testada (substâncias químicas, efluentes, extratos aquosos) em soluções contidas nos frascos-teste (por exemplo, cubas de vidro, aquários, tubos de ensaios, béqueres, etc.), por determinado período de tempo. Em todos os ensaios são utilizados frascos-controle (somente com água reconstituída), nos quais se avalia a viabilidade do lote de organismos expostos. Após o período de teste, verifica(m)-se o(s) efeito(s) da amostra sobre alguns parâmetros biológicos, como mortalidade, crescimento, reprodução, comportamento dos organismos, entre outros.

⁶VAN LEEUWEN, Short-term toxicity testing. In: Kruijf, H. A. M.; Zawart, D.; Viswanathan, P. N.; Ray, P. K. Eds Manual on Aquatic Ecotoxicology. 332 p., 1988.

Os efeitos observados são analisados estatisticamente e os resultados são expressos em unidades numéricas, tais como:

CL₅₀ (Concentração Letal) – é a concentração tóxica que provoca a morte, num determinado período de exposição, de 50% dos organismos expostos nas condições de teste;

CE₅₀...h (Concentração efetiva) – é a concentração do agente tóxico que causa um efeito agudo, como por exemplo a imobilidade a 50% dos organismos, num tempo específico nas condições de teste; e

CENO (Concentração de efeito não observado) - É a maior concentração real da amostra que não causa efeito deletério estatisticamente significativo na sobrevivência e reprodução dos organismos, nas condições de ensaio ABNT (2005).

No Brasil, a resolução 357 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), de 17 de março de 2005, inclui a realização de testes de toxicidade para a avaliação da qualidade de água dos corpos receptores e para o estabelecimento das condições e padrões de lançamentos de efluentes (BRASIL, 2005; MASSARO, 2006).

Várias espécies vêm sendo empregadas internacionalmente em testes de toxicidade, gerando subsídios importantíssimos para uma melhor avaliação e caracterização dos efeitos agudos e crônicos de diversos agentes tóxicos em corpos receptores. Dentre os principais grupos de organismos, utilizados em ensaios laboratoriais, destacam-se: microalgas, microcrustáceos, equinóides, oligoquetas, peixes e bactérias, representando os mais diversos ecossistemas e níveis tróficos (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008). Os dafinídeos e copépodos são os mais encontrados na literatura que relata testes com microcistina-zooplâncton, pois são mais sensíveis à exposição de microcistina dissolvida na água (DeMOTT; ZHANG, CARMICHAEL, 1991). Estudos mostraram que dafinídeos expostos a *Microcystis aeruginosa* tóxica acumularam alta concentração de microcistina, superior à encontrada no ambiente aquático (MOHAMED, 2001; FERRÃO-FILHO; KOZLOWSKY-SUZUKI; AZEVEDO, 2002).

No Brasil, os testes ecotoxicológicos com microcrustáceos foram padronizados inicialmente com espécies exóticas como *Daphnia similis* (ABNT, 1993) e com a *Ceriodaphnia dubia* (ABNT, 2005), mas, recentemente, um protocolo de teste de toxicidade crônica foi desenvolvido para a espécie nativa *Ceriodaphnia silvestrii* (ABNT, 2005; Magalhães, 2008).

1.8.1 *Ceriodaphnia* como organismo-teste em estudos ecotoxicológicos

O zooplâncton de água doce é formado predominantemente por Protozoa, Rotifera e Crustacea, sendo este último constituído principalmente por Copepoda e Cladocera. O organismo-teste utilizado neste estudo foi a espécie *Ceriodaphnia silvestrii* Daday (1902) pertencente à Classe Cladocera, Família Daphnidae. Esta é uma espécie nativa comumente encontrada em ambientes dulcícolas do Brasil, mas em lagos, reservatórios e viveiros é geralmente encontrada em densidade muito maior do que em rios (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2003; TAKENAKA, 2007).

A maioria dos cladóceros possui um tamanho entre 0,2 e 3,0 mm (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2003) e ficam intermitentemente em movimento, sendo as antenas os principais órgãos de locomoção. As patas e a parede interna dos apêndices localizados dentro da carapaça são as principais superfícies onde ocorrem as trocas gasosas. A maioria das espécies pertencentes à família Daphnidae, à qual a espécie *Ceriodaphnia silvestrii* pertence, são filtradoras, uma característica fundamental para a interação com agentes tóxicos quando presentes na água. Na parte vertical do corpo há de 5 a 6 pares de patas, que auxiliam na movimentação do organismo e esses movimentos produzem uma corrente na água, onde partículas alimentares (algas, bactérias, protozoários e detritos orgânicos) são filtradas, e essas partículas de alimento são enviadas a um canal alimentar por cerdas especiais. A concentração do alimento atua no crescimento e no tempo de vida dos indivíduos, afetando diretamente a reprodução. Algas com paredes grossas, de difícil digestão, com bainha gelatinosa espessa, presença de vacúolos gasosos e algas que produzem toxinas letais são consideradas fontes inadequadas de alimento (BARNES, 1969; PENNAK, 1953; SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2003).

A sua reprodução é por partenogênese, sendo que nas espécies da família Daphnidae o número de ovos produzidos sob condições adequadas de alimentação é usualmente superior a 20. Estes são guardados em uma câmara de incubação interna à carapaça. As crias são liberadas da câmara de incubação por flexão ventral do pós-abdomen da mãe. Esses ovos dão origem a indivíduos chamados neonatas, semelhantes aos adultos, porém em tamanhos menores. Certos fatores como mudança de temperatura e/ou diminuição de alimentos, devido ao aumento da população, levam à interrupção da produção partenogenética de ovos, provocando com isso o aparecimento de machos e a fecundação dos ovos. Ao mesmo tempo, as fêmeas adultas formam diferentes tipos de ovos, como os ovos ativos, que tem eclosão imediata e ovos de resistência, os quais passam por um período de dormência (BARNES, 1969; SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2003). Quatro distintos períodos de vida são reconhecidos: ovos, neonatas, juvenis e adultas (PENNAK, 1953). A longevidade e o crescimento entre os dafinídeos também é variável e depende das condições ambientais. Segundo Herbert (1978) a longevidade desses animais em temperaturas elevadas (25-35 °C) pode variar de três a cinco semanas, com várias gerações; e sob baixas temperaturas (5-10 °C) pode ultrapassar um ano. Já o crescimento, segundo Green et al. (1996), tem como os mais importantes fatores influenciadores a temperatura, a luz, oxigênio e a quantidade de alimento disponível.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar o efeito combinado de radiação gama com outros agentes físicos exógenos (campo elétrico pulsado e estático, campo magnético) no desenvolvimento de células de *Microcystis* (Cyanobacteria) e expor a toxina sintetizada por esta cianobactéria a radiações ionizantes. Realizar ensaios de toxicidade com microcistina expostas a radiação em *Ceriodaphnia silvestrii* para avaliar a efetividade destes tratamentos na atenuação da cianotoxina.

2.2 Objetivos Específicos

1 – Efetuar um estudo radiológico completo de *Microcystis panniformis* num amplo intervalo de doses de radiação gama (entre 0,8 e 6 kGy), via medidas de curvas de sobrevivência, visando a quantificação da radiosensibilidade dessa cianobactéria em vários regimes de dose;

2 – Interferir com agentes físicos (campos magnéticos e elétricos, estáticos e pulsados) no mecanismo de reparo da *M. panniformis* quando submetida à radiação gama nesse mesmo intervalo de doses distintas, com o intuito de aumentar a radiosensibilidade dessa cianobactéria;

3- Avaliar a toxicidade de extratos liofilizados de uma linhagem tóxica de *Microcystis aeruginosa* (NPLJ-4) pós irradiação com feixes de elétrons, radiação gama e nêutrons, por meio de testes de toxicidade aguda em dafinídeos *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera);

4- Avaliar o comportamento de extratos liofilizados de uma linhagem não tóxica de *Microcystis* sp. após irradiação com radiação gama por meio de testes agudos, observando-se a mobilidade de *Ceriodaphnia silvestrii*. Neste caso, buscar-se-ia excluir ou não a possível formação de novos compostos tóxicos advindos do processo de irradiação.

3 MATERIAIS e MÉTODOS

3.1 Ação combinada de radiações ionizantes com campos elétricos e magnéticos em cianobactérias

3.1.1 Coleta

Foi coletada uma amostra de água do reservatório de Barra Bonita, situado no estado de São Paulo (22° 32' 34,5" S, 48° 29' 26,4" W) e que possuía florações de *Microcystis panniformis*. A coleta foi feita através de um arrasto horizontal na camada sub-superficial do reservatório, utilizando-se uma rede de plâncton de 25 µm de abertura de malha. Uma colônia de *M. panniformis* foi isolada em tubos de 10 mL contendo o meio BG-11 (RIPPKA et al., 1979), modificado por Bittencourt-Oliveira pela substituição do ferro citrato de amônia por FeCl₃·6H₂O (BITTENCOURT-OLIVEIRA, 2000), e utilizando técnicas de micromanipulação com um microscópio (Nikon E200, Melville, NY, USA). A mucilagem, que é a responsável por agregar as células, torna-se fluida em condições de cultivo permitindo que haja desagregação da colônia. Esta condição unicelular do cultivo, muito comum em condições controladas, permitiu a contagem de células. A linhagem clonal, não axênica e tóxica de *Microcystis panniformis* Komárek et al. (2002) BCCUSP100 pertence à *Brazilian Cyanobacteria Collection- University of São Paulo*.

3.1.2 Condições e cultivo

Nesta primeira parte do estudo todos os cultivos foram mantidos sob as mesmas condições controladas em uma câmara climática com (22 ± 1) °C de temperatura, fotoperíodo de 14:10 h claro:escuro e intensidade luminosa de 30,0 ± 1,0 µmol m⁻² s⁻¹ (fotômetro LI-COR, mod. LI-250, com sensor esférico subaquático). O meio utilizado contendo os nutrientes necessários para o cultivo da *Microcystis panniformis* foi o BG-11 (Anexo) descrito por Rippka et al. (1979).

Os cultivos cresceram em frascos de Erlenmeyers de 6 L contendo 4 L de meio BG-11, autoclavados, sem aeração. Ao atingirem a fase exponencial de cultivo (aproximadamente $5,5 \times 10^6$ céls mL⁻¹), 40 mL foram distribuídos em tubos de ensaio de vidro transparente com tampa de rosca, medindo 15 cm de altura por 3 cm de diâmetro, autoclavados e sem aeração.

3.1.3 Experimentos e tratamentos

Em todos os experimentos desta primeira parte do trabalho houve uma padronização. Os cultivos que se encontravam em tubos de ensaio, conservados em câmara climática, foram coletados antes de serem submetidos aos tratamentos (dia 0), e também nos 1º, 2º, 5º e 15º dias após os tratamentos e preservados em solução de lugol acético 4%. Para cada tratamento houve um controle e foram realizados em triplicata.

Em todos os experimentos envolvendo exposição de células de *M. panniformis* à radiação gama, as irradiações foram realizadas em uma fonte de Cobalto (⁶⁰Co) (modelo Gammacell 220 Excel, da MDS Nordion, Ottawa – Canadá) pertencente ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da USP (CENA).

Para o experimento expostos somente à radiação gama foram realizados cinco tratamentos:

- Radiação gama 0,8 kGy;
- Radiação gama 1,5 kGy;
- Radiação gama 2,5 kGy;
- Radiação gama 4,0 kGy;
- Radiação gama 6,0 kGy.

No momento em que os cultivos foram irradiados, colocou-se um termômetro dentro de um tubo de ensaio com água para se observar a temperatura no momento da irradiação. O valor inicial e final da temperatura foi de 25 °C. Com isso,

constatou-se que os resultados sofreram interferência somente dos agentes físicos aplicados.

No segundo experimento foram utilizadas a radiação gama e campo elétrico estático numa intensidade de 20, 100 e 500 V/cm. Foram estabelecidos os seguintes tratamentos, todos em triplicata:

- Campo elétrico estático 20 V/cm;
- Campo elétrico estático 100 V/cm;
- Campo elétrico estático 500 V/cm;
- Radiação gama 1,5 kGy;
- Radiação gama 2,5 kGy;
- Radiação gama 4,0 kGy;
- Radiação gama 2,0 kGy + Campo elétrico estático 20 V/cm;
- Radiação gama 2,0 kGy + Campo elétrico estático 100 V/cm;
- Radiação gama 1,5 kGy + Campo elétrico estático 500 V/cm;
- Radiação gama 2,5 kGy + Campo elétrico estático 500 V/cm;
- Radiação gama 4,0 kGy + Campo elétrico estático 500 V/cm.

O campo elétrico estático foi gerado entre duas placas paralelas de alumínio, separadas por uma distância de 4 cm, fazendo parte de um capacitor alimentado por uma fonte de tensão ORTEC, (modelo 465). As amostras intercaladas entre as placas do capacitor funcionam como um material parcialmente dielétrico e parcialmente condutor (Figura 1). Os cultivos que foram submetidos ao campo elétrico estático nas intensidades de 20 e 100 V/cm, tiveram duração de 4 h. Para os cultivos expostos a 500 V/cm de c. e. estático a duração foi de 20 h.

Figura 1 – Disposição dos tubos com os cultivos entre as placas do capacitor:
 A – Corte transversal
 B - Vista lateral
 Fonte: Cavalcante-Silva, 2010

Foi realizado um terceiro experimento envolvendo somente campo elétrico pulsado. Quatro tratamentos (também em triplicata) foram realizados:

- Campo elétrico pulsado de 0,5 MHz (12 h);
- Campo elétrico pulsado de 1,0 MHz (12 h);
- Campo elétrico pulsado de 2,0 MHz (12 h);
- Campo elétrico pulsado de 2,0 MHz (24 h).

Os tratamentos foram realizados somente com campo elétrico pulsado e com os seguintes parâmetros:

- a) Frequência → 0,5 MHz; 1,0 MHz e 2,0 MHz
- b) Amplitude → 27,3 V/cm
- c) Função → Senoidal.

Os campos elétricos pulsados foram produzidos por uma fonte de alta tensão. As amostras que ficaram sob interferência do campo elétrico pulsado nas intensidades de 0,5, 1,0 e 2,0 MHz tiveram duração de 12 h e somente o segundo tratamento submetido a 2,0 MHz teve duração de 24 h. Todos os tratamentos foram acompanhados com os seus controles, em tréplica.

O quarto experimento constituiu de cinco tratamentos, envolvendo radiação gama e exposição a campo magnético:

- Radiação gama 4,0 kGy;
- Radiação gama 4,0 kGy + Campo magnético;
- Radiação gama 2,0 kGy;
- Radiação gama 2,0 kGy + Campo magnético;
- Somente Campo magnético.

As amostras foram expostas, depois de irradiadas, a um campo magnético estático de aproximadamente 2.000 Gauss (0,2 Tesla), durante 20 horas. Esse campo foi obtido entre as faces polares de um imã permanente (Figura 2). O tratamento em que os cultivos foram somente submetidos ao campo magnético, o tempo de exposição também durou 20 horas.

Figura 2 - Disposição dos tubos com os cultivos entre os imãs e seus controles do lado externo dos imãs

Fonte: Cavalcante-Silva, 2010

A densidade celular utilizada nas curvas de crescimento e sobrevivência das culturas, de todos os experimentos citados acima, foi estimada a partir de contagens em hemocitômetro *Fuchs Rosenthal* com auxílio de um microscópio binocular Olympus. Foi estabelecido um número mínimo de 400 células contadas de forma a se obter um erro de aproximadamente 10% para um nível de confiança de 95% (GUILLARD, 1973). As taxas de crescimento relativo foram calculadas através da equação de Guillard (1973). Para cada tratamento executado houve um controle e todos foram realizados em triplicata.

3.2 Atenuação de microcistina através de radiações ionizantes

3.2.1 Cultivos da cepa tóxica NPLJ-4

No Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia, da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar-SP), utilizou-se uma pré-cultura de *Microcystis aeruginosa* de uma linhagem não axênica, a NPLJ-4, comprovadamente tóxica, cedida pelo Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias, do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (LETC/IBCCF/UFRJ). A metodologia e condições de cultivo foram seguidas segundo Soares et al. (2004). A linhagem produtora de microcistina NPLJ-4 foi isolada da lagoa de Jacarepaguá, Rio de Janeiro, pelo grupo do LETC/IBCCF/UFRJ em 1996.

Para a obtenção de uma biomassa suficiente para a realização dos ensaios e análises no presente estudo, os cultivos foram mantidos em frascos de Erlenmeyers de 6 L e 4 L em meio de cultura ASM-1 (GORHAM et al., 1964), com pH ajustado entre 7,5 a 8,0, utilizando-se soluções de hidróxido de sódio (HCl) ou ácido clorídrico (NaOH), autoclavados a 121 °C e 1 atm por 20 min, sob aeração constante, mantendo-se as culturas unicelulares. Aproximadamente de 100 a 200 mL das culturas estabelecidas foram utilizadas como inóculos para cada frasco. Estes cultivos foram mantidos sob condições controladas: (25 ± 1) °C de temperatura e fotoperíodo de 12:12 claro:escuro. As culturas foram conservadas por repicagens periódicas, de 15 em 15 dias, em Erlenmeyers de 250 mL, em câmara climatizada na temperatura de 25 °C, sob intensidade luminosa de $0,018 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (lâmpadas fluorescentes Phillips TLT 20 W), foto período de 12:12 h claro:escuro, sem aeração e sob agitação manual.

Aproximadamente 102 L de suspensão da cianobactéria *M. aeruginosa* NPLJ-4 foram cultivados e armazenados após quatro meses de cultivo. Quando as populações de cianobactérias em cultivo atingiram a fase exponencial de crescimento foram centrifugadas (centrífuga Quimis-Q 222T) a 3500 rpm durante 10 minutos. Os *pellets* (restos celulares lisados) obtidos foram congelados e depois

lioofilizados (Liofilizador LB 5000 TT – Terroni-Fauvel) e mantidos em *freezer* a -20 °C para posteriores tratamentos e determinação da concentração de microcistina total.

3.2.2 – Análise de microcistinas

Para detetar a presença e a concentração de microcistinas antes do início dos ensaios com o cladóceros *Ceriodaphnia silvestrii*, a amostra da cepa tóxica NPLJ-4 foi analisada por LC-MS (Cromatografia Líquida/Espectrometria de Massa) no Laboratório de Análises Toxicológicas, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. A curva de calibração foi construída com padrão de MC-LR (Sigma-Aldrich). As análises foram feitas em duplicata e a média do valor obtido do material liofilizado foi 8,3 µg mg⁻¹ de peso seco de células.

3.2.3 Preparo dos extratos-concentrados da linhagem NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*

Antes de iniciar os ensaios definitivos de toxicidade da microcistina foi necessário realizar testes agudos preliminares para estabelecer o intervalo de concentrações a serem utilizadas nos ensaios definitivos. O material liofilizado (biomassa seca de cianobactérias) foi pesado em uma balança de precisão (Scientech). Para a preparação dos extratos-concentrados o material liofilizado foi ressuspenso em 1 L de água destilada obtendo-se a concentração de 100 mg L⁻¹. Para se obter o rompimento das células e a liberação da toxina os extratos-mãe foram sonicados (Sonicator XL Misonix, Model 100 W) e centrifugados a 3500 rpm durante 10 minutos. Os *pellets* compostos pelas células rompidas foram descartados e os sobrenadantes armazenados para posterior diluição e utilização em testes de toxicidade aguda.

3.2.4 Cultivo do dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera)

Os dafinídeos *Ceriodaphnia silvestrii* (Figura 3) têm sido mantidos e cultivados por mais de uma década no Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia, do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos (SP).

Para o presente trabalho foram iniciados novos cultivos de *C. silvestrii* a partir de cultivos-estoque pré-existent, seguindo-se as normas da ABNT (2005) para o preparo da água de cultivo, alimentação dos indivíduos e condições de cultivo.

Figura 3 – Visão geral do cladócero *Ceriodaphnia silvestrii*
Fonte: Okumura, 2009, com permissão

Os organismos foram cultivados em água reconstituída (água de cultivo), com pH entre 7,0 e 7,6 e dureza total entre 40 e 48 mg CaCO₃ L⁻¹ (ABNT, 2005). A água reconstituída (ANEXO A) é composta principalmente por água destilada.

As fêmeas ovígeras de *C. silvestrii* foram cultivadas em béqueres com capacidade para 2 L, mantidos sob condições controladas em câmara climática a (25 ± 1) °C de temperatura e fotoperíodo de 12:12 h claro:escuro. As renovações de água reconstituída nos cultivos foram realizadas três vezes por semana. Com o objetivo de evitar interferências causadas pela superpopulação, foram mantidos no máximo 120 indivíduos em cada béquer. Durante as trocas do meio, os indivíduos foram colhidos e separados com o auxílio de uma pipeta *Pasteur* com diâmetro adequado para que não houvesse dano aos organismos.

Após a troca da água, os organismos foram alimentados com uma suspensão algal de clorofícea *Pseudokirchneriella subcapitata* (Figura 4), na densidade de 5×10^5 cél mL⁻¹, sendo acrescido 1 mL L⁻¹ de alimento composto (uma mistura de fermento biológico seco Fleishmann® dissolvido em água destilada (0,25 g em 50 mL) e ração de peixe fermentada Tetramin® (5 g em 1.000 mL)), de acordo com a norma da ABNT (2004).

Figura 4 – Vista geral do cultivo da alga clorofícea *Pseudokirchneriella subcapitata* e, em detalhe, vista das células sob microscopia óptica
Fonte: Takenaka e Sotero-Santos, 2007

A alga *P. subcapitata* foi cultivada em meio CHU-12 sob aeração e fotoperíodo de 12:12 h claro:escuro constantes, durante uma semana. Após esse período a alga foi mantida na geladeira para decantação por mais uma semana, e o sobrenadante contendo nutrientes, que não foram aproveitados pela alga, mais os seus metabólitos, foi descartado. O material sedimentado foi novamente ressuspenso em água de cultivo e utilizado como alimento do organismo-teste *C. silvestrii*. A densidade algal foi determinada a partir de contagens em hemocitômetro (Câmara de Neubauer) com o auxílio de um microscópio óptico.

3.2.5 Testes de sensibilidade

Os testes de sensibilidade são testes de toxicidade aguda, realizados de acordo com os procedimentos indicados nas normas técnicas padronizadas (ABNT,

2005). Periodicamente a sensibilidade do organismo-teste deve ser avaliada por meio de um ensaio com uma substância de referência, como cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl), sulfato de cobre pentaidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), dodecil sulfato de sódio (DSS) e dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). As substâncias são utilizadas para avaliar as condições de “saúde/sensibilidade” dos organismos, sejam eles oriundos do campo ou cultivados em laboratório. Este procedimento permite maior precisão e confiabilidade nos resultados obtidos. (ABNT, 2004, 2005; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Foram realizados testes de sensibilidade com uma substância de referência, o cloreto de sódio (NaCl), para avaliar as condições fisiológicas dos organismos-teste a serem expostos à toxicidade da microcistina. Esses ensaios foram realizados de acordo com os procedimentos indicados nas normas técnicas padronizadas (ABNT, 2005).

Para a realização dos testes, cinco neonatas, com idade inferior a 24 horas, foram colocadas em frascos plásticos atóxicos contendo 10 mL de solução de NaCl nas seguintes concentrações: 0,0 (controle, contendo somente água reconstituída); 0,3; 0,6; 1,0; 1,3; 1,6 e 2,2 g L⁻¹, em quatro réplicas (Figura 5). Sabe-se que os organismos jovens são mais sensíveis às substâncias tóxicas do que os adultos (USEPA, 2002). O tempo de exposição foi de 48 h. Os organismos foram mantidos em uma câmara climática a (25 ± 1) °C, sem iluminação e sem alimentação.

Figura 5 – Vista geral dos recipientes-teste durante a realização de testes de sensibilidade a cloreto de sódio (NaCl) com *Ceriodaphnia silvestrii*
Fonte: Cavalcante-Silva, 2010

Após 48 h, foram contados os indivíduos sem mobilidade para se obter o valor da CE_{50-48h} para NaCl, isto é, a concentração efetiva mediana que causa efeito agudo (imobilidade) em 50% dos organismos no tempo de exposição de 48 horas (ABNT, 2004;2005; HAMILTON et al., 1977). Os organismos foram considerados adequados para serem utilizados nos testes de toxicidade quando o valor da CE_{50-48h} permaneceu dentro de uma faixa de sensibilidade previamente estabelecida pelo Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia da UFSCar: 0,76 – 1,46 g L⁻¹ NaCl. Quando a porcentagem de organismos imóveis no controle excedia 10%, os resultados foram considerados inválidos.

Para o cálculo da CE_{50-48h} utilizou-se o programa *Trimmed Spearman-Kärber* (HAMILTON et al., 1977).

Para os diferentes tratamentos experimentais foram realizadas medidas de pH no início e no fim dos testes, e dureza somente no início.

3.2.6 Testes de toxicidade aguda

Para determinar as concentrações dos testes definitivos de toxicidade aguda foram realizados seis testes preliminares com o extrato-mãe (100 mg de peso seco de células L⁻¹) da cepa tóxica NPLJ-4 não irradiado (dose 0 kGy). Com estes resultados foram estabelecidas as cinco concentrações utilizadas nos testes definitivos a partir do extrato-mãe (100 mg de peso seco de células L⁻¹): 5,65; 11,25; 22,50; 45,00; 90,00 mg L⁻¹ (Figura 6). Em todos os tratamentos ocorridos neste estudo, as mesmas concentrações foram utilizadas, tanto de extrato-mãe, quanto as concentrações dos testes de toxicidade aguda com o material irradiado.

Dez mL da solução em cada concentração foram distribuídos em frascos-teste atóxicos, estabelecendo-se quatro réplicas por concentração. Cinco neonatas de *C. silvestrii* com idade inferior a 24 h foram colocadas em cada réplica. O pH foi monitorado no início e no final dos testes, já a dureza somente no início, pois ao final dos testes não havia quantidade suficiente para a leitura das durezas. Estes testes foram realizados no interior de câmaras climáticas com temperatura constante a (25 ± 1) °C, sem iluminação (a fim de evitar a degradação da toxina) e sem alimentação,

durante 48 horas. Após esse período, para cada tratamento em cada concentração, os indivíduos foram examinados para verificar a imobilidade. Também foram realizadas leituras de 24 horas.

Os frascos-controle continham apenas água reconstituída e, se após o tempo de exposição de 48 horas o número de organismos imóveis ultrapassasse 10% do total inicial, os resultados do teste seriam considerados inválidos (ABNT, 2004) e descartados, segundo a norma da ABNT (2004).

Figura 6 – Vista geral dos recipientes-teste nos testes de toxicidade aguda com extrato liofilizado de NPLJ-4 para *Ceriodaphnia silvestrii*, nas concentrações de 0 (controle); 5,65; 11,25; 22,5; 45; e 90 mg/L, da esquerda para direita
Fonte: Cavalcante-Silva, 2010

Os resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda foram analisados através do programa estatístico *Trimmed Spearman-Kärber* (HAMILTON et al., 1977), obtendo-se a CE_{50-48h} , ou seja, a concentração efetiva média que causa imobilidade em 50% dos organismos expostos ao agente-tóxico durante o período de 48 horas.

Os testes de toxicidade aguda foram realizados no tempo de exposição de 48 horas, contudo foram realizados acompanhamentos de 24 horas.

Após a definição das concentrações que apresentaram CE_{50-48h} , foram realizados os ensaios com os extratos-mãe tóxicos irradiados com radiação gama e feixes de elétrons. O procedimento e as condições foram iguais aos testes

realizados com a amostra tóxica não irradiada. Nos testes de toxicidade aguda com radiação gama e feixes de elétrons foram realizados quatro ensaios com cada tratamento (material sonificado e não sonificado), sendo que para cada tratamento haviam quatro extratos-mãe sonificados e quatro extratos-mãe não sonificados, totalizando 32 ensaios para radiação gama e 32 para feixes de elétrons.

As doses de radiação gama e feixes de elétrons utilizadas no material sonificado e não sonificado foram 3, 5, 10 e 15 kGy, com réplica de quatro para cada dose.

3.2.7 Cultivo da cepa não tóxica de *Microcystis* sp.

Foram realizados testes agudos com uma cepa que não apresentava toxicidade. Os cultivos de *Microcystis* sp. pertencente à linhagem não tóxica, foram cedidas pelo Laboratório de Ficologia da Universidade Federal de São Carlos e foram cultivadas em Erlenmeyers de 4 L e 6 L contendo cada um o meio ASM-1 (GORHAM et al., 1964), com pH ajustado entre 7,5 a 8,0, utilizando-se soluções de HCl ou NaOH, autoclavados a 121 °C e 1 atm por 20 min, sob aeração constante, mantendo as culturas unicelulares. Os cultivos foram mantidos sobre as mesmas condições controladas da linhagem NPLJ-4.

Aproximadamente 68 litros de cultivo da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp. foram obtidos em 2 meses e meio. Ao atingirem a fase exponencial de crescimento os cultivos foram centrifugados durante 10 minutos. Os *pellets* (restos celulares lisados) obtidos foram congelados e depois liofilizados (Liofilizador LB 5000 TT – Terroni-Fauvel) e mantidos em *freezer* a -20 °C para posteriores tratamentos.

Foram realizados testes agudos nas mesmas condições dos testes com a amostra NPLJ-4. 100 mg do extrato cultivado liofilizado foram diluídos em 1 litro de água destilada, sonificados e centrifugados. Quatro testes foram realizados com essa amostra não tóxica e não irradiada, utilizando-se os cladóceros *Ceriodaphnia silvestrii*.

Para essa cepa não tóxica utilizou-se radiação gama. As doses utilizadas no material sonificado e não sonificado foram 3, 5 10 e 15 kGy, nas mesmas concentrações da cepa tóxica NPLJ-4 e com réplica de quatro para cada dose. Foram realizados no total 32 testes (16 com o material sonificado e 16 com o material não sonificado).

3.2.8 Tratamentos com radiações ionizantes

É importante observar que o efeito predominante da radiação gama e elétrons é o efeito indireto, ou seja, via radiólise da água. Neste caso, o tratamento da microcistina com radiação deve ser realizado intracelularmente e em meio aquoso. Assim, a radiação gama atravessaria a membrana celular antes de chegar à microcistina. Neste caso, poder-se-ia conjecturar se a radiação desencadearia ou não a síntese ou a transformação, na membrana, de algum tipo de composto ainda mais tóxico do que a própria microcistina, ocasionando uma interferência indesejável nos resultados. Essa circunstância poderia ser verificada através da irradiação de extratos-mãe previamente sonificados e não sonificados (vide no Apêndice explicação das nomenclaturas utilizadas neste trabalho). No primeiro caso a membrana é rompida e removida, enquanto no segundo caso a célula permanece íntegra. No caso de nêutrons, estes interagem diretamente com o núcleo atômico onde induzem reações nucleares cujos produtos são partículas pesadas (prótons, alfas, trítio, etc.). São essas partículas pesadas que finalmente interagem de forma direta com o material biológico.

3.2.8.1 Tratamento com nêutrons

3.2.8.1.1 Tratamento com nêutrons rápidos

Para cada tratamento foram utilizados 100 mg (material seco) de extrato liofilizado da cepa tóxica de *Microcystis aeruginosa*, NPLJ-4. O material tóxico liofilizado encontrava-se em *eppendorfs*. Devido ao espaço limitado das fontes utilizadas, não foi possível irradiar o extrato bruto. Os experimentos com nêutrons rápidos foram realizados com uma fonte de Amerício-Berílio (AmBe) do Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares (IPEN) – Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN-SP), situado na Universidade de São Paulo, em irradiações com duração de 24 h e 48 h (extrato seco e com água). A fonte de AmBe produzida pela Amersham era cilíndrica e possuía 22,4 mm de diâmetro por 48,5 mm de altura. Os nêutrons emitidos por esta fonte são principalmente nêutrons rápidos com energia média de 4 MeV, sendo que aproximadamente 23% são de energia menor com média de 400 keV.

Após irradiados, os extratos liofilizados tóxicos foram diluídos em um litro de água destilada, obtendo-se os extratos brutos (100 mg L⁻¹) que em seguida foram sonicados (Sonicator XL Misonix, Model 100 W) por três ciclos com duração de um minuto cada, mantendo-se os extratos-mãe em banho de gelo, para evitar aquecimento. Este procedimento foi realizado no Laboratório de Eletroquímica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (São Carlos). Após este processo o material foi centrifugado, aproveitando-se o sobrenadante que continha a microcistina e os ensaios com os organismos-teste foram realizados no Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (UFSCar).

3.2.8.1.2 Tratamento com nêutrons (núcleo do reator)

Para experimentos realizados com fluxos de nêutrons muito mais intensos do que aqueles obtidos com fonte de Amerício-Berílio, as amostras foram inseridas em uma das células do núcleo do reator de pesquisa tipo piscina IEA-R1 pertencente ao IPEN (USP) – CNEN-SP. Irradiou-se 100 mg de extrato seco da cepa tóxica NPLJ-4,

nos tempos de 1,0; 1,5 e 2,0 minutos (fluxo de nêutrons térmicos da ordem de 10^{13} nêutrons $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$). Ressalta-se que não foi possível a realização imediata dos testes de toxicidade com *C. silvestrii*, pois o material irradiado ficou dotado de elevada radioatividade, necessitando de um período de seis meses para que essa radioatividade decaísse a níveis normais, e assim, o material pudesse ser utilizado nos ensaios com cladóceros sem nenhum tipo de interferência da radiação emitida pelo extrato tóxico. Após este período, o material desprovido de radiação foi sonificado e em seguida centrifugado, aproveitando-se o sobrenadante.

3.2.8.2 Tratamento com radiação gama

Foram pesadas 100 mg do material liofilizado da cepa tóxica de *M. aeruginosa* e diluída em um Litro de água destilada. Este processo foi repetido oito vezes. Quatro desses extratos-mãe foram sonificados. Em seguida, os extratos-mãe foram centrifugados e o sobrenadante contendo a toxina foi recolhido, descartando-se o *pellet*. As outras quatro soluções não foram sonificadas antes de serem irradiadas.

Os extratos-mãe, mantidos sob condições climatizadas, foram transportados ao IPEN (USP), no Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), e irradiados com radiação gama nas doses: 3, 5, 10 e 15 kGy, provenientes de uma fonte de Cobalto (^{60}Co) (modelo Gammacell, 220 Excel-MDS Nordion) (Figura 7).

Figura 7 - Fonte de radiação gama Modelo Gammacell 220, da MDS Nordion, instalada no Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares (IPEN)
Fonte: Cavalcante-Silva, 2009

A taxa de dose foi de $1,98 \text{ kGy h}^{-1}$. O tempo para cada dose foi: $3 \text{ kGy} = 90,9$ minutos, $5 \text{ kGy} = 152$ minutos, $10 \text{ kGy} = 303$ minutos, e $15 \text{ kGy} = 455$ minutos. Para cada dose duas garrafas contendo extrato-mãe foram irradiadas, uma com a solução sonicada e outra com a solução não sonicada. Depois de irradiadas, os extratos-mãe foram novamente acondicionados em gelo e transportados ao Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (UFSCar). Os extratos-mãe antes apenas irradiados foram sonicados e centrifugados, descartando-se o *pellet* e armazenando-se o sobrenadante para posterior utilização nos testes de toxicidade (Figura 8).

Figura 8 – Extratos-mãe do material liofilizado (NPLJ-4), dissolvido em água reconstituída, irradiados com doses de: 3, 5, 10 e 15 kGy, (da esquerda para a direita)
Fonte: Cavalcante-Silva, 2010

Foram realizados testes de toxicidade aguda com material sonificado e não sonificado, e irradiados com radiação gama. Os procedimentos para realização dos bioensaios foram iguais aos do item 3.2.6.

3.2.8.3 Tratamento com feixes de elétrons

Os procedimentos efetuados com feixes de elétrons ocorreram nas mesmas condições anteriormente utilizadas para a irradiação com gamas. Os extratos-mãe, mantidos sob condições climatizadas, foram transportados ao IPEN, Centro de Tecnologia das Radiações (CTR), e irradiados com feixes de elétrons (Figura 9) nas doses: 3, 5, 10 e 15 kGy. O tempo para cada dose foi: 3 kGy = 03 minutos e taxa de dose: 6,70 kGy s⁻¹; 5 kGy = 03 minutos e taxa de dose: 11,16 kGy s⁻¹; 10 kGy = 03 minutos e taxa de dose: 22,32 kGy s⁻¹; e 15 kGy = 06 minutos e taxa de dose: 16,74 kGy s⁻¹. Para cada dose, duas garrafas contendo extrato-mãe foram irradiadas, sendo uma com a solução sonificada e outra com a solução não sonificada. Depois de irradiadas, os extratos-mãe foram novamente acondicionados em gelo e transportados ao Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (UFSCar). Os extratos-mãe anteriormente apenas irradiados foram sonificados e centrifugados, descartando-se o *pellet* e armazenando-se o sobrenadante para posterior utilização nos testes de toxicidade.

Figura 9 – A- Visão geral do acelerador de elétrons; B- Extratos-mãe depois de irradiados com feixes de elétrons
Fonte: Cavalcante-Silva, 2010

Foram realizados testes de toxicidade aguda com o material, sonificado e não sonificado, irradiados com feixes de elétrons. Os procedimentos para realização dos bioensaios foram iguais aos do item 3.2.6.

3.3 Análise da toxina irradiada com espectrometria de massa, testes enzimáticos e bioensaios com *Artemia salina*

No Departamento de Biologia da *Universidad Autónoma de Madrid* (Espanha) a microcistina irradiada por feixes de elétrons foi analisada através de testes toxicológicos com *Artemia salina*, ensaios com enzima fosfatase e análise da toxina através de leitura via espectrômetro de massas (LC-MS). O objetivo principal era confirmar a atenuação da toxina através de feixes de elétrons.

A cepa tóxica de *Microcystis aeruginosa*, NPLJ-4, foi cultivada no Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (UFSCar), num volume total de 56 Litros, sob condições controladas de cultivo e ao chegar na fase exponencial de crescimento foi centrifugado e o *pellet* liofilizado. O material liofilizado foi transportado para o IPEN e

minutos antes de ser irradiado, foram pesados e diluídos em água destilada. Os extratos brutos foram irradiados com 3, 5, 10 e 15 kGy e em seguida foram transportados para a Universidade Federal de São Carlos, sob condições adequadas. Os extratos brutos foram liofilizados, congelados a -20 °C e transportados para Espanha.

3.3.1 Análises em LC-MS

Para a comparação do extrato liofilizado da linhagem NPLJ-4 não irradiada com os extratos irradiados nas doses de 3, 5 e 10 kGy, foi feita a caracterização da microcistina por meio de LC-MS. Antes do início das análises foi necessário a extração da toxina que se encontrava no interior das células do material liofilizado da cepa NPLJ-4. Foram analisadas as amostras irradiadas com feixes de elétrons nas doses de 0 (controle), 3, 5 e 10 kGy. Primeiro pesou-se as amostras secas e em um tubo de ensaio acrescentou-se 10 mL de metanol 90% (90% metanol para análise de Merck – 10% de água milli-Q). A solução foi agitada em vortex Reax 2000 (Heidolph) em velocidade máxima durante um minuto e em seguida sonicadas em um ultrassom de banho (J.P. Selecta) durante dez minutos e guardada em geladeira a 4 °C durante uma hora, no escuro. Após este período a amostra foi centrifugada a 5000 rpm durante 15 minutos em uma centrífuga Labofuge Ae, equipada com um rotor basculante (Heraeus Sepatech), sendo aproveitado somente o sobrenadante. Antes da injeção no LC-MS, 400 µL de cada amostra foram filtrados através de um filtro de teflon (PTFE) de 4 mm de diâmetro e 0,45 µm de tamanho do poro, e em seguida injetados em vials aptos para o equipamento que foi utilizado.

As análises das amostras para detetar a presença de microcistina (MC) foram realizadas em um LC-MS, modelo Varian (500MS), em um analisador íon trap. A separação cromatográfica foi realizada na coluna Pursuit 3 C18 2 x 150 mm, sendo a fase móvel água Milli-Q (A) e metanol (B), aos quais foram adicionados 0,2% de ácido fórmico e 5 mM de formiato de amônio. O gradiente aplicado para a separação cromatográfica da microcistina é mostrado na Tabela 1. A pressão de nebulização foi de 35 psi, a temperatura do gás a seco foi de 350 °C e sua pressão 10 psi.

Tabela 1 – Gradiente aplicado para a separação cromatográfica de microcistina

Tempo	A (%)	B (%)
0 min	60.0	40.0
3 min	50.0	50.0
7 min	45.0	55.0
33 min	35.0	65.0
40 min	35.0	65.0
42 min	0.0	100.0
47 min	0.0	100.0
49 min	60.0	40.0
55 min	60.0	40.0

As condições do espectrômetro de massas estão detalhadas na Tabela 2:

Tabela 2 - Condições da fragmentação da microcistina aplicada no espectrômetro de massa

	Pressão do gás nebulizador (psi)	Pressão do gás a seco (psi)	Temperatura o gás a seco (°C)	Íon precursor	Voltagem do capilar (V)	Amplitude de excitação (V)
MC-LR	50	30	300	995,4	140	1.5

Os picos das variantes para os quais não se tinha padrão foram calculados relacionando a área do padrão da MC-LR com a área dos picos das variantes desconhecidas, e a concentração foi calculada como “microcistina equivalente a MC-LR”.

3.3.2 Ensaio de inibição de proteína fosfatase

Este ensaio foi realizado para confirmar se a microcistina atenuada com feixes de elétrons nas doses de 5 e 10 kGy inibiria a atividade enzimática da proteína fosfatase. A evaporação do metanol foi a mesma metodologia citada no item 3.3.1, contudo a microcistina foi ressuspensa em 2 mL de água destilada. Segundo os dados obtidos por espectrometria de massa, a concentração por mL da microcistina do controle (dose = 0) era mais alta do que a faixa das concentrações

estabelecidas pelo kit comercial MicroCystest (Zeu-Inmunotec - Espanha), 0,25 a 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Consequentemente, a amostra foi diluída em 500, 1000 e 2500 vezes e os ensaios foram realizados. As amostras irradiadas com 5 e 10 kGy foram diluídas em 0, 5, 10 e 20 vezes. Os testes foram realizados pelo kit comercial e os passos da metodologia fornecida pelo fabricante foram seguidos. O grau de inibição da proteína fosfatase foi calculada como uma atividade da % fosfatase do controle. Após o período estabelecido foram feitas leituras da absorbância das amostras contidas na placa multipoços através de um espectrofotômetro para leituras em 405 nm. As inibições da proteína fosfatase através das amostras (controle e irradiadas) foram comparadas a curva padrão da MC-LR.

3.3.3 Testes agudos com *Artemia salina*

A toxicidade da cepa NPLJ-4 irradiada com feixes de elétrons nas doses de 5 e 10 kGy foi avaliada através de testes agudos com o crustáceo *Artemia salina*, seguindo as metodologias descritas por Campbell et al., 1994; Metcalf et al., 2002. Os bioensaios foram realizados com náuplios desses organismos-teste que foram obtidos após eclosão de cistos comerciais (Marinemix, Wimex, Alemanha), com aeração contínua, luz constante ($15 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e temperatura controlada (28 °C) durante um período de 48 h em meio salino, que foi preparado com 8,25 g de sal marinho em 250 mL de água destilada (BEATTIE et al., 2003).

Para a obtenção do extrato bruto tóxico pesou-se três miligramas do extrato liofilizado da cepa tóxica NPLJ-4 não irradiada e em seguida extraiu-se a toxina que encontrava-se no interior das células de *M. aeruginosa*, seguindo-se a metodologia descrita no item 3.3.1. Após a extração da toxina evaporou-se o extrato total através de um rotavapor modelo R (Büchi, Suíça) a 40 °C. Depois desse processo a toxina foi ressuspensa em 2 mL de meio salino recém preparado, obtendo-se assim o extrato tóxico. Os ensaios foram realizados em placas multipoços de fundo plano (Deltalab), em triplicata. Em cada poço foram colocados aproximadamente 11 náuplios. Em seguida foram acrescentados volumes crescentes do extrato tóxico e para completar o limite de 300 μL acrescentou-se meio salino puro.

As placas foram conservadas nas mesmas condições em que a *A. Salina* foi cultivada. Para estes testes utilizou-se cinco concentrações, além do controle: 0,0 (controle); 0,0384; 0,0768; 0,144; 0,24; e 0,336 mg de peso seco de células mL⁻¹. Após o tempo de exposição de 24 horas observou-se que houve uma quantidade alta de morte dos náuplios em todas as concentrações e devido a estes resultados foi necessária a diluição da solução em duas vezes. Para os extratos liofilizados e irradiados com 5 e 10 kGy por feixes de eletrons não houve a necessidade da diluição do extrato bruto, já que segundo os resultados obtidos na leitura do espectrômetro de massa a microcistina irradiada encontrava-se atenuada. Depois de 24 e 48 horas de exposição à toxina, foi observado o comportamento dos organismos-teste através de uma lupa binocular (Leica MZ7.5m, Reino Unido), contando-se o número de organismos imóveis, que foram considerados mortos. Após a contagem de 48 horas foi adicionado 100 µL de formaldeído em cada poço, para confirmação do número total de náuplios existente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudo da ação combinada de radiações ionizantes com campos elétricos e magnéticos no crescimento de *Microcystis panniformis*

Os resultados obtidos foram analisados em gráficos representados por curvas de sobrevivência. As curvas de sobrevivência são obtidas sob a ação de um ou mais estresses. Os gráficos descrevem o comportamento dos cultivos, onde nas ordenadas temos o número normalizado de células por mL (N_C) em função do tempo (t) representado em dias (d) nas abscissas. Por número normalizado de células fica subentendido a razão entre o número de células por mL contado, num dado t , e o número de células inicial (correspondente a $t = 0$). Desta forma, todos os gráficos apresentam número inicial normalizado igual a 1 (100%) em $t = 0$.

4.1.1 Efeito da radiação gama em *Microcystis panniformis*

Os resultados relativos a taxa de crescimento da cianobactéria *Microcystis panniformis* exposta simultaneamente à radiação gama em doses variáveis, e a campos elétricos estáticos, estão apresentados nos gráficos 1 a 8.

O Gráfico 1 refere-se aos resultados da exposição do cultivo de *M. panniformis* a 0,8 kGy de radiação gama. Este cultivo irradiado apresentou uma taxa de crescimento de 2,4% de céls d^{-1} , do 1º ao 15º dia. A taxa de crescimento para os controles dos experimentos que envolveram somente radiação gama foi de 2,6% de céls. d^{-1} . Este resultado indica que a dose utilizada no tratamento 1 foi muito similar ao do controle, mostrando que a dose de 0,8 kGy em pouco afetou a divisão celular do cultivo. Por meio do teste estatístico *t Student* (HAMMER et al., 2001) foram comparados entre si o controle (dose = 0) e o cultivo irradiado com 0,8 kGy - o valor de p foi de 0,7, indicando que não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$).

Gráfico 1 - Curva de sobrevivência e crescimento médio do grupo irradiado com uma dose de 0,8 kGy e seu respectivo controle

No tratamento representado pelo Gráfico 2 observa-se que o cultivo irradiado com 1,5 kGy do 0º ao 2º dia apresentou uma taxa de crescimento de 4% céls d⁻¹. Do 2º ao 5º não houve crescimento celular e após o 5º dia houve uma diminuição na concentração celular, que pode ter sido originada pela variação de uma ou mais condições de cultivo comum a todas as culturas desse experimento em particular, mas que não voltou a se manifestar nos experimentos subseqüentes.

Gráfico 2 – Curva de sobrevivência e crescimento médio do grupo irradiado com uma dose de 1,5 kGy e seu respectivo controle

O gráfico 3 mostra que o cultivo apresenta decaimento no crescimento populacional de 6,9% céls d⁻¹ a partir do 1º dia após ter sido irradiado com 2,5 kGy de radiação gama, sem que houvesse uma recuperação dos indivíduos até o 15º dia.

Gráfico 3 - Curva de sobrevivência e crescimento médio do grupo irradiado com uma dose de 2,5 kGy e seu respectivo controle

A *Microcystis panniformis* possui uma alta radioresistência quando comparada a outros microrganismos. Um estudo mostrou que a bactéria Gram-positiva *Deinococcus radiodurans* resiste a altas doses de irradiação ionizante, 9 kGy, sem sofrer qualquer tipo de mutação (IMAMURA et al., 2002). O cultivo irradiado com 4 kGy (Gráfico 4) apresentou uma queda de 9,92%, quanto ao número de células, 24 h após a exposição ao tratamento. Esta dose é considerada alta em comparação a um estudo apresentado por Kraus (1969) em *Microcystis aeruginosa* onde essa cianobactéria foi submetida à radiação gama, obtendo-se a DL₉₀ dessa microalga com uma dose abaixo de 4 kGy.

Gráfico 4 - Curva de sobrevivência e crescimento médio do grupo irradiado com uma dose de 4,0 kGy e seu respectivo controle

No cultivo de *M. panniformis* que recebeu uma dose de 6 kGy (Gráfico 5) observou-se uma queda muito acentuada no número de células viáveis, cerca de 88,14% de morte celular após 24 h de exposição a esta dose. No tratamento com a dose de 4 kGy a taxa de mortalidade foi de 15,3% céls d⁻¹ do 0º ao 5º dia. Para o cultivo que foi irradiado com 6 kGy a taxa de mortalidade foi de aproximadamente 50% céls d⁻¹ entre 0 a 48 h, praticamente sem indivíduos sobreviventes no 5º dia e sobrevivência igual a zero no 15º. Os resultados do Gráfico 5 demonstram que esta dose é altamente citotóxica para o organismo estudado.

Gráfico 5 - Curva de sobrevivência e crescimento médio do grupo irradiado com uma dose de 6,0 kGy e seu respectivo controle

Comparativamente a outras algas, a *Microcystis panniformis* é bastante radioresistente. Por exemplo, nos tratamentos das algas verdes *Chlorella* e *Chlamydomonas* com radiação gama observou-se DL₉₀ em torno de 230 Gy e 100 Gy, respectivamente (POSNER; SPARROW, 1963). Em um outro estudo ocorreu a inativação de coliformes com 200 Gy, enquanto que para a inativação da mesma bactéria em forma de esporo foi necessária uma dose de 5 kGy (TAGHIPOUR, 2004).

4.1.1.1 Efeitos biológicos das radiações ionizantes

No Gráfico 6 tem-se as frações de células sobreviventes (ou seja, o número normalizado de células por mL) em função da dose para 3 tempos de observação: 2º, 5º e 15º dias.

Gráfico 6 - Curva de sobrevivência à radiação gama nas doses de 1,5; 2,5; 4,0 e 6,0 kGy no 2º, 5º e 15º dia

Os seguintes aspectos podem ser ressaltados:

1 – no 2º dia a curva de sobrevivência exibe um discreto “ombro de reparo”, seguido por uma queda acentuada acima de 4 kGy, indicando que essa cianobactéria é proficiente em reparo (*repair proficiency*). A alta resistência das cianobactérias à radiação deve-se ao fato desses microrganismos possuírem eficientes mecanismos de reparo do DNA, onde alvos com danos são parcialmente substituídos ou os danos são reparados sem necessitar de uma nova síntese de todos os componentes (AGARWAL, 2008; WHITTON; POTTS, 2000);

2 – no 5º dia o “ombro de reparo” foi praticamente suprimido; e

3 – no 15º dia não há sobreviventes para doses superiores a 1,5 kGy.

Uma explicação plausível para esse comportamento poderia ser dada por argumentos radiológicos associados à interação da radiação com o citosol. De fato, nos extratos-brutos irradiados devem constar células nas seguintes condições:

a) Células danificadas pela radiação até o instante em que foi realizada a observação ($t = 2^{\circ}, 5^{\circ}$ e 15° dias);

b) Células que ainda não foram danificadas (estariam “esperando” pelo dano);

e

c) Células danificadas que foram reparadas e tornaram-se viáveis.

Uma célula é composta de 80% de água. Como resultado da interação de um fóton de raio-x ou gama ou uma partícula carregada, por exemplo um elétron ou um próton, a molécula de água pode ser ionizada. Isso é expresso da forma:

O H_2O^+ é um íon. Um radical livre contém um elétron não pareado na última órbita e como resultado ele é altamente reativo. O H_2O^+ está carregado e também tem um elétron não pareado, conseqüentemente comporta-se tanto como um íon quanto um radical livre (HALL, 1994). Em virtude da sua grande reatividade, os radicais livres podem interferir no metabolismo das proteínas, lipídios e carboidratos (GARCIA, 2002). Os íons decaem para formar radicais livres, que apesar de não possuírem carga possuem um elétron não pareado. No caso da água, o íon reage com outra molécula de água para formar um radical hidroxila altamente reativo ($\text{OH}\cdot$) e pode se propagar em uma curta distância para chegar a um alvo no interior da célula:

Na ação indireta da radiação gama, a cadeia de eventos desde a absorção do fóton até a mudança biológica final é descrita a abaixo:

Fonte: Eric Hall (1994)

Há uma diferença na escala de tempo para cada evento acima. A ionização inicial pode levar somente 10^{-15} segundos. O radical iônico tem um tempo de vida de 10^{-10} segundos e os radicais livres de 10^{-5} segundos. A transição entre a quebra das ligações químicas e a expressão do efeito biológico pode durar horas, dias, meses ou anos, dependendo das consequências advindas. Se a célula morrer o efeito biológico pode ser expressado em horas ou dias; isso ocorre quando a célula que sofreu o dano dá início à sua citocinese (HALL, 1994).

4.1.2 Efeito combinado da radiação gama e campo elétrico estático em *Microcystis panniformis*

Observa-se no Gráfico 7 que a ação isolada do campo elétrico estático de intensidade 20 V/cm não é citotóxica, mas ocorreu menor crescimento do cultivo. Contudo, de acordo com a análise estatística através do teste *t Student* pode-se admitir que a diferença entre o crescimento celular do controle (c. e. estático = 0) e do cultivo, que sofreu interferência do c. e. estático de 20 V/cm, não foi significativa ($p \geq 0,05$), sendo o valor de p igual a 0,63. Também comparou-se o cultivo controle com o cultivo em que foi aplicado 100 V/cm de c. e. estático, observando-se um crescimento celular maior que o próprio controle. O teste *t Student* indica que estas diferenças não foram significativas, obtendo-se para p o valor de 0,65. Nos cultivos submetidos aos campos elétricos de 20 e 100 V/cm as diferenças entre eles não foram significativas; o valor de p foi 0,32.

Gráfico 7 – Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos apenas aos campos Elétricos de 20 e 100 V/cm e seu respectivo controle

Os cultivos submetidos somente aos campos elétricos de 20 e 100 V/cm foram insensíveis à ação deste. Certamente estas intensidades, aplicadas durante 4 horas, foram insuficientes para interferir em processos metabólicos vitais no interior da célula. Segundo Zimmermann (1986), o campo elétrico polariza toda a membrana celular. As cargas opostas em ambos os lados da membrana são atraídas uma às outras e a membrana torna-se mais fina. Em campo forte e suficientemente intenso os poros da membrana celular são alargados e esta se rompe (HULSHEGER; POTES; NIEMANN, 1981). Neste caso, Kim et al. (2007) mostraram que a fração de sobrevivência de um cultivo de bactérias diminuiu com campo elétrico de 10 kV/cm, cerca de duas ordens de grandeza superior ao utilizado neste trabalho. Acredita-se, com isso, que o tratamento com campo elétrico é efetivo para desinfecção microbiana.

O resultado do Gráfico 8, por outro lado, é interessante, pois indica que o efeito do campo elétrico estático, associado ao processo de irradiação, é função de sua intensidade. O cultivo que foi irradiado com 2 kGy e em seguida submetido ao c.

e. estático de intensidade de 20 V/cm apresentou um crescimento de 13% de céls d¹ do 0º ao 2º dia, e com um acentuado decréscimo a partir do 5º dia. Mas, com uma intensidade maior, 100 V/cm, observa-se que o crescimento celular ocorreu apenas do 0º ao 1º dia e em seguida houve igualmente um acentuado decaimento do número de células vivas.

A utilização simultânea de irradiação com outros agentes físicos exógenos (como campos elétricos estáticos e calor) foi estudada teoricamente com modelos biofísicos (ARRUDA-NETO et al., 2009). De acordo com esses resultados teóricos, os agentes físicos mencionados atuariam nas células irradiadas no sentido de dificultar (atrasar ou impedir) os mecanismos de reparo, diminuindo, conseqüentemente, a radioresistência do microrganismo. De fato, no caso de aplicação de campo elétrico, haveria uma polarização do movimento das enzimas de reparo do DNA, estas se alinhariam e não permitiriam que ocorresse o reparo a essa molécula principal do interior da célula, impedindo o seu acesso ao sítio danificado (Figura10). Com isso, as lesões no DNA não reparadas provocariam a morte desses organismos através da falência de processos metabólicos.

Gráfico 8 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 2,0 kGy + campo elétrico 20 e 100 V/cm e seu respectivo controle

Figura 10 – Representação do reconhecimento da dupla quebra (DNA) pelas proteínas de reparo. A - C: Proteínas que apresentam seus momentos de dipolo $\vec{p}$ (representado em B com mais detalhes) orientados na direção do sítio danificado (dupla-quebra) pelo campo elétrico estático ($\vec{E}_{ext}$), com mais intensidade que o $\vec{E}_{ds}$ podendo reorientar o deslocamento das proteínas de reparo ao longo de sua direção
 Fonte: Modelo biofísico desenvolvido em Arruda-Neto et al., 2009

Observou-se no Gráfico 9 que para uma dose de 1,5 kGy a cepa de *Microcystis panniformis* estudada resistiu por 24 h, apesar da intensidade do campo elétrico ter sido elevada para 500 V/cm. A partir desse tempo o número de mortes celulares cresceu bastante, e no 15º dia de observação a população inicial foi reduzida em 50%.

Gráfico 9 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 1,5 kGy e de 1,5 kGy + campo elétrico 500 V/cm e seu respectivo controle

O Gráfico 10 representa os cultivos que foram irradiados com doses de 2,5 kGy, sendo que um deles após a exposição à radiação gama foi submetido ao campo elétrico estático de 500 V/cm. Observa-se que no primeiro dia após os tratamentos, os cultivos somente irradiados apresentaram um decaimento de células de aproximadamente 7,7%, sendo de 9,1% para os cultivos que foram irradiados e submetidos ao campo elétrico. A partir daí a mortalidade em ambos tratamentos continua a ocorrer, sendo que no 5º dia os cultivos irradiados com 2,5 kGy e os irradiados e em seguida expostos ao campo elétrico estático apresentaram mortalidade de 18,3% e 56,7% céls d^{-1} , respectivamente.

Gráfico 10 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 2,5 kGy e de 2,5 kGy + campo elétrico 500 V/cm e seu respectivo controle

O Gráfico 11 representa resultados da exposição do cultivo de *M. panniformis* à radiação gama na dose de 4 kGy e de um outro submetido ao campo elétrico de intensidade de 500 V/cm após a exposição de mesma dose. Observa-se que esta dose é muito letal para a *Microcystis panniformis*. O cultivo que foi somente irradiado apresentou uma taxa de mortalidade do 0º ao 1º dia de 35% céls d⁻¹ e, nesse mesmo período, para o cultivo que depois de irradiado foi submetido a 500 V/cm a taxa de mortalidade foi de 86% céls d⁻¹. Apesar de ser uma dose alta, os resultados obtidos no mesmo período de tempo mostraram que para as células expostas à radiação e em seguida submetidas ao campo elétrico, a morte celular aumentou comparativamente ao efeito apenas da radiação.

Gráfico 11 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 4,0 kGy e de 4,0 kGy + campo elétrico 500 V/cm e seu respectivo controle

Portanto, a exposição das amostras por 20 h a um campo elétrico estático de 500 V/cm, após irradiações com doses entre 1,5 e 4,0 kGy, aumentou o número de mortes celulares (Gráficos 9, 10 e 11) sugerindo que campos elétricos poderiam interferir negativamente nos mecanismos de recuperação células, em consonância com um modelo biofísico proposto pelo grupo de pesquisa do Instituto de Física da Universidade de São Paulo (ARRUDA-NETO et al., 2009).

Observa-se que o cultivo representado pelo Gráfico 12, que foi submetido somente ao campo elétrico estático, apresentou uma taxa de mortalidade de 1,2% do 0º ao 1º dia e após este período o cultivo volta a crescer. De fato, a exposição apenas ao campo elétrico não é citotóxica.

Gráfico 12 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos ao campo elétrico 500 V/cm e seu respectivo controle

Observa-se, neste particular, que no primeiro experimento foram aplicados campos elétricos estáticos de 20 e 100 V cm⁻¹ (Gráfico 7) em cultivos de *Microcystis panniformis*. Esses cultivos também não sofreram qualquer tipo de alteração na taxa de crescimento. Neste segundo experimento decidiu-se aumentar significativamente a intensidade para 500 V cm⁻¹, verificando-se ainda assim nenhum efeito citotóxico apreciável (Gráfico 12). Esta circunstância aponta para o fato de que somente campos elétricos estáticos de muito maior intensidade seriam citotóxicos. De fato, Kermanshahi e Sailani (2005) aplicaram um campo elétrico estático de 4,5 kV cm⁻¹ em cultivos de *Escherichia coli* (gram-negativa) e *Staphylococcus aureus* (gram-positiva) durante cinco diferentes durações de tempo, e verificaram ocorrência de inibição no crescimento destas bactérias proporcionalmente ao aumento do tempo de exposição. Nesse mesmo sentido, notamos que Kim et al. (2007) mostraram que a fração de sobrevivência de um cultivo de bactérias diminuiu com o aumento da intensidade para campos elétricos da ordem de vários kV cm⁻¹. De acordo com Kermanshahi e Sailani (2005) muitos fatores influenciam a inativação cinética do crescimento celular durante tratamento com campo elétrico estático. Destacam, entre esses, parâmetros do campo elétrico em si (intensidade e duração), características microbianas (espécie, linhagem e tamanho do inóculo), bem como parâmetros do cultivo (nutrientes, pH e temperatura).

4.1.3 Efeito do campo elétrico pulsado em *Microcystis panniformis*

Os resultados exibidos nos Gráficos 13-15 indicam que exposição a campos elétricos pulsados com frequências de 0,5 a 2 MHz por 12 h estimulou o crescimento celular de *M. panniformis*. Durante o período do 0º ao 5º dia, para o tratamento (Gráfico 13) em que foi aplicado c. e. pulsado com a frequência de 0,5 MHz, verificou-se que a taxa de crescimento foi de 17,7% e para o controle foi de 13,3%.

Para as exposições ao c. e. pulsado representados nos Gráficos 14 e 15, observou-se neste mesmo período de tempo que a taxa de crescimento foi de 17,1% e 14,8%, respectivamente. Estes resultados são intrigantes porque a estimulação elétrica pulsada tem sido observada para frequências muito mais baixas. Há mais de 20 anos Basset (1985) conseguiu estimular crescimento ósseo e acelerar cicatrização de fraturas com campos elétricos de frequências inferiores a 1 kHz. Contudo, à medida que a frequência aumentou acima de 1 kHz o efeito estimulatório diminui. De fato, de acordo com o discutido por Kirson et al. (2004), embora em altas frequências uma grande fração do campo penetre as células devido à natureza resistor-capacitor das membranas biológicas, os ciclos de hiper-despolarização alternados da membrana somam-se dando um efeito resultante nulo e, em decorrência, diminui em muito a capacidade estimulatória. Por outro lado, esses resultados da literatura foram obtidos com células eucarióticas, sadias e tumorais, que são muito menos resistentes comparativamente às cianobactérias. Assim, poderíamos conjecturar que a faixa de baixas frequências para as cianobactérias estaria na ordem de MHz e não de kHz.

Gráfico 13 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos ao campo elétrico pulsado 0,5 MHz (12 h) e seu respectivo controle

Gráfico 14 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos ao campo elétrico pulsado 1,0 MHz (12 h) e seu respectivo controle

Gráfico 15 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos ao campo elétrico pulsado 2,0 MHz (12 h) e seu respectivo controle

O Gráfico 16 representa o cultivo que foi exposto ao campo elétrico pulsado durante 24 horas. Observa-se que este tratamento possui o dobro do período de tempo dos três tratamentos anteriores e que em comparação com o controle houve uma inibição no crescimento desta cianobactéria. Após a aplicação do c. e. pulsado, do 0º ao 2º dia o cultivo de *M. panniformis* se comportou como se estivesse na fase lag de crescimento e a partir deste período iniciou-se o crescimento celular em função do tempo. A taxa de crescimento das células do 2º ao 15º foi de 6,7% céls d⁻¹. A taxa de crescimento do controle deste tratamento foi de 7,3% céls d⁻¹.

Gráfico 16 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos submetidos ao campo elétrico pulsado 2,0 MHz (24 h) e seu respectivo controle

O Gráfico 17 representa os tratamentos com campo elétrico pulsado nas frequências de 0,5 a 2,0 MHz, durante 12 e 24 horas, do 0º ao 15º dia. Verificou-se que o efeito estimulatório aumentou com a diminuição da frequência – de 0,5 a 2 MHz durante 12 horas.

Gráfico 17 - Curva de sobrevivência média dos grupos submetidos ao campo elétrico pulsado de 0,5, 1,0, 2,0 (12 h) e 2,0 (24 h) MHz e controle

Estes resultados obtidos pela primeira vez com o microrganismo radioresistente *Microcystis panniformis*, estão em contraposição com resultados da literatura referentes a microrganismos mais radiosensíveis. Por exemplo, Noci et al. (2009) mostraram que a utilização do campo elétrico pulsado apresentou moderadas reduções em populações da bactéria Gram-positiva *Listeria innocua*, e que na fase estacionária esta bactéria mostrou ser mais resistente, havendo maior redução de colônias na fase exponencial de crescimento. Rodrigo et al. (2003) afirma que células na fase exponencial de crescimento são menos resistentes ao c. e. pulsado do que células na fase de crescimento estacionário. Toepfl et al. (2007) apresentaram um estudo em que houve a inativação de três espécies de bactérias através da aplicação do campo elétrico pulsado, enfatizando a diferença da resistência entre esses microrganismos. Observaram que o menor dos organismos, *Listeria innocua*, teve maior resistência do que os de maior tamanhos, como *Escherichia coli* e *Bacillus megaterium*. Esses autores concluíram que a constituição da membrana celular tem uma importante influência em sua estabilidade,

corroborando o fato de que bactérias Gram-positivas são mais resistentes que as espécies Gram-negativas.

4.1.4 Efeito combinado da radiação gama e campo magnético em *Microcystis panniformis*

No Gráfico 18 os resultados apresentados caracterizam o comportamento de um cultivo que foi irradiado com 2,0 kGy e de outro que após ter sido irradiado com esta mesma dose foi submetido ao campo magnético. Observa-se que o decaimento do número de células viáveis é devido majoritariamente à ação da radiação gama. Foi utilizado o teste estatístico teste *t Student* e observou-se não haver diferença significativa ($p \geq 0,05$) entres estes dois cultivos, sendo o valor de p igual a 0,67.

Gráfico 18 – Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 2,0 kGy e de 2,0 kGy + campo magnético e seu respectivo controle

No gráfico 19 também é observado que o campo magnético utilizado neste estudo não atuou no sentido de aumentar a quantidade de mortes celulares quando comparado com o cultivo que foi somente irradiado. Segundo o teste, a diferença entre os dois cultivos não foi significativa, obtendo-se um valor de p igual a 0,89.

Gráfico 19 - Curva de sobrevivência e crescimento médio dos grupos irradiados com doses de 4,0 kGy e de 4,0 kGy + campo magnético e seu respectivo controle

Pela observação dos Gráficos 18 e 19 conclui-se que o campo magnético estático não alterou significativamente a citotoxicidade do tratamento com radiação gama. Por outro lado, com campo magnético pulsado, Lai e Singh (2004) fizeram um estudo com células eucarióticas expostas a um campo magnético sinusoidal com frequência superior a 50 Hz, constatando-se um aumento de quebras simples e duplas em DNA. Há controvérsias e contradições, contudo, que permeiam questões segundo as quais um campo eletromagnético causaria algum efeito biológico detectável, exceto aqueles atribuíveis ao aquecimento que ocorre a altas

frequências ou à corrente elétrica induzida de frequência extremamente baixa (GUVEN et al., 2006).

Quanto à ação isolada do campo magnético estático, por outro lado, verificou-se no Gráfico 20 que seu efeito citotóxico foi apreciável, causando aumento de mortes superiores a aproximadamente 30%. A taxa de crescimento do 2º ao 15º dia foi de 7,3% céls d⁻¹ e de 9,9% céls d⁻¹, com e sem aplicação do campo magnético, respectivamente.

Gráfico 20 - Curva de sobrevivência média dos grupos submetidos ao campo magnético e seu respectivo controle

Pouco se sabe quanto a ação de campos magnéticos estáticos em sistemas biológicos, e mesmo assim apenas em regimes de grandes intensidades, que não é o caso do presente estudo em que a intensidade utilizada foi de apenas 2.000 Gauss (ou, 0,2 Teslas). Nesse sentido, Iwasaka et al. (2004) estudaram o metabolismo de crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, incubada em meio líquido e sob a ação de um campo magnético com intensidade de até 14

Teslas. Quando a levedura foi então exposta a campos magnéticos na faixa 9 – 14 T, a taxa de proliferação decresceu após 16 h de incubação em comparação àquela do grupo controle. Esse fenômeno foi analisado e associado, possivelmente, a efeitos dos campos magnéticos no sistema respiratório da levedura. Esses mesmos autores discutiram também o papel de processos associados ao transporte de gás, pressão hidrostática sobre a levedura, bem como alterações ocorridas na distribuição de sedimentação da levedura.

Já no estudo de Gasparetto (2003), o campo magnético influenciou fatores relacionados à virulência e à produção de fosfolipase por *Candida albicans*. Foram realizados ensaios em placas de material dentário em contato com a levedura, e quando se submeteu ao um campo magnético com intensidade de somente 400 Gauss observou-se maior hidrofobicidade e aumento na produção da enzima adesina.

4.1.5 Representação de conjunto de resultados referente à exposição de cultivos de *Microcystis panniformis* aos agentes físicos exógenos

A Tabela 3 representa um resumo dos resultados obtidos após a submissão à radiação gama, campo elétrico estático e pulsado e campo magnético em cultivos de *Microcystis panniformis*.

Tabela 3 – Resumos dos resultados da citotoxicidade das aplicações de agentes físicos nos cultivos de *Microcystis panniformis*

	Irradiado	Não Irradiado
	Citotoxicidade	Citotoxicidade
C. Elétrico Estático	↑ - Irradiação + C. Elétrico Estático	0
C. Elétrico Pulsado	Não irradiados	→ - 0,5 a 2,0 MHz (12 h) ↑ - 2,0 MHz (24 h)
C. Magnético Estático	↑ - Irradiação + C. Magnético Estático (2,0 kGy) 0 - Irradiação + C. Magnético Estático (4,0 kGy)	↑ - 2.000 Gauss

Legenda:

- - Estimulou crescimento
- ↑ - Aumentou citotoxicidade
- 0 - Citotoxicidade nula

4.2 Atenuação de microcistina através de radiações ionizantes

4.2.1 Testes de sensibilidade

Foram realizados testes de sensibilidade (APÊNDICE B) ao longo do período de realização dos testes ecotoxicológicos com *Ceriodaphnia silvestrii*, com o objetivo de verificar as condições fisiológicas desses organismos-teste. O valor médio obtido da concentração efetiva em 48 horas (CE_{50-48h}) nos testes de sensibilidade foi de $1,03 \text{ g L}^{-1}$ de cloreto de sódio (NaCl). Este valor encontra-se na faixa estabelecida pelo Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (UFSCar): $0,76 - 1,46 \text{ g L}^{-1}$ NaCl para *C. silvestrii*, indicando que os organismos encontravam-se adequados para a sua utilização nos testes ecotoxicológicos (Gráfico 21).

Gráfico 21 – Faixa de sensibilidade de neonatas do dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera), expressa em CE_{50-48h} , quando expostas a substância de referência cloreto de sódio (NaCl)

Tabela 4 - Valores de CE(I)50 e seus respectivos intervalos de confiança para a substância de referência cloreto de sódio (NaCl), em testes de toxicidade aguda (48 h) com as neonatas de *Ceriodaphnia silvestrii*

Ensaio	CE(I)50-48h (mg L ⁻¹)	Intervalo de confiança 95%
		(IC) (mg L ⁻¹)
1	0,97	0,86 – 1,08
2	1,03	0,93 – 1,14
3	1,00	0,91 – 1,10
4	1,09	0,98 – 1,21
5	0,93	0,81 – 1,06
6	1,07	0,94 – 1,21
7	1,08	0,97 – 1,19
8	1,09	0,98 – 1,21
9	0,97	0,85 – 1,11

4.2.2 Linhagem não tóxica não irradiada

Para melhor entendimento dos resultados foi construído um fluxograma que expressa resumidamente o que foi obtido neste estudo. Observou-se que quando as concentrações efetivas (CE_{50-48h}) apresentaram valores altos (entre ou próximo das concentrações de 45 ou 90 mg de peso seco de células mL^{-1}) a atenuação da toxina ocorreu em maior quantidade e houve menor imobilidade dos organismos-teste. Para as concentrações efetivas com valores mais baixos, a atenuação ocorreu em menor proporção, observando-se que houve maior imobilidade das neonatas de *C. silvestrii*.

Foram realizados quatro testes (APÊNDICE C) com a linhagem não tóxica de *Microcystis* sp. Trata-se de um material proveniente de uma cepa não produtora de toxina. Não houve a aplicação de radiações ionizantes no material utilizado. Os resultados obtidos não indicaram imobilidade significativa em nenhuma das concentrações do material não tóxico em que os cladóceros *C. silvestrii* foram

expostos (0,0; 5,65; 11,25; 22,5; 45; e 90 mg de peso seco de células mL⁻¹), confirmando que a linhagem não é tóxica. Por razões óbvias, não foi possível calcular a CE₅₀-48h.

Vale ressaltar que o extrato cultivado liofilizado foi diluído em água destilada, sonificado e centrifugado, encontrando-se no sobrenadante compostos bioativos liberados do interior da *Microcystis* sp.. Segundo Carmichael (1992), a *Microcystis aeruginosa* é produtora de compostos bioativos que podem ser nocivos para o cladóceros do gênero *Daphnia*. Jungmann (1992) isolou e parcialmente caracterizou uma substância tóxica de extratos celulares de *Microcystis*. Estes compostos foram testados em *Daphnia* na forma purificada.

4.2.3 Linhagem não tóxica irradiada com radiação gama

Foram realizados 32 ensaios (APÊNDICE D) em que os extratos-mãe procedentes da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp. foram irradiados com gamas nas doses de 3, 5, 10 e 15 kGy. As aplicações destas doses ocorreram em 2 tipos de materiais: sonificado e não sonificado. Os materiais irradiados não apresentaram toxicidade no dafnínide *C. silvestrii* após 48 h de exposição. Os valores de CE₅₀-48h não foram obtidos nos testes agudos, pois não houve imobilidade dos organismos-teste.

Estes ensaios foram realizados principalmente para verificar se haveria a formação de compostos tóxicos após o material sonificado e não sonificado terem sido irradiados com radiação gama.

4.2.4 Linhagem tóxica não irradiada

Todos os testes efetuados com o material cultivado liofilizado da cepa tóxica não irradiada (D = 0), obtido na fase exponencial de crescimento da linhagem tóxica NPLJ-4, *Microcystis aeruginosa*, evidenciaram efeitos tóxicos no cladóceros *C. silvestrii*, mostrando sua adequação para os testes de atenuação de toxicidade (APÊNDICE E). Estes ensaios tiveram como finalidade: comprovar a toxicidade da cepa e servir de controle para os testes posteriores com as amostras irradiadas.

O valor médio da CE₅₀-48h obtido em seis ensaios realizados foi de 31,44 mg de peso seco de células mL⁻¹, sendo que 50% dos organismos encontravam-se imóveis após exposição a concentrações entre 22,5 a 45 mg de peso seco de células mL⁻¹ (Gráfico 22).

Gráfico 22 – Média dos valores de CE₅₀-48h obtidos para os dafinídeos *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) nos testes de toxicidade aguda (1 – 6) com extratos brutos de culturas da linhagem NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*

Tabela 5 - Valores de CE(I)50 e seus respectivos intervalos de confiança para microcistina, em testes de toxicidade aguda (48 h) com neonatas de *Ceriodaphnia silvestrii*

Ensaio	CE(I)50-48h (mg L ⁻¹)	Intervalo de confiança 95% (IC) (mg L ⁻¹)
1	31,8	27,1 – 37,3
2	25,7	20,4 – 32,5
3	23,8	19,6 – 28,9
4	42,0	34,1 – 51,6
5	32,6	26,1 – 40,6
6	32,8	29,0 – 37,0

Estes testes permitiram a constatação de que a cepa NPLJ-4 de *M. aeruginosa* foi suficientemente tóxica para ser utilizada no presente trabalho.

Okumura et al. (2007) mostrou em um estudo anterior, que todos os ensaios envolvendo *Ceriodaphnia silvestrii*, *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*, testados com material liofilizado da mesma linhagem de *Microcystis aeruginosa* (NPLJ-4), evidenciaram efeitos tóxicos. Sabe-se que a cepa NPLJ-4 é comprovadamente tóxica e foi utilizada em alguns trabalhos envolvendo bioensaios com cladóceros (FERRÃO-FILHO; KOZLOWSKY-SUZUKI; AZEVEDO, 2002; OKUMURA et al., 2007; TAKENAKA, 2007). Takenaka (2007) mostrou que todos os extratos brutos de culturas da linhagem NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* obtidos no meio e no final da fase exponencial de crescimento e também na fase senescente da cultura causaram efeito tóxico agudo aos cladóceros *Ceriodaphnia dubia* e *C. silvestrii*. Alguns estudos publicados relatam o efeito tóxico que cianobactérias provocam em cladóceros; porém, são baseados no uso destas microalgas como fonte de alimentos (BLANCHETTE; HANEY, 2002; DeMOTT; ZHANG; CARMICHAEL, 1991; DeMOTT, 1999; LÜRLING, 2003; MOHAMED, 2001; ROHRLACK et al., 1999). Neste estudo, não há o contato de células inteiras de *M. aeruginosa* com *C. silvestrii*.

Okumura (2011) realizou testes de toxicidade aguda com a microcistina da cepa NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* em indivíduos na fase naupliar (com idade inferior a 24 horas) das espécies de calanóide *Argyrodiaptomus furcatus* e *Notodiatomus iheringi*. A concentração para o extrato-mãe foi 100 mg de peso seco de células mL⁻¹, igual àquela utilizada para o cladócero *C. silvestrii*. Para os testes de toxicidade as concentrações para *A. furcatus* foi 12,5; 25,0; 50,0; 75,0; 100 mg de peso seco de células mL⁻¹ e para *N. iheringi* 7,5; 12,5; 25,0; 50,0; 75,0 mg de peso seco de células mL⁻¹. Obteve-se o valor da CE_{50-48h} de 36,7 mg de peso seco de células mL⁻¹ para a espécie *A. furcatus* e de 42,5 mg de peso seco de células mL⁻¹ para a espécie *N. iheringi*. Como pode ser observado, esta linhagem de cianobactéria foi tóxica para as duas espécies de Copépoda, sendo que *A. furcatus* foi mais sensível às cianotoxinas do que *N. iheringi*.

4.2.5 Linhagem tóxica irradiada com nêutrons

4.2.5.1 Nêutrons rápidos

As amostras que ficaram expostas num período de tempo de 24 horas, extrato seco e extrato com água, apresentaram maior imobilidade dos organismos-teste nas concentrações de 22,5; 45 e 90 mg de peso seco de células mL⁻¹ (Gráfico 23). O valor da média da CE₅₀-48h encontrado para as amostras secas expostas a este período de tempo foi de 43,97 mg de peso seco de células mL⁻¹ e para as amostras que foram irradiadas com água foi de 39,74 mg de peso seco de células mL⁻¹. Os extratos que foram irradiados no período de 48 h apresentaram maior imobilidade nas concentrações de 45 e 90 mg de peso seco de células mL⁻¹ e obtiveram, respectivamente, uma média da CE₅₀-48h de 57,13 e 44,59 mg de peso seco de células mL⁻¹ (APÊNDICE F). Observou-se que a atenuação da microcistina foi maior nas amostras que estavam secas, comparativamente às amostras que foram irradiadas na presença de água. A água tem a característica de ser um excelente moderador de nêutrons ou seja, os nêutrons rápidos sofrem espalhamento no hidrogênio da água e perdem a maior parte da sua energia cinética na colisão, tornando-se nêutrons térmicos, que provocam menos dano biológico na amostra do que os nêutrons rápidos (KNOLL, 2000).

Gráfico 23 – Valores médios da CE_{50} (48h), para os extratos brutos não sonicados, irradiados com feixes de nêutrons rápidos para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos aos extratos de *Microcystis aeruginosa* (linhagem tóxica NPLJ-4), em testes de toxicidade aguda

Os ensaios agudos nas concentrações 5,65; 11,65; 22,5; 45 e 90 mg de peso seco de células mL^{-1} , que continham extratos brutos irradiados com feixes de nêutrons rápidos, afetaram a sobrevivência dos organismos aquáticos através da exposição ao material irradiado nos períodos de 24 h e 48 h, seco e com água, causando a mortalidade de 1,25% a 100% (tabela 6).

Os testes de toxicidade da toxina irradiada num período de 24 h, com material liofilizado seco e molhado, indicaram que as diferenças de toxicidade não são significativas, de acordo com o teste estatístico *t Student* ($p \geq 0,05$). Para os materiais que foram irradiados por 48 h, as diferenças de toxicidade dos resultados entre o material seco e molhado foram significativas ($p \leq 0,05$), sendo o valor de p igual a 0,0042. Com relação aos tempos de irradiação, em 48 h houve uma maior atenuação da toxina do que em 24 h. Observa-se que os valores da concentração efetiva média dos materiais que foram irradiados em 48 h são maiores do que os irradiados em 24 h. As diferenças de toxicidade entre os materiais secos irradiados em 24 h e 48 h foram significativas ($p = 0,0045$), não ocorrendo o mesmo com o

material molhado, onde não houve diferença apreciável entre os resultados ($p = 0,51$).

Tabela 6 - Dados de mortalidade (%) de ensaios de toxicidade aguda em dafnídio *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) após contato com extrato pertencente à linhagem NPLJ-4, irradiado com feixes de nêutrons

Amostra	Concentração mg L ⁻¹	Mortalidade (%)
24h (seco)	00,00	5,0
	05,65	1,25
	11,25	11,25
	22,50	21,25
	45,00	26,25
	90,00	100,0
24h (molhado)	00,00	3,75
	05,65	0,0
	11,25	8,75
	22,50	38,75
	45,00	66,25
	90,00	100,0
48h (seco)	00,00	5,0
	05,65	1,25
	11,25	1,25
	22,50	8,75
	45,00	15,0
	90,00	100,0
48h (molhado)	00,00	1,25
	05,65	0,0
	11,25	0,0
	22,50	2,5
	45,00	43,53
	90,00	100,0

4.2.5.2 Núcleo do reator

O gráfico 24 mostra que houve atenuação da toxina proporcionalmente ao tempo de irradiação. No período de 2,0 minutos ocorreu maior atenuação do que os que foram expostos durante 1,0 e 1,5 minuto. Nos ensaios com o material irradiado durante 1,0 minuto ocorreu mortalidade dos organismos-teste nas concentrações de

22,5 a 90 mg de peso seco de células mL⁻¹. Para o período de 1,5 minuto, verificou-se que houve mortalidade nas concentrações de 45 e 90 mg de peso seco de células mL⁻¹. Já para o maior tempo de exposição do extrato tóxico à radiação, observou-se que há sobrevivência das neonatas de *Ceriodaphnia silvestrii* exposta ao material irradiado em todas as concentrações, exceto na de 90 mg de peso seco de células mL⁻¹. As médias das concentrações efetivas foram 47,0; 62,24; e 63,64 mg de peso seco de células mL⁻¹ para os tempos de 1,0; 1,5 e 2,0 minutos, respectivamente (APÊNDICE G).

Os resultados dos ensaios ocorridos com o material que foi irradiado durante 1,0 e 2,0 minutos indicam, segundo o teste estatístico de *t Student*, que as diferenças de toxicidade são significativas ($p \leq 0,05$). Os resultados obtidos em tempos de 1,0 minuto e 1,5 minutos mostram que não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre eles, obtendo-se p igual a 0,3. Ao comparar-se 1,5 minutos com 2,0 minutos o teste estatístico indica que não houve diferenças significativas entres esses dois tempos.

Em seu conjunto, observou-se que irradiações com nêutrons do núcleo do reator provocaram atenuação discreta da microcistina.

Gráfico 24 – Valores médios da CE₅₀ (48h), para os extratos brutos não sonicados, irradiados com feixes de nêutrons (núcleo do reator) para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos ao extratos de *Microcystis aeruginosa* (linhagem tóxica NPLJ-4), em testes de toxicidade aguda

Comparando-se os resultados obtidos com os testes de toxicidade aguda da microcistina irradiada com nêutrons rápidos e no núcleo do reator, conclui-se que no núcleo do reator a atenuação foi mais efetiva. Essa conclusão foi substantiada via o teste estatístico de *Mann-Whitney* (HAMMER, 2001).

4.2.6 Linhagem tóxica irradiada com radiação gama

Os resultados obtidos para os extratos-mãe que foram irradiados com as doses de 3, 5, 10 e 15 kGy de radiação gama apresentaram sistematicamente uma CE₅₀ maior do que os extratos-mãe que não foram irradiados, tanto para os sonicados quanto para os não sonicados, indicando que houve atenuação da cianotoxina ao ser exposta à radiação gama (APÊNDICE H).

No gráfico 25 observa-se que os extratos-mãe sonicados irradiados com 3 e 5 kGy apresentaram imobilidade nas concentrações entre 45 e 90 mg de peso seco de células mL⁻¹. Nessas mesmas doses os extratos-mãe não sonicados apresentaram

um aumento de indivíduos imóveis, em comparação ao material sonificado, nas mesmas concentrações de microcistina (i.e, entre 45 e 90 mg de peso seco de células mL⁻¹). Portanto, doses de 3 e 5 kGy não são suficientes para atenuar apreciavelmente a toxina estudada, tanto em extrato-mãe sonificados quanto em não sonificados.

Gráfico 25 - Valores médios da CE₅₀-48h, para os extratos brutos sonificados e não sonificados, irradiados com radiação gama para neonatas de *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos aos extratos de *Microcystis aeruginosa* (linhagem tóxica NPLJ-4), em testes de toxicidade aguda

Na dose mais elevada de 10 kGy, os extratos-mãe sonificados (toxinas no meio aquoso) não evidenciaram imobilidade estatisticamente significativa (atenuação da toxina) no período de 48 h na concentração de 45 mg de peso seco de células mL⁻¹. Quanto aos extratos-mãe não sonificados (células íntegras no meio aquoso), também irradiados com 10 kGy, observou-se imobilidade (não atenuação da toxina) nas concentrações de 45 e 90 mg de peso seco de células mL⁻¹ de microcistina. Para a dose de 15 kGy ocorreu imobilidade apenas na maior concentração, de 90 mg de peso seco de células mL⁻¹, nos extratos-mãe sonificados e não sonificados.

Para cada extrato-mãe irradiado com gamas quatro réplicas foram efetuadas. Em cada réplica havia um total de 20 organismos. A Tabela 7 representa a união de todos os organismos para que haja melhor visualização dos resultados dos testes de toxicidade aguda em *C. silvestrii* (a mesma formatação foi utilizada na Tabela 9, referente aos ensaios com feixes de elétrons). Os resultados dos testes ocorridos individualmente encontram-se no APÊNDICE H.

Tabela 7 – Resumo dos resultados de imobilidade dos testes de toxicidade aguda para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama nas doses de 0, 3, 5, 10 e 15 kGy (Resultados para cada réplica de cada dose – ver Apêndice G)

Número de organismos imóveis			
Dose	CONCENTRAÇÕES mg mL ⁻¹	AMOSTRAS SONICADAS	AMOSTRAS NÃO SONICADAS
0 kGy	00,00	3/120 ind.	-
	05,65	2/120 ind.	-
	11,25	11/120 ind.	-
	22,50	34/120 ind.	-
	45,00	78/120 ind.	-
	90,00	120/120 ind.	-
3 kGy	00,00	1/80 ind.	1/80 ind.
	05,65	0/80 ind.	0/80 ind.
	11,25	0/80 ind.	0/80 ind.
	22,50	1/80 ind.	0/80 ind.
	45,00	24/80 ind.	38/80 ind.
	90,00	80/80 ind.	80/80 ind.
5 kGy	00,00	3/80 ind.	3/80 ind.
	05,65	0/80 ind.	0/80 ind.
	11,25	0/80 ind.	1/80 ind.
	22,50	1/80 ind.	2/80 ind.
	45,00	34/80 ind.	44/80 ind.
	90,00	80/80 ind.	80/80 ind.
10 kGy	00,00	0/80 ind.	3/80 ind.
	05,65	0/80 ind.	0/80 ind.
	11,25	0/80 ind.	0/80 ind.
	22,50	0/80 ind.	0/80 ind.
	45,00	2/80 ind.	28/80 ind.
	90,00	79/80 ind.	80/80 ind.
15 kGy	00,00	2/80 ind.	5/80 ind.
	05,65	0/80 ind.	0/80 ind.
	11,25	1/80 ind.	0/80 ind.
	22,50	0/80 ind.	0/80 ind.
	45,00	2/80 ind.	1/80 ind.
	90,00	72/80 ind.	75/80 ind.

Pelos resultados apresentados na Tabela 8 observa-se que com exceção daqueles para 10 kGy, não houve diferença entre extratos-mãe sonicados e não sonicados, uma vez que a dispersão dos valores médios (desvios-padrão) é grande o suficiente (entre 10% e 15%) para possibilitar a discriminação – vide os “intervalos de confiança” (Tabela 13).

Tabela 8 – Valores médios da CE_{50} (48h), seus respectivos desvios-padrão e intervalos de confiança 95%, para os extratos-mãe sonicados e não sonicados, irradiados com gamas nas doses de 3, 5, 10 e 15 kGy para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos ao extratos de *Microcystis aeruginosa* (linhagem tóxica NPLJ-4), em testes de toxicidade aguda

DOSES	CE_{50} Amostras Sonicadas	Intervalos de Confiança 95% (IC) ($mg\ L^{-1}$)	CE_{50} Amostras Não Sonicadas	Intervalos de Confiança 95% (IC) ($mg\ L^{-1}$)
0 kGy	31,4 (6,42)	26,1 – 38,0	-	-
3 kGy	49,8 (8,22)	43,6 – 56,9	46,3 (7,53)	40,3 – 53,3
5 kGy	47,9 (7,19)	41,6 – 55,1	42,6 (3,07)	44,3 – 57,6
10 kGy	62,9 (2,39)	54,1 – 65,2	50,5 (7,42)	36,3 – 50,1
15 kGy	65,4 (0,69)	59,1 – 71,8	64,3 (1,63)	59,8 – 70,8

As diferenças nos resultados obtidos para os extratos-mãe sonicados e não sonicados foram testadas utilizando-se o teste *t Student* (HAMMER et al., 2001) – os índices de significância (p) obtidos foram:

- 3 kGy sonificado e 3 kGy não sonificado: $p = 0,56$
- 5 kGy sonificado e 5 kGy não sonificado: $p = 0,25$
- 10 kGy sonificado e 10 kGy não sonificado: $p = 0,02$
- 15 kGy sonificado e 15 kGy não sonificado: $p = 0,88$

Estes resultados evidenciaram que as diferenças de toxicidade entre os extratos-mãe sonicados e não sonicados não são significativas ($p \geq 0,05$), com exceção da dose de 10 kGy, que apresentou um valor limítrofe, $p \leq 0,05$.

Apesar da irrefutabilidade dos testes estatísticos, observa-se uma “persistência” das pequenas diferenças entre os resultados, no sentido de que os valores médios das concentrações efetivas médias dos extratos-mãe sonicados (48 h) são ligeiramente maiores do que os não sonicados (Tabela 8). A diferença entre os dois procedimentos está na presença da membrana celular. Os extratos-mãe não sonicados continham células inteiras; com isso, ao ocorrer exposição à radiação gama as células foram irradiadas juntamente com a toxina que se encontrava em seu interior.

Em vista disso, elaborou-se um gráfico dessas diferenças em função da dose, Gráfico 26 – a inspeção visual desse gráfico sugere que ocorre uma variação brusca no comportamento entre os extratos-mãe sonicados e não sonicados quando se passa da faixa 3 – 5 kGy (baixas doses) para a faixa 10 – 15 kGy (altas doses).

A existência de diferenças significativas entre a toxicidade da microcistina irradiada com diferentes doses foi testada estatisticamente por meio do teste *t Student* (HAMMER et al., 2001). As diferenças dos CE₅₀-48h entre os extratos-mãe irradiados com 3 e 5 kGy não são significativas ($p \geq 0,05$). Já as comparações dos extratos-mãe dessas doses com as doses de 10 e 15 kGy evidenciaram que existem diferenças significativas entre eles ($p \leq 0,05$).

Gráfico 26 – Gráfico das diferenças entre as CE_{50} -48h de extratos-mãe sonicados e não sonicados para *C. silvestrii* em função da dose

Os resultados obtidos para os extratos-mãe que foram irradiados com as doses de 3, 5, 10 e 15 kGy de radiação gama apresentaram sistematicamente uma CE_{50} maior do que os extratos-mãe que não foram irradiados, tanto para os sonicados quanto para os não sonicados, indicando que o tratamento com radiação ionizante atenuou a cianotoxina.

4.2.6.1 Comparação entre a toxicidade de extratos-mãe somente sonicados não irradiados e irradiados

O valor médio da CE_{50} para *C. silvestrii* após 48 horas de exposição à toxina, em extrato-mãe não irradiado, foi de 31,44 mg de peso seco de células mL^{-1} , enquanto que para os extratos-mãe sonicados e irradiados com 3 e 5 kGy foi de

49,77 e 47,90 mg de peso seco de células mL⁻¹, respectivamente, correspondendo a diferenças de 18,33 e 16,46 mg de peso seco de células mL⁻¹, respectivamente (Gráfico 27), relativamente ao não irradiado. Foram comparados os valores médios entre as CE₅₀-48h dos extratos-mãe não irradiados (31,44 mg de peso seco de células mL⁻¹) com os extratos-mãe sonicados e irradiados correspondentes às doses de 10 e 15 kGy de radiação gama, cujos valores médios da CE₅₀-48h foram iguais a 62,87 e 65,36 mg de peso seco de células mL⁻¹, respectivamente. Observou-se que o valor da CE₅₀-48h, para os extratos-mãe irradiados foi maior do que o dobro do valor da CE₅₀-48h para o extrato-mãe não irradiado (Gráfico 27). Estes resultados indicam que ocorreu atenuação significativa da microcistina irradiada com as doses de 10 e 15 kGy.

Gráfico 27 – Médias da CE₅₀-48h para *C. silvestrii* após 48 h de exposição à microcistina, de extratos-mãe não irradiados e irradiados (somente sonicados) em função da dose

Em um experimento com cianotoxinas de *Microcystis aeruginosa*, Zhang et al. (2007) mostraram que a radiação gama em doses superiores a 8 kGy pode degradar certas variantes de microcistinas (LR e RR) com quase 100% de eficiência. A degradação das variantes da microcistina aumentou com o aumento da dose. Em 8 kGy a eficiência da degradação da microcistina-LR foi de 98%, enquanto que para a

MC-RR a dose de 5 kGy foi suficiente para a sua degradação total. Não houve nenhum tipo de teste de ecotoxicidade no trabalho desenvolvido por esses autores. Este foi o único trabalho encontrado na literatura que tratava de aplicação de radiação gama em microcistina.

4.2.7 Linhagem tóxica irradiada com feixes de elétrons

4.2.7.1 Extratos-mãe sonicados

Para os extratos-mãe que foram primeiro sonicados e depois irradiados com feixes de elétrons, só foi possível obter a CE_{50-48h} para dois testes em 3 kGy (APÊNDICE I). Para esta dose observou-se imobilidade das neonatas de *C. silvestrii* nas maiores concentrações (45 e 90 mg de peso seco de células mL^{-1}) de microcistina (Tabela 9). Para os extratos-mãe irradiados com 5 e 10 kGy houve imobilidade somente na concentração de 90 mg de peso seco de células mL^{-1} , onde dos 80 indivíduos totais de cada extrato-mãe irradiado o número de indivíduos imóveis foi 6 e 5, respectivamente (Tabela 9). O material irradiado com feixes de elétrons na dose 15 kGy não apresentou nenhum organismo imóvel.

Tabela 9 – Resumo dos resultados de imobilidade dos testes de toxicidade aguda para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, não irradiada com feixes de elétrons e irradiada nas doses de 0, 3, 5, 10 e 15 kGy (Resultados para cada réplica de cada dose – ver Apêndice H)

DOSES	CONCENTRAÇÕES mg L ⁻¹	AMOSTRAS SONICADAS	AMOSTRAS NÃO SONICADAS
0 kGy	00,00	3/120 ind.	-
	05,65	2/120 ind.	-
	11,25	11/120 ind.	-
	22,50	34/120 ind.	-
	45,00	86/120 ind.	-
	90,00	120/120 ind.	-
3 kGy	00,00	4/80 ind.	3/80 ind.
	05,65	0/80 ind.	0/80 ind.
	11,25	0/80 ind.	0/80 ind.
	22,50	4/80 ind.	3/80 ind.
	45,00	9/80 ind.	0/80 ind.
	90,00	48/80 ind.	58/80 ind.
5 kGy	00,00	3/80 ind.	3/80 ind.
	05,65	0/80 ind.	1/80 ind.
	11,25	0/80 ind.	2/80 ind.
	22,50	0/80 ind.	7/80 ind.
	45,00	0/80 ind.	8/80 ind.
	90,00	6/80 ind.	74/80 ind.
10 kGy	00,00	4/80 ind.	8/80 ind.
	05,65	2/80 ind.	2/80 ind.
	11,25	0/80 ind.	0/80 ind.
	22,50	1/80 ind.	2/80 ind.
	45,00	0/80 ind.	0/80 ind.
	90,00	5/80 ind.	7/80 ind.
15 kGy	00,00	2/80 ind.	4/80 ind.
	05,65	2/80 ind.	1/80 ind.
	11,25	0/80 ind.	1/80 ind.
	22,50	2/80 ind.	1/80 ind.
	45,00	0/80 ind.	0/80 ind.
	90,00	0/80 ind.	3/80 ind.

Foram realizados ensaios com copépodos *Argyrodiaptomus furcatus* e *Notodiatomus iheringi* em idade de náuplios. Estes organismos entraram em contato com o mesmo material sonicado irradiado com feixes de elétrons nas doses de 3, 5, 10 e 15 kGy. As concentrações utilizadas para *A. furcatus* foram 12,5; 25,0; 50,0; 75,0 e 100 mg de peso seco de células mL⁻¹ e para *N. iheringi* 7,5; 12,5; 02,5; 50,0 e 75,0 mg de peso seco de células mL⁻¹. Os resultados dos testes de toxicidade evidenciaram que a microcistina de *M. aeruginosa* irradiada com feixes de elétrons nas doses de 3, 5, 10 e 15 kGy não apresentou efeito toxigênico, pois houve mobilidade dos organismos-teste. Não foi possível calcular valores de CE_{50-48h} e não

foi observado nenhum indício de toxicidade das amostras de cianobactérias para nenhuma das doses de irradiação com feixes de elétrons testadas no presente estudo (CAVALCANTE-SILVA, em preparação; OKUMURA, 2011).

Resultados similares aos destes experimentos com cianotoxinas foram obtidos por Romanelli et al. (2006), que, utilizando como organismos-teste *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*, observaram elevada eficiência da radiação ionizante (elétrons) na degradação do surfactante ácido dodecil p-benzenosulfonato (LAS).

4.2.7.2 Extratos-mãe não sonicados

4.2.7.2.1 Doses de 3 e 5 kGy de feixes de elétrons

Para os extratos-mãe irradiados com 3 e 5 kGy observou-se organismos imóveis na maior concentração, 90 mg de peso seco de células mL⁻¹. Houve uma pequena atenuação da toxina nos extratos-mãe sonicados e nos não sonicados. (Gráfico 28). O resultado obtido para a dose de 5 kGy, onde houve a imobilidade de 92,5% de neonatas, foi curioso. Para o extrato-mãe sonificado e irradiado com 5 kGy houve atenuação da toxina, ocorrendo porém algumas imobilidades em números não significativos. Para o extrato-mãe não sonificado com essa mesma dose a porcentagem de neonatas imóveis foi alta (Gráfico 28). Uma possível causa para esse comportamento poderia ser a presença da membrana durante o processo de irradiação. De fato, a presença da membrana constitui massa adicional interposta entre o feixe de elétrons e a toxina no interior celular, e com isso a dose efetivamente transferida para a toxina seria menor. Isto já não ocorre em irradiação com gamas devido à alta penetrabilidade dessa radiação.

Gráfico 28 - Valores médios da CE_{50-48h} , para os extratos brutos sonicados e não sonicados, irradiados com feixes de elétrons para neonatas de *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos aos extratos de *Microcystis aeruginosa* (linhagem tóxica NPLJ-4), em testes de toxicidade aguda

4.2.7.2.2 Doses de 10 e 15 kGy de feixes de elétrons

Dos quatro testes efetuados nas doses de 10 e 15 kGy com os extratos-mãe não sonicados só houve imobilidade de 7 e 3 neonatas, respectivamente, das 80 que faziam parte de cada teste de toxicidade aguda (48 h). Estes resultados sugerem que a aplicação de altas doses ao extrato-mãe não sonicado não produz formação de outros compostos mais tóxicos do que a microcistina.

As diferenças nos resultados obtidos para os extratos-mãe sonicados e não sonicados foram avaliadas com o teste *t Student* (HAMMER et al., 2001). Só foi possível obter o índice de significância (p) em 3 kGy sonicado e 3 kGy não sonicado, $p = 0,68$, mostrando que não houve diferença significativa entre esses materiais, mas apenas para esta dose.

Para os extratos-mãe irradiados com 5, 10 e 15 kGy, sonicados e não sonicados, não foi possível calcular os índices de significância (p). Os extratos-mãe

não apresentaram imobilidade suficiente para o cálculo de suas respectivas CE_{50-48h} .

4.2.8 Extratos-mãe irradiados com feixes gamas *versus* feixes de elétrons

No presente trabalho, tanto para os extratos-mãe irradiados com gamas quanto para os irradiados com feixes de elétrons, toxicidade nas neonatas de *C. silvestrii* foi observada nas concentrações entre 45 e 90 mg de peso seco de células mL^{-1} .

Em cada tratamento (para extratos-mãe sonicados e não sonicados) foram feitas quatro réplicas. A Tabela 10 apresenta valores totais de imobilidade de neonatas de *C. silvestrii* após testes de toxicidade aguda (48 h), para uma visualização conjunta dos resultados. Para os extratos-mãe sonicados e com dose de 3 kGy, o número de imobilidades com gamas foi quase 3 vezes maior que o valor para os extratos-mãe irradiados com feixes de elétrons na concentração de 45 mg de peso seco de células mL^{-1} . Nesta mesma concentração e com doses de 5, 10 e 15 kGy, só houve imobilidade para os extratos-brutos irradiados com gamas, não havendo imobilidade para os que foram irradiados com feixes de elétrons. Para a concentração de 90 mg de peso seco de células mL^{-1} , nos extratos-mãe sonicados e irradiados com radiação gama, o percentual de organismos imóveis após os testes agudos (48 h) foi de 100% para as doses de 3 e 5 kGy, enquanto que para as de 10 e 15 kGy foi de 98,75% e 90%, respectivamente.

Os extratos-mãe não sonicados apresentaram um número de neonatas imóveis maior que os sonicados após os testes agudos (48 h). Nos extratos-mãe irradiados com gama houve imobilidade dos cladóceros expostos à toxina nas concentrações de 3, 5 e 10 kGy para a concentração de 45 mg de peso seco de células mL^{-1} . Observou-se apenas um indivíduo imóvel após o transcurso de 48 h dos testes de toxicidade aguda para o dafinídeo *C. silvestrii*, para o extrato-mãe irradiado com 15 kGy nas quatro réplicas para esta dose.

Apesar da pouca atenuação da microcistina quando exposta a doses de 3 kGy com radiação gama e feixes de elétrons, observa-se que há uma diferença no número de organismos imóveis entre os extratos-mãe sonicados e não sonicados para ambas radiações (Tabela 10).

Tabela 10 - Resumo dos resultados de imobilidade dos testes de toxicidade aguda para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons e gamas, nas doses de 0, 3, 5, 10 e 15 kGy, somente nas concentrações de 45 e 90 mg de peso seco de células mL⁻¹ (Resultados para cada réplica de todas as doses – ver apêndice).

DOSES	Concentrações	Extratos-mãe Sonicados		Concentrações		Extratos-mãe Não Sonicados	
		Gamas	Elétrons			Gamas	Elétrons
0 kGy	45 mg L ⁻¹	86/120		45 mg L ⁻¹	-	-	
	90 mg L ⁻¹	120/120		90 mg L ⁻¹			
3 kGy	45 mg L ⁻¹	24/80	9/80	45 mg L ⁻¹	38/80	0/80	
	90 mg L ⁻¹	80/80	48/80	90 mg L ⁻¹	80/80	58/80	
5 kGy	45 mg L ⁻¹	34/80	0/80	45 mg L ⁻¹	44/80	8/80	
	90 mg L ⁻¹	80/80	6/80	90 mg L ⁻¹	80/80	74/80	
10 kGy	45 mg L ⁻¹	2/80	0/80	45 mg L ⁻¹	28/80	0/80	
	90 mg L ⁻¹	79/80	5/80	90 mg L ⁻¹	80/80	7/80	
15 kGy	45 mg L ⁻¹	2/80	0/80	45 mg L ⁻¹	1/80	0/80	
	90 mg L ⁻¹	72/80	0/80	90 mg L ⁻¹	75/80	3/80	

Os resultados da Tabela 10 também podem ser apreciados no gráfico 29.

Gráfico 29 - Comparação entre números de organismos-teste imóveis de extratos-mãe sonicados e não sonicados, irradiados com gamas e feixes de elétrons

4.2.9 Avaliação da toxina irradiada por feixes de elétrons através de LC-MS – [este tópico foi desenvolvido na UAM/Madrid]

Segundo Silva-Stenico et al. (2009) a linhagem NPLJ-4 referente a *Microcystis aeruginosa* apresenta quatro variantes de microcistina, mas as análises realizadas no Departamento de Biologia da *Universidad Autónoma de Madrid* mostraram que no cultivo da linhagem em estudo haviam três variantes: [D-Leu]LR, [Asp³]-RR e LR, e cujos íons precursores (m/z) apresentaram massas de 1037,6 Da, 1023,6 Da e 995,4 Da, respectivamente. As amostras foram submetidas a análise via LC-MS. Como esse estudo foi realizado na Espanha, e como nas amostras de água analisadas deste país nunca foram encontradas as variantes [D-Leu]LR e [Asp³]-RR, e sim somente a LR, não foi possível a comparação de padrões comerciais (por exemplo, padrão Sigma[®], EUA) de microcistina com os

espectrogramas obtidos da amostra tropical. Com base em consultas bibliográficas de trabalhos com informações sobre microcistinas, principalmente da cepa tóxica NPLJ-4, comparou-se os resultados e observou-se que os fragmentos obtidos através das análises via LC-MS são característicos das variantes [D-Leu]LR, [Asp3]-RR e LR (KUBWABO; VAIS; BENOIT, 2005; LEMES et al., 2007; SILVA-STENICO, 2009; SOARES; MAGALHÃES; AZEVEDO, 2004).

As três variantes encontradas possuíam em grande quantidade o fragmento m/z 599. Para verificar se houve ou não atenuação da toxina utilizou-se o valor da área do pico desse fragmento da amostra controle e das amostras irradiadas com 3, 5 e 10 kGy (Tabela 11). As áreas do fragmento m/z 599 das três amostras irradiadas com feixes de elétrons foram comparadas com o mesmo fragmento do material que não foi irradiado (controle), e através da média das áreas observou-se que na menor dose de exposição da cianotoxina, 3 kGy, houve uma atenuação de aproximadamente 1.000 vezes (Gráfico 30). A atenuação continuou ocorrendo na dose de 5 kGy. Porém o valor da área obtido em 5 kGy foi quase igual para a dose de 10 kGy. Acredita-se que houve uma saturação, onde a exposição de uma dose maior não daria continuidade à atenuação da microcistina. Estes resultados demonstram que a aplicação de feixes de elétrons, que possuem uma alta taxa de dose, são indicados para atenuar a microcistina.

Tabela 11 – Valores das áreas do fragmento m/z 599 das variantes [D-Leu]LR, [Asp³]-RR e LR encontradas na microscitina da cepa NPLJ-4 e suas respectivas médias e desvios padrão. Amostras não irradiadas (controle) e irradiadas com 3, 5 e 10 kGy por feixes de elétrons

Amostras	Variantes (599 m/z)	I	II	III	Média	Desv. Padrão
Controle	995,4 (LR)	245.406	243.894	218.140	235.813	15.324 (6,5%)
	1023,6 ([Asp3]-RR)	3.984.455	3.832.111	2.928.000	3.581.522	571.070 (15,9%)
	1037,6 ([D-Leu]LR)	27.337.830	33.664.348	22.980.000	27.994.059	5.372.318 (19,2%)
3 kGy	995,4 (LR)	0	0	0	0	0
	1023,6 ([Asp3]-RR)	1.588	3.347		2.467,5	1.244 (50,4%)
	1037,6 ([D-Leu]LR)	29.481	37.454	26.706	31.214	5.580 (17,9%)
5 kGy	995,4 (LR)	0	0	0	0	0
	1023,6 ([Asp3]-RR)	0	0	0	0	0
	1037,6 ([D-Leu]LR)	25.698	16.562	17.212	19.824	5.097 (25,7%)
10 kGy	995,4 (LR)	0	0	0	0	0
	1023,6 ([Asp3]-RR)	0	0	0	0	0
	1037,6 ([D-Leu]LR)	19.814	21.749	16.980	19.514	2.399 (12,3%)

Gráfico 30 – Valores médios das áreas dos picos das variantes [D-Leu]LR, [Asp³]-RR e LR da microcistina intracelular da cepa NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, não irradiada (D = 0 kGy) e irradiada com 3, 5 e 10 kGy de feixes de elétrons

Através do teste estatístico *t Student* observou-se que houve diferenças significativas entre a área do fragmento *m/z* 599 do controle (D = 0) e as áreas desse mesmo fragmento da variante [D-Leu]LR irradiada com 3, 5 e 10 kGy. Observou-se que ocorreu uma diminuição da área do fragmento de 1000 vezes, podendo-se afirmar que a partir de 3 kGy a atenuação da toxina é muito alta. Através do valor de *p* calculado pelo teste de Kruskal-Wallis (HAMMER et al., 2001) pode-se afirmar que não houve diferença significativa entre as áreas do fragmento *m/z* 599 da variante [D-Leu]LR irradiada com 3, 5 e 10 kGy (*p* = 0,07) com feixes de elétrons. Os valores de *p* para a variante irradiada com 3 e 5 kGy foi 0,06 e entre as doses de 5 e 10 kGy o valor calculado de *p* foi 0,93.

4.2.10 Ensaio de inibição de proteína fosfatase – [este tópico foi desenvolvido na UAM/Madrid]

De acordo com os resultados das absorbâncias obtidas com a leitura do espectrofotômetro para a amostra controle (dose = 0) foi escolhida a diluição de 500 vezes, e para as amostras irradiadas as leituras obtidas que melhor se ajustaram foram as que não foram diluídas. Os valores das absorbâncias a 400 nm referentes às concentrações-padrão 0,25; 0,50; 1,00 e 2,50 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram, respectivamente: -1,39; -0,69; 0,00 e 0,91 nm, tanto para o controle ($R^2 = 0,9916$) quanto para as amostras irradiadas ($R^2 = 0,9899$). Para a amostra controle a absorbância medida a 400 nm foi de 0,35 nm, obtendo-se uma concentração de 1.215 $\mu\text{g L}^{-1}$. Já para as amostras irradiadas as absorbâncias a 400 nm para 5 e 10 kGy foram 0,61 e 0,53 nm, respectivamente, e suas concentrações 1,18 e 1,42 $\mu\text{g L}^{-1}$. Devido à degradação da microcistina após irradiação com feixes de elétrons a toxina perdeu a habilidade de inibir a proteína fosfatase. Estes resultados mostram que houve atenuação da toxina irradiada com feixes de elétrons de aproximadamente 1.000 vezes, e isso confirma os resultados obtidos através da análise de espectrometria de massa.

4.2.11 Testes de toxicidade aguda em *Artemia salina* – [este tópico foi desenvolvido na UAM/Madrid]

Para os teste de toxicidade aguda com a cepa tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* não irradiada, ressalta-se que utilizou-se cinco concentrações, além do controle: 0,0 (controle); 0,0384; 0,0768; 0,144; 0,24; e 0,336 mg de peso seco de células mL^{-1} . Observou-se nas primeiras 24 h uma mortalidade de 10% dos organismos-teste nas concentrações de 0,0 a 0,144 mg de peso seco de células mL^{-1} . Em 48 h os índices de mortalidade para estas concentrações foram crescentes. Para as concentrações de 0,24 a 0,336 mg de peso seco de células mL^{-1} ocorreu mortalidade de 40,63% e 93% em 24 h, respectivamente, e de 87,50% e 100% em 48 h, respectivamente. Estes ensaios confirmam que a cepa NPLJ-4 foi tóxica para os náuplios de *Artemia salina* (Apêndice I), com um aumento da

sensibilidade em função do tempo e da concentração de microcistina. Através do método *Trimmed Spearman-Kärber* (HAMILTON et al., 1977) calculou-se o valor médio da LC_{50-48h} , constatando-se a concentração da toxina não irradiada necessária para matar 50% dos náuplios foi de 0,27 mg de peso seco de células mL^{-1} . Observou-se que para os ensaios realizados com a cepa tóxica NPLJ-4 irradiada com feixes de elétrons nas doses de 5 e 10 kGy não foi possível calcular o valor médio da LC_{50-48h} , pois a mortalidade dos náuplios após 48 h não foi significativa, permanecendo entre 0 e 31%, valores estes muito similares à porcentagem de mortalidade do controle dos organismos-teste. Os bioensaios com *A. salina* foram considerados em trabalhos anteriores adequados para microcistina e anatoxina-a (METCALF et al., 2002; BEATTIE et al., 2003; LINDSAY; METCALF; CODD, 2006).

Os valores da LC_{50} diminuíram com o aumento do tempo de exposição dos náuplios à toxina não irradiada. A partir das porcentagens de mortalidade dos organismos-teste em contato com a microcistina não irradiada foram obtidos os gráficos de mortalidade em função da biomassa (mg de peso seco de células mL^{-1}) (Gráficos 31 e 32). Uma curva sigmóide de parâmetros da forma $f=y_0 + a/(1 + \exp(-(x-x_0)/b))$ foi ajustada a esses pontos para os tempos de 24 e 48 h. Utilizou-se o programa SigmaPlot. A microcistina derivada da cepa tóxica NPLJ-4 não apresentou 100% de mortalidade na concentração 0,336 mg de peso seco de células mL^{-1} após 24 h. Contudo, quando estas diluições foram avaliadas após 48 h, ocorreu 100% de mortalidade na maior concentração testada.

Gráfico 31 – Representação da quantidade de biomassa seca da cepa NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* que causa a mortalidade de 50% da população de *Artemia salina* num período de 24 horas

Gráfico 32 - Representação da quantidade de biomassa seca da cepa NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* que causa a mortalidade de 50% da população de *Artemia salina* num período de 48 horas

4.2.12 Perspectivas promissoras para a continuidade desta linha de pesquisa

Trabalhos utilizando feixes de elétrons foram anteriormente realizados. Por exemplo, Sampa (1991) mostrou resultados promissores no uso de feixes de elétrons de alta energia no tratamento de águas residuárias e de tratamento de água potável. Borrelly et al. (2004) mostraram que a aplicação de feixes de elétrons em efluentes de duas estações de tratamento de águas residuárias e de água natural foi muito eficaz para a atenuação de toxicidade, conforme demonstrado através de testes de toxicidade aguda em *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*. Kurucz et al. (1995) mostraram que o uso de feixes de elétrons foi eficiente para a remoção de metanos, halogenos, etanos, etenos, propanos fenóis e compostos aromáticos polinucleares no tratamento de água e águas residuais. Um trabalho efetuado por Romanelli et al. (2004) mostrou que houve redução da toxicidade de um surfactante, dodecil sulfato de sódio (SDS), que foi diluído em água e submetido a irradiações com feixes de elétrons nas doses de 3,0, 6,0, 9,0 e 12,0 kGy. A avaliação foi realizada através de testes de toxicidade aguda com dois organismos-teste, a bactéria *Vibrio fischeri* e o cladóceros *Daphnia similis*, concluindo que a dose de 6 kGy foi suficiente para a atenuação desta substância altamente tóxica. Duarte et al. (2004) mostrou que as águas provenientes da produção de petróleo, que continham benzeno, tolueno, xileno e fenol, foram irradiadas com feixes de elétrons ocasionando a destruição desses compostos mesmo com a alta salinidade do efluente. Os autores afirmaram que apesar da necessidade de alta absorção de dose, o uso de feixes de elétrons é um processo promissor para ser executado no futuro, pois a alta complexidade do efluente torna o seu tratamento por outras tecnologias muito difícil e caro. Estes estudos indicam, portanto, que existem perspectivas promissoras para a continuidade de pesquisas com utilização de feixes de elétrons para a atenuação ou eliminação da toxicidade de cianotoxinas.

5 CONCLUSÕES

Destacamos entre as mais relevantes do ponto de vista de aplicações futuras:

- Os feixes de nêutrons apresentaram atenuação da microcistina, mas em menor proporção que a radiação gama e feixes de elétrons;
- A radiação gama aplicada nos extratos-mãe de uma cepa de *Microcystis* sp. não tóxica, demonstrou não haver formação de um novo composto tóxico ao cladócero *Ceriodaphnia silvestrii*;
- A aplicação de radiação gama nos extratos-mãe exibiu atenuação da toxina em todas as doses utilizadas, contudo em menor proporção do que as amostras irradiadas com feixes de elétrons;
- A utilização de feixes de elétrons nos extratos-mãe sonificados apresentaram atenuação para as doses de 3, 5, 10 e 15 kGy;
- Os resultados obtidos com as análises via HPLC e teste de inibição da enzima fosfatase confirmaram que houve atenuação da microcistinas após a aplicação de feixes de elétrons;
- Feixes de elétrons provaram ser o tipo de radiação mais indicada para a atenuação de substâncias tóxicas.

Quanto a resultados de interesse mais acadêmico temos que:

- A *Microcystis panniformis* é uma cianobactéria radioresistente;
- A aplicação de radiação gama com doses acima de 4,0 kGy é eficiente para o controle de *M. panniformis*;
- O efeito combinado da radiação gama com outros agentes físicos, como o campo elétrico e magnético estático, aumentou a taxa de morte celular comparativamente à aplicação somente da radiação gama;
- A exposição apenas a campo elétrico estático não foi citotóxica para as células, ocorrendo o crescimento normal do cultivo;

- O campo elétrico pulsado estimulou o crescimento celular do cultivo de *M. panniformis*, quando aplicado durante 12 h. Já a aplicação num intervalo de tempo de 24 h mostrou interferir no crescimento do cultivo após esse período de exposição;
- O efeito combinado da radiação gama e do campo magnético mostrou ser mais citotóxico do que a aplicação individual da radiação gama;
- A aplicação isolada do campo magnético foi citotóxica à *M. panniformis*.

REFERÊNCIAS

- ABOAL, M.; PUIG, M. A. Intracellular and dissolved microcystin in reservoirs of the river Segura basin, Murcia, SE Spain. **Toxicon**, v. 45, p. 509-518, 2005.
- AGARWAL, R.; RANE, S. S.; SAINIS, J. K. Effects of ^{60}Co gamma radiation on thylakoid membrane functions in *Anaystis nidulans*. **J. Photochem. Photobiol. B: Biology**, v. 91, p. 9-19, 2008.
- AKAMATSU, K. A novel methodology for characterizing strand-break termini and damaged bases in plasmid DNA exposed to ionizing radiation. **Anal. Biochem.**, v. 362, p. 229–235, 2007.
- ALPEN. E. L. **Radiation Biophysics**. New Jersey: Prentice-hall,1991.
- ARAÚJO, O. Q. F.; COELHO, M. A. Z.; MARGARIT, I. C. P.; VAZ-JUNIOR, C. A.; ROCHA-LEÃO, H. M. Electrical stimulation of *Saccharomyces cerevisiae* cultures. **Bras. J. Microbiol.**, v. 35, p. 1-10, 2004.
- ARRUDA-NETO, J. D. T.; BITTENCOURT-OLIVEIRA M. C.; FRIEDBERG, E. C.; CAVALCANTE-SILVA, E.; SCHENBERG, A. C. G.; OLIVEIRA M. C. C.; HEREMAN, T. C.; MESA, J.; RODRIGUES, T. E.; SHTEJER, K.; GARCIA, F.; LOUVISON, M.; PAULA, C. R.; GARCIA, C. Static electric fields interfere in the viability of cells exposed to ionizing radiation. **Int. J. Radiat. Biol.**, v. 85, p. 314–321, 2009.
- ASATO, Y. Photorecovery of Gamma Irradiated Cultures of Blue-Green Alga, *Anacystis nidulans*. **Radiat. Botany**, v. 11, p. 313-316, 1971.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**: Água – Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustácea). Rio de Janeiro, 1993.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustácea). Rio de Janeiro, 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13373**: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2005.
- AZEVEDO, S. M. F. O. Toxinas de cianobactérias causas e conseqüências para a saúde pública. **Revista virtual de Medicina**, v. 1, n. 3. 1998. Disponível em: <http://www.medonline.com.br/med_ed/med3/microscis.htm>. Acesso em: 05 maio 2010.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos, Editora RiMa, 2003.

AZEVEDO, M. T. P.; SANT'ANNA, C. L. Morfologia e reprodução. In: SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P.; AGUIJARO, L. F.; CARVALHO, M. C.; CARVALHO, L. R.; SOUZA, R. C. R. **Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras**. Rio de Janeiro: Interciência, 2006. Cap. 2, p. 4-8.

BARNES, R. D. **Zoologia de los invertebrados**. México: Editorial Interamericana, 1969.

BARROS, P. A. G. **Efeitos tóxicos de cianobactérias em cladóceros**. 2001. 132 f. Tese (Doutorado em Biologia) – Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2001.

BASSET, C. A. The development and application of pulsed electromagnetic fields (PEMFs) for united fractures and arthrodeses. **Clin. Plast. Surg.**, v. 12, p. 259–277, 1985.

BEATTIE, K. A.; RESSLER, J.; WIEGAND, C.; KRAUSE, E.; CODD, G. A.; STEINBERG, C. E. W.; PFLUMACHER, S. Comparative effects and metabolism of two microcystins and nodularin in the brine shrimp *Artemia salina*. **Aquat. Toxicol.**, v. 62, p. 219-226, 2003.

BENDICHO, S.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; MARTÍN, O. Milk processing by high intensity pulsed electric fields, **Trends Food Sci. Technol.**, v. 13, p. 195–204, 2002.

BEUTLER, B. M.; WILTSHIRE, K. H.; ARPA, M.; KRUSED, J.; REINEKE, C.; MOLDAENKE, C.; HANSEN, U. P. A reduced model of the fluorescence from the cyanobacterial photosynthetic apparatus designed for the in situ detection of cyanobacteria. **Bioch. Bioph. Acta**, v. 1604, p. 33–46, 2003.

BILLI, D.; FRIDMANN, E. I.; HOFER, K. G.; CAIOLA, M. G.; Ocampo-Friedmann, R. Ionising-Radiation Resistance in the Desiccation-Tolerant Cyanobacterium *Chroococcidiopsis*. **App. Environ. Microbiol.** v. 66, p. 1489-1492, 2000.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C. Development of *Microcystis aeruginosa* (Kutzing) Kutzing (Cyanophyceae/Cyanobacteria) under cultivation and its taxonomic implications. **Algol. Stud.**, n. 99, p. 29-37, 2000.

BLANCHETT, M. L.; HANEY, J. F. The effect of toxic *Microcystis aeruginosa* on four different populations of *Daphnia*. **Freshw. Biol. Res.**, v. 4, p. 1-10, 2002.

BOLD, H. C.; WYNNE, M. J. **Introduction to the algae**. 2nded. New Jersey: Prentice-Hall, 1985.

BORRELY, S. I.; GONÇALVES, A. A.; OIKAWA, H.; DUARTE, C. L.; ROCHA, F. R. Electron beam accelerator for detoxification of effluents. When radiation processing can enhance the acute toxicity. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 71, p. 453-456, 2004.

BOURNE, D. G.; BLAKELEY, R. L.; RIDDLES, P.; JONES, G. J. Biodegradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR in natural water and biologically active slow sand filters. **Water Res.**, v. 40, p. 1294-1302, 2006.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução Nº 357**, de 17 de março de 2005. Brasília, DF: CONAMA, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Cianobactérias tóxicas na água para o consumo humano na saúde pública e Processos de remoção em água para o consumo humano**. Brasília, DF: FUNASA, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria Nº 518**, de 25 de Março de 2004. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2004.

BROOKE, S.; MEWCOMBE, G.; BRENTON, N.; KLASS, G. Decrease in toxicity of microcystin LA and LR in drinking water by ozonation. **Toxicon**, v. 48, p. 1054-1059, 2006.

CALIJURI, M. C.; ALVES, M. S. A.; SANTOS, A. C. A. **Cianobactérias em águas continentais**. São Carlos: Rima, 2006.

CALOW, P. **Handbook of ecotoxicology**. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1993.

CAMPBELL, D. L.; LAWTON, L.A.; BEATTIE, K. A., CODD, G. A. Comparative assessment of the specificity of the brine shrimp and Microtox Assays to hepatotoxic (microcystin-LR-containing) cyanobacteria. **Environ. Toxicol. Water Qual.**, v. 9, p. 71-77, 1994.

CAMPINAS, M.; ROSA, M. J. Evaluation of cyanobacterial cells removal and lysis by ultrafiltration. **Sep. Purif. Technol.**, v. 70, p. 345-353, 2010.

CARMICHAEL, W. W. Cyanobacteria secondary metabolites-The Cyanotoxins. **J. Appl. Bact.**, n. 72, p. 445-459, 1992.

CARMICHAEL, W. W. The toxins of Cyanobacteria. **Scient. Amer.**, v. 270, p. 78-86, 1994.

CAVALCANTE-SILVA, E.; ARRUDA-NETO, J. D. T.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C., HEREMAN, T. C., ARTHUR, V. E ANDRETTE, R. O. **Rev. Latinoam. Biotecnol. Ambient. Algal**, v. 1, p. 135-142, 2011.

CHRISTOFFERSEN, K. Ecological implications of cyanobacterial toxins in aquatic food webs. **Phycologia**, v. 35, p.42–50, 1996.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. Toxic Cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. World Health Organization. **Guidelines for drinking quality**. ed. Geneve: 1999.

CODD, G. A. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. **Ecol. Eng.**, v. 16, p. 51-60, 2000.

COÊLHO, S. N. A Água de Caruaru. **Rev. virtual de Medicina**, v. 1, n.3, 1998. Disponível em: <http://www.medonline.com.br/med_ed/med3/microscis.htm>. Acesso em: 08 maio 2010.

COSTA, J. B. **Avaliação da adequabilidade de *kalliapseudes schubartii* Manejo Garzon, 1992 (Crustacea Tanaidacea) como organismo-teste para utilização em ensaios de toxicidade de sedimentos estuarinos**. Rio Grande: Monografia, Fundação Rio Grande, 1997.

DAI, R.; LIU, H.; QU, J.; ZHAO, X.; RU, J.; HOU, Y. Relationship of energy charge and toxin content of *Microcystis aeruginosa* in nitrogen-limited or phosphorous-limited cultures. **Toxicon**, v. 51, p. 649–658, 2008.

DEMOTT, W. R.; ZHANG, Q. X.; CARMICHAEL, W. W. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. **Limnol. Oceano.**, v. 36, p. 1346–1357, 1991.

DEMOTT, W. R. Foraging strategies and growth inhibition in five daphnids feeds on mixtures of a toxic cyanobacterium and green alga. **Freshw. Biol.**, v. 42, p. 263-274, 1999.

DUARTE, C. L.; GERALDO, L. L.; JUNIOR, O. A. P.; BORRELY, S. I.; SATOA, I. M.; SAMPA, M. H. O. Treatment of effluents from petroleum production by electron beam irradiation. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 71, p. 443–447, 2004.

ERIKSON, J. E.; GRONBERG, L.; NYGARD, S.; SLOTTE, J. P.; MERILUOTO, J. A. O. Hepatocellular uptake of 3H- dihydromicrocystin-LR a cyclic peptide toxin. **Biochem. Biophys. Acta**, v. 1025, p. 60-66, 1990.

FALCONER, I. R. Tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria. **Environ. Tox. Water Qua.**, n. 6, p. 177-184, 1991.

FAROOQ, S.; KURUCZ, C. N.; WAITE, D. W.; COOPER, W. Desinfection of waste waters: high energy electron and gamma irradiation. **Water Res.** v. 27, p. 432-438, 1993.

FERRÃO-FILHO, A. S.; KOZLOWSKY-SUZUKI, B.; AZEVEDO, S. M. F. O. Accumulation of microcystins by a tropical zooplankton community. **Aquatic Toxicology**, v. 59, p. 201–208, 2002.

FERRÃO-FILHO, A.; SOARES, M. C.; MAGALHÃES, V. F.; AZEVEDO, S. M. F. O. Biomonitoring of cyanotoxins in two tropical reservoirs by cladoceran toxicity bioassay. **Ecotox. Environ. Safe.**, v. 72, p. 479-489, 2009.

GAJDEK, P.; LECHOWSKI, Z.; BOCHNIA, T.; KEPEZNSKI, M. Decomposition of microcystin-LR by Fenton oxidation. **Toxicon**, v. 39, n. 10, p. 1575-1578, 2001.

GARCIA, E. A. C. **Biofísica**. São Paulo: Sarvier, 2001, Cap. 18, p. 323-350.

GASPARETTO, A. **Virulência de amostras orais de *Cândida albicans*: novas abordagens metodológicas no estudo da produção de exoenzimas, aderência, formação de biofilme e influência de campos magnéticos**. 79f., 2003. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

GAO, K.; YU, H.; BROWN, M. T. Solar PAR and UV radiation affects the physiology and morphology of the cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120. **J. Photochem. And Photobiol.**, n. 89, p. 117-124, 2007.

GAO, K.; LI, P.; WATANABE, T.; HELBLING, W. Combined effects of ultraviolet radiation and temperature on morphology, photosynthesis and DNA of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* (Cyanophyta). **J. Phycol.**, n. 44, p. 777-786, 2008.

GER, K. A.; TEH, S. J.; GOLDMAN, C. R. Microcystin-LR toxicity on dominant copepods *Eurytemora affinis* and *Pseudodiaptomus forbesi* of the upper San Francisco Estuary. **Sci. Total Environ.**, v. 407, p. 4852-4857, 2009.

GORHAM, P. R.; MCLACHLAN, J.; HAMMER, U. T.; DIM, W. K. Isolation and culture of toxic strain of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) de Bréb. **Verh. Int. Ver. Limnol.**, v. 15, p. 796-804, 1964.

GOUVÊA, S. P.; BOYER, G. L.; TWISS, M. R. Influence of ultraviolet radiation, copper, and zinc on microcystin content in *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria). **Harmful Algae**, v. 7, p. 194-205, 2008.

GRANT, I. R.; PETERSON, M. F. Combined effect of gamma radiation and heating on the destruction of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in cook-chill roast beef and gravy. **Int. J. Food Microbiol.**, n. 27, p. 117-128, 1995.

GREEN, A. S.; CHANDLER, G. T.; PIEGORSCH, W. W. Life-stage-specific toxicity of sediment-associated chlorpyrifos to a marine copepod. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 15, p. 1182-1188, 1996.

GUILLARD, R. R. L. Division rates. In: STEIN, J.R. **Handbook of phycoecological methods: Culture methods and growth measurements**. London: Cambridge University Press, 1973. p. 289-311.

GUVEN, R. G.; GUVEN, K.; DAWE, A.; WORTHINGTON, J.; HARVELL, C.; POPPLE, A.; SMITH, B. POMERAI, D. I. Effects of radio-frequency fields on bacterial cell membranes and nematode temperature-sensitive mutants. **Enz. Microb. Tech.**, v. 39, p. 1-8, 2006.

HALL, E. **Radiobiology for the radiologist**. 4th ed. New York: Lippincott Williams e Wilkins, 1994. cap. 1, p. 8-11.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURFTON, R. B. Trimmed Spearman-Kärber methods for estimating median lethal concentration in toxicity bioassay. **Environ. Sci. Technol.**, v. 11, p. 714-719, 1977.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Paleontological Electronic**, v. 4, p. 2001.

HEBERT, P. D. N. The population biology of *Daphnia* (Crustacea, Daphnidae). **Biol. Rev.**, v. 53, p. 387–426, 1978.

HEREMAN, T. C.; ARRUDA-NETO, J. D. T.; CAVALCANTE-SILVA, E.; RODRIGUES, T. E.; BUCH, B.; ARTHUR, V.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C. Survival of the toxic cyanobacterium *Microcystis panniformis* Komárek *et al.* following treatments with gamma radiation and heating. **Biotechnology**, n. 4, p. 604-605, 2007.

HOEGER, S. J.; HITZFELD, B. C.; DIETRICH, D. R. Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins on drinking water treatment plants. **Toxicol. Appl. Pharm.**, v. 203, p. 231-242, 2005.

HOOSER, S. B.; BEASLEY, V. R.; WAITE, L. L.; KUKLENSCHMIDT, M. S.; CARMICHAEL, W. W.; HASCHEK, W. M. Actin filament alterations in rat hepatocytes induced in vivo and in vitro by microcystin-LR, a hepatotoxin from the blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. **Veter. Pathol.**, n. 28, p. 259-266, 1991.

HULSHEGER, H.; POTEL, J.; NIEMANN, E. G. Killing of bacteria with electric pulses of high field strength. **Radiat. Environ. Biophys.**, n. 20, p. 53–65, 1981.

HURTADO, I.; ABOAL, M.; ZAFRA, E.; CAMPILLO, D. Significance of microcystin production by benthic communities in water treatment systems of arid zones. **Water Res.**, v. 42, p. 1245-1253, 2008.

HYENSTRAND, P.; ROHRLACK, T.; BEATTIE, A.; METCALF, J. S.; CODD, G. A.; CHRISTOFFERSEN, K. Laboratory studies of dissolved radiolabelled microcystin-LR in lake water. **Water Res.**, v. 37, p. 3299-3306, 2003.

IMAMURA, M.; SAWADA, S.; KASAHARA-IMAMURA, M.; HARIMA, K.; HARADA, K. Synergistic cell-killing effect of a combination of hyperthermia and heavy ion beam irradiation: In expectation of a breakthrough in the treatment of refractory cancers (Review). **Int. J. Mol. Medic.**, n. 9, p. 11-18, 2002.

ISOBE, S.; ISHIDA, N.; KOIZUMI, M.; KANO, H.; HAZLEWOOD, C. F. Effect of electric field on physical of cell-associated water in germination morning glory seeds observed by H-NMR. **Biochem. Biophys. Acta**, v. 1426, p. 17-31, 1999.

IWASAKA, M.; IKEHATA, M.; MIYAKOSHI, J.; UENO, S. Strong static field effects on yeast proliferation and distribution. **Bioelectrochemistry**, v. 65, p. 59-68, 2004.

JI, Y.; Jun-Li HUANG; JIAO, F.; MING-SONG, W.; CHONG-WEI, CUI. Degradation of microcystin-RR in water by chlorine dioxide. **J. China Univ. Mining. Technol.**, v. 18, p. 623–628, 2008.

JIANG, Y.; JI, B.; WONG, R. N. S. ; WONG, M. H. Statistical study on the effects of environmental factors on the growth and microcystins production of bloom-forming cyanobacterium-*Microcystis aeruginosa*. **Harmful Algae**, n. 7, p. 127-136, 2008.

JOCHIMSEN, E. M.; CARMICHAEL, W. W.; NA, J.; CARDO, D. M.; COOKSON, S. T.; HOLMES, C. E. M.; ANTUNES, B. C.; MELO FILHO, D. A; LYRA, T. M.; BARRETO, V. S. T.; AZEVEDO, S. M. F. O; JARVIS, W. R. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. **New Engl. J. Med.**, n. 338, p. 873-878, 1998.

JONES, G. J.; BOURNE, D. G.; BLAKELEY, R. L.; DOELLE, H. **Nat. Toxins**, v. 2, p. 228-235, 1994.

JUNGSMANN, D. Toxic compounds isolated from PCC7806 that are more active to *Daphnia* than two microcystins. **Limnol. Oceanogr.** v. 37, p. 1777-1793, 1992.

KAPPERS, F. I. **On population dynamics of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa***. 1984, 176 p., Ph. D. Thesis Amsterdam University.

KERMANSHAHI, R. K.; SAILANI, M. R. Effect of static electric field treatment on multiple antibiotic-resistant pathogenic strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **J. Microbiol. Immunol Infect** , v. 3, p. 394-398, 2005.

KIM, J. O.; JUNG, J. T.; YEOM, I. T.; AOH, G. H. Electric field treatment for the reduction of membrane fouling, the inactivation of bacteria and the enhancement of particle coagulation. **Desalination**, v. 202, p. 31-37, 2007.

KIRSON, E. D.; GURVICH, Z.; SCHNEIDERMAN, R.; DEKEL, E.; ITZHAKI, A.; WASSERMAN, Y.; SCHATZBERGER, R.; AND PALT, Y. Disruption of cancer cell replication by alternating electric field. **Cancer Res.**, v. 64, p. 3288-3295, 2004.

KNOLL, G. F. **Radiation Detection and Measurement**. 3rd ed., New York, John Wiley, 2000.

KOMÁREK, J.; KOMÁRKOVÁ-LEGNEROVÁ, J.; SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P.; SENNA, P. A. C. Two common *Microcystis* species from tropical América. **Cryptogamie Algol.**, v. 23, p. 159-177, 2002.

KRAUS, M. Resistance of blue-green algae to ⁶⁰CO gamma radiation. *Radiation Botany*. **Perg. Press**, v. 9, p. 481- 489, 1969.

KUBWABO, C.; VAIS, N.; BENOIT, F. M. Characterization of microcystins using in-source collision-induced dissociation. **Rapid Commun. Mass Spectrom.**, v. 19, p. 597–604, 2005.

KURUCZ, C. N.; WAITE, T. D.; COOPER, W. J.; NICKELSEN, M. G. High energy electron beam irradiation of water, wastewater and sludge. In Adv. Nuclear Sci and Technol. (Lewins J. and Becker M., E ds). **Plen. Press**, v. 45, p. 1-43., 1992.

KURUCZ, C. N.; WAITE, T. D.; COOPER, W. J. The Miami electron beam research facility: A large scale wastewater treatment application. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 45, n. 2, p. 299-308, 1995.

LAI, H.; SINGH, N. P. Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of rat. **Envir. Health Perspect.**, v. 112, p. 687-694, 2004.

LAMBERT, T. M.; BOLAND, M. P.; HOLMES, C. F. B.; HRUDEY, S. E. Quantitation of the microcystin hepatotoxins in water at environmentally relevant concentrations with the protein phosphate bioassay. **Environ. Sci. Technol.**, n. 28, p. 753-755, 1994.

LANKOFF, A.; BIALCZYK, J.; DZIGA, D.; CARMICHAEL, W. W.; GRADZKA, I.; LISOWSKA, H.; GOZDZ, S.; PIORUN, I.; WOJCIK, A. The repair of gamma-radiation-induced DNA damage is inhibited by microcystin-LR, the PP1 and PP2A phosphatase inhibitor. **Mutagenesis**, v. 21, p. 83-90, 2006.

LEE, R. E. **Phycology**. 4th ed., New York, Cambridge, 2008.

LEMES, G. A. F.; KERSANACH, R.; PINTO, L. S.; DELLAGOSTIN, O. A.; YUNES, J. S.; MATTHIENSEN, A. Highlighted article Biodegradation of microcystins by aquatic Burkholderia sp. from a South Brazilian coastal lagoon. **Ecotox. Environ. Safe.**, v. 69, p. 358-365, 2007.

LI, Z. Y.; GUO, S. Y.; LI, L.; CAI, M. Y. Effects of electromagnetic field don the bath cultivation and nutricional composition of *Spirulina platenses* in ana ir-lift photobioreactor. **Bio Technol.**, v. 98, p. 1-6, 2006.

LINDSAY, J.; METCALF, J. S.; CODD, G. A. Protection against the toxicity of microcystin-LR and cylindrospermopsin in *Artemia salina* and *Daphnia* spp. by pre-treatment with cyanobacterial lipopolysaccharide (LPS). **Toxicon**, v. 48, p. 995-1001, 2006.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

LÜRLING, M. *Daphnia* growth on microcystin-producing and microcysitn-free *Microcystis aeruginosa* in different mixtures with the green alga *Scenedesmus obliquus*. **Limnol. Oceanog.**, v. 48, p. 2214-2220, 2003.

McELHINEY, J.; LAWTON, L. A. Detection of the cyanobacterial hepatotoxins microcystins. **Toxicol. Appl. Pharm.**, v. 203, p. 219-230, 2005.

MACKINTOSH, C.; MACKINTOSH, R. W. The inhibition of protein phosphatases by toxins: implications for health and an extremely sensitive and rapid bioassay for toxin detection. In: CODD, G. A.; JEFFERIES, T. M.; KEEVIL, C. W.; POTTER, E. **Detection Methods for Cyanobacterial Toxins**. Cambridge, The Royal Society of Chemistry, 1994, p. 90-99.

MACKINTOSH, C.; BEATTIE, K.A.; KLUMPP, S.; COHEN, P.; CODD G. Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2 A from both mammals and higher plants. **Febs Letters**, v. 2, p. 187-192, 1990.

MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO-FILHO, A. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Brasil.**, v. 12, p. 355-381, 2008.

MASSARO, F. C. **Estudo Ecotoxicológicos com Hydra viridissima (Cnidaria: Hydrozoa)**. 2006, 95 f. Dissertação (Mestrado) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006.

MEREL, S.; CLÉMENT, M.; THOMAS, O. State of the art on cyanotoxins in water and their behaviour towards chlorine **Toxicon**, v. 55, p. 677-691, 2010.

METCALF, J. S.; LINDSAY J.; BEATTIE, K. A.; BIRMINGHAM, S.; SAKER, M.L.; TOROKNE, A. K.; CODD, G. A. Toxicity of Cylindrospermopsin to the Brine Shrimp *Artemia Salina*: Comparisons With Protein Synthesis Inhibitors and Microcystins. **Toxicon**, v. 40, p. 1115-1120, 2002.

MIAO, H.; TAO, W. The mechanisms of ozonation on cyanobacteria and its toxins removal. **Separat. Purific. Technol.**, v. 66, p. 187-193, 2009.

MOHAMED, Z. A. Accumulation of cyanobacterial hepatotoxins by *Daphnia* in some Egyptian irrigation canals. **Ecotox. Environ. Safe.**, v. 50, p. 4–8, 2001.

MOMANI, F. A.; SMITH, D. W.; EL-DIN, M. G. Degradation of cyanobacterial toxin by advanced oxidation processes. **J. Haz. Mat.**, v. 150, p. 238-249, 2008.

NOCI, F.; WALKING-RIBEIRO, M.; CRONIN, D. A.; MORGAN, D. J.; LYNG, J. G. Effect of thermosonication. Pulsed electric field and their combination on inactivation of *Listeria innocua* in milk. **Int. Dairy J.**, v. 19, p. 30-35, 2009.

OKANO, K.; SHIMIZU, K.; KAWAUCHI, Y.; MASEDA, H.; UTSUMI, M; ZHANG, Z.; NEILAN, B. A.; SUGIURA, N. Characteristics of a microcystin-degrading bacterium under alkaline environmental conditions. **J. of Toxicol.**, v. 2009, p. 1-8, 2009.

OKUMURA, D. T.; SOTERO-SANTOS, R. B.; TAKENAKA, R. A.; ROCHA, O. Evaluation of cyanobacteria toxicity in tropical reservoirs using crude extracts bioassay with cladocerans. **Ecotoxicology**, v. 16, p. 263-270, 2007.

OKUMURA, D. T. **Estudos ecotoxicológicos com as espécies *Argyrodiaptomus furcatus* e *Notodiaptomus iheringi* (Copepoda, Calanoida)**. 2011. 312 f. Tese (Doutorado), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2011.

PENNAK, R. W. **Fresh-water invertebrates of the United States**. New York: The Ronald Press Company, 1953.

POSNER, H. B.; SPARROW, A. H. Survival of *Chlorella* and *Chlamydomonas* after acute and chronic gamma radiation. **Radiat. Botany**, v. 4, p. 253-257. 1963.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of Aquatic toxicology: methods and applications**. Washington, USA: Hemispheres Publishing, 1985.

RAQUEL M. SOARES, R. M.; MAGALHAES, V. F.; AZEVEDO, S. M. F. O. Accumulation and depuration of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) in *Tilapia rendalli* (Cichlidae) under laboratory conditions. **Aquat. Toxicol.**, v. 70, p. 1–10, 2004.

REYNOLDS, C. S.; JAWORSKI, G. H. M.; CMIECH, H. A.; LEEDALE, G. F. On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kütz. Emend. Elenkin. **Phil. Trans. Royal Soci. London**, v. 293, p. 419-477, 1981.

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. B.; HERDMAN, M.; STANIER, R.Y. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **J. Gen. Microbiol.**, n. 111, p. 1-61, 1979.

ROBERTSON, P. K. J.; LAWTON, L. A.; MUNCH, B.; ROUZADE, J. Destruction of cyanobacterial toxins by semiconductor photocatalysis. **Chem. Commun.**, n. 4, p. 393-394, 1997.

ROCHA, O.; SOTERO-SANTOS, R. B.; MINILLO, A.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; YUNES, J. S. Cianotoxicidade em águas doces tropicais: O impacto da eutrofização. In: **Eutrofização na América do Sul: Causas, consequências e tecnologias de gerenciamento e controle**. ESPÍNDOLA, E.L.G.; BOTTA-PASCHOAL, C.M.R.; ROCHA, O.; BOHRER, M.B.C.; OLIVEIRA-NETO, A. L. São Carlos: Rima, 2006, p. 337-352.

RODRIGO, D.; RUÍZ, P.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; MARTÍNEZ, A.; RODRIGO, M. Kinetic model for the inactivation of *Lactobacillus plantarum* by pulsed electric fields. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 81, p. 223-229, 2003.

RODRIGUES T. E. et al., **Phys. Rev.**, v. 68, 2003.

ROGERS, L. J.; GALLON, J. R. **Biochemistry of the algae and cyanobacteria**. New York : Clarendon Press: Oxford University Press, 1988.

ROGOVSCHI, V. D.; AQUINO, S.; ZORZETE, P.; REIS, T. A.; CORRÊA, B.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H. **Use of gamma radiation and electron beam treatment on decontamination of coconut agar medium used in the production of aflatoxins**. AccApp, Pocatello, Idaho, p. 102-103, 2007.

ROHRLACK, T.; DITTMANN, E.; HENNING, M.; BORNER, T.; KOHL, J. G Role of Microcystins in Poisoning and Food Ingestion Inhibition of *Daphnia galeata* Caused by the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **Appl. Environ. microb.**, v. 65, p. 737-739, 1999.

ROMANELLI, M. F.; MORAES, M. C. F.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; BORRELY, S. I. Evaluation of toxicity reduction of sodium dodecyl sulfate submitted to electron beam radiation. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 71, p. 409–411, 2004.

ROMANELLI, M. F.; SILVA, G. P.; BORRELY, S. I. Redução da toxicidade do surfactante LAS tratado com o feixe de elétrons. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 1, p. 103-107, 2006.

RUNNEGAR, M. T. C.; FALCONER, I. R.; SILVER, J. Deformation of isolated rat hepatotoxin from the blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. **Arch. Pharm.**, n. 317, p. 268-272, 1981.

SAITO, S.; ARIGA, H. Seasonal changes in the thermocline in lake Tsukui. **J. Jpn. Water Works Assoc.**, n. 63, p. 102-113, 1994.

SAMPA, M. H. O.; MORITA, D. M.; BORRELY, S. I. Utilização de feixes de elétrons de alta energia gerado em acelerador, no tratamento de águas de abastecimento e residuárias, v. 341, p. 1-16, 1991

SHAMSUZZAMAN, K. Effects of Combined Heat and Radiation on the Survival of *Clostridium sporogenes*. **Radiat. Phys. Chem.** n. 1-3, p. 187-193, 1988.

SIEJAK, P.; FRACKOWIAK, D Interactions between colloidal silver and photosynthetic pigments located in cyanobacteria fragments and in solution. **J. Photochem. Photobiol. B: Biology**, v. 88, p. 126–130, 2007.

SILVA-STENICO, M. E.; NETO, C. R.; ALVES, I. R.; MORAES, L. A. B.; SHISHIDO, T.; FIORE, M. F. Hepatotoxin microcystin-LR extraction optimization. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, p. 535-542, 2009.

SIMMONS, J. **Algal Control and destratification at Hanningfield reservoir**. Proceedings of AIWQ-IWSA Joint Conference on Reservoir Management and Water Supply, Prague, 1997.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. **Produção de plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos**. São Carlos: RiMa, 2003.

SOMMER, R.; PRIBIL, W.; APPELT, S.; GEHRINGER, P.; ESCHWEILER, H.; CABAJ, A.; HAIDER, T. Inactivation of bacteriophages in water by means of non-ionizing (UV-253.7) and ionizing (gamma) radiation: a comparative approach. **Water Res.**, v. 32, p. 3109-3116, 2001.

TAGHIPOUR, F. Ultraviolet and ionizing radiation for microorganism inactivation. **Water Res.**, n. 38, p. 940-948, 2004.

TAKENAKA, R. A. **Avaliação da toxicidade de *Microcystis aeruginosa* e de florações naturais de cianobactérias de reservatórios do rio Tietê, SP**. 2007. 362 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

TEIXEIRA, M. G. L. C.; COSTA, M. C. N.; CARVALHO, V. L. P.; PEREIRA, M. S.; HAGE, E. Gastroenteritis in the área of the Itaparica, Bahia, Brasil. **Bulletin of PAHO**, n. 27, p. 244-253, 1993.

THOMPSON, J. A.; BLATCHLEY, E. R. Gamma radiation for inactivation of *C. Parvum*, *E. Coli* and Coliphage MS-2. **J. Environ.**, n. 126, p. 761-768, 2000.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: objects, principles and perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.1, p. 265-271, 1997.

TOEPFL, S.; HEINZ, V.; KNORR, D. High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. **Chem. Eng. Process.**, v. 46, p. 537-546, 2007.

TUCCI, C. E. M. Águas urbanas. **Estudos Avançados**, v. 22, p. 97-130, 2008.

TUNDISI, J.G. **Água no século XXI: Enfrentando a escassez**. São Carlos: RiMa, 2003. cap. 5, 67-81 p.

TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008.

UENO, Y.; NAGANATA, S.; TSUTSUMI, T.; HAEGAWA, A.; WATANABE, M. F.; PARK, H. D.; CHEN, G.; YU, S. Z. Detection of microcystin, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic áreas of primary liver câncer in China, by highly sensitive immunoassay. **Carcinogenesis**, v. 17, p. 1317-1321, 1996.

VASCONCELOS, V. M.; PEREIRA, E. Cyanobacteria diversity and toxicity in a wastewater treatment plant (Portugal). **Water Res.**, v. 35, n. 5, p. 1354-1357, 2001.

WATANABE, M. F.; HARADA, K.; CARMICHAEL, W. W.; FUJIKI, H. **Toxic *Microcystis***. Florida: CRC Press, 1996.

WHITTON, B. A.; POTTS, M. **The Ecology of Cyanobacteria**. Oxford: Kluwer Academic Publishers, cap. 1 e 22, p. 591-611, 2000.

YAMADA, T.; FUJIMOTO, Y.; YAMAMOTO, Y., MACHIDA, K. I.; ODA, M. MAKOTO; USAMI, S.; NAKAYAMA, IHIROSH Minichromosome formation in *Chlorella* cells irradiated with electron beams **J. Biosci. Bioeng.**, v. 95, p. 601-607, 2003.

YOO, R. S.; CARMICHAEL, W. W.; HOEHN, R. C.; HRUDEY, S. E. **Cyanobacterial (bluegreen algal) toxins: a resource guide**. AWWA. Research Foundation and American Water Works Association, 1995, 229 p.

YUAN, M.; CARMICHAEL, W. W.; HILBORN, E. D. *Microcystis* analysis in human sera and liver from human fatalities in Caruaru, Brazil 1996. **Toxicon**, v. 48, p. 627-640, 2006.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. 2 ed. RiMa: São Carlos, 2008.

ZAMANI-NOOR, F.; ONLEY, D. S. Calculation of the virtual photon spectrum for a finite nucleus in distorted wave methods. **Comp. Phys. Comm.**, v. 48, p. 241-253, 1988.

ZAMBONI, A. J. **Avaliação da qualidade de água e sedimentos do canal de São Sebastião, por meio de testes de toxicidade com *Litechinus variegatus* (Echinodermata-Echinodea)**. 1993. 193 f. Dissertação (Mestrado) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.

ZHANG, J. B.; ZHENG, Z.; YANG, G. J.; ZHAO, Y. F. Degradation of microcystin by gamma irradiation **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment**, v. 580, p. 687–689, 2007

ZHU, Z.; ZHONG, X.; ZHENG, S.; GE, Z.; DU, Q.; ZHANG, S. Transfomation of immortalized colorectal crypt cells by microcystin involving constitutive action of MAPK cascade. **Carcinogenesis**, v. 26, p. 1207-1214, 2005.

ZIMMERMANN, U. Electrical breakdown, electroporabilization and electrofusion. **Reviews of Physiol. Biochem. Pharmac.**, n. 105, p. 176–256, 1986.

ZUKOV, G.; KOLLAR, J.; MONTEITH, H. D.; HO, K. W. A; ROSS, S. A. Desinfection of low quality wastewaters by ultraviolet light irradiation. **J. Water Pollut. Control Fed.**, v. 58, p. 199-206, 1986.

APÊNDICE A

Definições dos termos utilizados neste estudo

Dois procedimentos distintos foram realizados para avaliar a atenuação da microcistina através da aplicação de radiação ionizante, e duas expressões foram utilizadas neste estudo: “amostras sonicadas” e “amostras não sonicadas”.

Amostra sonicada contempla às seguintes etapas:

- a) Pesar material liofilizado em balança de precisão (100 mg);
- b) Adicionar 1 Litro de água destilada;
- c) Homogeneizar a solução;
- d) Utilizar sonificador de ponteira para romper a membrana celular da cianobactéria;
- e) Centrifugar solução, aproveitar o sobrenadante, descartar o *pellet* e
- f) **Irradiar solução** (Figura A 11).

Obs. – sonicação ANTES da irradiação

Figura A. 11 - Etapas referentes ao procedimento da amostra sonicada. a) Pesar material liofilizado; b) Adicionar água destilada; c) Homogeneizar solução; d) Sonicar amostra; e) Centrifugar solução; e f) Irradiação

Fonte: a) <http://www.balancasprodigital.com.br/loja/produtos/balan%C3%A7a%20de%20precis%C3%A3o%20AL200C%20AL500C.jpg>; c, e f - E. Cavalcante –Silva 2010; d- <http://www.inilab.es/equipos/agitadores/imagenAgit/20701.jpg>

Amostra NÃO sonicada refere-se às seguintes etapas:

- a) Pesar material liofilizado em balança de precisão (100 mg);
- b) Adicionar 1 Litro de água destilada;
- c) Homogeneizar a solução;
- d) Irradiar solução;**
- e) Utilizar sonicator de ponteira para romper à membrana celular; e

f) Centrifugar solução, aproveitar o sobrenadante e descartar o *pellet* (Figura A 12).

Obs. – sonicação APÓS a irradiação.

Figura A 12 - Etapas referentes ao procedimento da amostra não sonicada. a) Pesar material liofilizado; b) Adicionar água destilada; c) Homogeneizar solução; d) Irradiação; e) Sonicar amostra; e f) Centrifugar solução

Fonte: a <http://www.balancasprodigital.com.br/loja/produtos/balan%C3%A7a%20de%20precis%C3%A3o%20A200C%20AL500C.jpg>; c, d f - E. Cavalcante –Silva, 2010;

e- <http://www.inilab.es/equipos/agitadores/imagenAgit/20701.jpg>

APÊNDICE B - Testes de Sensibilidade

Tabela B1 – Valores da concentração efetiva mediana – CE₅₀-48h de cloreto de sódio (NaCl) obtidos nos testes de sensibilidade para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera)

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS cm ⁻¹		Dureza mg CaCO ₃ L ⁻¹		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,59	7,64	-	-	54	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
0,3	24	-	-	-	-	-	-	7,52	7,63	-	-	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
0,6	24	-	-	-	-	-	-	7,54	8,31	-	-	50	-	
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%							
1,0	24	-	-	-	-	-	-	7,52	8,45	-	-	48	-	
	48	2/5	2/5	3/5	3/5	10/20	50%							
1,3	24	-	-	-	-	-	-	7,55	8,45	-	-	48	-	
	48	3/5	2/5	5/5	5/5	15/20	75%							
1,6	24	-	-	-	-	-	-	7,53	8,21	-	-	46	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
2,2	24	-	-	-	-	-	-	7,65	8,15	-	-	46	-	
	48	5/5	5,5	5/5	5/5	5/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	---					Material: Cloreto de sódio (NaCl)							
g L ⁻¹	48	0,97 (0,86 – 1,08)					Teste: definitivo 1					Solução-estoque: 10 g L ⁻¹		
							Data início: 25.12.2009					Data término: 27.12.2009		

Tabela B2 – Valores da concentração efetiva mediana – CE₅₀-48h de cloreto de sódio (NaCl) obtidos nos testes de sensibilidade para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera)

Organismo-teste								Características						
Concentrações	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>							pH		Condutividade μS cm ⁻¹		Dureza mgCaCO ₃ L ⁻¹		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,80	7,72	-	-	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
0,3	24	-	-	-	-	-	-	7,75	7,69	-	-	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
0,6	24	-	-	-	-	-	-	7,74	7,74	-	-	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
1,0	24	-	-	-	-	-	-	7,71	7,70	-	-	52	-	
	48	3/5	3/5	2/5	3/5	11/20	55%							
1,3	24	-	-	-	-	-	-	7,74	7,70	-	-	48	-	
	48	2/5	3/5	3/5	4/5	12/20	60%							
1,6	24	-	-	-	-	-	-	7,69	7,70	-	-	46	-	
	48	5/5	4/5	5/5	5/5	19/20	95%							
2,2	24	-	-	-	-	-	-	7,72	7,70	-	-	44	-	
	48	5/5	5,5	5/5	5/5	5/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	---					Material: Cloreto de sódio (NaCl)							
g L ⁻¹	48	1,03 (0,93 – 1,14)					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 10 g L ⁻¹			
							Data início: 29.12.2009				Data término: 31.12.2009			

Tabela B3 – Valores da concentração efetiva mediana – CE₅₀-48h de cloreto de sódio (NaCl) obtidos nos testes de sensibilidade para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera)

Organismo-teste								Características						
Concentrações	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>							pH		Condutividade μS cm ⁻¹		Dureza mg CaCO ₃ L ⁻¹		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,44	7,32	-	-	46	-	
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%							
0,3	24	-	-	-	-	-	-	7,31	7,39	-	-	44	-	
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%							
0,6	24	-	-	-	-	-	-	7,28	-	-	-	42	-	
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%							
1,0	24	-	-	-	-	-	-	7,31	7,39	-	-	44	-	
	48	1/5	2/5	2/5	2/5	7/20	35%							
1,3	24	-	-	-	-	-	-	7,31	7,37	-	-	42	-	
	48	4/5	5/5	5/5	4/5	19/20	95%							
1,6	24	-	-	-	-	-	-	7,20	7,30	-	-	38	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
2,2	24	-	-	-	-	-	-	7,24	7,32	-	-	40	-	
	48	5/5	5,5	5/5	5/5	5/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	---					Material: Cloreto de sódio (NaCl)							
g L ⁻¹	48	1,00 (0,91 – 1,10)					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 10 g L ⁻¹			
							Data início: 16.01.2010				Data término: 18.01.2010			

Tabela B4 – Valores da concentração efetiva mediana – CE₅₀-48h de cloreto de sódio (NaCl) obtidos nos testes de sensibilidade para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera)

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS cm ⁻¹		Dureza mg CaCO ₃ L ⁻¹		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,50	-	-	-	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
0,3	24	-	-	-	-	-	-	7,50	-	-	-	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
0,6	24	-	-	-	-	-	-	7,49	-	-	-	50	-	
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%							
1,0	24	-	-	-	-	-	-	7,49	-	-	-	48	-	
	48	2/5	1/5	0/5	1/5	4/20	20%							
1,3	24	-	-	-	-	-	-	7,50	-	-	-	46	-	
	48	4/5	5/5	3/5	4/5	16/20	80%							
1,6	24	-	-	-	-	-	-	7,53	-	-	-	46	-	
	48	5/5	5/5	4/5	5/5	19/20	95%							
2,2	24	-	-	-	-	-	-	7,56	-	-	-	44	-	
	48	5/5	5,5	5/5	5/5	5/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	---					Material: Cloreto de sódio (NaCl)							
g L ⁻¹	48	1,09 (0,98 – 1,21)					Teste: definitivo 4					Solução-estoque: 10 g L ⁻¹		
							Data início: 19.01.2010					Data término: 21.01.2010		

Tabela B5 – Valores da concentração efetiva mediana – CE₅₀-48h de cloreto de sódio (NaCl) obtidos nos testes de sensibilidade para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera)

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS cm ⁻¹		Dureza mg CaCO ₃ L ⁻¹		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,61	7,66	-	-	52	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
0,3	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
0,6	24	-	-	-	-	-	-	7,62	7,61	-	-	48	-	
	48	0/5	0/5	1/5	2/5	3/20	15%							
1,0	24	-	-	-	-	-	-	7,59	7,61	-	-	48	-	
	48	2/5	2/5	3/5	2/5	9/20	45%							
1,3	24	-	-	-	-	-	-	7,57	7,60	-	-	52	-	
	48	3/5	5/5	4/5	4/5	16/20	80%							
1,6	24	-	-	-	-	-	-	7,65	7,57	-	-	52	-	
	48	5/5	4/5	5/5	5/5	19/20	95%							
2,2	24	-	-	-	-	-	-	7,59	7,58	-	-	48	-	
	48	5/5	5,5	5/5	5/5	5/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	---					Material: Cloreto de sódio (NaCl)							
g L ⁻¹	48	0,93 (0,81 – 1,06)					Teste: definitivo 5					Solução-estoque: 10 g L ⁻¹		
							Data início: 01.03.2010					Data término: 03.03.2010		

Tabela B6 – Valores da concentração efetiva mediana – CE₅₀-48h de cloreto de sódio (NaCl) obtidos nos testes de sensibilidade para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera)

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS cm ⁻¹		Dureza mg CaCO ₃ L ⁻¹	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	44	-
	48	0/5	1/5	0/5	1/5	2/20	10%	-	7,12	-	-	44	-
0,3	24	-	-	-	-	-	-	-	7,08	-	-	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	-	-	-	-	44	-
0,6	24	-	-	-	-	-	-	-	7,13	-	-	44	-
	48	1/5	0/5	1/5	0/5	2/20	10%	-	-	-	-	44	-
1,0	24	-	-	-	-	-	-	-	7,15	-	-	46	-
	48	2/5	3/5	2/5	2/5	9/20	45%	-	-	-	-	46	-
1,3	24	-	-	-	-	-	-	-	7,15	-	-	52	-
	48	3/5	3/5	3/5	4/5	13/20	65%	-	-	-	-	52	-
1,6	24	-	-	-	-	-	-	-	7,41	-	-	48	-
	48	5/5	4/5	4/5	4/5	17/20	75%	-	-	-	-	48	-
2,2	24	-	-	-	-	-	-	-	7,42	-	-	46	-
	48	5/5	5,5	5/5	5/5	5/20	100%	-	-	-	-	46	-
CE50 (IC 95%)	24	---						Material: Cloreto de sódio (NaCl)					
g L ⁻¹	48	1,07 (0,94 – 1,21)						Teste: definitivo 6		Solução-estoque: 10 g L ⁻¹			
								Data início: 06.03.2010		Data término: 08.03.2010			

Tabela B7 – Valores da concentração efetiva mediana – CE₅₀-48h de cloreto de sódio (NaCl) obtidos nos testes de sensibilidade para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera)

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade µS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,39	-	-	-	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
0,3	24	-	-	-	-	-	-	7,18	-	-	-	44	-
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%						
0,6	24	-	-	-	-	-	-	7,15	-	-	-	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
1,0	24	-	-	-	-	-	-	7,20	-	-	-	46	-
	48	2/5	1/5	1/5	2/5	6/20	60%						
1,3	24	-	-	-	-	-	-	7,18	-	-	-	52	-
	48	4/5	4/5	5/5	2/5	15/20	75%						
1,6	24	-	-	-	-	-	-	7,20	-	-	-	42	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
2,2	24	-	-	-	-	-	-	7,21	-	-	-	38	-
	48	5/5	5,5	5/5	5/5	5/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	---						Material: Cloreto de sódio (NaCl)					
g L ⁻¹	48	1,08 (0,97 – 1,19)						Teste: definitivo 7					
								Data início: 13.04.2010					
								Data término: 15.04.2010					

Tabela B8 – Valores da concentração efetiva mediana – CE₅₀-48h de cloreto de sódio (NaCl) obtidos nos testes de sensibilidade para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera)

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade µS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,41	7,37	-	-	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
0,3	24	-	-	-	-	-	-	7,32	7,56	-	-	46	-	
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%							
0,6	24	-	-	-	-	-	-	7,29	7,45	-	-	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	2/5	0/20	15%							
1,0	24	-	-	-	-	-	-	7,28	7,53	-	-	46	-	
	48	3/5	2/5	1/5	1/5	7/20	35%							
1,3	24	-	-	-	-	-	-	7,27	7,75	-	-	42	-	
	48	4/5	4/5	3/5	3/5	14/20	70%							
1,6	24	-	-	-	-	-	-	7,24	7,81	-	-	40	-	
	48	5/5	4/5	5/5	3/5	18/20	90%							
2,2	24	-	-	-	-	-	-	7,24	7,82	-	-	40	-	
	48	5/5	5,5	5/5	5/5	5/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	---					Material: Cloreto de sódio (NaCl)							
g L ⁻¹	48	1,09 (0,98 – 1,21)					Teste: definitivo 8					Solução-estoque: 10 g L ⁻¹		
							Data início: 24.04.2010					Data término: 26.04.2010		

Tabela B9 – Valores da concentração efetiva mediana – CE₅₀-48h de cloreto de sódio (NaCl) obtidos nos testes de sensibilidade para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera)

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade µS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,41	7,37	-	-	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
0,3	24	-	-	-	-	-	-	7,32	7,56	-	-	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
0,6	24	-	-	-	-	-	-	7,29	7,45	-	-	44	-	
	48	0/5	0/5	1/5	1/5	2/20	10%							
1,0	24	-	-	-	-	-	-	7,28	7,53	-	-	48	-	
	48	2/5	3/5	3/5	2/5	10/20	50%							
1,3	24	-	-	-	-	-	-	7,27	7,75	-	-	48	-	
	48	2/5	5/5	2/5	4/5	13/20	65%							
1,6	24	-	-	-	-	-	-	7,24	7,81	-	-	46	-	
	48	5/5	5/5	5/5	4/5	19/20	95%							
2,2	24	-	-	-	-	-	-	7,24	7,82	-	-	46	-	
	48	5/5	5,5	5/5	5/5	5/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	---					Material: Cloreto de sódio (NaCl)							
g L ⁻¹	48	0,97 (0,85 – 1,11)					Teste: definitivo 9					Solução-estoque: 10 g L ⁻¹		
							Data início: 30.04.2010					Data término: 02.05.2010		

APÊNDICE C - Cepa não tóxica, não irradiada

Tabela C1 – Percentagem de imobilidade e valores de CE_{50} -48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp. e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

		Organismo-teste						Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade µS cm ⁻¹		Dureza mg CaCO ₃ L ⁻¹		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,51	7,52	146,9	127,4	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,41	7,52	126,0	123,2	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,44	119,8	113,7	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	7,46	106,0	105,7	32	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,92	7,35	79,6	87,6	30	-	
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,53	7,13	27,8	53,9	12	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica							
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 1					Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 03.05.2010					Data término: 05.05.2010		

Tabela C2 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp. e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,51	7,51	146,9	135,0	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,41	7,49	126,0	131,3	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,48	119,8	121,4	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	7,43	106,0	104,4	32	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,92	7,34	79,6	84,5	30	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	3/5	0/5	0/5	2/5	5/20	25%	6,53	7,09	27,8	47,1	12	-	
	48	3/5	3/5	0/5	3/5	9/20	45%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica							
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 03.05.2010				Data término: 05.05.2010			

Tabela C3 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp. e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,51	7,53	146,9	132,9	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,41	7,47	126,0	127,2	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,49	119,8	119,6	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	7,39	106,0	112,3	32	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,92	7,33	79,6	91,3	30	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,53	7,13	27,8	49,1	12	-	
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica							
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 03.05.2010				Data término: 05.05.2010			

Tabela C4 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp. e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,51	7,52	146,9	131,5	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,41	7,49	126,0	123,2	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,50	119,8	122,5	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	7,40	106,0	111,8	32	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,92	7,34	79,6	90,5	30	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,53	7,11	27,8	49,7	12	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica							
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹				
							Data início: 03.05.2010			Data término: 05.05.2010				

APÊNDICE D - Cepa não tóxica irradiada com Radiação Gama

Tabela D1 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>							pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,47	123,6	118,2	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	7,46	116,6	118,2	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,40	111,8	107,6	50	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	7,38	99,2	102,6	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,12	7,28	73,9	81,1	30	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,62	6,93	21,8	33,9	24	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				3 kGy	Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 09.04.2010				Data término: 11.04.2010			

Tabela D2 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,48	123,6	122,9	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	7,45	116,6	117,0	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,47	111,8	106,0	50	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	7,38	99,2	102,1	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%	7,12	7,23	73,9	80,1	30	-	
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,62	6,95	21,8	36,1	24	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				3 kGy	Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 09.04.2010				Data término: 11.04.2010			

Tabela D3 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,27	7,36	121,9	129,4	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,26	116,0	129,0	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,22	107,4	121,4	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	7,14	96,8	104,1	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,04	6,97	72,1	83,2	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,51	6,56	20,8	28,0	16	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				3 kGy	Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 10.04.2010				Data término: 12.04.2010			

Tabela D4 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,27	7,34	121,9	124,1	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,27	116,0	124,7	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	-	107,4	-	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	7,14	96,8	108,5	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,04	6,99	72,1	84,1	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,51	6,58	20,8	29,8	16	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				3 kGy	Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 4				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 10.04.2010				Data término: 12.04.2010			

Tabela D5 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,39	122,3	119,9	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,31	7,35	119,3	113,0	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,32	111,8	111,7	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	7,31	101,5	100,6	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,10	7,14	75,8	82,4	50	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,58	6,88	25,4	40,6	22	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				5 kGy	Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 09.04.2010				Data término: 11.04.2010			

Tabela D6 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,37	122,3	122,8	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,31	7,36	119,3	127,0	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,37	111,8	119,0	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	7,33	101,5	116,3	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,10	7,24	75,8	94,2	50	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,58	6,96	25,4	45,7	22	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				5 kGy	Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 09.04.2010				Data término: 11.04.2010			

Tabela D7 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,27	7,36	121,9	129,4	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,26	116,0	129,0	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,22	107,4	121,4	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	7,14	96,8	104,1	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,04	6,97	72,1	83,2	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,51	6,56	20,8	28,0	16	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				3 kGy	Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 10.04.2010				Data término: 12.04.2010			

Tabela D8 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,25	7,52	124,7	118,5	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,45	119,5	119,8	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,48	112,0	113,9	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,41	99,7	105,4	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,02	7,30	73,5	81,0	28	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,49	7,05	22,5	37,0	16	-	
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				5 kGy	Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 4				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 10.04.2010				Data término: 12.04.2010			

Tabela D9 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,02	7,46	124	127,2	44	-	
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,01	7,42	118	116,6	52	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,03	7,40	114,4	118,9	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,96	7,33	104,6	105,4	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,97	7,21	74,8	84,7	32	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,51	6,92	23,5	38,7	16	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				10 kGy	Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 09.04.2010				Data término: 11.04.2010			

Tabela D10 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,02	7,43	124	119,5	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,01	7,42	118	120,7	52	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,03	7,37	114,4	114,3	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,96	7,31	104,6	105,6	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,97	7,18	74,8	80,5	32	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,51	6,93	23,5	40,5	16	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				10 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 09.04.2010				Data término: 11.04.2010			

Tabela D11 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,28	121,9	125,5	52	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,28	115,6	119,5	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,26	113,2	114,5	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,20	99,3	103,8	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,00	7,11	74,7	84,4	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,50	6,83	23,4	40,1	20	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				10 kGy Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 11.04.2010				Data término: 13.04.2010		

Tabela D12 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade µS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,29	121,9	126	52	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,28	115,6	118,9	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,27	113,2	117,6	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,22	99,3	103,2	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,00	7,12	74,7	86,1	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,50	6,84	23,4	38,1	20	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				10 kGy Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 4				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 11.04.2010				Data término: 13.04.2010		

Tabela D13 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	-	121,1	151,6	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,28	7,28	119,9	138,3	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,23	111,1	127,8	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,16	102,2	116,1	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,04	7,04	75,1	88,3	36	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,55	6,63	22,7	31,2	24	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				15 kGy Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 10.04.2010				Data término: 12.04.2010		

Tabela D14 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,35	121,1	133,8	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,28	7,24	119,9	125,2	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,41	111,1	121,5	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,42	102,2	106,6	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,04	7,33	75,1	81,1	36	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,55	6,98	22,7	35,3	24	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				15 kGy Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 10.04.2010				Data término: 12.04.2010		

Tabela D15 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,45	124,1	128	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	7,43	118,4	120,6	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,27	7,41	111,3	112,3	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	7,40	96,7	103,5	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,01	7,29	71,7	82,5	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,49	7,00	21,8	34,3	14	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				15 kGy Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 11.04.2010				Data término: 13.04.2010		

Tabela D16 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,36	124,1	126,8	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	7,31	118,4	121,8	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,27	7,32	111,3	117,8	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	7,30	96,7	102,6	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,01	7,19	71,7	84,4	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,49	6,92	21,8	34,8	14	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				15 kGy Sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 4				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 11.04.2010				Data término: 13.04.2010		

Tabela D17 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,60	7,51	136,8	132,5	50	-
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,39	7,49	132,3	125,4	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,49	124,3	121,4	44	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,13	7,43	113,7	107,1	40	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,97	7,33	88,4	86,8	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,53	7,02	31,5	38,7	8	-
	48	0/5	2/5	0/5	1/5	3/20	15%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				3 kGy	Não sonificado	
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 22.04.2010				Data término: 24.04.2010		

Tabela D18 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>							pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,60	7,47	136,8	131,1	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,39	7,48	132,3	126,0	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,49	124,3	120,2	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,13	7,40	113,7	107,2	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,97	7,30	88,4	85,1	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,53	7,01	31,5	38,9	8	-
	48	1/5	0/5	0/5	1/5	2/20	10%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				3 kGy	Não sonicado	
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 22.04.2010				Data término: 24.04.2010		

Tabela D19 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,60	7,43	136,8	129,0	50	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,39	7,42	132,3	123,7	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,41	124,3	123,9	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,13	7,34	113,7	112,3	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,97	7,24	88,4	82,2	30	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,53	6,94	31,5	37,8	8	-	
	48	0/5	1/5	3/5	2/5	6/20	30%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				3 kGy	Não sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 22.04.2010				Data término: 24.04.2010			

Tabela D20 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,60	7,42	136,8	135,0	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,39	7,36	132,3	130,3	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,33	124,3	127,2	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,13	7,28	113,7	107,3	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,97	7,18	88,4	85,7	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,53	6,91	31,5	36,6	8	-
	48	0/5	2/5	2/5	1/5	5/20	25%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				3 kGy	Não sonicado	
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 4				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 22.04.2010				Data término: 24.04.2010		

Tabela D21 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,36	7,39	120,1	131,7	46	-
	48	0/5	1/5	1/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	7,37	114,5	123,7	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	7,36	110,0	117,6	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,16	7,31	98,4	106,2	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,23	74,0	87,1	28	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,57	6,84	23,1	45,3	10	-
	48	0/5	0/5	2/5	0/5	2/20	10%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				5 kGy	Não sonicado	
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 26.04.2010				Data término: 28.04.2010		

Tabela D22 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>							pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,36	7,39	120,1	124,9	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	7,40	114,5	118,2	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	7,37	110,0	114,3	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,16	7,32	98,4	105,3	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,23	74,0	86,6	28	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,57	6,95	23,1	42,2	10	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				5 kGy	Não sonicado	
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 26.04.2010				Data término: 28.04.2010		

Tabela D23 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,36	7,58	120,1	126	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	7,49	114,5	119,8	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	7,49	110,0	118,6	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,16	7,47	98,4	103,4	38	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,37	74,0	86,4	28	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,57	6,98	23,1	47,6	10	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				5 kGy	Não sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 26.04.2010				Data término: 28.04.2010			

Tabela D24 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,36	7,55	120,1	125,9	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	7,54	114,5	117,1	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	7,33	110,0	111,6	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,16	7,31	98,4	105,2	38	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,24	74,0	96,8	28	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,57	6,88	23,1	41,0	10	-	
	48	0/5	3/5	0/5	0/5	3/20	15%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				5 kGy	Não sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 4				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 26.04.2010				Data término: 28.04.2010			

Tabela D25 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,09	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,90	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,45	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				10 kGy	Não sonificado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 14.04.2010				Data término: 16.04.2010			

Tabela D26 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,09	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,90	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,45	-	-	-	-	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-	
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				10 kGy	Não sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 14.04.2010				Data término: 16.04.2010			

Tabela D27 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%	7,33	-	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	-	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	-	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,09	-	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,90	-	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,45	-	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%		-	-	-	-	-
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				10 kGy	Não sonificado	
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 14.04.2010				Data término: 16.04.2010		

Tabela D28 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	-	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	-	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	-	-	-	-	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,09	-	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,90	-	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,45	-	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				10 kGy	Não sonificado	
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 4				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 14.04.2010				Data término: 16.04.2010		

Tabela D29 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	-	129,1	-	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	-	119,9	-	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	-	116,9	-	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	-	104,2	-	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,06	-	78,1	-	28	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,58	-	25,7	-	24	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				15 kGy		Não sonicado	
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 13.04.2010				Data término: 15.04.2010			

Tabela D30 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade µS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	-	129,1	-	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	-	119,9	-	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	-	116,9	-	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	-	104,2	-	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,06	-	78,1	-	28	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,58	-	25,7	-	24	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				15 kGy	Não sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 13.04.2010				Data término: 15.04.2010			

Tabela D31 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>							pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	-	129,1	-	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	-	119,9	-	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	-	116,9	-	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	-	104,2	-	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,06	-	78,1	-	28	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,58	-	25,7	-	24	-	
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				15 kGy	Não sonicado		
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 13.04.2010				Data término: 15.04.2010			

D32 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem não tóxica de *Microcystis* sp., irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Dureza monitorada durante o teste de toxicidade aguda														
Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	-	129,1	-	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	-	119,9	-	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	-	116,9	-	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	-	104,2	-	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,06	-	78,1	-	28	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,58	-	25,7	-	24	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: cepa não tóxica				15 kGy		Não sonificado	
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 4				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 13.04.2010				Data término: 15.04.2010			

APÊNDICE E - Cepa tóxica não irradiada

Tabela E1 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,26	7,41	-	-	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,18	7,35	-	-	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,25	7,35	-	-	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
22,5	24	-	-	-	-	-	-	6,90	7,22	-	-	38	-
	48	1/5	1/5	1/5	1/5	4/20	20%						
45	24	-	-	-	-	-	-	6,96	7,07	-	-	44	-
	48	3/5	4/5	5/5	5/5	17/20	85%						
90	24	-	-	-	-	-	-	6,27	6,75	-	-	26	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	---						Material: NPLJ-4					
mg L ⁻¹	48	31,82 (27,12 – 37,34)						Teste: definitivo 1					
								Data início: 22.10.2009					
								Data término: 24.10.2009					

Tabela E2 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,26	7,35	-	-	40	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,14	7,38	-	-	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,20	7,28	-	-	44	-
	48	1/5	1/5	1/5	0/5	3/20	15%						
22,5	24	-	-	-	-	-	-	6,91	7,20	-	-	44	-
	48	2/5	2/5	2/5	3/5	9/20	45%						
45	24	-	-	-	-	-	-	6,95	6,99	-	-	40	-
	48	4/5	3/5	4/5	4/5	15/20	75%						
90	24	-	-	-	-	-	-	6,32	6,84	-	-	20	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	---						Material: NPLJ-4					
mg L ⁻¹	48	25,72 (20,44 – 32,50)						Teste: definitivo 2					
								Data início: 27.10.2009					
								Data término: 29.10.2009					

Tabela E3 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,46	7,45	-	-	46	-
	48	1/5	0/5	0/5	1/5	2/20	10%						
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,28	7,46	-	-	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,10	7,51	-	-	42	-
	48	0/5	1/5	1/5	0/5	2/20	10%						
22,5	24	-	-	-	-	-	-	7,01	7,39	-	-	44	-
	48	2/5	1/5	3/5	4/5	10/20	50%						
45	24	-	-	-	-	-	-	6,94	7,13	-	-	38	-
	48	5/5	4/5	4/5	5/5	18/20	90%						
90	24	-	-	-	-	-	-	6,27	6,86	-	-	24	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	---						Material: NPLJ-4					
mg L ⁻¹	48	23,77 (19,57 – 28,87)						Teste: definitivo 3					
								Data início: 10.11.2009					
								Data término: 12.11.2009					

Tabela E4 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,32	7,47	-	-	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,24	7,43	-	-	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,05	7,41	-	-	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
22,5	24	-	-	-	-	-	-	6,99	7,14	-	-	48	-
	48	1/5	1/5	3/5	3/5	8/20	40%						
45	24	-	-	-	-	-	-	6,86	7,19	-	-	44	-
	48	1/5	0/5	2/5	0/5	3/20	15%						
90	24	-	-	-	-	-	-	6,24	6,95	-	-	22	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	---						Material: NPLJ-4					
mg L ⁻¹	48	41,99 (34,14 – 51,65)						Teste: definitivo 4					
								Data início: 10.11.2009					
								Data término: 12.11.2009					

Tabela E5 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,57	7,66	106,8	136,1	56	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	7,57	98,3	123,5	50	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
11,25	24	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,21	7,53	94,3	107,0	50	-
	48	0/5	0/5	1/5	1/5	2/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,07	7,43	81,9	97,5	46	-
	48	0/5	0/5	1/5	2/5	3/20	15%						
45	24	4/5	2/5	2/5	1/5	9/20	45%	6,85	7,33	66,6	86,4	48	-
	48	4/5	3/5	4/5	4/5	15/20	75%						
90	24	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%	6,09	6,87	21,8	46,5	22	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	---						Material: NPLJ-4					
mg L ⁻¹	48	32,57 (26,13 – 40,59)						Teste: definitivo 5					
								Data início: 22.12.2009					
								Data término: 24.12.2009					

Tabela E6 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,54	7,54	104,9	105,7	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,35	7,51	100,0	103,5	52	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
11,25	24	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,21	7,48	94,2	103,7	52	-
	48	0/5	0/5	1/5	1/5	2/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,05	7,40	81,1	89,6	48	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	0/20	5%						
45	24	1/5	2/5	0/5	3/5	6/20	30%	6,71	7,17	64,0	72,2	40	-
	48	5/5	4/5	4/5	5/5	18/20	80%						
90	24	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%	6,16	6,92	20,4	39,8	22	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	---						Material: NPLJ-4					
mg L ⁻¹	48	32,78 (29,03 – 37,00)						Teste: definitivo 6					
								Data início: 22.12.2009					
								Data término: 24.12.2009					

APÊNDICE F - Cepa tóxica irradiada Feixes de Nêutrons Rápidos

Tabela F1 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 12h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade µS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,45	7,52	127,9	135,2	50	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,43	121,4	133,8	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,41	113,4	124,5	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,39	103,6	113,4	38	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,08	7,24	78,6	93,4	30	-	
	48	1/5	3/5	3/5	2/5	9/20	45%							
90	24	4/5	2/5	4/5	5/5	15/20	75%	6,55	7,07	37,8	53,6	12	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				12h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	46,59 (39,93 - 54,35)					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 25.04.2010				Data término: 27.04.2010			

Tabela F2 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 12h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,45	7,45	127,9	129,0	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,44	121,4	122,8	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,39	113,4	115,9	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,23	103,6	109,0	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,08	7,16	78,6	91,9	30	-
	48	1/5	1/5	1/5	0/5	3/20	15%						
90	24	4/5	5/5	5/5	5/5	19/20	95%	6,55	7,02	37,8	51,7	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			12h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	57,36 (51,35 – 64,07)					Teste: definitivo 2			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 25.04.2010			Data término: 27.04.2010			

Tabela F3 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 12h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,45	7,43	127,9	129,1	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,41	121,4	124,5	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,37	113,4	118,8	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,34	103,6	111,7	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,08	7,23	78,6	91,2	30	-
	48	0/5	4/5	1/5	2/5	7/20	35%						
90	24	2/5	3/5	2/5	3/5	10/20	50%	6,55	6,98	37,8	53,5	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			12h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	49,93 (43,07 – 57,89)					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 25.04.2010			Data término: 27.04.2010			

Tabela F4 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 12h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,45	7,43	127,9	131,0	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,44	121,4	123,9	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,44	113,4	117,0	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,38	103,6	110,2	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	1/5	1/5	1/5	0/5	3/20	15%	7,08	7,30	78,6	94,7	30	-
	48	2/5	2/5	2/5	1/5	7/20	35%						
90	24	2/5	5/5	4/5	5/5	16/20	80%	6,55	7,08	37,8	52,6	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			12h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	49,93 (43,07 – 57,89)					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 25.04.2010			Data término: 27.04.2010			

Tabela F5 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 24h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,45	133,8	128,9	48	-	
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,12	7,38	130,0	123,4	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	7,31	125,7	119,3	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,08	7,33	112,4	119,5	38	-	
	48	3/5	1/5	0/5	0/5	4/20	20%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,94	7,24	90,2	88,2	30	-	
	48	2/5	2/5	0/5	2/5	6/20	30%							
90	24	5/5	3/5	3/5	5/5	16/20	80%	6,39	7,01	43,1	49,3	10	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				24h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	45,80 (38,06 – 55,12)					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 23.04.2010				Data término: 25.04.2010			

Tabela F6 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 24h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,45	133,8	134,6	48	-
	48	1/5	1/5	0/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,12	7,38	130,0	125,6	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	7,31	125,7	119,8	44	-
	48	2/5	1/5	2/5	0/5	5/20	25%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,08	7,37	112,4	111,7	38	-
	48	3/5	0/5	1/5	1/5	5/20	25%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,94	7,24	90,2	91,1	30	-
	48	2/5	1/5	3/5	0/5	6/20	30%						
90	24	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%	6,39	7,01	43,1	46,8	10	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			24h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	39,62 (31,65 – 49,61)					Teste: definitivo 2			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 23.04.2010			Data término: 25.04.2010			

Tabela F7 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 24h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,43	133,8	128,4	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,12	7,38	130,0	124,2	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	7,37	125,7	122,7	48	-
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,08	7,33	112,4	111,2	42	-
	48	0/5	2/5	2/5	0/5	4/20	20%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,94	7,24	90,2	94,0	30	-
	48	2/5	0/5	1/5	1/5	4/20	20%						
90	24	4/5	4/5	4/5	3/5	15/20	75%	6,39	7,03	43,1	54,3	18	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			24h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	46,59 (38,61 – 56,22)					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 23.04.2010			Data término: 25.04.2010			

Tabela F8 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 24h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,26	7,34	133,8	130,5	48	-
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,12	-	130,0	127,6	46	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	7,19	125,7	118,9	44	-
	48	0/5	3/5	0/5	0/5	3/20	15%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,08	7,10	112,4	110,3	38	-
	48	1/5	0/5	2/5	1/5	4/20	20%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,94	7,12	90,2	92,4	30	-
	48	0/5	0/5	3/5	2/5	5/20	25%						
90	24	3/5	4/5	5/5	5/5	17/20	85%	6,39	6,88	43,1	49,0	10	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			24h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	43,83 (35,72 – 53,78)					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 23.04.2010			Data término: 25.04.2010			

Tabela F9 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 24h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,39	7,50	138,0	127,6	48	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,27	7,57	128,1	122,0	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,28	7,47	128,2	127,6	48	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
22,5	24	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,22	7,36	113,2	114,9	40	-
	48	0/5	2/5	0/5	1/5	3/20	15%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,02	7,25	91,3	161,7	30	-
	48	2/5	3/5	3/5	4/5	12/20	10%						
90	24	4/5	4/5	3/5	2/5	13/20	80%	6,50	7,00	42,3	53,0	14	-
	48	4/5	5/5	5/5	5/5	19/20	95%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			24h (extrato com água)			
mg L ⁻¹	48	39,86 (32,39 – 49,05)					Teste: definitivo 2			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 23.04.2010			Data término: 25.04.2010			

Tabela F10 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 24h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,39	7,56	138,0	137,7	48	-
	48	1/5	0/5	1/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,27	7,50	128,1	129,3	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,28	7,46	128,2	117,4	48	-
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,41	113,2	117,9	40	-
	48	0/5	3/5	2/5	0/5	5/20	25%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,02	7,32	91,3	91,3	30	-
	48	4/5	4/5	4/5	4/5	16/20	80%						
90	24	3/5	3/5	4/5	3/5	13/20	65%	6,50	6,99	42,3	-	14	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			24h (extrato com água)			
mg L ⁻¹	48	31,82 (26,61 – 38,05)					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 23.04.2010			Data término: 25.04.2010			

Tabela F11 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 24h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,39	7,53	138,0	145,0	48	-
	48	1/5	1/5	0/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,27	7,48	128,1	123,8	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,28	7,47	128,2	123,6	48	-
	48	1/5	0/5	2/5	0/5	3/20	15%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,39	113,2	108,6	40	-
	48	1/5	0/5	2/5	0/5	3/20	15%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,02	7,22	91,3	94,6	30	-
	48	3/5	2/5	2/5	0/5	7/20	35%						
90	24	5/5	3/5	2/5	4/5	14/20	70%	6,50	6,95	42,3	54,1	14	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			24h (extrato com água)			
mg L ⁻¹	48	47,53 (39,99 – 56,49)					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 23.04.2010			Data término: 25.04.2010			

Tabela F12 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 48h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	-	124,2	-	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	-	116,6	-	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	-	108,8	-	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,07	-	99,1	-	42	-
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,82	-	75,6	-	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	2/5	2/20	10%						
90	24	5/5	3/5	4/5	4/5	16/20	80%	6,20	-	25,9	-	18	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			48h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	57,36 (51,13 – 64,34)					Teste: definitivo 1			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 27.04.2010			Data término: 29.04.2010			

Tabela F13 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 48h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%	7,29	7,57	124,2	-	46	-	
	48	1/5	1/5	0/5	0/5	2/20	10%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,50	116,6	-	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,51	108,8	-	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,07	-	99,1	-	42	-	
	48	3/5	0/5	1/5	1/5	5/20	25%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,82	-	75,6	-	30	-	
	48	1/5	3/5	2/5	1/5	7/20	35%							
90	24	5/5	5/5	5/5	4/5	19/20	95%	6,20	-	25,9	-	18	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				48h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	50,51 (43,64 – 58,46)					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 27.04.2010				Data término: 29.04.2010			

Tabela F14 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 48h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	-	124,2	-	46	-	
	48	1/5	0/5	1/5	0/5	2/20	10%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	-	116,6	-	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	-	108,8	-	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,07	-	99,1	-	42	-	
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,82	-	75,6	-	30	-	
	48	0/5	0/5	0/5	2/5	2/20	10%							
90	24	3/5	4/5	3/5	4/5	14/20	70%	6,20	-	25,9	-	18	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				48h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	61,36 (57,26 – 65,76)					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 27.04.2010				Data término: 29.04.2010			

Tabela F15 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 48h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,29	7,44	124,2	137,5	46	-
	48	1/5	2/5	0/5	0/5	3/20	15%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,45	116,6	123,0	46	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,40	108,8	124,4	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,07	7,33	99,1	-	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,82	7,24	75,6	-	30	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
90	24	4/5	1/5	2/5	3/5	10/20	50%	6,20	7,07	25,9	-	18	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			48h (extrato seco)			
mg L ⁻¹	48	63,07 (60,89 – 65,32)					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 23.04.2010			Data término: 25.04.2010			

Tabela F16 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 48h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,43	-	134,5	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,31	7,34	123,3	126,3	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	7,30	117,7	121,6	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,26	104,3	113,6	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%	7,08	7,10	79,5	92,8	32	-
	48	2/5	2/5	2/5	3/5	9/20	45%						
90	24	5/5	4/5	4/5	4/5	17/20	85%	6,54	6,70	26,2	48,7	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			48h (extrato com água)			
mg L ⁻¹	48	46,59 (39,93 – 54,35)					Teste: definitivo 1			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 24.04.2010			Data término: 26.04.2010			

Tabela F17 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 48h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,43	-	127,0	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,31	7,36	123,3	123,9	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	7,36	117,7	119,9	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,27	104,3	108,1	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%	7,08	7,10	79,5	88,9	32	-
	48	2/5	1/5	2/5	4/5	12/20	60%						
90	24	4/5	4/5	4/5	5/5	17/20	85%	6,54	6,71	26,2	46,5	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável						Material: NPLJ-4		48h (extrato com água)			
mg L ⁻¹	48	41,99 (36,07 – 48,87)						Teste: definitivo 2		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 24.04.2010		Data término: 26.04.2010			

Tabela F18 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 48h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,42	-	129,2	-	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,31	7,34	123,3	125,2	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	7,34	117,7	120,8	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,28	104,3	109,9	40	-
	48	1/5	1/5	0/5	0/5	2/20	10%						
45	24	0/5	1/5	1/5	0/5	2/20	10%	7,08	7,17	79,5	92,8	32	-
	48	3/5	4/5	3/5	3/5	13/20	65%						
90	24	5/5	3/5	3/5	2/5	13/20	65%	6,54	6,77	26,2	51,6	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			48h (extrato com água)			
mg L ⁻¹	48	37,84 (31,78 – 45,06)					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 24.04.2010			Data término: 26.04.2010			

Tabela F19 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons rápidos, durante 48h e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,41	-	132,6	-	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,31	7,36	123,3	126,6	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	7,32	117,7	121,0	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,26	104,3	111,9	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	2/5	0/5	0/5	0/5	2/20	10%	7,08	7,14	79,5	93,1	32	-
	48	2/5	2/5	2/5	3/5	9/20	45%						
90	24	-/5	2/5	3/5	2/5	7/20	35%	6,54	-	26,2	-	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			48h (extrato com água)			
mg L ⁻¹	48	45,20 (38,71 – 52,77)					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 24.04.2010			Data término: 26.04.2010			

APÊNDICE G - Cepa tóxica irradiada com Feixes de Nêutrons, Núcleo do Reator

Tabela G1 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons (núcleo do reator) e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,85	143,4	141,3	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	7,73	125,1	130,3	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,69	116,1	125,4	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,62	122,1	113,6	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%	7,25	7,41	77,5	95,3	28	-	
	48	4/5	2/5	2/5	5/5	13/20	65%							
90	24	5/5	5/5	4/5	5/5	19/20	100%	6,69	7,14	25,4	60,6	8	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				Tempo de irradiação: 1 minuto			
mg L ⁻¹	48	40,56 (34,98 – 47,02)					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 06.07.2010				Data término: 08.07.2010			

Tabela G2 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons (núcleo do reator) e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,83	143,4	141,3	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	7,74	125,1	132,2	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,32	7,69	116,1	133,2	44	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,62	122,1	123,0	40	-
	48	2/5	1/5	0/5	0/5	3/20	15%						
45	24	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,25	7,44	77,5	104,9	28	-
	48	5/5	4/5	3/5	3/5	15/20	75%						
90	24	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%	6,69	7,17	25,4	66,6	8	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável						Material: NPLJ-4		Tempo de irradiação: 1 minuto			
mg L ⁻¹	48	32,95 (27,34 – 39,70)						Teste: definitivo 2		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 06.07.2010		Data término: 08.07.2010			

Tabela G3 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons (núcleo do reator) e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Condutividade elétrica e dureza monitoradas durante o teste de toxicidade aguda														
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,43	8,14	143,4	133,7	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	7,32	125,1	150,9	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,81	116,1	144,5	44	-	
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,69	122,1	123,0 ççç	40	-	
	48	2/5	1/5	0/5	0/5	3/20	15%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,25	7,58	77,5	104,9	28	-	
	48	5/5	4/5	3/5	3/5	15/20	75%							
90	24	3/5	3/5	4/5	4/5	20/20	100%	6,69	7,20	25,4	71,08	8	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				Tempo de irradiação: 1 minuto			
mg L ⁻¹	48	59,85 (54,80 – 65,36)					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 06.07.2010				Data término: 08.07.2010			

Tabela G4 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons (núcleo do reator) e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	8,89	143,4	141,2	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,23	7,77	125,1	132,5	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,73	116,1	124,4	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,66	122,1	114,8	40	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
45	24	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%	7,25	7,52	77,5	95,2	28	-
	48	1/5	1/5	2/5	0/5	4/20	20%						
90	24	3/5	3/5	1/5	4/5	11/20	55%	6,69	7,20	25,4	47,5	8	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			Tempo de irradiação: 1 minuto			
mg L ⁻¹	48	54,63 (47,82 – 62,40)					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 06.07.2010			Data término: 08.07.2010			

Tabela G5 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons (núcleo do reator) e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,57	8,13	126,2	130,8	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	2/5	2/20	10%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,50	8,00	124,1	127,7	46	-	
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,46	7,93	116,2	120,6	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,40	7,79	106,9	107,7	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,20	7,63	79,2	84,3	28	-	
	48	0/5	1/5	0/5	1/5	2/20	10%							
90	24	0/5	0/5	0/5	4/5	4/20	20%	6,53	7,19	55,1	50,7	12	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				Tempo de irradiação: 1,5 minutos			
mg L ⁻¹	48	60,84 (56,36 – 65,67)					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 07.07.2010				Data término: 09.07.2010			

Tabela G6 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons (núcleo do reator) e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,57	8,08	126,2	138,1	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,50	7,99	124,1	128,8	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,46	7,87	116,2	121,2	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,40	7,77	106,9	113,6	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,25	7,61	79,2	91,1	28	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	1/5	0/5	1/5	2/5	4/20	20%	6,53	7,35	55,1	47,6	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			Tempo de irradiação: 1,5 minuto			
mg L ⁻¹	48	63,64 (-)					Teste: definitivo 2			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 07.07.2010			Data término: 09.07.2010			

Tabela G7 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons (núcleo do reator) e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,55	7,70	121,6	126,1	42	-	
	48	1/5	1/5	0/5	0/5	2/20	10%							
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,40	7,58	120,8	120,7	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,42	7,61	113,8	117,5	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	-	-	-	-	-	-	7,38	7,56	99,2	103,7	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	-	-	-	-	-	-	7,18	7,49	72,5	83,8	26	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	-	-	-	-	-	-	6,60	7,27	21,0	40,3	10	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				Tempo de irradiação: 2,0 minutos			
mg L ⁻¹	48	63,64 (-)					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 10.07.2010				Data término: 12.07.2010			

Tabela G8 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons (núcleo do reator) e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,55	7,69	121,6	135,0	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%							
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,40	7,67	120,8	114,4	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,42	7,61	113,8	98,3	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	-	-	-	-	-	-	7,38	7,55	99,2	101,8	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	-	-	-	-	-	-	7,18	7,50	72,5	80,0	26	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	-	-	-	-	-	-	6,60	7,27	21,0	37,3	10	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				Tempo de irradiação: 2,0 minutos			
mg L ⁻¹	48	63,64 (-)					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 10.07.2010				Data término: 12.07.2010			

Tabela G9 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons (núcleo do reator) e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,58	7,66	162,8	124	46	-	
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%							
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,47	7,70	119,2	123,9	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,46	7,62	114,4	117,0	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	-	-	-	-	-	-	7,39	7,61	100,6	107,5	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	-	-	-	-	-	-	7,16	7,46	73,0	114,0	24	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	-	-	-	-	-	-	6,48	7,44	22,5	38,9	10	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				Tempo de irradiação: 2,0 minutos			
mg L ⁻¹	48	63,64 (-)					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 10.07.2010				Data término: 12.07.2010			

Tabela G10 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de nêutrons (núcleo do reator) e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Condutividade elétrica e dureza monitoradas durante o teste de toxicidade aguda														
Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,58	7,66	162,8	127,8	46	-	
	48	1/5	0/5	1/5	1/5	2/20	10%							
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,47	7,65	119,2	118,9	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,46	7,63	114,4	114,2	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	-	-	-	-	-	-	7,39	7,59	100,6	103,5	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	-	-	-	-	-	-	7,16	7,52	73,0	85,8	24	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	-	-	-	-	-	-	6,48	7,11	22,5	40,2	10	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				Tempo de irradiação: 2,0 minutos			
mg L ⁻¹	48	63,64 (-)					Teste: definitivo 4				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 10.07.2010				Data término: 12.07.2010			

APÊNDICE H - Cepa tóxica não irradiada

Tabela H1 – Percentagem de imobilidade e valores de CE_{50} -48h para o dafínídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade µS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,54	7,82	109,4	82,8	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	7,46	85,1	80,4	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,43	81,9	77,2	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,35	72,3	70,9	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,95	7,20	55,4	60,1	32	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
90	24	4/5	3/5	2/5	3/5	12/20	60%	6,04	6,50	17,2	44,7	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	79,92 (64,39 – 99,19)					Material: NPLJ-4				3 kGy Sonicado		
mg/L	48	59,38 (53,94 – 65,37)					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100mg/L		
							Data início: 26.02.2010				Data término: 28.02.2010		

Tabela H2 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,54	7,56	109,4	85,2	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	7,51	85,1	80,3	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,47	81,9	81,6	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,39	72,3	70,6	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,95	7,19	55,4	59,1	32	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
90	24	4/5	3/5	2/5	3/5	12/20	60%	6,04	7,04	17,2	34,8	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	70,26 (61,82 – 79,86)						Material: NPLJ-4		3 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	53,51 (46,79 – 61,20)						Teste: definitivo 2		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 26.02.2010		Data término: 28.02.2010			

Tabela H3 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,70	7,62	76,7	79,7	46	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	7,65	73,3	77,7	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,68	70,6	73,2	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,99	7,57	62,3	68,0	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
45	24	1/5	0/5	0/5	1/5	2/20	10%	6,65	7,51	47,7	56,7	32	-
	48	4/5	3/5	2/5	3/5	12/20	60%						
90	24	5/5	5/5	5/5	3/5	18/20	90%	5,96	7,23	14,25	35,2	14	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	63,64 (58,62 – 69,09)						Material: NPLJ-4		3 kGy Sonicado			
mg/L	48	41,20 (35,03 – 48,46)						Teste: definitivo 3		Solução-estoque: 100mg/L			
								Data início: 28.02.2010		Data término: 01.03.2010			

Tabela H4 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,70	7,65	76,7	79,3	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,29	7,65	73,3	76,4	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,64	70,6	73,5	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,99	7,53	62,3	70,1	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	1/5	1/5	1/5	1/5	4/20	20%	6,65	7,43	47,7	58,0	32	-
	48	3/5	3/5	2/5	2/5	10/20	50%						
90	24	4/5	4/5	5/5	5/5	18/20	90%	5,96	7,12	14,25	36,2	14	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	59,64 (49,62 – 71,67)						Material: NPLJ-4		3 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	45,00 (38,54 – 52,54)						Teste: definitivo 4		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 28.02.2010		Data término: 01.03.2010			

Tabela H5 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,60	7,67	83,9	78,5	44	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,47	7,58	77,9	75,2	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,38	7,49	74,1	74,9	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,41	66,4	70,5	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	2/5	1/5	1/5	2/5	6/20	30%	6,83	7,20	53,6	58,8	32	-
	48	2/5	3/5	5/5	4/5	14/20	70%						
90	24	5/5	5/5	5/5	4/5	19/20	95%	6,09	6,66	22,7	41,0	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	53,34 (42,26 – 62,87)						Material: NPLJ-4		5 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	39,28 (34,06 – 45,30)						Teste: definitivo 1		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 25.02.2010		Data término: 27.02.2010			

Tabela H6 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	2/5	0/5	0/5	2/20	10%	7,57	7,51	81,1	79,6	48	-
	48	0/5	2/5	0/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,46	7,52	79,5	78,6	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,44	7,54	73,8	77,8	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,31	7,54	65,1	69,3	42	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,05	7,40	47,8	59,9	28	-
	48	2/5	3/5	0/5	1/5	6/20	30%						
90	24	4/5	5/5	5/5	5/5	19/20	95%	6,29	-	14,38	33,2	24	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	64,26 (61,34 – 67,28)						Material: NPLJ-4		5 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	51,94 (44,96 – 60,00)						Teste: definitivo 2		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 27.02.2010		Data término: 29.02.2010			

Tabela H7 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,71	7,68	79,5	97,4	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,37	7,63	74,4	79,5	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,20	7,59	70,7	73,9	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,03	7,52	63,7	67,0	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,73	7,37	45,8	57,8	36	-
	48	3/5	2/5	3/5	2/5	10/20	50%						
90	24	3/5	2/5	3/5	4/5	12/20	60%	6,17	7,06	14,9	35,5	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	81,88 (–)					Material: NPLJ-4			5 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	45,00 (38,54 – 52,54)					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 28.02.2010			Data término: 02.03.2010			

Tabela H8 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,71	7,74	79,5	78,9	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,37	7,70	74,4	77,9	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,20	7,65	70,7	75,1	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,03	7,62	63,7	71,7	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,73	7,52	45,8	57,3	36	-
	48	1/5	0/5	2/5	1/5	4/20	20%						
90	24	2/5	4/5	3/5	2/5	11/20	55%	6,17	7,16	14,9	34,3	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	84,50 (–)					Material: NPLJ-4			5 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	55,40 (48,94 – 62,71)					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 28.02.2010			Data término: 02.03.2010			

Tabela H9 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,55	7,62	84,6	83,8	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,42	7,55	81,1	79,4	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,37	7,49	78,2	78,1	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,31	7,42	70,7	73,3	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,89	7,20	52,0	57,4	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	3/5	4/5	3/5	4/5	14/20	70%	6,07	6,89	16,9	34,7	20	-
	48	4/5	5/5	5/5	5/5	19/20	95%						
CE50 (IC 95%)	24	73,83 (–)						Material: NPLJ-4		10 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	64,81 (–)						Teste: definitivo 1		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 26.02.2010		Data término: 28.02.2010			

Tabela H10 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,55	7,90	84,6	80,2	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,42	7,56	81,1	79,6	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,37	7,48	78,2	78,0	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,31	7,44	70,7	70,5	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,89	7,25	52,0	57,8	30	-
	48	2/5	0/5	0/5	0/5	2/20	10%						
90	24	1/5	1/5	0/5	3/5	5/20	25%	6,07	6,81	16,9	31,9	20	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			10 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	59,38 (54,10 – 65,16)					Teste: definitivo 2			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 26.02.2010			Data término: 28.02.2010			

Tabela H11 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,49	7,63	104,7	80,8	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,60	83,1	79,1	52	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,14	7,53	79,1	75,1	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,84	7,43	70,9	68,8	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,35	7,23	54,6	56,7	36	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	3/5	3/5	2/5	4/5	12/20	25%	5,66	6,88	20,3	30,9	20	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	80,18 (-)						Material: NPLJ-4		10 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	63,64 (-)						Teste: definitivo 3		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 01.03.2010		Data término: 03.03.2010			

Tabela H12 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,49	7,64	104,7	98,0	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,62	83,1	80,0	52	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,14	7,56	79,1	75,1	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,84	7,48	70,9	70,1	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,35	7,30	54,6	58,0	36	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	4/5	4/5	3/5	2/5	13/20	65%	5,66	6,83	20,3	31,4	20	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	80,18 (-)						Material: NPLJ-4		10 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	63,64 (-)						Teste: definitivo 4		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 01.03.2010		Data término: 03.03.2010			

Tabela H13 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,63	7,60	77,8	102,2	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,55	7,58	78,7	88,9	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,46	7,49	72,9	83,2	54	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,43	66,6	74,3	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,06	7,21	51,1	58,2	34	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
90	24	0/5	0/5	0/5	3/5	3/20	15%	6,50	6,67	16,2	31,9	20	-	
	48	5/5	5/5	4/5	4/5	18/20	90%							
CE50 (IC 95%)	24	Não Calculável					Material: NPLJ-4				15 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	66,14 (-)					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 27.02.2010				Data término: 01.03.2010			

Tabela H14 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,63	7,53	77,8	87,1	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,55	7,65	78,7	84,5	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,46	7,47	72,9	81,4	54	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,34	7,37	66,6	76,3	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,06	7,18	51,1	62,1	34	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	5/5	5/5	3/5	3/5	16/20	80%	6,50	6,69	16,2	33,8	20	-
	48	5/5	5/5	4/5	5/5	19/20	95%						
CE50 (IC 95%)	24	69,40 (-)						Material: NPLJ-4		15 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	64,82 (-)						Teste: definitivo 2		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 27.02.2010		Data término: 01.03.2010			

Tabela H15 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,63	7,63	86,9	149	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,57	85,2	139	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	7,54	78,8	132	48	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,89	7,49	69,1	116	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,45	7,24	53,0	100	30	-
	48	0/5	2/5	0/5	0/5	2/20	10%						
90	24	2/5	3/5	1/5	2/5	8/20	40%	5,86	6,84	19,1	53	22	-
	48	4/5	5/5	3/5	5/5	17/20	85%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			15 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	65,13 (59,07 – 71,81)					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 01.03.2010			Data término: 03.03.2010			

Tabela H16 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,63	7,61	86,9	140	50	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,55	85,2	137	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	7,49	78,8	78,1	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,89	7,43	69,1	70,7	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,45	7,28	53,0	58,8	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	5/5	5/5	3/5	3/5	16/20	80%	5,86	6,80	19,1	30,2	22	-
	48	5/5	4/5	4/5	5/5	18/20	90%						
CE50 (IC 95%)	24	69,48 (-)						Material: NPLJ-4		15 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	66,17 (-)						Teste: definitivo 4		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 01.03.2010		Data término: 03.03.2010			

Tabela H17 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,87	7,93	148	154	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,88	143	147	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,31	7,82	140	144	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,03	7,64	126	128	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,71	7,49	93	109	36	-
	48	4/5	3/5	3/5	3/5	13/20	65%						
90	24	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%	6,35	7,12	26	60	16	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	63,64 (-)					Material: NPLJ-4			3 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	40,56 (34,98 – 47,02)					Teste: definitivo 1			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 03.03.2010			Data término: 05.03.2010			

Tabela H18 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,87	7,92	148	152	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,82	143	146	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,31	7,50	140	140	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,03	7,39	126	130	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	4/5	0/5	1/5	0/5	5/20	25%	6,71	7,22	93	108	36	-
	48	5/5	3/5	3/5	3/5	14/20	70%						
90	24	4/5	5/5	5/5	5/5	19/20	95%	6,35	6,86	26	66	16	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	55,00 (47,37 – 64,80)					Material: NPLJ-4			3 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	39,17 (33,99 – 45,15)					Teste: definitivo 2			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 03.03.2010			Data término: 05.03.2010			

Tabela H18 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,21	137	158	46	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,09	7,05	132	150	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,10	7,04	122	143	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,04	7,03	115	138	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	2/5	2/5	0/5	0/5	4/20	20%	6,76	6,92	83	114	32	-
	48	2/5	2/5	1/5	0/5	5/20	25%						
90	24	5/5	5/5	3/5	5/5	18/20	90%	5,88	6,85	22	98	16	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	59,64 (49,62 – 71,67)						Material: NPLJ-4		3 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	53,87 (47,18 – 61,50)						Teste: definitivo 3		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 05.03.2010		Data término: 07.03.2010			

Tabela H20 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,11	137	156	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,09	7,01	132	150	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,10	7,03	122	148	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,04	6,97	115	137	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,76	6,91	83	112	32	-	
	48	0/5	4/5	0/5	2/5	6/20	30%							
90	24	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%	5,88	6,76	22	68	16	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	63,64 (–)					Material: NPLJ-4				3 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	51,69 (44,85 – 59,58)					Teste: definitivo 4				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 05.03.2010				Data término: 07.03.2010			

Tabela H21 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,73	7,89	152	152	50	-
	48	0/5	1/5	0/5	1/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,40	7,79	146	146	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,73	137	143	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,02	7,64	123	130	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	2/5	0/5	1/5	0/5	3/20	15%	6,79	7,43	93	108	30	-
	48	3/5	4/5	3/5	3/5	13/20	65%						
90	24	5/5	4/5	5/5	5/5	19/20	95%	6,16	7,09	24	62	14	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	59,69 (52,44 – 68,32)						Material: NPLJ-4		5 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	40,68 (35,07 – 47,18)						Teste: definitivo 1		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 03.03.2010		Data término: 05.03.2010			

Tabela H22 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,73	7,89	152	155	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,40	7,81	146	147	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,24	7,72	137	141	42	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,02	7,58	123	130	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%	6,79	-	93	109	30	-
	48	3/5	2/5	3/5	0/5	8/20	40%						
90	24	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%	6,16	7,06	24	63	14	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	61,47 (57,46 – 65,77)						Material: NPLJ-4		5 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	46,59 (39,44 – 55,03)						Teste: definitivo 2		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 03.03.2010		Data término: 05.03.2010			

Tabela H23 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,77	8,06	141	155	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,58	7,71	132	144	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,56	7,54	127	138	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,37	7,44	108	123	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,04	7,24	83	106	34	-
	48	4/5	2/5	3/5	2/5	11/20	55%						
90	24	5/5	2/5	5/5	5/5	17/20	85%	6,01	7,09	22	63	14	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	67,65 (–)						Material: NPLJ-4		5 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	43,47 (37,26 – 50,71)						Teste: definitivo 3		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 04.03.2010		Data término: 06.03.2010			

Tabela H24 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%	7,77	7,67	141	152	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,58	7,41	132	144	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,56	7,39	127	140	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,37	7,34	108	128	38	-
	48	0/5	0/5	1/5	1/5	2/20	10%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,04	7,20	83	107	34	-
	48	2/5	3/5	4/5	3/5	12/20	60%						
90	24	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%	6,01	6,95	22	60	14	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	63,64 (–)						Material: NPLJ-4		5 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	39,78 (33,39 – 47,39)						Teste: definitivo 4		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 04.03.2010		Data término: 06.03.2010			

Tabela H25 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,72	7,62	154	160	50	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,37	7,53	146	152	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	7,47	137	149	52	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,45	122	133	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,83	7,13	90	112	28	-	
	48	0/5	0/5	1/5	1/5	2/20	10%							
90	24	5/5	4/5	4/5	5/5	18/20	90%	6,24	6,78	23	64	16	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	66,14 (–)					Material: NPLJ-4				10 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	59,38 (54,10 – 65,16)					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 03.03.2010				Data término: 05.03.2010			

Tabela H26 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,72	7,67	154	155	50	-
	48	0/5	1/5	1/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,37	7,59	146	148	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	7,54	137	143	52	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,44	122	133	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,83	7,23	90	108	28	-
	48	2/5	2/5	3/5	4/5	11/20	55%						
90	24	4/5	4/5	3/5	3/5	14/20	70%	6,24	6,64	23	61	16	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	73,99 (–)					Material: NPLJ-4			10 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	43,82 (37,54 – 51,14)					Teste: definitivo 2			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 03.03.2010			Data término: 05.03.2010			

Tabela H27 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,75	-	139	153	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,55	7,68	132	145	32	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,66	7,66	126	139	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,56	7,59	109	127	42	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%	7,08	7,31	82	106	30	-	
	48	2/5	3/5	3/5	2/5	10/20	50%							
90	24	5/5	3/5	4/5	5/5	17/20	85%	6,16	6,84	24	58	12	-	
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%							
CE50 (IC 95%)	24	66,46 (–)					Material: NPLJ-4				10 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	45,00 (38,54 – 52,54)					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 04.03.2010				Data término: 06.03.2010			

Tabela H28 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,75	7,73	139	149	46	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,55	7,65	132	147	32	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,66	7,56	126	142	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,56	7,52	109	127	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,08	7,27	82	101	30	-
	48	2/5	2/5	1/5	0/5	5/20	25%						
90	24	5/5	5/5	4/5	4/5	18/20	90%	6,16	6,82	24	57	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	66,14 (–)						Material: NPLJ-4		10 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	53,87 (47,18 – 61,50)						Teste: definitivo 4		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 04.03.2010		Data término: 06.03.2010			

Tabela H29 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnideo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,76	7,45	139	150	46	-
	48	1/5	1/5	0/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,63	7,31	130	141	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,48	7,29	124	135	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,26	111	123	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,11	7,17	84	99	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	5/5	5/5	5/5	1/5	16/20	80%	6,17	6,99	22	52	14	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	69,40 (–)						Material: NPLJ-4		15 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	63,64 (–)						Teste: definitivo 1		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 04.03.2010		Data término: 06.03.2010			

Tabela H30 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,76	8,09	139	156	46	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,63	7,71	130	143	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,48	7,50	124	136	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,45	111	124	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,11	7,29	84	101	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	5/5	5/5	5/5	5/5	16/20	100%	6,17	6,99	22	52	14	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	63,64 (–)						Material: NPLJ-4		15 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	63,64 (–)						Teste: definitivo 2		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 04.03.2010		Data término: 06.03.2010			

Tabela H31 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,39	7,11	141	145	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,08	132	139	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,04	125	132	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,14	6,99	112	103	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,91	6,87	84	98	28	-	
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%							
90	24	0/5	3/5	2/5	3/5	8/20	40%	5,88	6,48	24	47	20	-	
	48	2/5	5/5	5/5	5/5	17/20	85%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				15 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	66,46 (60,97 – 72,44)					Teste: definitivo 3				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 06.03.2010				Data término: 08.03.2010			

Tabela H32 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com radiação gama com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,39	7,13	141	148	48	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	7,10	132	142	44	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,05	125	138	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,14	7,01	112	126	36	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,91	6,89	84	103	28	-	
	48	0/5	0/5	1/5	1/5	2/20	10%							
90	24	3/5	2/5	2/5	3/5	10/20	50%	5,88	6,60	24	53	20	-	
	48	5/5	5/5	3/5	5/5	18/20	90%							
CE50 (IC 95%)	24	90,00 (-)					Material: NPLJ-4				15 kGy Não Sonicado			
mg L ⁻¹	48	66,46 (58,62 – 69,09)					Teste: definitivo 4				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 06.03.2010				Data término: 08.03.2010			

APÊNDICE I - Cepa tóxica irradiada com feixes de elétrons

Tabela HI1 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>							pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,48	7,80	100,3	204,0	40	-
	48	1/5	0/5	1/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,38	7,81	73,7	89,0	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	-	70,3	-	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	-	63,6	-	36	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%	6,88	7,54	47,9	59,3	30	-
	48	0/5	0/5	1/5	2/5	3/20	15%						
90	24	2/5	3/5	2/5	1/5	8/20	40%	6,00	7,21	15,16	29,2	14	-
	48	4/5	5/5	5/5	4/5	18/20	90%						
CE50 (IC 95%)	24	Não Calculável					Material: NPLJ-4				3 kGy Sonicado		
mg L ⁻¹	48	62,79 (52,34 – 75,32)					Teste: definitivo 1				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹		
							Data início: 28.12.2009				Data término: 30.12.2009		

Tabela I2 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características						
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L		
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f	
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,64	7,53	102,0	91,3	46	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,68	7,56	82,7	85,7	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,60	7,51	77,3	79,5	40	-	
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%							
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,42	7,44	68,2	72,8	40	-	
	48	2/5	1/5	0/5	1/5	4/20	20%							
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,29	50,4	59,5	46	-	
	48	1/5	0/5	3/5	2/5	6/20	30%							
90	24	2/5	3/5	3/5	0/5	8/20	40%	6,57	7,05	15,12	29,2	-	-	
	48	4/5	3/5	2/5	2/5	11/20	55%							
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4				3 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	78,35 (47,22 – 130,01)					Teste: definitivo 2				Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 07.01.2010				Data término: 09.01.2010			

Tabela I3 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,35	7,53	84,5	98,4	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,25	7,54	77,8	80,2	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,26	7,51	76,8	76,1	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	-	-	-	-	-	-	7,15	7,42	68,2	69,6	36	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	-	-	-	-	-	-	6,87	7,23	49,4	56,8	28	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	-	-	-	-	-	-	6,32	6,89	16,69	27,9	12	-
	48	2/5	4/5	3/5	0/5	9/20	45%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			3 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 14.01.2010			Data término: 16.01.2010			

Tabela I4 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,35	7,51	84,5	79,7	44	-
	48	2/5	0/5	0/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,25	7,53	77,8	76,0	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,26	7,50	76,8	75,6	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	-	-	-	-	-	-	7,15	7,40	68,2	75,7	36	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	-	-	-	-	-	-	6,87	7,25	49,4	56,3	28	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	-	-	-	-	-	-	6,32	6,76	16,69	27,3	12	-
	48	4/5	2/5	0/5	4/5	10/20	50%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável						Material: NPLJ-4		3 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável						Teste: definitivo 4		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 14.01.2010		Data término: 16.01.2010			

Tabela I5 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%	7,51	7,78	75,6	79,9	50	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,36	7,70	73,7	79,0	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,28	7,68	69,4	76,8	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,11	7,61	64,0	68,8	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,85	7,46	48,9	55,9	26	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,07	7,02	18,11	29,0	12	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável						Material: NPLJ-4		5 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável						Teste: definitivo 1		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 29.12.2009		Data término: 31.12.2009			

Tabela I6 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,80	7,53	77,7	115,5	46	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,62	7,53	76,6	98,2	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,59	7,47	75,9	88,2	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,42	67,3	75,8	36	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,14	7,31	51,8	58,4	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,43	6,93	15,6	27,1	20	-
	48	0/5	0/5	3/5	2/5	5/20	25%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável						Material: NPLJ-4		5 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável						Teste: definitivo 2		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 07.01.2010		Data término: 09.01.2010			

Tabela I7 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,52	7,45	81,6	84,0	48	-
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,40	7,70	78,0	78,2	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,37	7,50	72,6	70,9	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	-	-	-	-	-	-	7,22	7,52	64,4	70,1	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	-	-	-	-	-	-	7,12	7,34	49,2	54,1	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	-	-	-	-	-	-	6,44	6,93	16,67	24,8	18	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável						Material: NPLJ-4		5 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável						Teste: definitivo 3		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 14.01.2010		Data término: 16.01.2010			

Tabela I8 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	-	-	-	-	-	-	7,52	7,49	81,6	81,3	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	-	-	-	-	-	-	7,40	7,40	78,0	75,7	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	-	-	-	-	-	-	7,37	7,39	72,6	74,4	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	-	-	-	-	-	-	7,22	7,37	64,4	-	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	-	-	-	-	-	-	7,12	7,18	49,2	50,1	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	-	-	-	-	-	-	6,44	6,75	16,67	22,8	18	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável						Material: NPLJ-4		5 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável						Teste: definitivo 4		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 14.01.2010		Data término: 16.01.2010			

Tabela I9 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%	7,50	7,39	74,6	75,4	48	-
	48	0/5	0/5	1/5	1/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%	7,47	7,47	72,0	74,2	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	2/5	2/20	10%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,46	7,60	69,7	71,2	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,33	62,8	66,7	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,14	7,22	49,2	54,1	34	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%	6,33	6,67	16,5	22,6	22	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			10 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável					Teste: definitivo 1			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 26.12.2009			Data término: 28.12.2009			

Tabela I10 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,54	7,79	79,3	80,7	42	-
	48	0/5	0/5	1/5	1/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,71	75,6	81,7	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,70	70,9	77,1	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,09	7,65	65,3	68,0	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,88	7,50	50,4	54,9	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,05	7,12	19,98	30,7	18	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			10 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável					Teste: definitivo 2			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 29.12.2009			Data término: 31.12.2009			

Tabela I11 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,40	7,47	100,5	76,8	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,70	79,7	75,5	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,84	71,5	72,5	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,22	8,01	65,2	67,5	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,98	7,93	49,2	51,1	26	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%	6,21	7,59	16,35	24,0	18	-
	48	0/5	0/5	4/5	0/5	4/20	20%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			10 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 12.01.2010			Data término: 14.01.2010			

Tabela I12 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,41	7,96	79,1	76,9	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	8,03	74,1	75,4	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,33	7,97	70,6	72,6	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,27	7,90	63,2	65,8	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,00	7,75	47,9	53,3	32	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,29	7,62	15,2	24,1	12	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			10 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 12.01.2010			Data término: 14.01.2010			

Tabela I13 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,36	7,86	73,2	78,4	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,93	85,3	75,7	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	8,07	68,9	72,9	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%	7,00	7,84	61,2	69,9	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,93	7,99	45,8	56,1	32	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	5,77	7,59	15,5	26,7	18	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável						Material: NPLJ-4		15 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável						Teste: definitivo 1		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 26.12.2009		Data término: 28.12.2009			

Tabela I14 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%	7,65	7,63	79,2	78,4	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	2/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,47	7,61	74,7	77,0	44	-
	48	0/5	1/5	0/5	1/5	2/20	10%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,47	7,58	72,1	73,8	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%	7,35	7,53	63,0	66,7	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,12	7,34	49,6	53,5	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,30	7,79	18,34	25,6	12	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			15 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável					Teste: definitivo 2			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 27.12.2009			Data término: 29.12.2009			

Tabela I15 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,49	99,4	87,1	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,27	7,30	82,1	82,6	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,10	76,1	77,6	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,11	6,87	67,8	69,1	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,77	6,40	47,9	52,7	28	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	5,97	5,42	16,5	19,0	14	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			15 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 17.01.2010			Data término: 19.01.2010			

Tabela I16 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,68	99,4	85,2	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,27	7,45	82,1	80,7	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,17	76,1	78,6	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,11	6,98	67,8	68,6	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,77	6,37	47,9	51,1	28	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	5,97	5,39	16,5	18,0	14	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			15 kGy Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não Calculável					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 17.01.2010			Data término: 19.01.2010			

Tabela I17 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,38	7,43	74,7	115,3	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,35	7,42	71,6	80,9	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,51	7,40	71,6	72,7	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,61	7,39	65,5	66,6	36	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,25	7,23	51,7	53,1	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	5/5	4/5	4/5	2/5	15/20	75%	6,57	6,89	21,5	27,0	26	-
	48	5/5	4/5	5/5	3/5	17/20	85%						
CE50 (IC 95%)	24	71,43 (-)						Material: NPLJ-4		3 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	67,70 (-)						Teste: definitivo 1		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 12.01.2010		Data término: 14.01.2010			

Tabela I18 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,61	7,45	79,6	77,2	48	-
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,58	7,54	75,8	74,6	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,51	7,50	72,0	70,5	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,52	7,46	66,1	64,8	34	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,17	7,34	50,2	51,3	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	4/5	4/5	5/5	1/5	14/20	70%	6,62	6,98	21,5	22,8	26	-
	48	5/5	5/5	5/5	2/5	17/20	85%						
CE50 (IC 95%)	24	73,83 (-)						Material: NPLJ-4		3 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	67,70 (-)						Teste: definitivo 2		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 12.01.2010		Data término: 14.01.2010			

Tabela I19 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,58	7,49	82,6	85,8	44	-
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,49	7,43	76,6	82,7	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,42	73,0	-	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,36	65,2	73,0	40	-
	48	0/5	1/5	1/5	0/5	2/20	10%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,28	50,8	57,4	26	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%	6,57	6,96	16,7	28,3	14	-
	48	1/5	4/5	3/5	3/5	11/20	55%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			3 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	83,97 (63,60 – 110,88)					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 19.01.2010			Data término: 21.01.2010			

Tabela I20 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 3 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,58	7,47	82,6	104,6	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,49	7,45	76,6	84,3	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,43	7,44	73,0	81,0	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,34	65,2	72,4	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,28	50,8	57,5	26	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	3/5	1/5	2/5	1/5	7/20	35%	6,57	6,89	16,7	26,8	14	-
	48	5/5	1/5	3/5	4/5	13/20	65%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			3 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	76,21 (63,61 – 91,30)					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 19.01.2010			Data término: 21.01.2010			

Tabela I21 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,85	7,49	77,9	77,1	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,86	7,45	76,0	73,7	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,99	7,44	72,9	70,2	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	8,25	7,38	68,5	63,7	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,89	7,22	52,2	50,1	32	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	5/5	4/5	1/5	4/5	14/20	70%	7,54	6,79	24,2	22,3	10	-
	48	5/5	4/5	1/5	4/5	14/20	70%						
CE50 (IC 95%)	24	73,83 (–)						Material: NPLJ-4		5 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	73,83 (–)						Teste: definitivo 1		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 12.01.2010		Data término: 14.01.2010			

Tabela I22 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,67	7,51	78,2	74,6	52	-
	48	1/5	0/5	1/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,55	7,47	73,9	73,9	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,89	7,44	72,8	69,4	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,58	7,40	65,8	63,1	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,22	52,9	49,0	34	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	2/5	5/5	4/5	0/5	11/20	55%	7,20	6,82	21,7	22,7	16	-
	48	2/5	5/5	4/5	3/5	14/20	70%						
CE50 (IC 95%)	24	84,50 (–)						Material: NPLJ-4		5 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	73,83 (–)						Teste: definitivo 2		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 12.01.2010		Data término: 14.01.2010			

Tabela I23 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,47	85,6	118	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,46	82,2	76,3	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,43	76,8	74,5	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,07	7,31	68,5	68,3	40	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
45	24	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%	6,79	7,23	54,3	52,3	34	-
	48	3/5	0/5	0/5	0/5	3/20	15%						
90	24	4/5	3/5	4/5	4/5	15/20	75%	6,02	6,73	19,38	20,5	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	70,26 (61,82 – 79,86)						Material: NPLJ-4		5 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	59,16 (53,79 – 65,07)						Teste: definitivo 3		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 18.01.2010		Data término: 20.01.2010			

Tabela I24 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 5 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,32	7,48	85,6	82,4	50	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,26	7,39	82,2	74,4	48	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,44	76,8	73,5	48	-
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,07	7,38	68,5	64,7	40	-
	48	2/5	1/5	3/5	0/5	6/20	30%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,79	7,23	54,3	49,8	34	-
	48	0/5	1/5	1/5	3/5	5/20	25%						
90	24	3/5	4/5	4/5	3/5	14/20	70%	6,02	6,74	19,38	21,6	12	-
	48	5/5	5/5	5/5	5/5	20/20	100%						
CE50 (IC 95%)	24	73,83 (-)					Material: NPLJ-4			5 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	41,99 (34,14 – 51,65)					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 18.01.2010			Data término: 20.01.2010			

Tabela I25 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,41	7,48	76,2	107,2	52	-
	48	1/5	0/5	1/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,59	72,8	87,4	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,18	7,56	70,6	82,2	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,13	7,54	63,7	72,4	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,81	7,43	46,2	58,8	40	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
90	24	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%	5,95	6,90	16,10	28,3	20	-
	48	0/5	0/5	0/5	2/5	2/20	10%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			10 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 1			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 26.12.2009			Data término: 28.12.2009			

Tabela I26 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,78	7,82	83,0	108,1	50	-
	48	0/5	1/5	0/5	1/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,70	7,80	77,2	87,8	56	-
	48	0/5	1/5	0/5	0/5	1/20	5%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,61	7,72	74,4	79,6	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,48	-	68,1	-	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,20	7,54	51,8	57,3	28	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	1/5	1/5	2/20	10%	6,42	7,07	17,78	25,4	20	-
	48	2/5	0/5	2/5	1/5	5/20	25%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável						Material: NPLJ-4		10 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não calculável						Teste: definitivo 2		Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
								Data início: 29.12.2009		Data término: 30.12.2009			

Tabela I27 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,54	79,8	104,2	40	-
	48	1/5	1/5	0/5	0/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,26	77,0	82,0	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,17	74,7	79,5	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,99	6,94	64,7	69,5	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,74	6,56	48,5	52,7	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	5,92	5,73	14,52	18,6	10	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			10 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 17.01.2010			Data término: 19.01.2010			

Tabela I28 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 10 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,49	79,8	86,4	40	-
	48	1/5	0/5	0/5	1/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,26	77,0	81,8	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,12	74,7	78,6	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,99	6,94	64,7	67,9	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,74	6,53	48,5	51,4	30	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	5,92	5,66	14,52	17,9	10	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			10 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 17.01.2010			Data término: 19.01.2010			

Tabela I29 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafinídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,69	7,66	99,8	77,7	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
5,65	24	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%	7,54	7,59	77,1	76,6	42	-
	48	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,40	7,53	66,0	67,6	38	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,40	7,50	67,0	67,7	42	-
	48	1/5	0/5	0/5	0/5	1/20	5%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,15	7,29	50,8	52,9	38	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	1/5	1/20	5%	6,34	6,77	18,67	24,3	14	-
	48	0/5	0/5	1/5	2/5	3/20	15%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			15 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 1			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 27.12.2009			Data término: 29.12.2009			

Tabela I30 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,59	81,1	84,5	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,37	74,7	81,9	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,41	73,5	78,3	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,10	7,35	64,9	71,5	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,78	7,14	50,5	55,0	32	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,05	6,68	15,53	22,5	10	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			15 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 2			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 17.01.2010			Data término: 19.01.2010			

Tabela I31 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnídeo *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com feixes de elétrons com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade µS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,64	81,1	84,7	44	-
	48	0/5	1/5	0/5	1/5	2/20	10%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,46	74,7	80,3	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,43	73,5	75,8	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,10	7,35	64,9	68,6	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,78	7,29	50,5	52,3	32	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,05	6,77	15,53	22,0	10	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			15 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 3			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 17.01.2010			Data término: 19.01.2010			

Tabela I32 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o dafnínideu *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com **feixes de elétrons** com a dose de 15 kGy, e valores de pH, condutividade elétrica e dureza monitorados durante o teste de toxicidade aguda

Organismo-teste								Características					
Concentrações		<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>						pH		Condutividade μS/cm		Dureza mgCaCO ₃ /L	
	h	1	2	3	4	Total	%	i	f	i	f	i	f
Controle	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,30	7,51	81,1	82,9	44	-
	48	0/5	0/5	1/5	0/5	1/20	5%						
5,65	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,21	7,44	74,7	77,9	44	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
11,25	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,19	7,41	73,5	74,1	46	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
22,5	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	7,10	7,34	64,9	64,7	40	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
45	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,78	7,22	50,5	50,3	32	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
90	24	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%	6,05	6,74	15,53	21,6	10	-
	48	0/5	0/5	0/5	0/5	0/20	0%						
CE50 (IC 95%)	24	Não calculável					Material: NPLJ-4			15 kGy Não - Sonicado			
mg L ⁻¹	48	Não calculável					Teste: definitivo 4			Solução-estoque: 100 mg L ⁻¹			
							Data início: 17.01.2010			Data término: 19.01.2010			

APÊNDICE J – Teste de toxicidade em *Artemia salina*

Tabela J1 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o crustáceo *Artemia salina* expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, não irradiada (D = 0)

Organismos-teste = <i>Artemia salina</i>						
Concentrações (mg de peso seco de células mL ⁻¹)	horas	1	2	3	total	%
Controle	24	1/10	1/10	1/11	3/31	9%
	48	3/10	3/10	3/11	9/31	29%
0,0384	24	0/10	1/10	2/11	3/31	9%
	48	4/10	2/10	3/11	9/31	29%
0,0768	24	0/9	0/10	3/10	3/29	10%
	48	3/9	4/10	3/10	10/29	34%
0,144	24	1/10	1/10	1/10	3/30	10%
	48	8/10	5/10	9/10	22/30	73%
0,24	24	4/11	4/10	5/11	13/32	40%
	48	10/11	9/10	9/11	28/32	88%
0,336	24	10/10	8/9	9/10	27/29	93%
	48	10/10	9/9	10/10	29/29	100%
CE50 (IC 95%) mg L ⁻¹	24	0,51 (0,46 - 0,55)		Material: NPLJ-4		
	48	0,27 (0,23 - 0,30)		Controle (D = 0)		

Tabela J2 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o crustáceo *Artemia salina* expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com **feixes de elétrons** com a dose de 5 kGy

Organismos-teste = <i>Artemia salina</i>						
Concentrações (mg de peso seco de células mL ⁻¹)	horas	1	2	3	total	%
Controle	24	0/11	1/10	0/11	1/32	3
	48	3/11	4/10	4/11	11/32	34
0,0384	24	1/10	1/10	1/11	1/31	10
	48	2/10	2/10	2/11	6/31	19
0,0768	24	1/10	0/10	1/11	2/31	6
	48	2/10	1/10	2/11	5/31	16
0,144	24	0/10	0/9	1/10	1/29	3
	48	3/10	4/9	2/10	9/29	31
0,24	24	0/10	0/10	0/10	0/30	0
	48	3/10	3/10	2/10	8/30	27
0,336	24	0/11	1/10	1/10	2/31	3
	48	1/11	1/10	2/10	4/31	13
CE50 (IC 95%) mg L ⁻¹	24	Não calculável		Material: NPLJ-4		
	48	Não calculável		Irradiado 5 kGy		

Tabela J3 – Percentagem de imobilidade e valores de CE₅₀-48h para o crustáceo *Artemia salina* expostos a extrato de cultura da linhagem tóxica NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa*, irradiada com **feixes de elétrons** com a dose de 10 kGy

Organismos-teste = <i>Artemia salina</i>						
Concentrações (mg de peso seco de células mL ⁻¹)	horas	1	2	3	total	%
Controle	24	1/10	0/10	1/10	2/30	7
	48	1/10	2/10	2/10	5/30	17
0,0384	24	0/10	0/11	1/10	1/31	3
	48	0/10	1/11	2/10	3/31	9,8
0,0768	24	0/10	1/10	0/11	1/31	3
	48	2/10	2/10	1/11	5/31	16
0,144	24	0/10	0/11	1/10	1/31	3
	48	1/10	3/11	1/10	5/31	16
0,24	24	1/11	0/10	1/10	2/31	6
	48	1/11	1/10	1/10	3/31	9,7
0,336	24	1/10	1/10	0/11	2/31	13
	48	1/10	2/10	2/11	5/31	16
CE50 (IC 95%) mg L ⁻¹	24	Não calculável		Material: NPLJ-4		
	48	Não calculável		Irradiado 10 kGy		

ANEXO 1

Tabela 1 - Nutrientes que compõem o meio BG-11

Reagentes	Concentração(g/L)
NaNO_3	1,50
$\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0,04
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,075
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,036
Ácido Cítrico	0,006
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,006
EDTA	0,001
Na_2CO_3	0,02
H_3BO_3	2,86
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	1,81
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,222
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,39
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,079
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,0494

Água de diluição

Água reconstituída ou natural com dureza total de 40 a 48 mg L⁻¹ em CaCO₃, pH 7,2 a 7,6 e condutividade de aproximadamente 160 µS cm⁻¹.

Preparo de água reconstituída (água de cultivo)

Água destilada ou deionizada com condutividade igual ou menor que 10 µS cm⁻¹, isenta de contaminantes.

Solução 1:

Sulfato de cálcio (CaSO₄.2H₂O)1,5 g

Água bidesionizada ou destilada1000 mL

Solução 2:

Cloreto de potássio (KCl)0,2 g

Bicarbonato de sódio (NaHCO₃)4,8 g

Sulfato de magnésio (MgSO₄.7H₂O)6,1g

Água bidesionizada ou destilada1000 mL

Para preparar a água de diluição adicionar 20 mL da solução 1 e 10 mL da solução 2 em 970 mL de água destilada ou deionizada. Introduzir aeração durante pelo menos 24 h.