

Trabalho de Formatura

Curso de Graduação em ENGENHARIA AMBIENTAL

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE SOBRE *Ceriodaphnia dubia* DAS ÁGUAS DOS RIOS
ATIBAIA, JAGUARI, E EFLUENTE TRATADO DE REFINARIA DE PETRÓLEO.

Marcella Cipolla Maluta

Rio Claro (SP)

2010

MARCELLA CIPOLLA MALUTA

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE SOBRE *Ceriodaphnia dubia* DAS ÁGUAS DOS RIOS ATIBAIA, JAGUARI, E EFLUENTE TRATADO DE REFINARIA DE PETRÓLEO.

Trabalho de Formatura apresentado ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Campus de Rio Claro (SP), da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, para obtenção do grau de Engenheiro Ambiental.

Orientador: Dejanira de Franceschi de Angelis

Rio Claro (SP)
2010

628.1 Maluta, Marcella Cipolla
M261a Avaliação da toxicidade sobre Ceriodaphnia dubia das águas dos rios Atibaia, Jaguari e efluente tratado de refinaria de petróleo / Marcella Cipolla Maluta. - Rio Claro : [s.n.], 2010
69 f. : il., figs.

Trabalho de conclusão de curso (Engenharia Ambiental) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Orientador: Dejanira de Franceschi de Angelis

1. Abastecimento de água. 2. Ecotoxicidade. 3. Bioindicadores de toxicidade . 4. Efluente - Qualidade. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

MARCELLA CIPOLLA MALUTA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE SOBRE Ceriodaphnia dubia DAS
ÁGUAS DOS RIOS ATIBAIA, JAGUARI, E EFLUENTE
TRATADO DE REFINARIA DE PETRÓLEO.**

Trabalho de Formatura apresentado ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Campus de Rio Claro (SP), da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, para obtenção do grau de Engenheiro Ambiental.

Comissão Examinadora:

Prof. Dra. Dejanira de Franceschi de Angelis (orientador)

Prof. Dr. Carlos Renato Corso

Prof. Dr. Marcos Aparecido Pizano

Rio Claro, 19 de novembro de 2010.

assinatura do(a) aluno(a)

assinatura do(a) orientador(a)

“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus por me ajudar, a sua maneira, sempre em todos os momentos, me mantendo tranqüila, me fazendo acreditar que existe solução e tempo para tudo, me dando forças quando nada dava certo e tudo parecia acumular. Por me proporcionar muitos momentos de alegrias me concedendo muitas graças ao longo de todo esse tempo, desde o ingresso na universidade até hoje.

Agradeço a meu pai Ordival por me ensinar da melhor maneira possível as matemáticas e geometria, fazendo crescer em mim o interesse e o gosto pela engenharia, me encaminhando para a profissão que desejei seguir.

A minha querida mãe Elisabete, coração de ouro, serena em todas as horas, que me agüentou nos momentos de crise, que sempre procurou me manter calma e ter esperança.

Aos dois pela educação que me deram, por sempre me apoiarem, pelo amor e compreensão e por me ajudarem na troca de água dos bichos. Até nisso eles me acompanharam!!

Ao meu irmão Felipe, por conseguir me fazer rir nos momentos de tensão. Por me acompanhar, muitas vezes contra sua vontade, na ida à Unesp, as vezes a noite, para que eu pudesse cuidar dos bichos.

A Professora Dejanira de Franceschi de Angelis, a Deja :) , grande exemplo de dedicação e sucesso, pelo apoio, ensinamentos acadêmicos, vivência, por me fazer acreditar no meu trabalho e me incentivar a inscrevê-lo nos congressos, simpósios e eventos. Por ter tido paciência comigo, na troca do tema do TCC, e me ensinar que com calma... tuuuudo se resolve. E, sobretudo, por estar sempre presente, ainda que por e-mail, nos últimos momentos do TCC, arranjando tempo para corrigi-lo em meio a tantos problemas e outros compromissos.

A professora Dilza, por sua amizade, por ter me ajudado tantas vezes intermediando meus recados à professora Dejanira e por me dar uma força nos testes que fiz no período do estágio.

A Refinaria de Paulínia – REPLAN, pelo fornecimento das amostras.

A todos os amigos que fiz durante todos esses anos na faculdade, todos mesmo, sem exceção! Sejam dos da mesma sala, sejam os que de algum modo conheci. Pois de um jeito ou de outro contribuíram para este trabalho e para a minha formação como pessoa. Vou sentir muita falta de todos!! Vou citar os que no coração guardarei (Lista de presença!): Catita, Jabuta, Santa, Laranja, Dani, Loly, Sushi, Felícia, Gabi, Minero, João, Cotoko, Minhoca, Mont, Feioso, Topo, Naty, Batman, Rick, Bodão, Sertório e Tales.

A Fer, por estar sempre presente, por me ouvir, me arrastar pras festas (ê laiaá...), a Pah, por estar sempre em Rio Claro (rsrs) e me entender em muitas situações, e a Fí, por me ouvir muitas vezes e me ajudar quando eu tinha dúvidas. As três também me acompanharam alguns dias em que precisei tratar das “bichas” (apelido que a Fí deu pras *Ceriodaphnias* hehe).

A todos do departamento de bioquímica e microbiologia, em especial o pessoal do Lab III: Inês, Marcio Rozin, Marcio Ramos, Héliid, Letícia, Ângela Lopes.

Ao Zito, por me acompanhar em toda essa jornada, por me ensinar a cuidar das *Ceriodaphnias*, por confiar no meu trabalho, pela coleta das amostras, preparo das águas e das algas, e por revezar comigo os dias de trato dos bichos quando não podia ou quando precisei viajar. Foi a minha salvação neste último ano de faculdade!

RESUMO

A garantia da disponibilidade de água com qualidade para consumo humano faz com que se torne crescente o número de estudos voltados para a análise de efluentes, pré e pós tratamento, de modo que seu lançamento em corpos receptores não provoque alterações significativas nas águas dos rios e nas comunidades biológicas a eles relacionadas. Os bioindicadores de toxicidade têm sido muito utilizados para verificação do potencial tóxico de efluentes, e sua correlação com a eficiência do tratamento dos mesmos. Nesse contexto, o cladocera *Ceriodaphnia dubia* destaca-se por ser de um organismo aquático bentônico de alta sensibilidade às alterações ambientais. No presente estudo, de modo a avaliar a interferência do lançamento do efluente tratado de refinaria de petróleo no Rio Atibaia, verificou-se a toxicidade sobre a dinâmica populacional do microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* em amostras de água à montante e à jusante do ponto de lançamento, em comparação com amostras do Rio Jaguari, no ponto de captação pela empresa, e do próprio efluente tratado. Para tanto, avaliou-se o número de filhotes produzidos em 10 réplicas, cada uma iniciando o teste com um indivíduo de até 24 horas, para cada amostra e correlacionou-se os resultados com análises físico-químicas e microbiológicas realizadas por pessoal técnico do laboratório. Para a maioria dos testes realizados, os resultados indicam que o efluente tratado confere efeitos tóxicos sub-letais aos organismos-teste à medida que atrasa o início do ciclo reprodutivo dos mesmos.

PALAVRAS-CHAVE: Ecotoxicidade, *Ceriodaphnia dubia*, efluente tratado de refinaria.

ABSTRACT

Ensuring availability of quality water for human consumption causes becomes an increasing number of studies for the analysis of effluent before and after treatment, so that its release into receiving bodies do not cause significant changes in the river water and on the biological communities related to them. The biomarkers of toxicity have long been used to verify the potential toxic effluent and its correlation with the treatment efficiency of them. In this context, the cladoceran *Ceriodaphnia dubia* stands out because it is a benthic aquatic organism highly sensitive to environmental changes. In this study, to evaluate the interference of the release of treated wastewater of oil refinery in Rio Atibaia, we sought to determine the toxicity on population dynamics of *Ceriodaphnia dubia* microcrustacean in water samples upstream and downstream from the launch site, compared with samples from Rio Jaguarí at the point of capture by the company itself and treated effluent. We have studied the number of offspring produced in 10 replicates, each starting with a test individual of up to 24 hours for each sample and correlated the results with physical-chemical and microbiological tests performed by a laboratory technician. For most tests, the results indicate that the treated effluent gives sub-lethal toxicity to the microcrustacean, as delay the onset of the reproductive cycle of the same.

KEY WORDS: Ecotoxicology, *Ceriodaphnia dubia*, refinery treated effluent.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Pontos de coleta das amostras.	25
Tabela 2: Cronograma das coletas das amostras de água nos pontos 1, 2, 3 e 4.....	27
Tabela 3: Valores acumulados do número de neonatos de <i>Ceriodaphnia dubia</i> observados durante 30 dias nas amostras de água referentes ao primeiro teste.	33
Tabela 4: Análises físico-químicas e biológicas para o efluente tratado, Rio Atibaia e Rio Jaguari, das amostras do Teste 1.	35
Tabela 5: Valores acumulados do número de neonatos observados durante os 30 dias de realização do Teste 2.	41
Tabela 6: Análises físico-químicas e biológicas para o efluente tratado, Rio Atibaia e Rio Jaguari, das amostras utilizadas no Teste 2.	43
Tabela 7: Valores acumulados do número de neonatos observados durante 30 dias compreendidos entre os dias 9/10 a 8/11/2009.....	46
Tabela 8: Análises físico-químicas e biológicas para o efluente tratado, Rio Atibaia e Rio Jaguari, das amostras do Teste 3.	48
Tabela 9: Valores acumulados do número de neonatos observados durante os 30 dias de duração do quarto teste.	52
Tabela 10: Análises físico-químicas e biológicas para o efluente tratado, Rio Atibaia e Rio Jaguari, das amostras do Teste 4.	53
Tabela 11: Valores acumulados do número de neonatos observados durante os 30 dias do Teste 5.	56
Tabela 12: Análises físico-químicas e biológicas para o efluente tratado, Rio Atibaia e Rio Jaguari, das amostras do Teste 5.	58
Tabela 13: Valores acumulados do número de neonatos observados durante o Teste 6.....	61
Tabela 14: Medidas da concentração hidrogeniônica (pH) nas amostras coletadas na Refinaria, Rio Atibaia e Rio Jaguari – Teste 6.	62

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Anatomia da fêmea de <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Berner, 1986; apud EPS, 2007).....	22
Figura 2: Foto neonato <i>Ceriodaphnia dubia</i> – aumento de 40x.	22
Figura 3: Ecdise de neonato de <i>Ceriodaphnia dubia</i> – aumento de 40x.	23
Figura 4: Matriz de <i>Ceriodaphnia dubia</i> – aumento de 40x.	23
Figura 5: Esquema da localização dos pontos de amostragem.	25
Figura 6: Rio Jaguari, próximo ao ponto de captação de água pela refinaria (Ponto1).	26
Figura 7: Saída do efluente da lagoa de estabilização (Ponto 2).....	26
Figura 8: Rio Atibaia, montante da entrada do efluente industrial tratado (Ponto 3).	26
Figura 9: Jusante da entrada do efluente tratado (Ponto 4).....	26
Figura 10: Frasco de Mariot com água de manutenção (Rio Ribeirão Claro) após ajuste do pH e dureza sob condições de aeração.	29
Figura 11: Armazenamento de amostras de água, após serem filtradas, em frascos vedados mantidos sob refrigeração.....	30
Figura 12: Disposição dos béqueres durante a realização do teste, mantidos na incubadora (Câmara de Germinação, modelo 347 - Marconi).....	32
Figura 13: Valores acumulados de número de neonatos de <i>Ceriodaphnia dubia</i> produzidos em 30 dias nas diferentes amostras.	34
Figura 14: Valores acumulados de número de neonatos produzidos em 30 dias nas diferentes amostras para o Teste 2.	41
Figura 15: Valores acumulados de número de neonatos produzidos em 30 dias do Teste 3, nas diferentes amostras.	47
Figura 16: Valores acumulados de número de neonatos produzidos em 30 dias nas diferentes amostras – Teste 4.	52
Figura 17: Valores acumulados de número de neonatos produzidos em 30 dias nas diferentes amostras.	57
Figura 18: Valores acumulados de número de neonatos produzidos, durante o último teste, nas diferentes amostras.	61

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1. Bioindicadores	13
2.2. Ecotoxicidade	14
2.3. Efluente de refinaria de petróleo	17
2.4. Organismo teste: <i>Ceriodaphnia dubia</i>	20
2.5. Dinâmica Populacional	23
3. OBJETIVO	24
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1. Material	25
4.1.1. Amostras	25
4.1.2. Operacionalização	27
4.2. Métodos	28
4.2.1. Organismo-teste	28
4.2.2. Montagem do experimento	29
4.2.3. Dinâmica Populacional	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1. Teste 1: 05/08/08 a 16/09/08	33
5.1.1. Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional	34
5.2. Teste 2: 14/10/2008 a 12/11/2008	40
5.2.1. Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional	42
5.3. Teste 3: 09/10/09 – 08/11/09	46
5.3.1. Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional	47
5.4. Teste 4: 06/02/2010 a 07/03/2010	51
5.4.1. Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional	53
5.5. Teste 5: 29/04/10 a 28/05/2010	56
5.5.1. Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional	58
5.6. Teste 6: 24/07/2010 a 23/08/2010	60
5.6.1. Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional	62
6. CONCLUSÕES	65
7. RECOMENDAÇÕES	65
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

1. INTRODUÇÃO

O progresso tecnológico observado nas últimas décadas é marcado pela grande demanda por recursos, em especial os hídricos, além de trazer consigo uma infinidade de novas substâncias agressoras ao meio ambiente.

A disponibilidade de água doce no Brasil tem-se reduzido ao longo do tempo, pelo aumento da população, por seus usos múltiplos e pela perda de mecanismos de retenção mediante remoção de áreas alagadas, desmatamento e a eutrofização de lagos e represas (COLLARES, 2004).

A garantia da disponibilidade de água com qualidade para consumo humano faz com que torne-se crescente o número de estudos voltados para a análise de efluentes, pré e pós-tratamento, de modo que seu lançamento em corpos receptores não provoque alterações significativas nas águas dos rios e nas comunidades biológicas a eles relacionadas.

Nas últimas décadas observa-se crescente preocupação mundial com a qualidade da água, principalmente pelo enfoque ambiental, uma vez que os diversos ambientes (marinhos, estuarinos, lagunares, baías, praias, plataformas continentais, recifes costeiros) abrigam uma infinidade de espécies relevantes ecologicamente e de interesse comercial (ODUM, 1988).

A Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), desde 1974, monitora a qualidade das águas superficiais do estado analisando variáveis físicas, químicas, microbiológicas, hidrobiológicas e a partir de 1992, visando aprimorar esse monitoramento, realiza também ensaios ecotoxicológicos com organismos aquáticos.

A resolução CONAMA 357 de 2005, considera a necessidade de se criar instrumentos para avaliar a evolução da qualidade das águas, dispondo sobre a classificação e as diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes.

Segundo esta Resolução, a classificação dos corpos d'água é dada por seus usos preponderantes, de acordo com seu estado atual e o nível de qualidade que se pretende para o corpo hídrico a fim de atender às necessidades da população local e adequação aos padrões de qualidade ambiental.

Segundo o artigo 4º da mesma, as águas doces de todo Território Nacional são classificadas em: Classe Especial; Classe 1; Classe 2; Classe 3 e Classe 4. Sendo que as três primeiras podem ser destinadas a preservação do equilíbrio natural e proteção da vida aquática, abastecimento para consumo humano.

O artigo 14º inciso primeiro alínea 'a' acrescenta que para rios de Classe 2, assim como os de Classe 1, deverão apresentar como condição de qualidade a não verificação de

efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido.

Optar pela realização de um determinado teste de toxicidade aquática visa corrigir as limitações encontradas nas análises químicas e ambientais, cujas concentrações menores que os limites de detecção dos métodos analíticos, ou difíceis de serem analisadas podem apresentar-se como um perigo potencial para os organismos aquáticos. A abordagem ecotoxicológica associada às análises físico-químicas permite que as indústrias desenvolvam métodos e programas de tratamento de seus efluentes, de modo a diminuir ou eliminar os efeitos tóxicos os quais as comunidades aquáticas dos corpos receptores estão submetidas (MESSIAS, 2008).

Hartmann (2004) salienta para o fato de que a associação dos monitoramentos químico e biológico, permite uma melhor avaliação das causas dos efeitos tóxicos nos organismos, mediante identificação de substâncias que podem estar influenciado na toxicidade da amostra.

Por esse motivo o presente estudo analisou o potencial do efluente tratado de refinaria de petróleo, isoladamente e quando disposto em corpos d'água, em provocar efeitos adversos, em longo prazo, em organismos aquáticos, no caso, o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*, a fim de, juntamente com as análises físico-químicas, auxiliar o monitoramento da qualidade dos rios adjacentes à refinaria de petróleo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Bioindicadores

Segundo Callisto e Gonçalves (2002), os bioindicadores são espécies, grupos de espécies ou comunidades biológicas cuja presença, quantidade e distribuição indicam a magnitude dos impactos ambientais em um ecossistema aquático e sua bacia de drenagem. Sua utilização permite a avaliação integrada dos efeitos ecológicos causados por múltiplas fontes de poluição, além de se mostrar mais eficiente do que as medidas instantâneas de parâmetros físicos e químicos (como temperatura, pH e oxigênio dissolvido). São também importantes ferramentas para a avaliação da integridade ecológica (condição de saúde de um rio avaliada a partir da comparação da qualidade da água e diversidade de organismos entre áreas impactadas e áreas de referência, ainda naturais e a montante) (CALLISTO, 2004).

Para Watanabe (2007) apresentam-se como monitores contínuos do hábitat em que vivem, e possibilitam analisar os efeitos de descargas regulares, intermitentes e difusas, de concentrações variáveis de poluentes, de poluição simples ou múltipla e de efeitos sinérgicos e antagônicos de contaminantes.

A utilização de bioindicadores é extremamente útil, especialmente para a avaliação de impactos ambientais decorrentes de descargas pontuais de esgotos domésticos e efluentes industriais. Monitorando-se estações de amostragem a montante, no local de lançamento e a jusante da fonte poluidora, pode-se identificar as conseqüências ambientais para a qualidade da água e saúde do ecossistema aquático (CALLISTO, 2004).

Na prática, o princípio básico do monitoramento biológico ou biomonitoramento é a comparação entre uma área controle não impactada – o chamado “ponto referência” - e um local onde se quer testar a condição ambiental. Assim sendo, no caso de um projeto para se avaliar a qualidade da água de uma bacia hidrográfica, são selecionados rios com um mínimo de interferência humana e rios supostamente impactados por atividades humanas (casas, indústrias, áreas agrícolas). Os rios que serão comparados deverão ser de mesma ordem e de altitude similares, para que se minimizem as variações naturais (tamanho do rio, umidade e temperatura do meio). A fim de melhorar a detecção do nível de impacto e a capacidade de auto recuperação dos rios, os pontos de coleta deverão ser selecionados em três faixas específicas: acima do local supostamente impactado (pontos a montante), pontos de coleta no próprio local de impacto e pontos de coleta abaixo do local de impacto (pontos a jusante) (SILVEIRA, 2004).

2.2. Ecotoxicidade

Muitos seres vivos, se não todos, podem acumular no organismo, em diferentes graus, qualquer substância não-biodegradável. Isso resulta em um processo de transferência e ampliação biológica do contaminante no ecossistema (RAMADE, 1987).

Os efeitos dos poluentes sobre a biocenose centram-se em rupturas de relações interespecíficas, especialmente interações predador-presa. Qualquer fonte de poluição que afete a biomassa e a produtividade de um dos níveis tróficos conduzirá necessariamente a desequilíbrios, por vezes catastróficos, dentro da população de níveis mais altos (BOUDOU & RIBEYRE, 1989).

A ecotoxicologia foi definida pela primeira vez por Truhaut em 1969, como sendo “o ramo da Toxicologia que abrange o estudo dos efeitos tóxicos causados por poluentes naturais ou sintéticos, aos componentes bióticos dos ecossistemas, sejam animais (incluindo o homem), vegetais ou microrganismos, num contexto integral”. Os estudos de toxicologia aquática se desenvolveram nos EUA e na Europa há mais de 100 anos, a partir de duas disciplinas, a Biologia da Poluição da Água e a Limnologia. Assim, os estudos ecotoxicológicos são instrumentos fundamentais para monitorar e prevenir os crescentes níveis de poluição, constituindo uma base de apoio essencial a uma política correta de gestão de recursos ambientais (MASSARO, 2006, p. 4).

Segundo Ramade (1987) a ecotoxicologia pode ser definida como a ciência cujo objeto é o estudo das formas como os poluentes são dispersos na biosfera e as diferentes maneiras como os ecossistemas são contaminados e cujo objetivo é estudar os diversos problemas relacionados a tóxicos, em um nível analítico, bem como sobre sua fisiologia e dosagens bioquímicas. Sua função mais específica refere-se ao estudo das formas como os agentes poluidores causam perturbações nas populações e comunidades, não apenas uma questão de detecção de vestígios de uma determinada substância contaminante num determinado ambiente.

De acordo com Rand (1995), por ser um estudo complexo, envolvendo diversos fatores e por ser uma ferramenta para auxiliar na previsão de impactos futuros nos ecossistemas quando da comercialização de produtos químicos e/ou lançamentos de despejos, o estudo da ecotoxicologia, deve ter pessoal capacitado para agregar conceitos de Ecologia, Biologia, Química, Bioquímica, Fisiologia, Estatística, Limnologia, dentre outros.

A ecotoxicidade pode não ser resultado da ação de apenas uma substância isolada, mas da interação e magnitude de vários agentes presentes no meio e, por isso, é de grande importância que se tenha o conhecimento das fontes de emissão dos poluentes, bem como de suas transformações, difusões e destinos no ambiente (BERTOLETTI & ZAGATTO, 2006).

As propriedades inerentes dos agentes químicos, tais como transformação no ambiente, potencialidade de bioacumulação, persistência e concentração ambiental ou dose administrada, assim como os processos metabólicos dos organismos (absorção, distribuição, excreção e mecanismos de destoxificação), determinam o efeito específico num determinado alvo (órgão, indivíduo, população, comunidade). Os efeitos adversos dos poluentes sobre os organismos vivos podem ser quantificados por uma variedade de critérios, como número de organismos mortos ou vivos, taxa de reprodução, comprimento e massa corpórea, número de anomalias ou incidência de tumores, alterações fisiológicas e, mesmo a densidade e diversidade de espécies numa determinada comunidade (BERTOLETTI & ZAGATTO, 2006).

Os testes de toxicidade iniciaram-se a partir do momento em que a saúde da vida aquática sob influência de descartes de efluentes, domésticos ou industriais, começou a ser vista como fator limitante no controle de lançamentos de despejos em corpos d'água. Primeiramente, os testes de toxicidade surgiram como uma postura reativa que se limitava ao levantamento de dados de toxicidade e à avaliação de impactos ambientais provocados por resíduos líquidos. Ao longo do tempo, essa postura passou a assumir também um caráter preventivo quando as fontes poluidoras detectadas eram monitoradas após procedimentos de controle. Mais recentemente, a partir da década de 1980, os testes de toxicidade vêm sendo mais preventivos e de relevância nos estudos de avaliação de riscos e nos delineamentos de processos industriais de tratamento de efluentes. A tendência futura é o seu uso se tornar cada vez mais necessário e freqüente nos “designs” de processos de tratamento (CHAPMAN, 1989; apud BRITO, 1996).

O uso dos testes ecotoxicológicos integra os conceitos da Ecologia, no que diz respeito à diversidade e representatividade dos organismos e seu significado ecológico nos ecossistemas, e da Toxicologia, em relação aos efeitos adversos dos poluentes sobre as comunidades biológicas (PLLA, Apud. BERTOLETTI & ZAGATTO, 2006).

Segundo Hartmann (2004), análises ecotoxicológicas são utilizadas no monitoramento de efluentes industriais a fim de minimizar os impactos ambientais, avaliar a eficiência das estações de tratamento e a obtenção de licenças ambientais.

Como uma vertente da ecotoxicologia, o estudo da toxicologia aquática analisa quantitativa e qualitativamente o efeito adverso ou tóxico de substâncias químicas em organismos aquáticos. Os efeitos tóxicos compreendem efeitos letais e sub-letais, tais como mudanças nas taxas de crescimento e reprodução. Os efeitos podem ser expressos por critérios quantificáveis, tais como o número de organismos mortos e número filhotes (RAND, 1985).

A avaliação dos efeitos sobre os componentes biológicos, por meio de biomonitoramento e testes de toxicidade, representa uma forma mais efetiva para prever ou detectar impactos diversos, pois enquanto as análises químicas identificam e quantificam alguns dos poluentes presentes, os bioensaios avaliam o efeito global destes sobre os sistemas bióticos, medindo a capacidade que os compostos químicos têm de interferir na vias bioquímicas e celulares, causando-lhes efeitos adversos (COSTA & ESPÍNDOLA, 2000).

Os bioensaios são utilizados para se buscar a proteção dos organismos no ecossistema, determinar a toxicidade de agentes químicos, a presença de efluentes líquidos e lixiviados de resíduos sólidos, estabelecer critérios e padrões de qualidade das águas, limites para o lançamento de efluentes líquidos em corpos hídricos, verificar a eficiência do tratamento de efluentes líquidos, analisar a sensibilidade dos organismos aquáticos e os impactos resultantes de acidentes ambientais (ARENZON, 2004).

Ramade (1987) aponta para o fato de que os organismos vivos podem demonstrar diferentes reações fisiológicas para a mesma substância tóxica, dependendo da quantidade e do tempo de exposição, como descritos abaixo:

Toxicidade aguda: reação mais drástica provocada pelo tóxico;

Efeitos sub-letais de toxicidade: estes diferem da forma aguda na condição em que uma parte significativa da população pode sobreviver à exposição à substância tóxica, embora cada indivíduo apresente uma reação clínica decorrente de sua absorção;

Toxicidade a longo tempo (crônica): visa principalmente verificar os efeitos tóxicos não produzidos pela absorção de altas doses de tóxico durante um curto período, mas a exposição a concentrações muito baixas, por vezes mesmo em micro doses dos poluentes, cujos efeitos contínuos resultam em perturbações muito mais perigosas.

Os ensaios de toxicidade podem ser utilizados para diversos fins como:

- Determinar a toxicidade de agentes químicos, efluentes líquidos, lixiviados de resíduos sólidos, dentre outros;
- Estabelecer critérios e padrões de qualidade da água;
- Estabelecer limites máximos de lançamento de efluentes líquidos quanto às exigências de controle ambiental;
- Avaliar a necessidade de tratamento de efluentes líquidos quanto às exigências de controle ambiental;
- Avaliar a qualidade da água;
- Avaliar a toxicidade relativa de diferentes substâncias;
- Avaliar a sensibilidade relativa de organismos aquáticos;
- Subsidiar programas de monitoramento ambiental;

-Estimar os impactos provocados em acidentes ambientais (RAND & PETROCELLI, 1980; apud. BERTOLETTI, 2006).

O uso de invertebrados aquáticos (microcrustáceos e rotíferos), vegetais (algas), bactérias e peixes como bioindicadores e de parâmetros físico químicos como Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Oxigênio dissolvido (OD), Carbono Orgânico Total (COT), pH e condutividade, são importantes para o monitoramento da qualidade e toxicidade de efluentes gerados pelas indústrias, para o estabelecimento de um critério de qualidade que determine concentrações permissíveis de poluentes na água e para determinar a eficiência dos tratamentos empregados pelas indústrias (BAPTISTA; ESPÍNDOLA, 2000).

2.3.Efluente de refinaria de petróleo

As fontes de poluição podem ser classificadas de várias maneiras, dependendo dos critérios considerados: origem (por exemplo, doméstica, agrícola, industrial, mineração), componentes principais (por exemplo, orgânicos, metálicos, de solução salina aquecida), propriedades e seus efeitos (por exemplo, putrescíveis, tóxicos, inertes, coloidais) (BOUDOU & RIBEYRE, 1989).

Ramade (1979) considera como principais fontes de poluição dos ecossistemas a produção de energia, as atividades da indústria química e a atividade agrícola.

No ramo da indústria química, a indústria do petróleo é muito importante e possui grande valor estratégico.

O parque de refino nacional está, no momento, sendo ampliado significativamente por conta das recentes descobertas de petróleo no Brasil, por adequação da matriz energética, pela modernização dos processos para garantir a competitividade no mercado globalizado, e atendimento a requisitos ambientais (COLLARES, 2004, p. 25). Porém, segundo esse mesmo autor, esta ampliação requer a manutenção dos atuais níveis de alocação dos recursos hídricos e a busca de alternativas junto aos órgãos licenciadores para o aumento gradativo da outorga concedida.

Refinarias de petróleo consistem de uma complexa combinação de processos e operações interdependentes. No mundo não existe duas refinarias que tenham o mesmo tamanho, características de óleo cru refinado, tipos e seqüências nos modos de operação, idade, eficiência no emprego de água e dos equipamentos de controle dos despejos. Conseqüentemente, uma grande variedade de poluentes são encontrados no efluente final em função tanto do tipo de óleo empregado como nos processos de refino envolvidos na indústria (BRITO, 1996).

A etapa de refino é o centro de importância da indústria petroquímica, pois é onde ocorre a separação dos diversos componentes do petróleo e retirada das impurezas para agregar valor comercial.

A importância do refino dentro de toda a cadeia produtiva do petróleo não se resume apenas ao ponto de vista estratégico, mas também do ponto de vista ambiental, sendo que as refinarias são consideradas grandes geradoras de poluição. O processo de refino do petróleo consome grandes quantidades de água (seja no processo ou na refrigeração) e de energia, produzem grandes quantidades de despejos líquidos, liberam diversos gases nocivos na atmosfera e produzem resíduos sólidos de difícil tratamento e disposição.

O volume de água bruta utilizado no processo de refino de petróleo varia muito de refinaria para refinaria, pois depende de vários fatores como: a qualidade da água bruta captada; tecnologias utilizadas na Estação de Tratamento de Águas (ETA); esquema de refino; tecnologia empregada nas unidades de processo; eficiência energética, que impacta o sistema de resfriamento; tecnologia de resfriamento utilizada; esquema termoelétrico, incluindo se a unidade compra ou fornece energia elétrica a terceiros e do grau de reuso de água (AMORIM, 2005, p. 119).

De um modo geral, a quantidade de efluentes líquidos é relativamente proporcional às quantidades de óleo refinado e no caso do Brasil, as onze refinarias do sistema Petrobras geram de 0,40 a 1,60 m³ de efluente por m³ de óleo refinado (MARIANO, 2001).

Em função desses fatores, a indústria de refino de petróleo, na maioria das vezes, é considerada grande degradadora do meio ambiente, pois tem potencial para afetá-lo em todos os níveis: ar, água, solo e, conseqüentemente, todos os seres vivos.

Normalmente, o tipo e a quantidade das emissões ao meio ambiente são bem conhecidos. Os principais contaminantes gerados são os óxidos de carbono, partículas (procedentes de todos os processos de combustão), compostos orgânicos voláteis, hidrocarbonetos, sulfetos, amoníaco e alguns metais.

Mariano (2001) em seu estudo sobre os impactos ambientais gerados por uma refinaria de petróleo descreve quatro tipos de efluentes produzidos: águas contaminadas coletadas a céu aberto, águas de refrigeração, águas de processo, e efluentes sanitários.

As águas contaminadas coletadas a céu aberto são intermitentes e podem conter os constituintes dos eventuais derramamentos para as superfícies, dos vazamentos dos equipamentos, além de quaisquer materiais que possam ser coletados pelos drenos e canaletas desse sistema de drenagem, podendo incluir também as águas coletadas nas canaletas dos tanques de estocagem tanto do óleo cru quanto dos derivados, assim como as águas pluviais das áreas de produção.

A água de refrigeração não entra em contato direto com as correntes de óleo, e portanto, contém menos contaminantes do que a água de processo, freqüentemente apresentando aditivos químicos como cromatos, fosfatos e biocidas, utilizados na prevenção da corrosão e contaminação nos equipamentos. A maior parte da água de refrigeração pode ser reutilizada ou então enviada para uma unidade de tratamento de efluentes, a fim de que se controle a concentração de contaminantes e o teor de sólidos.

A água usada no processamento, como na etapa de dessalinização do óleo cru, contribui significativamente para a geração de efluente e freqüentemente entra em contato direto com o óleo das correntes de processo, sendo, por esse motivo, normalmente muito contaminada (MARIANO, 2001).

As principais análises realizadas sobre o efluente de uma refinaria são: pH, sólidos dissolvidos, sólidos suspensos, carbono orgânico total, nitrogênio total, fósforo total, DBO, DQO, H₂S, NH₃, óleo, compostos aromáticos como Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos (BTEX), fenol, sais, mercaptans, cianetos, fluoreto, Metil Terc Butil Éter (MTBE), Hidrocarbonetos Poliaromáticos (HPA's), metais pesados, temperatura, condutividade e toxicidade (COLLARES, 2004).

O tratamento desses efluentes geralmente é feito por processo primário – físico/químico, seguido de tratamento secundário biológico, para assim ser descartado em corpos d'água ou destinados a estações de tratamento público de efluentes urbanos.

Segundo Takeshita (2003), o tratamento dos efluentes da indústria petroquímica deve ser realizado para que se possa remover as substâncias poluentes, levando-se em consideração os limites de concentração fixados pela legislação para compostos como óleo, fenóis, sulfetos e amônia, e parâmetros como temperatura, DBO e acidez.

Sarathy (2002), analisando o tratamento biológico de efluente de refinaria de petróleo, verificou a relação entre a remoção das demandas química e bioquímica de oxigênio e a remoção da toxicidade aguda. Isso mostra a importância em se analisar esses parâmetros conjuntamente a fim de buscar atingir eficiência nos tratamentos de efluentes.

Angelis (2008) apresenta análises de toxicidade aguda do efluente bruto e tratado de refinaria de petróleo, para *Daphnia similis*, e análises físico-químicas como DBO e DQO, onde verifica-se claramente a relação: enquanto o efluente bruto apresenta toxicidade para o microcrustáceo, após tratamento a toxicidade é removida.

A refinaria fonte das amostras de efluente tratado utilizadas neste estudo, segundo Amorim (2005), capta água do rio Jaguarí em volume de 1870 m³/h (3600 m³/h em caso de incêndio) a regime contínuo de 24 h/dia, 365 dias/ano, e lança seus efluentes após tratamento

a vazão de 600 m³/h, no rio Atibaia. O mesmo autor explica que a Estação de Tratamento de Efluentes Industriais possui três fases distintas:

- Tratamento preliminar para a remoção de sólidos por gradeamento e caixa de areia;
- Tratamento físico-químico primário composto de Rolo Coletor de Óleo (skimmer), separador do tipo API (American Petroleum Institute) e flotação a ar dissolvido, para a remoção de óleo, e
- Tratamento secundário, composto de tratamento biológico por lodo ativado para remoção de carga orgânica.

As condições para o lançamento de efluentes no Estado de São Paulo seguem o prescrito na resolução CONAMA 357/2005, capítulo IV “Das Condições e Padrões de Lançamento de Efluentes”, que dentre outros pontos, cita que os efluentes não poderão “causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente”.

2.4. Organismo teste: *Ceriodaphnia dubia*

O desenvolvimento de técnicas de cultivo e manutenção de organismos aquáticos em laboratório tem contribuído para estudos ecológicos, fornecendo informações importantes sobre os processos fisiológicos, o crescimento, o comportamento e as interações de competição e predação entre os indivíduos, sob condições controladas, contribuindo para a solução de problemas ecológicos complexos encontrados nos ambientes naturais, como fluxo energético nas cadeias alimentares. Em condições experimentais de laboratório, pode-se controlar as variáveis ambientais e biológicas que limitam o crescimento desses organismos, possibilitando-lhes atingir taxas de crescimento e reprodução que dificilmente alcançariam na natureza (MELÃO, 1999).

Os testes utilizando microcrustáceos bentônicos são amplamente utilizados no monitoramento da qualidade das águas e avaliação da toxicidade de efluentes (NETO, 2009; VIEIRA, 2004; HARTMANN, 2004; MESSIAS, 2008; OLIVEIRA-FILHO et al., 2008; ROSA, 2008) pela facilidade de cultivo e por ser elo importante nas cadeias alimentares aquáticas.

Segundo Bertoletti & Zagatto (2006), a seleção de espécies para utilização em testes de toxicidade deve levar em conta critérios como a sensibilidade a diversos agentes químicos, a facilidade de cultivo em laboratório, a ampla distribuição geográfica, a uniformidade das gerações, espécies de pequeno porte e com ciclos de vida não muito longos, e a existência de

técnicas disponíveis para cultivo. Nesse contexto, os cladóceros, como *Ceriodaphnia spp.*, mostram-se ideais para os estudos ecotoxicológicos em laboratório.

Ceriodaphnia dubia, também conhecida como “pulga d’água”, é um microcrustáceo bentônico de água doce, da ordem Cladocera família Daphniidae, e chega a medir de 0,8 mm a 0,9 mm de comprimento. É um organismo extremamente sensível a alterações ambientais, facilmente cultivado em laboratório, de ciclo de vida curto, e com homogeneidade das gerações subsequentes, sendo por isso, amplamente utilizado em testes de toxicidade aguda e crônica de produtos químicos e efluentes (Environmental Protection Series - EPS, 2007).

Os indivíduos dessa espécie alimentam-se de microalgas e representam importante papel na cadeia alimentar dos ecossistemas aquáticos, servindo de alimento para peixes e outros vertebrados (CETESB, 1991). Segundo Ruppert et al. (2005) são representantes ecologicamente importantes das comunidades bentônicas e planctônicas de lagos.

Possuem dois pares de apêndices sensoriais: a primeira antena, ou antênula, com pêlos sensitivos, e a segunda antena, que é o principal órgão de locomoção, que se dá por meio de “saltos”. Como em todo cladóceros, o ciclo de vida de *Ceriodaphnia dubia* consiste em fases alternadas de partenogênese. Neste tipo de reprodução, a população é homogênea, ou seja, composta apenas por fêmeas. O desenvolvimento direto, ou seja, aquele em que os indivíduos jovens são semelhantes aos adultos, ocorre em um câmara incubadora dorsal. Quando o jovem deixa a câmara, a fêmea sofre ecdise, ou troca de carapaça, e uma nova desova é liberada na nova câmara incubadora (RUPPERT et al., 2005).

Cada fêmea produz 3 a 4 crias partenogenéticas por semana e os filhotes são denominados neonatos. A presença de indivíduos machos na cultura ocorre no caso de condições desfavoráveis como falta de alimento, super população ou grande diferença de temperatura (CETESB, 1991). Com o surgimento de machos, ocorre a reprodução sexuada, originando um ovo de resistência chamado efípio. Os efípios flutuam, afundam ou aderem a objetos, podendo suportar o ressecamento e o congelamento. Conseqüentemente, filhotes eclodem rapidamente quando encontram as condições ideais, dando origem a uma fêmea que reinicia o ciclo partenogenético. Por meio destes ovos ocorre a dispersão e a perpetuação dessas espécies (CESAR, 1997, p. 23).

A Figura 1 mostra um esquema de uma fêmea de *Ceriodaphnia dubia*.

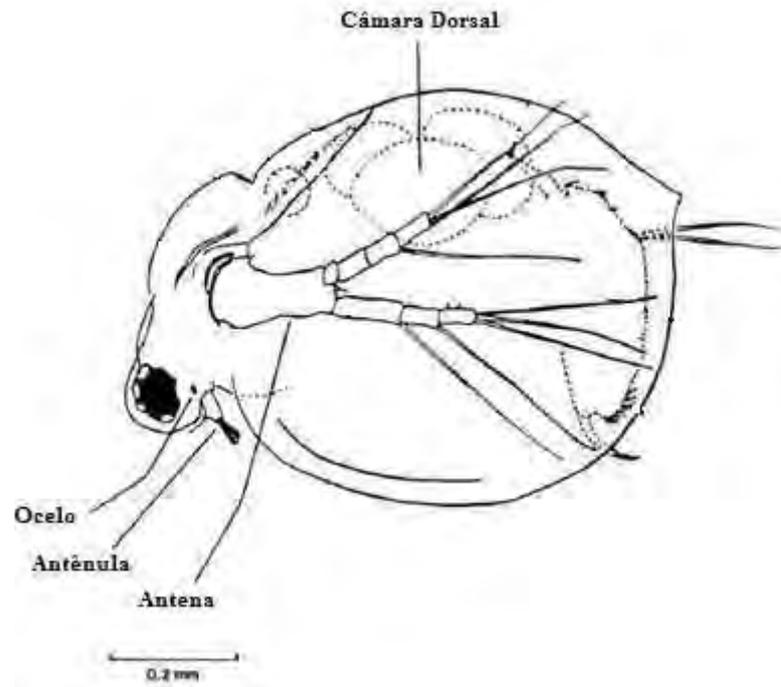


Figura 1: Anatomia da fêmea de *Ceriodaphnia dubia* (Berner, 1986; apud EPS, 2007).

A Figura 2 mostra a fotografia de uma *C. dubia* recém nascida (neonato) observada em microscópio óptico com aumento de 40 vezes; a Figura 3, a troca de carapaça de um neonato e a Figura 4, uma fêmea em idade fértil, apta à reprodução.



Figura 2: Foto neonato *Ceriodaphnia dubia* – aumento de 40x.



Figura 3: Ecdise de neonato de *Ceriodaphnia dubia* – aumento de 40x.



Figura 4: Matriz de *Ceriodaphnia dubia* – aumento de 40x.

2.5. Dinâmica Populacional

O termo Dinâmica de populações aplica-se ao estudo das variações do número de indivíduos de uma população, bem como os fatores que influenciam essas variações. Inclui também, a investigação das taxas em que se verificam as perdas e reposições de indivíduos e de qualquer processo regulador que tenda a manter o tamanho da população em equilíbrio, ou que pelo menos evite uma variação excessiva (SOLOMON, 1980).

O crescimento populacional de determinada espécie é dado fundamentalmente, pela sua capacidade reprodutiva. Seu estudo baseia-se em alguns princípios básicos, como a taxa de crescimento populacional, dada pela mudança do número de indivíduos durante determinado período de tempo, e a taxa per-capta de crescimento populacional, entendida como a razão entre a taxa de crescimento populacional num determinado tempo, e o número de indivíduos da população nesse tempo (WIECZOREK, 2003).

Os estudos da dinâmica populacional apóiam-se basicamente na verificação da mortalidade e da reprodução de organismos no ambiente o qual se deseja analisar, sabendo-se sobre o padrão de seu comportamento em condições ambientais ideais.

A Dinâmica de populações trata, por exemplo, das influências ambientais sobre as populações, assim como, os efeitos da temperatura e da umidade, da quantidade do

suprimento alimentar, de outras espécies de organismos que competem pelo alimento ou em virtude de outras necessidades, dos inimigos naturais, de microrganismos patogênicos e das várias combinações desses fatores (SOLOMON, 1980).

Os contaminantes influenciam o tamanho e a dinâmica das populações, podendo provocar uma diminuição ou um aumento na flutuação natural dos valores da biomassa e na variabilidade de sexos, por exemplo. O efeito de substâncias tóxicas sobre as funções reprodutoras é particularmente preocupante, já que esta tem conseqüências para o futuro da população (BOUDOU & RIBEYRE, 1989).

Neste sentido, o estudo que será apresentado a seguir analisa o efeito do efluente tratado de uma refinaria sobre a dinâmica populacional de *Ceriodaphnia dubia* a fim de subsidiar o monitoramento da qualidade das águas do Rio Atibaia, corpo receptor deste efluente.

3. OBJETIVO

Analisar a influência do efluente tratado de refinaria de petróleo quando lançado em corpos d'água a partir de sua interação com comunidades bentônicas, aqui representadas pelo cladocera *Ceriodaphnia dubia*.

Apresentar, por meio de teste, como os efluentes podem não apresentar toxicidade aguda e crônica sobre organismos aquáticos, porém podem provocar, a longo prazo, alterações no ciclo reprodutivo dos mesmos.

A fim de atingir esses objetivos, será avaliada a Dinâmica Populacional do microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* observando-se os ciclos reprodutivos, e o número de neonatos produzidos, durante intervalo de 30 dias, em diferentes períodos de coleta em amostras do efluente tratado de refinaria de petróleo e nas águas dos rios próximos à Refinaria utilizados para abastecimento das instalações e despejo do efluente tratado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Amostras

As amostras foram coletadas no município de Paulínia e transportadas até o Departamento de Bioquímica e Microbiologia-IB-UNESP-Rio Claro, nas devidas condições de conservação para preservar suas características, em galões de 20 L.

Os pontos de amostragem tiveram sua localização nas proximidades de uma refinaria de petróleo em Paulínia conforme apresentado na Tabela 1 e Figuras 5 a 9.

Tabela 1: Pontos de coleta das amostras.

PONTOS DE AMOSTRAGEM			
Ponto	Local	Latitude (S)	Longitude (W)
Ponto 1	Rio Jaguari	22°41'48"	47°08'59"
Ponto 2	Saída da Lagoa de Estabilização	22°44'22"	47°07'03"
Ponto 3	Montante da Descarga do Efluente da refinaria	22°41'28"	47°07'22"
Ponto 4	Jusante da Descarga do Efluente da refinaria - 500m	22°44'22,3"	47°07'40,8"

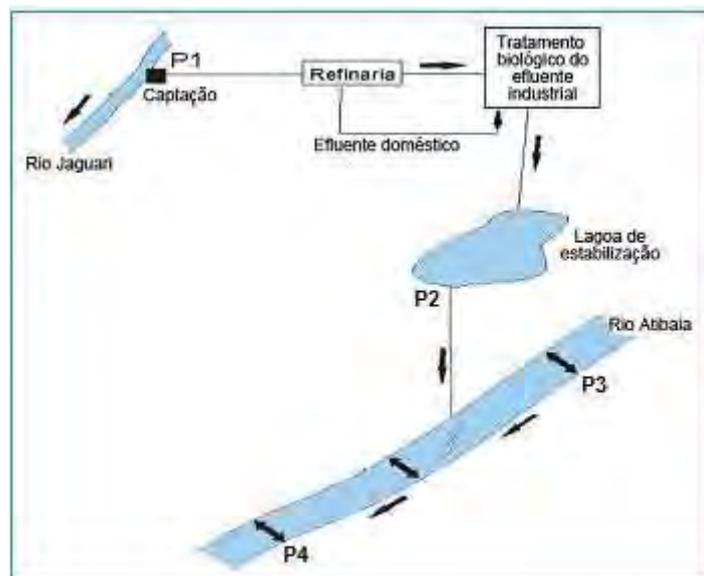


Figura 5: Esquema da localização dos pontos de amostragem.



Figura 6: Rio Jaguari, próximo ao ponto de captação de água pela refinaria (Ponto 1).



Figura 7: Saída do efluente da lagoa de estabilização (Ponto 2).



Figura 8: Rio Atibaia, montante da entrada do efluente industrial tratado (Ponto 3).



Figura 9: Jusante da entrada do efluente tratado (Ponto 4).

As coletas foram realizadas em diferentes épocas do ano, no período compreendido entre os anos de 2008 e 2010 (Tabela 2).

Tabela 2: Cronograma das coletas das amostras de água nos pontos 1, 2, 3 e 4.

Cronograma de coleta das amostras		
Data da coleta	Estação do ano	Teste
30/07/2008	Inverno	1
13/08/2008	Inverno	1
28/08/2008	Inverno	1
10/09/2008	Inverno	1
22/09/2008	Inverno	2
15/10/2008	Primavera	2
28/10/2008	Primavera	2
07/10/2009	Primavera	3
21/10/2009	Primavera	3
04/11/2009	Primavera	3
04/02/2010	Verão	4
24/02/2010	Verão	4
26/04/2010	Outono	5
12/05/2010	Outono	5
26/05/2010	Outono	5
21/07/2010	Inverno	6
02/08/2010	Inverno	6

Também foram utilizadas análises complementares: pH, quantidade de microalgas, presença de ciliados e flagelados, sólidos suspensos e dissolvidos, condutividade, turbidez, cloretos e amônia, apresentados por Angelis (2008; 2009), a fim de verificar uma possível relação entre estes parâmetros e a dinâmica populacional de *Ceriodaphnia dubia* observada nas amostras dos diferentes pontos de coleta.

4.1.2. Operacionalização

Os testes foram realizados junto ao Departamento de Bioquímica e Microbiologia do Instituto de Biociências da Unesp – Campus de Rio Claro, que disponibilizou todo aparato laboratorial, o suporte técnico necessário a realização deste trabalho.

4.2.Métodos

4.2.1. Organismo-teste

As *Ceriodaphnias*, obtidas a partir de culturas mantidas no Laboratório de Toxicidade do Departamento de Bioquímica e Microbiologia da Unesp de Rio Claro, foram criadas seguindo adaptação às normas técnicas ABNT NBR 13373:2005 e CETESB L5.022, 1991. Foram mantidas em béqueres de 1L com 30 indivíduos cada e alimentadas diariamente com 0,05mL/organismo de suspensão algal de *Pseudokirchneriella subcaptata* na concentração de 3,0 a 3,5 x 10⁷ células/mL, determinada por contagem em câmara de Neubauer.

A suspensão algal foi preparada seguindo metodologia apresentada nas mesmas normas do cultivo do organismo-teste.

Duas vezes por semana foi feita a renovação da água de manutenção. Esta água, coletada quinzenalmente, foi obtida no Rio Ribeirão Claro, no lago de represamento junto à captação da Estação de Tratamento de Água (ETA I) do Departamento Autônomo de Água e Esgoto (DAAE) de Rio Claro.

As características da água coletada neste local garantem maior adaptabilidade dos organismos-teste, pois trata-se de água de um rio de Classe II e que não recebe contaminantes associados à área urbana ou industrial. Além disso, segundo Vijverberg (apud MELÃO,1999) o uso da água obtida do próprio ambiente onde os animais ocorrem é mais adequado para a criação quando deseja-se estimar o desenvolvimento, crescimento e reprodução, sob condições naturais ou semi-naturais.

Entretanto, é freqüente que as águas naturais requeiram correções de pH e dureza para adequar-se às especificações das normas e às condições de sobrevivência do organismo. O pH é ajustado a faixa de 7,2 a 7,6, com adição de ácido clorídrico 1M, e a dureza total acertada na faixa de 40 mg/L a 48 mg/L em CaCO₃, com adição de soluções aquosas de CaSO₄.2H₂O; KCl; NaHCO₃ e MgSO₄.7H₂O .

Após as correções de pH e dureza, a água de manutenção dos microcrustáceos é mantida sob aeração para ser enriquecida em oxigênio até a saturação e adquirir homogeneidade, como pode ser visto na Figura 10.



Figura 10: Frasco de Mariot com água de manutenção (Rio Ribeirão Claro) após ajuste do pH e dureza sob condições de aeração.

Para a realização do teste, os organismos foram coletados dos frascos de criação com auxílio de pipetas Pasteur plásticas e transferidos para um novo béquer de 1 L com a água recém preparada e alimentados com a suspensão de algas.

Os béqueres com os microcrustáceos foram mantidos em incubadora tipo BOD, com temperatura controlada de $20\pm 1^{\circ}\text{C}$, luminosidade de 1000 Lux e fotoperíodo programado para 16 horas claro e 8 horas de escuridão.

A cada três posturas, cerca de 2 a 3 semanas, as matrizes eram renovadas, sendo retirados os filhotes de até 24 horas e transferidos a um novo béquer, dando início a uma nova criação.

4.2.2. Montagem do experimento

Os procedimentos para avaliação da Dinâmica Populacional assemelham-se aos adotados nos testes de Toxicidade Crônica (ABNT NBR 13373:2005 e CETESB L5.022, 1991) com o mesmo organismo, diferenciando-se somente pelo período de duração do teste e esquema de renovação das amostras. O experimento foi iniciado com filhotes de até 24h de vida, que foram separados das matrizes no dia do teste.

Primeiramente, de modo a evitar a mortalidade ou estresse nos organismos, no dia do teste e em todas as renovações de amostras e água de manutenção do cultivo, o ambiente foi ajustado para uma temperatura próxima de 20°C, idêntica àquela em que os animais eram criados.

As amostras para a realização dos ensaios eram armazenadas em câmara fria (a $5^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) até sua utilização nos testes, quando eram filtradas em algodão hidrófilo, uma vez que o material particulado em suspensão poderia comprometer a sobrevivência das *Ceriodaphnias*. Os microcrustáceos podem apresentar comprometimento de seu sistema filtrante. As amostras eram guardadas em recipiente de vidro (Figura 11) até o dia do início do teste, que se dava não nos mesmos dias das coletas iniciais, mas nos dias em que se tinham disponíveis os 50 neonatos de *Ceriodaphnia* necessários para a realização do ensaio.



Figura 11: Armazenamento de amostras de água, após serem filtradas, em frascos vedados e armazenados sob refrigeração.

Antes da transferência dos organismos para as soluções-teste, as mesmas eram analisadas quanto à temperatura, que não deveria superar a diferença de 1°C da temperatura a que eram mantidos os organismos (20°C). Estando adequadas a esse padrão, as amostras eram então colocadas em béqueres numerados de acordo com os pontos de amostragem, até preencher o volume de 30 mL.

Para cada amostra foram realizadas 10 réplicas e como controle utilizou-se a mesma água utilizada para a manutenção dos microcrustáceos, proveniente do Rio Ribeirão Claro.

Individualmente, os neonatos foram transferidos, com o auxílio de pipeta Pasteur plástica, um para cada béquer com a solução-teste acrescentando-se no final 0,05 mL com $3,0$ a $3,5 \times 10^7$ células/mL da suspensão se *Pseudokirchneriella subcaptata*.

O ensaio foi mantido em incubadora tipo BOD com temperatura controlada, $20 \pm 1^\circ\text{C}$, e fotoperíodo de 16 horas de claro (iluminação de 1000 Lux) e 8 horas de escuro, durante 30 dias.

A alimentação ocorria diariamente e a renovação da solução-teste 2 vezes por semana, as terças e sextas-feiras, seguindo mesma metodologia adotada no início do teste, apresentada acima. Quando novas coletas eram realizadas durante o período do teste, as renovações eram feitas com as novas amostras. Para estas amostras, o armazenamento até a data da renovação se deu do mesmo modo que para as amostras iniciais.

A limpeza dos béqueres era feita somente com água da rede pública de abastecimento e água destilada.

4.2.3. Dinâmica Populacional

Cada teste da Dinâmica Populacional foi realizado durante períodos de 30 dias, onde a cada 3 dias observou-se o número de neonatos para cada ponto amostrado e os valores foram anotados em tabela e posteriormente foram elaborados gráficos para as análise comparativas. A mortalidade da matrizes foi verificada em apenas 1 dos testes

O período de 30 dias foi utilizado como referência, uma vez que observou-se o tempo de vida reprodutiva dos organismos, além da mortalidade acentuada das matrizes. Contudo, a duração do teste crônico para algumas espécies de Daphnídeos é de 21 dias, como recomenda a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 1993).

O teste foi mantido em incubadora, como mostra a Figura 12.



Figura 12: Disposição dos béqueres durante a realização do teste, mantidos na incubadora (Câmara de Germinação, modelo 347 - Marconi).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico serão apresentados os resultados dos testes da dinâmica populacional do microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* e sub-tópico com os resultados das análises físico-químicas realizadas pelo corpo técnico do laboratório de microbiologia da Unesp de Rio Claro. Essas análises servirão de base para explicar as respostas dos indivíduos aos diferentes tratamentos.

5.1. Teste 1: 05/08/08 a 16/09/08

No primeiro teste, realizado no período de 05/08/08 a 16/09/08, para avaliar a reprodução e sobrevivência de *C. dubia*, quantificou-se o número de filhotes e o dia do início do ciclo reprodutivo do microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*. A partir do início do ciclo reprodutivo a contagem do número de neonatos produzidos foi realizada a cada 3 dias. Os valores podem ser verificados na Tabela 3. Para uma análise comparativa do crescimento populacional, procedeu-se a somatória do número de filhotes em cada amostra e como resultado obteve-se a Figura 13.

Tabela 3: Valores acumulados do número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* observados durante 30 dias nas amostras de água referentes ao primeiro teste.

Dias	Número de Neonatos				
	Controle Ribeirão Claro	Ponto 1 Rio Jaguari	Ponto 2 Efluente Tratado	Ponto 3 Rio Atibaia Montante	Ponto 4 Rio Atibaia Jusante
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
6	0	12	0	0	9
9	8	87	3	33	96
12	14	105	4	69	120
15	51	144	12	177	191
18	62	235	31	255	265
21	78	287	135	299	306
24	89	304	228	317	320
27	95	315	248	330	333
30	105	327	250	343	362
Total:	105	327	250	343	362

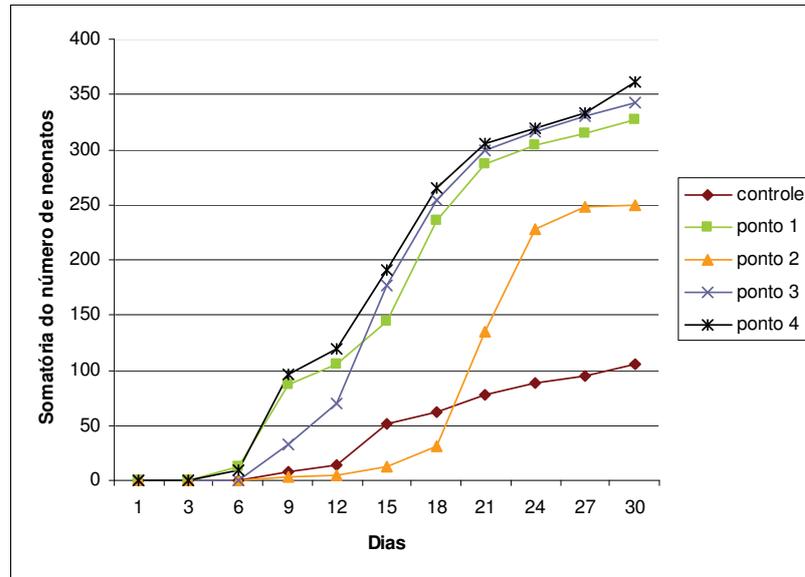


Figura 13: Valores acumulados de número de neonatos de *Ceriodaphnia dubia* produzidos em 30 dias nas diferentes amostras.

Os microcrustáceos submetidos aos 5 tratamentos apresentaram-se com perfis distintos quanto a condição de induzir a reprodução de *C. dubia*.

A partir dos dados apresentados na Tabela 3 e Figura 13, verifica-se um melhor desempenho no ciclo reprodutivo do organismo teste nas águas dos rios Jaguarí e Atibaia e no próprio efluente tratado da refinaria, quando comparado ao observado no controle (água do Rio Ribeirão Claro, reconstituída) segundo a norma ABNT, citada anteriormente, para situar-se como referência. Este resultado pode ser explicado quando se avalia o número de microalgas, ciliados e flagelados. Esta biota, encontrada nas amostras, constitui importante fonte de alimento diversificado para os microcrustáceos (ANGELIS, 2008/09).

Nas amostras do efluente tratado o ciclo reprodutivo teve seu início somente a partir do 9º dia, enquanto que nas outras amostras inicia-se entre o 6º dia, evidenciando o efeito subletal do efluente sobre as comunidades aquáticas, como pode ser visto na Figura 13.

Contudo, o efeito da toxicidade só pode ser verificado após a exposição de *C. dubia* além do tempo previsto pela norma ABNT (7 dias para efeito tóxico crônico).

5.1.1. Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional

Nesta seção são apresentados os resultados das análises físico-químicas e biológicas e sua relação com a dinâmica. Na Tabela 4 estão inseridos esses resultados.

Tabela 4: Análises físico-químicas e biológicas para o efluente tratado, Rio Atibaia e Rio Jaguari, das amostras do Teste 1.

Parâmetro	Data da coleta	PONTOS DE AMOSTRAGEM			
		1-Rio Jaguari	2 - Efluente Tratado	3 -Montante Rio Atibaia	4 – Jusante Rio Atibaia
pH	30/07/2008	7,45	8,37	7,48	7,69
	13/08/2008	7,46	8,24	7,47	7,51
	28/08/2008	7,45	8,47	7,48	7,71
	10/09/2008	7,02	7,67	7,23	7,16
	Média	7,35	8,19	7,42	7,52
Cloretos (mg/L)	30/07/2008	4,92	651,51	14,75	23,60
	13/08/2008	5,90	639,21	9,83	11,80
	28/08/2008	7,87	577,75	7,87	25,57
	10/09/2008	5,90	577,75	18,68	27,53
	Média	6,15	611,56	12,78	22,13
Condutividade ($\mu\delta/cm$)	30/07/2008	104,20	2760,00	397,00	431,00
	13/08/2008	109,30	2450,00	168,10	188,00
	28/08/2008	88,60	2030,00	214,00	252,00
	10/09/2008	110,60	2280,00	317,00	369,00
	Média	103,18	2380,00	274,03	310,00
Sólidos suspensos e dissolvidos (g/L)	30/07/2008	0,217	1,950	0,301	0,257
	13/08/2008	0,231	1,833	0,378	0,199
	28/08/2008	0,249	0,921	0,278	0,288
	10/09/2008	0,273	1,809	0,385	0,300
	Média	0,243	1,628	0,336	0,261
Turbidez (NTU)	30/07/2008	10,80	7,70	6,00	9,10
	13/08/2008	21,60	12,20	42,70	40,90
	28/08/2008	9,20	9,10	11,20	12,70
	10/09/2008	10,30	5,20	8,80	8,90
	Média	12,98	8,55	17,18	17,90
Microalgas ($n^{\circ}/mL \times 10^4$)	30/07/2008	5,00	8,50	1,00	2,00
	13/08/2008	3,00	7,00	2,50	3,00
	28/08/2008	2,50	1,00	18,00	3,00
	10/09/2008	1,50	4,50	0,50	1,00
	Média	3,00	5,25	5,5	2,25
Ciliados e flagelados ($n^{\circ}/mL \times 10^4$)	30/07/2008	<1,0	1,0	<0,5	<1,0
	13/08/2008	<1,0	0,5	<0,5	<1,0
	28/08/2008	1,0	1,0	<0,5	<1,0
	10/09/2008	0,1	0,1	0,1	0,1
	Média	<1,00	0,65	<0,50	<0,10
Amônia (mg de NH_3/L)	30/07/2008	1,88	1,01	3,59	3,53
	13/08/2008	1,16	0,84	0,94	0,92
	28/08/2008	2,05	0,78	4,12	3,93
	10/09/2008	1,66	0,62	3,55	2,25
	Média	1,69	0,81	3,05	2,66

Fonte: adaptado de ANGELIS, 2008.

pH

Pode-se inferir, a partir destes dados, que o efluente tratado, embora com características levemente alcalinas (média de 8,19), não altera significativamente o pH da água do Rio Atibaia que mantém a média de 7,41 para 7,52 a jusante na área de completa mistura (Ponto 4). Nesta condição, a água apresenta-se como fator limitante para a reprodução do microcrustáceo, como pode ser visto na Tabela 3, o total de neonatos produzidos nas amostras do Ponto 2, e Figura 13.

Os valores elevados de pH e condutividade explicam a discrepância na dinâmica populacional observada no Ponto 2.

Segundo Von Sperling (2005), a variação do pH influencia o equilíbrio de compostos químicos. A alteração do equilíbrio químico favorece a interação entre os diversos compostos existentes nas amostras, que também podem ter apresentado quebra em seu equilíbrio, gerando novos compostos, por vezes tóxicos aos organismos aquáticos.

Cloretos

Os cloretos merecem atenção em função da dificuldade de sua remoção nos sistemas de tratamento de efluentes. Também, este composto quando presente na água, representa, na maioria das vezes, o uso antrópico da mesma.

Segundo Angelis (2003) apud Wieczorek (2003) a quantidade de cloretos é provavelmente o que mais influencia os altos valores de condutividade, o que induz o caráter alcalino ao efluente, demonstrado também nos valores de alcalinidade de carbonato e bicarbonato elevados.

De acordo com a CETESB, este parâmetro influencia nas características dos ecossistemas aquáticos naturais, pois pode provocar alterações na pressão osmótica de células de microrganismos.

Este pode ter sido um dos fatores pelo quais os indivíduos de *Ceriodaphnia* submetidos ao tratamento com o efluente tratado, tiveram sua curva de crescimento diferente dos demais tratamentos, embora o número de neonatos produzidos tenha se mostrado acima da quantidade observada no controle. O primeiro contato dos indivíduos jovens com o efluente tratado, com quantidades de cloretos muito acima das encontradas no controle, fez com que houvesse atraso no desenvolvimento dos mesmos em função do tempo decorrido até a sua adaptação às novas condições. A presença de cloretos parece ser o fator pelo qual o ciclo partenogenético tenha se iniciado somente após o 9º dia.

A partir dos valores de cloretos das amostras (Tabela 4), verificou-se a contribuição deste parâmetro para as águas do rio Atibaia. Contudo, este parâmetro enquadram-se na Portaria SMA 518, sendo que os valores apresentados estão dentro dos padrões aceitáveis de potabilidade (valor máximo permitido 250 mg/L).

De acordo com o Decreto Estadual 10.755 / 77, que define o enquadramento das águas superficiais do Estado de São Paulo, os rios Atibaia e Jaguari enquadram-se em rios de Classe 2. Para essa classe de enquadramento, a resolução CONAMA 357/2005 estabelece o limite máximo de 250 mg/L de cloretos. Neste caso, a introdução da quantidade de cloretos presente no efluente tratado, no rio Atibaia, não modifica significativamente a qualidade deste corpo d'água, embora possa contribuir para o aumento da população de *C. dubia*.

Condutividade

A condutividade é a expressão numérica da capacidade de uma água conduzir a corrente elétrica. Depende das concentrações iônicas e da temperatura e indica a quantidade de sais existentes na coluna d'água e, portanto, representa uma medida indireta da concentração de poluentes. Em geral, níveis superiores a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ indicam ambientes impactados. A condutividade também fornece uma boa indicação das modificações na composição de uma água, especialmente na sua concentração mineral, mas não fornece nenhuma indicação das quantidades relativas dos vários componentes. A condutividade da água aumenta à medida que mais sólidos dissolvidos são adicionados. Altos valores podem indicar características corrosivas da água (CETESB, 2010).

Segundo Odum (2001), dentre os sais vitais dissolvidos para a vida aquática os de nitrogênio e de fósforo são os mais importantes, sendo que o fósforo é capaz de limitar a produtividade em qualquer região da superfície da Terra.

Segundo Angelis (2008), os valores de fósforo para estas coletas encontram-se em maior quantidade no Ponto 2. Este fato explica a dinâmica apresentada neste teste, onde nas amostras do Ponto 2 ocorreu maior natalidade que no Controle.

Os nitratos e os fosfatos parecem ser, até certa concentração, os fatores limitantes do aumento de biomassa em quase todos os ecossistemas de água doce. Em águas calmas, seja de lagos ou cursos d'água, o cálcio e outros sais também podem ser limitantes (ODUM, 2001).

Nas amostras, nitratos e fosfatos aparecem em maiores quantidades no Ponto 2, de acordo com Angelis (2008).

Portanto, determinados valores de condutividade podem interferir, ou mesmo limitar, a reprodução dos microcrustáceos bentônicos, como *C. dubia*.

Considerando-se a condutividade, o efluente tratado (Ponto 2) induz uma contribuição para o aumento desse parâmetro na água do Rio Atibaia, como pode ser visto na Tabela 4, quando são comparados os valores observados nos pontos a montante e a jusante do lançamento.

Pode-se verificar ainda na Tabela 4 que os valores de condutividade do Rio Atibaia, montante, sofre grande variação em função da sazonalidade das descargas de efluentes neste corpo d'água e dos dias chuvosos entre os períodos de coletas.

Para a dinâmica populacional, os valores elevados de condutividade estão relacionados ao quadro apresentado pelos organismos expostos ao tratamento com efluente. Na zona de mistura do efluente tratado com as águas do Rio Atibaia (Ponto 4), o desenvolvimento dos organismos mostrou-se semelhante ao apresentado nas amostras do Rio Atibaia (Ponto 3) antes do lançamento, mostrando que o efeito do efluente no desenvolvimento de *C. dubia* na zona de completa mistura desaparece. Contudo, permanece o aumento de condutividade média de 36 $\mu\text{S}/\text{cm}$ nas amostras trabalhadas.

Sólidos em suspensão e dissolvidos

No recurso hídrico os sólidos podem causar danos aos peixes e à vida aquática, promovendo obstruções e aderências nos órgãos de navegação, respiração e ainda, devido a sua sedimentação no leito dos rios pode causar problemas de eutrofização em áreas de menor fluxo de água. Além disso, podem carrear resíduos orgânicos que juntamente com as bactérias promovem a decomposição anaeróbia (CETESB, 2010).

Os valores deste parâmetro, observados nas coletas realizadas durante o período do teste da dinâmica populacional, estão representados na Tabela 4. Pelos valores obtidos pode-se afirmar que os sólidos presentes no efluente não interferem na qualidade das águas do Atibaia e não alteram o ciclo reprodutivo de *Ceriodaphnia dubia*, como se confere na Figura 13, a curva de crescimento para o Ponto 4.

Turbidez

Alta turbidez diminui a fotossíntese produzida pela vegetação submersa e pelas algas. O baixo desenvolvimento das plantas pode, por sua vez, suprimir a produtividade de peixes. Logo, a turbidez pode influenciar nas comunidades biológicas aquáticas. Além disso, afeta adversamente os usos doméstico, industrial e recreacional da água (CETESB, 2010).

Para a dinâmica populacional do microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*, este parâmetro associa-se ao número de filhotes produzidos, pois verifica-se que para os pontos 1, 3 e 4, a turbidez (Tabela 4) e o número de neonatos (Tabela 3) são maiores que no efluente tratado.

Microalgas, ciliados e flagelados

Microalgas, ciliados e flagelados, juntamente com algumas bactérias, são importante fonte de alimento para microcrustáceos bentônicos. Todos os pontos amostrados apresentam quantidades significativas de microalgas, ciliados e flagelados, como pode ser conferido na Tabela 4.

Embora, segundo Angelis (2008), a diversidade de microalgas não seja elevada, mesmo assim, isto pode representar um fator nutricional enriquecedor da alimentação de *C. dubia*, o que viria a auxiliar sua reprodução. Isso fica claro quando se analisa a Figura 13, a somatória do número de neonatos para os pontos 1, 3 e 4 ao longo de 30 dias, e a Tabela 4, a quantificação de microalgas para estes pontos. Nota-se que quanto maior a quantidade de microalgas, maior o número de filhotes. Porém, se as variedades dessas algas não forem assimiláveis pelo microcrustáceo, isso não se verifica, o que explica a quantidade de neonatos no Ponto 2, mesmo este apresentando média maior quanto a quantidade de microalgas.

Segundo Beatrici (2004), a dieta composta somente por *Pseudokirchneriella subcaptata*, faz com que os indivíduos se reproduzam menos do que os tratados com outras dietas. Isso explica o menor número de neonatos produzidos no Controle, em relação aos demais.

A água de um rio naturalmente apresenta uma biota típica de cada bioma ou particularmente de uma determinada condição. No caso do Rio Jaguarí e especialmente o Rio Atibaia, que é altamente antropizado haja vista os valores de cloretos no Ponto 3, dadas suas condições, verifica-se uma microbiota pobre e restrita quanto aos protozoários (ciliados e flagelados) como registra a Tabela 4.

Amônia

A amônia é uma substância que origina-se nas bactérias fixadoras de nitrogênio. Sua presença na água, de maneira geral, provém dos efluentes de indústrias químicas, esgoto doméstico e decomposição da matéria orgânica nitrogenada, especialmente as proteínas. Dependendo do pH da água, a amônia pode apresentar-se nas formas ionizada (NH_4^+), e não-ionizada (NH_3), que é mais tóxica.

Em pH alcalino a amônia apresenta-se na forma não-ionizada, altamente tóxica para a biota aquática. Portanto, com a elevação do pH, aumenta-se a concentração de amônia não-ionizada e conseqüentemente, a toxicidade sobre os organismos aquáticos. Este fato permite inferir o perigo da alteração do pH em águas com altas concentrações de amônia. De acordo com a Tabela 4, verifica-se que em todos os casos a amônia enquadra-se nos parâmetros exigidos pela legislação (3,7 mg/L de N para $\text{pH} \leq 7,5$; 2,0 mg/L de N para $7,5 < \text{pH} \leq 8,0$; 1,0 mg/L para $8,0 < \text{pH} \leq 8,5$ e 0,5 mg/L para $\text{pH} > 8,5$).

Para a dinâmica populacional, tendo em vista os valores de pH no Ponto 2, a toxicidade refletida no atraso no ciclo reprodutivo do microcrustáceo pode ser justificada pela presença da amônia em sua forma tóxica.

5.2. Teste 2: 14/10/2008 a 12/11/2008.

Nos testes realizados de outubro a novembro de 2008 (14/10/2008 à 12/11/2008), o número de neonatos nas amostras do efluente tratado encontra-se acima do referente controle, água do Ribeirão Claro, como pode ser visto na Tabela 5 e Figura 14.

Isso, segundo Wieczoreck (2003) pode ser resultado da situação de estresse a que os indivíduos foram submetidos, provocando um estado de *hormesis*, sendo o efluente industrial causador de efeito “positivo” no crescimento populacional, após a adaptação do mesmo as novas condições do meio.

Hormesis é o efeito em que baixas concentrações da solução-teste, ou qualquer substância, atuam como um estimulante para o desempenho dos organismos-teste em relação aos organismos do controle (ex: o desempenho em uma ou mais soluções de baixa concentração é maior ou "melhor" do que no controle do tratamento). Em concentrações mais elevadas, os efeitos deletérios são vistos (EPS, 2007).

Tabela 5: Valores acumulados do número de neonatos observados durante os 30 dias de realização do Teste 2.

Dias	Número de Neonatos				
	Controle Ribeirão Claro	Ponto 1 Rio Jaguari	Ponto 2 Efluente Tratado	Ponto 3 Rio Atibaia Montante	Ponto 4 Rio Atibaia Jusante
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
6	21	15	0	45	71
9	30	52	0	88	98
12	57	83	0	155	208
15	107	104	69	181	231
18	162	125	222	199	245
21	201	137	321	249	300
24	255	180	408	330	366
27	315	213	541	361	415
30	375	246	623	426	454
Total:	375	246	623	426	454

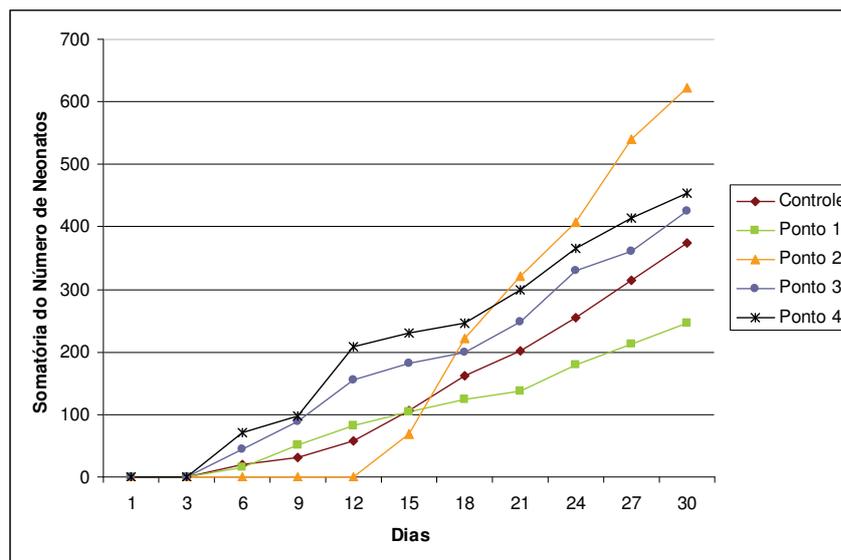


Figura 14: Valores acumulados de número de neonatos produzidos em 30 dias nas diferentes amostras para o Teste 2.

Neste teste o efeito de *hormesis* é bem pronunciado, como pode ser visto na Figura 14. Após o período de maturação reprodutiva, associado à adaptação às novas condições do meio, as matrizes de *Ceriodaphnia dubia* produziram considerável número de filhotes, chegando ao fim do teste com um total superior ao observado nos outros pontos, como mostra o gráfico da Figura 14.

Considerando-se este teste, mais precisamente na última coleta utilizada no período dos testes, a quantidade de cianetos no efluente tratado foi superior a apresentada nas demais

amostras (média 7,0 $\mu\text{g/L.s}^2$), porém, não há indicações que tenha interferido na reprodução dos microcrustáceos.

O cianeto é uma espécie química muito estável e não se decompõe no meio ambiente, sendo por isso, um poluente importante da água, devendo ser destruído por via química, em vez de apenas descartado em um sistema aquático (BAIRD, 2002). Mesmo após o tratamento, o efluente da refinaria de petróleo apresenta cianetos, em baixas concentrações, o que pode conferir efeito tóxico sub-letal aos organismos aquáticos pela exposição prolongada a esse elemento químico.

Este fator pode ter contribuído para o quadro de *hormesis* apresentado na dinâmica de *C. dubia*.

5.2.1. *Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional*

A Tabela 6 apresenta os resultados das análises físico-químicas e biológicas para as amostras utilizadas no segundo teste.

Tabela 6: Análises físico-químicas e biológicas para o efluente tratado, Rio Atibaia e Rio Jaguari, das amostras utilizadas no Teste 2.

Parâmetro	Data da coleta	PONTOS DE AMOSTRAGEM			
		1-Rio Jaguari	2 - Efluente Tratado	3 - Montante Rio Atibaia	4 – Jusante Rio Atibaia
pH	22/09/2008	7,58	8,15	7,62	7,68
	15/10/2008	7,72	8,64	7,91	7,90
	28/10/2008	7,32	8,96	7,45	7,62
	Média	7,54	8,58	7,66	7,73
Cloretos (mg/L)	22/09/2008	9,83	639,21	9,83	14,75
	15/10/2008	8,85	602,34	20,65	29,50
	28/10/2008	6,88	565,46	15,73	20,65
	Média	8,52	602,34	15,40	21,63
Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	22/09/2008	215,00	2630,00	185,30	192,30
	15/10/2008	107,20	2490,00	372,00	443,00
	28/10/2008	107,60	2480,00	308,00	311,00
	Média	143,27	2533,33	288,43	315,43
Sólidos suspensos e dissolvidos (g/L)	22/09/2008	0,281	1,798	0,364	0,289
	15/10/2008	0,242	1,733	0,301	0,236
	28/10/2008	0,210	1,620	0,220	0,188
	Média	0,24	1,717	0,295	0,238
Turbidez (NTU)	22/09/2008	13,70	7,20	29,20	22,80
	15/10/2008	11,70	11,50	10,90	13,00
	28/10/2008	11,40	11,90	15,10	13,20
	Média	12,27	10,20	18,40	16,33
Microalgas ($\text{n}^\circ/\text{mL} \times 10^4$)	22/09/2008	0,50	3,50	3,00	3,00
	15/10/2008	2,00	12,00	0,10	1,00
	28/10/2008	4,50	7,50	5,00	3,00
	Média	2,33	7,67	2,70	2,33
Ciliados e flagelados ($\text{n}^\circ/\text{mL} \times 10^4$)	22/09/2008	0,10	0,10	1,50	0,10
	15/10/2008	0,10	0,50	0,10	0,10
	28/10/2008	0,10	0,10	0,10	0,10
	Média	0,10	0,23	0,57	0,10
Amônia (mg de NH_3/L)	22/09/2008	1,12	0,93	0,83	0,64
	15/10/2008	1,61	0,63	4,45	2,81
	28/10/2008	1,87	0,88	2,91	2,56
	Média	1,53	0,81	2,73	2,00

Fonte: adaptado de ANGELIS, 2008.

pH

Verifica-se pouca diferença de pH entre as águas dos rios. Todos os valores de pH estão dentro da faixa ideal para o desenvolvimento de *C. dubia*, exceto o verificado para o Ponto 2.

O efluente ainda sai do tratamento com caráter alcalino, mas não confere alterações no pH do corpo receptor (ver Rio Atibaia a jusante – Ponto 4) nem na dinâmica populacional do

organismo-teste na área de mistura completa. Porém, a curva de crescimento para os organismos submetidos somente ao efluente tratado mostra-se alterada, se observarmos o padrão seguido nos demais tratamentos, considerados ideais.

A CONAMA 357/2005 fixa a condição para lançamento de efluentes com faixa de pH entre 5 e 9 e portanto, o efluente tratado em questão encontra-se em conformidade com a legislação, podendo ser descartado no Atibaia.

Cloretos

A partir dos dados apresentados na Tabela 6, para a concentração de cloretos, verifica-se a grande diferença entre os valores para o Ponto 2 e as demais amostras, fato que se relaciona ao estado de *hormesis* apresentado pelas fêmeas de *C. dubia* expostas ao efluente tratado.

A alta concentração de cloretos no efluente pode ter conferido um ambiente com características muito distantes daquela encontrada no controle, onde inicialmente os filhotes eram criados. Este fato associado à alta sensibilidade do organismo-teste em suas primeiras horas de vida, pode ter influenciado as características de sua dinâmica populacional, em função do tempo que levaram para a adaptação as novas condições, atrasando o início do ciclo reprodutivo do mesmo.

Condutividade

Neste 2º teste, verifica-se altos valores de condutividade para o Ponto 2 (Tabela 6). Tendo em vista que a condutividade está associada à quantificação de cloretos, este parâmetro também está relacionado à grande quantidade de filhotes produzidos na amostra do efluente tratado em resposta à condição de estresse a que as fêmeas de *Ceriodaphnia* foram submetidas.

Sólidos em suspensão e dissolvidos

Como pode ser visto na Tabela 6, a quantidade de sólidos em suspensão e dissolvidos é maior no Ponto 2, porém, não se pode afirmar que tenha prejudicado o desenvolvimento dos organismos-teste, uma vez que observa-se na Figura 14 que nas amostras deste mesmo ponto o número de neonatos foi maior que nas outras amostras de água, permanecendo todas as matrizes com vida até o fim do teste, diferente do 1º teste.

Turbidez

O efluente tratado (Ponto 2) apresenta valores de turbidez mais baixos (Tabela 6), média de 10,2 NTU, que as amostras de água dos rios. Verifica-se que quando disposto no Rio Atibaia não altera o ciclo reprodutivo ou a sobrevivência de *C. dubia* como se confere na Figura 14, onde a curva da somatória do número de neonatos aparece com maior inclinação.

Microalgas, ciliados e flagelados

A partir da comparação com análises biológicas, físicas e químicas, pode-se relacionar o aumento do número de neonatos no Ponto 2 como sendo em função do número de microalgas, em quantidades superiores aos encontrados nos demais pontos (Tabela 6). As microalgas, juntamente com os ciliados e flagelados, são importante alimento para os organismos bentônicos, como as *Ceriodaphnias* e em função disto, nas amostras do efluente tratado, o organismo teste apresentou melhor desenvolvimento e ciclo reprodutivo com maior número de filhotes (Tabela 6).

Também o número de protozoários (ciliados e flagelados) permanece baixo (Tabela 6).

Porém, as características físico-químicas do efluente tratado promoveriam condição desfavorável para o desenvolvimento de *Ceriodaphnia*, se levarmos em consideração as condições ideais de meio de cultivo deste organismo, apresentada pelas normas ABNT 13373:1995 e CETESB L5.022/91.

Amônia

A quantidade de amônia registrada na Tabela 6, embora estando enquadradas nas normas vigentes de meio ambiente, podem contribuir para promover o desequilíbrio reprodutivo, mormente quando associado a outros fatores estressantes. O Ponto 2, mesmo apresentando a menor média da concentração de amônia, quando associado ao pH alcalino apresenta toxicidade para *Ceriodaphnia*, interferindo sua dinâmica populacional.

5.3. Teste 3: 09/10/09 – 08/11/09.

Durante o teste da dinâmica populacional de *Ceriodaphnia dubia* no período de 09/10/2009 a 08/11/2009 utilizou-se amostras colhidas nos períodos de 07/10/2009 a 21/10/2009. A Tabela 7 apresenta o número de neonatos observados durante o 3º Teste e a Figura 15 o gráfico da somatória do número de filhotes ao longo dos 30 dias do teste.

Tabela 7: Valores acumulados do número de neonatos observados durante 30 dias compreendidos entre os dias 9/10 a 8/11/2009.

Dias	Número de Neonatos				
	Controle Ribeirão Claro	Ponto 1 Rio Jaguari	Ponto 2 Efluente Tratado	Ponto 3 Rio Atibaia Montante	Ponto 4 Rio Atibaia Jusante
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
6	25	34	0	29	35
9	62	107	0	106	118
12	84	163	0	155	205
15	137	246	0	221	265
18	170	320	0	308	345
21	219	363	0	371	410
24	232	373	0	402	465
27	285	426	2	451	527
30	316	465	19	491	568
Total:	316	465	19	491	568

Verificou-se neste período do 3º teste grande alteração no número de neonatos no Ponto 2 (Tabela 7). Embora isto não tenha acontecido nos experimentos 1 e 2, nos testes subsequentes 4; 5 e 6 houve indicação de toxicidade à *C. dubia*.

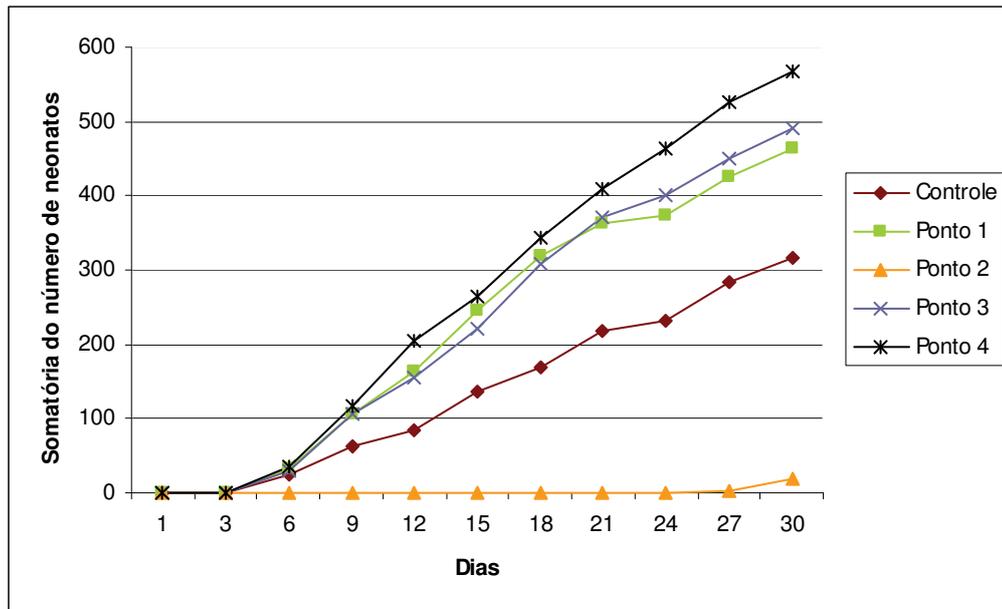


Figura 15: Valores acumulados de número de neonatos produzidos em 30 dias do Teste 3, nas diferentes amostras.

Diferente dos demais, neste teste observou-se mortalidade das matrizes do Ponto 2 no 6º dia e nos dia 3/11/2009 e 06/11/09, uma em cada dia. Isso reflete a toxicidade da amostra. Ademais, os que sobreviveram começaram a soltura dos primeiros filhotes somente no 27º dia.

O Ponto 4 aparece em destaque, com uma curva de crescimento mais inclinada que as demais, chegando ao final do teste com total de neonatos igual a 568, seguido em ordem decrescente pelo Ponto 3, também de origem o rio Atibaia, o Ponto 1, o Controle e em último o Ponto 2, com um total de somente 19 filhotes.

5.3.1. Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional

Os resultados das análises de parâmetros físico-químicos e biológicos das amostras utilizadas no 3º teste são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: Análises físico-químicas e biológicas para o efluente tratado, Rio Atibaia e Rio Jaguari, das amostras do Teste 3.

Parâmetro	Data da coleta	PONTOS DE AMOSTRAGEM			
		1-Rio Jaguari	2 - Efluente Tratado	3 – Montante Rio Atibaia	4 – Jusante Rio Atibaia
pH	07/10/2009	7,40	8,80	7,66	7,40
	21/10/2009	7,27	8,37	7,80	7,27
	04/11/2009	7,22	8,28	7,55	7,22
	Média	7,30	8,48	7,67	7,30
Cloretos (mg/L)	07/10/2009	6,88	528,58	15,73	15,73
	21/10/2009	4,92	381,70	42,29	35,40
	04/11/2009	5,90	454,83	18,68	22,60
	Média	5,90	455,04	25,57	24,58
Condutividade ($\mu\delta/cm$)	07/10/2009	119,00	2440,00	294,00	304,00
	21/10/2009	80,20	1610,00	361,00	352,00
	04/11/2009	115,20	2060,00	383,00	398,00
	Média	104,8	2036,67	346,00	351,33
Sólidos suspensos e dissolvidos (g/L)	07/10/2009	0,126	0,629	0,154	0,138
	21/10/2009	0,162	0,362	0,065	0,059
	04/11/2009	0,062	0,483	0,087	0,124
	Média	0,12	0,49	0,10	0,11
Turbidez (NTU)	07/10/2009	26,60	17,40	61,80	66,80
	21/10/2009	79,00	34,00	62,00	64,00
	04/11/2009	40,30	33,10	41,80	45,30
	Média	48,63	28,17	55,20	58,70
Microalgas ($n^{\circ}/mL \times 10^4$)	07/10/2009	-	-	-	-
	21/10/2009	-	-	-	-
	04/11/2009	1,0	14,0	1,0	<10,0
	Média	1,00	14,00	1,00	<10,00
Ciliados e flagelados ($n^{\circ}/mL \times 10^4$)	07/10/2009	-	-	-	-
	21/10/2009	-	-	-	-
	04/11/2009	0,5	3,0	1,0	<1,0
	Média	0,50	3,00	1,00	<1,00
Amônia (mg de NH_3/L)	07/10/2009	0,64	0,72	0,72	2,23
	21/10/2009	0,61	0,72	0,72	2,23
	04/11/2009	1,04	0,57	4,13	4,62
	Média	0,76	0,67	1,86	3,03

(-) amostragem não efetuada.

Fonte: adaptado de ANGELIS, 2009.

pH

O pH é importante na solubilização de íons metálicos e especialmente na dissociação da amônia. Em pH ácido a toxicidade da amônia é insignificante quando comparado a pH superior a 8,0. A amônia (NH_3) quando está dissolvida na água atrai o íon hidrogênio tornando-se o íon amônio (NH_4^+). Este composto quando dissolvido na água tende ao

equilíbrio das duas formas, amônia e íon. O equilíbrio da reação está na dependência entre outros fatores do pH. A presença de amônia em meios alcalinos aumenta a toxicidade da água, cujo teor máximo de amônia deve ser de 5 ppm, como recomenda a Resolução Conama 20/86 (WIECZOREK, 2003).

Entretanto, a nova legislação permite até 20 µg de amônia por litro no efluente após tratamento.

Novamente, diferente dos demais, o pH do efluente tratado apresenta-se alcalino, o que confere toxicidade aos organismos-teste. As amostras dos rios Atibaia e Jaguarí apresentam valores de pH margeando o intervalo de valores ideais para a sobrevivência de *C. dubia*, 7,2 a 7,6 (Tabela 8).

Cloretos

As águas doces têm baixos teores de sais. Os cloretos em geral são os íons mais abundantes liberados na utilização das águas. Embora, a legislação Conama 20/86 preconize a presença de até 250 ppm, a presença de sais aumentam consideravelmente a toxicidade à *Daphnia similis* e *Allium cepa* (WIECZOREK, 2003).

A partir dos testes, em especial pela resposta apresentada pelos indivíduos submetidos às amostras do efluente tratado, verifica-se que esta toxicidade também é observada para *Ceriodaphnia dubia*.

Na Tabela 8, é possível conferir a alta concentração de Cloretos no efluente tratado da refinaria e que seu lançamento no rio Atibaia, não causa alterações significativas no padrão apresentado pelo rio, em função do fator diluição.

Porém, vale lembrar que nas duas primeiras coletas, devido a chuva, o efeito da diluição foi o responsável pelos diferentes valores deste parâmetro no rio Atibaia, a montante e a jusante da área de lançamento do efluente, não sendo nítida a contribuição em cloretos para o Atibaia, no Ponto 4.

Pelo fato de os valores apresentados nas amostras do efluente tratado estarem muito superiores aos dos demais pontos, com média 455.04, a curva da dinâmica para o Ponto 2 estar com inclinação praticamente nula e o número total de neonatos ser muito inferior ao apresentado no Controle, é possível relacionarmos a maior concentração de cloretos com a toxicidade da amostra representada pela baixa natalidade e lento desenvolvimento dos organismos-teste.

Condutividade

Os valores de condutividade apresentados na Tabela 8, para as amostras, permitem associarmos este parâmetro a concentração de cloretos e, portanto, a toxicidade da amostra do Ponto 2 para *C. dubia*.

Sólidos em suspensão e dissolvidos

Quantidades elevadas de sólidos em suspensão e dissolvidos podem comprometer o sistema filtrante de *Ceriodaphnia dubia*, que pode vir a morrer devido a carência por alimento, ou mesmo pela incapacidade de se locomover.

Verifica-se que as águas dos rios apresentam valores semelhantes em quantidade de sólidos suspensos e dissolvidos, na ordem de 0,100 g/L e o efluente tratado com valores 4 a 6 vezes maior (Tabela 8). A partir dessa grande diferença pode-se relacionar este parâmetro ao desenvolvimento do organismo-teste, que para o Ponto 2, apresentou alteração na dinâmica populacional, observada anteriormente na Figura 15.

Turbidez

Devido a chuva ocorrida nas datas das duas primeiras coletas realizadas, os valores para turbidez nas amostras dos rios apresentaram-se alterados, principalmente para o Ponto 1 na segunda coleta, como pode ser visto na Tabela 8. Por esse fato e pelo resultado observado para a dinâmica nos pontos 1, 3 e 4 se apresentar semelhante ao Controle, esse parâmetro não foi considerado como responsável pela toxicidade ao organismo-teste.

Microalgas, ciliados e flagelados

Sendo verificados, na Tabela 8, os valores para a última coleta, observa-se que o efluente é lançado no Atibaia com alta quantidade de microalgas, em função do tratamento a que o efluente foi submetido. Porém, nem toda espécie algal é assimilável pelos microcrustáceos como *Ceriodaphnia dubia*. O excesso de microalgas não-assimiláveis, na amostra do Ponto 2, prejudicou o desenvolvimento do organismo teste, sendo observados os primeiros neonatos entre o 24º e o 27º dia do teste como foi visto anteriormente na Tabela 7.

O número de ciliados e flagelados no efluente tratado pouco representa, analisando-se as demais amostras, conforme se verifica na Tabela 8 os valores para o Ponto 2 em relação

aos demais pontos. Pelo fato de os organismos submetidos a esse tratamento não terem apresentado uma dinâmica populacional próxima ao padrão do controle, pode-se deduzir que a quantidade de ciliados e flagelados, fonte de alimento, não foi suficiente para a reprodução de *Ceriodaphnia dubia*.

Amônia

A maioria dos organismos é extremamente sensível à amônia, e causa impactos ecológicos nas comunidades de peixes e invertebrados bentônicos, sobretudo nas formas larvais e jovens. A presença de amônia manifesta-se sob a forma de toxicidade crônica atuando sobre a capacidade reprodutiva (produção de ovos e sobrevivência dos neonatos), crescimento (comprimento e peso), comportamento, mudanças morfológicas nos tecidos das brânquias, rins e fígado dos peixes, indicando patologias, além de alterações bioquímicas e fisiológicas (ANGELIS, 2008).

Nas coletas realizadas durante o período deste teste, a concentração de amônia é maior no Ponto 4, mas não se observa efeito adverso no ciclo reprodutivo de *C. dubia*, o que reforça a idéia da toxicidade provocada pela ação conjunta de fatores.

A concentração de amônia no Ponto 2, mais baixa que a do Ponto 4, em conjunto com o pH alcalino da amostra e demais fatores, confere efeito adverso sobre a reprodução e o desenvolvimento do organismo-teste.

5.4. Teste 4: 06/02/2010 a 07/03/2010.

Os resultados dos testes realizados no período de 06/02/2010 a 07/03/2010 são apresentados abaixo na Tabela 9 e Figura 16.

Tabela 9: Valores acumulados do número de neonatos observados durante os 30 dias de duração do quarto teste.

Dias	Número de Neonatos				
	Controle Ribeirão Claro	Ponto 1 Rio Jaguari	Ponto 2 Efluente Tratado	Ponto 3 Rio Atibaia Montante	Ponto 4 Rio Atibaia Jusante
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
9	54	63	7	79	68
12	129	144	16	133	144
15	190	161	16	182	198
18	311	236	39	251	283
21	374	290	48	305	332
24	423	355	70	382	424
27	567	466	105	462	525
30	623	550	133	549	614
Total:	623	550	133	549	614

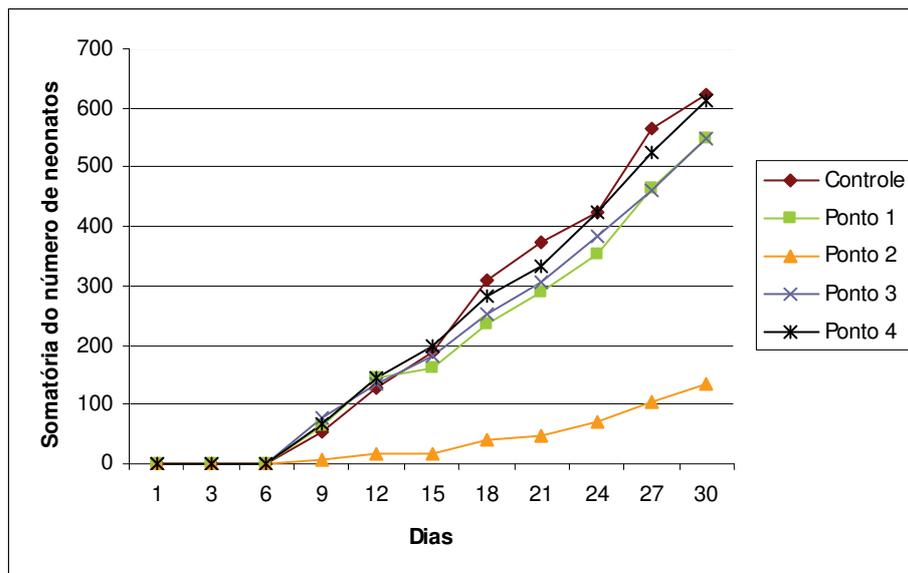


Figura 16: Valores acumulados de número de neonatos produzidos em 30 dias nas diferentes amostras – Teste 4.

O ciclo reprodutivo do organismo-teste teve seu início em período semelhante em praticamente todos os pontos amostrados, entre o 6º e 9º dia. No tratamento controle verificou-se o melhor crescimento populacional dos indivíduos, seguido pelas amostras dos pontos 4, 3 e 1, respectivamente.

A somatória do número de filhotes nascidos em amostras do efluente tratado foi inferior a todas as dos demais pontos. A seguir serão apresentados os valores dos parâmetros

físico-químicos encontrados nas amostras, durante este período de coletas, e sua relação com o modelo da dinâmica observado.

5.4.1. Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional

A Tabela 10 insere os resultados das análises físicas, químicas e biológicas para as amostras utilizadas no 4º teste.

Tabela 10: Análises físico-químicas e biológicas para o efluente tratado, Rio Atibaia e Rio Jaguari, das amostras do Teste 4.

Parâmetro	Data da coleta	PONTOS DE AMOSTRAGEM			
		1-Rio Jaguari	2 - Efluente Tratado	3 - Montante Rio Atibaia	4 - Jusante Rio Atibaia
pH	04/02/2010	7,39	8,84	7,48	7,74
	24/02/2010	7,31	8,18	7,60	7,61
	Média	7,35	8,51	7,54	7,68
Cloretos (mg/L)	04/02/2010	1,96	208,97	2,95	5,90
	24/02/2010	3,93	430,24	9,83	8,85
	Média	2,95	319,61	6,39	7,38
Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	04/02/2010	181,00	1200,00	98,50	100,10
	24/02/2010	47,50	1171,00	87,70	91,60
	Média	114,25	1185,50	93,10	95,85
Sólidos suspensos e dissolvidos (g/L)	04/02/2010	0,031	0,258	0,036	0,062
	24/02/2010	0,355	0,828	0,348	0,259
	Média	0,19	0,54	0,19	0,16
Turbidez (NTU)	04/02/2010	126,00	-	112,00	126,00
	24/02/2010	82,10	6,60	50,10	82,10
	Média	104,05	6,60	81,05	104,05
Microalgas ($\text{n}^\circ/\text{mL} \times 10^4$)	04/02/2010	9,00	0,50	10,00	7,00
	24/02/2010	1,00	<1,00	1,00	2,00
	Média	5,00	<1,00	5,50	4,50
Ciliados e flagelados ($\text{n}^\circ/\text{mL} \times 10^4$)	04/02/2010	1	<1	3,5	<1
	24/02/2010	<1	<1	0,5	<1
	Média	1,00	<1,00	2,00	<1,00
Amônia (mg de NH_3/L)	04/02/2010	1,47	14,56	0,89	0,85
	24/02/2010	1,50	32,85	2,42	2,42
	Média	1,49	23,71	1,66	1,64

(-) amostragem não efetuada.

Fonte: adaptado de ANGELIS, 2009.

pH

Para as coletas deste teste, verificou-se que o efluente da refinaria de petróleo não altera os valores de pH das águas do rio Atibaia (Tabela 10).

O caráter básico do efluente tratado confere toxicidade aos neonatos de *Ceriodaphnia* quando aliado a outros parâmetros químicos, como amônia.

Condutividade

Os valores de condutividade para o efluente estão em valores muito acima dos encontrados nos demais pontos, permitindo que se relacione a curva de crescimento da população do organismo-teste exposto às amostras do Ponto 2 com tais parâmetros (Tabela 10).

Cloretos

Nas águas dos rios, a concentração de cloretos encontra-se dentro dos padrões de qualidade de água para a Classe 2, a que pertencem, garantindo condições para a sobrevivência do organismo-teste e dinâmica populacional semelhante ao padrão do Controle.

Na Tabela 10 é possível verificar a grande diferença da concentração de cloretos encontrada no efluente tratado. Relaciona-se, portanto, este parâmetro à baixa natalidade apresentada no Ponto 2.

Sólidos em suspensão e dissolvidos

Embora todas as amostras tenham sido filtradas em algodão, a quantidade de sólidos suspensos e dissolvidos ainda é um parâmetro limitante para o crescimento e reprodução do organismo-teste. Mesmo após a filtração, observa-se a amostra ainda turva, o que desaparece com o tempo devido à decantação das partículas.

Como dito anteriormente, os sólidos dissolvidos e em suspensão prejudicam o sistema filtrante do microcrustáceo e conseqüentemente sua capacidade em se alimentar, por isso a necessidade em filtrar todas as amostras antes da realização do teste.

Analisando-se a quantidade de sólidos suspensos e dissolvidos presente nas amostras do efluente tratado, superior a encontrada as demais amostras (Tabela 10), e a dinâmica

populacional no Ponto 2, conclui-se que este parâmetro é limitante para a reprodução de *Ceriodaphnia*.

Turbidez

A turbidez é um parâmetro relacionado aos sólidos suspensos e dissolvidos e a todos os microrganismos e matéria orgânica presente nas amostras. Quanto maior a quantidade de unidades nefelométricas de turbidez, maiores as quantidades de material dissolvido que impedem a passagem da luz.

Pelos valores apresentados nestas coletas, observa-se na Tabela 10, que o efluente tratado apresenta-se menos turvo que as águas dos rios. Portanto, neste caso, a Turbidez não pôde ser relacionada à baixa natalidade e a configuração da dinâmica populacional no Ponto 2 (Tabela 9 e Figura 16).

Microalgas, ciliados e flagelados

A quantidade de microalgas nas amostras, apresentada na Tabela 10, está relacionada com o número de neonatos produzidos durante o teste. Confirma-se esta hipótese observando-se a quantidade de microalgas em cada ponto, a referente curva da dinâmica populacional e número total de neonatos produzidos (Figura 16 e Tabela 9, respectivamente). O Ponto 4, vem em primeiro lugar em número de filhotes, seguido pelo Ponto 3, o Ponto 1, chegando ao Controle, e por último o Ponto 2. Em quantidade de microalgas, a valores médios, o Ponto 1 é seguido pelo Ponto 3, 4 e 2, em ordem decrescente.

Pela quantidade de ciliados e flagelados representada na Tabela 10, verifica-se que as águas dos rios apresentam maiores quantidades de protozoários que o efluente tratado. Entretanto, observando-se o gráfico da dinâmica populacional na Figura 16, para as amostras das águas dos rios, ainda que o Ponto 3 apresente maior número de protozoários, existe pouca diferença entre as dinâmicas.

Amônia

Para estas amostras, a amônia aparece em maior concentração no efluente tratado, como apresentado na Tabela 10.

Comparando-se estes valores com o gráfico da dinâmica populacional de *Ceriodaphnia* da Figura 16, pode-se deduzir que quanto maior a concentração de amônia,

menor o número de neonatos produzidos e menor é a inclinação da curva de crescimento do organismo-teste. Portanto, conclui-se que a amônia contribuiu para conferir toxicidade sobre a dinâmica populacional de *C. dubia*.

5.5. Teste 5: 29/04/10 a 28/05/2010.

O quinto teste foi realizado de 29/04/2010 a 28/05/2010 com amostras coletadas de 26/04/2010 a 26/05/2010. Verificam-se os resultados deste ensaio da dinâmica populacional na Tabela 11 e Figura 17.

Tabela 11: Valores acumulados do número de neonatos observados durante os 30 dias do Teste 5.

Dias	Número de Neonatos				
	Controle Ribeirão Claro	Ponto 1 Rio Jaguari	Ponto 2 Efluente Tratado	Ponto 3 Rio Atibaia Montante	Ponto 4 Rio Atibaia Jusante
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
9	12	21	0	23	25
12	101	142	0	127	135
15	174	201	0	182	211
18	217	231	1	202	250
21	273	264	5	245	281
24	324	342	17	314	354
27	451	446	24	438	475
30	523	524	35	507	532
Total:	523	524	35	507	532

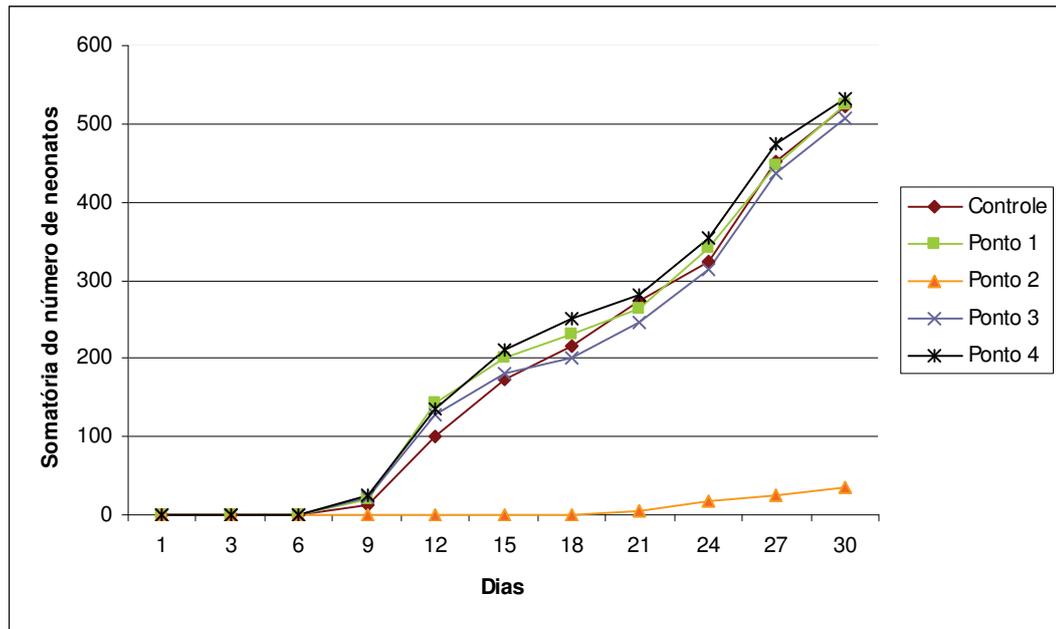


Figura 17: Valores acumulados de número de neonatos produzidos em 30 dias nas diferentes amostras.

Dentre os pontos amostrados, o ponto 2 apresenta menor valor total de filhotes produzidos durante o período do teste 5º (Tabela 11). Pode-se inferir que as características do efluente tratado na coleta do dia 04/02/2010 não proporcionaram condições para a reprodução de *C. dubia* que iniciou seu ciclo partenogenético somente entre o 15º e 18º dia, o que corresponde à segunda coleta do período. Após o 18º dia, as *Ceriodaphnias* recuperaram-se gradativamente do estresse, como se acompanha na Figura 17. A baixa natalidade pode ser explicada pela formação de efípios, que geralmente ocorre em número de dois por fêmea adulta quando esta não encontra condições favoráveis para a propagação de sua espécie.

Analisando-se a curva da dinâmica (Figura 17) para os pontos a montante e a jusante da área de lançamento deste efluente no Rio Atibaia, constatou-se que não ocorrem alterações negativas na zona de mistura, e o fator diluição com as águas do rio promovem o melhor desempenho na reprodução do microcrustáceo.

Analisando a Figura 17, verifica-se que tanto a água do Rio Jaguarí como a do Rio Atibaia promovem condições tão favoráveis ao crescimento do organismo-teste como o Controle, não sendo verificada toxicidade sobre o mesmo, referente à reprodução, mesmo após o lançamento do efluente.

5.5.1. Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional

Os valores dos parâmetros pH, cloretos, condutividade, sólidos em suspensão e dissolvidos, turbidez, microalgas, ciliados e flagelados e amônia (Tabela 12), relacionam-se com o experimento nº 5, que avaliou o aumento do número de neonatos de *C. dubia* em diferentes amostras de água.

Tabela 12: Análises físico-químicas e biológicas para o efluente tratado, Rio Atibaia e Rio Jaguari, das amostras do Teste 5.

Parâmetro	Data da coleta	PONTOS DE AMOSTRAGEM			
		1-Rio Jaguari	2 - Efluente Tratado	3 – Montante Rio Atibaia	4 – Jusante Rio Atibaia
pH	26/04/2010	7,51	8,22	7,54	7,59
	12/05/2010	7,58	8,23	7,52	7,56
	26/05/2010	7,55	8,23	7,82	7,70
	Média	7,55	8,23	7,63	7,62
Cloretos (mg/L)	26/04/2010	3,93	295,02	13,77	15,73
	12/05/2010	3,93	307,32	13,77	13,77
	26/05/2010	3,93	356,48	11,8	13,77
	Média	3,93	319,61	13,11	14,42
Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	26/04/2010	85,20	1353,00	163,50	189,00
	12/05/2010	81,30	1486,00	199,10	216,00
	26/05/2010	93,50	1653,00	187,00	193,10
	Média	86,67	1497,33	183,20	199,37
Sólidos suspensos e dissolvidos (g/L)	26/04/2010	0,340	0,385	0,067	0,102
	12/05/2010	0,050	0,452	0,086	0,100
	26/05/2010	0,204	1,286	0,264	0,278
	Média	0,20	0,71	0,14	0,16
Turbidez (NTU)	26/04/2010	16,80	9,10	16,60	5,70
	12/05/2010	22,30	7,80	14,20	27,40
	26/05/2010	9,00	9,20	16,00	14,40
	Média	16,03	8,70	15,60	15,83
Microalgas ($\text{n}^\circ/\text{mL} \times 10^4$)	26/04/2010	1,5	36,5	<1,0	1,0
	12/05/2010	2,0	59,5	2,0	3,5
	26/05/2010	1,3	50,0	1,0	2,0
	Média	1,60	48,67	1,00	2,17
Ciliados e flagelados ($\text{n}^\circ/\text{mL} \times 10^4$)	26/04/2010	<1	1,5	1	1
	12/05/2010	1,5	9	2	-
	26/05/2010	1	<1	3,5	<1
	Média	1,50	5,25	2,17	1,00
Amônia (mg de NH_3/L)	26/04/2010	2,73	4,74	9,28	10,38
	12/05/2010	2,91	2,86	4,27	5,33
	26/05/2010	2,82	2,85	6,04	6,79
	Média	2,82	3,48	6,53	7,50

(-) amostragem não efetuada.

Fonte: adaptado de ANGELIS, 2009.

pH

Nota-se a regularidade nos valores da maioria dos parâmetros químicos nas amostras deste período de realização dos ensaios.

O pH das amostras do Ponto 2 mantém-se na faixa de 8 a 9 na maioria dos testes, mas não significa que isoladamente foi o responsável pelo quadro da dinâmica populacional apresentado pelos organismos expostos às essas amostras (Figura 17).

Verifica-se, pela Tabela 12 (Pontos 3 e 4), que novamente não há a alteração deste parâmetro no rio Atibaia devido ao lançamento do efluente tratado descartado pela refinaria.

Cloretos

A concentração de cloretos interfere na dinâmica populacional de *C. dubia*, como se confere relacionando os valores para o Ponto 2 (efluente tratado) apresentados na Tabela 12, abaixo, e o número de neonatos total apresentado na Tabela 11, tomando por base o padrão apresentado pelo Controle e os demais pontos, por apresentarem-se como fornecedores de condições ideais para a reprodução do microcrustáceo.

Condutividade

A condutividade possui relação com a concentração de cloretos, como se pode verificar pelos valores de condutividade e a concentração de cloretos na Tabela 12. Portanto, este parâmetro também se relaciona com a dinâmica populacional de *Ceriodaphnia dubia*, provocado alterações no ciclo reprodutivo da mesma.

Sólidos em suspensão e dissolvidos

Pelos dados da Tabela 12, comparando-se os valores observados nos pontos 3 e 4, a montante e a jusante da área de lançamento do efluente no corpo d'água, verifica-se a singela contribuição em sólidos em suspensão e dissolvidos do efluente para o rio Atibaia.

Em analogia a dinâmica populacional, analisada pelo número de neonatos produzidos, nota-se que a maior quantidade de sólidos dissolvidos e suspensos não favorece a reprodução do organismo-teste.

Turbidez

Relacionando os resultados apresentados na Tabela 12 e dinâmica populacional de *C. dubia*, confere-se que a maior turbidez faz com que sejam produzidas menores quantidades de filhotes.

Microalgas, ciliados e flagelados

Como no teste anterior, o maior número de microalgas nas amostras do efluente tratado apresenta-se elevado, mas este fato não favoreceu o desenvolvimento do organismo-teste, devido a grande maioria das algas não ser facilmente assimilável pelos microcrustáceos. Na Tabela 12 verifica-se a quantidade de microalgas encontrada nos pontos amostrados e a quantificação de ciliados e flagelados, mostrando o Ponto 2 em destaque, com média em torno de $3,5 \times 10^4$ protozoários por mL.

Amônia

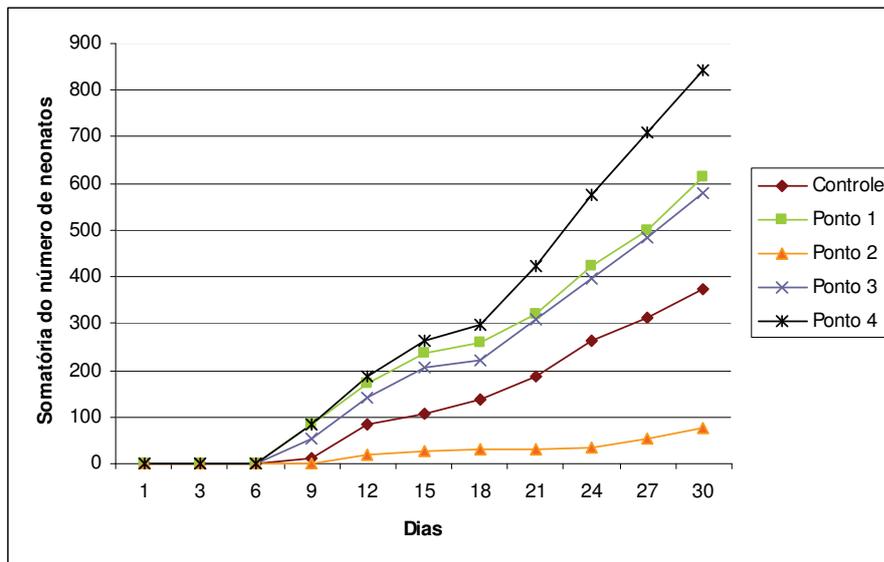
Pela observação dos valores da concentração de amônia nos pontos a montante e a jusante da área de lançamento do efluente e o mesmo, na Tabela 12, pode-se dizer que o efluente tratado contribui para o incremento de amônia no Atibaia. Porém, analisando-se conjuntamente esses valores e os resultados da dinâmica, apresentados na Figura 17, para esses pontos, nota-se que no Ponto 4, mesmo a concentração de amônia estando em maiores quantidades que no efluente, os indivíduos de *C. dubia* tiveram melhor desempenho na dinâmica.

5.6. Teste 6: 24/07/2010 a 23/08/2010.

O 6º teste realizado para avaliar o aumento da população de *Ceriodaphnia dubia* estendeu-se entre os dias 24 de julho e 23 de agosto de 2010 e os valores da contagem do número de neonatos estão registrados na Tabela 13 e o gráfico da dinâmica na Figura 18.

Tabela 13: Valores acumulados do número de neonatos observados durante o Teste 6.

Dias	Número de Neonatos				
	Controle Ribeirão Claro	Ponto 1 Rio Jaguarí	Ponto 2 Efluente Tratado	Ponto 3 Rio Atibaia Montante	Ponto 4 Rio Atibaia Jusante
1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
9	10	83	0	52	85
12	82	170	19	141	186
15	106	235	28	205	264
18	136	258	30	220	299
21	188	321	30	308	425
24	265	422	33	398	576
27	312	500	53	486	711
30	373	614	77	578	841
Total:	373	614	77	578	841

**Figura 18:** Valores acumulados de número de neonatos produzidos, durante o último teste, nas diferentes amostras.

O controle representa o padrão a ser seguido pela dinâmica do organismo-teste. Observa-se que nas águas dos rios, pontos 1,3 e 4, a reprodução de *C. dubia* foi favorecida, pois as curvas da somatória de filhotes produzidos para essas amostras possuem inclinação maior que a do Controle (Figura 18). No teste com o efluente tratado, as Ceriodaphnias não responderam positivamente. O número de neonatos produzidos, apresentados na Tabela 13, foi inferior aos das demais amostras.

5.6.1. Relação Parâmetros físico-químicos e Dinâmica Populacional

A seguir apresenta-se na Tabela 14 os valores dos parâmetros considerados relevantes para a explicação do quadro da dinâmica populacional de *C. dubia* verificado no 6º teste.

Tabela 14: Medidas da concentração hidrogeniônica (pH) nas amostras coletadas na Refinaria, Rio Atibaia e Rio Jaguari – Teste 6.

Parâmetro	Data da coleta	PONTOS DE AMOSTRAGEM			
		1-Rio Jaguari	2 - Efluente Tratado	3 – Montante Rio Atibaia	4 – Jusante Rio Atibaia
pH	21/07/2010	7,66	8,40	7,76	7,81
	02/08/2010	7,60	8,39	7,84	7,84
	Média	7,63	8,40	7,80	7,83
Cloretos (mg/L)	21/07/2010	6,88	590,00	15,73	11,80
	02/08/2010	7,86	774,43	20,65	33,43
	Média	7,37	682,22	18,19	22,62
Condutividade ($\mu\delta/cm$)	21/07/2010	94,40	2260,00	246,00	252,00
	02/08/2010	107,70	2800,00	295,00	347,00
	Média	101,05	2530,00	270,50	299,50
Sólidos suspensos e dissolvidos (g/L)	21/07/2010	0,163	1,411	0,278	0,293
	02/08/2010	0,111	2,056	0,227	0,208
	Média	0,14	1,73	0,25	0,25
Turbidez (NTU)	21/07/2010	12,20	5,10	13,00	12,70
	02/08/2010	12,40	11,50	16,60	17,00
	Média	12,30	8,30	14,80	14,85
Microalgas ($n^{\circ}/mL \times 10^4$)	21/07/2010	1,0	<1,0	0,5	6,0
	02/08/2010	1,0	2,0	<1,0	3,0
	Média	1,00	1,00	0,50	4,50
Ciliados e flagelados ($n^{\circ}/mL \times 10^4$)	21/07/2010	<1	0,5	0,5	<1
	02/08/2010	<1	<1	1	<1
	Média	<1,00	0,50	0,75	<1,00
Amônia (mg de NH_3/L)	21/07/2010	-	-	-	-
	02/08/2010	-	-	-	-
	Média	-	-	-	-

(-) amostragem não efetuada.

Fonte: adaptado de ANGELIS, 2009.

pH

Pela Tabela 14 verifica-se que o pH manteve-se semelhante nas amostras coletadas nos rios. O Ponto 2 é o único que apresenta valores de pH fora dos ideais para *Ceriodaphnia dubia*, o que pode ter influenciado na produção de filhotes pelas matrizes submetidas às amostras deste ponto, em número total de 77 neonatos, comparado com 373, no Controle.

Cloretos

Muitos dos efluentes de refino contêm diferentes sais que constituem a chamada “poluição salina”. A sua toxicidade para os organismos aquáticos pode variar de baixa, como no caso dos cloretos, até alta, para o caso dos cianetos. A principal consequência da presença de tais substâncias nos meios aquáticos é a eliminação de espécies de animais aquáticos, quando as concentrações são suficientemente elevadas (CONNELL, 1984; apud MARIANO, 2001).

A quantidade de filhotes produzidos pelos indivíduos expostos ao tratamento com o efluente tratado da refinaria é inferior a dos demais pontos. Como ideal esperava-se que esta quantidade fosse igual ou superior a do Controle. Este quadro pode ser relacionado, portanto, com a concentração de cloretos encontrada na amostra, que em grande quantidade, como se confere na Tabela 14, conferiu toxicidade sobre os organismos e estes responderam com menor produção de filhotes.

Condutividade

Relacionada à quantidade de sais, a alta condutividade é então associada à toxicidade sobre *Ceriodaphnia dubia*.

Na Tabela 14, o Ponto 2 aparece com valores muito acima dos encontrados nas águas dos rios Jaguarí e Atibaia, mantendo a relação com os baixos valores de neonatos produzidos e curva inferior a apresentada pelo Controle e demais pontos.

Sólidos em suspensão e dissolvidos

Com valores maiores que os encontrados nas amostras dos rios Atibaia e Jaguarí, como mostra a Tabela 14, os sólidos em suspensão e dissolvidos podem estar associados, juntamente com outros fatores, à toxicidade conferida aos indivíduos expostos ao tratamento com o efluente tratado.

Turbidez

Neste teste, devido ao fato de a turbidez ser encontrada em maior valor nas águas dos rios, não há associação cabível à toxicidade sobre o organismo-teste, uma vez que nessas

águas houve melhor desempenho reprodutivo que o Controle e o Ponto 2, cujos valores de turbidez são menores, como se verifica na Tabela 14.

Microalgas, ciliados e flagelados

Sendo analisadas a Figura 18 e a Tabela 14, a maior quantidade de microalgas encontrada no Ponto 4 proporcionou melhores condições para que as *Ceriodaphnias* se reproduzissem.

O menor número de filhotes apresentado no controle pode ser em função da alimentação dos organismos, uma vez que, segundo Beatrici (2004), o alimento composto somente por suspensão de *Pseudokirchneriella subcapitata* pode não ser adequado, devido à rápida sedimentação das células algais, tornando-se indisponíveis aos organismos na coluna d'água.

Aparecendo como fonte alimentar suplementar, os ciliados e flagelados não tiveram variação significativa entre os pontos amostrados a ponto de sua quantidade ser relacionada com a dinâmica de *Ceriodaphnia*. Seus valores variaram de 1 a <1, como pode ser observado na Tabela 14.

Para este período da realização dos testes, a quantificação de amônia não foi realizada.

6. CONCLUSÕES

O ensaio da dinâmica populacional realizado aponta para a importância dos testes de toxicidade por períodos prolongados como auxiliar na manutenção da qualidade da água dos corpos hídricos, pois atenta não só para o efeito sobre a sobrevivência dos organismos, mas também para seu comportamento nas populações.

Os ensaios realizados indicaram que, ainda que todos os parâmetros físico-químicos atendam à legislação, em períodos mais longos, a toxicidade do efluente antes da mistura manifestam-se.

Observa-se em todos os diferentes períodos de amostragem que a adição do efluente tratado, proveniente da refinaria de petróleo, nas águas do Rio Atibaia não provocou alterações na qualidade das mesmas, na sobrevivência e no ciclo reprodutivo de *Ceriodaphnia dubia*, atendendo aos padrões das legislações vigentes na área considerada de completa mistura.

Porém, o efluente isoladamente, mesmo após tratamento, apresenta características que tornam o meio impróprio para o desenvolvimento e reprodução do microcrustáceo, sendo observado um ciclo partenogênético tardio. Dentre os parâmetros que se utilizou para explicar este efeito sub-letal, merecem atenção os valores de cloretos, condutividade e amônia, que mesmo após tratamento químico, físico e biológico, ainda apresenta-se em quantidades residuais elevadas.

Não houve uniformidade nos resultados dos testes.

Nos sistemas dinâmicos, como são os rios, e o fluxo do efluente tratado da refinaria, existe a dificuldade em tentar relacionar um parâmetro isoladamente quanto a sua influência sobre a sobrevivência e reprodução dos indivíduos-teste. A toxicidade do efluente em questão está associada à ação conjunta de inúmeros fatores sendo possível inferir sobre a toxicidade isolada de um parâmetro somente quando este se apresenta em quantidades muito superiores às encontradas nos demais pontos.

7. RECOMENDAÇÕES

Como sugestão para demais trabalhos na área fica a análise morfológica do organismo-teste em todas as amostras, inclusive os filhotes produzidos, a fim de verificar se os mesmos se conservam sadios, pois aparentemente após a mistura completa do efluente tratado com as águas do Rio Atibaia, o efeito antes observado no efluente isolado, não se manifesta.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT** – Associação Brasileira de Normas Técnicas - NBR 13373: Ecotoxicologia aquática – Ensaio de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia sp* (Crustacea, Cladocera), Rio de Janeiro, 1995. 12p.
- AMORIM, R.S. **Abastecimento de água de uma refinaria de petróleo: caso REPLAN**. 2005. 193p. Tese (Mestrado em Meio Ambiente) – Universidade Federal Fluminense – Niterói, 2005.
- ANGELIS, D.F. **Estudo das condições físicas, químicas e biológicas do efluente da refinaria de Paulínia – REPLAN e do Rio Atibaia, à montante e jusante, considerando-se a prevenção de danos ambientais**. Relatório Final – Processo 817/2007. Contrato REPLAN-FUNDUNESP. 2008-2009.
- ANGELIS, D.F. **Avaliação da toxicidade (atividade mutagênica, carcinogênica e mutagênica) do efluente da refinaria de Paulínia – REPLAN e das águas do Rio Atibaia, na região de influência do lançamento**. Relatório 4 – setembro de 2010 – Processo 817/2007. Contrato REPLAN-FUNDUNESP. 2009-2010
- ARENZON, A. **Ensaio ecotoxicológicos no monitoramento da qualidade de águas subterrâneas potencialmente impactadas**. 2004. 94 f. Tese (Doutorado em Ecologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.
- BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2ª. Ed. Tradução de Maria Angeles Lobo Recio e Luiz Carlos Marques Carrera. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- BAPTISTA, I.E.; SOARES, C.H.L.; MATIAS, W.G.; LOPES, E.B. Avaliação da toxicidade aguda de efluentes de uma indústria têxtil utilizando *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata* e *Vibrio fischeri* como bioindicadores. In: ESPÍNDOLA, E.L.G.; PASCHOAL, C.M.R.B.; ROCHA, O.; BOHRER, M.B.C.; OLIVEIRA-NETO, A.L. (Editores). **Ecotoxicologia – Perspectivas para o Século XXI**. Editora Rima, São Carlos, p. 75-93, 2000.
- BEATRICI, A.C. **Avaliação da fertilidade e sensibilidade de *Daphnia similis* e *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera) submetidas diferentes tipos de dietas e meios de cultivo**. 2004. 46 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/4285/000454731.pdf?sequence=1>> Acesso em 17/01/2009.
- BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P.A. **Ecotoxicologia Aquática: princípios e aplicações**. São Carlos, RiMa, 2006.
- BOUDOU, A.; RIBEYRE, F. **Aquatic ecotoxicology: fundamental concepts and methodologies**. Vol I. Boca Raton, CRC Press, Florida, Inc., 1989.
- CONAMA nº 357. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Brasília, Diário Oficial da União, 17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>> Acesso em: 12/03/2010.

BRITO, I.R.C. **Efluentes de refinaria de petróleo**: seleção de bactérias autóctones com potencial de biodegradação e redução de toxicidade aguda. 1996. 155p. + Anexos. Tese (Mestrado em Ciências Biológicas-Microbiologia Aplicada) – Universidade Estadual Paulista – Rio Claro, SP, 1996.

CALLISTO, M. & GONÇALVES, J.F.Jr. 2002. A vida nas águas das montanhas. **Ciência Hoje**, 31 (182), p. 68-71.

CALLISTO, M.; GONÇALVES Jr, J.F.; MORENO, P. Invertebrados aquáticos como bioindicadores. In: **Navegando o Rio das Velhas das Minas aos Gerais**. Belo Horizonte. UFMG, 2004. v.1, p. 1-12.

CESAR, A.; SILVA, S.L.R.; SANTOS, A.R. **Testes de toxicidade aquática no controle da poluição**. Universidade Santa Cecília – UNISANTA – Santos, São Paulo, 1997. 37p. Disponível em: <<http://www.unisanta.br/laboratorios/ecotoxicologia/apostilaecotox.pdf>> Acesso em: 20/09/2010.

CETESB - Norma Técnica L5.022/91: Água. Avaliação de Toxicidade Crônica Utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (Cladocera, crustácea). São Paulo: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1991, 25p..

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Variáveis de Qualidade das Águas. 2010. Disponível em:< <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/variaveis.asp>> Acesso em: 28/08/2010.

CLESCERI, L.S., GREENBERG, A.E. & TRUSSELL, R.R. **Standard Methods for Examination of Water and wastewater**. 20th edition. American Public Health Association. Washington (DC). 1998.

COLLARES, S. **Avaliação do uso de recursos hídricos em refinarias de petróleo: um estudo de caso na Petrobras**. 2004. 150p. Tese (Mestrado em Meio Ambiente) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.

COSTA, J.B.; ESPÍNDOLA, E.L.G. Avaliação ecotoxicológica da água e sedimento em tributários do reservatório de Barra Bonita (Médio Tietê Superior, SP). In: ESPÍNDOLA, E.L.G.; PASCHOAL, C.M.R.B.; ROCHA, O.; BOHRER, M.B.C.; OLIVEIRA-NETO, A.L. (Editores). **Ecotoxicologia – Perspectivas para o Século XXI**. Editora Rima, São Carlos, p. 75-93, 2000.

DECRETO ESTADUAL 10.755/77. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/licenciamentoo/legislacao/estadual/decretos/1997_Dec_Est_10_755.pdf> Acesso em: 23/06/2010.

EPS - Environmental Protection Series - 1/RM/21 - Biological test method: Test of Reproduction and Survival Using the Cladoceran *Ceriodaphnia dubia*/ Method Development and Applications Section, Environmental Science and Technology Centre, Environment Canada. 2ª ed., 2007.

HARTMANN, A.C. **Avaliação de um efluente industrial através de ensaios ecotoxicológicos e análises físicas e químicas**. 2004. 85p. Tese (Mestrado em Ecologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Bras.**, 12 (3): 355-381,2008.

MARIANO, J.B. **Impactos ambientais do refino do petróleo**. 2001. 216p. Tese (Mestre em Ciências em Planejamento Energético) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

MASSARO, F.C. **Estudos ecotoxicológicos com *Hydra viridissima* (Cnidaria: Hydrozoa)**. 2006. 108 p. Tese (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos – USP, São Carlos, SP, 2006.

MELÃO, M.G.G. Desenvolvimento e aspectos reprodutivos de cladóceros e copépodos de águas continentais brasileiras. In: POMPÊO, M.L.M. (ed.) **Perspectivas da Limnologia no Brasil**, São Luiz: Gráfica e Editora União, 1999, p. 45-57.

MESSIAS, T.G. **Influência da toxicidade da água e do sedimento dos rios São Joaquim e Ribeirão Claro na bacia do Corumbataí**. 2008. 125p. Tese (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo - USP, Piracicaba, SP, 2008.

NETO, A.C.N.N. **Avaliação de toxicidade aguda e crônica em águas do Rio Jundiá e em efluentes da ETE Novo Horizonte, Jundiá, São Paulo**. 2009. 75p. Tese (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo – São Paulo, SP, 2009.

OECD, 1993. ***Daphnia*, reproduction test**. Draft OECD guideline 202, part II.

ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.A, 434 p. 1988.

ODUM, E.P. **Fundamentos de Ecologia**. Lisboa: Fundação Caloutre Gulbenkian, 2001.

OLIVEIRA-FILHO, E.C.; PARRON, L.M.; FREIRE, I.S.; CRUZ, C.J.D.; MUNIZ, D.H.F.; ROCHA, A.L.A. Utilização do microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* na avaliação da qualidade das águas superficiais em sub-bacias do Rio Preto. In: **IX Simpósio Nacional do Cerrado e II Simpósio Internacional de Savanas Tropicais**, Anais, Brasília – DF, 2008. Disponível em: <http://simposio.cpac.embrapa.br/simposio_pc210/trabalhos_pdf/00683_trab1_ap.pdf> Acesso em: 12/11/2009.

PORTARIA MS n.º 518/2004. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação- Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Brasília, Editora do Ministério da Saúde, 2005. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria_518_2004.pdf>. Acesso em: 23/06/2010.

RAMADE, F. **Ecotoxicologia**. New York John Wiley and Sons, New York, 1987, 2nd Ed.

RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of Aquatic Toxicology**. Washington, Hemisphere Publ., Corp. 666p, 1985. In: DAMATO, M.; SOBRINHO, P.A. **Determinação da Toxicidade Crônica em efluentes finais de refinaria de petróleo para *Ceriodaphnia dubia***. In: 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Anais, Foz do Iguaçu: ABES, p.199-212. 1997. Disponível em: <www.bvsde.paho.org/bvsaidis/aresidua/mexico/01135p04.pdf> Acesso em: 12/06/2010.

ROSA, G.A.B. **Estudo dos efeitos do fármaco Propanolol para *Ceriodaphnia silvestrii* (Cladocera, Crustácea) com ênfase em efeitos na populações.** 2008. 161 p. Tese (Mestrado em Ciências da área de Tecnologia Nuclear - Materiais) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Autarquia associada à Universidade de São Paulo, 2008.

RUPPERT, E.E; FOX, R.F.; BARNES, R.D. **Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva.** 7ª. Ed., São Paulo, Roca, 2005.

SANTO, C.M.E. A indústria de refinação de petróleo: características e tratamento das águas residuárias. **E-LP Engineering and Technology Journal.** Vol. 1, 2010. Disponível em: <<http://revistas.ulusofona.pt/index.php/revistae-lp/article/viewFile/1542/1268>> Acesso em 21/09/2010.

SARATHY, B.P.; HOY, P.M.; DUFF, S.J.B. Removal oxygen demand and acute toxicity during batch biological treatment of a petroleum refinery effluent. **Water Quality Research Journal of Canada**, v.37 (2): 399-411. 2002.

SILVEIRA, M.P. Aplicação do biomonitoramento para avaliação da qualidade da água em rios. **Embrapa Meio Ambiente - Documentos 36.** Jaguariúna, SP, 2004. Disponível em: <http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos_36.pdf> Acesso em: 18/09/2010.

SOLOMON, M.E. **Dinâmica de populações.** Tradução de Jeanette de Toledo Cardoso de Mello. São Paulo: EPU, 1980.

TAKESHITA, E.V. **Simulação numérica da descarga de efluentes líquidos das indústrias do petróleo e gás em mananciais hídricos.** 2003. 82p. Monografia (Curso de Graduação em Engenharia Química)– Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, 2003.

VIEIRA, F.C.S. **Toxicidade de hidrocarbonetos monoaromáticos do petróleo sobre *Metamysidopsis elongata atlantica* (Crustacea: Mysidacea).** 2004. 72p. Tese (Mestre em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** 3ª. Ed. v.1. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – Universidade Federal de Minas Gerais: Editora UFMG, 2005.

WATANABE, H.M. **Bases para a aplicação de índices biológicos no biomonitoramento de ambientes lóticos – comunidade bentônica.** 2007. 120p. Tese (Doutorado em Ecologia) – Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, 2007.

WIECZOREK, A. **Efeito do Efluente da Refinaria de Petróleo REPLAN/PETROBRÁS sobre a Dinâmica populacional de *Daphnia similis*.** 2003. 81p. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em ecotoxicologia aquática) – Instituto de Biociências – IB – UNESP, Rio Claro, 2003.

WIECZOREK, A.; ANGELIS, D.F.; KATAOKA, A.P.A.G.; CONEGLIAN, C.M.R.; OLIVEIRA, V.J.A. Qualidade do Rio Atibaia a jusante e a montante da refinaria REPLAN/PETROBRAS. In: **2º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo & Gás**, Anais, Rio de Janeiro - RJ, 2003. Disponível em: <<http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/2/6160.pdf>> Acesso em 12/09/2010.