



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia Associada a Universidade de São Paulo

**Eficiência da radiação ionizante na redução da toxicidade da
Microcistina de *Microcystis aeruginosa* para *Hyalella azteca***

LARISSA LIMA GERALDES

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de Mestre
em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear
– Aplicações

Orientadora:

Profa. Dra. Sueli Ivone Borrely

SÃO PAULO

2021

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada a Universidade de São Paulo

**Eficiência da radiação ionizante na redução da toxicidade da
Microcistina de *Microcystis aeruginosa* para *Hyaella azteca***

Versão Corrigida

Versão Original disponível no IPEN

LARISSA LIMA GERALDES

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear – Aplicações

Orientadora:

Profa. Dra. Sueli Ivone Borrely

SÃO PAULO

2021

Fonte de Financiamento: Comissão Nacional de Energia Nuclear

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Como citar:

GERALDES, L. L. ***Eficiência da radiação ionizante na redução da toxicidade da Microcistina de Microcystis aeruginosa para Hyalella azteca***. 2021. 79 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo. Disponível em: <www.teses.usp.br>; (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

<p>Geraldes, Larissa Lima Eficiência da radiação ionizante na redução da toxicidade da Microcistina de Microcystis aeruginosa para Hyalella azteca / Larissa Lima Geraldes; orientadora Sueli Ivone Borrely. -- São Paulo, 2021. 79 f.</p> <p>Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear (Aplicações) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2021.</p> <p>1. H. azteca. 2. M. aeruginosa. 3. radiação ionizante. 4. toxicidade. I. Borrely, Sueli Ivone, orient. II. Título.</p>

Dedico este trabalho a todos que de alguma forma contribuíram na minha trajetória, sobretudo ao meu pai e ao meu esposo, por me apoiarem em todos os meus sonhos.

“Não sejas egoísta, aquilo que te fores ensinado, passai aos outros e aquilo que recebeste de graça, de graça tu darás. Porque só no amor, na caridade e na fé é que tu poderás encontrar o teu caminho interior. Seja grato e não espere recompensa pela sua bondade, a gratidão é um ato espiritual.”

Preto-velho Pai Cipriano

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. Sueli Ivone Borrely, pela oportunidade que me foi dada, além do carinho, dedicação, conselhos e ensinamentos durante todo o percurso da minha pós-graduação.

À toda equipe do Laboratório de Ensaios Biológicos e Ambientais, sobretudo: Dra. Vanessa Garcia, MSc. Flávio Tominaga, MSc. Thalita Silva e MSc. Nathalia Boiani, por toda dedicação, gentileza e por sempre estarem dispostos a ajudar.

À Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), pelo auxílio financeiro durante este trabalho.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), à equipe do CETER/IPEN, à equipe da Pós-graduação e Ensino, por todo suporte ao longo deste trabalho. Especialmente, à Dra. Elizabeth Somessari e Dr. Samir Somessari por ajudar com as irradiações das amostras.

Aos professores Dr. Aldo Santos, Dr. Camilo Pereira, Dr. Augusto Cesar, Dr. Fernando Cortez e Dr. Fábio Pusceddu do Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Santa Cecília, por terem me apresentado à Ecotoxicologia.

Ao professor Dr. Roberto Borges da Universidade Santa Cecília, por compartilhar conhecimentos de Ecologia de Bentos ao decorrer da minha graduação, os quais tornaram-se essenciais para compreender o organismo-teste empregado nos ensaios ecotoxicológicos.

À Dra. Carina Lutfi pelo suporte psicológico ao decorrer da pandemia e finalização do trabalho acadêmico, auxiliando a amenizar o estresse, além de proporcionar boas risadas e ótimos conselhos.

Agradeço à Deus, aos Guias e Orixás pela graça de ter tido a oportunidade de encontrar pessoas tão boas durante minha trajetória acadêmica, as quais agregaram valor na minha vida pessoal e profissional.

RESUMO

GERALDES, Larissa. L. **Eficiência da radiação ionizante na redução da toxicidade da Microcistina de *Microcystis aeruginosa* para *Hyaella azteca***. 2021. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia Nuclear) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN - CNEN/SP. São Paulo.

O crescente despejo e acúmulo de matéria orgânica e nutrientes nos corpos hídricos possibilitam o processo de eutrofização. As principais causas desse enriquecimento são as descargas de esgotos domésticos e industriais sem o devido tratamento. A eutrofização pode levar a ocorrência de florações de cianofíceas, resultando em efeitos ambientais, econômicos e sociais. A ocorrência de florações de cianobactérias em corpos d'água utilizados para abastecimento humano representa riscos para a população devido à capacidade desses microrganismos de produzir metabólitos, como as cianotoxinas. Por essa razão, diversos trabalhos têm demonstrado interesse em estudar formas de minimizar a contaminação de águas por cianotoxinas. Estas toxinas são solúveis em água e não são adequadamente removidas pelo sistema de tratamento de água para fornecimento público, sendo necessários tratamentos auxiliares que possibilitem essa remoção. Para a avaliação do potencial de riscos das cianotoxinas para a biota dos reservatórios onde ocorre a floração das cianobactérias, o anfípode *Hyaella azteca* foi o organismo aquático selecionado para a realização dos ensaios de toxicidade. O objetivo deste trabalho foi otimizar o cultivo de *Hyaella azteca* em condições de laboratório e avaliar sua taxa de reprodução, a sobrevivência e a longevidade, bem como avaliar os efeitos agudos de amostras de *Microcystis aeruginosa*, por meio de ensaios ecotoxicológicos, empregando a radiação ionizante como tecnologia auxiliar para minimizar os efeitos das toxinas nos organismos a ela expostos. Os organismos-teste foram expostos à suspensão de cianobactérias do gênero *Microcystis* para avaliar a toxicidade de cianotoxinas para *Hyaella azteca* quando submetido a diversas concentrações de suspensão de cianofíceas em meio de cultivo ASM-1. As soluções foram irradiadas em acelerador de elétrons, e as doses estabelecidas em 2,5, 5 e 10 kGy. Em ensaios preliminares foram obtidos valores de CL50 de 3,66% para o efeito de toxicidade aguda ao ser exposto à suspensão de cianobactérias contendo *Microcystis aeruginosa*. Do tratamento com radiação ionizante com dose de 2,5 kGy não houve redução da toxicidade aguda para o organismo-teste. Entretanto, as doses de 5 kGy e 10 kGy reduziram a toxicidade de *Microcystis aeruginosa* para os organismos expostos. Foi possível observar que as concentrações-teste 10% e 20% das amostras tratadas apresentaram diminuição da toxicidade para o organismo *Hyaella azteca* quando comparadas a amostra não irradiada. Quando comparados os valores médios de CL50 de exposição a suspensão de cianofíceas (*Microcystis aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 irradiado e não irradiado para *Hyaella azteca* é possível verificar que a solução-teste não irradiada apresentou maior grau de toxicidade (CL50 de $4,58 \pm 1,47\%$). Esta circunstância caracteriza uma redução evidente da toxicidade da amostra, após ser submetida à radiação por feixe de elétrons. A dose de 10 kGy (CL50 de $31,01 \pm 5,60\%$) se mostrou mais eficaz, em relação à dose de 5 kGy (CL50 de $14,55 \pm 6,66\%$).

Palavras-chave: *H. azteca*; *M. aeruginosa*; radiação ionizante; toxicidade.

ABSTRACT

GERALDES, Larissa. L. **Efficiency of ionizing radiation in reducing the toxicity of Microcystin from *Microcystis aeruginosa* for *Hyaella azteca***. 2021. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia Nuclear) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN - CNEN/SP. São Paulo.

The increasing dumping and accumulation of organic matter and nutrients in water bodies make the eutrophication process possible. The main causes of this enrichment are the discharge of untreated domestic and industrial sewage. Eutrophication can lead to the occurrence of harmful cyanobacterial blooms, causing environmental, economic and social effects. The occurrence of cyanobacterial blooms in water bodies used for human supply represents risks to the population due to the ability to produce metabolites, such as cyanotoxins. For this reason, several studies are interested in developing ways to minimize water contamination by cyanotoxins. These toxins are soluble in water and are not removed by the biological water treatment system for public supply, requiring auxiliary treatment to enable this removal. To assess the potential risk of cyanotoxins to the biota of reservoirs where cyanobacterial blooming occurs, the amphipod *Hyaella azteca* was the aquatic organism selected for the bioassays. The objective of this work was to optimize the cultivation of *Hyaella azteca* under laboratory conditions and to evaluate its reproduction rate, related and longevity, as well as to evaluate the acute effects of *Microcystis aeruginosa*, through ecotoxicological tests using ionizing radiation as auxiliary technology to minimize the effects of these organisms. The test organisms were exposed to the aqueous solution containing the cyanobacteria of the genus *Microcystis* to evaluate a cyanotoxin toxicity for *Hyaella azteca* when subjected to different rates of algal suspension in ASM-1 culture medium. The solutions were irradiated in an electron accelerator, and the common doses in 2.5, 5 and 10 kGy. In preliminary tests, LC50 values of 3.66 % were obtained for the effect of acute toxicity when exposed to the aqueous solution containing the cyanophyte *Microcystis aeruginosa*. From the treatment with ionizing radiation with a dose of 2.5 kGy, there was no reduction in acute toxicity to the test organism. However, doses of 5 kGy and 10 kGy reduced the toxicity of *Microcystis aeruginosa* to exposed organisms. It was possible to observe that the test concentrations 10% and 20% of the treated samples showed a decrease in toxicity to the *Hyaella azteca* organism when compared to the non-irradiated sample. When comparing the mean values of LC50 of exposure to algal suspension (*Microcystis aeruginosa*) in irradiated and non-irradiated ASM-1 culture medium for *Hyaella azteca*, it is possible to verify that the non-irradiated test solution presented a higher degree of toxicity (LC50 of 4.58 ± 1.47 %). This circumstance characterizes an evident reduction in the toxicity of the sample, after being submitted to radiation by electron beam. The dose of 10 kGy (LC50 of 31.01 ± 5.60 %) proved to be more effective, in relation to the dose of 5 kGy (LC50 of 14.55 ± 6.66 %).

Keywords: *H. azteca*; *M. aeruginosa*; Ionizing radiation; Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Abibe mascarado (<i>Vanellus miles</i>) forrageando à beira sudoeste do Lago Albert (Austrália), sob efeito de proliferação de cianofíceia <i>Microcystis aeruginosa</i>	12
Figura 2 – Esquema representando as fontes de contaminação do meio hídrico	16
Figura 3 – Distribuição global de cianotoxinas relatadas	19
Figura 4 – Representação esquemática da estrutura do fígado normal e após o efeito da microcistina no tecido hepático.	19
Figura 5 – Estrutura química geral das microcistinas e as principais variantes detectadas em florações tóxicas	21
Figura 6 – Imagem microscópica de células de cianofíceia <i>M. aeruginosa</i>	22
Figura 7 – <i>H. azteca</i> (macho e fêmea copulando), aumento 4X	25
Figura 8 – Cristalizador contendo o organismo <i>H. azteca</i>	30
Figura 9 – Representação do processo de repicagem.	32
Figura 10 – <i>H. azteca</i>	36
Figura 11 – Acelerador de elétrons contendo as amostras	37
Figura 12 – Curva de natalidade de <i>H. azteca</i> , obtida a partir de cultivo em laboratório – Cultivo A	39
Figura 13 – Curva de natalidade de <i>H. azteca</i> , obtida a partir de cultivo em laboratório – Cultivo B	39
Figura 14 – Curva de natalidade de <i>H. azteca</i> , obtida a partir de cultivo em laboratório – Cultivo C	40
Figura 15 – Reprodução de <i>H. azteca</i>	41
Figura 16 – Carta-controle de sensibilidade de <i>H. azteca</i> para o KCl.....	42
Figura 17 – Ensaio preliminar de toxicidade aguda para <i>H. azteca</i> exposta a <i>M. aeruginosa</i> , concentração 50% (10 mL de água de cultivo + 10 mL de suspensão de cianobactérias) e 100% (20 mL de suspensão de cianobactérias).	43
Figura 18 – Percentual de letalidade do organismo <i>H. azteca</i> nos ensaios de toxicidade aguda após 48 h de exposição à suspensão de cianobactérias (<i>M. aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado.	45
Figura 19 – Percentual de letalidade do organismo <i>H. azteca</i> nos ensaios de toxicidade aguda após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (<i>M. aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado.	45

Figura 20 – Percentual de letalidade do organismo <i>H. azteca</i> nos ensaios de toxicidade aguda após 48 h de exposição à suspensão de cianobactérias (<i>M. aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado com 5 kGy.	46
Figura 21 – Percentual de letalidade do organismo <i>H. azteca</i> nos ensaios de toxicidade aguda após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (<i>M. aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado com 5 kGy.	46
Figura 22 – Percentual de letalidade do organismo <i>H. azteca</i> nos ensaios de toxicidade aguda após 48 h de exposição à suspensão de cianobactérias (<i>M. aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado com 10 kGy.	47
Figura 23 – Percentual de letalidade do organismo <i>H. azteca</i> nos ensaios de toxicidade aguda após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (<i>M. aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado com 10 kGy.	47
Figura 24 – Variação da CL50 _{72h} com exposição de suspensão de cianobactérias (<i>M. aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 para <i>H. azteca</i> em função da dose aplicada (kGy).....	49
Figura 25 – Variação da Unidade Tóxica em função da dose.	50
Figura 26 – Média do comprimento dos organismos após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (<i>M. aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado.....	52
Figura 27 – Média do comprimento dos organismos após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (<i>M. aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy .	53
Figura 28 – Média do comprimento dos organismos após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (<i>M. aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy	53

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Objetivos.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Poluição das águas e o fenômeno da eutrofização	16
2.2 Implicações das toxinas de cianobactérias nos seres vivos	18
2.3 Bioacumulação	23
2.4 Emprego de ensaios de toxicidade com anfípodes em sedimento.....	24
2.5 Organismo-teste <i>Hyalella azteca</i> : reprodução.....	25
2.6 Aplicações da radiação ionizante para fins ambientais	26
2.6.1 A irradiação de cianotoxinas	26
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.1 Manutenção dos organismos-teste em laboratório	29
3.1.1 Cultivo do anfípode <i>Hyalella azteca</i>	29
3.1.2 Preparo do alimento composto	30
3.1.3 Ensaios de viabilidade	31
3.2 Cultivo da cianofícea <i>Microcystis aeruginosa</i>	31
3.2.1 Preparo e conservação do meio de cultivo	31
3.2.2 Cultivo e manutenção das cepas	32
3.2.3 Produção de biomassa	33
3.3 Ensaios de toxicidade para <i>Hyalella azteca</i>	34
3.3.1 Bioensaios.....	34
3.3.2 Ensaios de sensibilidade	35
3.3.3 Análise de crescimento corpóreo.....	36
3.3.4 Irradiação das amostras	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38

4.1 Reprodução e sobrevivência de <i>Hyalella azteca</i>	38
4.2 Ensaios de sensibilidade e carta-controle para <i>Hyalella azteca</i>	41
4.3 Ensaio de toxicidade aguda para <i>Hyalella azteca</i>	42
4.3.1 Ensaio preliminar de toxicidade aguda para <i>Hyalella azteca</i>	42
4.3.2 Ensaio preliminar empregando tratamento por radiação ionizante, dose 2,5 kGy.	44
4.3.3 Ensaio empregando tratamento por radiação ionizante, doses 5 kGy e 10 kGy. ..	44
4.4 Unidades tóxicas (UT) e eficiência de remoção de toxicidade	49
4.5 Ensaio de análise de crescimento corpóreo para <i>Hyalella azteca</i>	50
RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
APÊNDICES	64
APÊNDICE A. Fichas dos ensaios de toxicidade aguda com <i>Hyalella azteca</i>	64

1 INTRODUÇÃO

A perda da qualidade das águas no Brasil é ocasionada por diversos fatores, como a deficiência em saneamento e tratamento de esgotos, o que vem causando a eutrofização de corpos d'água, na maioria dos estados brasileiros. Os nutrientes que se concentram em reservatórios de águas para abastecer a população favorecem a ocorrência de florações de cianofíceas que, por sua vez, podem introduzir as cianotoxinas no ambiente aquático, um produto de seu metabolismo. As principais fontes desse enriquecimento têm sido identificadas como as descargas de esgotos domésticos e industriais dos centros urbanos e das regiões agriculturáveis (Zagatto & Bertoletti, 2008). Essas toxinas podem matar animais silvestres e domésticos, causar doenças e mesmo a morte em humanos pela exposição e/ou consumo de águas contaminadas pelas cianotoxinas. Observamos a proliferação de cianofíceas (*Microcystis aeruginosa*) em ambiente natural decorrente de eutrofização do meio hídrico (Figura 1).

Figura 1 – Abibe mascarado (*Vanellus miles*) forrageando à beira sudoeste do Lago Albert (Austrália), sob efeito de proliferação de cianofíceas *Microcystis aeruginosa*, a coloração da água comumente se dá pela presença das cianofíceas e/ou algas verdes.



Fonte: Lian, 2020.

Diversidade de algas e organismos do zooplâncton é normalmente encontrada em rios e reservatórios em boas condições, entretanto, a poluição modifica a estrutura das comunidades aquáticas pela perda de diversidade em espécies e favorecimento de outras como no caso das cianofíceas (Mowe et al, 2014; Piccin-Santos & Bittencourt-Oliveira, 2012).

O impacto da poluição aos organismos vivos nos ecossistemas representa um papel de destaque nas áreas tropicais, como as localizadas no Brasil, pois seus índices de degradação de habitat e perda de biodiversidade são excepcionalmente altos, entre eles o ambiente aquático, assim como os elementos que compõem os complexos ecológicos incluindo a diversidade entre espécies e de ecossistemas (Pringle, 2020). Foram registradas as ocorrências de pelo menos 20 espécies de cianobactérias potencialmente tóxicas, incluídas em 14 gêneros, em diferentes ambientes aquáticos brasileiros (Sant'Anna & Azevedo, 2000). A espécie *Microcystis aeruginosa* apresenta a distribuição mais ampla no Brasil e *Anabaena* é o gênero com maior número de espécies potencialmente tóxicas, tais como, *A. circinalis*, *A. flos-aquae*, *A. planctonica*, *A. solitaria* e *A. spiroides* (Agujaro, 2007; Manach et al., 2019).

A extensão e frequência de florações de cianobactérias estão se expandindo, acompanhando atividades antrópicas e alterações climáticas (Funari et al. 2012; Paerl & Otten 2013). Com o propósito de exemplificar, podemos citar a distribuição de microcistinas produtoras de *Microcystis* (MC), devido às fortes chuvas e inundações, já se espalhou por vários estuários, nos EUA e na China, onde muitos vegetais de aquicultura estão localizados, com possíveis consequências para a produção pesqueira. (Funari et al. 2012; Manganelli et al. 2012; Preece et al. 2015).

Um aspecto relevante e em função da presença das cianotoxinas é o estudo empregando ensaios ecotoxicológicos, uma vez que quanto mais se conhece sobre a sensibilidade dos organismos frente às cianotoxinas mais fácil será avaliar as causas de ocorrência de mortandade de animais em rios, lagos e em reservatórios, além de prevenir as florações de cianobactérias, com o controle da poluição das águas.

Ao compreender sobre a toxicidade e demais impactos causados pelas florações de cianofíceas, se faz necessário o desenvolvimento de tecnologias auxiliares para minimizar os efeitos das cianobactérias nos ecossistemas e proporcionar a redução das cianotoxinas da água utilizada para o consumo humano, consequentemente,

resultando em benefícios para a saúde pública. Para isso, este estudo visou ao emprego da radiação ionizante para o controle das cianobactérias e ampla aplicação dos ensaios ecotoxicológicos.

1.1 Objetivos

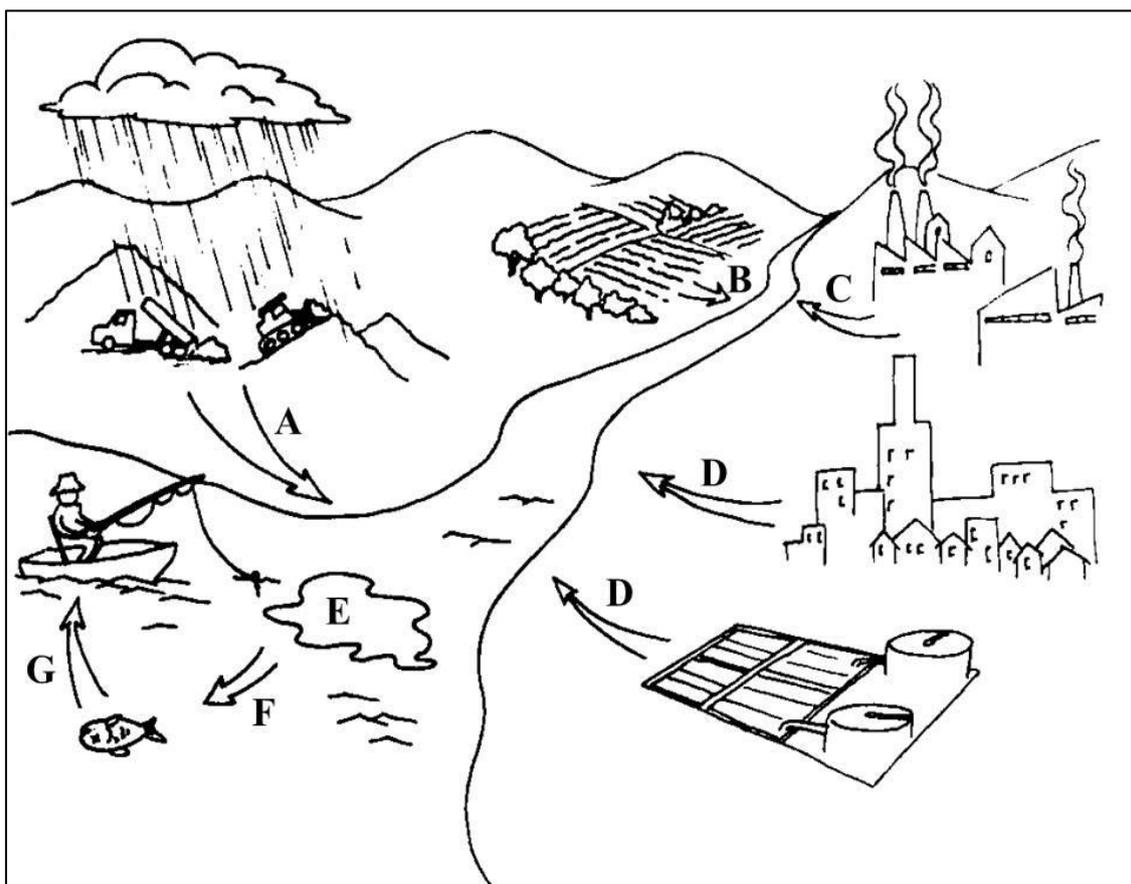
- Otimizar o cultivo de *Hyalella azteca* em condições de laboratório e avaliar a taxa de reprodução, sobrevivência e longevidade dos organismos.
- Determinar o efeito tóxico da cianotoxina microcistina para *Hyalella azteca*, um anfípode que depende dos sedimentos.
- Determinar a eficácia da irradiação, com feixe de elétrons, para a redução da toxicidade da suspensão de cianobactérias (*Microcystis aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 para os organismos expostos.
- Determinar a dose ideal de radiação, bem como as condições de irradiação para a redução da toxicidade da suspensão de cianofíceas para *Hyalella azteca*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Poluição das águas e o fenômeno da eutrofização

A poluição das águas com compostos orgânicos acarreta o fenômeno da eutrofização, sendo este caracterizado pelo aumento da quantidade de nutrientes na água, favorecendo a proliferação de microrganismos como algas e bactérias. Em certos casos, as algas que proliferam produzem toxinas, que causam impactos ambientais, econômicos e sociais. Essa ocorrência pode estar associada às ações antrópicas no meio ambiente, como a liberação de esgotos e lixo em rios e oceanos ou a utilização de agrotóxicos na lavoura, os quais são disponíveis no ambiente aquático por meio da lixiviação (Figura 2).

Figura 2 – Esquema representando as fontes de contaminação do meio hídrico, em que A) representa os lixiviados de resíduos; B) a aplicação de agrotóxicos; C) os efluentes líquidos industriais; D) os efluentes domésticos; E) a proliferação de algas e bactérias devido à eutrofização do corpo d'água; F) bioacumulação e G) biomagnificação.



Fonte: Adaptado do livro *Ecotoxicologia Aquática* (Zagatto & Bertoletti, 2008).

Entre os efeitos ambientais dos poluentes nas águas podemos citar a alteração da turbidez e a redução do oxigênio dissolvido na água (OD), tornando o ambiente inóspito para as populações aquáticas de organismos aeróbicos (Smith & Schindler, 2009). Além disso, a população local é afetada economicamente e socialmente, pois o corpo hídrico e o consumo de animais presentes no mesmo tornam-se inviáveis para consumo humano.

No Brasil e na maioria dos países em desenvolvimento, a maior parte do esgoto bruto (tanto doméstico, industrial como efluentes de sistema de cultivo) é lançado sem tratamento prévio nos cursos d'água. Quando há rede de coleta e tratamento de efluentes a indústria deve tratar seu efluente e obrigatoriamente enviar para o tratamento ofertado pelo município, no caso da cidade de São Paulo, nas estações de tratamento de esgoto (ETEs) da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) (Zanini et al., 2010). O excessivo aporte de matéria orgânica e outros poluentes têm sido relatados como os principais responsáveis pela eutrofização de grande variedade de ambientes dulcícolas, gerando preocupação crescente com alto grau de poluição (Tundisi et al., 2006).

O elevado período de retenção de água nas represas beneficia o desenvolvimento das cianobactérias, visto que, como estas apresentam taxas de crescimento menores do que as observadas em muitas espécies de algas, elas exigem águas com baixa turbulência para que possam gerar florações (Chorus & Welker, 2021; Nalewajko & Murphy, 2001). Entretanto, as espécies de cianobactérias se estabelecem em um corpo d'água devido a um conjunto de estratégias adaptativas que as tornam competitivas nos ecossistemas aquáticos (Sant'anna et al., 2008) e que são bastante influenciadas por fatores ambientais como temperatura, luz e nutrientes.

Como exemplo de alteração da qualidade sanitária causadas pela proliferação de cianofíceas, se faz de grande importância citar a crise no abastecimento de água ocorrida no início de 2020, no qual cerca de 9 milhões de habitantes da Região Metropolitana do Rio de Janeiro dependentes do Sistema de Água Guandu receberam água com problemas de sabor e odor. No Brasil, se somam a essas demandas os níveis indesejáveis de saneamento básico, refletindo diretamente na qualidade e disponibilidade da água para os diferentes usos. Nesse contexto, o serviço ecossistêmico

de regulação hídrica pela diluição de efluentes em corpos hídricos é de suma importância para a qualidade de vida das populações (Sotero-Martins et al, 2020; Xavier, 2020).

Para compreender os riscos ecológicos causados pelos efluentes líquidos industriais, podemos citar o estudo que avaliou a toxicidade da alga *Scenedesmus obliquus* induzida por efluentes de tingimento têxtil. Foram analisados os seguintes indicadores de toxicidade de tingimento têxtil em algas: estado fisiológico (crescimento), bioquímico (síntese de clorofila-a), atividade de superóxido dismutase e nível estrutural (integridade da membrana celular). De acordo com o estudo, devido ao estresse celular causado pela toxicidade do efluente, ocorreu peroxidação nas células, assim destruindo os cloroplastos e, conseqüentemente, inibindo a síntese de clorofila e reduzindo a fotossíntese. Ademais, com aumento do tempo de exposição, danos irreversíveis às algas podem causar tanto a letalidade destas quanto a incapacidade de reprodução. Os resultados obtidos no estudo podem auxiliar na compreensão dos riscos ecológicos de efluentes industriais por meio de testes com algas causados por TDE (efluentes de tingimento têxtil) (Cai et al., 2020).

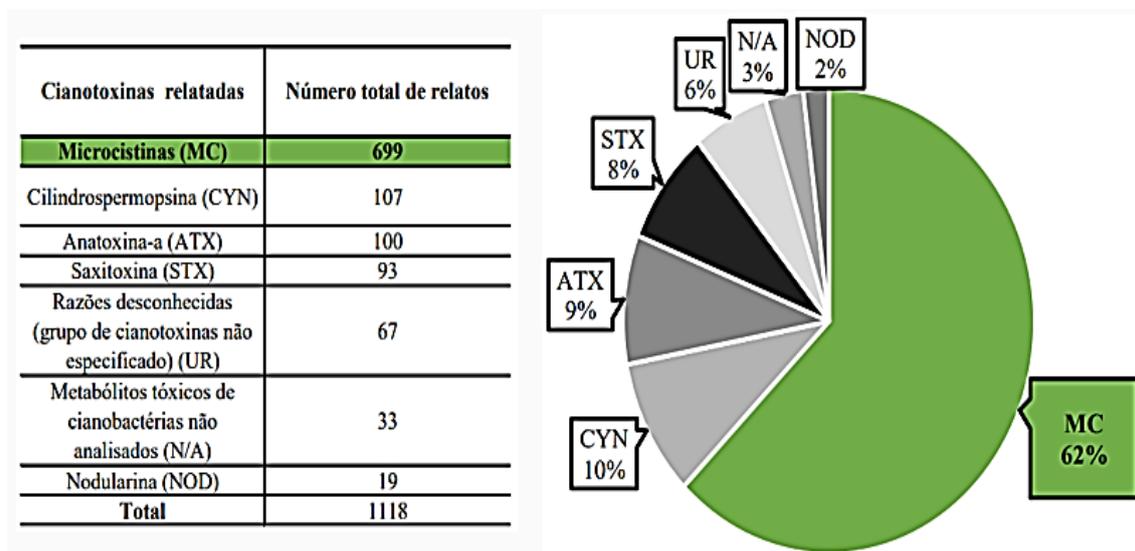
Além disso, o fósforo (P), disponível em abundância no ambiente aquático eutrofizado, é responsável pelo crescimento das algas e pelas mudanças estruturais nas comunidades de algas, portanto, a diferença na disponibilidade deste elemento para as algas pode alterar a estrutura da comunidade. Com intuito de analisar a competição intraespecífica entre duas cianobactérias formadoras de florações, *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, um estudo indicou que uma competição por fósforo em excesso no ambiente devido eutrofização pode acarretar em vantagens para a dominância de *C. raciborskii* em águas naturais com limitação de fósforo inorgânico dissolvido ou abundância de fósforo orgânico dissolvido, conseqüentemente, suprimindo a floração da outra espécie (Bai et al., 2020).

2.2 Implicações das toxinas de cianobactérias nos seres vivos

As cianobactérias integram-se no grupo das Eubactérias, divisão *Cyanophyta*, constituída pelas cianofíceas, também conhecidas como cianobactérias, que representam um grupo monofilético (originadas de um ancestral comum), possuem a clorofila-a, podendo apresentar como pigmentos as ficobiliproteínas, os quais são pigmentos acessórios e reserva de nitrogênio (De Paula et al., 2007).

Uma característica importante das cianobactérias é a sua capacidade de produzir determinados metabólitos secundários denominados genericamente de cianotoxinas (Carmichael, 1992). Ao observar a distribuição global de cianotoxinas relacionadas, as microcistinas representam 62% dos relatos notificados (Figura 3). As cianotoxinas podem ser classificadas, de acordo com seu mecanismo de toxicidade em animais em três classes principais: as hepatotoxinas, as dermatotoxinas e as neurotoxinas.

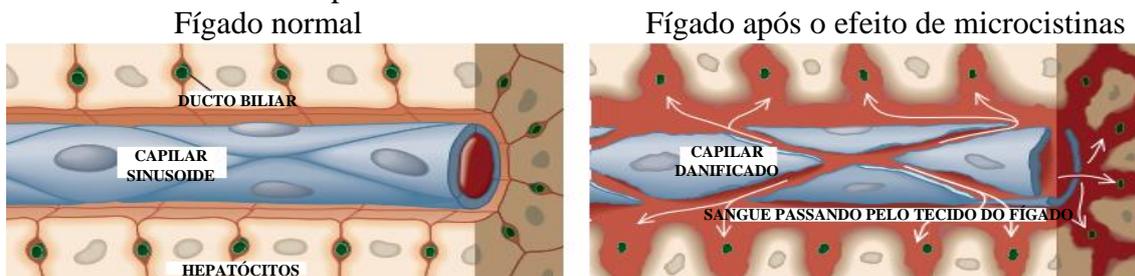
Figura 3 – Distribuição global de cianotoxinas relacionadas.



Fonte: Svircev et al., 2019.

Os primeiros estudos realizados por meio de bioensaios com células de cianofíceas coletadas em florações, principalmente da espécie *Microcystis aeruginosa*, demonstraram a presença de microcistina, uma toxina que causou sérios danos ao fígado (palidez, frequentemente manchado e não sangrava na incisão) e letalidade de camundongos testados (Hughes et al., 1958). A representação dos danos ao fígado pode ser observada na Figura 4.

Figura 4 – Representação esquemática da estrutura do fígado normal e após o efeito da microcistina no tecido hepático.



Fonte: Carmichael, 1994.

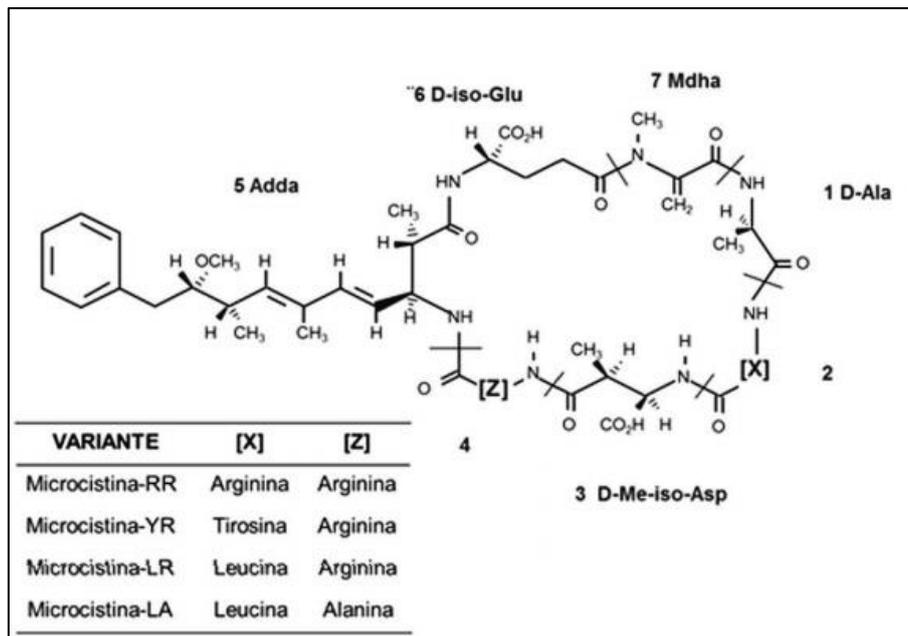
O estudo realizado na Região da Barra da Tijuca no Rio de Janeiro, para avaliar a qualidade hídrica da Lagoa de Jacarepaguá, tendo em vista o acelerado e intensificado processo de eutrofização, associado à falta de infraestrutura de saneamento básico, apresentou uma elevada abundância zooplantônica, com baixa diversidade de espécies. Uma das consequências da eutrofização nesse ambiente tem sido a frequente ocorrência de florações de cianobactérias. Durante alguns meses, as concentrações de microcistinas encontradas nos músculos dos peixes estiveram acima dos valores recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para consumo humano, o valor guia de microcistina no consumo humano é $1\mu\text{g L}^{-1}$, porém estes peixes são consumidos e comercializados pela população humana local, principalmente pela comunidade que vive em torno dessa lagoa (Gomes et al., 2009).

Com relação à saúde humana, as principais vias de exposição a cianotoxinas são o uso recreativo de lagos e rios (via oral e dérmica) e o consumo de água potável e de alimentos de algas (via oral). Entretanto, há também duas vias de exposição menos comum, sendo estas por meio do uso de chuveiros (via inalatória) e excepcionalmente através de hemodiálise (via endovenosa) (Leal & Soares, 2004).

Os casos de envenenamento por cianotoxinas têm sido associados à ingestão de cianotoxinas em animais selvagens e rebanhos. Em humanos, poucos episódios de envenenamentos humanos letais ou graves foram registrados após a exposição aguda ou de curto prazo, mas a exposição crônica a baixos níveis de cianotoxinas continua sendo uma questão crítica para a saúde humana (Buratti et al., 2017).

A maneira mais comum de intoxicação envolvendo as cianobactérias é causada por hepatotoxinas, que representam ação mais lenta, causando morte entre poucas horas e poucos dias, em decorrência de hemorragia intra-hepática e choque hipovolêmico (redução do volume sanguíneo, ocasionando aumento excessivo do fígado). Os sinais observados após ingestão dessas hepatotoxinas são prostração, anorexia, vômitos, dor abdominal e diarreia (Beasley et al., 1989). Entre as espécies já identificadas como produtoras dessas hepatotoxinas está incluso o gênero *Microcystis*, observado no presente estudo (Figura 5).

Figura 5 – Estrutura química geral das microcistinas e as principais variantes detectadas em florações tóxicas, em que X e Z representam os dois aminoácidos responsáveis pela nomenclatura das diferentes variantes de microcistinas.

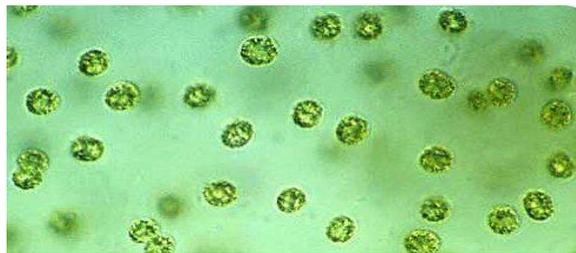


Fonte: Cassini et al., 2013.

Um estudo com alta relevância identificou as cianobactérias em sedimentos, na Bacia do Rio Limpopo (África do Sul), além de demonstrar que as cianobactérias podem ser perigosas para os seres humanos, e que as comunidades rurais e os agricultores usam a água da bacia hidrográfica do rio Limpopo para consumo humano, além do uso para manter animais domésticos e selvagens, bem como para a irrigação. Portanto, monitorar e/ou reduzir as cargas de nutrientes nos ambientes dulcícolas irá diminuir a ameaça de proliferação de cianobactérias para a saúde humana e animal. (Magonono et al., 2018) e de seus efeitos.

A Microcistina-LR (MC-LR), uma potente hepatotoxina, é a cianotoxina mais prevalente encontrada em florações de água doce. Embora produzida por muitas espécies de cianobactérias, *Microcystis aeruginosa* (Figura 6) está mais comumente associada à produção de MC-LR. A ocorrência dessas florações está aumentando em lagos, lagoas e outras águas superficiais e, portanto, exigem métodos de tratamento eficientes para serem removidos durante o tratamento das águas e antes do abastecimento (Folcik & Pillai, 2020).

Figura 6 – Imagem microscópica de células de cianofíceia *M. aeruginosa*.



Fonte: Museu de História Natural de Londres.

Em ambientes naturais, as microcistinas, principalmente em ausência de luz, podem permanecer estáveis por mais de três meses, graças à sua alta estabilidade química (Funari & Testai, 2008). Estes compostos são resistentes a hidrólise e oxidação química em pH próximo a neutralidade (Sivonen & Jones, 1999). A hidrólise ocorre somente em condições extremas, como HCl 6 mol L⁻¹ e temperatura elevada (40°C) (Chorus & Welker, 2021). Em temperaturas elevadas (40°C) e alto ou baixo valor de pH, são citadas hidrólises lentas, períodos de aproximadamente 10 semanas a pH 1 e mais de 12 semanas a pH 9 para que uma degradação superior a 90% seja obtida (Teixeira, 2009). Assim, essas toxinas, quando dissolvidas, não são removidas pelo sistema de tratamento convencional da água (Lambert et al., 1996).

A Portaria GM/MS nº888, de 4 de maio de 2021, responsável por dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, determina que o valor somatório das concentrações de todas as variantes de microcistinas não deve exceder o valor máximo permitido de 1 µg L⁻¹ (Brasil, 2021). Todavia, se o aumento da eutrofização em ambientes aquáticos não for severamente controlado, torna-se muito provável que ocorram outros casos de intoxicação por cianotoxinas, sendo então, necessária a implementação de melhorias nas técnicas de tratamento de água que permitam a remoção das cianofíceas da água tratada.

O tratamento de água convencional, usando floculação, precipitação, filtração e cloração, não é suficiente para remover toxinas de cianofíceas, principalmente quando as águas são captadas em mananciais que apresentam altos níveis de eutrofização, com dominância de cianofíceas, como vem sendo observado na maioria dos reservatórios brasileiros (Zagatto & Bertoletti, 2008). As cianotoxinas são hidrossolúveis e não são removidas pelas etapas que o sistema de tratamento da água de abastecimento aplica, sendo, inclusive, resistentes à fervura (Carvalho et al., 2013).

Tendo em vista a implementação de outras técnicas para remoção de cianofíceas podem ser citados os estudos de Zheng (2012), Liu e colaboradores (2013), os quais estudaram a radiação ionizante para o controle de cianotoxinas, utilizando fonte gama e acelerador de feixe de elétrons, respectivamente.

2.3 Bioacumulação

A assimilação e a retenção de um contaminante por um organismo podem acarretar a concentração elevada dele, com probabilidade de causar efeitos deletérios. Esse processo pode ocorrer por absorção direta, a partir do ambiente, ou por absorção indireta, através do alimento contaminado. Consequentemente, em uma cadeia alimentar, os contaminantes podem ser transferidos de um nível trófico a outro (Zagatto & Bertolletti, 2008).

As toxinas produzidas pelas cianofíceas em uma floração podem ser acumuladas pelos organismos que compõem a comunidade aquática e serem transferidas para outros níveis tróficos (Campos & Vasconcelos, 2010). Esse fenômeno é conhecido como bioacumulação indireta ou biomagnificação, onde o processo através do qual os contaminantes são transferidos de um nível trófico a outro, exibindo concentrações crescentes à medida que passam para os níveis mais elevados (Spacie et al., 1995).

A ingestão de alimento contaminado pode ser responsável por altos níveis de contaminantes nos tecidos de peixes expostos a concentrações muito baixas destes na água. Para organismos bentônicos, a ingestão de partículas do sedimento pode ser uma significativa via de bioacumulação. Além disso, os organismos bentônicos podem selecionar partículas maiores de carbono orgânico, influenciando sua exposição aos contaminantes associados ao sedimento (Zagatto & Bertolletti, 2008).

Estudos indicam que, em ambiente natural, as microcistinas (MCs) são acumuladas por uma ampla gama de organismos aquáticos, incluindo peixes (Magalhães et al., 2003; Mohamed et al., 2003), anfípodos (Berezina et al., 2020), gastrópodos (Berezina et al., 2020; Zhang et al., 2012) e bivalves (Berezina et al., 2020).

Além disto, a pesquisa realizada no lago Taihu (China) identificou bioacumulação de MCs em quatro espécies de peixes de diferentes níveis tróficos, assim como a avaliação dos riscos desta para a saúde humana. As microcistinas (MC-LR, MC-

YR e MC-RR) foram quantificadas nas seguintes espécies de peixes: carpa-prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), carpa-cabeçuda (*Aristichthys nobilis*), kingiuo (*Carassius auratus*) e carpa-comum (*Cyprinus carpio*), nas quais representaram riscos para a saúde dos humanos que consomem essas quatro espécies de peixes deste lago (Jia et al., 2014).

No mesmo lago, foram investigados os mecanismos de expansão da floração de cianofíceas através do estudo de fatores meteorológicos, qualidade da água, biomassa das algas e área de floração antes e após dois tufões que ocorrem em 2007 e 2016. Os autores relataram que a ressuspensão de sedimentos induzida por tufão causou um aumento de curto prazo nos nutrientes disponíveis no corpo d'água, porém retornaram aos níveis anteriores após a passagem do ciclone, resultando no aumento da densidade de células de *Microcystis* em duas baías do Lago Taihu, Gonghu e Meiliang. A área de floração foi ampliada em comparação com antes do tufão, porém dias após o tufão, a área de floração reduziu gradualmente (Chen et al., 2020).

2.4 Emprego de ensaios de toxicidade com anfípodas em sedimento

A Agência de Proteção Ambiental (EPA) e a Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM) recomendam a realização de testes com *Hyalella azteca* para avaliar a toxicidade de contaminantes associados ao sedimento, sendo o critério utilizado o da sobrevivência ou crescimento (ASTM, 2000; USEPA, 2000).

Devem-se destacar alguns artigos de importância na área de toxicidade em sedimento com anfípodas. Primeiramente, foi demonstrado o efeito da poluição no crescimento corpóreo da *Hyalella azteca* (Garcia, 2012). Além disso, a análise do tamanho corporal é de grande relevância para análise ambiental, por exemplo, no estudo dos metais, oligoelementos e ecotoxicidade em sedimentos do Rio Cubatão (Brasil), foi demonstrado a existência de fontes de contaminação para o Rio Cubatão e Sistema Estuarino de Santos, que além de alto nível de toxicidade para *H. azteca*, apresentou impactos importantes no crescimento corporal destes indivíduos (Borrely et al., 2018).

Foram realizados estudos para avaliar a toxicidade do ácido perfluorooctanoico (PFOA) utilizando bioensaios com o anfípode *Hyalella azteca* e com o peixe *Pimephales promelas*. O PFOA é um produto químico industrial preocupante devido à sua presença ambiental, persistência, potencial bioacumulativo,

toxicidade e capacidade para transporte de longo alcance (Bartlett et al., 2021). Foram observados a diminuição da sobrevivência, alterações no padrão de crescimento e de reprodução dos anfípodes. Esses efeitos não foram observados nos peixes, entretanto, foi verificada falta de inflação da bexiga natatória, indicando que *H. azteca* foi a espécie mais sensível nesse experimento.

O estudo empregando o anfípode *Gammarus zaddachi* demonstrou que florações de cianobactérias tóxicas não são extremamente fatais para este organismo-teste, entretanto, em elevadas concentrações houve efeito negativo na sobrevivência, na fecundidade e comportamento alimentar (Korpinen et al., 2006).

Ao avaliar a toxicidade de sedimentos para o organismo-teste *Hyalella azteca*, este demonstrou tolerância a diferentes tipos de sedimento (águas pluviais) e maior sensibilidade quando comparada a outros organismos, ideal para estudos toxicidade de sedimento, podendo ser usados para medir fontes difusas e períodos intermitentes de poluição (Burton, 1992).

2.5 Organismo-teste *Hyalella azteca*: reprodução

Hyalella é um anfípode de água doce de hábitos epibentônicos, recomendado para estudos com sedimentos de rios. Observa-se dos cultivos em laboratório que os animais se separam rapidamente para a reprodução, o que permite que a fêmea sofra a muda. Em seguida o casal se une novamente e é feita a transferência dos espermatozoides, que, após sua emissão, são dirigidos ao marsúpio, através da corrente ventilatória da fêmea. O par se separa e os óvulos são liberados imediatamente na câmara incubadora, onde ocorre a fecundação (Barnes, 1984). O momento de cópula entre o organismo macho e a fêmea pode ser observado na Figura 7. O desenvolvimento é direto, ou seja, não se observam fases larvais. Este organismo é utilizado principalmente para avaliação da toxicidade de sedimentos e é facilmente cultivado em condições laboratoriais.

Figura 7 – *H. azteca* (macho e fêmea copulando), aumento 4X.



Fonte: autor da dissertação.

2.6 Aplicações da radiação ionizante para fins ambientais

As radiações ionizantes têm sido utilizadas em diferentes áreas, como a irradiação de alimentos para sua preservação e desinfestação, a irradiação de materiais médicos para a radioesterilização, beneficiamento de pedras preciosas, processamento e modificação de polímeros, entre outras. Para estes propósitos são comumente utilizadas fontes de raios gama e o acelerador de elétrons (Romanelli et al., 2004; Borrely et al., 2018).

O emprego da radiação ionizante como tecnologia auxiliar no tratamento de efluentes muito tóxicos tem sido promissor ao aumentar a biodegradabilidade do mesmo (Borrely et al., 2000). Além disto, essa tecnologia oferece abordagens promissoras para a remoção de poluentes orgânicos na água, incluindo cianotoxinas e cianobactérias. O tratamento por feixe de elétrons demonstrou ser eficaz ao aplicar a radiólise da água para desinfecção de águas residuais e lodo de esgoto (Siwek & Edgecock, 2020). Com conhecimento e o desenvolvimento tecnológico atuais, torna-se de grande relevância a adoção de tecnologias auxiliares para otimizar o processo de tratamento e descarte de efluentes de forma mais eficaz e mitigar os efeitos das toxinas de cianobactérias no ambiente e suas implicações na saúde pública.

A radiação gama para a degradação de cianobactérias e toxinas é eficaz para a degradação da Microcistina-LR, bem como para reduzir as concentrações de células. No entanto, a tecnologia de irradiação gama envolve o uso de isótopos radioativos e, portanto, pode não ser viável comercialmente de uma perspectiva de segurança (Folcik & Pillai, 2020). Já, a tecnologia de irradiação por feixe de elétrons (eBeam), que depende de eletricidade regular para gerar elétrons de alta energia, é capaz de alcançar os mesmos resultados sem utilizar os isótopos radioativos. Nesta revisão crítica, o estado atual da ciência a respeito da remediação de MC-LR e *M. aeruginosa* com tecnologias de radiação ionizante é apresentado e pesquisas futuras necessárias são discutidas (Folcik & Pillai, 2020).

2.6.1 A irradiação de cianotoxinas

Entre os estudos para investigar a irradiação por feixes de elétrons como uma possível técnica de tratamento, cabe citar Ho Kang (Kang et al., 2004), sendo parte da pesquisa coordenada pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA),

nomeado como Projeto de Remediação de Águas Poluídas e Esgoto por Processamento de radiação (Cheng, 2004). O projeto investigou brevemente o uso de feixe de elétrons para degradar uma variedade de espécies de algas e cianobactérias incluindo: *Chlorella sp.*, *Scenedesmus sp.*, *Microcystis sp.*, *Anabaena sp.*, *Oscillatoria sp.*, *Prorocentrum micans*, *Prorocentrum minimum*, *Scrippsiella trochoidea*, *Lingulodinium polyedra* e *Cochlodinium polykrikoides*.

Com relação às pesquisas utilizando o tratamento por feixe de elétrons aplicado a *M. aeruginosa* e microcistina, Liu e colaboradores (Liu et al., 2014) investigaram o efeito da irradiação por feixe de elétrons em *M. aeruginosa*. Os autores extraíram a clorofila-a para determinar a capacidade fotossintética e monitoraram as concentrações celulares por meio de medições de densidade óptica. Foi relatada eficiência de remoção com base na clorofila-a extraída nas concentrações de 43%, 83%, 86%, 91% e 84% para doses de 1–5 kGy. Os resultados foram atribuídos a danos oxidativos causados pela irradiação.

O mesmo grupo de pesquisa publicou sobre o uso de irradiação por feixe de elétrons para controlar as concentrações de microcistina (Liu et al., 2015). Nesse estudo, além de monitorarem os parâmetros citados no estudo anterior, as culturas foram analisadas quanto ao conteúdo de microcistina intra e extracelular após irradiação das amostras. Os autores relataram que para a presença de Microcistina-LR intra e extracelular, houve um aumento da microcistina em aproximadamente 4 dias após a irradiação para doses maiores de 1 kGy, seguido por uma diminuição acentuada até 12 dias. Embora haja um aumento, os pesquisadores concluíram que uma dose apropriada de irradiação por feixe de elétrons pode inibir a produção de microcistina.

Com intuito de remover durante o processo de tratamento de água as toxinas produzidas pela *Microcystis aeruginosa*, foi estudado a exposição das amostras à irradiação com doses de 2 a 5 kGy, nos quais os dados expressaram que durante os experimentos as amostras irradiadas obtiveram diminuição de proteína e destruição do sistema antioxidante da cianofíceia, conseqüentemente, reduzindo a secreção de polissacarídeos extracelulares (Liu et al., 2020). Diante disso, os resultados apresentaram alteração no crescimento das algas irradiadas, além de afetar, precipitadamente, sua capacidade de realizar fotossíntese.

O estudo aplicando doses tão baixas quanto 2 kGy apresentaram letalidade para as células de *M. aeruginosa* e induzem a lise celular (processo de destruição ou dissolução da célula causada pela rotura da membrana plasmática). No entanto, observou-se que há um atraso na lise celular após a irradiação, onde as células de *M. aeruginosa* ainda podem estar metabolicamente ativas e capazes de sintetizar microcistina. Estes resultados sugerem que a irradiação por feixe de elétrons pode ser adequada para mitigação de florações de cianobactérias prejudiciais no tratamento de água se empregado após a lise celular (Folcik et al., 2021).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Manutenção dos organismos-teste em laboratório

O cultivo e manutenção dos organismos-teste foram realizados no Laboratório de Ensaio Biológicos Ambientais do Centro de Tecnologia das Radiações (LEBA-CETER) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP).

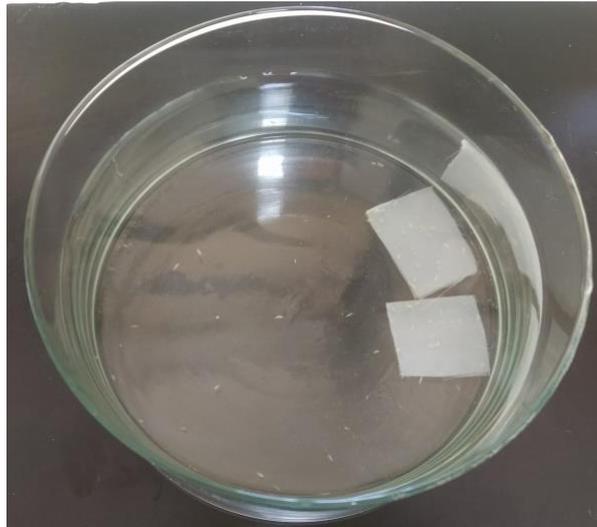
3.1.1 Cultivo do anfípode *Hyalella azteca*

A manutenção dos cultivos de *Hyalella azteca* (crustáceo, anfípode) foi realizada semanalmente, seguindo recomendações da ABNT (ABNT NBR 15470, 2013). Cada cultivo foi mantido em cristalizadores que continham aproximadamente 3 L de água de cultivo (água natural), além da tela usada como substrato sintético (náilon). Todo o cultivo foi mantido em água coletada no ambiente natural, ajustando o pH para 7 ± 2 e dureza de 45 ± 2 mg $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$. A água utilizada para manutenção dos cultivos em laboratório foi coletada trimestralmente no reservatório de Ribeirão do Pirai, Bacia do Rio Jundiá, localizado no município de Salto/SP. Essa mesma água foi utilizada para a diluição de amostras e realização dos ensaios.

As culturas foram dispostas em incubadora com temperatura de 24 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas de luz. Foram adicionados 160 organismos no início de cada cultivo. Os organismos foram alimentados duas vezes na semana com ração de peixe e alimento composto (RL) preparado com a ração para peixes ornamentais (Alcon®). Todas as culturas possuíam idade conhecida para possibilitar o controle da reprodução e sobrevivência dos adultos.

Semanalmente, no dia de troca total ou parcial de água dos cultivos, foi contado o número de adultos em cada cristalizador e separados os jovens. A fim de transportar os organismos para os novos recipientes, $2/3$ da água do cultivo foi transferida para outro recipiente através de sifonamento utilizando uma mangueira de silicone com malha de náilon, com o intuito de impedir a perda de organismos. Esses organismos adultos foram colocados em cristalizador com nova água de cultivo (troca total), essa massa de água foi mantida sob aeração branda (Figura 8) e os organismos jovens foram transferidos para béqueres com água de cultivo, ambos contendo substrato artificial (malha de náilon). Essas etapas de separação e aeração da água são fundamentais para a adequada manutenção e cultivo, bem como para a alimentação.

Figura 8 – Cristalizador contendo o organismo *H. azteca*.



Fonte: autor da dissertação.

3.1.2 Preparo do alimento composto

O alimento composto (RL) foi preparado utilizando dois ingredientes dissolvidos em água, sendo estes a ração para peixes ornamentais e levedura (fermento biológico seco).

Primeiramente, foi preparada a ração para peixe digerida. Para isso, foram adicionados 5 g de ração em 1000 mL de água destilada, esta permaneceu sob aeração contínua durante uma semana. Durante esse tempo, foi necessário completar o volume de água para compensar a perda por evaporação.

Após esse período, foi cessada a aeração e aguardado algumas horas para possibilitar o processo de decantação. Este se faz necessário para facilitar a transferência do líquido através da filtração, a fim de separar o material sedimentado que se fixa no fundo. Essa solução foi armazenada em frascos etiquetados de 100 mL. Estas pequenas porções foram congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, as quais foram descongeladas, semanalmente, para o preparo de cada lote de alimento.

Para preparar a levedura, foi previamente pesado 0,5 g de fermento biológico seco em uma balança analítica. Posteriormente, no momento de preparo do alimento composto, foi adicionado o fermento pesado em 100 mL de água destilada. Esta foi mantida sob agitação até a dissolução total (± 5 minutos).

No momento de preparo do alimento composto, deve ser combinado em partes iguais a ração digerida e a levedura, preparadas anteriormente. O alimento composto foi preparado semanalmente e conservado na geladeira para a alimentação do anfípode *Hyalella azteca*.

3.1.3 Ensaios de viabilidade

A cada novo lote de água natural coletado foi realizado o ensaio de viabilidade dos organismos no laboratório, este tem como propósito assegurar a confiabilidade dos resultados obtidos nos ensaios realizados com o anfípode *Hyalella azteca* exposto nessa água de cultivo, de acordo com o recomendado em norma técnica.

Nesses ensaios foram expostos à água coletada 10 organismos jovens (de sete a quatorze dias de vida) por um período de 48 horas. Durante esse tempo foram mantidos dentro da incubadora com temperatura controlada, sem aeração e sem adição de alimento. Após o período de exposição, os organismos devem estar vivos, e com boa aparência. Como critério de adequação do novo lote de água, não deve haver morte dos organismos e caso haja não pode exceder 10% dos organismos expostos. Caso ocorram mortes acima desse limite, todo o lote de água deve ser descartado, protegendo o cultivo.

3.2 Cultivo da cianofíceia *Microcystis aeruginosa*

As cepas que possibilitaram o início do cultivo da cianofíceia *Microcystis aeruginosa* utilizada neste estudo foram doadas pelo Laboratório de Toxinas e Produtos Naturais de Algas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF-USP).

A manutenção dos cultivos de *M. aeruginosa* foi realizada seguindo as recomendações do Manual para Cultivo de Cianobactérias (Jacinavicius et al., 2013).

3.2.1 Preparo e conservação do meio de cultivo

O meio utilizado para cultivo de *Microcystis aeruginosa* foi o Meio ASM-1, este teve como propósito fornecer biomassa para as análises ecotoxicológicas e para a manutenção das cepas.

Para o preparo do meio de cultura foram preparadas as soluções estoque que compõem o meio com concentração 100:1 (Tabela 1), estas foram armazenadas no

freezer, onde permaneceram congeladas até o momento de uso. O Meio ASM-1 foi composto pelas soluções estoque descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição das soluções estoque.

Soluções Estoque	Nutrientes	Quantidade (g)
A	NaNO ₃	1,7
	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,41
	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,49
	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,29
B	KH ₂ PO ₄	0,68
	NaH ₂ PO ₄ .12H ₂ O	1,79
C	H ₃ BO ₃	2,48
	MnCl ₂ .4H ₂ O	1,39
	FeCl ₃ .6H ₂ O	1,08
	ZnCl ₂	0,335
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,019
	CuCl ₂	0,0014
D	EDTA Na ₂	1,86

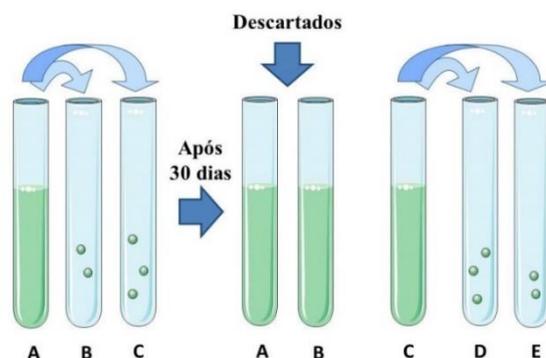
Fonte: Adaptado de Gorham et al., 1964 e Zagatto & Aragão, 1992.

3.2.2 Cultivo e manutenção das cepas

A cultura de *Microcystis aeruginosa* foi mantida em tréplicas em tubos de ensaios contendo 17 mL de meio de cultura, sob condições controladas dentro da incubadora com temperatura de 23±2 °C e fotoperíodo de 14 horas de luz e 10 horas de escuro.

A troca do meio de cultura foi realizada aproximadamente a cada 30 dias, no qual um dos três tubos era a repicagem anterior, portanto mais antigo, e os outros dois eram da repicagem atual, tendo estes dois a mesma data (Figura 9).

Figura 9 – Representação do processo de repicagem das cianobactérias.



Fonte: Adaptado do Manual para Cultivo de Cianobactérias (Jacinavicius et al., 2013).

Entre os dois tubos com a mesma data foi escolhido um para funcionar como inóculo e os outros dois eram descartados. Com base no tubo de ensaio escolhido foram feitas duas novas repicagens em tubos com meios novos, procedendo nos três tubos de cultura a serem mantidos. O tubo com a cultura antiga era mantido por segurança, tendo em vista que a repicagem pode fracassar.

Para o descarte das cepas foi utilizado autoclavagem das mesmas, por 30 minutos a 125 °C, e pressão de $1,65 \cdot 10^5$ Pa. O material já pode ser descartado com segurança no dia seguinte à esterilização.

3.2.3 Produção de biomassa

O processo de produção de biomassa de cianofíceas testes consistiu em três etapas, em cada uma o inóculo em fase exponencial foi de 10% do volume total do meio. O tempo médio para que a cultura atinja a fase exponencial corresponde a 1-2 semanas, seguindo para a realização dos testes e da irradiação.

Para assegurar o período de fase exponencial da cultura de *M. aeruginosa* para realização dos ensaios, acatamos um estudo que realizou contagem de células da cultura destas cianofíceas em condições laboratoriais. Constataram a existência de quatro fases da cultura de *M. aeruginosa*, sendo estas: fase de latência (de 0 a 4 dias da cultura), fase exponencial (entre os dias 4 e 17), fase de estabilização (entre os dias 17 e 28) e fase de morte (de 28 a 30 dias a partir do início do cultivo) (Silva, 2021).

Foram adicionados 5 mL de inóculo em um frasco Erlenmeyer contendo 50 mL de meio de cultura, este volume foi correspondente a 10% do meio presente no recipiente. Os frascos utilizados na transferência de uma porção da cultura contida no recipiente anterior para o novo recipiente foram abertos perto da chama do bico de Bunsen, de forma a impedir contaminação devido à entrada de ar exterior contaminado. Uso obrigatório de fluxo laminar.

Na segunda etapa, após constatado o crescimento da cultura, transferiu-se 50 mL do inóculo para um frasco Erlenmeyer contendo 500 mL de meio. Por último, os 500 mL de inóculo foram transferidos para um frasco de vidro de 6000 mL com 5000 mL de meio de cultura. Após finalizada cada etapa, os frascos permaneceram

dentro da câmara com temperatura de 23 °C (± 2), sob aeração e fotoperíodo de 14 h de luz.

Visando evitar contaminação, a vidraria utilizada no cultivo e manutenção das cepas foram utilizadas apenas para esta finalidade, portanto permaneceram separadas das demais vidrarias do laboratório. A lavagem de vidraria e a esterilização de vidraria, utensílios e equipamentos foram realizadas seguindo as recomendações do Manual para Cultivo de Cianobactérias (Jacinavicius et al., 2013).

3.3 Ensaios de toxicidade para *Hyalella azteca*

O anfípode *Hyalella azteca* foi o organismo aquático selecionado para a realização dos ensaios de toxicidade. As amostras (líquidas contendo *M. aeruginosa*) analisadas passaram por tratamento por radiação ionizante (feixe de elétrons), com intuito de avaliar a diminuição da toxicidade das cianotoxinas para estes organismos.

3.3.1 Bioensaios

Os ensaios de toxicidade para *H. azteca* foram realizados para estudo de efeitos agudos. Nestes foram utilizados organismos jovens de sete a quatorze dias, de acordo com a norma técnica ABNT (ABNT NBR 15470, 2013). Para obedecer ao critério de idade dos organismos, estes foram separados uma semana antes de realizar os ensaios. Os organismos-teste contidos nos cristalizadores de cultivos, foram transferidos para um Becker de vidro contendo 500 mL de água de cultivo e substrato artificial (malha de náilon).

No decorrer dos ensaios os organismos jovens de *Hyalella azteca* foram distribuídos em recipientes de polietileno. Cada frasco continha um organismo exposto à 20 mL de solução-teste e substrato artificial. Os organismos-teste foram expostos em um período de 72 horas a concentrações variadas de soluções aquosas contendo as cianofíceas (*Microcystis aeruginosa*) antes e após tratamento por radiação ionizante (feixe de elétrons).

Os recipientes de teste foram preparados antes do início das experiências. Cada recipiente continha um substrato artificial feito com uma pequena malha de náilon. Diferentes concentrações (Tabela 2) e um grupo de controle negativo foram

preparados para a amostra irradiada e não irradiada. Dez réplicas foram realizadas para cada concentração estudada em cada ensaio.

Tabela 2 – Volume de água de cultivo e suspensão de cianobactérias (*M. aeruginosa*) utilizados na preparação das concentrações-teste para os ensaios de toxicidade aguda para o organismo *H. azteca*.

Concentrações (%)	Água de cultivo (mL)	Suspensão de cianobactérias (mL)
Controle	20	0
0,5	19,9	0,1
1	19,8	0,2
2,5	19,5	0,5
3	19,4	0,6
4	19,2	0,8
5	19	1
10	18	2
20	16	4
30	14	6
50	10	10
100	0	20

Os testes foram mantidos em incubadora com temperatura de 24 ± 1 °C e fotoperíodo de 16 horas de luz, nos quais os organismos foram alimentados com alimento composto (RL) ao iniciar o teste e após 48 horas de exposição. Para avaliar as condições dos testes, foi preparado em paralelo um conjunto de organismos-teste expostos à água de diluição utilizada nos ensaios, este é denominado de controle.

A validade dos ensaios tem um critério de sobrevivência nos controles quando a mortalidade deve ser igual ou inferior a 20%. Os valores de concentração que causaram letalidade de cinquenta por cento (50%) dos organismos (CL50) foram calculados com auxílio do software Trimmed Spearman-Kärber (TSK).

3.3.2 Ensaio de sensibilidade

Os organismos foram expostos a cinco concentrações de solução-teste contendo a substância de referência cloreto de potássio (KCl) e ao controle, seguindo recomendações de norma técnica (ABNT NBR 15470, 2013). As concentrações utilizadas foram 140 mg L^{-1} , 175 mg L^{-1} , 220 mg L^{-1} , 270 mg L^{-1} e 340 mg L^{-1} .

Para cada uma das cinco concentrações foram preparados dez recipientes com 20 mL de solução-teste, contendo um organismo em cada um dos recipientes. Em paralelo, foi preparada a mesma quantidade de recipientes para o controle. Os

organismos foram alimentados com alimento composto (RL) posteriormente à transferência para os recipientes e após 48 horas de exposição.

Os valores da CL50 foram utilizados para elaboração da carta-controle, os quais foram compreendidos em um intervalo de \pm dois desvios-padrões em relação aos valores médios anteriormente obtidos para a espécie.

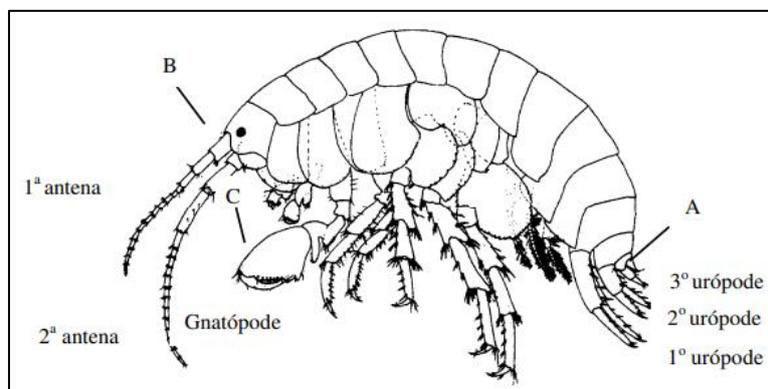
3.3.3 Análise de crescimento corpóreo

Foi avaliado o crescimento corpóreo dos organismos-teste expostos a concentrações variadas de soluções aquosas contendo as cianofíceas (*Microcystis aeruginosa*) antes e após tratamento por radiação ionizante (feixe de elétrons), com o propósito de observar se a exposição destes afetou o desenvolvimento dos organismos. A biometria foi realizada de acordo com as instruções propostas pela Norma da USEPA (2000).

Os anfípodes foram avaliados por análise biométrica utilizando a medição de comprimento de cada organismo, com auxílio do software Leica Application Suite (LAS), específico para análise de imagens, integrado à Lupa.

Para avaliar o crescimento dos indivíduos testados, o comprimento do anfípode foi medido a partir da base do 3º urópode (apêndice do último segmento abdominal) até a base da 1ª antena ao longo da superfície dorsal do organismo, e o comprimento medido em micrômetro (μm), Figura 10.

Figura 10 – *H. azteca*. (A) urópodes; (B) base da 1ª antena; (C) gnatópode. As fêmeas são reconhecidas pela presença de ovos ou ausência de gnatópode alargado.



Fonte: USEPA, 2000.

3.3.4 Irradiação das amostras

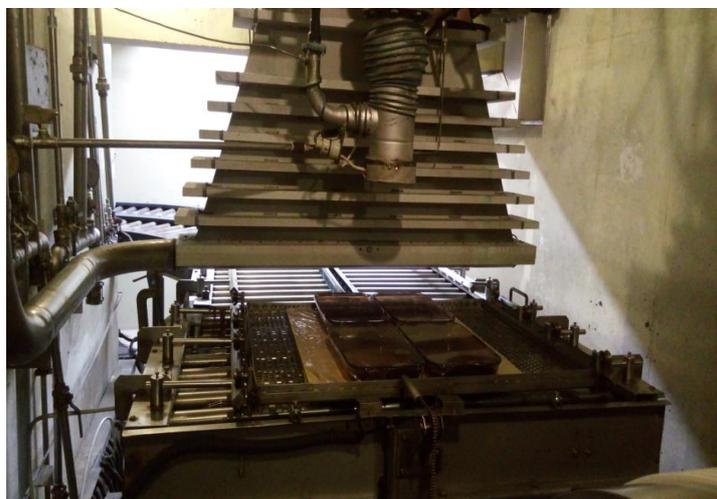
Para realizar o tratamento das amostras de cianofíceas utilizando radiação ionizante (feixe de elétrons), estas foram dispostas no acelerador de elétrons com energia fixada em 1,4 MeV, variando somente a intensidade da corrente elétrica para obter o feixe de elétrons. A velocidade da esteira automática, que conduz a amostra para a área de irradiação, foi fixada em $6,72 \text{ m min}^{-1}$.

Em cada procedimento de irradiação das amostras foi preparado uma alíquota de 246 mL de amostra, esta foi transferida para um recipiente de vidro (Pyrex[®]) e recoberta com papel filme de polietileno. Após esse procedimento, o material foi disposto na esteira automática que conduziu o mesmo a ser tratado até o feixe de elétrons.

A quantidade de energia transferida da radiação ionizante para a matéria é definida como dose absorvida. A unidade definida pelo Sistema Internacional de Unidades para dose absorvida é o Joule por quilograma (J kg^{-1}). Dessa unidade surgiram o rad e o gray. Esta última é a unidade utilizada atualmente. A relação entre essas unidades é: $1 \text{ Gy} = 1 \text{ J kg}^{-1} = 100 \text{ rad}$ (Borrely, 2001).

Neste estudo foram utilizadas as doses de radiação 2,5 kGy, 5 kGy e 10 kGy, sempre nas mesmas condições. (As doses foram selecionadas de acordo com ensaios preliminares). O sistema de varredura do feixe de elétrons com as amostras posicionadas sob o feixe de elétrons foi apresentado na Figura 11.

Figura 11 – Acelerador de elétrons contendo as amostras.



Fonte: IPEN/CETER.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios de toxicidade foram aplicados para avaliar os efeitos agudos para o anfípode *Hyaella azteca* exposto às amostras de suspensão de cianobactérias de *Microcystis aeruginosa* em meio de cultivo ASM-1, empregando a radiação ionizante como tecnologia auxiliar para minimizar os efeitos das toxinas aos organismos aquáticos.

Além disso, foi realizada análise do crescimento corpóreo para os indivíduos expostos às concentrações-teste que não apresentaram letalidade para os organismos-teste empregados. Também foram avaliadas a taxa de reprodução, a sobrevivência e a longevidade destes organismos, a fim de otimizar o cultivo de *Hyaella azteca*.

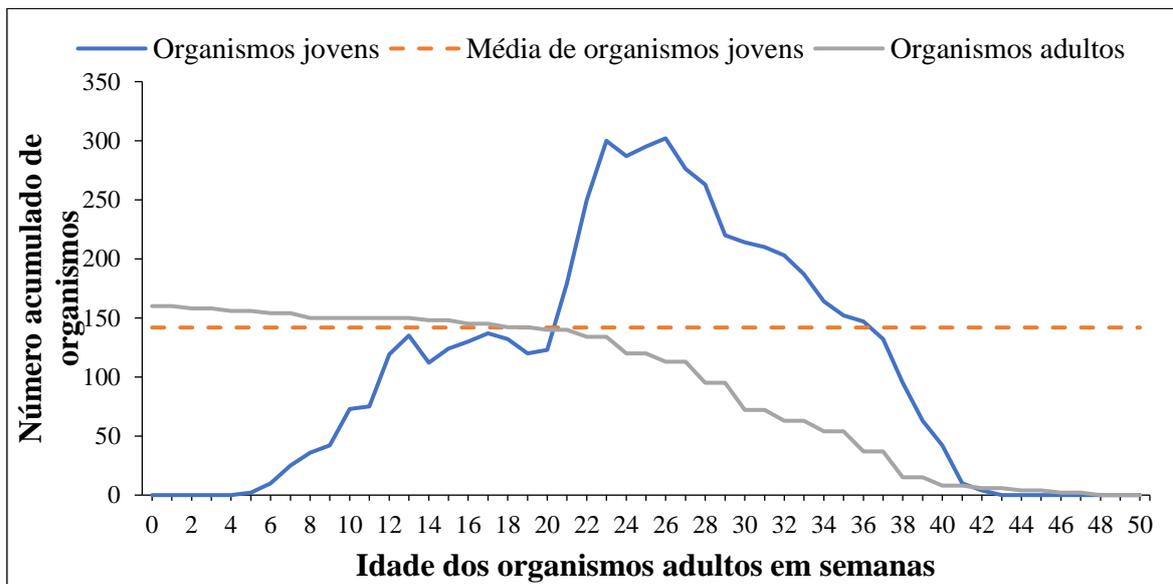
4.1 Reprodução e sobrevivência de *Hyaella azteca*

Para possibilitar o controle da reprodução e sobrevivência dos organismos adultos todas as culturas possuíam idade conhecida, nas quais foi contabilizado o número de adultos em cada cristalizador e separados os organismos jovens (neonatas), semanalmente, no dia de troca total ou parcial de água dos cultivos.

Nas Figuras 12, 13 e 14 é possível observar o número acumulado de organismos jovens dos cultivos de *Hyaella azteca* do LEBA, no qual foram obtidos os organismos-teste utilizados nos ensaios. Lembrando que foram adicionados 160 organismos no início de cada cultivo.

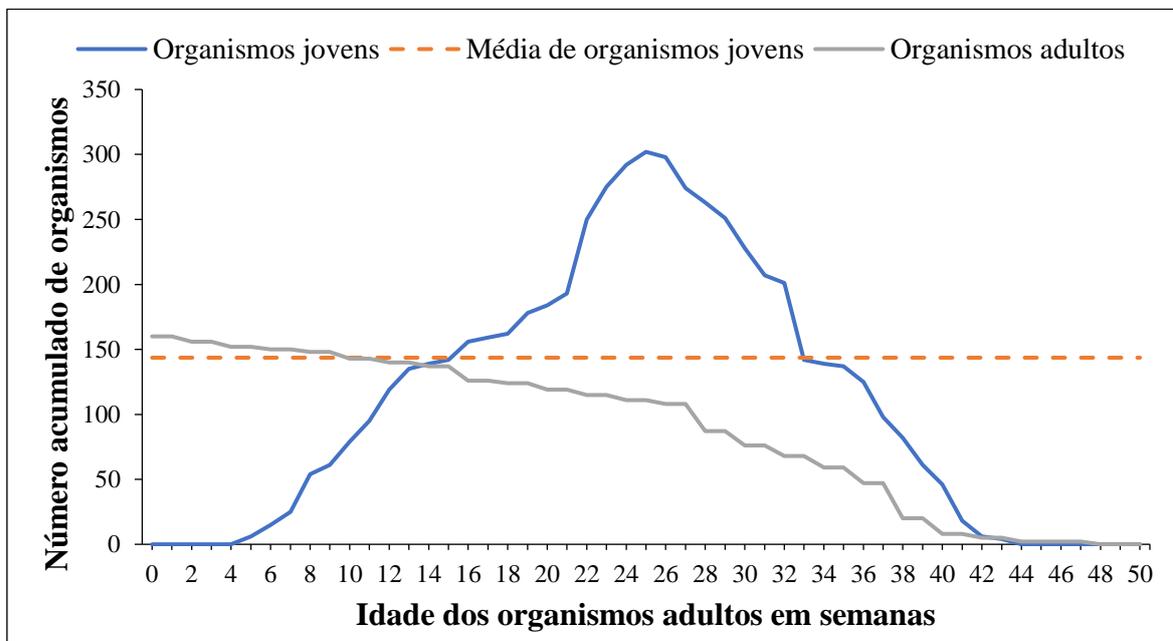
No Cultivo A, foi obtida a longevidade de quarenta e três semanas para os organismos adultos, período com maior número acumulado de organismos jovens entre a vigésima terceira semana e a vigésima sexta semana, com surgimento de neonatas no cristalizador a partir da sexta semana (Figura 12).

Figura 12 – Curva de natalidade de *H. azteca*, obtida a partir de cultivo em laboratório – Cultivo A.



No Cultivo B, foi obtida a longevidade de quarenta e oito semanas para os organismos adultos, período com maior número acumulado de organismos jovens entre a vigésima quarta semana e a vigésima sexta semana, com surgimento de organismos jovens no cristalizador a partir da sexta semana (Figura 13).

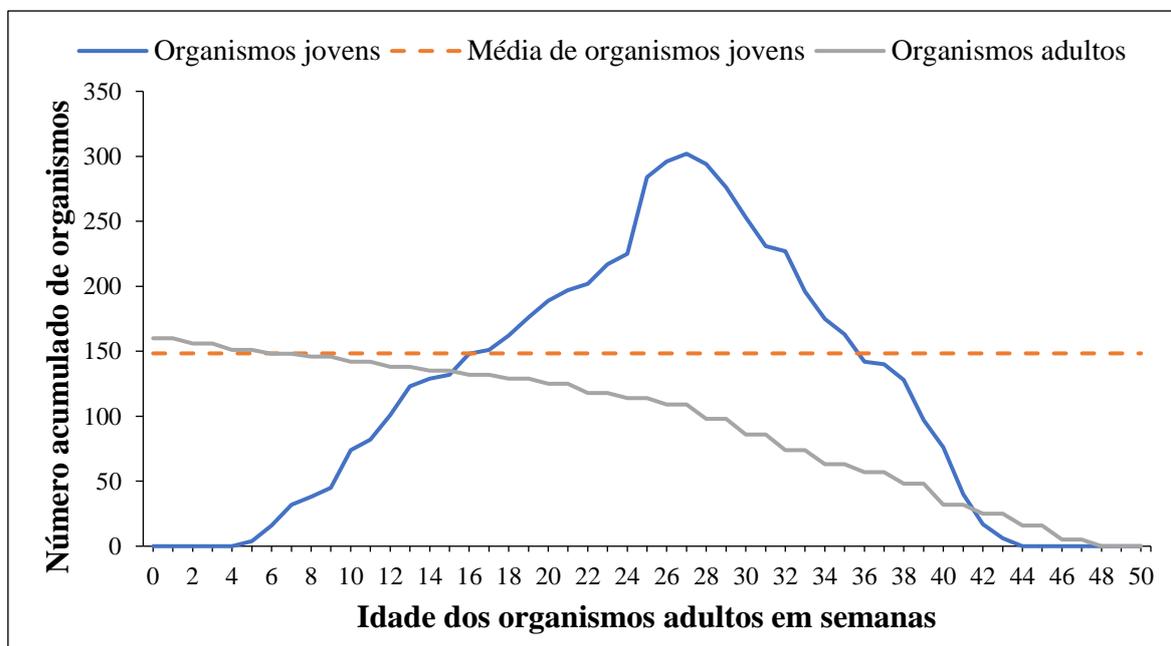
Figura 13 – Curva de natalidade de *H. azteca*, obtida a partir de cultivo em laboratório – Cultivo B.



No Cultivo C, constatamos a longevidade de quarenta e sete semanas para os organismos adultos, período com maior número acumulado de organismos jovens

entre a vigésima quinta semana e a vigésima oitava semana, com surgimento de organismos jovens no cristalizador a partir da sexta semana (Figura 14).

Figura 14 – Curva de natalidade de *H. azteca*, obtida a partir de cultivo em laboratório – Cultivo C.



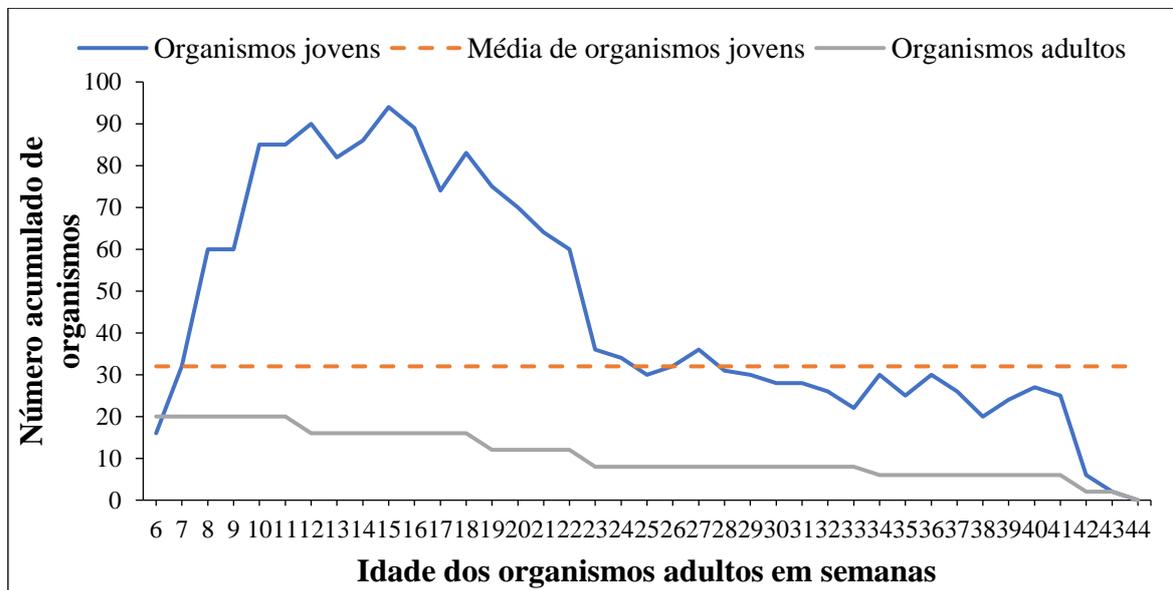
Considerando os resultados obtidos nos cultivos A, B e C, podemos presumir que a longevidade máxima obtida para os organismos adultos correspondeu a 48 semanas de idade, com média de longevidade de $46,67 \pm 1,89$ semanas. Os quais apresentaram o período com maior número acumulado de organismos jovens entre a décima oitava à trigésima sétima semana de vida. O intervalo entre a vigésima terceira e vigésima sétima semana de idade dos organismos adultos foi o ápice reprodutivo dos três cultivos estudados.

Nos cultivos estudados contendo inicialmente 160 organismos é possível observar o surgimento de neonatas no cristalizador a partir da sexta semana de idade dos organismos adultos. O início da reprodução entre os organismos adultos do cultivo de *H. azteca* citado na literatura corresponde também à sexta semana de idade (Araújo, 2005).

Os cultivos apresentaram média acumulada de 145 organismos jovens, com número mínimo de 2 e máximo de 302 organismos jovens no cultivo, adotando-se a razão de macho e fêmea de 1:1.

A fim de observar o número médio de jovens por fêmea de *H. azteca*, foram separados 10 machos e 10 fêmeas em um cristalizador a partir da sexta semana de idade desses organismos.

Figura 15 – Reprodução de *H. azteca*.



O número médio de jovens por fêmea correspondeu a $8,25 \pm 2,51$ (Figura 15). Além disso, o número médio de jovens por fêmea de *H. azteca* citado na literatura corresponde a $7,9 \pm 3,0$ (Araújo, 2005). Entretanto, há também registro de média de 9,3 jovens por fêmea (Moore & Farrar, 1996) e taxa de reprodução de 9 jovens por fêmea (Othman & Pascoe, 2001).

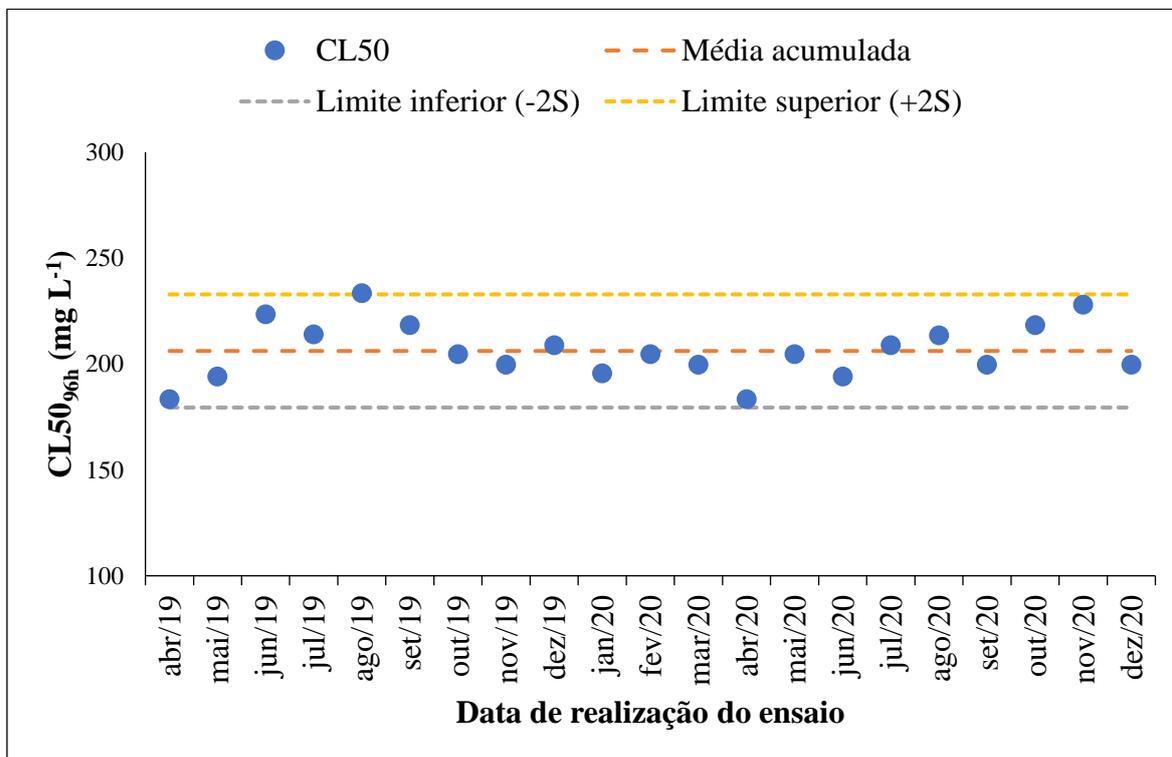
4.2 Ensaios de sensibilidade e carta-control para *Hyaella azteca*

Para validar os ensaios ecotoxicológicos, mensalmente foi realizado ensaio de sensibilidade do organismo-teste, *Hyaella azteca*, com substância de referência, o cloreto de potássio (KCl), seguindo recomendações de norma técnica (ABNT NBR 15470, 2013). Os resultados obtidos foram expressos pela CL50, que representa a concentração que causou mortalidade de cinquenta por cento (50%) dos organismos após 96 horas de exposição.

Com os resultados da carta-control, pode-se considerar que todos os ensaios realizados estiveram dentro da faixa de sensibilidade, assegurando, conseqüentemente, a confiabilidade dos ensaios e resultados de toxicidade com as amostras estudadas.

A Figura 16 expressa a carta-control de resultados obtidos nos ensaios de sensibilidade para *Hyalella azteca*, os quais apresentaram que a faixa de sensibilidade esteve entre 183,35 e 233,44 mg L⁻¹ para 96 horas de exposição, média de 206,15mg L⁻¹ e desvio padrão de 13,35.

Figura 16 – Carta-control de sensibilidade de *H. azteca* para o KCl.



4.3 Ensaio de toxicidade aguda para *Hyalella azteca*

4.3.1 Ensaio preliminar de toxicidade aguda para *Hyalella azteca*

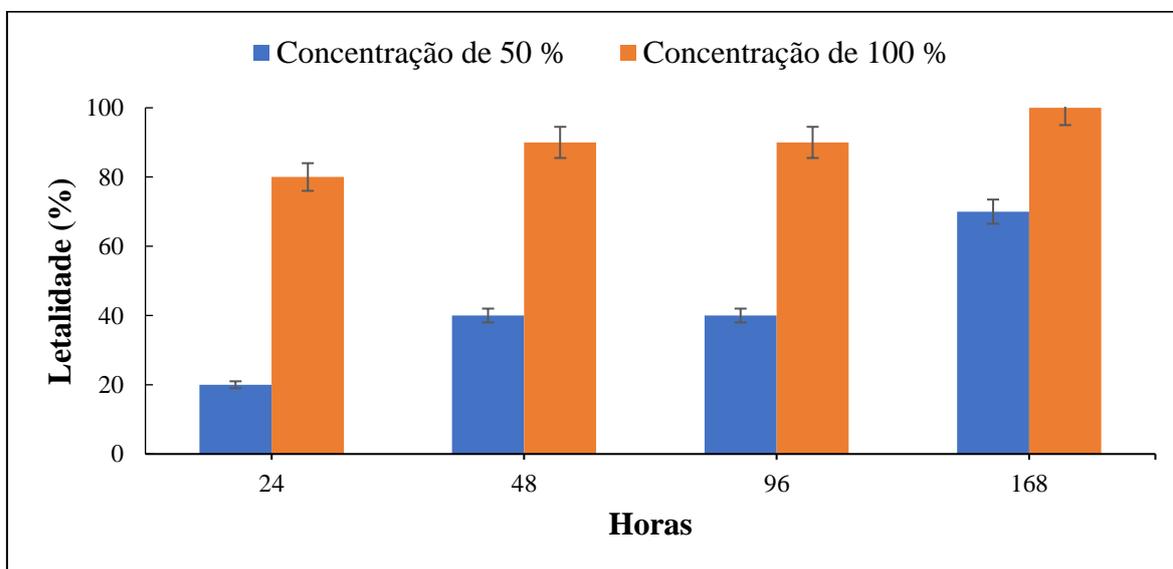
Os organismos-teste foram expostos ao controle, e mais duas concentrações. A primeira concentração (50%) corresponde a 10 mL de água de cultivo e 10 mL de suspensão de cianobactérias (*Microcystis aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1, em cada recipiente. A segunda concentração (100%) em que os organismos foram expostos corresponde a 20 mL de suspensão de cianobactérias em meio de cultivo ASM-1 em cada recipiente.

Após 24 horas de exposição, todos os organismos do controle estavam vivos. A primeira concentração demonstrou 20% dos organismos imóveis, e a segunda concentração apresentou 80% dos organismos imóveis. Em seguida, com 48 horas de

exposição, o controle continha 20% dos organismos imóveis. A primeira concentração apresentou 40% dos organismos imóveis, e a segunda concentração demonstrou 90% dos organismos imóveis. Após 96 horas de exposição, os valores se mantiveram em relação aos anteriores.

Posteriormente, com 168 horas de exposição, o controle continha 20% dos organismos imóveis. A primeira concentração apresentou 70% dos organismos imóveis, e a segunda concentração todos os organismos expostos imóveis, Figura 17.

Figura 17 – Ensaio preliminar de toxicidade aguda para *H. azteca* exposta a *M. aeruginosa*, concentração 50% (10 mL de água de cultivo + 10 mL de suspensão de cianobactérias) e 100% (20 mL de suspensão de cianobactérias).



Em função do tempo observa-se aumento da letalidade dos organismos-teste expostos nas duas concentrações estudadas. Pode-se notar que o valor de percentual de letalidade entre o período de 24 a 48 horas de exposição na concentração de 50% passou de 20% para 40% dos organismos. Posteriormente, a letalidade da mesma concentração atingiu 70% dos indivíduos ao final do período estudado.

A concentração de 100% apresentou letalidade de 80% dos organismos após 24 horas de exposição, seguidamente, expressou 90% de letalidade após 48 horas de exposição. Por fim, a mesma concentração atingiu letalidade de 100% dos organismos ao final do ensaio.

4.3.2 Ensaio preliminar empregando tratamento por radiação ionizante, dose 2,5 kGy.

Os organismos-teste foram expostos a duas concentrações (20% e 40%) e um grupo de controle negativo para cada amostra, sendo segregados em amostras submetidas a tratamento por radiação, dose de 2,5 kGy, e não irradiadas. Foi observado letalidade de 20% a 70% dos organismos expostos à concentração de 20%. Houve um aumento dos efeitos quando as amostras foram irradiadas a 2,5 kGy e na presença do meio ASM-1.

O anfípode *Hyaella azteca* demonstrou sensibilidade para o efeito de toxicidade ao ser exposto à suspensão de cianobactérias contendo *Microcystis aeruginosa* em todas as concentrações testadas. No tratamento com dose de radiação ionizante de 2,5 kGy não houve redução da toxicidade aguda de *Microcystis aeruginosa* para o organismo-teste. Por essa razão, foram exploradas outras doses nos ensaios subsequentes.

4.3.3 Ensaio empregando tratamento por radiação ionizante, doses 5 kGy e 10 kGy.

No primeiro experimento, os organismos foram expostos ao grupo controle (20 mL de água de cultivo em cada recipiente), e mais dez concentrações: 0,5%; 1%; 2,5%, 3%, 4%; 5%, 10%; 20%; 50% e 100%.

No segundo teste, as amostras utilizadas durante o período de exposição dos organismos foram submetidas a tratamento por radiação, doses 5 kGy e 10 kGy.

Para o experimento com as amostras tratadas, os organismos foram expostos ao grupo controle, e mais dez concentrações: 0,5%; 1%; 2,5%, 3%, 4%; 5%, 10%; 20%; 50% e 100%.

Após 48 horas de exposição, os organismos expostos à amostra não tratada por radiação pertencentes ao controle e às concentrações 0,5%, 1% e 2,5% permaneceram vivos. Entretanto, a concentração 3% apresentou letalidade de 20% dos organismos expostos, e a concentração 4% demonstrou de 20% a 40% de letalidade. As concentrações de 5% a 100% apresentaram letalidade de todos os organismos expostos (Figura 18). Com 72h de exposição, a concentração 4% apresentou letalidade de 60% dos indivíduos (Figura 19).

Figura 18 – Percentual de letalidade do organismo *H. azteca* nos ensaios de toxicidade aguda após 48 h de exposição à suspensão de cianobactérias (*M. aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado.

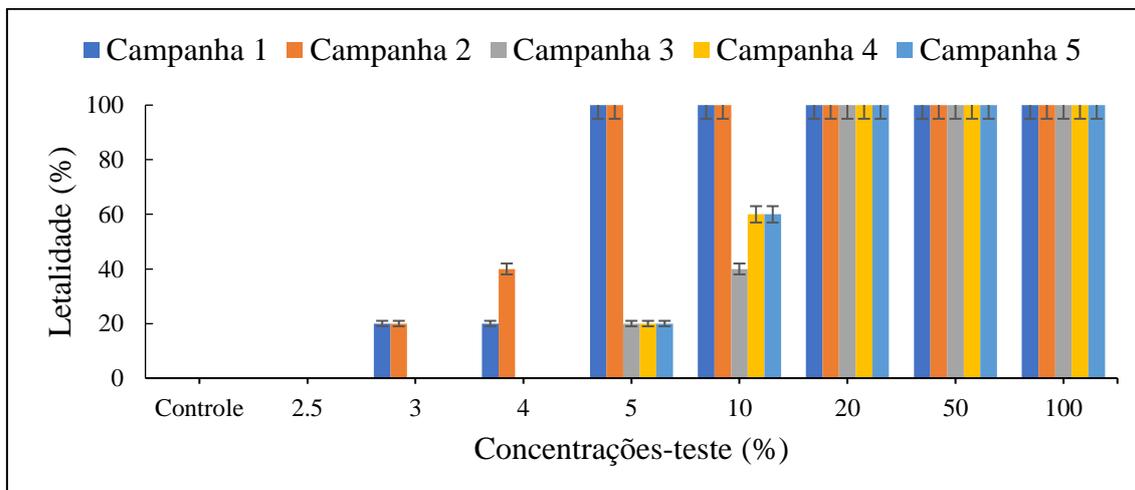
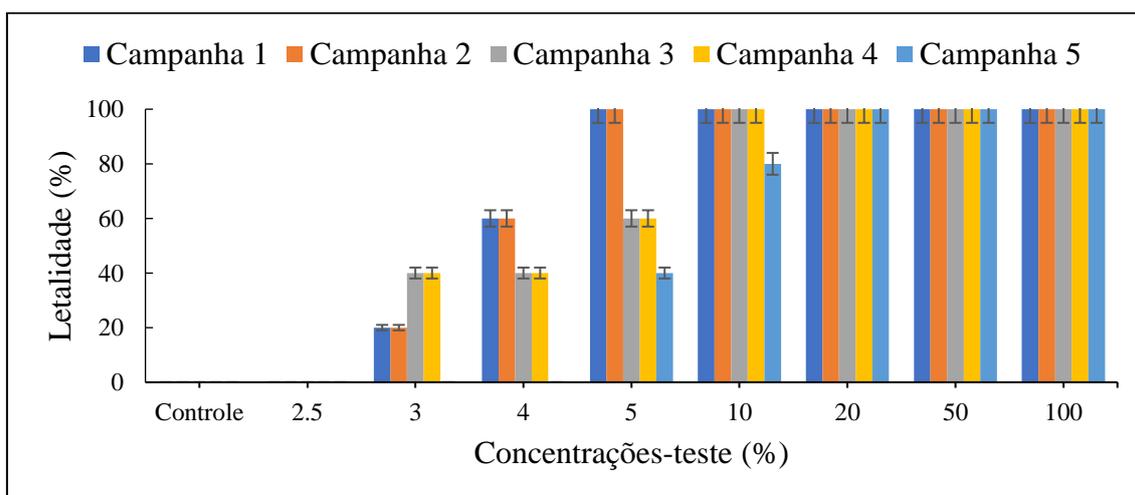
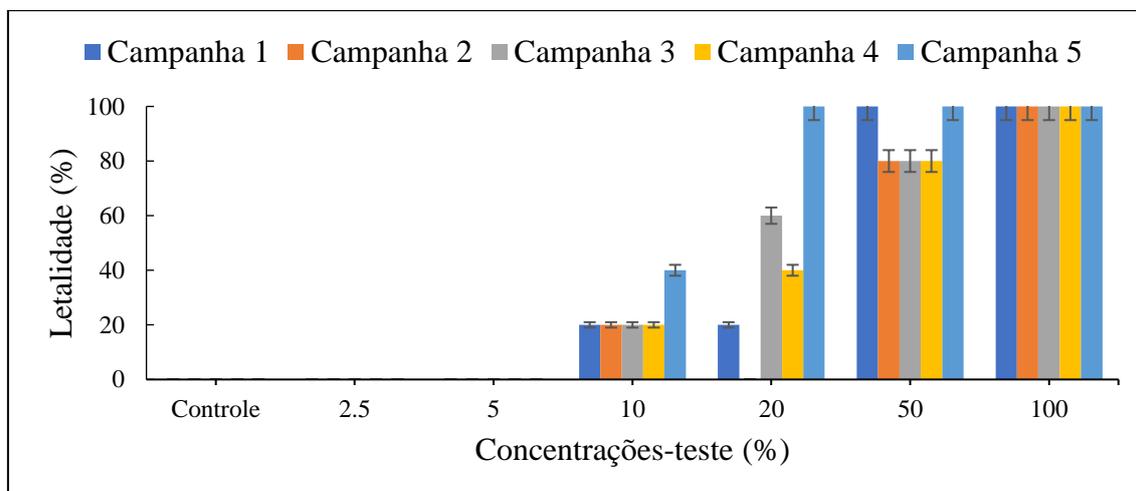


Figura 19 – Percentual de letalidade do organismo *H. azteca* nos ensaios de toxicidade aguda após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (*M. aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado.



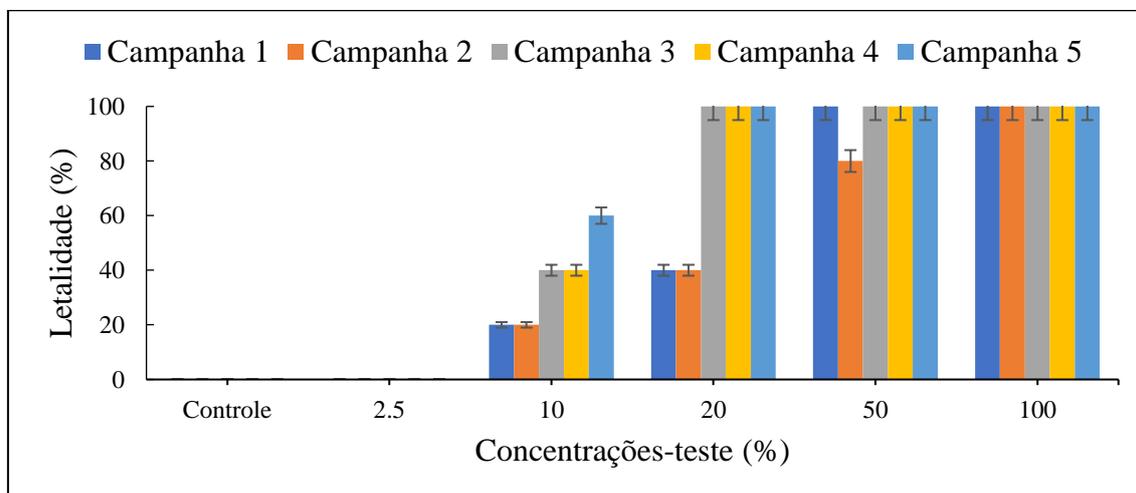
Não houve letalidade dos organismos expostos à amostra irradiada (5 kGy) na concentração de 5% e controle após 48 horas de exposição, porém expressou letalidade de até 20% nas concentrações 10% e 20%. A concentração 50% demonstrou letalidade de 80% à 100% dos organismos-teste, e a concentração 100% obteve letalidade de todos os indivíduos expostos (Figura 20).

Figura 20 – Percentual de letalidade do organismo *H. azteca* nos ensaios de toxicidade aguda após 48 h de exposição à suspensão de cianobactérias (*M. aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 irradiado com 5 kGy.



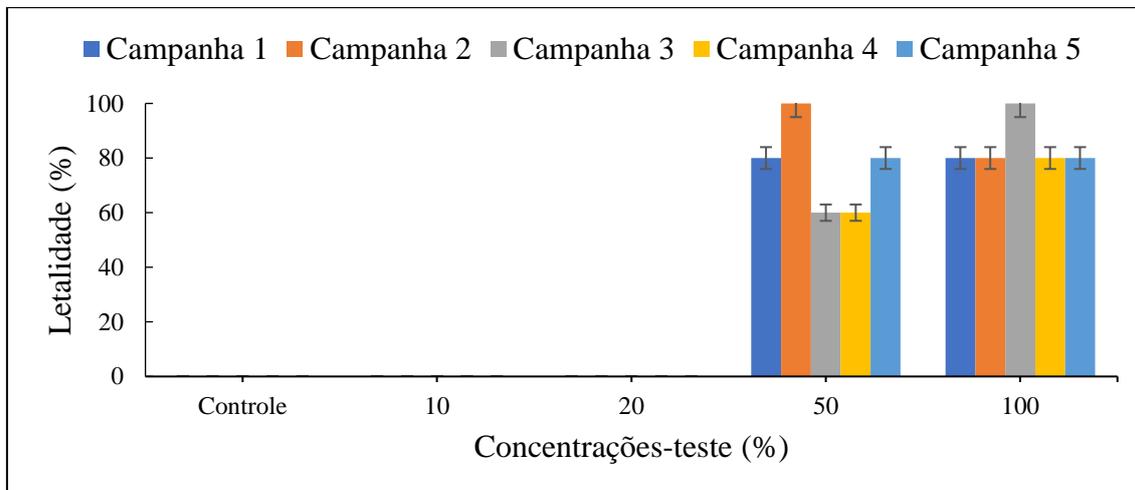
Após 72h de exposição, a amostra tratada com 5 kGy apresentou letalidade de 40% à 100% dos indivíduos expostos a concentração 20% (Figura 21).

Figura 21 – Percentual de letalidade do organismo *H. azteca* nos ensaios de toxicidade aguda após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (*M. aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 irradiado com 5 kGy.



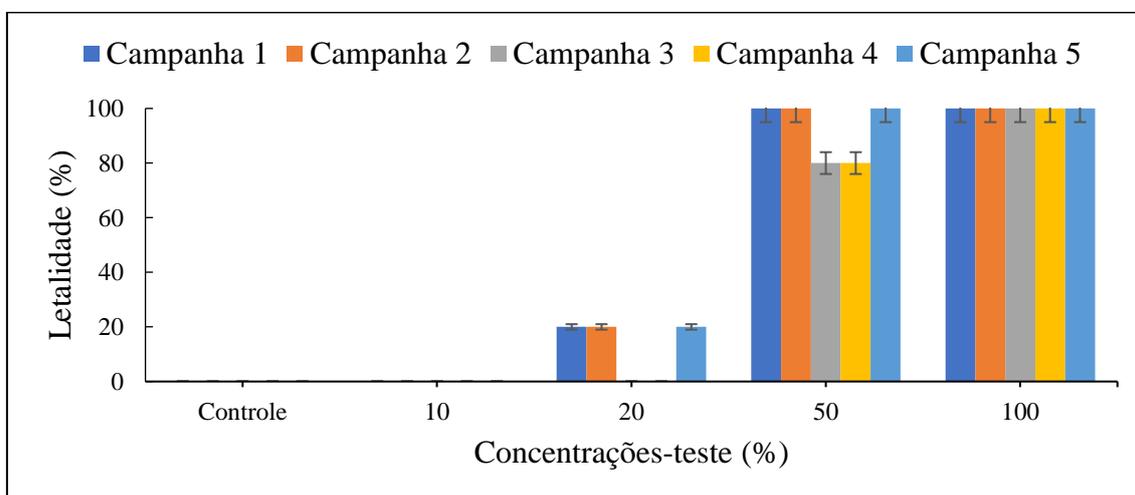
Não houve letalidade dos organismos expostos à amostra irradiada (10 kGy) nas concentrações de 5%, 10% e 20% após 48 horas de exposição e controle após 48 horas de exposição. As concentrações 50% e 100% apresentaram letalidade de 60% à 100% dos indivíduos expostos (Figura 22).

Figura 22 – Percentual de letalidade do organismo *H. azteca* nos ensaios de toxicidade aguda após 48 h de exposição à suspensão de cianobactérias (*M. aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 irradiado com 10 kGy.



Em seguida, com 72h de exposição, a amostra irradiada com 10 kGy apresentou letalidade de 20% dos organismos expostos na concentração de 20% e letalidade de todos os organismos expostos nas concentrações 50% e 100% (Figura 23).

Figura 23 – Percentual de letalidade do organismo *H. azteca* nos ensaios de toxicidade aguda após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (*M. aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 irradiado com 10 kGy.



Com esses resultados é possível observar que as concentrações 10% e 20% das amostras tratadas com radiação ionizante apresentaram diminuição da toxicidade para o organismo *Hyaella azteca* quando comparadas à amostra não irradiada. A dose de 10 kGy se mostrou mais eficaz em relação à dose de 5 kGy, porém é importante notar que os valores obtidos da CL50 das amostras tratadas se encontram próximos entre si (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores de CL50 obtidos com os ensaios de toxicidade aguda com *M. aeruginosa* para o organismo *H. azteca*.

Ensaio	Amostra não irradiada (%)	Amostra irradiada com 5 kGy (%)	Amostra irradiada com 10 kGy (%)
	CL50 _{72h}		
Campanha 1	3,66 (3,32 – 4,04)	19,95 (14,71 – 27,06)	26,92 (21,96 – 33,0)
Campanha 2	3,66 (3,32 – 4,04)	23,44 (16,24 – 33,81)	26,92 (21,96 – 33,00)
Campanha 3	4,41 (3,69 – 5,28)	10,72 (8,65 – 13,29)	37,14 (30,30 – 45,53)
Campanha 4	4,41 (3,69 – 5,28)	9,33 (7,53 – 11,57)	37,14 (30,30 – 45,53)
Campanha 5	6,76 (5,40 – 8,47)	9,33 (7,53 – 11,57)	26,92 (21,96 – 33,00)
X ± S	4,58 ± 1,47	14,55 ± 6,66	31,01 ± 5,60

X ± S = média ± desvio padrão.

Quando comparados os valores médios de CL50 de exposição à suspensão de cianobactérias (*Microcystis aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 irradiado e não irradiado para *Hyalella azteca* é possível verificar que a solução-teste não irradiada apresentou maior grau de toxicidade, CL50 (72 h) correspondeu a $4,58 \pm 1,47$ %. Esta circunstância caracteriza uma redução evidente da toxicidade da amostra, após ser submetida à radiação por feixe de elétrons. Também é possível observar na literatura a eficácia do processo de irradiação para diminuição de toxicidade de microcistina (Liu et al., 2020).

Essa circunstância caracteriza uma evidente redução na toxicidade da amostra, após ser submetida a irradiação por feixe de elétrons. Na literatura, altas doses de radiação por feixe de elétrons (5 e 10 kGy) demonstraram tratar-se de uma técnica promissora para a inativação rápida e eficiente de *M. aeruginosa* em solução aquosa. Além disso, a produção e liberação de microcistina são reduzidas após o feixe de elétrons e a concentração de microcistina na solução pode ser reduzida em função da dose de radiação através de vários estágios de crescimento de algas (Liu et al., 2014; Liu et al., 2015).

Para analisar a diferença estatística nas amostras com e sem tratamento por radiação ionizante (feixe de elétrons), foi empregado o teste estatístico Análise de Variância (ANOVA), o qual permitiu comparar a distribuição da média das cinco campanhas como amostras independentes.

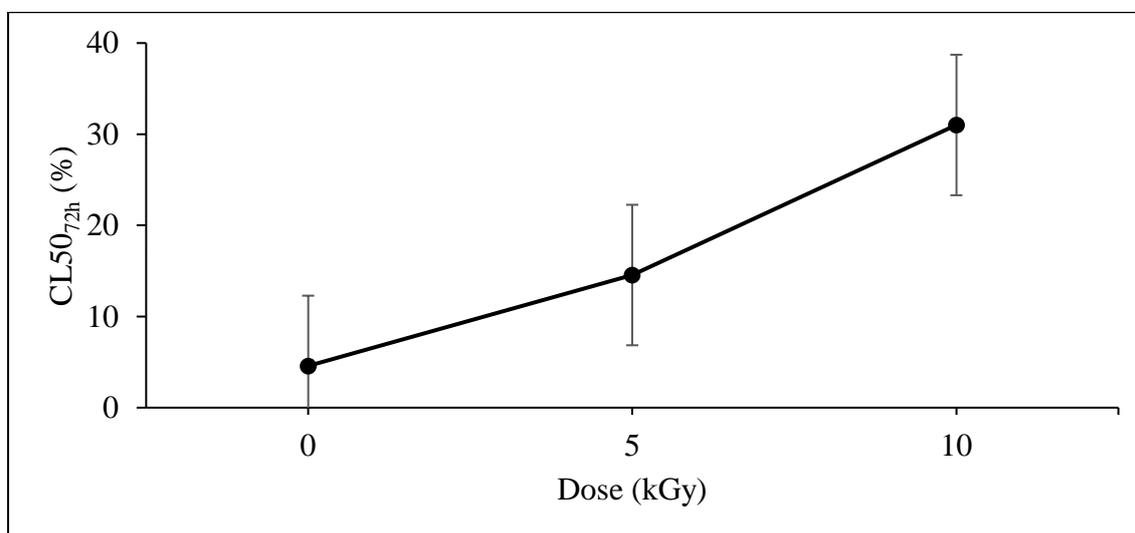
Ao aplicar o teste estatístico ANOVA, as amostras submetidas à tratamento por radiação ionizante com doses de 5 kGy e 10 kGy apresentaram diferença significativa em relação a amostra não irradiada (valor-p <0,05), além das amostras tratadas serem significativamente diferentes entre si (5 kGy vs. 10 kGy) (Tabela 4). Portanto, compreende-se que os valores obtidos foram significativamente diferentes.

Tabela 4 – Valores obtidos ao empregar a Análise de Variância (ANOVA).

Testes	Valor-p	Diferença significativa
Dose de 0 kGy vs. 5 kGy	0,0229	Sim
Dose de 0 kGy vs. 10 kGy	<0,0001	Sim
Dose de 5 kGy vs. 10 kGy	0,0007	Sim

Na Figura 24 é possível observar a variação da CL50 (72 h) em função da dose aplicada (kGy). A dose de 10 kGy se mostrou mais eficaz ($31,01 \pm 5,60$ %), em relação à dose de 5 kGy ($14,55 \pm 6,66$ %).

Figura 24 – Variação da CL50_{72h} com exposição de suspensão de cianobactérias (*M. aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 para *H. azteca* em função da dose aplicada (kGy).



4.4 Unidades tóxicas (UT) e eficiência de remoção de toxicidade

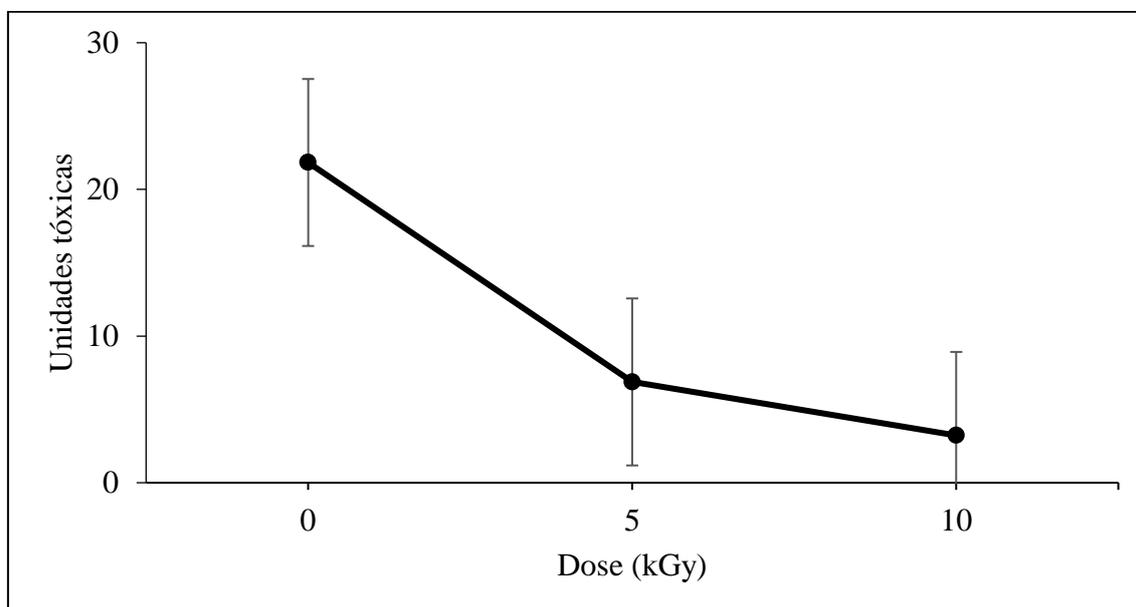
A Concentração Letal (CL50) pode ser definida como a concentração nominal do agente tóxico, no início do teste, que causa efeito agudo (letalidade) a 50%

dos organismos-teste, em determinado período de exposição (Zagatto & Bertoletti, 2008).

Os valores obtidos de CL50 apresentam uma relação inversamente proporcional de concentração-efeito, ou seja, quanto menor o valor de CL50 maior a toxicidade. Dessa forma, estes valores podem ser transformados em Unidades Tóxicas.

Além disso, a partir dos valores das Unidades Tóxicas, é possível obter valores de eficiência de remoção de toxicidade de uma amostra. A Figura 25 representa a variação dos valores das unidades tóxicas obtidos nos ensaios, utilizando o organismo *H. azteca*, em 72 horas de exposição.

Figura 25 – Variação da Unidade tóxica em função da dose.



O valor obtido para a eficiência de remoção de toxicidade correspondeu a 68,52 na dose de 5 kGy. Além disso, o valor obtido para a eficiência de remoção de toxicidade na dose de 10 kGy foi de 85,23. Portanto, podemos afirmar que as doses de 5 kGy e 10 kGy reduziram a toxicidade de *Microcystis aeruginosa* para o organismo-teste *Hyalella azteca*, entretanto, a dose de 10 kGy apresentou maior eficiência de remoção de toxicidade.

4.5 Ensaio de análise de crescimento corpóreo para *Hyalella azteca*

A análise do crescimento corpóreo dos organismos-teste expostos às amostras de suspensão de cianobactérias de *Microcystis aeruginosa* em meio de cultivo ASM-1, foi baseada na média do comprimento dos indivíduos ao final de cada ensaio,

em conformidade com a norma da USEPA (2000). Esta análise foi realizada a partir da terceira campanha deste estudo.

Os anfípodos foram avaliados por análise biométrica utilizando a medição de comprimento de cada organismo, com auxílio do software Leica Application Suite (LAS), específico para análise de imagens, integrado ao microscópio óptico.

Com base nos valores de comprimento dos organismos por ponto analisado, foram obtidas as respectivas médias aritméticas, em micrômetros (μm), das dimensões dos organismos que sobreviveram à exposição.

Para analisar a diferença do comprimento corpóreo dos organismos estudados, foi empregado o teste estatístico Análise de Variância (ANOVA), o qual permitiu comparar a distribuição das três campanhas como amostras independentes.

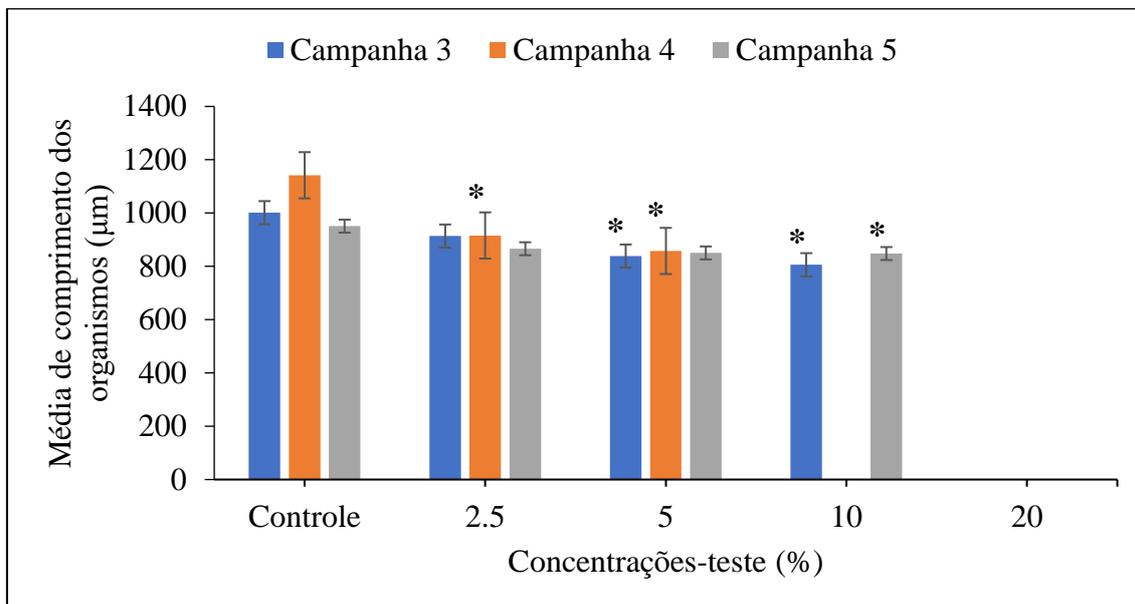
Ao aplicar o teste estatístico ANOVA, as três campanhas analisadas apresentaram diferença significativa entre as médias (valor-p $<0,05$) em todas as doses estudadas (Tabela 5). Portanto, compreende-se que o comprimento corpóreo entre os organismos estudados foi significativamente diferente. Foi empregado análise de Dunnett, a fim de observar as concentrações em que houve variação significativa em relação ao controle.

Tabela 5 – Valores obtidos ao empregar a Análise de Variância (ANOVA).

Dose (kGy)	Campanha 3		Campanha 4		Campanha 5	
	Valor-p	Diferença significativa	Valor-p	Diferença significativa	Valor-p	Diferença significativa
0	<0,0001	Sim	0,0018	Sim	<0,0001	Sim
5	0,001	Sim	<0,0001	Sim	<0,0001	Sim
10	<0,0001	Sim	0,0112	Sim	0,0297	Sim

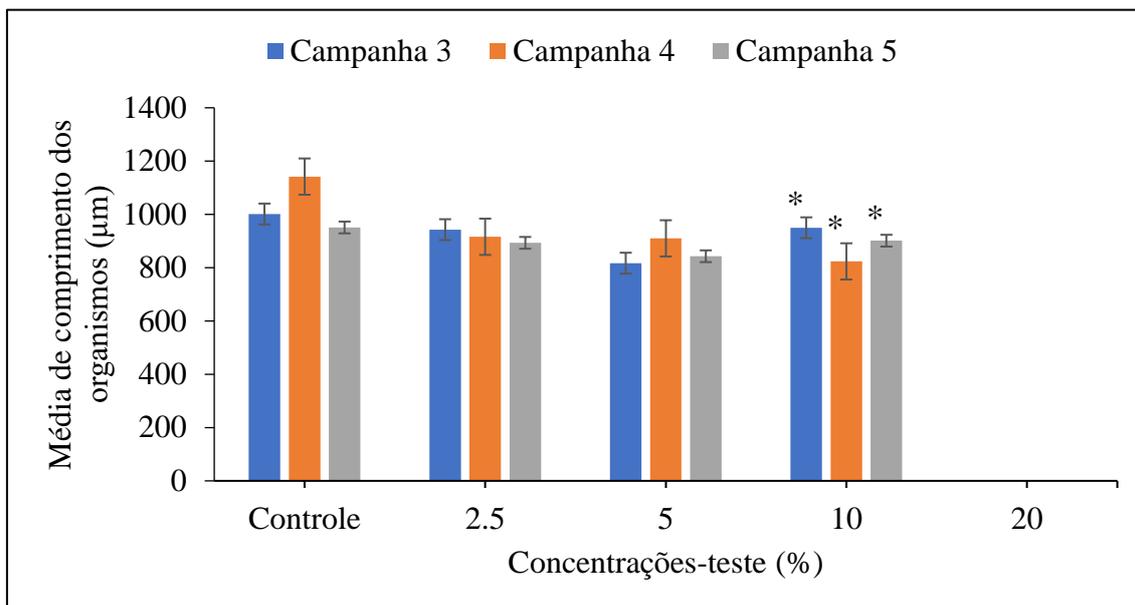
Nas Figura 26, 27 e 28 estão representadas as médias de comprimento dos organismos para as concentrações-teste de 2,5%, 5%, 10% e 20% durante as três campanhas amostradas, variando conforme o tratamento empregado nas amostras.

Figura 26 – Média do comprimento dos organismos após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (*M. aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado.



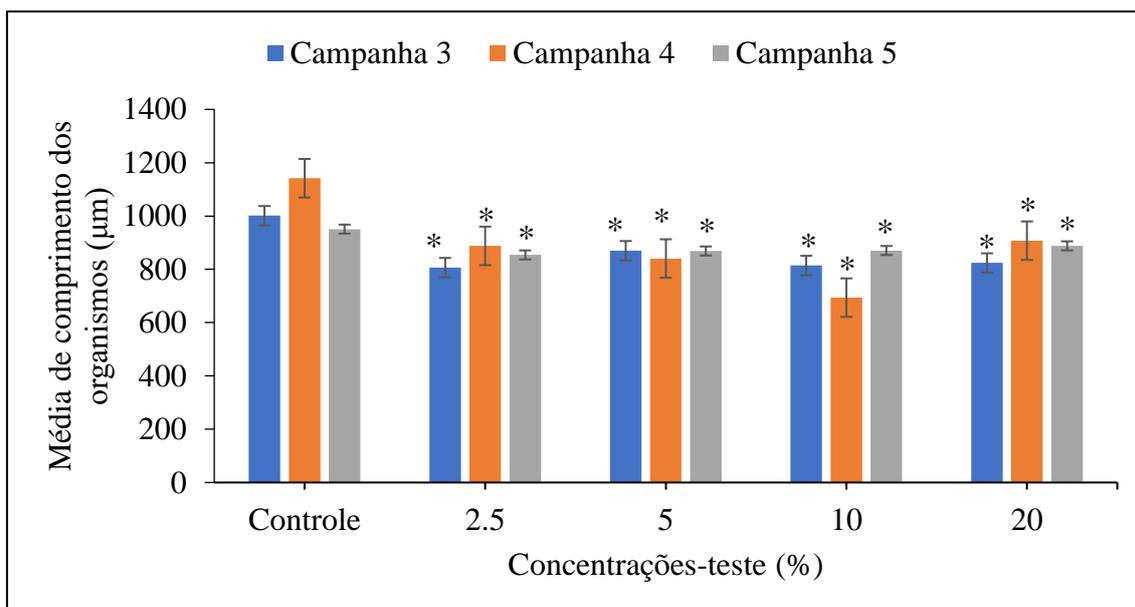
Ao analisar os valores apresentados na Figura 26, observa-se que a média de comprimento dos organismos nas três campanhas com exposição à amostra não-irradiada é inferior em relação ao controle. Além disso, houve variação significativa em relação ao controle na Campanha 3 para as concentrações-teste de 5% e 10%. A Campanha 4 apresentou variação significativa em relação ao controle para as concentrações-teste de 2,5% e 5%. Entretanto, ocorreu variação significativa em relação ao controle na Campanha 5 apenas na concentração-teste de 10%.

Figura 27 – Média do comprimento dos organismos após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (*M. aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy.



Observando os valores expressos na Figura 27, nota-se que a média de comprimento dos organismos nas três campanhas com exposição à amostra irradiada, dose 5 kGy, também é inferior em relação ao controle, entretanto, mais próximo aos valores obtidos no controle negativo. Além disso, pode-se notar variação significativa em relação ao controle nas Campanhas 3, 4 e 5 para a concentração-teste de 10%.

Figura 28 – Média do comprimento dos organismos após 72 h de exposição à suspensão de cianobactérias (*M. aeruginosa*) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy.



Analisando a Figura 28, podemos observar que os organismos expostos às amostras tratadas com dose de 10 kGy apresentaram a média de comprimento mais próxima ao controle negativo. Observa-se que as Campanhas 3, 4 e 5 apresentaram variação significativa em relação ao controle para as concentrações-teste de 2,5%, 5%, 10% e 20%.

Como observado nos resultados obtidos no presente estudo, a exposição do anfípode *Hyalella azteca* às toxinas presentes no meio hídrico, podem alterar o metabolismo de crescimento destes organismos.

Na literatura podemos observar pesquisas de grande importância que utilizaram como parâmetro de avaliação de toxicidade a biometria destes organismos-teste, nos quais também foram observados alteração na média de comprimento dos organismos expostos em bioensaios.

A análise do crescimento corpóreo de *Hyalella azteca* evidenciou que os organismos expostos aos sedimentos contaminados apresentaram média de crescimento menor, quando comparada aos outros locais estudados (Garcia, 2012).

Também foi observada pequena redução de crescimento corpóreo com o aumento da toxicidade no estudo realizado no porto Waukegan (Estados Unidos) analisou a toxicidade em sedimento com *Hyalella azteca*, observando a alta sensibilidade dos organismos expostos aos sedimentos contaminados, principalmente com PCBs (befinil policlorado), HPAs e metais (Ingersoll & Nelson, 1990).

Além disso, podemos mencionar o estudo interessado em desenvolver e validar um método de teste agudo (com duração de sete dias, no qual avaliou a sobrevivência dos organismos-teste *H. azteca*) e analisar o crescimento corpóreo, visando a possibilidade de ser empregado em situações em que a disponibilidade de soluções de teste é limitado como, por exemplo, análise dirigida por efeitos (EDA) (Rodrigues et al, 2020).

Para esse fim, mantiveram em condições controladas a qualidade da água adequada para estes organismos, particularmente oxigênio dissolvido e amônia; e atendendo aos critérios de sobrevivência de controle recomendados (Meio Ambiente e Mudança Climática Canadá, 2017). Foram empregados bioensaios utilizando como solução-teste tóxicos inorgânicos representativos, cloreto de potássio (KCl) e cloreto de

cádmio (CdCl_2), e misturas complexas de ácidos orgânicos isolados (ácido naftênico) de duas operações de mineração de areias petrolíferas. Desta forma, foi observada redução de crescimento corpóreo com o aumento da toxicidade (Rodrigues et al, 2020).

5 CONCLUSÕES

- Foi obtido sucesso no cultivo de algas *M. aeruginosa* e para o organismo-teste *H. azteca*, ambos imprescindíveis para a execução deste estudo.
- O anfípode *Hyaella azteca* demonstrou sensibilidade para o efeito de toxicidade aguda ao ser exposto à suspensão de cianobactérias contendo *Microcystis aeruginosa*.
- Na dose de 2,5 kGy não houve redução da toxicidade aguda de *Microcystis aeruginosa* para o organismo-teste *Hyaella azteca*.
- As doses de 5 kGy e 10 kGy reduziram a toxicidade de *Microcystis aeruginosa* para o organismo-teste *Hyaella azteca*. Além disso, foi observado que os organismos expostos às amostras tratadas com dose de 10 kGy apresentaram a média de comprimento corpóreo mais próxima ao controle negativo.
- A irradiação com feixe de elétrons pode ser uma tecnologia importante para o controle de floração de *Microcystis aeruginosa*.

RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar bioensaios entre dois organismos-teste de níveis tróficos diferentes, empregando novos ensaios atualmente em desenvolvimento.
- Estudar os efeitos ecotoxicológicos em função do tempo da cultura de cianofíceas, já que se sabe que somente em determinados períodos há a liberação de toxinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade em sedimento – Método de ensaio com *Hyalella spp* (Amphipoda). ABNT NBR 15470. 2013.
- AGUJARO, L.F. **Subsídios para um plano de monitoramento de Cianobactérias em reservatórios com vistas à Balneabilidade. Estudo de caso: reservatório Salto Grande, Americana, SP.** Tese (Doutorado em Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo), Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP., Campinas, SP. 211pp., 2007.
- ARAÚJO, R. P. A. **Testes de toxicidade como instrumento na avaliação dos sedimentos de água doce do Estado de São Paulo.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2005.
- ASTM (American Society for Testing and Materials). **Test method for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates.** Philadelphia: American Society for Testing and Materials. EI 1706-00. 117p, 2000.
- BAI, F.; SHI, J.; YANG, S.; YANG, Y.; WU, Z. Interspecific competition between *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis aeruginosa* on different phosphorus substrates. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, n. 34, p. 42264-42275, 2020.
- BARNES, R.D.. **Zoologia dos invertebrados.** 4ª ed. Livraria Rocha Ltda., São Paulo. 1179p, 1984.
- BARTLETT, A. J.; DE SILVA, A. O.; SCHISLER, D. M.; HEDGES, A. M.; BROWN, L. R.; SHIRES, K.; PARROTT, J. L. Lethal and sublethal toxicity of perfluorooctanoic acid (PFOA) in chronic tests with *Hyalella azteca* (amphipod) and early-life stage tests with *Pimephales promelas* (fathead minnow). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 207, p. 111250, 2021.
- BEASLEY, V.R.; COOK, W.O.; DAHLEM, A.M.; HOOSER, S.B.; LOVELL, R.A.; VALENTINE, W.M.. Intoxication in livestock and waterfowl. *Clinical Toxicology – Veterinary Clinics of North America*. **Food Animal Practice**, 5:345 361. 1989.
- BEREZINA, N. A.; VERBITSKY, V. B.; SHAROV, A. N.; CHERNOVA, E. N.; METELEVA, N. Y.; MALYSHEVA, O. A. Biomarkers in bivalve mollusks and amphipods for assessment of effects linked to cyanobacteria and elodea: Mesocosm study. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 203, p. 110994, 2020.
- BORRELY, S. I.; CORREA, N. R.; OIKAWA, H.; MESQUITA, C. H. D.; SAMPA, M. H. D. O.; SOMESSARI, E. S.. Reduction of the effluent toxicity treated by electron beam irradiation; Redução da toxicidade de efluentes tratados por irradiação com feixe de elétrons. 2000.
- BORRELY, S., GARCIA, V., BORRELY, T., FAVARO, D.. Metals, trace elements and ecotoxicity in sediments of the Cubatão River, Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 13, n. 2, 2018, 49-61. 2018.

BRASIL. **Portaria GM/ MS nº 888 do Ministério da Saúde de 04 de maio de 2021.** Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2021.

BURATTI, F. M.; MANGANELLI, M.; VICHI, S.; STEFANELLI, M.; SCARDALA, S.; TESTAI, E.; FUNARI, E.. Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. **Archives of toxicology**, v. 91, n. 3, p. 1049-1130, 2017.

BURTON, Jr., G. A.. Sediment collection and processing: factors affecting realism. **Sediment toxicity assessment**. Boca Raton: Lewis Publishers, cap.10, p.213-240, 1992.

CAI, H.; LIANG, J.; NING, X.; LAI, X.; LI, Y. Algal toxicity induced by effluents from textile-dyeing wastewater treatment plants. **Journal of Environmental Sciences**, v. 91, p. 199-208, 2020.

CAMPOS, A.; VASCONCELOS, V.. Molecular mechanisms of microcystin toxicity in animal cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 1, p. 268-287, 2010.

CARMICHAEL, W. W.. Cyanobacteria secondary metabolites-the cyanotoxins. **Journal of Applied Bacteriology**, [s.l.], v. 72, n. 6, p.445-459, 1992.

CARMICHAEL, W. W. The toxins of cyanobacteria. **Scientific American**, v. 270, n. 1, p. 78-86, 1994.

CARVALHO, M. C.; AGUJARO, L. F.; PIRES, D. A.; PICOLI, C. Manual de Cianobactérias Planctônicas Legislação: Legislação, Orientações para Monitoramento e Aspectos Ambientais. São Paulo. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), 56 p, 2013.

CASSINI, S.T.A.; ANTUNES, O.W.P.; KELLER, R. Validação de método analítico livre de acetonitrila para análise de microcistinas por cromatografia líquida de alta eficiência. *Química Nova*, v.36, n.8, p.1208-1213, jun. 2013.

CHEN, H.; ZHU, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, X.; WANG, R.; ZHU, W. Cyanobacterial bloom expansion caused by typhoon disturbance in Lake Taihu China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 42294-42303, 2020.

CHENG, H.; KANG, K. S.; GUEORGUIEV, B.; CLARK, C. R. IAEA activities on steam generator life management. Sixth International Workshop on Horizontal Steam Generators, Podolsk, 2004.

CHORUS, I.; WELKER, M.. **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. Taylor & Francis, 2021.

DE PAULA, É.J.; PLASTINO, E.M.; OLIVEIRA, E.C.; BERCHEZ, F.; CHOW, F.; OLIVEIRA, M.C.. Introdução à biologia das criptógamas. **São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo**. 2007.

FALCONER, I.R.. Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. **Phycologia**, 35(6): 6-11. 1996.

FOLCIK, A. M.; KLEMASHEVICH, C.; PILLAI, S. D. Response of *Microcystis aeruginosa* and Microcystin-LR to Electron Beam Irradiation Doses. **Radiation Physics and Chemistry**, p. 109534, 2021.

FOLCIK, A.M.; PILLAI, S.D. A critical review of ionizing radiation technologies for the remediation of waters containing Microcystin-LR and *M. aeruginosa*. **Radiation Physics and Chemistry**, 177, 109128. 2020.

FUNARI, E.; MANGANELLI, M; SINISI, L.. Impact of climate change on waterborne diseases. **Annali dell'Istituto superiore di sanita**, v. 48, p. 473-487, 2012.

FUNARI, E.; TESTAI, E.. Human health risk assessment related to cyanotoxins exposure. **Critical reviews in toxicology**, v. 38, n. 2, p. 97-125, 2008.

GARCIA, V.S.G.. Avaliação da toxicidade em água e sedimento do Rio Cubatão-SP. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo. 2012.

GOMES, A.M.A.; SAMPAIO, P.L.; FERRÃO-FILHO, A.S.; MAGALHÃES, V.F.; MARINHO, M.M.; OLIVEIRA, A.C.P.; SANTOS, V.B.; DOMINGOS, P.; AZEVEDO, S.M.F.O.. Florações de cianobactérias tóxicas em uma lagoa costeira hipereutrófica do Rio de Janeiro/RJ (Brasil) e suas consequências para saúde humana. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2009.

GORHAM, P.R.; MCLACHLAN, J.; HAMMER, U.T.; KIM, W.K.. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (Lyng) de Breb. Verh. Int. Verein. Limnol., 15:796-804, 1964.

HUGHES, E.O.; GORHAM, P.R.; ZEHNDER, A.. Toxicity of a unialgal culture of *Microcystis aeruginosa*. Can.J.Microbiol., 4(3): 225-236. 1958.

INGERSSOL, C. G.; NELSON, M. K.. Testing sediment toxicity with *Hyalella azteca* (Amphipoda) and *Chironomus riparius* (diptera). Aquatic Toxicology and risk assessment. v. 13, p. 93-109, 1990.

JACINAVICIUS, F.R.; GAMA-Jr, W.A.; AZEVEDO, M.T.P.; SANT'ANNA, C.L.. Manual para cultivo de cianobactérias. Instituto de Botânica, São Paulo. 2013.

JIA, J.; LUO, W.; LU, Y.; GIESY, J. P.. Bioaccumulation of microcystins (MCs) in four fish species from Lake Taihu, China: assessment of risks to humans. **Science of the total environment**, v. 487, p. 224-232, 2014.

KORPINEN, S.; KARJALAINEN, M.; VIITASALO, M.. Effects of Cyanobacteria on Survival and Reproduction of the Littoral Crustacean *Gammarus zaddachi* (Amphipoda). **Hydrobiologia**, [s.l.], v. 559, n. 1, p.285-295. Springer Science and Business Media LLC. 2006.

LAMBERT, T.W.; HOLMES, C.F.B.; HRUDEY, S.E.. Adsorption of microcystin-LR by activated carbon and removal in full scale water treatment. **Water Res.** v. 30, p. 1411–1422. 1996.

LEAL, A.C.; SOARES, M.C.P.. Hepatotoxicity of the microcystin cyanotoxin. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 37, supl. 2, p. 84-89, 2004.

- LI, Lamei; ZHANG, Hong; HUANG, Qing. New insight into the residual inactivation of *Microcystis aeruginosa* by dielectric barrier discharge. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, p. 1-10, 2015.
- LIAN, K.. **Can environmental toxins increase parasite fitness? Ecotoxicological studies on the effects of microcystin on the host-parasite dynamics of *Schistocephalus solidus***. 2020. Dissertação de Mestrado. The University of Bergen.
- LIU, S.; ZHAO, Y.; JIANG, W.; WU, M.; MA, F.. Inactivation of *Microcystis aeruginosa* by electron beam irradiation. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 225, n. 9, p. 1-6, 2014.
- LIU, M.; ZHAO, S.; MA, Y.; MA, F.; O'SHEA, L.; ZHAO, K.; HU, C; WU, X.. "Control of *Microcystis Aeruginosa* growth and the Associated Microcystin Cyanotoxin Remediation by Electron Beam Irradiation (EBI)," **RSC Adv.**, vol. 6, no. 207890, pp. 22469–22475, 2015.
- LIU, S.; TAN, Y.; MA, F.; FU, H.; ZHANG, Y. Effects of electron beam irradiation on proteins and exopolysaccharide production and changes in *Microcystis aeruginosa*. **International journal of radiation biology**, v. 96, n. 5, p. 689-696, 2020.
- MAGALHAES, V. D.; MARINHO, M. M.; DOMINGOS, P.; OLIVEIRA, A. C.; COSTA, S. M.; AZEVEDO, L. D.; AZEVEDO, S. M.. Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ). **Toxicol.**, v. 42, n. 3, p. 289-295, 2003.
- MAGONONO, M.; OBERHOLSTER, P.J.; SHONHAI, A.; MAKUMIRE, S.; GUMBO, J.R.. The Presence of Toxic and Non-Toxic Cyanobacteria in the Sediments of the Limpopo River Basin: Implications for Human Health. **Toxins**, [s.l.], v. 10, n. 7, p.1-23. MDPI AG. 2018.
- MANACH. S.L; DUVAL, C.; MARIE, A et al. Global Metabolomic Characterizations of *Microcystis* spp. Highlights Clonal Diversity in Natural Bloom-Forming Populations and Expands Metabolite Structural Diversity. **Front. Microbiol.**, v. 10, n. 791, p. 1-16, 2019.
- MANGANELLI, M.; SCARDALA, S.; STEFANELLI, M.; PALAZZO, F.; FUNARI, E.; VICHI, S.; BURATTI, F.M.; TESTAI, E.. Emerging health issues of cyanobacterial blooms. **Annali dell'Istituto superiore di sanità**, v. 48, p. 415-428, 2012.
- MOHAMED, Z. A.; CARMICHAEL, W. W.; HUSSEIN, A. A. Estimation of microcystins in the freshwater fish *Oreochromis niloticus* in an Egyptian fish farm containing a *Microcystis* bloom. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 18, n. 2, p. 137-141, 2003.
- MOORE, D. W.; FARRAR, J. D.. Effect of growth on reproduction in the freshwater amphipod, *Hyalella azteca*. **Hydrobiologia**, v. 328, p. 127-134. 1996.
- MOWE, M.; MITROVIC, S.M.; LIM, R.P.; FUREY, A.; YEO, D.C.J.. Tropical cyanobacterial blooms: a review of prevalence, problem taxa, toxins and influencing environmental factors. **Journal of Limnology**, [s.l.], v. 73, n., p.205-224, 2014.
- NALEWAJKO, C.; MURPHY, T. P.. Effects of temperature, and availability of nitrogen and phosphorus on the abundance of *Anabaena* and *Microcystis* in Lake Biwa, Japan: an experimental approach. **Limnology**, v. 2, n. 1, p. 45-48, 2001.

- OTHMAN, M. S.; PASCOE, D.. Growth, development, and reproduction of *Hyaella azteca* (Saussure, 1858) in laboratory culture. **Crustaceana**, v. 74, n.2, p. 171-181. 2001.
- PAERL, H.W., OTTEN, T.G. Harmful Cyanobacterial Blooms: Causes, Consequences, and Controls. **Microb Ecol** v. 65, p. 995–1010. 2013.
- PICCIN-SANTOS, V.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.. Toxic Cyanobacteria in Four Brazilian Water Supply Reservoirs. **Journal of Environmental Protection**, [s.l.], v. 03, n. 01, p.68-73. Scientific Research Publishing, Inc. 2012.
- PREECE, E. P.; MOORE, B. C.; HARDY, F. J.. Transfer of microcystin from freshwater lakes to Puget Sound, WA and toxin accumulation in marine mussels (*Mytilus trossulus*). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 122, p. 98-105, 2015.
- PRINGLE, C.M.. River conservation in tropical versus temperate latitudes. Pp. 371-384 in *Global Perspectives on River Conservation: Science, Policy and Practice*. Boon PJ, Davies BR, Petts GE (eds). John Wiley & Sons Ltd. 2020.
- RODRIGUES, M. R.; Frank, R.A.; SCHISLER, D. M.; DEETH, L. E.; BROWN, L. R.; HEDGES, A. M.; DIXON, D. G.; HEWITT, L. M.; BARTLETT, A. J.. Development of a Reduced-Volume Acute Lethality Toxicity Test for *Hyaella azteca*. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 39, n. 11, p. 2221-2227, 2020.
- ROMANELLI, M.F. Avaliação da toxicidade aguda e crônica dos surfactantes DSS e LAS submetidos à irradiação com feixes de elétrons. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo. 2004.
- SANT'ANNA, C.L; AZEVEDO, M.T.P. Contribution to the Knowledge of potentially toxic Cyanobacteria form Brazil. **Nova Hedwigia**, v. 71, p. 359-385, 2000.
- SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. D. P.; WERNER, V. R.; DOGO, C. R.; RIOS, F. R.; CARVALHO, L. D.. Review of toxic species of Cyanobacteria in Brazil. **Algological studies**, v. 126, n. 1, p. 251-265, 2008.
- SILVA, T.T. Potencial das radiações ionizantes para reduzir a toxicidade de cianobactérias que prejudicam reservatórios do estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo. 2021.
- SIVONEN, K.; JONES, G.. Cyanobacterial toxins. **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**, v. 1, p. 43-112, 1999.
- SIWEK, Malgorzata; EDGECOCK, Thomas. Application of electron beam water radiolysis for sewage sludge treatment—a review. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-25, 2020.
- SMITH, V. H. & SCHINDLER, D. W. **Eutrophication science: where do we go from here?** Trends in Ecology and Evolution 24: 201-207. 2009.
- SOTERO-MARTINS, A.; FERRÃO-FILHO, A. S.; SANTOS, J. A. A.; MOURA, P. G.; HANDAM, N. B.; KOTOWSKI-FILHO, N. P.; JARDIM, R.; CARVAJAL, E.. Characterization of Periods of Crisis and Post-Crisis in the Raw Water of Guandu System through Quality Parameters. In: **Characterization of Periods of Crisis and**

Post-Crisis in the Raw Water of Guandu System through Quality Parameters. 2020.

SPACIE, A.; McCARTY, L.S.; RAND, G.M. **Bioaccumulation and bioavailability in multiphase systems. In: Fundamentals of Aquatic Toxicology – Effects, Environmental Fate and Risk Assessment.** Gary M. Rand. Ed. Taylor & Francis, 2nd Edition. 1995.

SVIRČEV, Z.; LALIČ, D.; SAVIČ, G.B.; TOKODI, N.; BACKOVIČ, D.D.; CHEN, L.; MERILUOTO, J.; CODD, G.A.. Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyanobacterial poisonings. **Archives of toxicology**, v. 93, n. 9, p. 2429-2481, 2019.

TEIXEIRA, M. R.. Assessing the health risk of flotation-nanofiltration sequence for Cyanobacteria and cyanotoxin removal in drinking water. **Handbook on Cyanobacteria**, p. 349-398, 2009.

TUNDISI, J. G.; MATSU MURA-TUNDISI, T.; SIDAGIS GALLI, C. **Eutrofização na América do Sul: causas, tecnologias de gerenciamento e controle.** IIE, Iiega, IAP, Ianas, ABC. 337p. 2006.

USEPA (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY). Methods for measuring toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. Washington, D.C.: Environmental Protection Agency, 192 p. 2000.

XAVIER, F.M.G.. Metodologia para análise da dinâmica e manutenção do serviço ecossistêmico de regulação hídrica na região hidrográfica do Rio Guandu, Rio de Janeiro, RJ. **Embrapa Solos-Tese/dissertação (ALICE)**, 2020.

ZAGATTO, P.A.; ARAGÃO, M.A. Implantação de métodos para avaliação de algas tóxicas. São Paulo. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB). Relatório Técnico. 23p. 1992.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática - princípios e aplicações.** Edta Rima, 2^a ed, São Carlos, SP. 2008.

ZANINI, H.L.H.T.; AMARAL, L.A.; ZANINI, J.R.; TAVARES, L.H.S. Caracterização da água da microbacia do córrego Rico avaliada pelo índice de qualidade de água e de estado trófico. **Engenharia Agrícola**, v. 30, n. 4, p. 732-741, 2010.

ZHANG, H.; HUANG, Q.; KE, Z.; YANG, L.; WANG, X.; YU, Z. Hong et al. Degradation of microcystin-LR in water by glow discharge plasma oxidation at the gas–solution interface and its safety evaluation. **Water research**, v. 46, n. 19, p. 6554–6562, 2012.

ZHENG, Y.; ZHENG, B.; ZHANG, Z.; LUO, J.; LIU, X.; WANG, Q.; ZHAO, J. 2012. “The removal of *Microcystis aeruginosa* in water by gamma-ray irradiation,” Sep. Purif. Technol., vol. 85, p. 165–170, 2012.

APÊNDICES

APÊNDICE A. Fichas dos ensaios de toxicidade aguda com *Hyaella azteca*.

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 1ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyaella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,76 OD = 7,11 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)													
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final												
Controle	10	100	7,76		7,11		211	
0,5	10	100	6,7		6,78		216	
1	10	100	7,25		6,86		210	
2,5	10	100	8		6,89		230	
3	.	.	†	.	.	†	8	80	7,56		7,2		234	
4	.	.	†	.	.	†	8	80	7,84		6,94		236	
5	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,12		7,27		240	
10	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,14		7,54		310	
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,15		7,62		376	
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,2		7,68		412	
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,38		7,71		438	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 1ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyaella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,76 OD = 7,11 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)													
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final												
Controle	10	100	7,76	7,88	7,11	6,9	211	243
0,5	10	100	6,7	6,2	6,78	6,75	216	246
1	10	100	7,25	7,05	6,86	6,84	210	242
2,5	10	100	8	7,97	6,89	6,86	230	263
3	.	.	†	.	.	†	8	80	7,56	7,54	7,2	6,9	234	266
4	†	†	†	.	.	†	†	.	.	†	4	40	7,84	7,81	6,94	6,92	236	267
5	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,12	8,03	7,27	7,25	240	268
10	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,14	8,05	7,54	7,51	310	347
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,15	8,07	7,62	7,59	376	402
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,2	7,56	7,68	7,66	412	436
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,38	7,68	7,71	7,08	438	443

CL50 _{72h} = 3,66 (3,32 - 4,04)																		
ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 1ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyaella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,76 OD = 7,11 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,76		7,11		211	
0,5	10	100	7,93		6,83		209	
1	10	100	7,86		6,97		211	
2,5	10	100	7,63		6,78		215	
3	10	100	7,95		6,69		213	
4	10	100	7,97		6,74		235	
5	10	100	7,95		6,72		238	
10	†	.	†	8	80	7,58		6,68		320	
20	†	.	†	8	80	7,62		6,65		385	
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,83		7,36		437	
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,75		7,53		445	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 1ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyaella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,76 OD = 7,11 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,76	7,88	7,11	6,9	211	243
0,5	10	100	7,93	7,87	6,83	6,61	209	236
1	10	100	7,86	7,83	6,97	6,83	211	231
2,5	10	100	7,63	7,58	6,78	6,67	215	234
3	10	100	7,95	7,88	6,69	6,53	213	239
4	10	100	7,97	7,91	6,74	6,59	235	241
5	10	100	7,95	7,8	6,72	6,57	238	267
10	†	.	†	8	80	7,58	7,43	6,68	6,54	320	334
20	†	†	†	.	.	.	†	.	.	.	6	60	7,62	7,35	6,65	6,32	385	392
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,83	7,12	7,36	5,6	437	439
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,75	7,06	7,53	4,5	445	448

CL50_{72h} = 19,95 (14,71 - 27,06)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 1ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,76 OD = 7,11 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,76		7,11		211	
0,5	10	100	7,9		6,85		227	
1	10	100	7,84		6,84		227	
2,5	10	100	7,6		6,76		230	
3	10	100	7,92		6,89		231	
4	10	100	7,95		6,8		233	
5	10	100	7,93		6,58		264	
10	10	100	7,55		6,57		327	
20	10	100	7,59		6,59		398	
50	.	†	†	†	†	†	.	†	†	†	2	20	7,81		6,78		418	
100	.	†	†	†	†	†	.	†	†	†	2	20	7,63		7,2		435	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 1ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,76 OD = 7,11 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,76	7,88	7,11	6,9	211	243
0,5	10	100	7,9	8,01	6,85	6,83	227	234
1	10	100	7,84	7,91	6,84	6,81	227	230
2,5	10	100	7,6	7,72	6,76	6,73	230	232
3	10	100	7,92	7,5	6,89	6,85	231	234
4	10	100	7,95	7,65	6,8	6,76	233	239
5	10	100	7,93	7,76	6,58	6,54	264	279
10	10	100	7,55	7,4	6,57	6,52	327	346
20	†	†	8	80	7,59	7,32	6,59	6,53	398	410
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,81	7,08	6,78	6,75	418	447
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,63	7,72	7,2	7,17	435	451

CL50_{72h} = 26,92 (21,96 - 33,0)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 2ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição a suspensão algal (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,89 OD = 7,12 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,89		7,12		210	
0,5	10	100	6,72		7,03		214	
1	10	100	7,3		6,87		213	
2,5	10	100	7,95		6,85		227	
3	.	†	†	.	.	.	8	80	7,56		7,21		230	
4	†	†	.	†	.	.	†	.	.	.	6	60	7,8		6,97		234	
5	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,1		7,25		242	
10	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,07		7,53		313	
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,12		7,59		374	
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,18		7,65		415	
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,21		7,68		436	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 2ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,89 OD = 7,12 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,89	7,86	7,12	6,7	210	246
0,5	10	100	6,72	6,35	7,03	6,72	214	237
1	10	100	7,3	7,24	6,87	6,8	213	240
2,5	10	100	7,95	7,92	6,85	6,84	227	259
3	.	†	†	.	.	.	8	80	7,56	7,5	7,21	7,1	230	264
4	†	†	.	†	.	.	†	†	.	.	4	40	7,8	7,76	7,12	7,02	234	269
5	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,1	8,08	7,25	7,18	242	271
10	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,07	7,98	7,53	7,46	313	346
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,12	8,02	7,59	7,34	374	410
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,18	7,86	7,65	7,6	415	438
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	8,21	7,64	7,68	7,11	436	450

CL50_{72h} = 3,66 (3,32 - 4,04)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 2ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,89 OD = 7,12 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
													pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,89		7,12		210	
0,5	10	100	7,92		6,81		212	
1	10	100	7,85		6,96		214	
2,5	10	100	7,67		6,78		215	
3	10	100	7,93		6,67		220	
4	10	100	7,98		6,71		232	
5	10	100	7,93		6,7		236	
10	†	†	8	80	7,68		6,66		324	
20	10	100	7,63		6,69		382	
50	†	†	†	.	.	†	†	†	†	†	2	20	7,71		7,36		432	
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,72		7,51		447	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 2ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,89 OD = 7,12 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
													pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,89	7,86	7,12	6,7	210	246
0,5	10	100	7,92	7,83	6,81	6,63	212	231
1	10	100	7,85	7,8	6,96	6,83	214	235
2,5	10	100	7,67	7,54	6,78	6,67	215	241
3	10	100	7,93	7,86	6,67	6,55	220	248
4	10	100	7,98	7,93	6,71	6,59	232	250
5	10	100	7,93	7,82	6,7	6,53	236	262
10	†	†	8	80	7,68	7,45	6,66	6,52	324	331
20	†	.	.	.	†	†	.	.	†	.	6	60	7,63	7,46	6,69	6,3	382	390
50	†	†	†	.	.	†	†	†	†	†	2	20	7,71	7,15	7,36	6,28	432	441
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,72	7,26	7,51	7,48	447	460
CL50 _{72h} = 23,44 (16,24 - 33,81)																		

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 2ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyaella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,89 OD = 7,12 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,89		7,12		210	
0,5	10	100	7,89		6,83		226	
1	10	100	7,86		6,81		228	
2,5	10	100	7,71		6,74		232	
3	10	100	7,93		6,87		231	
4	10	100	7,95		6,83		236	
5	10	100	7,94		6,63		264	
10	10	100	7,5		6,55		323	
20	10	80	7,56		6,57		397	
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,8		6,76		418	
100	†	†	†	†	†	.	†	†	.	†	2	20	7,59		7,23		432	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 2ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyaella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,89 OD = 7,12 mg L ⁻¹ Dureza = 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,89	7,86	7,12	6,7	210	246
0,5	10	100	7,89	7,86	6,83	6,78	226	231
1	10	100	7,86	7,84	6,81	6,76	228	235
2,5	10	100	7,71	7,7	6,74	6,67	232	236
3	10	100	7,93	7,9	6,87	6,79	231	237
4	10	100	7,95	7,93	6,83	6,74	236	241
5	10	100	7,94	7,87	6,63	6,57	264	275
10	10	100	7,5	7,48	6,55	6,5	323	337
20	.	.	†	†	.	.	8	80	7,56	7,3	6,57	6,53	397	113
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,8	7,12	6,76	6,71	418	436
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,59	7,54	7,23	7,11	432	453

CL50_{72h} = 26,92 (21,96 - 33,00)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 3ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,81 OD = 7,16 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,81		7,16		110	
0,5	10	100	6,68		7,12		223	
1	10	100	7,32		6,93		219	
2,5	10	100	7,89		6,96		231	
3	10	100	7,57		7,12		234	
4	10	100	7,83		7,15		238	
5	†	.	.	†	.	8	80	7,96		7,68		245	
10	†	.	.	†	.	.	†	.	.	†	6	60	7,98		7,54		312	
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,85		7,27		374	
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,93		7,24		415	
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,91		7,58		436	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 3ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,81 OD = 7,16 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,81	7,67	7,16	6,83	110	123
0,5	10	100	6,68	6,23	7,12	6,81	223	241
1	10	100	7,32	7,12	6,93	6,8	219	243
2,5	10	100	7,89	7,36	6,96	6,86	231	265
3	†	†	.	.	.	†	.	†	.	.	6	60	7,57	7,32	7,12	6,9	234	264
4	†	†	.	.	.	†	.	†	.	.	6	60	7,83	7,64	7,15	6,87	238	263
5	†	†	.	.	.	†	.	†	†	†	4	40	7,96	7,75	7,68	7,52	245	269
10	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,98	7,76	7,54	7,31	312	343
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,85	7,69	7,27	7,08	374	412
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,93	7,56	7,24	7,16	415	442
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,91	7,69	7,58	7,21	436	453

CL50; 72h: 4,41 (3,69 - 5,28)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 3ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,81 OD = 7,16 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
													pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,81		7,16		110	
0,5	10	100	7,92		6,83		210	
1	10	100	7,84		6,97		211	
2,5	10	100	7,64		6,78		215	
3	10	100	7,93		6,69		213	
4	10	100	7,96		6,74		235	
5	10	100	7,96		6,72		238	
10	.	†	†	.	8	80	7,6		6,68		320	
20	.	†	†	.	†	†	.	.	†	.	4	40	7,61		6,65		385	
50	†	.	†	†	†	†	.	.	†	†	2	20	7,82		7,36		437	
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,76		7,54		447	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 3ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,81 OD = 7,16 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
													pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,81	7,67	7,16	6,83	110	123
0,5	10	100	7,92	7,87	6,83	6,61	210	236
1	10	100	7,84	7,83	6,97	6,83	211	231
2,5	10	100	7,64	7,56	6,78	6,67	215	234
3	10	100	7,93	7,88	6,69	6,53	213	239
4	10	100	7,96	7,91	6,74	6,59	235	241
5	10	100	7,96	7,8	6,72	6,57	238	267
10	.	†	.	.	.	†	.	.	†	.	6	60	7,6	7,42	6,68	6,54	320	334
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,61	7,35	6,65	6,32	385	392
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,82	7,12	7,36	5,6	437	439
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,76	7,07	7,54	4,6	447	449

CL50; 72h: 10,72 (8,65 - 13,29)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 3ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyaella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,81 OD = 7,16 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,81		7,16		110	
0,5	10	100	7,9		6,85		227	
1	10	100	7,84		6,84		227	
2,5	10	100	7,6		6,76		230	
3	10	100	7,92		6,89		231	
4	10	100	7,95		6,8		233	
5	10	100	7,93		6,58		264	
10	10	100	7,55		6,57		327	
20	10	100	7,59		6,59		398	
50	.	†	.	†	†	.	.	†	†	†	4	40	7,81		6,78		418	
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,64		7,21		434	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 3ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyaella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH = 7,81 OD = 7,16 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,81	7,67	7,16	6,83	110	123
0,5	10	100	7,9	8,01	6,85	6,83	227	234
1	10	100	7,84	7,91	6,84	6,81	227	230
2,5	10	100	7,6	7,72	6,76	6,73	230	232
3	10	100	7,92	7,5	6,89	6,85	231	234
4	10	100	7,95	7,65	6,8	6,76	233	239
5	10	100	7,93	7,76	6,58	6,54	264	279
10	10	100	7,55	7,4	6,57	6,52	327	346
20	10	100	7,59	7,32	6,59	6,53	398	410
50	†	†	†	†	†	.	.	†	†	†	2	20	7,81	7,08	6,78	6,75	418	447
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,64	7,71	7,21	7,15	434	452

CL50; 72h: 37,14 (30,30 - 45,53)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 4ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,13 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78		7,13		113	
0,5	10	100	6,65		7,11		221	
1	10	100	7,29		6,93		219	
2,5	10	100	7,88		6,96		231	
3	10	100	7,58		7,12		234	
4	10	100	7,82		7,15		238	
5	.	†	.	†	8	80	7,92		7,68		245	
10	†	†	†	.	†	†	.	.	.	†	4	40	7,95		7,54		312	
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,86		7,27		374	
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,92		7,24		415	
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,94		7,53		435	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 4ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,13 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78	7,64	7,13	6,81	113	126
0,5	10	100	6,65	6,23	7,11	6,79	221	240
1	10	100	7,29	7,12	6,93	6,8	219	243
2,5	10	100	7,88	7,36	6,96	6,86	231	265
3	.	.	†	.	.	.	†	.	†	†	6	60	7,58	7,32	7,12	6,9	234	264
4	.	.	†	.	.	.	†	.	†	†	6	60	7,82	7,64	7,15	6,87	238	263
5	.	†	†	†	.	.	†	.	†	†	4	40	7,92	7,75	7,68	7,52	245	269
10	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,95	7,76	7,54	7,31	312	343
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,86	7,69	7,27	7,08	374	412
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,92	7,56	7,24	7,16	415	442
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,94	7,65	7,53	7,24	435	456

CL50; 72h: 4,41 (3,69 - 5,28)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 4ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyaella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,13 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78		7,13		113	
0,5	10	100	7,9		6,81		213	
1	10	100	7,85		6,96		214	
2,5	10	100	7,67		6,78		215	
3	10	100	7,93		6,67		220	
4	10	100	7,98		6,71		232	
5	10	100	7,93		6,7		236	
10	†	†	.	.	.	8	80	7,68		6,66		324	
20	†	†	†	.	†	6	60	7,63		6,69		382	
50	†	†	†	†	†	.	†	†	†	.	2	20	7,71		7,36		432	
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,74		7,53		447	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 4ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyaella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,13 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78	7,64	7,16	6,81	113	126
0,5	10	100	7,9	7,83	6,81	6,61	213	230
1	10	100	7,85	7,8	6,96	6,83	214	235
2,5	10	100	7,67	7,54	6,78	6,67	215	241
3	10	100	7,93	7,86	6,67	6,55	220	248
4	10	100	7,98	7,93	6,71	6,59	232	250
5	10	100	7,93	7,82	6,7	6,53	236	262
10	†	†	.	.	.	†	†	†	†	.	4	40	7,68	7,45	6,66	6,52	324	331
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,63	7,46	6,69	6,3	382	390
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,71	7,15	7,36	6,28	432	441
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,74	7,25	7,53	7,46	447	462

CL50; 72h: 9,33 (7,53 - 11,57)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 4ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,13 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
													pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78		7,13		113	
0,5	10	100	7,91		6,86		225	
1	10	100	7,84		6,84		227	
2,5	10	100	7,6		6,76		230	
3	10	100	7,92		6,89		231	
4	10	100	7,95		6,8		233	
5	10	100	7,93		6,58		264	
10	10	100	7,55		6,57		327	
20	10	100	7,59		6,59		398	
50	†	†	†	.	†	.	.	†	.	†	4	40	7,81		6,78		418	
100	†	†	†	†	.	†	†	†	†	.	2	20	7,61		7,21		436	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 4ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,13 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
													pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78	7,64	7,13	6,81	113	126
0,5	10	100	7,91	7,96	6,86	6,81	225	236
1	10	100	7,84	7,91	6,84	6,81	227	230
2,5	10	100	7,6	7,72	6,76	6,73	230	232
3	10	100	7,92	7,5	6,89	6,85	231	234
4	10	100	7,95	7,65	6,8	6,76	233	239
5	10	100	7,93	7,76	6,58	6,54	264	279
10	10	100	7,55	7,4	6,57	6,52	327	346
20	10	100	7,59	7,32	6,59	6,53	398	410
50	†	.	†	†	†	†	.	†	†	†	2	20	7,81	7,08	6,78	6,75	418	447
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,61	7,7	7,21	7,14	436	450

CL50; 72h: 37,14 (30,30 - 45,53)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 5ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,15 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78		7,15		112	
0,5	10	100	6,67		7,11		223	
1	10	100	7,32		6,93		219	
2,5	10	100	7,89		6,96		231	
3	10	100	7,57		7,12		234	
4	10	100	7,83		7,15		238	
5	.	†	†	8	80	7,96		7,68		245	
10	.	†	†	†	†	.	†	†	.	†	4	40	7,98		7,54		312	
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,85		7,27		374	
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,93		7,24		415	
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,95		7,61		439	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 5ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceia (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 não irradiado																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,15 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
													Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78	7,65	7,15	6,86	112	125
0,5	10	100	6,67	6,23	7,11	6,81	223	242
1	10	100	7,32	7,12	6,93	6,8	219	243
2,5	10	100	7,89	7,36	6,96	6,86	231	265
3	10	100	7,57	7,32	7,12	6,9	234	264
4	10	100	7,83	7,64	7,15	6,87	238	263
5	.	†	.	†	†	†	6	60	7,96	7,75	7,68	7,52	245	269
10	.	†	†	†	†	.	†	†	†	†	2	20	7,98	7,76	7,54	7,31	312	343
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,85	7,69	7,27	7,08	374	412
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,93	7,56	7,24	7,16	415	442
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,95	7,73	7,61	7,24	439	454

CL50; 72h: 6,76 (5,40 - 8,47)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 5ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,15 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
													pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78		7,15		112	
0,5	10	100	7,9		6,81		215	
1	10	100	7,84		6,97		211	
2,5	10	100	7,64		6,78		215	
3	10	100	7,93		6,69		213	
4	10	100	7,96		6,74		235	
5	10	100	7,96		6,72		238	
10	†	.	.	†	.	.	.	†	.	†	6	60	7,6		6,68		320	
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,61		6,65		385	
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,82		7,36		437	
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,75		7,56		445	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 5ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 5 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,15 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
													pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78	7,65	7,15	6,86	112	125
0,5	10	100	7,9	7,85	6,81	6,64	215	237
1	10	100	7,84	7,83	6,97	6,83	211	231
2,5	10	100	7,64	7,56	6,78	6,67	215	234
3	10	100	7,93	7,88	6,69	6,53	213	239
4	10	100	7,96	7,91	6,74	6,59	235	241
5	10	100	7,96	7,8	6,72	6,57	238	267
10	†	.	.	†	.	†	.	†	†	†	4	40	7,6	7,42	6,68	6,54	320	334
20	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,61	7,35	6,65	6,32	385	392
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,82	7,12	7,36	5,6	437	439
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,75	7,11	7,56	4,61	445	450

CL50; 72h: 9,33 (7,53 - 11,57)

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 5ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 48 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,15 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
													pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78		7,15		112	
0,5	10	100	7,85		6,85		228	
1	10	100	7,86		6,81		228	
2,5	10	100	7,71		6,74		232	
3	10	100	7,93		6,87		231	
4	10	100	7,95		6,83		236	
5	10	100	7,94		6,63		264	
10	10	100	7,5		6,55		323	
20	10	100	7,56		6,57		397	
50	†	†	†	.	†	†	†	†	.	†	2	20	7,8		6,76		418	
100	†	†	.	†	†	.	†	†	†	†	2	20	7,62		7,21		435	

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA - 5ª Campanha																		
Organismo-teste: <i>Hyalella azteca</i>																		
Método: 72 h de exposição à suspensão de cianofíceas (<i>Microcystis aeruginosa</i>) em meio de cultivo ASM-1 irradiado, dose 10 kGy																		
Água de diluição: Manancial: Salto – SP Físico-químico: pH: 7,78 OD: 7,15 Mg L ⁻¹ Dureza: 45 Mg.CaCO ₃ L ⁻¹																		
Concentrações (%)	Réplicas										Total de organismos vivos	Porcentagem de organismos vivos (%)	Físico-químico					
													pH		OD (mg L ⁻¹)		Cond. (uS cm ⁻¹)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	10	100	7,78	7,65	7,15	6,86	112	125
0,5	10	100	7,85	7,88	6,85	6,76	228	233
1	10	100	7,86	7,84	6,81	6,76	228	235
2,5	10	100	7,71	7,75	6,74	6,67	232	236
3	10	100	7,93	7,91	6,87	6,79	231	237
4	10	100	7,95	7,93	6,83	6,74	236	241
5	10	100	7,94	7,87	6,63	6,57	264	275
10	10	100	7,5	7,48	6,55	6,51	323	337
20	.	.	†	.	.	†	8	80	7,56	7,3	6,57	6,53	397	113
50	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,8	7,12	6,76	6,71	418	436
100	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	0	0	7,62	7,57	7,21	7,15	435	454

CL50; 72h: 26,92 (21,96 - 33,00)

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil
<http://www.ipen.br>

O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações.
