

## **Anexo 1**

---

**Preparo da água de manutenção (ou meio de cultivo) utilizada nas culturas de  
*Chironomus xanthus* e *Daphnia similis***

Esse meio de cultivo é composto por duas soluções:

1. Solução 1

- Sulfato de Cálcio ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) – 1,5g
- Água destilada - 1000 mL

2. Solução 2

- Cloreto de Potássio (KCl) – 0.2g
- Bicarbonato de Sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) – 4,8g
- Sulfato de Magnésio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) – 6,1g
- Água destilada – 1000 mL

Para preparar o meio de cultivo adiciona-se as soluções 1 e 2 em água destilada que deve ter dureza ( $\text{mg CaCO}_3 \cdot \text{l}^{-1}$ ) próxima a zero. As variáveis pH, condutividade e dureza devem estar de acordo com a Tabela 22. Esses valores são adotados rotineiramente pelo Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia Aquática do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (EESC/USP).

**Tabela 23.** Medidas das variáveis pH, condutividade e dureza para o preparo do meio de cultivo de *Chironomus xanthus* e *Daphnia similis*.

Variável	C. xanthus	D. similis
Referência	<i>FONSECA (1997)</i>	<i>CETESB (1991)</i>
pH	6,5 – 7,0	7,0 – 7,5
Condutividade ( $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	25 - 55	100 - 200
Dureza ( $\text{mg CaCO}_3 \cdot \text{l}^{-1}$ )	12 - 16	42 - 48

Deve-se ressaltar que o aumento da condutividade é consequência do aumento dos volumes das soluções 1 e 2 necessários para se obter a dureza da água de cultivo de *D. similis*.

Exemplo do preparo da água de manutenção para o cultivo de *C. xanthus*: para preparar 30 L de água de manutenção utiliza-se 30 litros de água destilada (com dureza próxima a zero), 180 mL da Solução 1 e 90 mL da Solução 2. Obtendo-se assim uma água com dureza entre 12 e 16  $\text{mgCaCO}_3 \cdot \text{l}^{-1}$ . Para acertar o pH, entre 6,5 e 7,0, adiciona-se ácido clorídrico ou hidróxido de sódio, conforme a necessidade.

**Anexo 2**

---

**Tabela 2.** Resultado estatístico do teste de sensibilidade realizado com *C. xanthus* em Maio de 2000.

DATE	31.05.00	TEST NUMBER	1	DURATION	96 h
CHEMICAL	Cloreto de potássio			SPECIES	<i>Chironomus xanthus</i>
RAW DATA					
CONCENTRATION (g.L <sup>-1</sup> )	1.50	2.25	3.50	5.00	7.50
NUMBER EXPOSED	18	18	18	18	18
MORTALITIES	3	0	9	10	18
SPEARMAN-KARBER TRIM				8.33	
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES	LC50			<b>3.9754257</b>	
95% LOWER CONFIDENCE				3.39	
95% UPPER CONFIDENCE				4.66	

**Tabela 3.** Resultado estatístico do teste de sensibilidade realizado com *C. xanthus* em Agosto de 2000.

DATE	02.08.00	TEST NUMBER	2	DURATION	96 h
CHEMICAL	Cloreto de potássio			SPECIES	<i>Chironomus xanthus</i>
RAW DATA					
CONCENTRATION (g.L <sup>-1</sup> )	1.50	2.25	3.50	5.00	7.50
NUMBER EXPOSED	18	18	18	18	18
MORTALITIES	0	0	0	2	18
SPEARMAN-KARBER TRIM				0.00	
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES	LC50			<b>5.8698516</b>	
95% LOWER CONFIDENCE				5.55	
95% UPPER CONFIDENCE				6.21	

**Tabela 4.** Resultado estatístico do teste de sensibilidade realizado com *C. xanthus* em Setembro de 2000.

DATE	22.09.00	TEST NUMBER	3	DURATION	96 h
CHEMICAL	Cloreto de potássio			SPECIES	<i>Chironomus xanthus</i>
RAW DATA					
CONCENTRATION (g.L <sup>-1</sup> )	1.50	2.25	3.50	5.00	7.50
NUMBER EXPOSED	18	18	18	18	18
MORTALITIES	2	2	1	5	18
SPEARMAN-KARBER TRIM				9.26	
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES	LC50			<b>5.5040236</b>	
95% LOWER CONFIDENCE				4.97	
95% UPPER CONFIDENCE				6.10	

**Tabela 5.** Resultado estatístico do teste de sensibilidade realizado com *C. xanthus* em Outubro de 2000.

DATE	05.10.00	TEST NUMBER	4	DURATION	96 h
CHEMICAL	Cloreto de potássio			SPECIES	<i>Chironomus xanthus</i>
RAW DATA					
CONCENTRATION (g.L <sup>-1</sup> )	1.50	2.25	3.50	5.00	7.50
NUMBER EXPOSED	18	18	18	18	18
MORTALITIES	2	3	6	5	18
SPEARMAN-KARBER TRIM				11.11	
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES	LC50			<b>4.7707376</b>	
95% LOWER CONFIDENCE				3.97	
95% UPPER CONFIDENCE				5.74	

**Tabela 6.** Resultado estatístico do teste de sensibilidade realizado com *C. xanthus* em Dezembro de 2000.

DATE	01.12.00	TEST NUMBER	5	DURATION	96 h
CHEMICAL	Cloreto de potássio			SPECIES	<i>Chironomus xanthus</i>
RAW DATA					
CONCENTRATION (g.L <sup>-1</sup> )	1.50	2.25	3.50	5.00	7.50
NUMBER EXPOSED	18	18	18	18	18
MORTALITIES	2	2	6	5	18
SPEARMAN-KARBER TRIM	11.11				
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES	LC50			<b>4.9173098</b>	
95% LOWER CONFIDENCE				4.20	
95% UPPER CONFIDENCE				5.76	

**Tabela 7.** Resultado estatístico do teste de sensibilidade realizado com *C. xanthus* em Janeiro de 2001.

DATE	25.01.01	TEST NUMBER	6	DURATION	96 h
CHEMICAL	Cloreto de potássio			SPECIES	<i>Chironomus xanthus</i>
RAW DATA					
CONCENTRATION (g.L <sup>-1</sup> )	1.50	2.25	3.50	5.00	7.50
NUMBER EXPOSED	16	18	19	17	17
MORTALITIES	0	1	0	3	16
SPEARMAN-KARBER TRIM	5.88				
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES	LC50			<b>5.8498755</b>	
95% LOWER CONFIDENCE				5.37	
95% UPPER CONFIDENCE				6.38	

**Tabela 8.** Resultado estatístico do teste de sensibilidade realizado com *C. xanthus* em Fevereiro de 2001.

DATE	22.02.20	TEST NUMBER	7	DURATION	96 h
CHEMICAL	Cloreto de potássio			SPECIES	<i>Chironomus xanthus</i>
RAW DATA					
CONCENTRATION (g.L <sup>-1</sup> )	1.50	2.25	3.50	5.00	7.50
NUMBER EXPOSED	16	16	18	18	18
MORTALITIES	0	1	2	4	18
SPEARMAN-KARBER TRIM	0.00				
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES	EC50			<b>5.2417145</b>	
95% LOWER CONFIDENCE				4.70	
95% UPPER CONFIDENCE				5.84	

**Tabela 10.** Resultado estatístico do teste de sensibilidade realizado com *D. similis* em Maio de 2000.

DATE	17.05.00	TEST NUMBER	1	DURATION	24 h
CHEMICAL	Dicromato de potássio			SPECIES	<i>Daphnia similis</i>
RAW DATA					
CONCENTRATION (mg/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	20	20	20	20	20
MORTALITIES	0	5	11	18	20
SPEARMAN-KARBER TRIM	0.00				
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES	LC50			<b>0.0696440</b>	
95% LOWER CONFIDENCE				0.06	
95% UPPER CONFIDENCE				0.09	

**Tabela 11.** Resultado estatístico do teste de sensibilidade realizado com *D. similis* em Novembro de 2000.

DATE	21.11.00	TEST NUMBER	3	DURATION	24 h
CHEMICAL	Dicromato de potássio			SPECIES	<i>Daphnia similis</i>
RAW DATA					
CONCENTRATION (mg/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32
NUMBER EXPOSED	15	15	15	15	15
MORTALITIES	2	1	4	10	11
SPEARMAN-KARBER TRIM	26.67				
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES	LC50		<b>0.1249135</b>		
95% LOWER CONFIDENCE			0.08		
95% UPPER CONFIDENCE			0.19		

**Tabela 12.** Resultado estatístico do teste de sensibilidade realizado com *D. similis* em Janeiro de 2001.

DATE	18.01.01	TEST NUMBER	4	DURATION	24 h	
CHEMICAL	Dicromato de potássio			SPECIES	<i>Daphnia similis</i>	
RAW DATA						
CONCENTRATION (mg/L)	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32	0.64
NUMBER EXPOSED	15	17	15	16	14	15
MORTALITIES	0	2	3	6	12	15
SPEARMAN-KARBER TRIM	0.00					
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES	LC50		<b>0.1545723</b>			
95% LOWER CONFIDENCE			0.12			
95% UPPER CONFIDENCE			0.20			

**Anexo 3**

---

**Tabela 13.** Resultado do bioensaio agudo (96h) realizados com amostras de sedimento do reservatório de Salto Grande (Americana, SP), utilizando *C. xanthus* como organismo-teste (Maio de 2000).

<b>Coleta: Maio/00</b>								
Variáveis iniciais da água de manutenção:								
pH - 7,38			Condutividade – 39,00 $\mu\text{Scm}^{-1}$			Dureza – 12 mg. $\text{CaCO}_3\text{.l}^{-1}$		
Amostras	Número de organismos mortos			Mortalidade		Variáveis finais		
	1	2	3	Total	%	pH	Condutividade	Dureza
Controle	0	1	2	3	16,66	7,93	45,20	12
rio Atibaia	1	2	2	5	27,77	6,82	188,60	16
E1	0	1	1	2	11,11	7,59	165,40	20
E2	1	0	1	2	11,11	6,89	127,10	20
E3	1	2	0	3	16,66	6,69	133,60	20
E4	0	2	2	4	22,22	6,52	129,40	16

**Tabela 14.** Resultado do bioensaio agudo (96h) realizados com amostras de sedimento do reservatório de Salto Grande (Americana, SP), utilizando *C. xanthus* como organismo-teste (Agosto de 2000).

<b>Coleta: Agosto/00</b>								
Variáveis iniciais da água de cultivo:								
pH - 7,04			Condutividade - 53,40 $\mu\text{Scm}^{-1}$			Dureza – 12 mg. $\text{CaCO}_3\text{.l}^{-1}$		
Amostras	Número de organismos mortos			Mortalidade		Variáveis finais		
	1	2	3	Total	%	pH	Condutividade	Dureza
Controle	1	1	1	3	16,66	7,16	53,40	24
rio Atibaia	2	3	3	8	44,44	7,62	284,00	42
E1	2	2	1	5	27,77	7,39	209,00	40
E2	2	1	3	6	33,33	7,28	163,70	28
E3	2	3	0	5	27,77	6,75	157,10	26
E4	1	1	0	2	11,11	6,72	159,30	30



**Tabela 15.** Resultado do bioensaio agudo (96h) realizados com amostras de sedimento do reservatório de Salto Grande (Americana, SP), utilizando *C. xanthus* como organismo-teste (Novembro de 2000).

<b>Coleta: Novembro/00</b>								
Variáveis iniciais da água de cultivo:								
pH - 6,80			Condutividade - 34,30 $\mu\text{Scm}^{-1}$			Dureza - 12 mg.CaCO <sub>3</sub> .l <sup>-1</sup>		
Amostras	Número de organismos mortos			Mortalidade		Variáveis finais		
	1	2	3	Total	%	pH	Condutividade	Dureza
Controle	1	0	1	2	11,11	7,50	50,50	16
rio Atibaia	6	1	4	11	61,11	7,60	201,00	14
E1	1	0	0	1	5,55	7,31	138,00	20
E2	0	2	3	5	27,77	6,33	132,00	30
E3	1	3	3	7	38,88	3,75	211,00	16
E4	1	2	0	3	16,66	3,73	202,00	22

**Tabela 16.** Resultado do bioensaio agudo (96h) realizados com amostras de sedimento do reservatório de Salto Grande (Americana, SP), utilizando *C. xanthus* como organismo-teste (Fevereiro de 2001).

<b>Coleta: Fevereiro/01</b>								
Variáveis iniciais da água de cultivo:								
pH - 7,00			Condutividade - 28,50 $\mu\text{Scm}^{-1}$			Dureza - 14 mg.CaCO <sub>3</sub> .l <sup>-1</sup>		
Amostras	Número de organismos mortos			Mortalidade		Variáveis finais		
	1	2	3	Total	%	pH	Condutividade	Dureza
Controle	0	0	0	0	0	7,50	55,80	16
rio Atibaia	0	0	0	0	0	7,70	270,00	100
E1	1	1	1	3	16,66	7,20	117,50	24
E2	0	0	1	1	5,55	4,65	180,40	24
E3	0	1	0	1	5,55	4,05	181,70	34
E4	0	2	0	2	11,11	6,45	128,60	16

**Tabela 17.** Resultado do bioensaio agudo (48h) realizados com amostras de sedimento do reservatório de Salto Grande (Americana, SP), utilizando *D. similis* como organismo-teste (Maio de 2000).

<b>Coleta: Maio/00</b>								
Variáveis iniciais da água de cultivo:								
pH - 7,30			Condutividade - 136,20 $\mu\text{Scm}^{-1}$			Dureza – 42 mg.CaCO <sub>3</sub> .l <sup>-1</sup>		
Amostras	Número de organismos imóveis			Imobilidade		Variáveis finais		
	1	2	3	Total	%	pH	Condutividade	Dureza
Controle	0	0	0	0	0	7,30	138,00	52
rio Atibaia	0	0	0	0	0	7,16	272,00	160
E1	0	0	0	0	0	7,20	227,00	40
E2	0	0	0	0	0	7,09	191,00	42
E3	0	0	0	0	0	6,94	187,00	36
E4	0	0	0	0	0	6,77	197,00	32

**Tabela 18.** Resultado do bioensaio agudo (48h) realizado com amostras de sedimento do reservatório de Salto Grande (Americana, SP), utilizando *D. similis* como organismo-teste (Agosto de 2000).

<b>Coleta: Agosto/00</b>								
Variáveis iniciais da água de cultivo:								
pH - 7,30			Condutividade - 118,70 $\mu\text{Scm}^{-1}$			Dureza – 48 mg.CaCO <sub>3</sub> .l <sup>-1</sup>		
Amostras	Número de organismos imóveis			Imobilidade		Variáveis finais		
	1	2	3	Total	%	pH	Condutividade	Dureza
Controle	0	1	0	1	6,66	6,88	110,90	30
rio Atibaia	0	0	0	0	0	7,19	239,00	34
E1	1	0	1	2	13,33	6,75	222,00	26
E2	1	1	1	3	20,00	5,24	214,00	26
E3	5	5	5	15	100,00	3,90	275,00	48
E4	5	5	5	15	100,00	3,82	313,00	56

**Tabela 19.** Resultado do bioensaio agudo (48h) realizado com amostras de sedimento do reservatório de Salto Grande (Americana, SP), utilizando *D. similis* como organismo-teste (Novembro de 2000).

<b>Coleta: Novembro/00</b>								
Variáveis iniciais da água de cultivo:								
pH - 7,25			Condutividade – 204,00 $\mu\text{Scm}^{-1}$			Dureza – 44 mg.CaCO <sub>3</sub> .l <sup>-1</sup>		
Amostras	Número de organismos imóveis			Imobilidade		Variáveis finais		
	1	2	3	Total	%	pH	Condutividade	Dureza
Controle	1	1	0	2	13,33	7,37	205,00	70
rio Atibaia	3	3	2	8	53,33	7,23	337,00	38
E1	1	1	0	2	13,33	6,71	253,00	32
E2	0	0	1	1	6,66	6,63	238,00	28
E3	0	1	5	6	40,00	6,65	248,00	32
E4	0	0	3	3	20,00	6,50	239,00	38

**Tabela 20.** Resultado do bioensaio agudo (48h) realizado com amostras de sedimento do reservatório de Salto Grande (Americana, SP), utilizando *D. similis* como organismo-teste (Fevereiro de 2001).

<b>Coleta: Fevereiro/01</b>								
Variáveis iniciais da água de cultivo:								
pH - 7,29			Condutividade – 193,00 $\mu\text{Scm}^{-1}$			Dureza – 40 mg.CaCO <sub>3</sub> .l <sup>-1</sup>		
Amostras	Número de organismos imóveis			Imobilidade		Variáveis finais		
	1	2	3	Total	%	pH	Condutividade	Dureza
Controle	5	4	5	14	93,33	7,05	201,00	44
rio Atibaia	0	1	1	2	13,33	8,15	333,00	100
E1	2	1	2	5	33,33	6,55	229,00	44
E2	0	2	0	2	13,33	7,05	229,00	32
E3	1	3	1	5	33,33	6,00	222,00	36
E4	2	1	3	6	40,00	7,20	239,00	38

**Tabela 21** - Classificação da qualidade do sedimento, segundo CETESB (1991).

Estações coletadas	<i>Chironomus xanthus</i>	<i>Daphnia similis</i>
<b>Mai/00</b>		
rio Atibaia	Indícios de toxicidade	Não Tóxico
E1	Não Tóxico	Não Tóxico
E2	Não Tóxico	Não Tóxico
E3	Não Tóxico	Não Tóxico
E4	Indícios de toxicidade	Não Tóxico
<b>Agosto/00</b>		
rio Atibaia	Indícios de toxicidade	Não Tóxico
E1	Indícios de toxicidade	Indícios de toxicidade
E2	Indícios de toxicidade	Indícios de toxicidade
E3	Indícios de toxicidade	<b>Tóxico</b>
E4	Não Tóxico	<b>Tóxico</b>
<b>Novembro/00</b>		
rio Atibaia	<b>Tóxico</b>	<b>Tóxico</b>
E1	Não Tóxico	Não Tóxico
E2	Indícios de toxicidade	Não Tóxico
E3	Indícios de toxicidade	Indícios de toxicidade
E4	Indícios de toxicidade	Indícios de toxicidade
<b>Fevereiro/01</b>		
rio Atibaia	Não tóxico	Não Tóxico
E1	Indícios de toxicidade	Indícios de toxicidade
E2	Não Tóxico	Não Tóxico
E3	Não Tóxico	Indícios de toxicidade
E4	Indícios de toxicidade	Indícios de toxicidade

Obs.: Neste estudo utilizou-se a  $CL_{50}$  para a indicação da estação de coleta com características tóxicas ( $CL_{50} > 50\%$ ), indícios de toxicidade ( $10\% < CL_{50} < 50\%$ ) e não tóxicas ( $CL_{50} < 0$ ).