



DANIELA CAMARGO DA PALMA

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO SEDIMENTO DOS RESERVATÓRIOS
DE ITUPARARANGA E DO BRAÇO DO RIO GRANDE (SP, BRASIL), COMO
FERRAMENTA DE MONITORAMENTO DA UTILIZAÇÃO DO SULFATO DE
COBRE**

Sorocaba
2021



DANIELA CAMARGO DA PALMA

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO SEDIMENTO DOS RESERVATÓRIOS
DE ITUPARARANGA E DO BRAÇO DO RIO GRANDE (SP, BRASIL), COMO
FERRAMENTA DE MONITORAMENTO DA UTILIZAÇÃO DO SULFATO DE
COBRE**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" na Área de Concentração Recursos hídricos, manejo e monitoramento ambiental.

Orientador: Prof. Dra. Profa. Dra. Viviane Moschini Carlos

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Luiz Martins Pompêo.

Sorocaba
2021

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO em

ciências
ambientais

P171a

Palma, Daniela Camargo da
AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO SEDIMENTO DOS
RESERVATÓRIOS DE ITUPARARANGA E DO BRAÇO DO
RIO GRANDE (SP, BRASIL), COMO FERRAMENTA DE
MONITORAMENTO DA UTILIZAÇÃO DO SULFATO DE
COBRE / Daniela Camargo da Palma. -- Sorocaba, 2021
96 p. : il., tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba
Orientadora: Viviane Moschini Carlos
Coorientadora: Marcelo Luiz Martins Pompêo

1. Chironomus sancticaroli. 2. sulfato de cobre. 3. sedimento.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do
Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Autora: **Daniela Camargo da Palma**

Título: **Avaliação ecotoxicológica do sedimento dos reservatórios de Itupararanga e do Braço do Rio Grande (SP, Brasil), como ferramenta de monitoramento da utilização de sulfato de cobre**

Orientadora: Viviane Moschini Carlos

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de Mestra em Ciências Ambientais. Área de concentração: Recursos hídricos, manejo e monitoramento ambiental pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Viviane Moschini Carlos

Universidade Estadual Paulista – Instituto de Ciência e Tecnologia – Câmpus de Sorocaba

Prof. Dr. Bruno Paes de Carli

Universidade Paulista (UNIP)

Prof. Dr. Frederico Guilherme de Souza Beghelli

FATEC - Itu

Data de aprovação: Sorocaba,

***Aos meus pais, Ivana e João que sempre
acreditaram que a educação
transforma o ser humano.***

***À minha filha Giovanna que desde o seu
nascimento me ensinou que todos
tem o seu limite, alguns mais outros
menos aparente, mas que o seu limite
quem define é você.***

***E, ao meu marido Christiano pelo apoio durante
todo esse trajeto.***

Agradecimentos

A Prof.^a Dr.^a Viviane Moschini-Carlos por me aceitar como sua orientada e pelo apoio e compreensão diante dos obstáculos durante o projeto.

Ao Prof. Dr. Marcelo Luiz Martins Pompêo pela co-orientação, pela disponibilidade nas coletas, pelas conversas sobre política e por todo o auxílio dispensado no laboratório de Limnologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Sorocaba – SP pela oportunidade.

Ao Instituto de biociências da Universidade de São Paulo pela disponibilização da infraestrutura.

A Professora Renata Fracácio por ter me recebido muito bem na disciplina de ecotoxicologia aquática.

A Dra. Felícia, meus mais sinceros agradecimentos por ter me ensinado tanto no cultivo das larvas, pela sua disponibilidade a qualquer momento e toda sua atenção durante todo meu mestrado. Com certeza deixo com você um pedacinho do meu coração, você é sem dúvida uma das melhores pessoas que eu conheci.

A doutoranda Karen Ferreira também, toda minha gratidão pela ajuda no laboratório, nas coletas, na dissertação e a todo momento do estudo, sem sombra de dúvidas você fez com que esse período fosse um pouquinho mais fácil, saiba que você tem uma amiga e apoio quando precisar.

A Daniele Frascareli, a Sheila Cardoso-Silva, a Leila, a Daniele e aos alunos do laboratório de Limnologia da USP: Thais, Aline, Jéssica, Raissa, Ricardo, Gustavo, pela parceria e pelas contribuições. Desejo sucesso a vocês.

Ao Willian Viveiros e a Lucy da CETESB pelo apoio com a cultura dos meus organismos.

Ao doutorando Ivan pelo apoio na confecção dos mapas e pelas conversas.

Ao Dr. Frederico Beghelli, pelas contribuições, principalmente com a estatística.

A Prof.^a Dr.^a Amélia que além de ser minha eterna professora do coração é minha amiga, me ensina de forma contínua em como me tornar uma professora e uma pessoa melhor. Muito obrigada pela disposição em me ajudar sempre.

A Rosana e ao Paulo (irmã e cunhado) da Profa. Amélia, pelo apoio.

As minhas amigas: Angélica, Marli, Tati, Keila, Renata, Alessandra, Vanessa, Sabrina, Rose, Val, Nilza, pelos momentos de “risoterapia”, eles foram essenciais para minha sanidade mental.

Ao meu amigo Paulo pela contribuição na estatística também.

Aos meus amigos professores: Michele, Verônica, Eder, Rafael, Ricardo, Manuel, Maria, Saulo, por me mostrarem que a vida é muito mais do que a gente julga ser certo, por me ensinarem a lutar pelos nossos direitos e ter empatia com o próximo, além de torcerem por mim mesmo que estejamos um pouco distantes.

Ao meu amigo Prof. Dr. Fabio Mesquita do Nascimento, que na graduação tanto me auxiliou.

As minhas amigas Fran, Beth, Renata, Adriana Tatiana e Sonia pela força e pelo carinho.

Ao Prof. Dr. Ricardo, diretor da escola EE Glória Azedia Bonetti, pela compressão, por todos os ensinamentos e por todas as nossas conversas, elas com certeza contribuíram pra me fazer uma profissional melhor.

A todos os meus amigos que de alguma forma participaram desse processo, agradeço pelo apoio e pela torcida.

A minha família, meus pais, irmãos (Camila e Danilo), sogros, cunhados (as), sobrinhos e sobrinhas, em especial ao meu marido Christiano, por acreditarem na minha capacidade. Pelo carinho, ajuda e pela compreensão aos meus momentos de ausência durante esses anos. Amo cada um de vocês de um jeito especial.

“No mesmo instante que recebemos pedras em nosso caminho, flores estão sendo plantadas mais longe. Quem desiste, não as vê!”

William Shakespeare

Never give up

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO SEDIMENTO DOS RESERVATÓRIOS DE ITUPARARANGA E DO BRAÇO DO RIO GRANDE (SP, BRASIL), COMO FERRAMENTA DE MONITORAMENTO DA UTILIZAÇÃO DO SULFATO DE COBRE

As pressões antrópicas que causam impacto direto nos reservatórios de abastecimento de água acarretam o aumento de nutrientes e contribuem para o processo de eutrofização artificial. Esse acréscimo de matéria orgânica acarreta o crescimento da população de organismos produtores, tais como as algas, tornando necessário a utilização de algicidas como o sulfato de cobre para o auxiliar o controle desses organismos. A utilização desse algicida, pode impactar na concentração desse metal no sedimento. Os testes ecotoxicológicos são utilizados no controle desses ecossistemas e contribuem na observação das respostas biológicas diante das condições físicas e químicas do ambiente, portanto, são extremamente necessários para o monitoramento da qualidade ambiental. Nesse contexto o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da toxicidade aguda (96h) e subcrônica no período de 10 dias, em larvas de *Chironomus sancticaroli*, expostas ao sedimento dos reservatórios de Itupararanga-Sorocaba e Rio Grande-São Paulo para análise da letalidade e do comprimento da cápsula encefálica em relação a concentração de metais Cr, Cu, Ni, Pb e Zn no sedimento. A análise da concentração de metais foi realizada nos dois reservatórios e seus valores comparados ao permitido pela Resolução CONAMA 454/2012, pelo Conselho Canadense do Ministério de Meio Ambiente e pelos valores de referência. O reservatório de Itupararanga apresentou concentrações abaixo de Cu, Ni, Pb e Zn e valor acima do TEL (*Threshold Effect Level*) de Cr, enquanto o reservatório Rio Grande apresentou valores acima do PEL (*Probable Effect Level*) para o Cu e para o Pb. Os reservatórios tiveram sua heterogeneidade confirmada com a ACP (Análise de Componentes Principais), com atuação direta da concentração Cu e de a letalidade, principalmente dos pontos do reservatório Rio Grande, RG 4 e RG 9. Os resultados demonstraram que o reservatório Rio Grande apontou índice de toxicidade muito acima do PEL, principalmente em relação ao Cu, ocasionando a letalidade das larvas de *Chironomus sancticaroli*, o que evidencia a necessidade do monitoramento dos reservatórios.

Palavras-Chave: *Chironomus sancticaroli*; sulfato de cobre; reservatório de Itupararanga; reservatório Rio Grande, sedimento, bioensaio agudo; bioensaio subcrônico.

ECOTOXICOLOGICAL EVALUATION OF THE SEDIMENT FROM ITUPARARANGA RESERVOIRS AND THE RIO GRANDE (SP, BRAZIL) ARM, AS A TOOL FOR MONITORING THE USE OF COPPER SULPHATE

Anthropic pressures that directly impact water supply reservoirs cause an increase in nutrients and contribute to the process of artificial eutrophication. This increase in organic matter causes the growth of the population of producing organisms, such as algae, making it necessary to use algicides such as copper sulfate to help control these organisms. The use of this algicide can impact the concentration of this metal in the sediment. The ecotoxicological tests are used in the control of these ecosystems and contribute to the observation of biological responses to the physical and chemical conditions of the environment, therefore, they are extremely necessary for the monitoring of environmental quality. In this context, the objective of this work was to evaluate the effects of acute (96h) and subchronic toxicity over a period of 10 days on *Chironomus sancticaroli* larvae exposed to the sediment of the Itupararanga-Sorocaba and Rio Grande-São Paulo reservoirs to analyze the lethality and the length of the brain capsule in relation to the concentration of metals Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in the sediment. The analysis of the concentration of metals was performed in both reservoirs and their values compared to that allowed by CONAMA Resolution 454/2012, the Canadian Council of the Ministry of Environment and the reference values. The Itupararanga reservoir presented concentrations below Cu, Ni, Pb and Zn and value above the TEL (Threshold Effect Level) for Cr, while the Rio Grande reservoir presented values above the PEL (Probable Effect Level) for Cu and for Pb. The reservoirs had their heterogeneity confirmed with the PCA (Principal Component Analysis), with direct action of the Cu concentration and the lethality, mainly from the points of the Rio Grande reservoir, RG 4 and RG 9. The results showed that the Rio Grande reservoir showed toxicity index much above the PEL, mainly in relation to Cu, causing lethality of the larvae of *Chironomus sancticaroli*, which highlights the need for monitoring of the reservoirs.

Key-words: *Chironomus sancticaroli*; copper sulfate; Itupararanga reservoir; Rio Grande reservoir, sediment, acute bioassay; subchronic bioassay.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Índice de Abrangência Espacial do Monitoramento de Água – 2019 – Estado de São Paulo e suas 22 UGRHIS. Fonte: CETESB, 2019	26
Figura 2.	Mapa com a localização dos Reservatórios de Itupararanga e Rio Grande. Fonte: Biamont-Rojas, 2019 (não publicados).	32
Figura 3.	UGRH 10 - Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos – Sorocaba – Médio Tietê. Fonte: CETESB 2018	33
Figura 4.	Mapa de usos do solo do entorno do reservatório de Itupararanga. Fonte: Frascareli <i>et al.</i> , 2015.	34
Figura 5.	UGRH 6 - Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos – Alto Tietê – Fonte: CETESB 2018	37
Figura 6.	Exemplo conceitual dos limites de efeito de uma substância química associada ao sedimento; Frequência de Efeitos Biológicos Adversos X Concentração Química, adaptado de CCME(1999). Fonte: CCME, 1999	40
Figura 7.	Mapa do reservatório de Itupararanga, com os gradientes de contaminação em relação aos metais. Fonte: Biamont-Rojas (não publicado).	42
Figura 8.	Mapa do reservatório Rio Grande, com os gradientes de contaminação em relação aos metais. Fonte: Biamont-Rojas (não publicado).	43

Figura 9.	Aquário para cultura de organismos, protegido com tecido para retenção dos organismos adultos. Fonte: Acervo pessoal	45
Figura 10.	Frascos com a montagem para os testes dos testes agudos e crônico parcial. Fonte: Acervo pessoal	48
Figura 11.	Fluxograma de trabalho utilizado nos experimentos de toxicidade aguda. Fonte: Autoria própria	50
Figura 12.	Fluxograma de trabalho utilizado nos experimentos de toxicidade crônica. Fonte: Autoria própria	52
Figura 13.	Massa ovígera do mosquito de <i>Chironomus sancticaroli</i> . Aumento de 4x. Fonte: Acervo pessoal	53
Figura 14.	Comprimento ventral da cápsula encefálica de <i>Chironomus sancticaroli</i> . Fonte: Strixino, 1982	54
Figura 15.	Lâminas com as cápsulas cefálica de <i>Chironomus sancticaroli</i> . Fonte: Acervo pessoal.	55
Figura 16.	Confirmação da medida do programa Zen 3.0, com a utilização de lâmina graduada. Fonte: Acervo pessoal. Fonte: Acervo pessoal	55
Figura 17.	Exemplo da medida da cápsula ventral encefálica. Aumento 10x. Fonte: Acervo pessoal	56
Figura 18.	Concentrações Letais CL50 (g.L-1) por teste de sensibilidade. Limite superior e inferior da faixa de sensibilidade de <i>Chironomus sancticaroli</i> ao Cloreto de Potássimo (KCl)	59

Figura 19.	Porcentagem de matéria orgânica no sedimento do reservatório de Itupararanga nos pontos amostrados. Fonte: Autoria própria.	60
Figura 20.	Granulometria do sedimento do Reservatório de Itupararanga nos pontos amostrados	61
Figura 21.	Distribuição de metais totais analisados nos diferentes pontos do Reservatório de Itupararanga. A) Cobre (Cu); B) Chumbo (Pb); C) Cromo (Cr); D) Níquel (Ni); E) Zinco (Zn). Fonte: Autoria própria	63
Figura 22.	Resultado do teste agudo de <i>Chironomus sancticaroli</i> no reservatório de Itupararanga. Parâmetros analisados: A) % de Sobrevivência, B) % de Letalidade, C) % letalidade corrigida, D) pH, E) Temperatura °C, F) condutividade µS/cm, G) OD (Oxigênio Dissolvido). Fonte: Autoria própria	64
Figura 23.	Resultado do teste crônico de <i>Chironomus</i>no reservatório de Itupararanga. Parâmetros analisados: A) % de Sobrevivência, B) % de Letalidade, C) % letalidade corrigida, D) pH, E) Temperatura °C, F) condutividade µS/cm, G) OD (Oxigênio Dissolvido). Fonte: Autoria própria	65
Figura 24.	Média do Comprimento ventral da cápsula encefálica, com desvio padrão, em larvas de <i>Chironomus sancticaroli</i> expostas ao sedimento do Reservatório de Itupararanga com intervalo de confiança de 95%. Fonte: Autoria própria.	66

Figura 25.	Porcentagem de matéria orgânica no sedimento do reservatório do Rio Grande nos pontos amostrados. Fonte: Autoria própria	67
Figura 26.	Granulometria do sedimento do Reservatório Rio Grande nos pontos amostrados. Fonte: Autoria própria	68
Figura 27.	Distribuição dos metais totais analisados nos diferentes pontos do reservatório Rio Grande – SP, em mg.kg ⁻¹ . A) Cobre (Cu); B) Chumbo (Pb); C) Cromo (Cr); D) Níquel (Ni); E) Zinco (Zn). Fonte: Autoria própria	70
Figura 28.	Resultado do teste agudo de <i>Chironomus sancticaroli</i> no reservatório Rio Grande. Parâmetros analisados: A) % de Sobrevivência, B) % de Letalidade, C) % letalidade corrigida, D) pH, E) Temperatura °C, F) condutividade µS/cm, G) OD (Oxigênio Dissolvido). Fonte: Autoria própria	71
Figura 29.	Resultado do teste subcrônico de <i>Chironomus sancticaroli</i> no reservatório Rio Grande. Parâmetros analisados: A) % de Sobrevivência, B) % de Letalidade, C) % letalidade corrigida, D) pH, E) Temperatura °C, F) condutividade µS/cm, G) OD (Oxigênio Dissolvido). Fonte: Autoria própria	72
Figura 30.	Média do Comprimento ventral da cápsula encefálica em larvas de <i>Chironomus sancticaroli</i> expostas ao sedimento do Reservatório do Rio Grande. Fonte: Autoria própria	73

- Figura 31. Ordenação com base na Análise dos Componentes Principais (ACP) de correlação de variáveis físico-químicas do sedimento em contato com os organismos testados no reservatório de Itupararanga e Rio Grande nos testes agudos e76
subcrônicos. Fonte: Autoria própria
- Figura 32. Dendograma (método de Ward e distância euclidiana) com dados da concentração dos metais: Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, matéria orgânica e granulometria, analisados no sedimento dos pontos amostrados dos reservatórios de Itupararanga e Rio Grande.78
. Fonte: Autoria própria

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Parâmetros para o sistema de Coloração Qualitativa do Sedimento de acordo com o Sistema Red, Green and Blue (RGB). Fonte: LEAL, 2017	41
Tabela 2.	Pontos de amostragem realizada em 21/02/2019, código da amostra, respectivas coordenadas geográficas e profundidade na URGHI 6 (Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos – Bacia Hidrográfica do Alto-Tietê). Fonte: Autoria Própria.	42
Tabela 3.	Pontos de amostragem realizada em 26/06/2019, ponto amostral, respectivas coordenadas geográficas e profundidade na URGHI 10 (Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos – Bacia Hidrográfica do Médio-Tietê). Fonte: Autoria Própria.	43
Tabela 4.	Valores utilizados para verificar o potencial ecotoxicológico para biota nos reservatórios. Fonte: Autoria própria	57
Tabela 5.	Valores da concentração Letal (CL50 – 96h, g.L-1) do Cloreto de Potássio (KCl) e dos intervalos de confiança (IC – 95%) de cada teste de sensibilidade com <i>Chironomus sancticarloi</i> . Fonte: Autoria própria	59
Tabela 6.	Frações Granulométricas predominantes no sedimento de Itupararanga nos pontos amostrados. Fonte: Autoria própria	61

Tabela 7.	Concentração total de metais (mg.kg-1) encontrados nos pontos amostrados do Reservatório de Itupararanga. Fonte: Autoria própria	62
Tabela 8.	Média Comprimento Ventral da Cápsula Encefálica - Reservatório de Itupararanga. Fonte: Autoria própria	66
Tabela 9	Frações granulométricas predominantes no sedimento do Reservatório Rio Grande nos pontos amostrados. Fonte: Autoria própria	68
Tabela 10	Concentração total de metais (mg.kg-1) encontrada no sedimento dos pontos amostrados do reservatório do Rio Grande. Fonte: Autoria própria	69
Tabela 11	Média Comprimento Ventral da Cápsula Encefálica - Reservatório Rio Grande (mm). Fonte: Autoria própria	73
Tabela 12	Resultado p-valor no teste de Kruskal-Wallis no bioensaio agudo e subcrônico realizado com as larvas de Chironomus sancticaroli expostas ao sedimento do reservatório de Itupararanga. Fonte: Autoria própria	74
Tabela 13	Contribuição de cada eixo na explicação do arranjo formado na análise de Componentes principais (ACP) com base numa matriz de Correlação de variáveis físico-químicas da água e de variáveis biológicas dos organismos em contato	

com o sedimento do reservatório de Itupararanga
no teste agudo e subcrônico. Fonte: Autoria
própria75

Tabela 14 Correlação das variáveis analisadas com os
componentes principais (eixos) 1 e 2 de uma ACP
com base numa matriz de correlações, no
reservatório Itupararanga e Rio Grande. Em negrito
os valores que mais influenciaram a formação de
seus respectivos arranjos. Fonte: Autoria própria76

Tabela 15 Contribuição de cada eixo na explicação do
arranjo formado na análise de Componentes
principais (ACP) com base numa matriz de
Correlação de variáveis físico-químicas da água e
de variáveis biológicas dos organismos em contato
com o sedimento do reservatório Rio Grande no
teste agudo e subcrônico. Fonte: Autoria própria77

LISTA DE ABREVIATURAS

ANA	= Agência Nacional de Águas
APA	= Área de Proteção Ambiental
APA	= Área de Proteção Ambiental
CBH - SMT	= Comitê da Bacia Hidrográfica – Sorocaba-Médio Tietê
CCME	= Conselho Canadense do Ministério do Meio Ambiente
CETESB	= Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CL50	= Concentração Letal média
CONAMA	= Conselho Nacional do Meio Ambiente
DBO	= Demanda Bioquímica de Oxigênio
DL50	= Dose letal média
EPA	= Environmental Protection Agency
ETEs	= Estação de Tratamento de Esgoto
IAEM	= Índice de Abrangência Espacial do Monitoramento
IBGE	= Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IB	= Instituto de Biociências
IQA	= Índice de Qualidade de Água
IQS	= Índice de Qualidade de Sedimento
®	= Marca Registrada
OD	= Oxigênio Dissolvido
OECD	= Organização para a Cooperação e o Desenvolvimento Econômico
ONU	= Organização das Nações Unidas
PEL	= Probable Effect Level – Nível de Efeito Provável
pH	= potencial Hidrogeniônico
PMSP	= Região Metropolitana do Estado de São Paulo
PNRG	= Política Nacional de Recursos Hídricos
SABESP	= Cia de Saneamento Basico do Estado de São Paulo
SQGS	= Sediment Quality Guideliness
UGRHI	= Unidade de Gestão de Recursos Hídricos
USEPA	= United States Environmental Protection – Agência dos Estados Unidos de Proteção Ambiental
USP	= Universidade de São Paulo
VGQS	= Valores Guia de Qualidade de Sedimento
TEL	= Threshold Effect Level – Nível Limiar de Efeito

Sumário

1.	Introdução	22
1.1.	Importância dos recursos hídricos	22
1.2.	A água no Brasil e no Estado de São Paulo	23
1.3.	Reservatórios do Estado de São Paulo	25
1.4.	Poluição dos ecossistemas aquáticos	27
1.5.	Utilização de sedimento nos testes ecotoxicológicos	28
1.6.	Macroinvertebrados	29
1.7.	<i>Chironomus sancticaroli</i> (Strixino & Strixino, 1981)	30
1.8.	Caracterização da área de estudo	31
1.9.	Reservatório de Itupararanga	32
1.10.	Reservatório Rio Grande	35
1.11.	Objetivos Gerais	38
1.12.	Objetivos específicos	38
2.	Material e métodos	39
2.1.	Área de Estudo	39
2.2.	Organismos-teste	39
2.3.	Manutenção dos organismos-teste – <i>Chironomus sancticaroli</i>	44
2.4.	Avaliação das culturas dos organismos testes	44
2.5.	Coleta de sedimento, ensaios de toxicidade agudo e subcrônico	46
2.6.	Montagem dos experimentos agudo e subcrônico	47
2.7.	Teste de toxicidade aguda	47
2.8.	Teste de toxicidade subcrônica	51
2.9.	Análise de crescimento da cápsula encefálica	54
2.10.	Análise do sedimento	56
3.	Análise estatística	58
4.	Resultados	59
4.1.	Teste de sensibilidade	59

4.2.	Reservatório de Itupararanga	60
4.2.1	Análises físicas e químicas	60
4.2.1.1.	Matéria orgânica	60
4.2.1.2.	Granulometria	60
4.2.1.3.	Análise de metais	61
4.2.2	Bioensaios no Reservatório de Itupararanga	63
4.2.2.1	Letalidade	63
4.3.	Reservatório Rio Grande	67
4.3.1.	Análises físicas e químicas	67
4.3.1.1.	Matéria orgânica	67
4.3.1.2.	Granulometria	67
4.3.1.3	Análise de metais	68
4.3.2.	Bioensaios no Rio Grande	70
4.3.2.1	Letalidade	70
4.3.2.2	Comprimento da cápsula encefálica	72
5.	Análise estatística	74
5.1.	Análise estatística no reservatório de Itupararanga	74
5.2.	Análise estatística no reservatório Rio Grande	74
5.3.	Análise estatística comparativa	77
6.	Discussão	78
7.	Conclusões	85
8.	Referências bibliográficas	86
9.	Apêndice	96

1. Introdução

1.1. Importância dos recursos hídricos

As pressões sob os recursos naturais que o planeta Terra vem sofrendo em vista das influências antrópicas, têm se tornado mais visíveis a cada dia. Por essa razão, o gerenciamento desses recursos é imprescindível para a sobrevivência e manutenção do equilíbrio nos ecossistemas e da preservação da vida, uma vez que a água é um recurso fundamental, porém esgotável.

A água é abundante na maior parte da superfície terrestre, porém precisa ser utilizada de forma sustentável, levando em conta que é o principal constituinte dos seres vivos, além de ser o meio no qual ocorre grande parte de seus processos metabólicos (RICKLEFS, 2005).

O aumento da demanda por água no planeta, num primeiro momento afetou a quantidade desse recurso, porém, visto de uma forma mais ampla e levando em conta o aumento da população, ocorreu também a diminuição na qualidade. Assim, a interferência antrópica faz com que, gradativamente, a qualidade da água que retorna aos corpos d'água seja inferior ao que é retirada (TUNDISI, 2008).

Em razão do aumento da demanda por esse recurso, atualmente, em todo o planeta, o volume total de águas represadas atinge mais de 10.000 km³, ocupando uma área de aproximadamente 650.000 km² (TUNDISI; TUNDISI, 2008).

Os múltiplos usos da água são diretamente ligados às interligações que ocorrem entre os sistemas natural e antrópico.

De qualquer forma, a crise da água no século XXI vai muito além da escassez e do estresse hídrico, mais do que tudo, segundo Bicudo *et al.* (2010), é um problema de gerenciamento e de falta de conhecimento ambiental.

A qualidade dos recursos hídricos tem impacto direto na saúde pública e na qualidade de vida da população. Além disso, o retorno da água de qualidade inferior aos corpos hídricos tende onerar o Estado, visto que para sua utilização, são necessários tratamentos cada vez mais específicos.

O equilíbrio no ecossistema aquático depende dos processos naturais, da interferência antrópica e da interferência da biota existente, que regula a composição química da água, principalmente nos processos aeróbios, onde há consumo de oxigênio e liberação de dióxido de carbono.

Esses organismos da biota, tem um papel crucial no processo de auto regulação dos sistemas, sendo fundamentais para as características físicas, químicas e biológicas da água (RICKLEFS, 2003).

O crescimento desordenado da população humana, ocupando áreas de manancial, bem como o uso inadequado da água potável, têm sido alguns desafios da humanidade, e estão ligados às questões a serem resolvidas para o desenvolvimento sustentável.

É importante ressaltar que os danos ambientais causados por catástrofes, tornam-se insignificantes frente aos cumulativos, muitas vezes imperceptíveis, porém, infringidos ao meio ambiente de maneira inadequada, constante e gradativa (MAZZER; CAVALCANTI, 2004).

Desta forma, a produção de conhecimento sobre os recursos hídricos em conjunto com o monitoramento, podem gerar um aumento na qualidade de vida como um todo, na plenitude de sua diversidade (BEYRUTH, 2006).

1.2. A água no Brasil e no Estado de São Paulo

No Brasil, a utilização dos recursos hídricos vem sendo negligenciada há muito tempo, diante da percepção de que a água seria um recurso inesgotável (BEYRUTH, 1996; SELBORNE, 2001; YAMAGUCHI *et al.*, 2013).

Entretanto, esta falta de conhecimento e consciência ambiental foram abalados pela crise hídrica que ocorreu em 2012, agravada em 2015, especialmente no Estado de São Paulo, com a diminuição das chuvas (SABESP, 2018).

A população mundial, em 2008 atingia 6,6 bilhões e vem aumentando a uma taxa de 2% ao ano. Somos muitos e cada indivíduo usa tanta energia e recursos, que segundo Ricklefs (2010), nossas atividades influenciam e podem desequilibrar todos os processos, físicos, químicos e biológicos no ambiente.

De acordo com as estimativas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2018), a população brasileira cresceu aproximadamente 10,34%, enquanto a população do Estado de São Paulo cresceu 9,0% entre 2006 e 2016. Esse crescimento influencia diretamente o incremento na industrialização, no uso dos agrotóxicos e no uso inadequado da água e do solo (SUSTENTÁVEL, 2005).

Segundo dados do Relatório ANA – Agência Nacional de Águas (2017), 58% das cidades (139 milhões de habitantes), são abastecidos por rios, lagos ou

reservatórios artificiais; 42% (39 milhões de habitantes), são abastecidos por poços e 44 milhões de habitantes dependem da transferência de vazões entre bacias hidrográficas.

Do total de 488,3 m³/s de água que abastecem a população, 390,6 m³/s, ou seja, 79,99% voltam em forma de esgoto. A carga orgânica decorrente do esgoto da população urbana no Brasil, gera 9,1 mil ton. DBO/dia, sendo que 45% não recebem tratamento (esgoto bruto); 43% dos esgotos gerados são coletados e tratados em ETEs (Estações de Tratamento de Esgoto) e 12% são encaminhados para fossas sépticas. Cerca de 5 ton. DBO/dia, passam pelo processo de autodepuração do corpo d'água e mais de 40 milhões de habitantes em 524 cidades discutem de forma conjunta a solução para o esgotamento sanitário.

A gestão de recursos hídricos do Brasil está baseada na Política Nacional de Recursos Hídricos (PNRH), definida na lei n. 9433 de 1997, chamada “Lei das Águas”, que estruturou, orientou e modernizou a gestão de recursos hídricos no País.

O IQA (Índice de Qualidade das águas) é um indicador que analisa parâmetros físico-químicos e biológicos, considerados importantes para sua avaliação, entre eles: temperatura da água, pH (potencial Hidrogeniônico), OD (Oxigênio Dissolvido), DBO, coliformes termotolerantes, nitrogênio total, fósforo total, sólidos totais e turbidez (CETESB, 2017).

Segundo ANA (Agência Nacional de Águas), 2017, os valores de IQA têm mostrado melhoras em diversos pontos de monitoramento no Brasil, no Estado de Minas Gerais, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul e principalmente em São Paulo, porém com uma piora em outros Estados, entre eles o Mato Grosso.

Outro parâmetro utilizado para o monitoramento da água é o fósforo, que indica a poluição por efluentes domésticos e indústrias, ou em áreas agrícolas, com o manejo inadequado do solo e de fertilizantes (ANA, 2017).

Um dos principais problemas relatados no Brasil e no mundo em ambientes aquáticos continentais é a eutrofização acelerada (BEGHELLI *et al.*, 2015). A eutrofização pode ser definida como o aumento da concentração de nutrientes, principalmente do fósforo e do nitrogênio, nos ecossistemas aquáticos, decorrentes da decomposição da carga orgânica presente (ESTEVES, 1998).

O estado de conservação dos mananciais e seu entorno são determinantes para sua qualidade (ANA, 2017), a falta de planejamento urbana, pode acarretar um

aumento na quantidade de nutrientes depositados nos reservatórios e consequentemente o aumento da eutrofização.

A sustentabilidade no setor público e privado está diretamente ligada aos recursos hídricos, tanto superficiais como subterrâneos existentes no Brasil, para tanto, é imprescindível que tenhamos ferramentas para gerenciar e monitorar a qualidade da água.

1.3. Reservatórios do Estado de São Paulo

Historicamente, os primeiros reservatórios foram construídos com uma única finalidade, a irrigação. Porém, isso foi mudado ao longo do tempo e atualmente possuem usos múltiplos, tais como: navegação, abastecimento de água, pesca, geração de energia e recreação (ANA, 2017).

O uso inadequado desses reservatórios e a disposição de esgotos vem causando a degradação desses ambientes e da qualidade da água.

Como os reservatórios são utilizados para os usos múltiplos, a determinação da qualidade da água, a avaliação de futuros impactos e o monitoramento permanente são fundamentais para a compreensão dos processos de integração que ocorrem entre os usos da bacia hidrográfica e determinam o grau de conservação ou deterioração de sua qualidade (TUNDISI; TUNDISI, 2008).

A rede de monitoramento dos recursos hídricos no Estado de São Paulo, consiste em 477 pontos, distribuídos em 22 Unidades de Gestão de Recursos Hídricos (UGRHi), e segundo o relatório da CETESB de 2019, equivale a uma densidade de 1,92 pontos/1000km², e atende uma população estimada pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) de aproximadamente 45 milhões de habitantes.

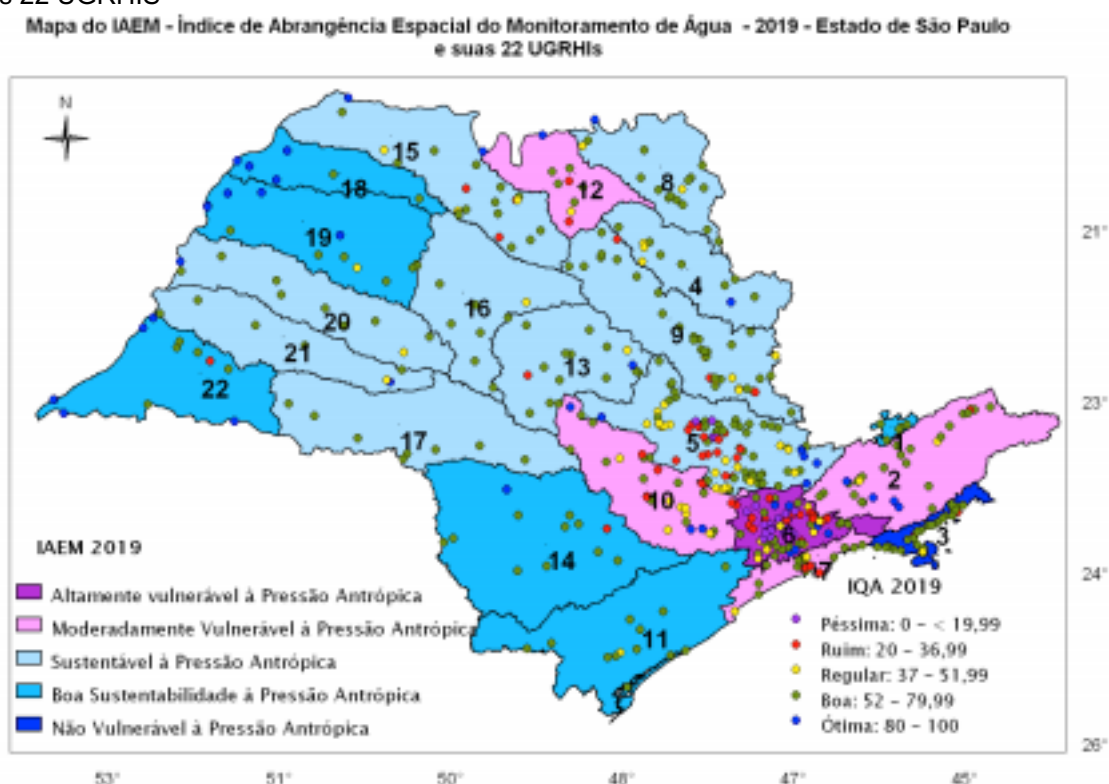
O gerenciamento dessas represas deve apoiar-se em um processo constante de monitoramento e avaliação dos mecanismos, principalmente com embasamento tecnológico em eco tecnologias e eco hidrologia, agregado a um menor valor para o funcionamento do sistema (TUNDISI; TUNDISI, 2008).

Vários estudos têm sido feitos para demonstrar a necessidade de um gerenciamento e monitoramento dos aspectos físicos, químicos e biológicos na tentativa de alertar as autoridades sobre as condições dos nossos mananciais, dentre outros (SILVA, 2013; BEGHELI *et al.*, 2015; POMPEO *et al.*, 2015; CARDOSO-SILVA

et al., 2016; LÓPEZ-DOVAL *et al.*, 2018; FRASCARELI, 2018; MIZAEI, *et al.*, 2020; ALBUQUERQUE, 2020).

Segundo o IAEM (Índice de Abrangência Espacial do Monitoramento)(Figura 1), somente a UGRHI 6 – Alto Tietê, Unidade onde o Reservatório Rio Grande está localizado, tem influência direta na UGRHI 10, onde o Reservatório de Itupararanga se encontra e apresentou o índice de 0,32 (insuficiente), ou seja, com uma densidade de 12,44 pontos/1000km² e foi considerada altamente vulnerável à pressão antrópica (CETESB, 2019).

Figura 1 - Índice de Abrangência Espacial do Monitoramento de Água – 2019 – Estado de São Paulo e suas 22 UGRHIS



Fonte: CETESB, 2019

A quantidade e qualidade da água para geração de energia, produção de bens de consumo, produção de alimentos e para abastecimento residencial é diretamente afetada pela presença de estrutura hídrica, poluição e eventos relacionados ao clima, o que torna extremamente importante o gerenciamento e o monitoramento contínuo dos recursos disponíveis.

O abastecimento das regiões metropolitanas, se dá por meio de sistemas integrados, em que um município compartilha com outro o mesmo sistema de produção de água.

A Região Metropolitana do Estado de São Paulo (RMSP) é abastecida pelas represas: Cantareira, Alto Tietê, Guarapiranga, Rio Grande, Rio Claro e Cotia, que fazem parte do Sistema Integrado Metropolitano (SABESP, 2018).

1.4. Poluição dos ecossistemas aquáticos

Segundo Pompêo, M.L.; Moschini-Carlos, V. (2012), o aumento da concentração de nutrientes, pode causar outros problemas além da eutrofização, tais como: aumento da biomassa de produtores primários, diminuição da penetração da luz, liberação de toxinas, problemas para os sistemas de tratamento de água, entre outros.

O gerenciamento da biomassa de produtores primários é feito, geralmente, com a utilização de algicidas, visto que o aumento desses organismos no reservatório pode interferir de forma negativa na geração de energia, no tratamento da água, além de diminuir a quantidade de oxigênio dissolvido (HULLEBUSCH *et al.*, 2003; LAMPARELLI, 2004; SAMPAIO *et al.*, 2013; PINTO, 2016).

Dentre os algicidas utilizados, é comum a aplicação de sulfato de cobre pentahidratado, devido ao seu baixo custo e por apresentar rápida resposta (BEGHELLI *et al.*, 2015). O tratamento experimental com sulfato de cobre para o controle de algas teve início aproximadamente em 1918, no lago Madison, USA, e desde o início da sua utilização, muitas pessoas tem questionado seus efeitos acumulativos nos organismos (MACKHETHUM; COOLEY, 1952).

A utilização do sulfato de cobre foi intensificada a partir da primeira floração de *Anabaena solitária*, ocorrida nos últimos meses de 1990 (BEYRUTH, 1992). A quantidade utilizada aumentou em progressão geométrica, passando de 1,5 toneladas em 1981 para 23 toneladas em 1982 e 63 toneladas apenas no primeiro trimestre de 1983 (CETESB, 1983). Entre os anos 2010 e 2011, houve aumento de aproximadamente 22 toneladas por ano nas aplicações de sulfato de cobre. Não houve a publicação destes valores nos relatórios referentes aos anos de 2009, 2012 e 2013 (BEGHELLI *et al.*, 2015).

Segundo McKnight, M.D., *et al.* (1983), o controle do crescimento das algas de forma continuada pode acarretar a acumulação de cobre no sedimento, tornando-o tóxico aos organismos bentônicos.

Os metais e os compostos orgânicos sintéticos se adsorvem no material particulado orgânico e são assimilados pelos organismos detritívoros e/ou pelo fitoplâncton, através do qual chegam aos peixes e a toda cadeia alimentar, incluindo o homem (PASCHOAL, 2002).

Durante o ciclo de assimilação, excreção e reassimilação na cadeia alimentar, esses agentes químicos se concentram e se acumulam em níveis bastante superiores em relação à concentração da água (PASCHOAL, 2002).

Nesse sentido, a bioacumulação acontece quando há a transferência dos contaminantes do meio externo para o organismo, e no organismo são observadas concentrações maiores do que no meio, enquanto que a biomagnificação é a transferência do contaminante através da cadeia alimentar (FERNICOLA *et al.*, 2003).

O cobre e seus sub produtos, dependendo da sua distribuição e destino de transformação, podem estar disponíveis para diferentes organismos em vários sub-compartimentos ambientais, em diferentes concentrações (FERNICOLA *et al.*, 2003).

Em 2005, a Resolução CONAMA n. 357/2005, estabeleceu padrões de qualidade esperados para as diferentes classes de qualidade de água e seus respectivos usos. A CETESB (2017), utiliza esses parâmetros estabelecidos pela resolução, como ferramenta para o monitoramento da qualidade da água utilizada para o abastecimento público.

Segundo Pompêo (2017), estudos prévios decorrentes da contínua avaliação de campo, auxiliam as tomadas de decisões para ações, na aplicação de agentes físicos, químicos ou biológicos, de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Resolução CONAMA 467/2015.

1.5. Utilização de sedimento nos testes ecotoxicológicos

O termo sedimento, refere-se ao compartimento dos ambientes aquáticos que são compostos de material particulado oriundos de diversas fontes (CCME, 1999). A qualidade dos sedimentos tem suma importância na vida dos organismos aquáticos, visto que eles estão diretamente expostos às interações com os componentes químicos.

O sedimento tem sido cada vez mais utilizado em estudos de avaliação da qualidade de ecossistemas aquáticos, por retratar condições históricas da influência de atividades antrópicas sobre esses ambientes, nem sempre detectáveis pelo uso de variáveis da água (CETESB, 2017).

Para tanto, são utilizados estudos de ecotoxicologia, no intuito de verificar a influência das interações das atividades humanas com o ambiente, principalmente, determinando o efeito tóxico das substâncias químicas e dos agentes físicos sobre os organismos vivos, incluindo os caminhos de transferência desses agentes e sua interação com o ambiente (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

O armazenamento de metais no sedimento vindos das águas superficiais, tem sido usados em vários estudos (Dickman, *et al.*, 1992; Besser *et al.*, 1995; Pompêo *et al.*, 2013, 2015; Cardoso-Silva, 2018; Silva, 2017; Leal, 2018; Melo *et al.*, 2019), onde os macroinvertebrados têm um papel fundamental, porque eles vivem em contato direto com esse ambiente.

Os testes ecotoxicológicos em conjunto com as análises físicas e químicas, tanto do sedimento como da água, podem e devem ser usados como ferramentas na avaliação dos recursos hídricos, que auxiliam o monitoramento e as tomadas de decisões (POMPÊO, 2008).

1.6. Macroinvertebrados

Os macroinvertebrados têm sido utilizados em vários estudos como organismos indicadores de qualidade dos ecossistemas aquáticos, sendo ferramentas importantes no fornecimento de dados que possibilitam a análise de ambientes com diferentes níveis de toxicidade (DICKMAN, 1992; FONSECA, 1997; CORBI, 2010; CAMPAGNA, 2013; KUHLMANN, 2015; REBECHI, 2016; ROMAN, 2017).

As comunidades de macroinvertebrados bentônicos retratam a diversidade ecológica do meio aquático por serem formadas por populações de habitat e hábitos alimentares variados. Alguns desses organismos respondem, especialmente bem, aos impactos de origem antrópica e têm sido utilizados como indicadores da qualidade ecológica para toda a biota aquática, principalmente, por viverem em situações extremas (CETESB, 2013).

Os insetos aquáticos dentro dos macroinvertebrados formam o grupo taxinômico mais utilizado no biomonitoramento (BAPTISTA, 2008)

Destacam-se entre os organismos indicadores dessa comunidade, as larvas dos insetos da família Chironomidae (Díptera), pois habitam todos os tipos de ambientes aquáticos e compreendem muitas vezes a maior parte da biomassa de invertebrados (BONANI, 2010).

As larvas de quironomídeos compreendem uma grande parte dos invertebrados em contato direto com a água e com o sedimento. Fazem parte da dieta de outros invertebrados, além dos peixes, sendo considerados portanto, um importante vetor de transferência de contaminantes para os demais níveis tróficos (DICKMAN *et al.*, 1992; FONSECA; ROCHA, 2004).

1.7. *Chironomus sancticaroli* (Strixino & Strixino, 1981)

O *Chironomus sancticaroli* é um organismo com grande importância ecológica, principalmente por ter seu primeiro registro descrito Strixino & Strixino em 1981 no estado de São Paulo (TRIVINHO-STRIXINO, 2011).

A espécie possui um ciclo de vida curto, aproximadamente 21 dias, e quatro estágios: ovo, larva (I instar, II instar, III instar e IV instar) pupa e adulto, sendo que todos os estágios larvais possuem um alto percentual de sobrevivência. São animais coletores, ingerindo silte, detritos, perifíton e outras partículas disponíveis na superfície do sedimento (DELL'ACQUA, 2017).

A espécie tem sido utilizada em diversos testes ecotoxicológicos (FONSECA, 1997; DORNFELD, 2006; BONANI, 2010; CHIBA, *et al.*, 2011; REBECHI, 2012; REBECHI; NAVARRO-SILVA, 2012; RICHARDI *et al.*, 2013; BEGHELLI, 2016, 2018; ALBUQUERQUE, F.P, 2020).

Os testes de toxicidade são imprescindíveis para a análise dos efeitos causados ao ambiente, principalmente quando as análises químicas e físicas por si só, não são capazes de demonstrar tais efeitos, tratando-se de uma importante ferramenta no gerenciamento e monitoramento de qualidade de água nos reservatórios (AZEVEDO *et al.*, 2003).

Vários fatores contribuem para a utilização dos *Chironomus sancticaroli* nos programas de monitoramento da água e sedimento, entre eles, a facilidade na manutenção e manipulação da cultura em laboratório (FONSECA, 1997; FONSECA; ROCHA, 2004).

Os *Chironomus spp* são suscetíveis as alterações de qualidade do seu habitat. A deformidade do mento, alterações da cápsula encefálica, alterações no tamanho da população e letalidade, são algumas das respostas aos efeitos agudos e crônicos da exposição à alterações químicas e físicas, que podem ter origem antrópica ou natural (DICKMAN, *et al.*, 1992; BESSER *et al.*, 1995; FONSECA, 1997; DORNFELD *et al.*, 2006; BONANI, 2010; BEGHELLI, 2016; ALBUQUERQUE, F.P, 2020).

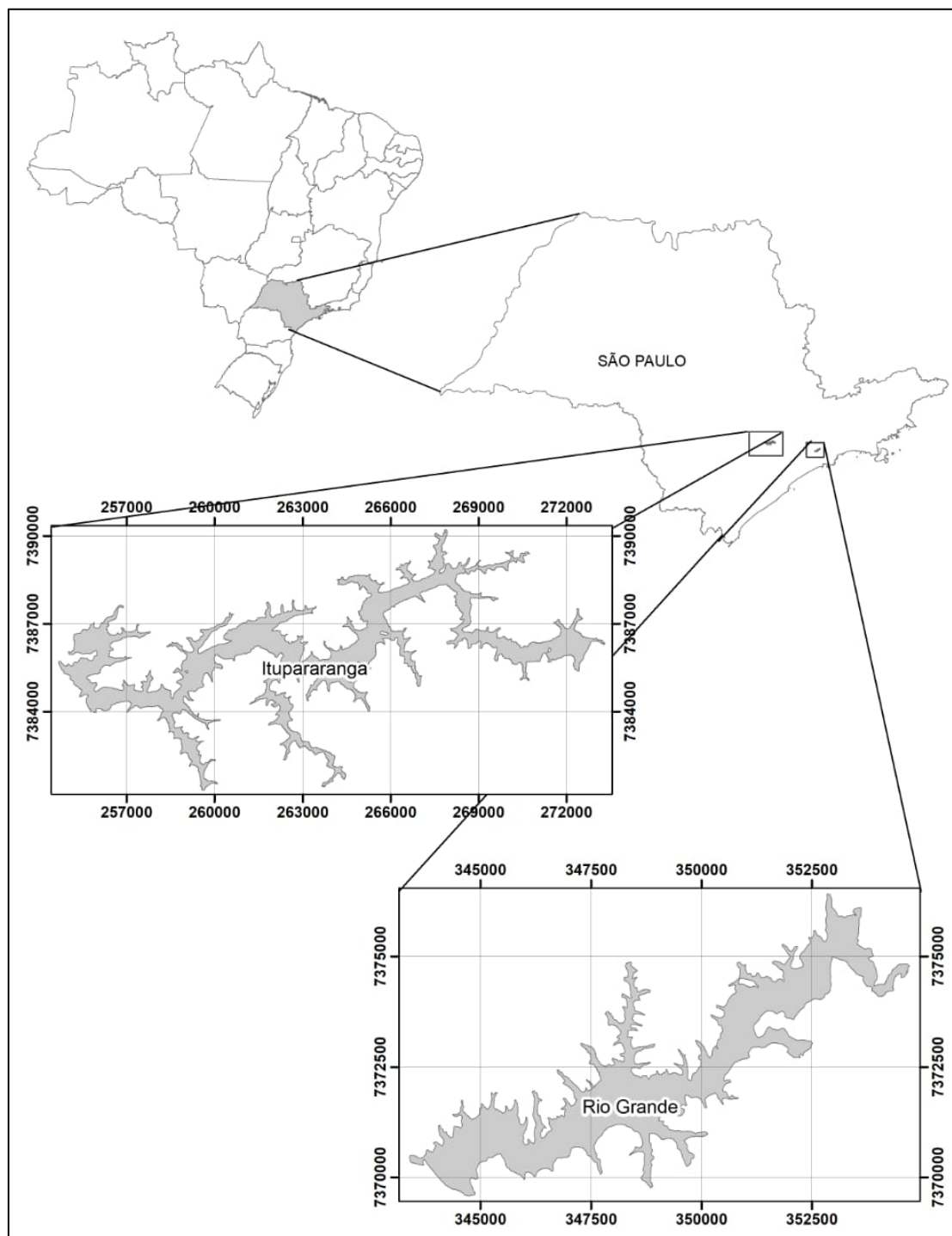
Segundo Di Veroli *et al.* (2010), as deformidades morfológicas em larvas de chironomídeos, foram relatadas pela primeira vez em 1968 por Brinkhurst *et al.* Desde então, diferentes estudos vêm sendo efetuados para evidenciar as relações entre essas alterações com diferentes componentes tóxicos em sedimentos aquáticos (BISTHOVEN *et al.*, 1992; FONSECA, 1997; DORNFELD, 2006; REBECHI, 2012; DI VEROLI *et al.*, 2014; REBECHI, 2014; SILVA *et al.*, 2015; BEGHELI, 2016; CETESB, 2017;

1.8. Caracterização da área de estudo

A figura 2, apresenta a localização dos reservatórios de Itupararanga e de Rio Grande no Brasil-São Paulo-SP.

O reservatório de Itupararanga possui Índice de Qualidade de Sedimento dentro dos limites considerados excelente e bom e o manejo do fitoplâncton não é feito com sulfato de cobre, enquanto o reservatório Rio Grande, possui parâmetros considerados ruim e muito ruim, quanto à disponibilidade de metais e se utiliza desse tipo de manejo (CETESB, 2017).

Figura 2 - Mapa com a localização do Reservatório de Itupararanga e Reservatório Rio Grande no Brasil.



Fonte: Biamont-Rojas (não publicado).

1.9. Reservatório de Itupararanga

A Bacia Hidrográfica do Rio Sorocaba e Médio Tietê, da qual o reservatório de Itupararanga faz parte, foi definida como Unidade de Gerenciamento de Recursos

Hídricos - UGRHI 10 - Tietê/Sorocaba (Figura 3), pela Lei n. 9034/94 de 27/12/1994, e está localizada na região centro-sudeste do Estado de São Paulo. Abrange a área de 53 municípios, com 20 deles em área rural e os principais acessos, a partir da capital de São Paulo, são as rodovias Castelo Branco (SP-280) e Raposo Tavares (SP-270) (CETESB, 2016). Compreende, principalmente as cidades de São Roque, Mairinque, Votorantim, Ibiúna e Piedade (FABH-SMT, 2018).

O reservatório de Itupararanga tornou-se APA – Área de Proteção Ambiental no final de 1998, de acordo com a Lei n. 10.100 de 01/12/1998 e teve seu perímetro ampliado através da Lei Estadual n. 11.579 de dezembro de 2003, quando houve a incorporação das áreas de cabeceira da sua bacia hidrográfica (FABH-SMT, 2018).

Figura 3. UGRHI 10 – Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos – Sorocaba – Médio Tietê.



Fonte: CETESB, 2018.

Os rios Sorubçu, Una e Sorocamirim, são formadores do Rio Sorocaba e desembocam na Represa de Itupararanga, essa por sua vez tem aproveitamento de usos múltiplos da água, tais como: fornecimento energético, lazer, turismo e abastecimento de água (FABH-SMT, 2018).

A extensão da represa é de 40 quilômetros e a capacidade total do reservatório é estimada em 355.000.000 de litros de água. Possui aproximadamente 936 Km² de área, 26 Km de canal principal e 192 Km de margens. O volume útil da represa é de 286 milhões de m³, com potência instalada de 55 MW e produção média anual de 150 Gw/h, que é utilizada apenas pela Indústria Votorantim (FABH-SMT, 2018).

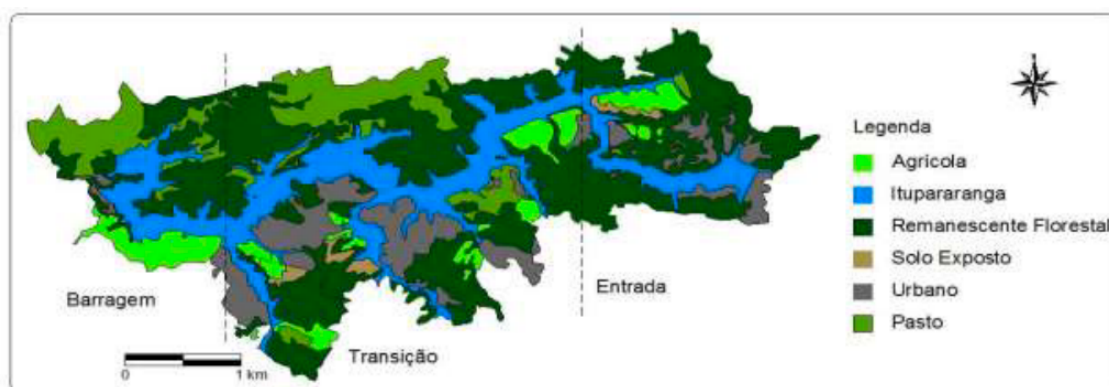
O reservatório é responsável por 63% da água com tratamento convencional, destinada para o abastecimento de cerca de 800.000 pessoas de várias cidades, entre elas Mairinque, Alumínio, Piedade, Votorantim e Sorocaba (ROSA *et al.*, 2015; MELO, *et al.*, 2020).

De acordo com o Comitê da bacia hidrográfica Sorocaba-Médio-Tietê, a disponibilidade per capita da UGRHI 10 em 2017 (1686,11 m³/ hab. ano) está entre as menores do estado, sendo superior apenas a Bacia do PCJ (Bacia Hidrográfica dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí) do Alto Tietê, todas bacias com índices elevados de urbanização e industrialização.

Conforme recomendação da ONU (Organização das Nações Unidas), um valor menor que 1700 m³/hab.ano caracteriza uma situação de estresse hídrico e, considerando as projeções populacionais, no ano de 2017, a bacia de Sorocaba e Médio Tietê, atingiu este limite e passou a apresentar tal condição (CETESB, 2017).

Embora o reservatório de Itupararanga esteja dentro de uma APA, é possível visualizar diversas fontes de poluição no seu entorno (Figura 4), tais como: descarga de efluentes domésticos não tratados, o escoamento superficial agrícola tanto das plantações próximas como de outras cidades vizinhas (ROSA *et al.*, 2015).

Figura 4 – Mapa de usos do solo do entorno do reservatório de Itupararanga



Fonte: Frascareli *et al.* 2015

Nas margens da represa de Itupararanga, além do uso agropecuário, tem sido observado o aumento de áreas ocupadas por empreendimentos imobiliários, como chácaras e casas de recreio, além do aumento de loteamentos que desconsideram critérios ambientais em sua implementação; uso intensivo de irrigação, utilização indiscriminada de agrotóxicos e ainda a falta de zoneamento territorial (MANFREDINI, 2018).

A UGRHI 10 é a quarta mais populosa do Estado de São Paulo, 12,4% da população urbana não recebe o serviço de coleta de esgoto, ou seja, mais de 222.000 habitantes. Além disso 34,2% do esgotamento sanitário não é tratado, despejando 32.025 kg DBO/dia nos cursos fluviais (CETESB, 2017).

O principal problema da UGRHI 10 é a redução gradual da qualidade do principal manancial da Bacia do Sorocaba. O Reservatório de Itupararanga, está em processo contínuo de eutrofização, isto é, o incremento de nutrientes essenciais em ambiente aquático (Santos, 2014) e consequente aumento da biota associada à essa disponibilidade.

Muito provavelmente esse cenário contribui para que o IQA dos últimos 5 anos vem decaindo de bom a regular. Esse fato, contribui para que seja necessário se atentar ao crescimento populacional na bacia, principalmente em relação a intensificação das atividades industriais e agrícolas (CETESB, 2017).

Além disso, o reservatório de Itupararanga recebe as cargas poluidoras de Vargem Grande Paulista e Ibiúna, que ainda possuem sistema de tratamento de esgotos deficientes (CETESB, 2017).

1.10. Reservatório Rio Grande

A Bacia Hidrográfica da Billings ocupa um território de 58.280,32 hectares e está localizada na porção sudeste da Região Metropolitana de São Paulo. O clima predominante na região apresenta características tropicais e subtropicais, com temperatura média de 19°C (CABOPIANCO; WHATELY, 2002).

Embora a Bacia esteja inserida no Domínio da Mata Atlântica, o avanço da urbanização e outras atividades antrópicas tem acelerado o desmatamento das matas ciliares (CABOPIANCO; WHATELY, 2002).

Atualmente, na Represa Billings (Figura 5) há dois importantes mananciais que abastecem a RMSP, o Reservatório Rio Grande (localizado no braço Rio Grande,

isolado do restante da represa) e o braço Taquacetuba. O primeiro reservatório abastece 1,2 milhões de pessoas na região do Grande ABC Paulista, enquanto o segundo braço reverte água para a Represa Guarapiranga, segunda maior represa de abastecimento público da RMSP, que atende a 3,8 milhões de pessoas (CARDOSO-SILVA *et al.*, 2014).

Até a década de 1920, a questão pública dos recursos hídricos foi exclusiva dos setores de saneamento e abastecimento, sempre pressionados pela opinião pública. Devido à demanda urbana sempre crescente de energia, nessa época o grande capital multinacional representado pela Light & Power, entrou na disputa pelas águas da cidade de São Paulo e recebeu a concessão das águas da cidade de São Paulo (VICTORINO, 2003).

A gestão dos recursos hídricos no país realizou-se como “manobra de bastidores”, onde os protagonistas representavam os interesses econômicos e políticos mais poderosos e organizados (VICTORINO, 2003).

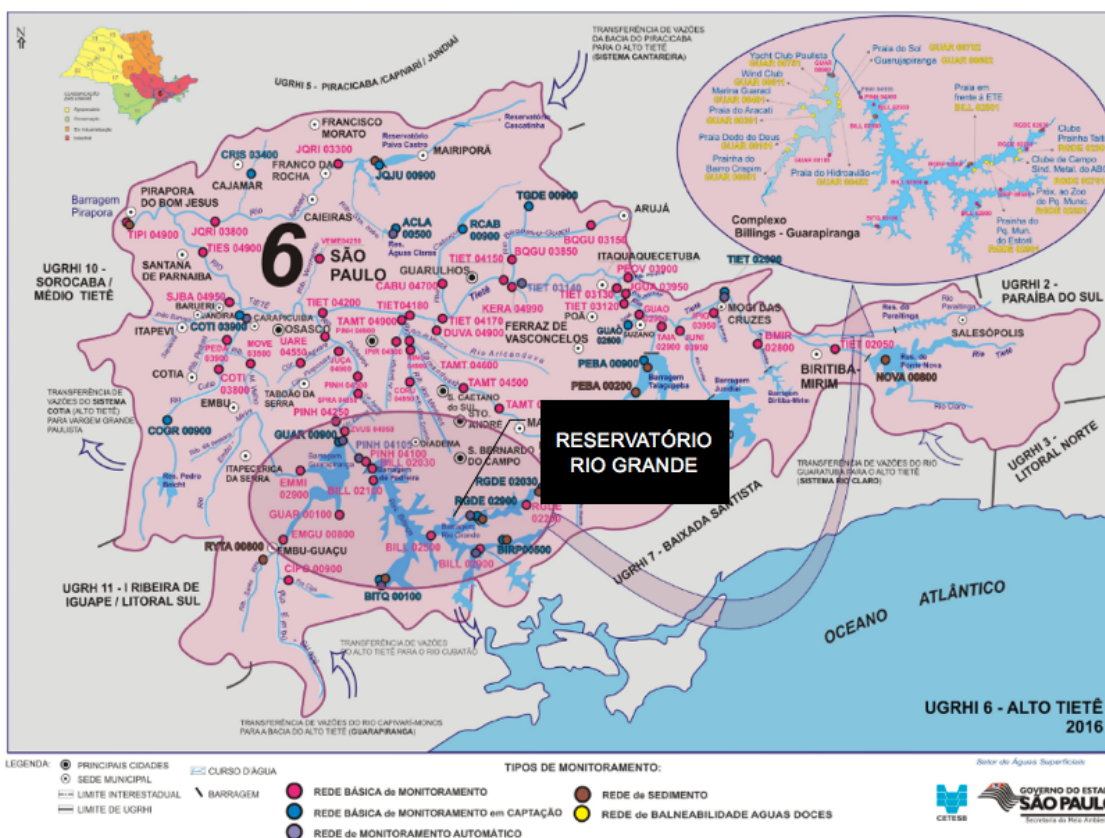
O reservatório Rio Grande é um dos principais formadores da Bacia Hidrográfica da Billings, juntamente com os afluentes: Ribeirão Pires; Rio Pequeno; Rio Pedra Branca; Rio Taquacetuba; Ribeirão Bororé; Ribeirão Cocaia; Ribeirão Guacuri; Córrego Grota Funda e Córrego Alvarenga (VICTORINO, 2003).

Em 1982, devido a grande quantidade de esgotos, que resultaram em sérios problemas de contaminação por algas cianofíceas, algumas potencialmente tóxicas, surgiu a necessidade de interceptação total do Braço do Rio Grande, através da construção da Barragem Anchieta, para garantir o abastecimento de água do ABC, iniciado em 1958 (CABOPIANCO; WHATELY, 2002).

Em 1989 foi promulgada a Constituição do Estado de São Paulo, e com o agravamento do quadro ambiental e da pressão da população, o gerenciamento dos recursos hídricos foi enfatizado pelo artigo 205, que garantiu a participação da sociedade civil no Sistema Integrado de Gerenciamento de Recursos Hídricos em conjunto com órgãos estaduais e municipais (CABOPIANCO; WHATELY, 2002; VICTORINO, 2003).

Já o artigo 46 da Constituição Estadual de 1989, dispôs a paralisação total do bombeamento das águas do Tietê. No entanto, em 1992 a Secretaria Estadual do Meio Ambiente aprova a resolução que restringe o bombeamento a situações emergenciais, entre elas: ameaça de enchentes e riscos de colapso na produção de energia elétrica (CABOPIANCO; WHATELY, 2002).

Figura 5 - UGRH 6 – Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos – Alto Tietê



Fonte: CETESB 2018

Em 1993, definitivamente, houve a restrição do bombeamento das águas do Tietê, exclusivamente quando há ameaça de enchente, decisão concedida pelo CONSEMA (Conselho Estadual do Meio Ambiente). Essa prática acontece até os dias de hoje, o que compromete consideravelmente a qualidade do Reservatório (CABOPIANCO; WHATELY, 2002).

Em 1997, o Governo Estadual passou a monitorar os reservatórios pertencentes à Bacia Billings e já nessa época verificou-se a contaminação por metal, associado ao bombeamento das águas dos rios Tietê e Pinheiros e à remobilização do sedimento da Represa (CABOPIANCO; WHATELY, 2002).

Em agosto de 2000, teve início a operação de bombeamento da Represa Guarapiranga, como iniciativa à ampliação da Billings para o abastecimento, através do Braço Taquacetuba, e apesar de vários estudos demonstrarem que tal ação contaminaria permanentemente a Represa Guarapiranga por metais e algas potencialmente tóxicas, sua implantação foi autorizada (CABOPIANCO; WHATELY, 2002).

A qualidade da água, do sedimento e dos peixes apresentados no Braço do Rio Grande, demonstram um ambiente eutrofizado, em desacordo com os padrões de qualidade para a classe vigente, sujeito a impactos intermitentes e deletérios para as comunidades aquáticas (CABOPIANCO; WHATELY, 2002).

No período de 1989 a 1999, o manancial perdeu cerca de 6,6% de sua cobertura vegetal, teve um crescimento urbano na ordem de 31,7%, e mais de 45% da ocupação se deu em áreas com restrições de assentamento, sem nenhum planejamento (CABOPIANCO; WHATELY, 2002).

Portanto, pode-se inferir que os estudos já apontavam um aumento da ocupação desordenada das áreas de manancial e ainda um aumento no risco ambiental.

O lançamento dos esgotos domésticos sem tratamento nas águas dos rios, reservatórios, estuários e regiões costeiras reduz sua qualidade, restringindo seus múltiplos usos e contribuindo para o aumento da ocorrência de doenças de veiculação hídrica, causadas pelo contato primário ou pela ingestão de água contaminada (Otomo *et al*, 2015).

1.11. Objetivos Gerais

Avaliar os efeitos da toxicidade aguda e crônica em larvas de *Chironomus sancticaroli*, descrito por Strixino & Strixino em 1981, expostas ao sedimento dos reservatórios de Itupararanga e Rio Grande, em relação à letalidade e ao comprimento da cápsula ventral encefálica, com o intuito de comparar a relação desses parâmetros à disponibilidade de metais.

1.12. Objetivos específicos

- Utilizar testes ecotoxicológicos como ferramenta para avaliação do grau de toxicidade das classes de sedimentos com o organismo teste selecionado.
- Verificar se há relação entre a concentração de metais nos reservatórios com os resultados dos testes ecotoxicológicos
- Analisar a incidência de deformidade no mento

- Comparar os efeitos nos organismos expostos no reservatório onde há aplicação de sulfato de cobre como algicida e em um reservatório onde essa prática não se aplica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. ÁREA DE ESTUDO

Para que houvesse um estudo comparativo no que se refere, ao comportamento fisiológico das larvas de *Chironomus sancticaroli*, os locais escolhidos para coleta de amostras foram o reservatório de Itupararanga e o reservatório Rio Grande, ambos localizados no Estado de São Paulo.

A determinação da qualidade do sedimento é feita com a utilização de valores pré-estabelecidos, associados a presença e ausência de efeitos tóxicos à biota. Os Valores-Guia de Qualidade de sedimento (VGQS), estabelecidos pelo Conselho Canadense do Ministério do Meio Ambiente (CCME) são amplamente reconhecidos pelos pesquisadores (FRASCARELI, 2016).

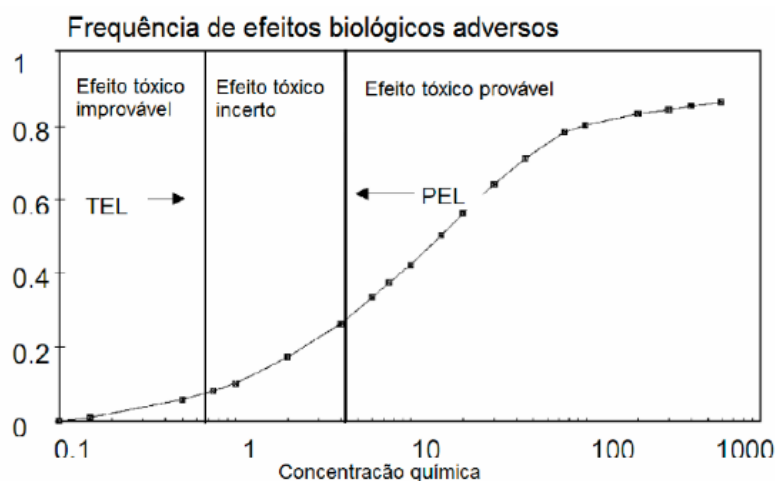
Os VGQS canadenses foram desenvolvidos, a fim de proteger todas as formas de vida aquática nos quais: acima de uma determinada concentração o efeito tóxico é provável é o PEL (Probable Effect Level), improvável abaixo do valor de TEL (Threshold Effect Level) e incerto entre os valores de TEL e PEL, conforme demonstrado na figura 6 (CCME, 1999).

Portanto, a escolha dos reservatórios foi feita através da análise prévia da concentração de metais nos sedimentos e esses foram classificados de acordo com os VGQS estabelecidos pelo *Sediment Quality Guidelines – SQGs* (CCME, 1999).

Os reservatórios foram selecionados por possuírem o IQS (Índice de Qualidade de Sedimento) antagônicos, ou seja, o reservatório de Itupararanga tem a qualidade do sedimento, considerada boa e ótima, enquanto o reservatório do Rio Grande tem seu sedimento, sendo considerado ruim e péssimo, de acordo com as normas da Resolução CONAMA n. 454/2012, principalmente no tangente à disponibilidade dos metais Cr, Cu, Pb, Ni e Zn. (CETESB, 2017).

Portanto, a escolha dos reservatórios foi feita através da análise prévia da concentração de metais nos sedimentos e esses foram classificados de acordo com os VGQS estabelecidos pelo *Sediment Quality Guidelines – SQGs* (CCME, 1999).

Figura 6 – Exemplo conceitual dos limites de efeito de uma substância química associada ao sedimento; Frequência de Efeitos Biológicos Adversos X Concentração Química, adaptado de CCME(1999)



Fonte: CCME, 1999

Os reservatórios foram selecionados por possuírem o IQS (Índice de Qualidade de Sedimento) antagônicos, ou seja, o reservatório de Itupararanga tem a qualidade do sedimento, considerada boa e ótima, enquanto o reservatório do Rio Grande tem seu sedimento, sendo considerado ruim e péssimo, de acordo com as normas da Resolução CONAMA n. 454/2012, principalmente no tangente à disponibilidade dos metais Cr, Cu, Pb, Ni e Zn. (CETESB, 2017).

A construção dos mapas indicando a qualidade do sedimento de cada reservatório, foi feito de acordo com IQS, descrito por Leal, 2018.

Esse parâmetro, delimita os valores de um composto, levando em conta seu efeito biológico num determinado organismo modelo e os valores regionais de referência (VPR) que delimitam os valores basais naturais do local estudado (LEAL, 2018).

O IQS foi organizado em cinco classes de qualidade ordenadas do menor ao maior potencial ecotoxicológico, sendo elas: “excelente”, “bom”, “regular”, “ruim” e “péssimo”, conforme metodologia descrita por Silva, 2013 e Leal *et al.*, 2018.

Após a quantificação de metais (Cr, Cu, Ni, Pb e Zn) dos reservatórios de Itupararanga e do Rio Grande, os pontos foram classificados de acordo com o IQS e plotados para melhor visualização (Figuras 7 e 8).

Os mapas qualitativos de metais, dentre eles o cobre, elaborados por Biamont-Rojas (dados não publicados), serviram como parâmetro para as coletas dos

sedimentos desse estudo. Os mapas foram construídos com o sistema de coloração em RGB (Red, Green and Blue), de acordo com a tabela 1, para uma melhor comparabilidade com outros órgãos ambientais de importância regulatória política e social.

Tabela 1 - Parâmetros para o sistema de Coloração Qualitativa do Sedimento de acordo com o Sistema *Red, Green and Blue* (RGB)

IES: Classes	Limites/Intervalos	Potencial Ecotoxicológico
Excelente	$0\mu\text{g/kg}$ (sedimento seco) $\leq (M) < \text{VRR}$	Região com mínimo potencial ecotoxicológico. Concentração basal.
Bom	$\text{VRR} \leq (M) < \text{ISQL}$	Região com possibilidade de contaminação antrópica, mas com baixa probabilidade de risco ecotoxicológico.
Regular	$\text{ISQL} \leq (M) < \text{PEL}$	Região com contaminação antrópica, atividade ecotoxicológica desconhecida e com risco médio.
Ruim	$\text{PEL} \leq (M) < 10*\text{PEL}$	Região com alta atividade ecotoxicológica e alto risco
Péssimo	$10*\text{PEL} \leq (M) < + \infty$	Região com máximo efeito ecotoxicológico e máximo risco

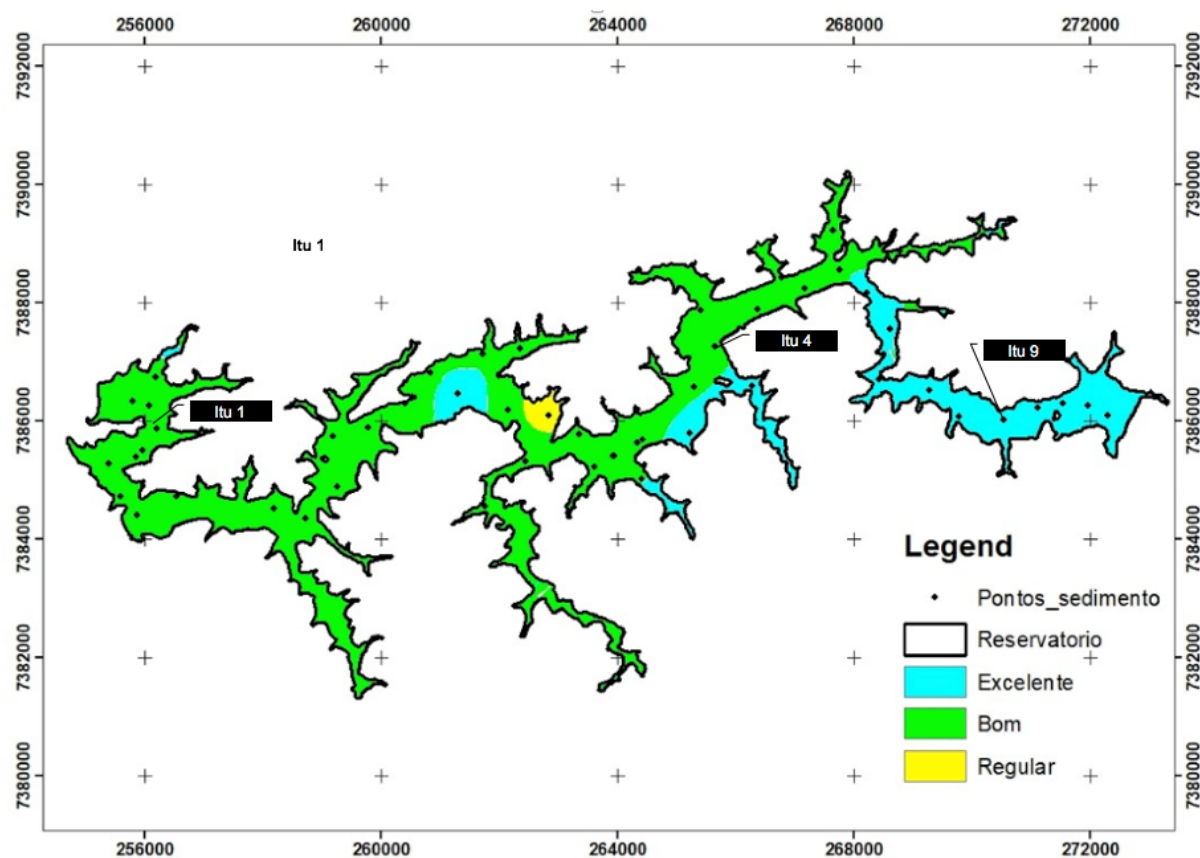
Fonte: LEAL (2017)

M (Metal); ISQL – Índice de Qualidade de Sedimento; TEL – Threshold effect level (concentração abaixo da qual raramente são esperados efeitos deletérios na biota); PEL – Probable effect level (concentração acima da qual onde são esperados efeitos adversos aos organismos).

As análises para este estudo foram feitas através de coleta do sedimento em 3 pontos no reservatório de Itupararanga em fevereiro de 2019 e no reservatório Rio Grande em junho de 2019.

Os experimentos no reservatório de Itupararanga (pontos: ITU 1, ITU 4 e ITU 9 (Figura 7)) e no reservatório do Rio Grande (pontos: RG 1, RG 4 e RG 9 (Figura 8)), foram realizados com o intuito de abranger a análise em sedimentos com parâmetros bom e ótimo, ruim e péssimo, para comparação dos resultados.

Figura 7 – Mapa do reservatório de Itupararanga, com os gradientes de contaminação em relação aos metais



Fonte: Biamont-Rojas (não publicado)

A coleta no reservatório Itupararanga foi feita no dia 21/02/2019, e as coordenadas dos pontos utilizados estão descritas na tabela 2:

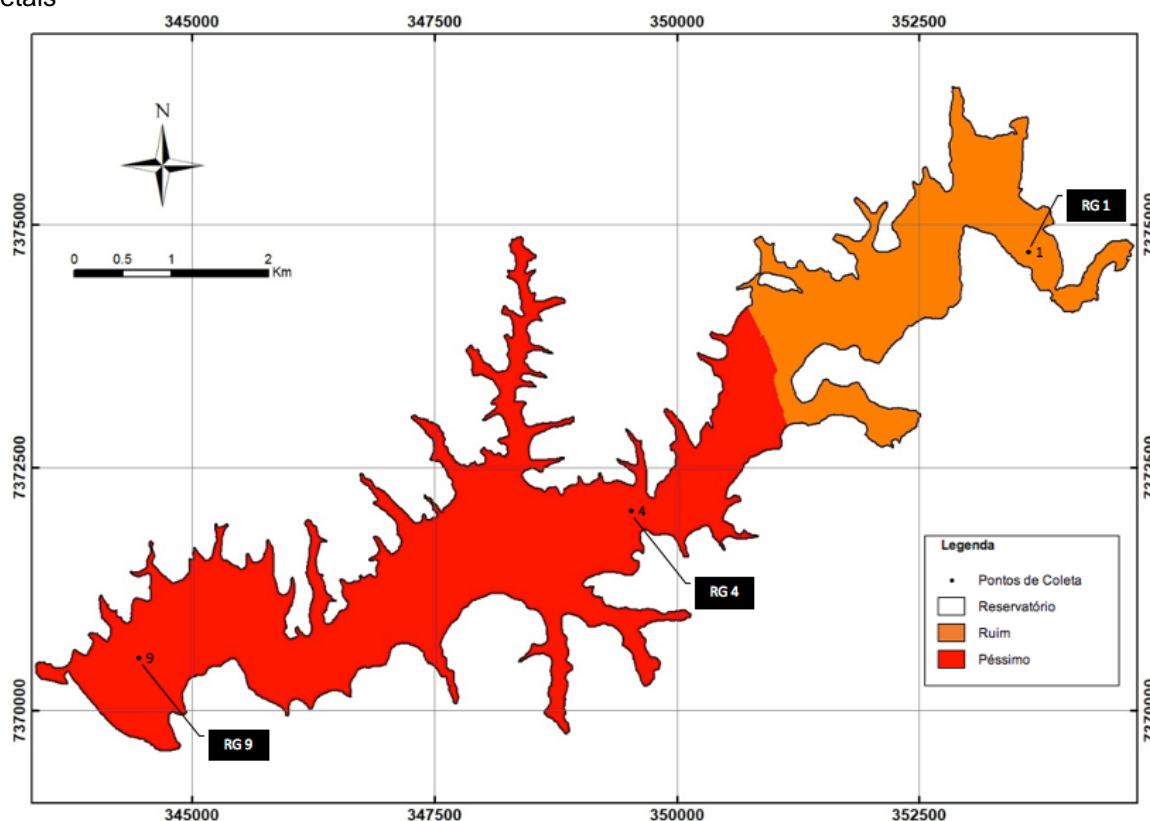
Tabela 2. Pontos de amostragem realizada em 21/02/2019, código da amostra, respectivas coordenadas geográficas e profundidade na URGHI 6 (Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos – Bacia Hidrográfica do Alto-Tietê)

Ponto amostral	Coordenadas Geográficas	Profundidade (m)
Itu 01	23 0256226 / 7395883	18,1
Itu 04	23 0265695 / 7387476	8,7
Itu 09	23 0270207 / 7386139	5.4

Fonte: Autoria própria

A coleta no reservatório do Rio Grande foi feita no dia 26/06/2019, em três pontos, da mesma forma que no reservatório de Itupararanga, figura 8.

Figura 8. Mapa do reservatório do Rio Grande, com os gradientes de contaminação em relação aos metais



Fonte: Biamont-Rojas (não publicado)

Os experimentos foram feitos nos pontos RG 1, RG 4 e RG 9, de acordo com as coordenadas dos pontos utilizadas descritas na tabela 3.

Tabela 3 - Pontos de amostragem realizada em 26/06/2019, ponto amostral, respectivas coordenadas geográficas e profundidade na URGHI 10 (Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos – Bacia Hidrográfica do Médio-Tietê)

Ponto amostral	Coordenadas Geográficas	Profundidade (m)
RG 1	23 0353622/ 7374723	4,2
RG 4	23 0350169/ 7372238	7,8
RG 9	23 0344654/ 7370554	12,2

Fonte: Autoria própria

A avaliação ecotoxicológica do sedimento foi realizada com a exposição das larvas de *Chironomus sancticaroli* aos sedimentos coletados nos dois reservatórios.

2.2. Organismos-teste

O organismo-teste selecionado foi a larva da espécie bentônica *Chironomus sancticaroli*, obtido da colônia matriz, mantida no Laboratório de Limnologia (Instituto de Ciência e Tecnologia – Câmpus Sorocaba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP).

2.3. Manutenção dos organismos-teste – *Chironomus sancticaroli*

A cultura e os bioensaios foram mantidos no laboratório de Limnologia, no Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, em Incubadoras climatizadas, seguindo o protocolo de Maier *et al.* (1990) e Organização para Desenvolvimento Econômico (OECD, 2004a,b).

As larvas de *Chironomus sancticaroli*, foram mantidas em aquários, medindo, 30cm x 14cm x 18cm, com capacidade de 7 litros, protegidos por uma gaiola de proteção para retenção dos organismos adultos, com espaço suficiente para reprodução e zíper na parte superior para alimentação (Figura 9).

Figura 9. Aquário para cultura de organismos, protegido com tecido para retenção dos organismos adultos



Fonte: Acervo pessoal

Em cada aquário, foi colocado 1kg de areia (esterilizada em mufla a 550°C por 4 horas) e 4 litros de água mineral sem cloro Minalba®.

A água utilizada tinha a seguinte composição química (em mg.L⁻¹): bicarbonato 110,78, cálcio 16,800, magnésio 11,100, potássio 1,240, sódio 1,210, nitrato 0,77, sulfato 0,13 e cloreto 0,11, conforme informação fornecida pelo fabricante.

O início da cultura se deu pela adição de 2 massas ovígeras em cada aquário, sendo que o cultivo dos organismos foi mantido em incubadora, de acordo com o protocolo do guia de testes toxicológicos da OECD (2004a,b), com algumas alterações para a adaptação ao clima tropical.

Foi fornecido aeração média constante, temperatura 25°C (+/- 2°C), com fotoperíodo de 12 horas e para alimentação foi utilizada ração para peixes da marca TretaMin®, na proporção de 0,25g, 3 vezes por semana (RICHARDI *et al.*, 2013; REBECHI *et al.*, 2014).

2.4. Avaliação das culturas dos organismos-teste

Para avaliação da cultura, os organismos foram submetidos à teste de sensibilidade, que consiste na exposição de larvas de *Chironomus sancticaroli* à diferentes concentrações de uma substância de referência.

Como substância de referência, foi usado o cloreto de potássio (KCl), nas concentrações de 1,5; 2,25; 3,5; 5,0 e 7,5 g.L⁻¹ e 6 organismos em cada réplica, totalizando 3 réplicas de cada concentração, com duração de 96h (FONSECA, 1997).

A finalidade do teste de sensibilidade é obter a CL₅₀ (dose necessária da substância de referência para produzir a morte de 50% dos animais), garantindo a boa qualidade das culturas apresentadas nos bioensaios, de acordo com a OECD. Esses testes foram feitos ao menos 1 vez a cada 60 dias, totalizando 3 testes.

Para considerar os resultados válidos, a mortalidade da cultura deverá ser inferior ou igual a 30% após a exposição à substância de referência; a temperatura da água deve permanecer na faixa de 25° +/- 2°C; o oxigênio dissolvido durante o teste deve permanecer superior à 2,5mg/L e os bioensaios devem obter coeficiente de variação <30% (CAVALCANTI, 2010).

Após os testes de sensibilidade, os resultados foram analisados com a utilização do programa Trimmed Spearman-Kärber, para a obtenção da CL₅₀ para a substância de referência.

A faixa de sensibilidade foi estabelecida de acordo com a USEPA (2000) através do valor médio da CL₅₀, mais ou menos dois desvios padrão, para este modelo calculou-se a média (X), o desvio padrão (S) e o coeficiente de variação (CV). Assim foi estabelecido o limite superior (X + 2.S) e o limite inferior (X – 2.S). O coeficiente de variação foi utilizado para avaliar a precisão analítica e a variabilidade dos testes de sensibilidade (Rebechi, 2012; Richardi, 2013, Silva, 2013; Albuquerque, 2020), através da equação 1.

$$CV = \frac{S}{X} . 100 \quad \text{(Equação 1)}$$

Onde CV é o Coeficiente de variação; S é o Desvio padrão e X é a média.

2.5. Coleta de sedimento, ensaios de toxicidade agudo e subcrônico

As amostras foram coletadas em triplicata com uma draga tipo Ekman-Birge, com área de 400 cm². A realização das análises físicas, químicas e ecotoxicológicas foram realizadas e utilizadas pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Limnologia, Instituto de Biociências da USP, onde essa pesquisa se inclui.

Após a coleta, as amostras de sedimentos foram acondicionadas em potes plásticos e mantidas em refrigeração de 4°C até a realização dos testes químicos, físicos e ecotoxicológicos.

O controle foi realizado com sedimento artificial preparado segundo as normas da OECD (2004a,b), esse sedimento foi composto de: 75% de areia calcinada, 20% de Kaulinita e 4,9% de turfa (matéria orgânica).

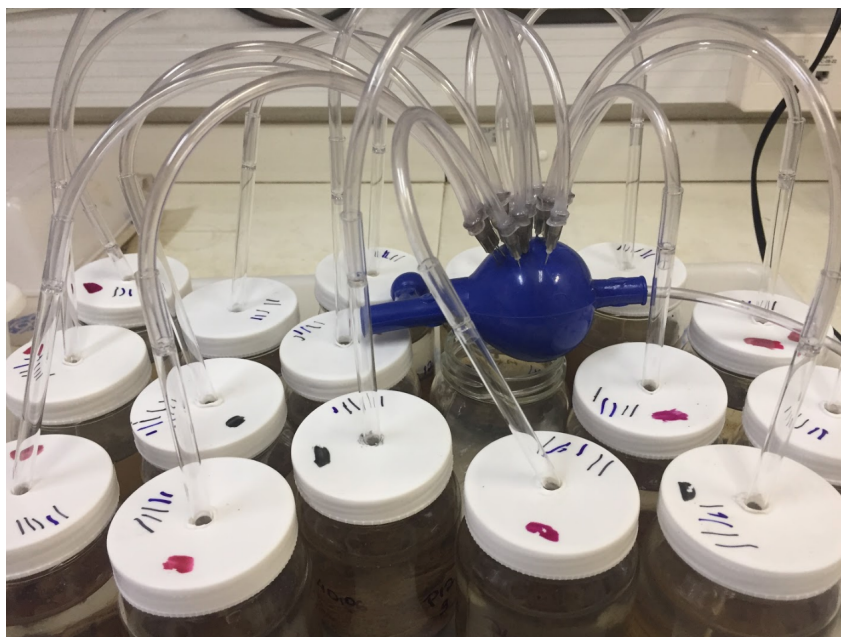
2.6. Montagem dos experimentos agudo e subcrônico

Para os experimentos com o sedimento *in natura*, a metodologia utilizada para os testes agudos e subcrônicos seguiram o protocolo da OECD (2004a,b) com algumas modificações, a proporção de sedimento/água foi de 1:4, em frascos de vidro de 260ml, com tampa plástica modificada. Em cada um dos frascos foram colocados 40g de sedimento (peso úmido) para 160ml de água, 20 larvas e aeração média (Figura 10). Para o controle foi utilizado sedimento artificial.

A água mineral sem cloro da marca Minalba® foi utilizada para os bioensaios as especificações são as mesmas da água utilizada na cultura dos organismos.

As amostras de sedimento foram preservadas nos seus parâmetros físicos e químicos que influenciaram diretamente nos resultados obtidos nos experimentos.

Figura 10 . Frascos com a montagem para os testes dos testes agudos e crônico parcial



Fonte: Acervo pessoal.

2.7. Teste de toxicidade aguda

Os testes de toxicidade aguda, visam demonstrar a ocorrência de efeitos adversos num curto período de tempo, de acordo com protocolos (USEPA,2000, OECD (2004a,b), e envolvem a determinação de uma dose letal média DL_{50} ou de uma concentração letal média CL_{50} (AZEVEDO *et al.*, 2003).

Para determinar a letalidade dos organismos, os bioensaios foram montados em frascos de vidro de 260ml identificados, com tampa plástica modificada para a aeração de todos os potes (Figura. 10). Em cada frasco foram colocados 40g de sedimento natural (peso úmido), 160ml de água mineral (OECD, 2004a,b) e 20 larvas (n = 80) no IV instar inicial e foram feitas quaduplicatas de cada ponto amostrado.

Os frascos de vidro, foram lavados e mantidos em ácido nítrico 30%, por 24 horas antes da sua utilização.

Os frascos foram montados com sedimento dos reservatórios de Itupararanga e do Rio Grande, além do controle com sedimento artificial e foram mantidos para ambientalização durante 7 dias, nas mesmas condições de temperatura e fotoperíodo do bioensaio.

A montagem do ensaio seguiu o fluxo de trabalho utilizado para os experimentos de toxicidade a aguda (Figura 11), deu-se início com a colocação de

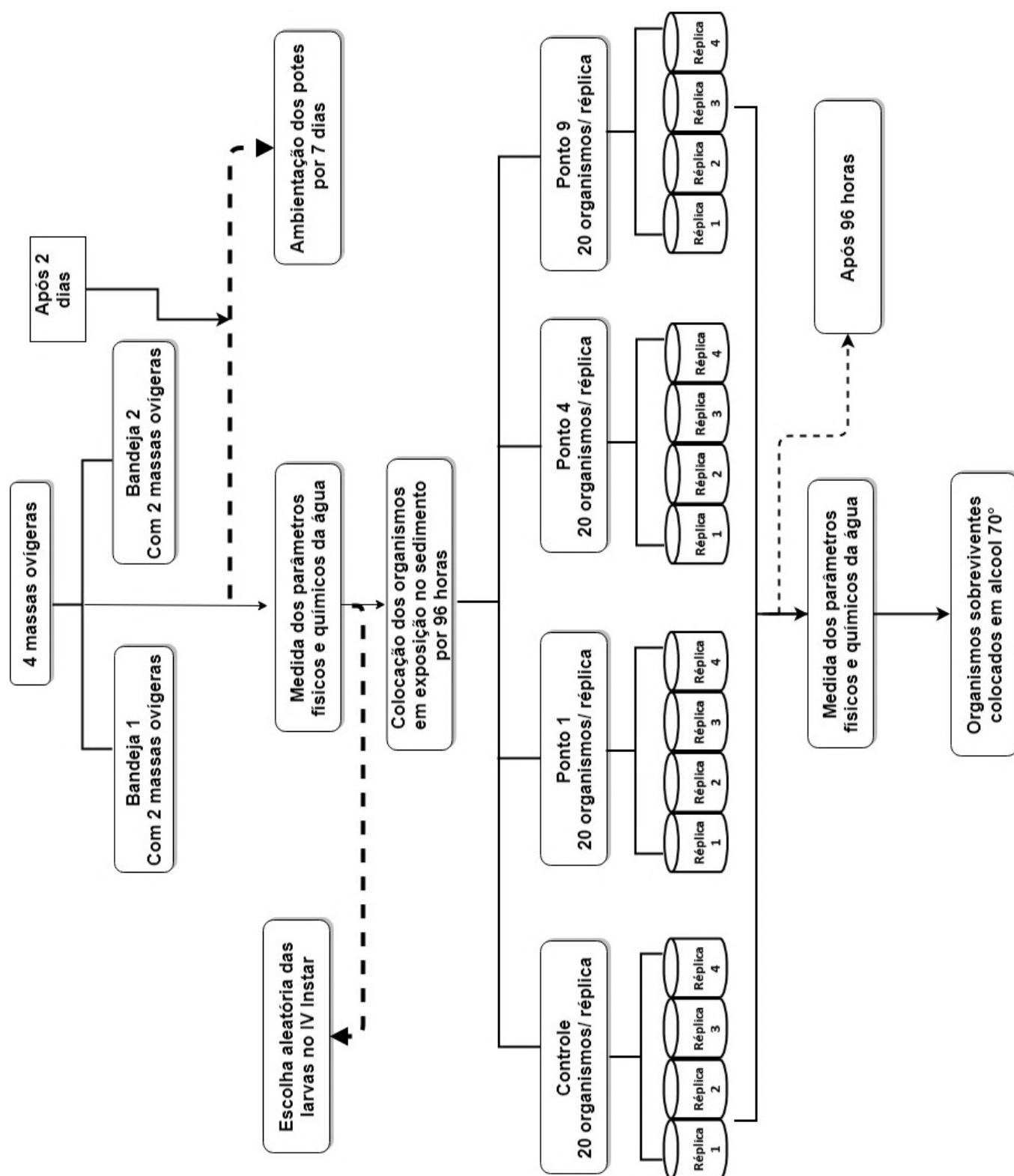
dois ovos de *C.sancticaroli*, retirados da cultura e colocados em duas bandejas plástica com 50g de areia calcinada e 3 litros de água mineral durante 48 horas, para a saída das larvas da mucilagem.

Posteriormente a esse período, os frascos foram montados para que se mantivessem nas condições do teste por 7 dias, para ambientalização.

Depois desse período, foram feitas as medidas de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade da água. Foram colocados 20 organismos no IV instar inicial em cada uma das 4 réplicas e não houve alimentação durante a exposição.

Ao final do período de exposição de 96 horas, o conteúdo dos frascos foi colocado em uma bandeja e foi feita a contagem dos organismos vivos, separando-os entre larvas vivas (que apresentavam movimento ou interatividade quando gentilmente estimulada), pupas, organismos adultos e larvas mortas. As larvas vivas foram computadas e armazenadas em álcool 70° para posterior análise do mento.

Figura 11 . Fluxograma de trabalho utilizado nos experimentos de toxicidade aguda.



Fonte: Autoria própria.

O parâmetro utilizado para observação dos efeitos adversos quanto à toxicidade aguda foi a letalidade.

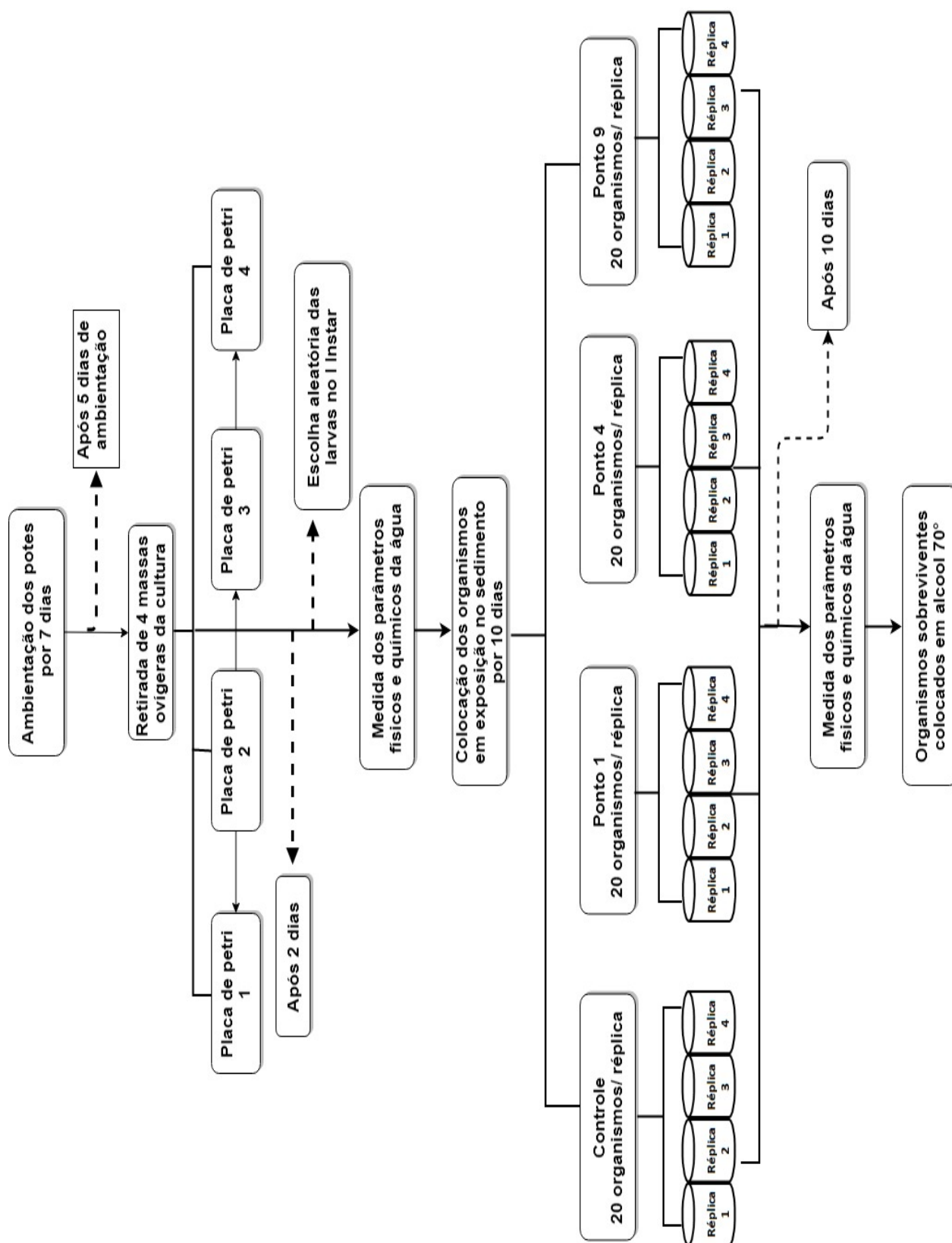
2.8. Testes de toxicidade subcrônica

Os estudos de toxicidade subcrônica são realizados com a exposição do organismo durante todo seu ciclo de vida ou uma grande parte dele, com o objetivo de identificar anormalidades e/ou doenças que podem ser desencadeadas e ainda caracterizar a dose/concentração para que essas anormalidades aconteçam (AZEVEDO *et al*, 2003).

Os testes de toxicidade subcrônica, tiveram a duração de 10 dias, foram montados em frascos de vidro de 260ml identificados, com tampa plástica modificada para a aeração constante (Figura 10). Em cada frasco foram colocados 40g de sedimento natural 160ml de água mineral, conforme descrito pela OECD (2004a,b).

Os testes seguiram o fluxo de trabalho para os experimentos de toxicidade crônica (Figura 12), tendo início com a preparação do sedimento artificial para controle e com a ambientalização dos frascos contendo o sedimento dos reservatórios durante 7 dias, antes da exposição dos organismos.

Figura 12 . Fluxograma de trabalho utilizado nos experimentos de toxicidade subcrônica.

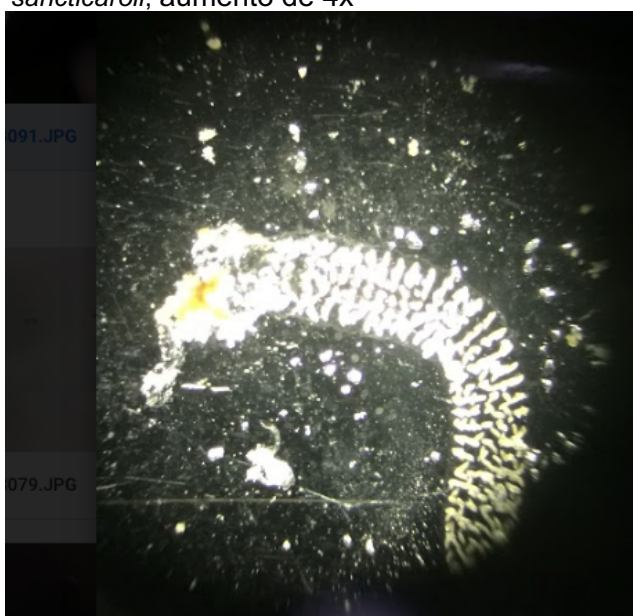


Fonte: Autoria própria

As massas ovígeras (Figura 13), foram retiradas da cultura e transferidas para placas de Petri com água de manutenção, durante 48 horas, para abandono da mucilagem. Após esse período, as larvas em I Instar foram escolhidas aleatoriamente, com a utilização do Stereo Discovery.V12.

A exposição foi feita com 20 organismos ($n = 80$) por frasco, em 4 réplicas, durante 10 dias. A cada 2 dias 0,04 mg/ml de ração para peixe TetraMin® foi adicionada aos frascos.

Figura 13. Massa ovígera de *Chironomus sancticaroli*, aumento de 4x



Fonte: Acervo pessoal.

Os parâmetros de avaliação final dos ensaios, após a exposição de 10 dias, foram determinados da seguinte forma:

Cálculo de letalidade: A letalidade foi calculada com a diferença entre o número total de organismos menos o número de organismos vivos.

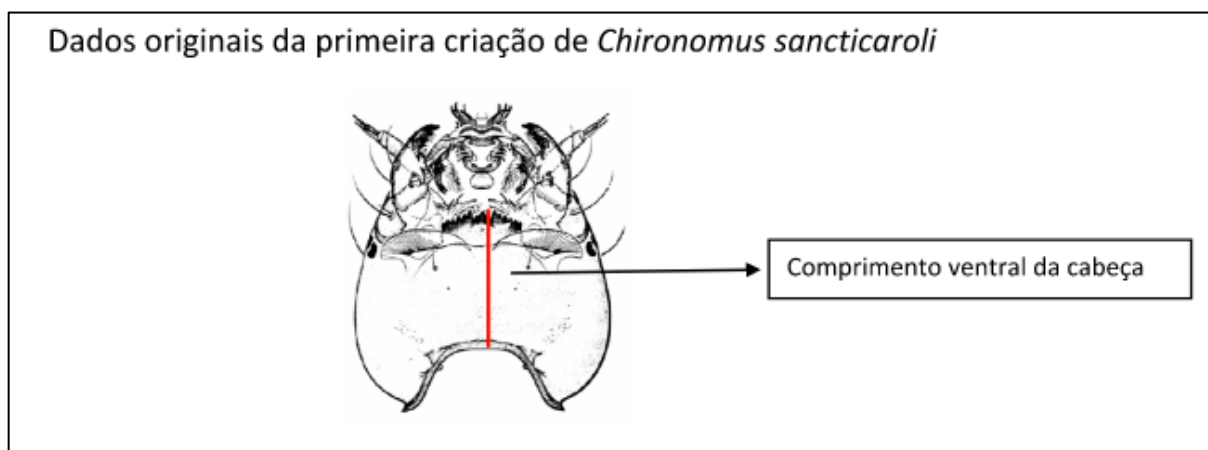
Cálculo da letalidade corrigida: utilizado para comparar a letalidade que provavelmente ocorreria de forma natural (controle) e após a exposição do organismo. A metodologia está descrita na metodologia da análise estatística.

Crescimento: O crescimento das larvas de *Chironomus sancticaroli* foi feito com a medida da cápsula encefálica ventral na região ventral: distância entre a borda da região convexa e o mento, seguindo o protocolo de Strixino, 1982. (Figura 14).

2.9. Análise de crescimento da cápsula encefálica

A análise do comprimento ventral da cápsula encefálica, ocorreu nos testes crônicos, onde os organismos são expostos por um período maior do seu ciclo de vida.

Figura 14 - Comprimento ventral da cabeça de *Chironomus sancticaroli*.



Fonte: STRIXINO, 1982.

A medição do comprimento ventral da cápsula do *Chironomus sancticaroli*, seguiu protocolo descrito por Strixino, 1982. Onde é especificado uma maior confiabilidade na medida horizontal da capsula encefálica, visto que diminui a probabilidade de distorções (aumento da largura) na montagem da lâmina, levando em conta que o comprimento ventral, por ser uma estrutura rígida (quitina), se deforma menos.

O protocolo caracteriza que o tamanho esperado da cápsula encefálica, no instar IV, é de $0,302 \pm 0,0180$ mm.

As larvas de *Chironomus sancticaroli*, foram retiradas do álcool 70° e as cápsulas encefálicas foram removidas com o auxílio da lupa Stereo Discovery V12. Após esse procedimento, as cápsulas foram colocadas em KOH (Hidróxido de Potássio) a 10% por 40 minutos para diafanização (clareamento das estruturas esclerotinizadas), posteriormente, foram colocadas em água destilada para retirada de resíduos de KOH e colocadas em ácido acético glacial para que o processo de diafanização fosse interrompido (RICHARDI *et al.*, 2013).

Em seguida, as cápsulas encefálicas de *Chironomus sancticaroli* foram montadas em lâminas semi permanentes, com a face ventral para cima, com glicerina e etanol absoluto na proporção 3:1 e seladas com esmalte para unhas (RICHARDI *et*

al., 2013). Além disso, foram identificadas com números aleatórios, para não influenciar na análise dos dados (Figura 15).

Figura 15 - Lâminas com as cápsulas encefálicas de *Chironomus sancticaroli*



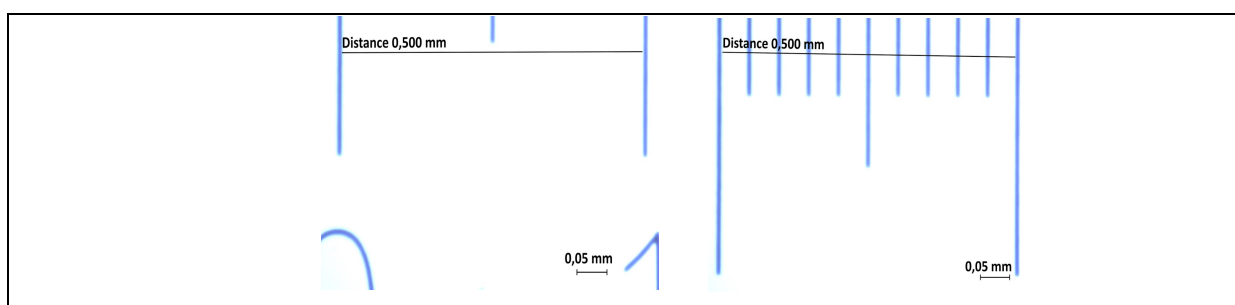
Fonte: Acervo pessoal

2.10. Comprimento Ventral da Cápsula Encefálica

A medida do comprimento ventral da cápsula encefálica, foi feito somente no teste subcrônico após a exposição das larvas de *Chironomus sancticaroli*.

O comprimento ventral da cápsula encefálica, foi feito com a utilização de microscópio invertido Axiovert 40C com câmera AxioCam 105 color, e auxílio do programa Zen 3.0. A precisão da medida foi confirmada com a utilização de lâmina graduada, onde se confirmou que com a escala de 0,05 mm (Figura 16), o tamanho real do mento é o dobro da medida apontada na medição.

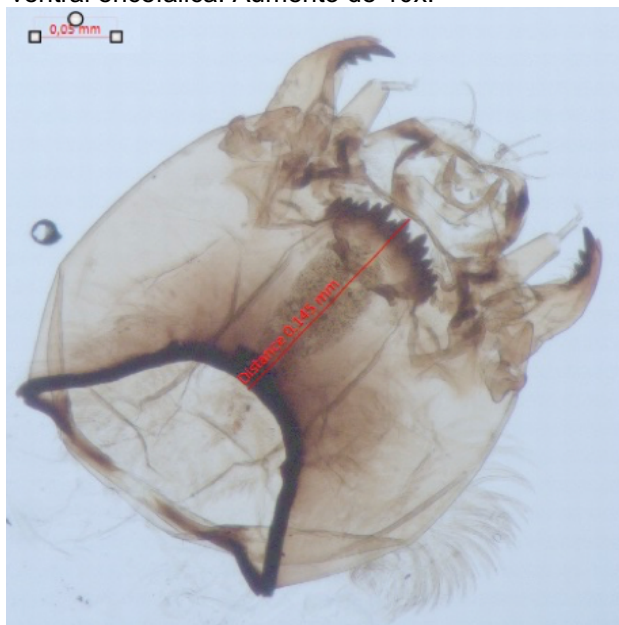
Figura 16. Confirmação da medida do programa Zen 3.0, com a utilização de lâmina graduada.



Fonte: Acervo pessoal.

O procedimento para medida do comprimento da cápsula ventral encefálica, seguiu o protocolo proposto por Strixino (1982), conforme figura 17.

Figura 17. Exemplo do comprimento da cápsula ventral encefálica. Aumento de 10x.



Fonte: Acervo pessoal.

2.11. Análise do sedimento

Uma porção (200g) de cada amostra de sedimento foi separada em potes plásticos (coletor universal) e secas em estufa por 6 dias. As amostras foram trituradas com auxílio de gral e pistilo de vidro para as análises de matéria orgânica e de metais, passadas através de uma peneira de 2 milímetros, para homogeneizar as amostras. As análises foram feitas em duplicata para todos os pontos amostrados.

Para a determinação de metais, foi utilizado 1g de sedimento seco e preparado conforme método 3050B da USEPA da série SW – 846 (USEPA, 1996), a leitura foi feita com um espectrofotômetro de emissão atômica de plasma induzido ICP-AES modelo Agilent Technologies 700 (do inglês: Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry). Os resultados obtidos foram expressos em mg.kg^{-1} de peso seco.

Para granulometria, não se utilizou de trituração para que não ocorresse fragmentação dos grãos. Utilizou-se o pré-processamento proposto por Suguio (1973) com adaptações. Alíquotas de 10g de sedimento foram pesadas e mantidas em béqueres com solução de peróxido de hidrogênio (marca Synth, Brasil) (H_2O_2 , 10%, v/v) para remoção da matéria orgânica, aquecendo-se a 80°C até o final da reação. Em seguida, as amostras foram colocadas na estufa a 105°C para a eliminação da

água, e posteriormente, pesadas para a determinação das porcentagens das frações granulométricas. As frações foram determinadas com jogo de tamises (2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,12 mm) e separados por areia grossa, areia fina e fração silte e argila (CARMOS, 2012).

A matéria orgânica foi determinada por calcinação em forno mufla por 4 horas a 550°C e foi utilizado 0,5g de sedimento seco e acondicionado em cadinho de porcelana (Heiri *et al.*, 2001). Posteriormente, o conjunto (cadinho+resíduos) foi acondicionado em dessecador e, pesado depois de estabilizada à temperatura do conjunto. O teor de matéria orgânica foi determinado em razão da perda de massa do resíduo incinerado menos a massa inicial de sedimento com a tara do cadinho, conforme a fórmula: $MO (\%) = (P - (T - C) \times 100) / P$, em que P = peso da amostra inicial (g); C = tara do cadinho (g); e T = peso da cinza + cadinho (g) (CRUZ *et al.*, 2014).

Os valores utilizados para verificar o potencial ecotoxicológico oferecido pela concentração de metais, levando-se em conta a proteção da vida aquática, foram estabelecidos pelo *Canadian Council os Ministers of Environment* – CCME (1999), e pela Resolução CONAMA 454/2012, e ainda se levou em conta os valores de referências (VPR) dos reservatórios, estabelecidos por Nascimento (2003), conforme tabela 4.

TABELA 4 – Valores utilizados para verificar o potencial ecotoxicológico para biota nos reservatórios

<i>Metais</i>	<i>Unidade</i>	<i>TEL*</i>	<i>PEL**</i>
	mg/Kg⁻¹		
Chumbo – Pb	-	35	91,3
Cobre - Cu	-	35,7	197
Cromo – Cr	-	37,3	90
Níquel – Ni	-	18	35,9
Zinco - Zn	-	123	315

Fonte: CCME, 1999; CONAMA 454/2012

* TEL – Threshold effect level (concentração abaixo da qual raramente são esperados efeitos deletérios na biota).

** PEL – Probable effect level (concentração acima da qual onde são esperados efeitos adversos aos organismos).

3. Análise estatística

Para verificar se existiam diferenças significativas entre os pontos amostrados dos reservatórios, foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunnet, com nível de significância de $p < 0,05$. Os parâmetros analisados foram: letalidade, letalidade corrigida e comprimento da cápsula encefálica.

O percentual de letalidade corrigida foi utilizado para comparar a letalidade que provavelmente ocorreria de forma natural (controle), com a letalidade que ocorre em organismos expostos a um determinado tratamento. Esse método foi proposto por Abbott (1925) para aumentar a confiabilidade em testes com diferentes tratamentos e seguiu a equação abaixo:

$$\% LC = \left(\frac{MT - MC}{100 - MC} \right) \cdot 100$$

Equação (2)

Onde LC é letalidade corrigida, MT, percentual de letalidade do tratamento, MC é percentual de letalidade do controle.

O teste ANOVA (Análise de variância) unifatorial, seguido pelo teste de Tukey foi utilizado para verificar se havia diferença, quanto à concentração de metais, dentro de cada reservatório ($p < 0,05$).

As variáveis independentes (metais, matéria orgânica e granulometria) foram analisadas através da Análise dos Componentes Principais (ACP) e Análise de agrupamento (*Cluster analysis*) a fim de identificar os componentes mais importantes na formação dos padrões espaciais nos locais de estudo.

Antes da ACP e da análise de agrupamento, os dados foram normalizados por meio de uma transformação az-score. Isso colabora para que não haja dominância de variáveis com números muito elevados (MELO *et al.*, 2019).

As análises foram feitas no pacote estatístico PAST versão 3.14 (HAMMER, 2001). Os gráficos foram feitos no PAST e no Excel.

4. Resultados

4.1. Teste de sensibilidade

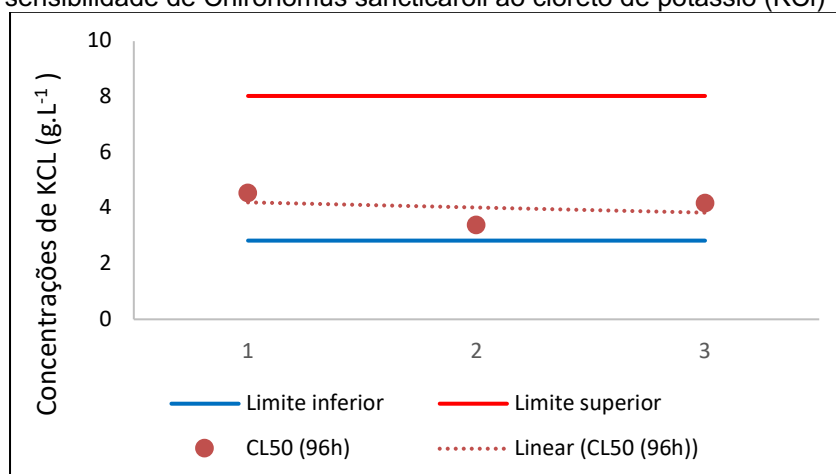
Os resultados dos 3 testes de sensibilidade estão apresentados na tabela 5, e na figura 16, é possível verificar que a faixa de sensibilidade do *Chironomus sancticaroli* para o Cloreto de Potássio (KCl), variou de 2,83 a 5,21, com um coeficiente de variação (CV) de 14,74.

Tabela 5 – Valores da concentração Letal (CL_{50} – 96h, g.L⁻¹) do Cloreto de Potássio (KCl) e dos intervalos de confiança (IC – 95%) de cada teste de sensibilidade com *Chironomus sancticaroli*

Nº do teste	Data	CL ₅₀ – 96h	IC (95%)
1	04/02/2019	4,53	4,04 – 5,08
2	02/05/2019	3,37	2,97 – 3,83
3	04/06/2019	4,16	3,74 – 4,63
Média (X)	4,02		
Variância (S ²)	0,35		
Desvio Padrão (S)	0,59		
Coef. Variação em % (CV)	14,74		
Faixa de sensibilidade	5,21 – 2,83		

Fonte: Autoria própria

Figura 18 – Concentrações Letais CL_{50} (g.L⁻¹) por teste de sensibilidade realizado, com o limite superior e inferior da faixa de sensibilidade de *Chironomus sancticaroli* ao cloreto de potássio (KCl)



Fonte: Autoria própria

Os testes apresentaram CL_{50} dentro da faixa de sensibilidade estabelecida, sendo a média $4,02 \text{ g.L}^{-1}$, limite superior 5,21 e limite inferior 2,83, com coeficiente de variação de 14,74 (Tabela 5; Figura 18). Os resultados desse estudo permaneceram próximos aos obtidos por Dornfeld (2006), Rebechi (2012), Silva (2013), Richardi (2013), Albuquerque (2020). Portanto, pode-se indicar que a população de *Chironomus sancticaroli* mantida no Laboratório de Limnologia da USP – SP, estava adequada para ser utilizada como organismo teste nos bioensaios ecotoxicológicos sub-crônico e agudo nesse estudo.

4.2. Reservatório de Itupararanga

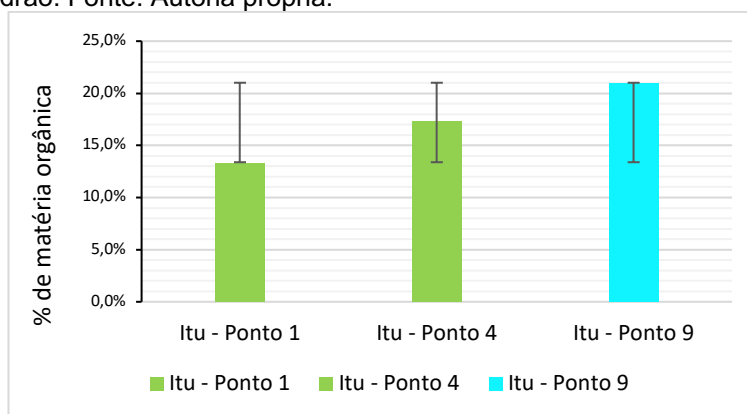
4.2.1. Análises físicas e químicas

4.2.1.1. Matéria orgânica

O percentual de matéria orgânica nas amostras de sedimento do reservatório de Itupararanga, variaram de 13,33% no ponto ITU 1 a 20,95% no ponto ITU 9. Os resultados estão apresentados na figura 19.

Segundo Esteves (2011), com teores acima de 10%, a composição do sedimento é considerada predominantemente orgânica.

Figura 19. Porcentagem de matéria orgânica no sedimento do reservatório de Itupararanga nos pontos amostrados com desvio padrão. Fonte: Autoria própria.



Fonte: Autoria própria.

4.2.1.2. Granulometria

Como pode ser observado na tabela 6 e na figura 20, a maior parte do sedimento analisado no reservatório de Itupararanga é do tipo Silte/Argiloso. O ponto

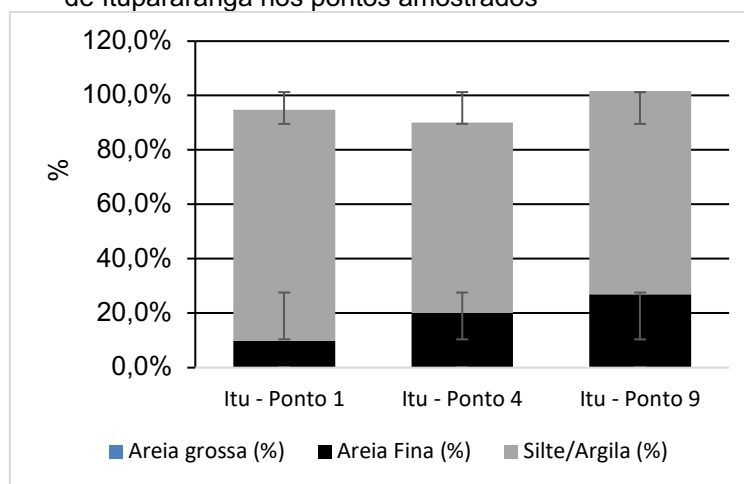
ITU 1 apresentou maior percentual de silte e de argila, 84%, enquanto o ponto ITU 4, apresentou o menor percentual, 69%. Nos pontos amostrados não se encontrou areia grossa. O sedimento do reservatório de Itupararanga pode ser considerado do tipo siltico-argiloso, segundo a análise estatística de Kruskal-Wallis, $p = 0,3679$, portanto também não houve diferença significativa entre os pontos.

Tabela 6 – Frações granulométricas predominantes no sedimento do Reservatório de Itupararanga nos pontos amostrados

	Areia grossa (%)	Areia Fina (%)	Silte/Argila (%)	DP
Itu - Ponto 1	0,0%	9,9%	84,8%	3,62%
Itu - Ponto 4	0,0%	20,1%	69,9%	0,82%
Itu - Ponto 9	0,0%	27,0%	74,6%	0,30%

Fonte: Autoria própria.

Figura 20. Granulometria do sedimento do Reservatório de Itupararanga nos pontos amostrados



Fonte: Autoria própria

4.2.1.3. Análise de metais

Os resultados apontam que as concentrações dos metais analisados estão muito próximas à referência para os reservatórios localizados no Médio-Tietê, segundo Nascimento, 2003, e, somente o Cr ultrapassa o TEL no ponto ITU 1, com uma concentração de $47,58 \text{ mg.kg}^{-1}$.

O sedimento do ponto ITU 1, mais próximo a barragem, apresentou a maior concentração de todos os metais em mg.kg^{-1} , os valores do Pb (26,22), Cu (33,95), Cr (47,58), Zn (71,85), exceto na concentração do Ni (15,95).

Os resultados das análises dos metais totais no sedimento do reservatório de Itupararanga, estão apresentados na tabela 7 e na figura 21.

Nos pontos ITU 4 e ITU 9, localizados após a cabeceira dos rios Sorocamirim, Sorocabaçu e do rio Barra do Una, as concentrações encontradas em mg.kg^{-1} foram respectivamente: Pb (22,49), (23,63); Cu (30,05), (19,63); Cr (44,94) , (43,36¹); Ni (18,34), (18,65); Zn (53,62), (59,88), todas abaixo da referência para o Médio-Tietê segundo Nascimento (2003), porém o Cr e o Ni, ultrapassaram o TEL.

Tabela 7 – Concentração total de metais (mg.kg^{-1}) encontrados nos pontos amostrados do Reservatório de Itupararanga

	ITU 1	ITU 4	ITU 9	Ref.*	TEL**	PEL***
Chumbo – Pb	26,22±0,71	22,49±0,42	23,63±0,63	30	35	91,3
Cobre - Cu	33,95±0,96	30,05±0,38	19,63±0,01	61	35,7	197
Cromo - Cr	47,58±1,20	44,94±0,37	43,36±0,37	44	37,3	90
Níquel - Ni	15,95±1,53	18,34±0,21	18,65±0,01	41	18	35,9
Zinco - Zn	71,85±1,27	53,62±0,98	59,88±1,57	104	123	315

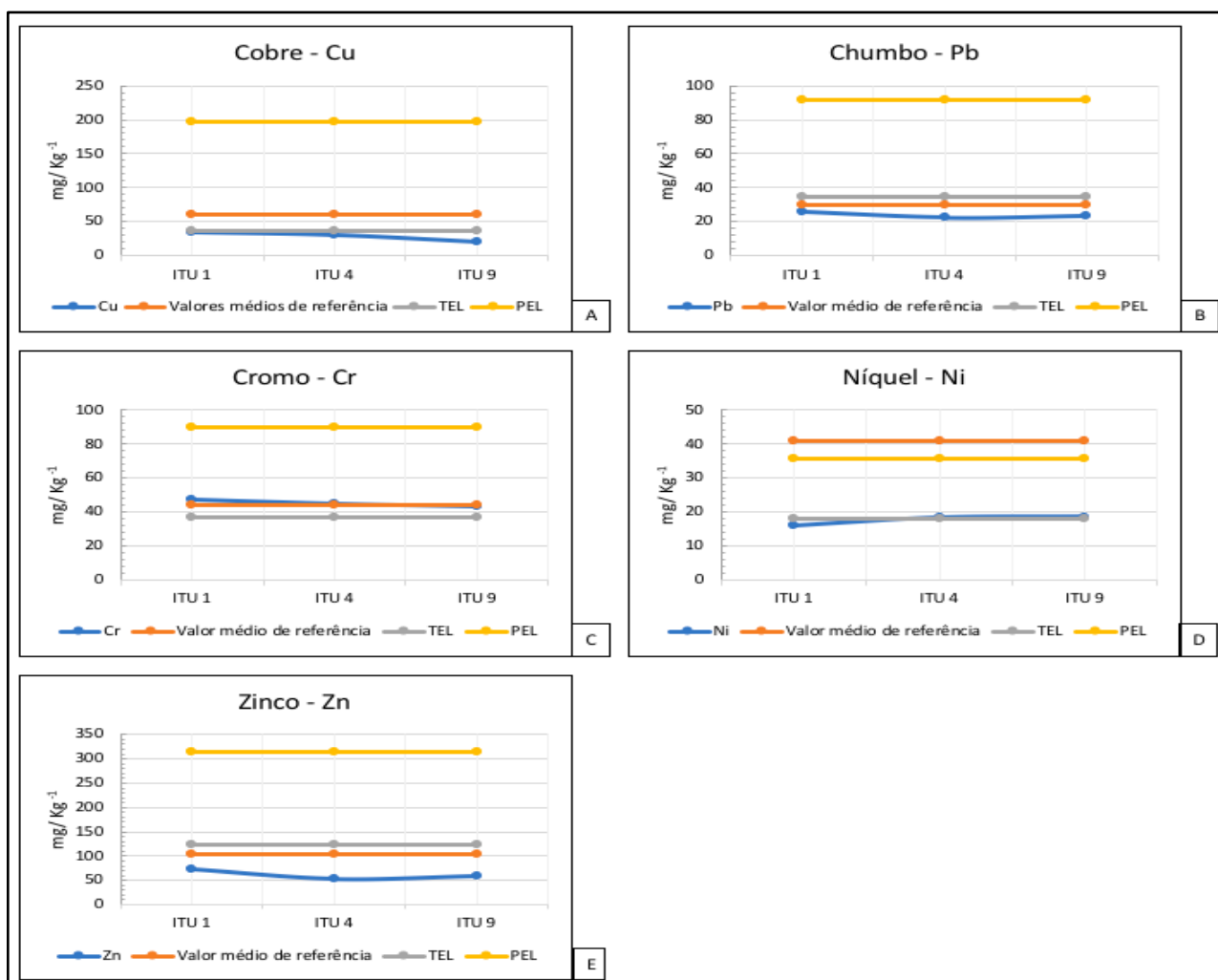
Fonte: Autoria própria

*Referência para os reservatórios do Médio-Tietê (Nascimento, 2003)

** TEL – Threshold effect level (concentração abaixo da qual raramente são esperados efeitos deletérios na biota).

*** PEL – Probable effect level (concentração acima da qual onde são esperados efeitos adversos aos organismos).

Figura 21 – Distribuição de metais totais analisados nos diferentes pontos do Reservatório de Itupararanga/Votorantim-SP. A) Cobre (Cu); B) Chumbo (Pb); C) Cromo (Cr); D) Níquel (Ni); E) Zinco (Zn).



Fonte: Autoria própria.

4.2.2. Bioensaios no Reservatório de Itupararanga

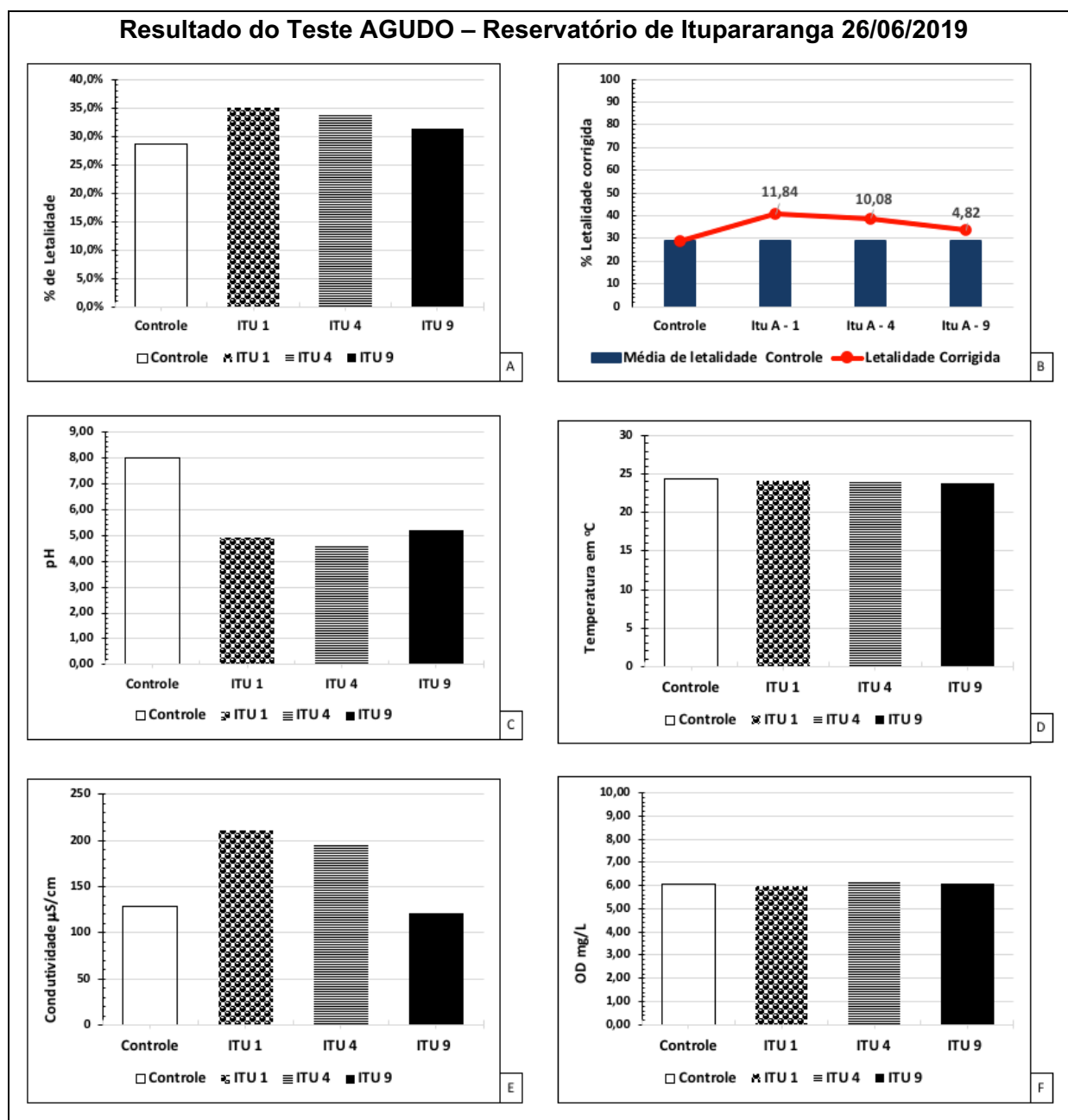
4.2.2.1. Letalidade

Com os ensaios de toxicidade aguda em larvas de *Chironomus sancticaroli*, expostas ao sedimento do reservatório de Itupararanga, foi possível observar que a letalidade entre nos pontos ITU 1 e ITU 4, foi de 35% e 33,75% respectivamente, enquanto no ponto ITU 9, a letalidade foi de 31,25% (Figura 22).

A tabela com os valores detalhados encontra-se no apêndice.

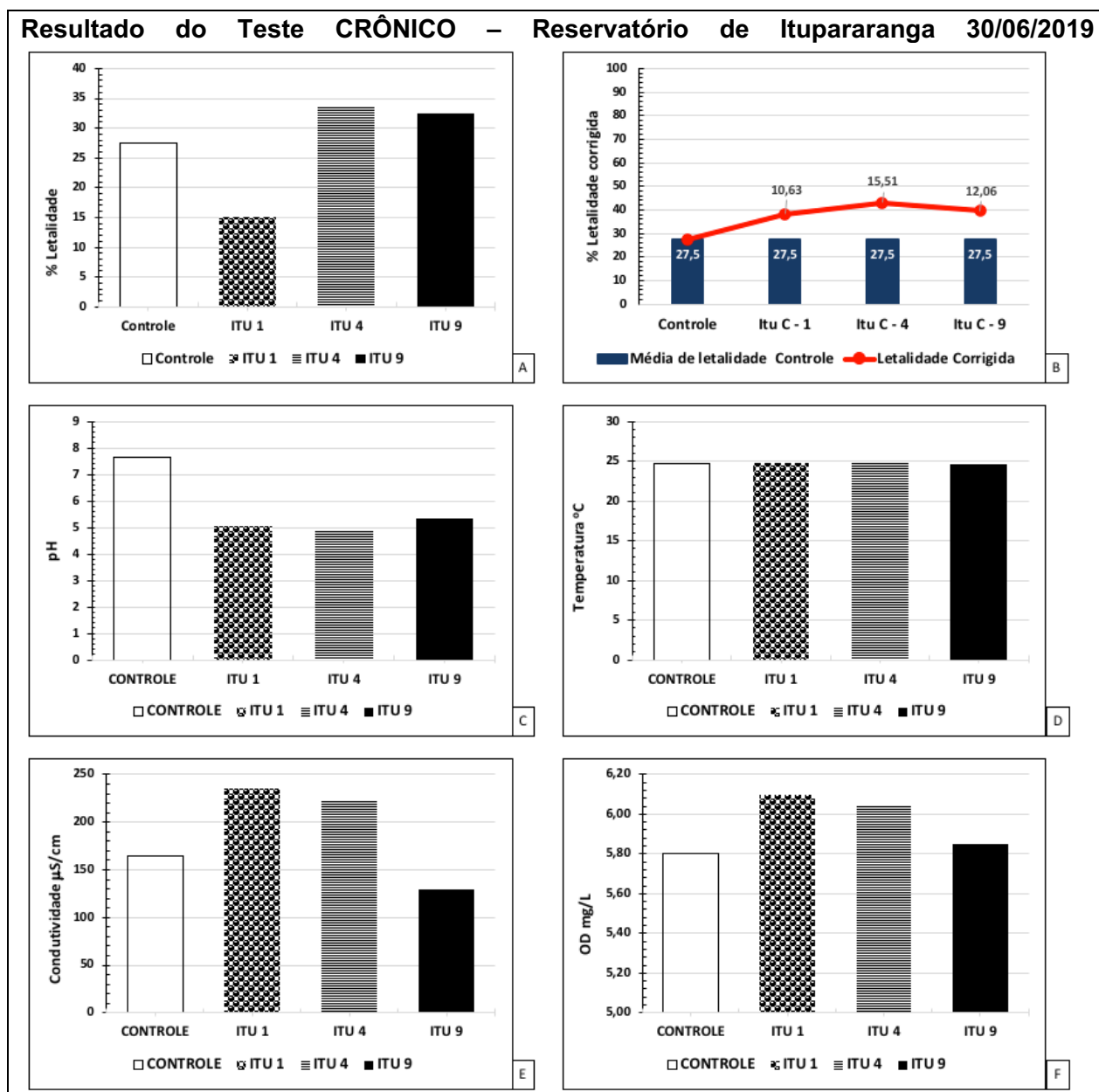
Porém, no teste subcrônico de Itupararanga (Figura 23), a letalidade foi maior no ponto ITU 4.

Figura 22. Resultado do teste agudo de *Chironomus sancticaroli* no reservatório de Itupararanga. Parâmetros analisados: A) % de Letalidade; B) % de Letalidade corrigida; C) pH; D) temperatura °C; E) Condutividade mS/cm; F) OD mg/L (Oxigênio Dissolvido).



Fonte: Autoria própria

Figura 23. Resultado do teste subcrônico de *Chironomus sancticaroli* no reservatório de Itupararanga. Parâmetros analisados: A) % de Letalidade; B) % de Letalidade corrigida; C) pH; D) temperatura °C; E) Condutividade µS/cm; F) OD mg/L (Oxigênio Dissolvido).



Fonte: Autoria própria

A letalidade das larvas de *Chironomus sancticaroli* no sedimento controle não excederam 30%, valor máximo permitido pela OECD (2004a,b). Não foram observadas diferenças significativas entre os pontos do reservatório de Itupararanga no teste agudo (Figura 22) e no subcrônico (Figura 23).

A média dos valores encontrados do comprimento ventral da cápsula encefálica das larvas expostas ao sedimento de Itupararanga, estão descritas na tabela 8. As

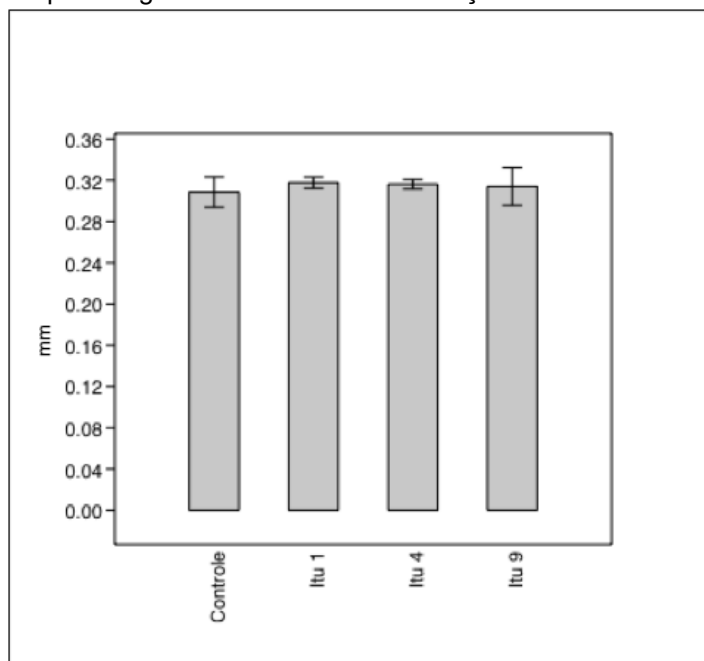
médias encontradas no controle e nos pontos ITU 1, ITU 4 e ITU 9, foram respectivamente: 0,3085; 0,3177; 0,3162; 0,3140 mm, conforme demonstrado na figura 23.

Tabela 8 - Média Comprimento Ventral da Cápsula Encefálica - Reservatório de Itupararanga.

Réplicas	Controle	Itu 1	Itu 4	Itu 9
1	0,2862	0,3105	0,3153	0,286
2	0,3178	0,3169	0,3200	0,3232
3	0,3162	0,3206	0,3099	0,3235
4	0,3140	0,3230	0,3197	0,3233
Média	0,3085	0,3177	0,3162	0,3140

Fonte: Autoria própria

Figura 24. Média do Comprimento ventral da cápsula encefálica, com desvio padrão, em larvas de *Chironomus sancticaroli* expostas ao sedimento do Reservatório de Itupararanga com intervalo de confiança de 95%



Fonte: Autoria própria

Não foi encontrada diferença significativa entre as médias dos comprimentos das cápsulas encefálicas expostas ao sedimento do reservatório Itupararanga no teste

subcrônico ($p < 0,05$), e ainda, os parâmetros estão dentro do esperado segundo Strixino (1982) e por Richardi (2013).

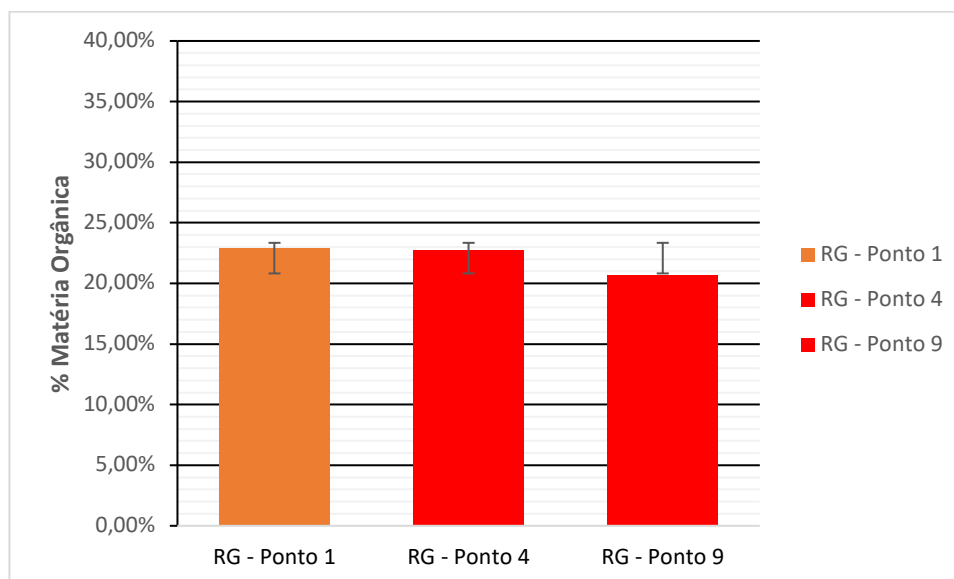
4.3. Reservatório do Rio Grande

4.3.1. Análises físicas e químicas

4.3.1.1. Matéria orgânica

A análise do percentual de matéria orgânica no sedimento do reservatório do Rio Grande, foi de 22,90% no ponto RG 1, 22,72% no ponto RG 4 e 20,63% no ponto RG 9, podendo ser considerada predominantemente orgânica, com teores acima de 10%, Esteves (2011), conforme demonstrado na figura 25.

Figura 25. Porcentagem de matéria orgânica no sedimento do reservatório do Rio Grande nos pontos amostrados.



Fonte: Autoria própria.

4.3.1.2. Granulometria

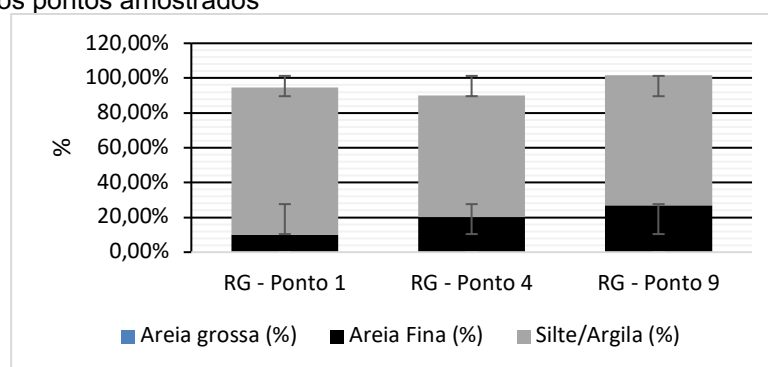
Os resultados das análises granulométricas estão apresentados na Tabela 9 e na Figura 26. Em geral o sedimento do reservatório do Rio Grande também é do tipo siltico/Argiloso, de acordo com a classificação granulométrica da Resolução CONAMA 454/2012.

Tabela 9 – Frações granulométricas predominantes no sedimento do Reservatório do Rio Grande nos pontos amostrados.

	Areia grossa (%)	Areia Fina (%)	Silte/Argila (%)
RG - Ponto 1	0,0	1,3	74,8
RG - Ponto 4	0,0	0,9	83,8
RG - Ponto 9	0,0	1,1	87,5

Fonte: Autoria própria

Figura 26. Granulometria do sedimento do Reservatório Rio Grande nos pontos amostrados



Fonte: Autoria própria

4.3.1.3. Análise de metais

No sedimento do ponto RG 1, o mais próximo da desembocadura do Rio Grande ou Jurubatuba, as concentrações encontradas em mg.kg^{-1} foram: Pb (98,44), Cr (42,16), Cu (779,04), Ni (16,48) e Zn (253,56). Embora todos os parâmetros, exceto o Ni, estejam acima da referência esperada para os reservatórios do Alto Tietê segundo Nascimento (2003), o Cu e o Pb, ultrapassaram o PEL.

Os pontos RG 4, localizado na parte central do reservatório e o RG 9, localizado próximo a captação de água da SABESP, no estudo de Silva (2013) já haviam sido classificados com qualidade péssima em relação ao sedimento, e as concentrações encontradas em mg.kg^{-1} foram respectivamente: Pb (36,6) (42,11), Cr (43,12) (47,31), Cu (4238,3) (7042,84), Ni (21,26) (24,9) e Zn (129,45) (108,8).

O Cu apresentou-se em uma concentração acima do PEL em 395,45%, 2151,27% e 3574,6% nos pontos RG 1, RG 4 e RG 9, respectivamente.

Entretanto a concentração de Pb, só se mostrou acima do PEL, no ponto RG 1. Conforme apresentado na tabela 10 e na figura 27.

Tabela 10 – Concentração total de metais (mg.kg^{-1}) encontrada no sedimento dos pontos amostrados do reservatório do Rio Grande

	RG1	RG4	RG9	Ref.*	TEL**	PEL***
Chumbo - Pb	98,44±85,36	36,6±0,71	42,11±1,68	61	35	91,3
Cromo - Cr	42,16±0,54	43,12±0,54	47,31±0,78	30	37,3	90
Cobre - Cu	779,04±202,82	4238,3±42,36	7042,84±732,25	18	35,7	197
Níquel - Ni	16,48±0,06	21,26±0,29	24,9±0,20	20	18	35,9
Zinco - Zn	253,56±45,82	129,45±5,86	108,8±3,11	82	123	315

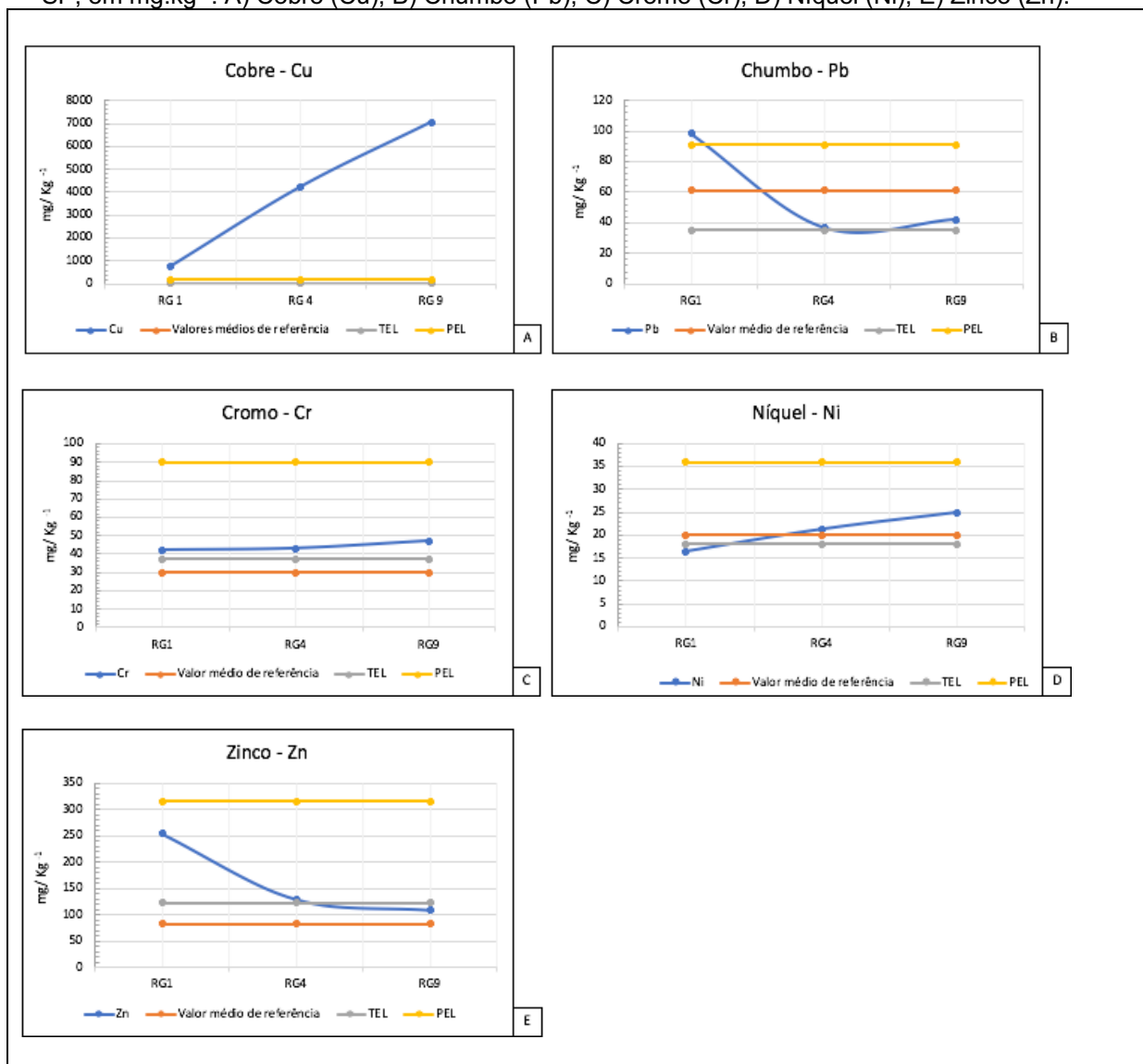
Fonte: Autoria própria

*Referência para os reservatórios do Alto-Tiête (Nascimento, 2003)

** TEL – Threshold effect level (concentração abaixo da qual raramente são esperados efeitos deletérios na biota).

*** PEL – Probable effect level (concentração acima da qual onde são esperados efeitos adversos aos organismos).

Figura 27. Distribuição dos metais totais analisados nos diferentes pontos do reservatório Rio Grande – SP, em mg.kg⁻¹. A) Cobre (Cu); B) Chumbo (Pb); C) Cromo (Cr); D) Níquel (Ni); E) Zinco (Zn).



Fonte: Autoria própria.

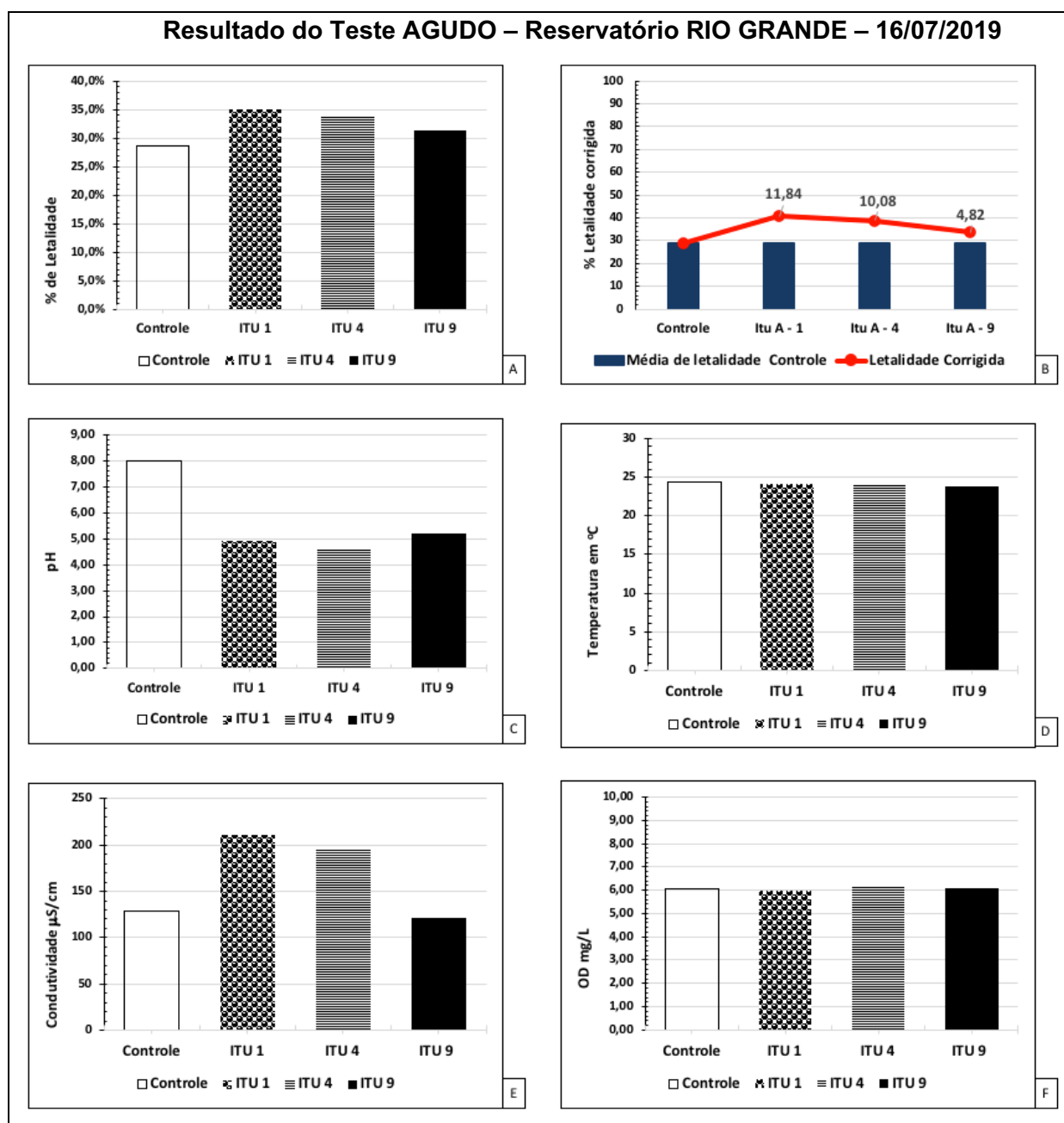
4.3.2. Bioensaios no Reservatório do Rio Grande

4.3.2.1. Letalidade

Os testes de toxicidade aguda e subcrônica com o *Chironomus sancticaroli*, foram realizados também no reservatório Rio Grande, que como já descrito na área de estudo, trata-se de um reservatório onde as análises prévias, quanto ao parâmetro de concentração de metais, encontravam-se com níveis considerados ruins, no ponto RG 1 e muito ruim, nos pontos RG 4 e RG 9

A exposição das larvas de *Chironomus sancticaroli* no sedimento do reservatório Rio Grande no teste agudo, mostrou uma média de letalidade no controle e no ponto RG 1, de 27,50% e, uma letalidade maior nos pontos RG 9 e RG 4, sendo respectivamente de 28,75% e 37,50% (Figura 28), onde a letalidade foi confirmada com o % da letalidade corrigida.

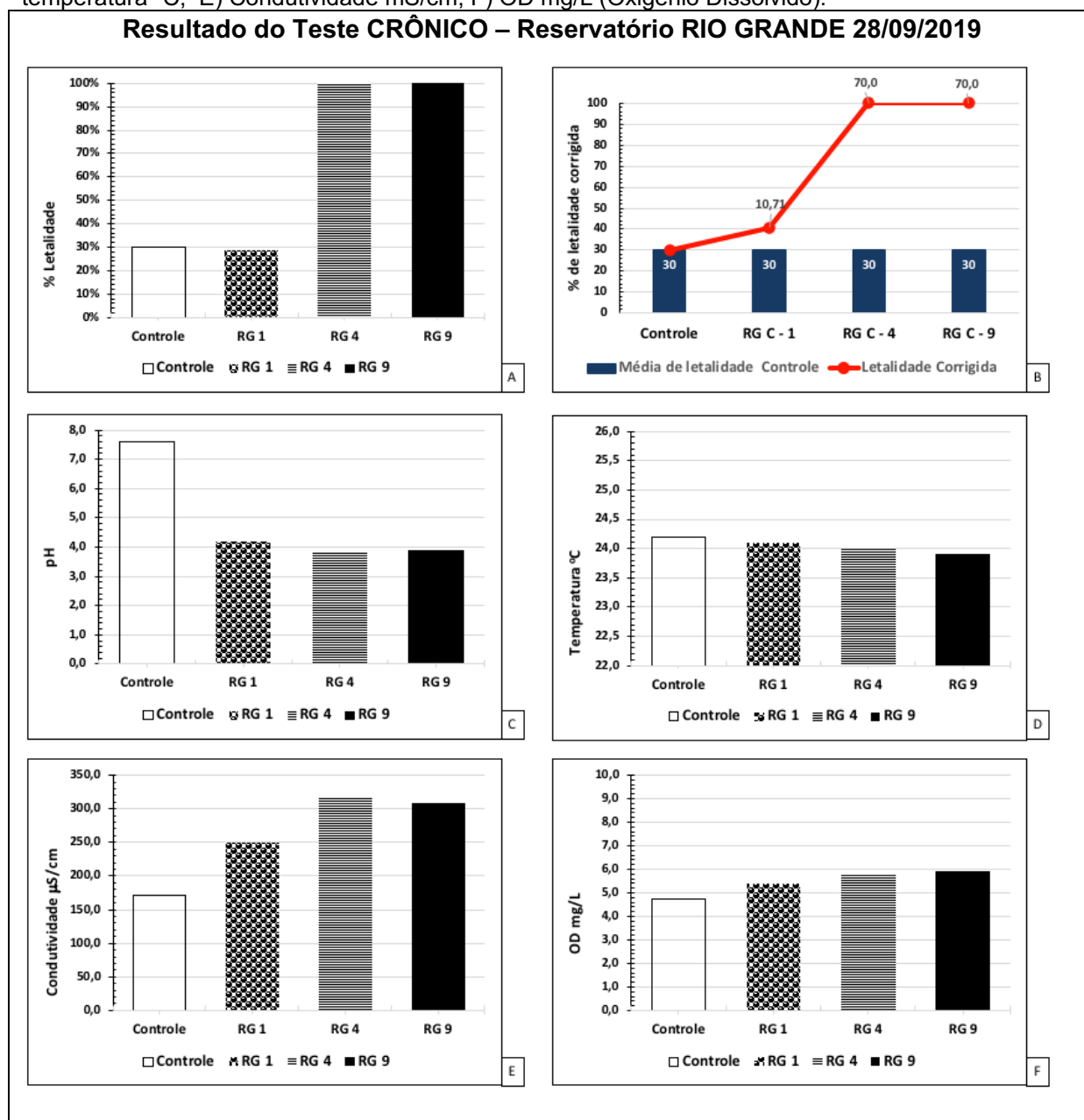
Figura 28. Resultado do teste agudo com *Chironomus sancticaroli* no reservatório do Rio Grande. Parâmetros analisados: A) % de Letalidade; B) % de Letalidade corrigida; C) pH; D) temperatura °C; E) Condutividade mS/cm; F) OD mg/L (Oxigênio Dissolvido).



Fonte: Autoria própria.

Quanto ao teste subcrônico, só houve uma letalidade semelhante ao teste agudo, com o ponto RG 1, considerado ruim, a letalidade foi de 28,75%, porém, nos pontos RG 4 e RG 9, a letalidade foi de 100%, conforme figura 28.

Figura 29. Resultado do teste subcrônico com *Chironomus sancticarioli* no reservatório do Rio Grande. Parâmetros analisados: A) % de Letalidade; B) % de Letalidade corrigida; C) pH; D) temperatura °C; E) Condutividade mS/cm; F) OD mg/L (Oxigênio Dissolvido).



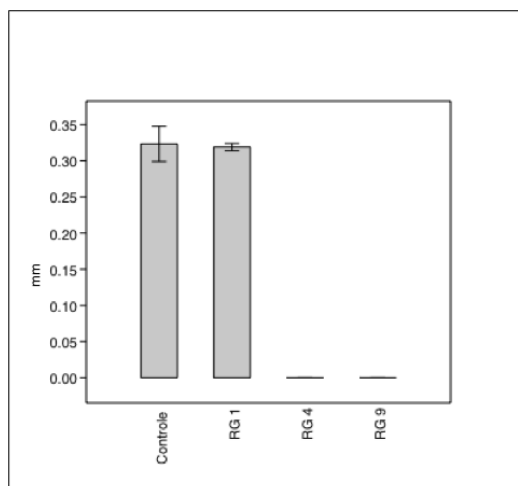
Fonte: Autoria própria.

4.3.2.2. Comprimento da cápsula ventral encefálica

O comprimento ventral da cápsula encefálica, também foi realizado nos organismos expostos ao sedimento do reservatório do Rio Grande (Figura 30) com 62

organismos (n = 62). Nesse reservatório só foi possível a análise dessa variável em um dos pontos, no ponto RG 1, visto que, a letalidade nos pontos RG 4 e RG 9, foi de 100%.

Figura 30 – Média do Comprimento ventral da cápsula encefálica em larvas de *Chironomus sancticarloi* expostas ao sedimento do reservatório do Rio Grande.



Fonte: Autoria própria

A média dos valores encontrados do comprimento ventral da cápsula encefálica das larvas expostas ao sedimento Rio Grande, estão descritas na tabela 11. As médias encontradas no controle e no ponto RG 1, foram respectivamente: 0,323; 0,319mm.

Tabela 11. Média Comprimento Ventral da Cápsula Encefálica - Reservatório Rio Grande (mm)

Controle 1	RG 1	RG 4	RG 9
0,301	0,319	-	-
0,344	0,317	-	-
0,325	0,326	-	-
	0,314	-	-
0,323	0,3319	0	0

Fonte: Autoria própria.

5. Análises estatísticas

5.1. Análise estatística no reservatório de Itupararanga

A análise de letalidade, sobrevivência e comprimento da cápsula encefálica foram feitas com o teste de Kruskal-Wallis, com os dados do teste agudo e subcrônico e não foram encontradas diferenças significativas nos pontos amostrados do reservatório de Itupararanga ($p > 0,05$), ou seja, com uma confiabilidade de 95%, conforme demonstrado na tabela 12.

O teste de Kruskal-Wallis também foi utilizado na análise do comprimento da cápsula encefálica no teste subcrônico, onde também não houve diferença estatística significativa $p = 0,362$ ($p > 0,05$).

Tabela 12. Resultado p-valor no teste de Kruskal-Wallis no bioensaio agudo e subcrônico realizado com as larvas de *Chironomus sancticaroli* expostas ao sedimento do **reservatório de Itupararanga**.

	p valor =
Comprimento da cápsula encefálica – teste subcrônico	0,362 ($p > 0,05$)
Letalidade/Sobrevivência – Teste agudo	0,788 ($p > 0,05$)
Letalidade/Sobrevivência – Teste crônico	0,379 ($p > 0,05$)

Fonte: Autoria própria.

No entanto, a concentração de metais desse reservatório apresentou uma diferença significativa $p = 0,012$ ($p < 0,05$).

5.2. Análise estatístico no reservatório do Rio Grande

Os resultados do teste agudo e subcrônico do reservatório Rio Grande, quanto ao parâmetro letalidade, foram analisados com a utilização do teste de Kruskal-Wallis e apresentaram uma diferença significativa ($p < 0,05$) no teste subcrônico,

principalmente em relação aos pontos RG 4 e RG 9, conforme pode ser observado a tabela 15.

A análise estatística do comprimento das cápsulas encefálica das larvas de *Chironomus sancticaroli* expostas ao sedimento no teste subcrônico do reservatório Rio Grande, também foi realizada com o teste Kruskal-Wallis e não demonstrou diferença estatística ($p < 0,05$), no comparativo do controle com o ponto RG 1 (Tabela 13).

Tabela 13. Resultado p-valor no teste de Kruskal-Wallis no bioensaio agudo e subcrônico realizado com as larvas de *Chironomus sancticaroli* expostas ao sedimento do **reservatório Rio Grande**.

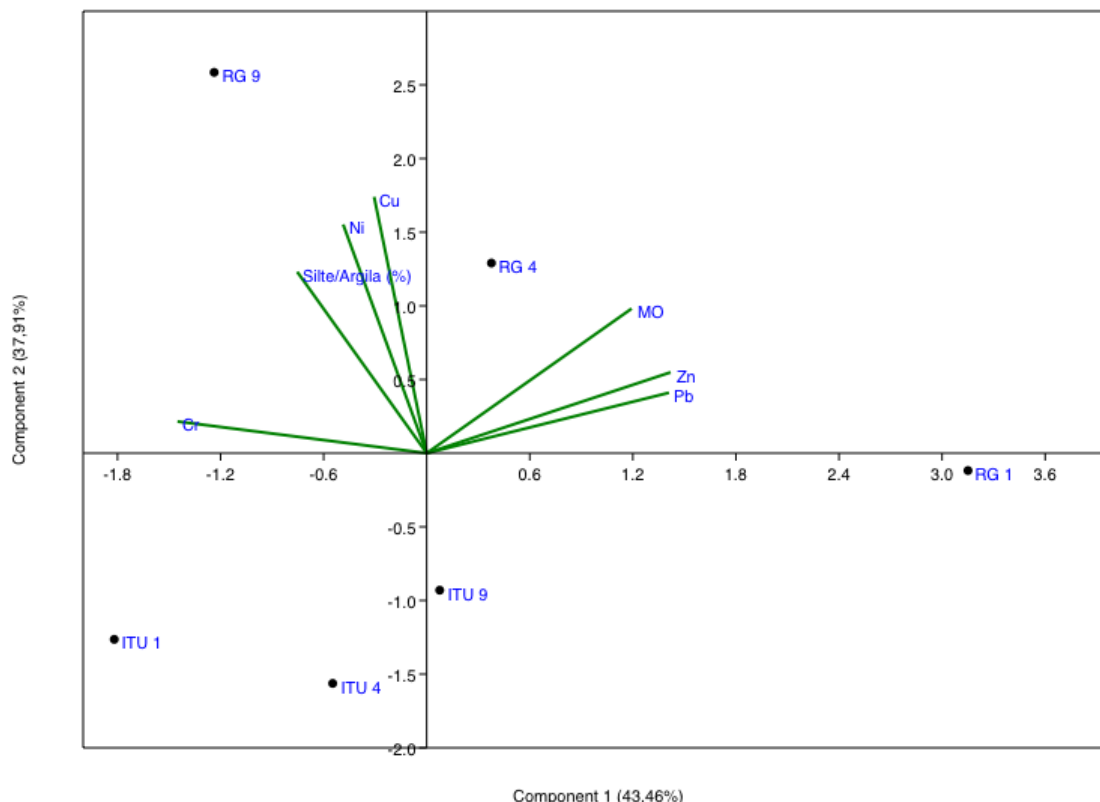
	p valor =
Comprimento da cápsula encefálica – teste subcrônico	0,362 ($p > 0,05$)
Letalidade/Sobrevivência – Teste agudo	0,319 ($p > 0,05$)
Letalidade/Sobrevivência – Teste crônico	0,003 ($p < 0,05$)

Fonte: Autoria própria.

5.3. Análise estatística comparativa

Para análise comparativa nos reservatórios de Itupararanga e Rio Grande foi realizada uma nova ACP que apontou situações opostas quanto aos parâmetros limnológicos: físicos e químicos nos pontos amostrados.

Figura 31 – Ordenação com base na Análise dos Componentes Principais (ACP) de correlação de variáveis físico-químicas do sedimento em contato com os organismos testados no reservatório de Itupararanga e Rio Grande nos testes agudos e subcrônicos.



A tabela 14 apresenta os autovalores (a.v) gerados na ACP, relativos aos valores da correlação de variáveis físicas e químicas do sedimento do reservatório de Itupararanga e Rio Grande, utilizados nos testes agudos e subcrônicos em contato com os organismos.

Tabela 14 – Contribuição de cada eixo na explicação do arranjo o formado na Análise de Componentes Principais (ACP) com base numa matriz de Correlação de variáveis físicas e químicas do sedimento do reservatório de Itupararanga e Rio Grande, utilizados nos testes agudos e subcrônicos em contato com os organismos.

	Eixo 1	Eixo 2
Autovalores	3,04	2,65
Porcentagem	43,47	37,91
Porcentagem acumulada	43,47	81,38

Fonte: Autoria própria.

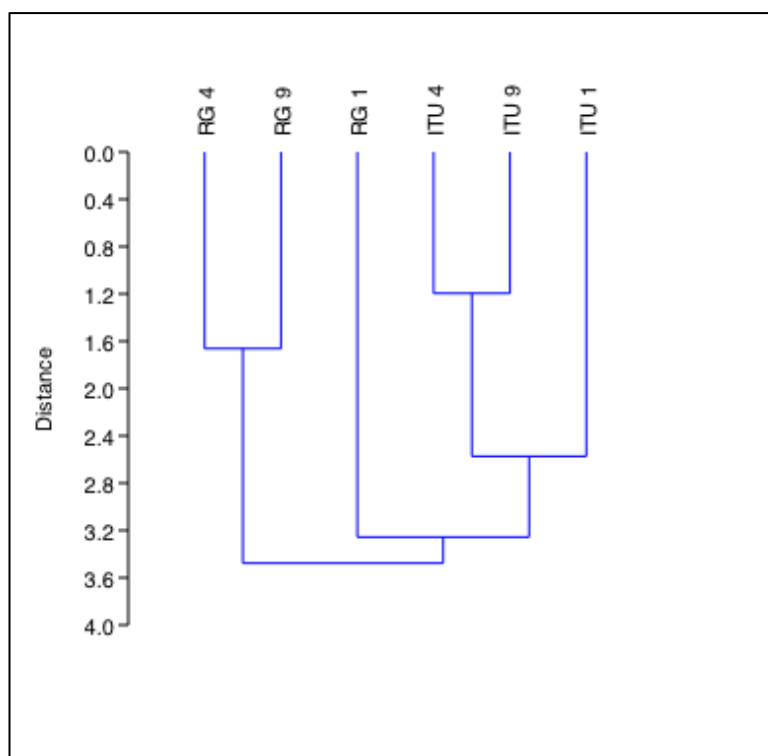
A tabela 15 demonstra numericamente os autovalores e os agrupa em seus respectivos arranjos.

Tabela 15 – Correlação das variáveis analisadas com os componentes principais (eixos) 1 e 2 de uma ACP com base numa matriz de correlações, no reservatório Itupararanga e Rio Grande. Em negrito os valores que mais influenciaram a formação de seus respectivos arranjos.

Variáveis	Autovalores	
	Eixo 1	Eixo 2
Pb	0,48	0,14
Cr	-0,49	0,07
Cu	-0,10	0,60
Ni	-0,16	0,53
Zn	0,48	0,18
Mo	0,41	0,33
Silte/Argila	-0,26	0,42

O dendrograma da figura 32 demonstra os compartimentos formados nos dois reservatórios, levando em conta a concentração dos metais: Cr, Cu, Ni, Pb e Zn, matéria orgânica e granulometria, corroborando com os estudos que já demonstravam uma heterogeneidade quanto à concentração de metais nos dois reservatórios (MARIANI, 2006; POMPÊO, 2015; CARDOSO-SILVA, 2014 ;SILVA, 2013; MELO, 2020; FRASCARELI, 2015,2016).

Figura 32 – Dendograma (método de Ward e distância euclidiana) com dados da concentração dos metais: Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, matéria orgânica e granulometria, analisados no sedimento dos pontos amostrados dos reservatórios de Itupararanga e Rio Grande.



Fonte: autoria própria

Quanto aos efeitos de toxicidade nos organismos, os testes agudo com o sedimento dos reservatórios de Itupararanga e do Rio Grande, apontou que em relação a letalidade não houve diferença estatística significativa entre o controle e os pontos amostrados, ou seja, o $p = 0,042$, ou seja $p < 0,05$.

O bioensaio de toxicidade crônica parcial, apontou que diferenças significativas entre os dois reservatórios quanto à letalidade, ou seja, o $p > 0,05$.

6. Discussão

O experimento com sedimento natural foi fundamental para a avaliação dos efeitos de toxicidade na comunidade de *Chironomus sancticaroli*. Os estudos em laboratório são extremamente importantes no monitoramento do sedimento. Porém é

importante salientar a dificuldade de reproduzir todos os parâmetros dos ecossistemas.

Embora alguns trabalhos analisem a concentração de metais no sedimento *in situ* (HARRAHY; CLEMENTS, 1997; BOSTELMANN, 2006; MARIANI, 2006; BEGHELLI, 2016; FRASCARELI, 2016; CETESB, 2017; SILVA *et al.*, 2017) e no reservatório de Itupararanga (ROSA *et al.*, 2015; FRASCARELI, 2016) existem pouquíssimos dados ecotoxicológicos “*ex situ*” com sedimento *in natura*, (BESSER *et al.*, 1995; SILVA, 2013; BEGHELLI *et al.*, 2018).

Em relação ao sedimento dos reservatórios, sabe-se que a granulometria é essencial na análise desse compartimento, visto que quanto menor as partículas, maior a superfície para adsorção de contaminantes (BOSTELMANN, 2006).

Dornfeld (2006), observou uma tendência do aumento da mortalidade de *Chironomus xanthus*, conforme o aumento da porcentagem de silte + argila.

Isto ocorre porque os metais ficam retidos no sedimento, através de mecanismos de adsorção e troca, com forte afinidade pela argila, fazendo com que sua concentração em sedimentos seja geralmente elevada (USEPA, 2000) .

Essa característica granulométrica, pode elevar a toxicidade à biota caso este metal se torne disponível aos organismos por alguma alteração no ambiente (DORNFELD, 2006).

Nesse estudo esse parâmetro foi analisado e os dois reservatórios apresentaram características semelhantes quanto à classificação granulométrica, ou seja, foram classificados como sílico/argiloso. Porém, as concentrações dos metais analisados foram diferentes, tornando essa característica essencial para a comparação dos dois reservatórios.

Levando em conta a importância da granulometria, a utilização de *Chironomus sancticaroli* para avaliação do sedimento é relevante, visto que esse organismo é tubícola e se alimenta de partículas entre os grãos de silte e argila segundo Strixino (1982).

Além disso, responde muito bem à impactos na água, no sedimento e entornos em diferentes níveis (BEGHELLI, 2015).

Na avaliação da toxicidade do sedimento, é necessário o enfoque na qualidade da composição química da coluna d'água, que é o valor do transporte sedimento/água, segundo Silva (2012). Para tanto, os parâmetros físico-químicos da água utilizada nos testes, foram medidos no início e ao término de cada bioensaio.

No entanto, não se pode desconsiderar que a água utilizada para o estudo não foi proveniente dos respectivos reservatórios e sim água de cultivo.

É importante salientar que as variáveis temperatura e OD não foram consideradas nas análises, visto que puderam ser controladas e foram mantidas constantes, todas as réplicas foram mantidas em incubadora com aeração constante e submetidas as mesmas condições.

A resolução CONAMA 357/2005, estipula que os valores de pH para manutenção da vida aquática estejam entre de 6,0 a 9,0.

Nos testes com o sedimento *in natura* do reservatório de Itupararanga, os valores do pH ficaram entre: 4,6 e 5,4 e os testes do reservatório Rio Grande entre: 3,7 e 4,2. Valores esses fora do permitido pela resolução.

Optou-se por não corrigir o pH da água utilizada nos testes com o intuito de não interferir nos parâmetros do sedimento em contato com a água de cultivo.

O aumento da concentração de cobre no sedimento pode ter influenciado na diminuição do pH, segundo HARRAHY; CLEMENTS, 1997; HULLEBUSCH *et al.*, 2002. Essa diminuição do pH, também foi observada por Beghelli (2016), nos testes *ex situ*, com a utilização de sedimento artificial e com concentração de cobre de aproximadamente 60 mg/kg.

Embora o pH tenha ficado abaixo do preconizado pelo CONAMA 357/2005 em todos os bioensaios realizados, a letalidade não foi influenciada por esse parâmetro, visto que a acidez da água em contato com o sedimento foi verificada em todos os bioensaios.

Silva, 2013, em ensaios toxicológicos com *Chironomus xanthus*, demonstrou que mesmo com a correção do pH, os experimentos com sedimento do reservatório da represa Billings se apresentaram tóxico com a concentração de Cu acima de 664 mg.k⁻¹, embora o pH estivesse dentro dos parâmetros definidos aceitáveis pelo CONAMA 357/2005.

Além disso, é importante ressaltar que esses parâmetros podem não refletir a realidade do local da coleta, uma vez que foram medidos nos bioensaios. Dornfeld, 2006, relatou maior sobrevivência nos testes laboratoriais do que nos teste "*in situ*".

A condutividade elétrica é um parâmetro utilizado como indicador de impacto do ambiente. Nos bioensaios os resultados apresentaram uma condutividade superior à 100µS cm⁻¹, indicador limite de ambientes impactados (CETESB, 2016).

Nos pontos ITU 1 e ITU 4, 196,4 e 210,8 $\mu\text{S cm}^{-1}$, respectivamente, e no ponto ITU 9, esse valor foi de 121,9. Embora no ponto ITU 9, o índice esteja acima do estipulado pela CETESB (2019), ainda assim é possível inferir, que é o ponto de menor carga poluente, uma vez que se encontra antes da desembocadura dos rios, esse resultado mostrou-se coerente com esperado.

Após a desembocadura dos rios, principalmente nos pontos ITU 4 e ITU 1, ocorre maior interferência da atividade do entorno.

Estudos prévios (Rosa *et al.*, 2015; Melo *et al.*, 2019) já indicavam que o ponto ITU 9 tem um IQS considerado ótimo ou pouco impactado.

Os valores de condutividade da água vêm mostrando aumento significativo, conforme estudos de Rosa *et al.* (2015) e Melo *et al.* (2019), o que pode representar um possível aumento na carga de poluentes no reservatório.

No entanto, essa diferença talvez possa ser explicada, uma vez que no bioensaio o manuseio do sedimento é necessário, deixando a concentração de metais mais disponível na água dos testes, simulando uma hipotética alteração no ambiente.

Quanto aos testes com o sedimento do reservatório do Rio Grande, a condutividade da água, no laboratório, ficou entre 244,8 e 333 $\mu\text{S cm}^{-1}$, evidenciando um ambiente extremamente impactado, corroborando com os resultados encontrados por Pompêo *et al.* (2015).

O reservatório de Itupararanga apresentou um gradiente longitudinal em relação à concentração de metais, porém sem a indicação de toxicidade. Esse gradiente se dá, visto que há uma maior predominância de remanescente florestal próximo ao ponto ITU 9 e as atividades antrópicas atuam com maior intensidade em direção à barragem (FRASCARELI, 2014).

O estudo feito no reservatório de Itupararanga, foi essencial para que houvesse a comparação entre dois reservatórios, onde mesmo com algum nível de impacto antrópico, porém com concentração diferentes dos metais analisados.

No tangente ao reservatório do Rio Grande, este apresentou comprometimento ambiental com indicação de alta toxicidade. Os resultados apontam uma heterogeneidade longitudinal em relação à concentração de cobre, da montante (porção superior) à jusante (porção inferior), onde ocorre a captação de água pela SABESP (Saneamento Básico do Estado de SP) para o abastecimento público.

A porção superior do braço do Rio Grande já apresenta características de aumento da disponibilidade de nutrientes, em sua maioria alóctone, propiciando o

aumento a população fitoplactônica, e ao mesmo tempo diminuição da penetração de luz (MEIRINHO, 2010).

Próximo à captação de água da Sabesp, a água do reservatório Rio Grande é classificada como ótima desde 2013 (CETESB, 2019), porém esse índice é considerado péssimo próximo a montante, onde ocorre a entrada de nutrientes provenientes de esgotos *in natura* originários das cidades de Ribeirão Pires e Rio Grande da Serra (POMPÊO *et al.*, 2015).

Este padrão pode ser explicado pelo manejo do sistema através da aplicação do sulfato de cobre pentahidratado, visando o controle do fitoplâncton. Trabalhos anteriores já demonstraram o aumento da concentração do cobre no sedimento, no sentido montante-jusante (MARIANI; POMPÊO, 2008; LEAL, 2013).

Manter a aplicação de algicida, principalmente na porção inferior do braço Rio Grande, melhora a qualidade da água de modo artificial (POMPÊO *et al.*, 2015), mas causa o efeito inverso ao sedimento, que se comporta como testemunho, armazenando o cobre durante décadas.

A análise dessa proporcionalidade inversa da coluna d'água e do sedimento é imprescindível na avaliação e no monitoramento dos reservatórios, principalmente para demonstrar aos órgãos competentes e a população, os riscos desses contaminantes chegarem à captação da água.

Os traços de contaminantes tóxicos podem ser encontrados na coluna d'água e em níveis elevados no sedimento, por esses servirem de reservatório para os contaminantes da fauna bentônica (CHAPMAN, 1989; BEGHELLI *et al.*, 2015; CARDOSO-SILVA *et al.*, 2018; MELO *et al.*, 2019).

Os resultados deste estudo apontaram as concentrações dos metais Cr, Ni e Zn, dentro dos limites de TEL e PEL no reservatório do Rio Grande, exceto em relação ao Cu e ao Pb, que apresentou parâmetros que estiveram com as concentrações bem superiores ao PEL, o que caracteriza não somente o impacto das pressões antrópicas, mas provavelmente indica o aumento na utilização de sulfato de cobre como algicida.

O crescimento desordenado da população gera o aumento do lançamento de esgoto *in natura* no reservatório, tendo como consequência o aumento de matéria orgânica, que dificulta e onera sua manutenção.

Esse pode ser um dos motivos do provável aumento da utilização do sulfato de cobre, para auxiliar na manutenção da qualidade d'água antes da sua captação na

estação de tratamento da SABESP, onde a maior concentração do cobre foi encontrada.

O Braço do Rio Grande faz parte do sistema de abastecimento de água do Estado de São Paulo e o agravamento dos seus parâmetros pode acarretar um problema de saúde pública e de riscos ambientais.

Esse agravamento se torna evidente quando comparado ao estudo de Bostelmann (2006). Levando em conta a proximidade dos pontos analisados, os pontos RG1, RG 4 e RG 9, respectivamente, tiveram acréscimo de 557%, 49% e 39%, na concentração de cobre.

E ainda, se compararmos a média das concentrações de Cobre encontradas nesse estudo com o estudo de Silva (2017), podemos verificar um acréscimo de aproximadamente 66%.

Os valores de cobre encontrados no reservatório do Rio Grande, superam os limites estabelecidos pela Resolução CONAMA 454/2012 em até 200 vezes no ponto RG 9.

Levando em conta que a variedade de compostos orgânicos e inorgânicos presentes na água podem se complexar ou adsorver metais, reduzindo sua disponibilidade e toxicidade Hullebusch (2003), a utilização dos testes de toxicidade em conjunto com os testes físicos e químicos do sedimento são essenciais na avaliação do risco ambiental e no monitoramento de reservatórios.

O experimento demonstrou que o sedimento coletado no reservatório do Rio Grande não apresentou efeito tóxico no teste agudo, onde a sobrevivência das larvas de *Chironomus sancticaroli* foi de aproximadamente 70%, dentro do limite aceitável diante dos parâmetros da OECD.

Os testes com larvas no IV instar não são tão sensíveis a toxicidade, o que pode levar a resultados subestimados, BURTON (1992).

Porém, em bioensaios com sedimento do reservatório Piediluco, Itália, ambiente impactado, com concentrações de metais semelhantes ao reservatório de Itupararanga, Rebecchi (2010, 2012), notou aumento na incidência de deformidade no mento de *Chironomus riparius*.

Então, mesmo que a análise da letalidade não tenha tido um resultado estatisticamente significativo, é importante salientar que a influência antrópica tem resposta permanente da biota de locais impactados.

No teste subcrônico do reservatório Rio Grande, a letalidade foi de 100% nos pontos RG 4 e RG 9. É importante salientar que as larvas foram colocadas no I instar, a fim de expor os organismos por quase todo seu ciclo de vida, e esse estágio pode ser mais vulnerável do que no instar em que os testes agudos são realizados.

De acordo com os estudos de Rosa *et al.* (2015) e Melo *et al.* (2019), a quantidade de cobre encontrada nos pontos amostrados do reservatório de Itupararanga, estava dentro dos índices aceitos pela Resolução CONAMA 454/2012, dados que foram confirmados com as análises das amostras de sedimento desse estudo.

Vários estudos apontam o aumento da disponibilidade do cobre como um fator de aumento da letalidade e de deformidades em Chironomídeos (BESSER, *et al.* 1995; DORNFELD *et al.* 2006; BONANI, 2010; BEGHELLI *et al.*, 2015; BEGHELLI, 2016). Esse estudo corroborou com essas evidências, principalmente na análise das amostras do reservatório Rio Grande, visto que nos pontos onde a concentração de Cu foi muito alta, a letalidade das larvas no teste crônico foi de 100%.

A análise das deformidades do mento e a comparação dos comprimentos das cápsulas encefálicas nesse estudo entre os reservatórios, não foram viáveis, visto que houve a letalidade total das larvas em dois pontos essenciais.

Porém, na análise do comprimento da cápsula encefálica dos organismos expostos ao sedimento do reservatório de Itupararanga, não houve diferença estatisticamente significativa entre os pontos amostrados, mesmo com a confirmação da heterogeneidade dos sedimentos.

Os testes estatísticos demonstraram diferenças significativas em relação à letalidade no teste subcrônico, na comparação dos reservatórios, porém, essa diferença não foi verificada em relação ao teste agudo.

Para determinar a influência de cada metal (Cr, Cu, Ni, Pb e Zn) na toxicidade do ambiente, seriam necessários testes adicionais com a utilização desses metais sozinhos e suas combinações em sedimento artificial.

A análise de similaridade dos pontos dos reservatórios (Fig.32), por ACP, em relação aos parâmetros físicos, químicos, demonstrou que embora haja a heterogeneidade nas classes de sedimentos, os pontos onde a letalidade foi maior, RG 4 e RG 9, são condizentes com a maior concentração de Cu, Ni e percentual de silte/argila.

Embora seja possível inferir que a concentração do Cobre foi responsável pela letalidade apresentada nesse estudo, e pela compartimentalização dos reservatórios, é de fundamental importância o complemento do mesmo através de ensaios “*in situ*”, para que se possa descartar os efeitos quanto a possíveis interações com outros componentes no ambiente natural.

7. Conclusões

- Os organismos que foram submetidos à exposição do sedimento in natura dos reservatórios de Itupararanga e Rio Grande, se mostraram ferramentas importantes para a avaliação do efeito da toxicidade com diferentes classes de sedimento.
- A comparação dos efeitos nos organismos expostos ao sedimento de um reservatório com aplicação de sulfato de cobre para manejo da biota no reservatório Rio Grande, com o reservatório de Itupararanga, onde esse manejo não ocorre, demonstrou que houve uma toxicidade maior no sedimento onde essa prática ocorre, porém não é possível afirmar que a concentração maior de Cu, deve-se somente à essa prática.
- Não foi verificado efeito tóxico agudo para as larvas de *Chironomus sancticaroli* em nenhum dos reservatórios
- Não foi possível a análise da deformidade do mento, visto que não houve sobrevivência em uma parte significativa da população amostrada do reservatório Rio Grande.
- Os resultados dessa pesquisa corroboram com as evidências de que a utilização de *Chironomus sancticaroli*, em programas de monitoramento ambiental é eficiente para avaliar os efeitos tóxicos, quanto à disponibilidade de metais, principalmente o cobre, no sedimento.

8. Referências Bibliográficas

ABBOTT, W.S. **A Method of computing the effectiveness of an insecticide** – Journal of Economic Entomology, v. 18, n. 2, pg 265-267, 1925.

ANA - Agência Nacional de Águas (Brasil). **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil 2017 : relatório pleno** / Agência Nacional de Águas. -- Brasília: ANA, 2017. 169p. : il, 2017.

ALBUQUERQUE, F.P. – **Efeitos Ecotoxicológicos em Larvas de Chironomus sancticaroli Strixino & Strixino, 1981 (DIPTERA: CHIRONOMIDAE) expostas a nanopartículas lipídicas sólidas carregadas com atrazina.** 2020. 101f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) – Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Sorocaba, 2020.

AZEVEDO, F.A; CHASIN, A.A.M. – **As bases toxicológicas da ecotoxicologia** – São Carlos: RiMa, 2003 – São Paulo: Intertox, 2003 – 304p.

BAPTISTA, D.F. – **Uso de macroinvertebrados em procedimentos de biomonitoramento em ecossistemas aquáticos.** Oecol. Bras., 12(3): 425-441, 2008.

BEGHELLI, F.G.S; ROSA, A.H; NISHIMURA, P.Y; MEIRINHO, P.A; LEONARDI, B.F; GUIDUCE, F.S; LOPEZ-DOVAL, J.C; POMPÊO, M; MOSCHINI-CARLOS, V. - **Aplicações de sulfato de cobre no reservatório Guarapiranga, SP: Distribuição no meio e efeitos sobre a comunidade planctônica** - Capítulo 19 - Pompêo *et al.* (Orgs.) Ecologia de reservatórios e Interfaces, São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2015.

BEGHELLI, F. G. DE S. **A relações de organismos bentônicos bioindicadores com a poluição por metais e metaloides em represas do sistema cantareira, São Paulo.** 2016.184f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Instituto de Ciência e Tecnologia, Sorocaba, 2016.

BEGHELLI, F.G.S; LOPEZ-DOVAL, POMPÊO, M; ROSA, A.H – **Lethal and sublethal effects of metal-polluted sediments on Chironomus sancticaroli Strixino and Strixino, 1981** – Ecotoxicology 27:286-299, 2018.

BESSER, J. M. *et al.* **Influences on copper bioaccumulation, growth, and survival of the midge, Chironomus tentans, in metal-contaminated sediments.** Journal of Aquatic Ecosystem Health, v. 4, n. 3, p. 157–168, 1995.

BEYRUTH, Z. – **Macrófitas aquáticas de um lago marginal ao rio Embu-mirim, São Paulo, Brasil** – Revista de Saúde Pública, v. 26, n. 4, p. 272-282, 1992.
BEYRUTH, Z – **Comunidade fitoplancônica da Represa de Guarapiranga: 1991-1992. Aspectos ecológicos, sanitários e subsídios para a reabilitação da qualidade ambiental.** 1996. 290 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

BEYRUTH, Z. **Aprendendo sobre a qualidade de vida com as águas poluídas da cidade de São Paulo**. Rev. USP, n. 70, p. 46–63, 2006.

BICUDO, C.E.DE M.; TUNDISI, J.G.; SCHEUENSTUHL, M.C.B. , orgs. B583a **Águas do Brasil: análises estratégicas** / Carlos E. de M. Bicudo; José G. Tundisi; Marcos C. Barnsley Scheuenstuhl – São Paulo, Instituto de Botânica, 2010.

BISTHOVEN, L.G.J; TIMMERMANS, K.R. & OLLEVIER, F. – **The concentration of cadmium, copper and zinc in Chironomus gr. Thummi larvae (Diptera, Chironomidae) with deformed versus normal menta**. Hydrobiologia 239: 141-149.1992.

BOSTELMANN, E. – **Avaliação da concentração de metais em amostras de sediment do reservatório Billings, Braço Rio Grande, São Paulo, 2006. 130f**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear - Aplicações). Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares. Universidade de São Paulo, 2006

BURTON, G.A. **Sediment toxicity assessment**. Lewis Publishers, 479p. 1º Ed. 1992.

BONANI, F. – **Avaliação de deformidades morfológicas em larvas de Chironomus (Diptera, Chironomidae) na bacia do Rio Piracicaba e sua aplicação no biomonitoramento**. 2010. 80f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 2010.

CCME - CANADIAN COUCIL OF MINISTERS OF ENVIRONMENTE – CCME 1999. **Protocol for the derivation of canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life**. Ottawa, Canadá , 1999.

CABOPIANCO, J.P.R; WHATELY, M. – Billings 2000 – **Ameças e Perpectivas para o maior Reservatório de Água da Região Metropolitana de São Paulo – Relatório do Diagnóstico Socioambiental Participativo da Bacia Hidrográfica da Billings no Período 1989-99 – São Paulo: Instituto Sócio Ambiental, 2002.**

CARDOSO-SILVA, S; NISHIMURA, P.Y; PADIAL, P.R; MOSCHINI-CARLOS, V; POMPÊO, M.L.M – **Compartimentalização e qualidade da água: o caso da Represa Billings** – Bioikos, Campinas, 28(1): 31-43, Jan./Jun., 2014.

CARDOSO-SILVA, S.; SILVA, D.C.V.R.; LAGE, F.; PAIVA, T.C.B.; MOSCHINI-CARLOS, V.; ROSA, A.H.; POMPÊO, M. **Metals in sediments: bioavailability and toxicity in a tropical reservoir used for public water supply**. Environ Monit Assess (2016) 188:310, 2016

CARDOSO-SILVA, S.; LÓPEZ-DOVAL, J.; MOSCHINI-CARLOS, V.; POMPÊO, M. – **Metal and limnological variables in an urban reservoir: compartmentalization and identification of potential impacted**. Environ Monit Assess, 190: 19, 2018

CAMPAGNA, A.F.; RODRIGUES, B.K.; NOGUEIROL, R.C.; VERANI, N.F.; ESPÍNDOLA, E.L.G.; ALLEONI, L.R.F. – **Use of artificial sediment to assess toxicity of chromium on *Chironomus xanthus*, *Danio rerio* and *Peocilia reticulata***. Acta Limnológica Brasiliensia, v. 25 n.11, p. 42-53, 2013.

CARMO, D.L do; SILVA, C.A. – **Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos**. Ver. Bras. Ciênc. Solo v. 36, n. 4 Viçosa, 2012.

CAVALCANTI, V. A. – **Avaliação da toxicidade de sedimentos e água contaminados com azocorantes têxteis utilizando *Chironomus xanthus* e *Daphnia similis***. 2010. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Saúde Pública) – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2010.

CETESB – Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental – Qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo. Disponível em: <http://aguasinteriores.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/12/2013/11/relatorio-aguas-superficiais-1983.pdf>. Acesso em 23/05/2018. São Paulo, 1983.

CETESB (São Paulo) – **Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental – Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2012** (recurso eletrônico), São Paulo, 2013

CETESB (São Paulo) – **Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental – Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2016** (recurso eletrônico), São Paulo, 2017

CETESB (São Paulo) – **Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental – Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2018** (recurso eletrônico), São Paulo, 2019

CHAPMAN, P.M. **Current approaches to developing sediment quality criteria**. Environ. Toxicol. Chem. 8:589–599, 1989.

CHIBA, W.A.C.; PASSERINI, M.D. e TUNDISI, J.G – **Metal contamination in benthic macroinvertebrates in a sub-basin the southeast of Brazil** – Brazilian Journal of Biology, v. 71, n. 2, p. 391-399, 2011

CONAMA – **Resolução n. 357 de 17 de Março de 2005** – Publicada no DOU n. 53 de 18/03/2005, págs. 58-63 – Diário Oficial da União – Brasília – 2005.

CONAMA – **Resolução n. 454 de 1 de Novembro de 2012** – Publicada no DOU de 08/11/2012, seção 1, pág. 66 – Diário Oficial da União – Brasília – 2012

CORBI, J.J.; FROEHLICH, C.G. – **Bioaccumulation of metal in aquatic insect of streams in areas with sugar cane cultivation**. Quim. Nova, v. 33, n. 3, 644-648, 2010.

CRUZ, M.A.S.; SANTOS, L.T.S. de O.; LIMA, L.G.L.M.L.; DE JESUS, T.B. – **Caracterização granulométrica e mineralógica dos sedimentos como suporte para análise de contaminação ambiental em nascentes do rio Subaé, Feira de Santana (BA)**. Geochimica Brasiliensis 27 (1): 49-62, 2014

DELL'ACQUA, M. M. **Efeito do hormônio 17 α -etinilestradiol sobre a biologia de *Chironomus sancticarloi* (Chironomidae, Diptera)**. 2017. 75f. Dissertação

(Mestrado em hidráulica e saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

DI VEROLI, A. *et al.* **Sediment toxicity and deformities of chironomid larvae in Lake Piediluco (Central Italy)**. Chemosphere, v. 79, n. 1, p. 33–39, 2010.

DI VEROLI, A. *et al.* **Induction of mouthpart deformities in chironomid larvae exposed to contaminated sediments**. Environmental Pollution, v. 166, p. 212–217, 2012.

DI VEROLI, A. *et al.* **Deformities of chironomid larvae and heavy metal pollution: From laboratory to field studies**. Chemosphere, v. 112, p. 9–17, 2014.

DICKMAN, M; BRINDLE, I; BENSON, M – **Evidence of teratogens in sediments of the Niagara River watershed as reflected by chironomid (Diptera: Chironomidae) deformities** – J.Great Lakes Res. 18(3):467-480 -Internat. Assoc. Great Lakes Res., 1992.

DORNFELD, C. B. **Utilização de Chironomus sp (Diptera, Chironomidae) para a avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais**. 2006. 239f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006.

DORNFELD, C.B.; ESPÍNDOLA, E.L.G.; FRACÁCIO, R.; RODRIGUES, B.K.; NOVELLI, A. **Comparação de bioensaios laboratoriais e in situ”utilizando Chironomus xanthus na avaliação da toxicidade de sedimentos do Rio Monjolinho (São Carlos, SP)**. J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v. 1, n.2, 161-165, 2006.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 602p., 1998.

ESTEVES, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Interciência, 826 p., 2011.

FABH-SMT, F. A. DE B. H. S. E M. TI. **Relatório de Situação 2018**. [s.l: s.n.].

FERNICOLA, N. A. G. G. DE; BOHRER-MOREL, M. B. C.; BAINY, A. C. D. Ecotoxicologia. In: **As Bases Toxicológicas da Ecotoxicologia**. São Carlos: RiMa / InterTox, 2003. p. 340.

FONSECA, AL., 1997. **Avaliação da qualidade de água na bacia do Rio Piracicaba/ SP através de testes de toxicidade com invertebrados**. 1997. 222f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1997.

FONSECA, A.L; ROCHA, O. – **Laboratory cultures of the native species Chironomus xanthus Rempel, 1939 (Diptera-Chironomidae)**. – Acta Limnol. Bras., 16(2): 153-161, 2004.

FRASCARELI, D.; BEGHELLI, F.G.S; CARDOSO-SILVA, S.; MOSCHINI-CARLOS, V. – **Heterogeneidade espacial e temporal de variáveis limnológica no reservatório de Itupararanga associadas com o uso do solo da Bacia do Alto Sorocaba – SP** – Ver. Ambiente e água. v. 10, n. 4 – Taubaté, 2015.

FRASCARELI, D. - **Distribuição espacial, biodisponibilidade e toxicidade de metais em sedimentos superficiais de reservatórios do Estado de São Paulo** . 2016. 146f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Ciência e Tecnologia (Câmpus de Sorocaba), 2016.

FRASCARELI, D; CARDOSO-SILVA, S.; MIZAEI, J.O.S.; ROSA A.H; POMPÊO, M.; LÓPEZ-DOVAL, J.C. – **Spatial distribution, bioavailability, and toxicity of metals in surface sediments of tropical reservoirs, Brasil**. – Environ Monito Assess. 190: 199, 2018.

HAMMER; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D.; 2001. PAST: **Pacote de software de estatísticas paleontológicas para educação e análise de dados**. Palaeontologia Electronica 4 (1): 9pp. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm

HARRAHY, E.A.; CLEMENTS, W.H. – **Toxicity and bioaccumulation of a mixture of heavy metals in Chironomus tentans (Diptera: Chironomidae) in synthetic sediment** – Environmental Toxicology and Chemistry, V. 16, n. 2, pp. 317-327, 1997

HULLEBUSCH, E.V; DELUCHAT, V. CHAZAL, P.M.; BAUDU, M. **Environmental impact of two successive chemical treatments in a small shallow eutrophied lake: Part II. Case of copper sulfate**. Environmental Pollution 120 (2002) 627-634, 2002

HULLEBUSCH, E.V.; CHATENET, P.; DELUCHAT, V.; CHAZAL, P.M.; FROISSARD, D.; BOTINEAU, M.; GHESTEM, A.; BAUDU, M. **Copper Accumulation in a Reservoir Ecosystem**. Water, Air, and Soil Pollution, v. 150, p. 3–22, 2003.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia Estatística – Relatórios de estimativa da população – 2018 – Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/sociais/populacao.html> - Acesso em 23/03/18 , 2018.

KUHLMANN, M. **Using Chironomus (Chironomidae: Diptera) mentum deformities in environmental assessment**. Acta Limnol. Bras., 15:55-61, 2000.

LAMPARELLI, M. C. - **Graus de trofia em corpos d'água do estado de São Paulo: avaliação dos métodos de monitoramento**. 2004. 235p. Tese(Doutorado em Ciências na Área de Ecossistemas Terrestres e Aquáticos), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

LEAL, P.R - **Geoestatística e ecotoxicologia como ferramentas para a gestão de reservatórios: Estudo de caso: Reservatório Guarapiranga (São Paulo, BR)**.

2017. 132p. Dissertação (Mestrado em Ecologia), Instituto Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

LEAL, P. R. *et al.* **Impact of copper sulfate application at an urban Brazilian reservoir: A geostatistical and ecotoxicological approach.** Science of the Total Environment, v. 618, p. 621–634, 2018.

MACKENTHUN, K.M.; COOLEY, H.L. - **The biological effect of copper sulphate treatment on lake ecology** - Public Health Biologists, Wisconsin Committee on Water Pollution - Vol. 41 - 177-187, 1952.

MAIER, K. J., KOSALWAT, P., KNIGHT, A. W. **Culture of Chironomus decorus (Diptera: 638 Chironomidae) and the effect of temperature on its life history.** Environ. Entomol. 19, 1681,1688. 1990.

MANFREDINI, F. N. **Aplicação da legislação ambiental na valoração econômica dos serviços ambientais da Área de Proteção Ambiental (APA) de Itupararanga.** 2018. 210f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Ciência e Tecnologia (Câmpus de Sorocaba), 2018.

MARIANI, C.M. Reservatório Rio Grande: caracterização limnológica da água e biodisponibilidade de metais-traço no sedimento. 2006. 123p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Ciência e Tecnologia (Câmpus de Sorocaba), 2006.

MAZZER, C.; CAVALCANTI, O. A. - **Introdução à gestão ambiental de resíduos.** Infarma, Brasília, ano, v. 8, p. 73–77, 2004.

McKNIGHT, D.M.; CHISHOLM, S.W.; HARLEMAN, D.R.F - **CuSO₄ Treatment of Nuisance Algal Blooms in Drinking Water Reservoirs** - Environmental Management, v 7, n 4 pp 311-320 – Massachusetts, 1983.

MELO, D.S.; GONTIJO, E.S.J.; FRASCARELI, D.; SIMONETTI, V.C.; MACHADO, L.S.; BARTH, J.A.C.; MOSCHINI-CARLOS, V.; POMPEO, M. L.; ROSA, A.H. FRIESE, K. **Mapas auto- organizáveis para avaliação de processos biogeoquímicos e variações temporais na qualidade da água de reservatórios subtropicais.** Pesquisa de Recursos Hídricos, v. 55, ed. 12, 2019.

MELO, D.S. – **Mapa auto-organizável para avaliação de processos biogeoquímicos e variações temporais na qualidade da água de um reservatório subtropical.** 2020. 112p. – Tese (Doutorado em Ciências Ambientais), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Ciência e Tecnologia (Câmpus de Sorocaba), 2020.

MEIRINHO, P.A. **Compartimentalização da comunidade zooplanctônica em um reservatório tropical urbano eutrofizado (braço rio Grande, Complexo Billings, SP).** 2010. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2010.

MIZAEAL, J.O.S.S.; CARDOSO-SILVA, S.; FRASCARELI, D.; POMPÊO, M.; MOSCHINI-CARLOS, V. **Ecosystem history of a tropical reservoir revealed by metals, nutrients and photosynthetic pigments preserved in sediments.** CATENA 184 (2020) 104242, 2020.

NASCIMENTO, M.R.L. – **Proposição de valores de referência para concentração de metais e metalóides em sedimentos limnicos e fluviais da bacia hidrográfica do Rio Tietê, SP.** 2003, 111p. Tese (Doutorado em São Carlos : UFSCar, 2003, 111 p. Tese (Doutorado em Ciências de Concentração em Química Analítica), Universidade Federal de São Carlos, 2003.
OECD/OCDE - ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2004a. Sediment-water chironomid toxicity test using spiked water, Paris, Test Guideline n. 219, Guidelines for the testing of chemicals. 21.
<https://doi.org/10.1787/9789264070288-en>. 2004.

OECD/OCDE - ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2004b. Sediment-water chironomid toxicity test using spiked sediment, Paris, Test Guideline n. 218, Guidelines for the Testing of Chemicals. 17p.
<https://doi.org/10.1787/9789264070264-en>. 2004.

PASCHOAL, C. M. R. B. **Avaliação ecotoxicológica de sedimentos em reservatórios da bacia do Rio Tietê, SP, com ênfase na aplicação do estudo de AIT - Avaliação e Identificação da Toxicidade.** 2002. 175f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) Escola de Engenharia Ambiental, Universidade de São Paulo, 2002.

PINTO, Y. R. **Ecotoxicidade do Cobre e Possíveis Biomarcadores no Reservatório Guarapiranga.** 2016. 102f. Tese (Doutorado em Ciências). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2016.

POMPÊO, M. L. M. **Monitoramento E Manejo De Macrófitas Aquáticas.** Oecol. Bras, v. 12, n. 3, p. 406–424, 2008.

POMPÊO, M.; MOSCHINI-CARLOS, V. **O abastecimento de água e o esgotamento sanitário: propostas para minizar os problemas no Brasil.** In: Meio Ambiente e sustentabilidade. Porto Alegre: Bookman, 2012. p. 412.

POMPÊO, M; PADIAL, P.R.; MARIANI, C.F.; CARDOSO-SILVA, S.; MOSCHINI-CARLOS, V.; SILVA, D.C.V.R.; BRANDIMARTE, A.L. **Biodisponibilidade de metais no sedimento de um reservatório tropical urbano (reservatório Guarapiranga – São Paulo (SP), Brasil): há toxicidade potencial e heterogeneidade espacial ?** Gheochimica Brasiliensis 27(2): 104-119, 2013.

POMPÊO, M. et al (orgs.) – **Ecologia de reservatórios e interfaces, São Paulo – Capítulo 6 – Heterogeneidade espacial horizontal da qualidade da água no reservatório Rio Grande, Complexo Billings, São Paulo, Brasil.** – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 460 p, 2015.

POMPÊO, M. **O controle da flora e fauna aquáticas pela Resolução CONAMA 467: Considerações sobre a normativa brasileira.** Revista do Departamento de Geografia USP, v. 33, n. 24–35, p. 12, 2017.

REBECHI, D. **Efeitos ecotoxicológicos em Chironomus sancticaroli Strixino & Strixino, 1981 (DIPTERA: CHIRONOMIDAE) expostos ao Malathion.** 2012. 85f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Universidade Federal do Paraná, 2012.

REBECHI, D.; NAVARRO-SILVA, M. A. **Setting the reference for the use of Chironomus sancticaroli (Diptera: Chironomidae) as bioindicator: Ontogenetic pattern of larval head structures.** Zoologia 29(2): 167-171, Curitiba, 2012.

REBECHI, D.; RICHARDI, V.S.; VICENTINI, M.; GUILOSKI, I.C.; ASSIS, H.C.S & NAVARRO-SILVA, M.A. **Low malathion concentrations influence metabolism in Chironomus anticrole (Diptera, Chironomidae) in acute and chronic toxicity tests.** Revista Brasileira de Entomologia, v. 58 (3), p. 296–301, 2014.

RICHARDI, V.S., REBECHI, D., ARANHA, J.M.R. & NAVARRO-SILVA, M.A. – **Determination of larval instars in Chironomus sancticaroli (Diptera: Chironomidae) using novel head capsule structures.** Zoologia 30 (2):211-216, 2013.

RICHARDI, V. S. Descrição histológica de imaturos de Chironomus sancticaroli Strixino & Strixino, 1981 (DIPTERA: CHIRONOMIDAE) e efeitos histopatológicos e biológicos após a exposição ao fenantreno. 2013. 114f. Dissertação (Mestre em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Paraná, 2013.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza.** [s.l.] Guanabara Koogan, 2005.

RICKLEFS, R. E. **A Economia da Natureza.** 6ª Edição ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

ROMAN, E.Y; SCHAMPHELAERE, A.C; NGUYEN, L.T.H; JANSSEN, C.R. – **Chronic toxicity of copper to five benthic invertebrates in laboratory-formulated sediment: Sensitivity comparison and preliminary risk assessment.** Science of the Total Environment. 387. 128-140, 2007.

ROSA, A.H.; SILVA, A.A.M.J., MELLO, C.A.; MOSCHINI-CARLOS, V. ; GUANDIQUE, M.E.G.; FRACETO, L.F.; LOURENÇO, R.W. **Diagnóstico ambiental e avaliação de uso e ocupação do solo visando a sustentabilidade da represa de Itupararanga, importante área da bacia do médio Tietê** - Capítulo 15 - Pompêo *et al.* (Orgs.) Ecologia de reservatórios e Interfaces, São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2015

SABESP. **Muito além da água.** Disponível em:
<http://www.sabesp.com.br/muitoalemdaagua/> - São Paulo, 2018.

SAMPAIO, F. G.; BOIJINK, C. D. L.; RANTIN, F. T. **O Uso do Sulfato de Cobre em Ecossistemas Aquáticos: fatores que afetam sua toxicidade em peixes de água doce.** Embrapa, v. 1, n. 91, p. 102, 2013.

SANTOS, A.C.A.; FRANCA, G.; ARRUDA, E.; FERNANDES, M. **Observatório do Comitê de Bacia Hidrográfica do Rio Sorocaba e Médio Tietê: um Projeto de Extensão Desenvolvido na UFSCar, Campus Sorocaba.** Revista de Cultura e Extensão USP, v. 12, p. 109, 2014.

SANTOS, M.A.P.F - **Avaliação da qualidade da água e sedimento da sub-bacia do rio Corumbataí (SP) por meio de testes ecotoxicológicos.** 2008. 186f. Tese (Doutorado em Ciência), Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2008.

SELBORNE, LORD. **A ética do uso da água doce: um levantamento.** Brasília: UNESCO, 2001.

SILVA, A.S.; HENRIQUE, H.A.R; FÁVARO, D.I.T. – **Metal, trace and rare Earth elemento assessment in a sedimentar profile from Itupararanga reservoir, São Paulo State, Brazil, by NAA** – Internacional Nuclear Atlantic Conference – INAC 2017 – Belo Horizonte, MG, Brazil, 2017.

SILVA, D.C.V.R. **Toxicidade da água e sedimento dos reservatórios Guarapiranga, Billings e Paiva Castro, na Região Metropolitana de São Paulo.** 2013. 141f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Ecologia. 2013.

SILVA, D.C.V.R.; POMPÊO, M.; PAIVA, T.C.B. **A ecotoxicologia no contexto atual no Brasil - Capítulo 22 - Pompêo et al. (Orgs.) Ecologia de reservatórios e Interfaces, São Paulo:** Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2015

SUGUIO, K. – Introdução a sedimentologia. São Paulo. E. Edgard Blücher. EDUSP, 317p, 1973

SUSTENTÁVEL, C. **Manual de educação.** Brasília: Consumers International/ MMA / MEC / IDEC, 2005.

STRIXINO, S.T.; STRIXINO, G. **Nova espécie do gênero Chironomus Meigen do sul do Brasil (Diptera: Chironomidae).** Rev. Bras. Entomol. 25, 333–340, 1981.

STRIXINO, S.T.; STRIXINO, G. **Ciclo de vida de Chironomus sancticaroli Strixino & Strixino, (Diptera, Chironomidae).** Rev. Bras. Entomol. 26, 183–189. 811, 1982.

TRIVINHO-STRIXINO, S. - **Chironomidae (Insecta, Diptera, Nematocera) do Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil.** Biota Neotropica, v. 11, p. 676–684, 2011.

TUNDISI, J. G. - **Recursos hídricos no futuro: problemas e soluções**. Estudos Avançados, v. 22, n. 63, p. 7–16, 2008.

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

USEPA, 2000. **United States Environmental Protection Agency. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment associated contaminants with freshwater invertebrates**. 2a. ed. Washinton, 2000

USEPA, United States Environmental Protection Agency. - **Método 3050B - Acid digestion of sediments, sludges and soils**. 1996, n. December, p. 1–12, 1996.

VICTORINO, V. I. P. Monopólio, conflito e participação na gestão dos recursos hídricos. **Ambiente & Sociedade**, v. 6, n. 2, p. 47–62, 2003.

VIVEIROS, W. ***Chironomus sancticaroli* – do cultivo em laboratório ao ensaio ecotoxicológico com amostras ambientais de sedimento**. p. 91, 2012.

Dissertação (Mestrado em ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, 2012.

YAMAGUCHI, M. U. *et al.* - **Qualidade microbiológica da água para consumo humano em instituição de ensino de Maringá-PR**. O Mundo da Saúde, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 312–320, 2013.

9. Apêndices

Resultado Final do teste **Agudo** no reservatório de **Itupararanga** - Endpoint: Letalidade 26/06/2019

Local	N. de organismos		Média de Organismos		% de sobreviv.	pH		Condutividade		Temperatura		OD	
	i	f		Min-Máx	%	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx
Controle	80	57	14,3	14 - 15	71,25%	8,0	7,9 - 8,1	128,6	123,0 - 141,1	24,4	24,3 - 24,5	6,1	6,0 - 6,1
Itu 1	80	52	13,0	9 - 16	65,00%	4,8	4,7 - 5,1	210,8	194,0 - 237,0	24,2	24,1 - 24,2	6,0	5,9 - 6,1
Itu 4	80	53	13,3	11 - 12	66,25%	4,8	4,5 - 4,9	196,3	184,1 - 228,0	24,1	24,0 - 24,1	6,2	5,9 - 6,5
Itu 9	80	55	13,8	13 - 15	68,75%	5,4	5,0 - 5,5	121,9	106,7 - 160,6	23,8	23,8 - 23,9	6,1	5,1 - 6,7

Resultado Final do teste **Crônico** no reservatório de **Itupararanga** - Endpoint: Letalidade 30/06/2019

Local	N. de organismos		Média de organismos		% de sobreviv.	pH		Condutividade		Temperatura		OD	
	i	f		Min-Máx	%	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx
Controle	80	58	14,5	10 - 17	72,50%	7,7	7,4 - 7,8	164,4	158,8 - 170,2	24,7	24,6 - 24,7	5,8	4,4 - 6,0
Itu 1	80	68	17,0	12 - 20	85,00%	5,0	4,8 - 5,5	235,0	220,0 - 247,0	24,8	24,6 - 24,9	6,1	6,0 - 6,2
Itu 4	80	53	13,25	7 - 17	66,25%	4,9	4,7 - 5,3	223,5	205,0 - 232,0	24,8	24,5 - 25,0	6,3	6,0 - 6,5
Itu 9	80	54	13,5	10 - 17	67,50%	5,4	5,0 - 5,9	129,7	118,2 - 148,8	24,7	24,6 - 24,7	6,3	6,1 - 6,5

Resultado Final do teste **Agudo** no reservatório **Rio Grande** - Endpoint: Letalidade 16/07/2019

Local	N. de org.		Média de organismos		% de sobreviv.	pH		Condutividade		Temperatura		OD	
	i	f		Min-Máx	%	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx
Controle	80	58	14,5	13 - 18	72,50%	7,7	7,5 - 7,9	94,6	85,3 - 104,0	24,7	24,4 - 24,8	5,8	5,1 - 6,6
RG 1	80	58	14,5	12 - 13	72,50%	4,1	4,0 - 4,2	244,8	227,0 - 280,0	24,3	24,6 - 24,8	6,1	6,0 - 6,2
RG 4	80	50	12,5	12 - 16	62,50%	3,7	3,7	299,8	285,0 - 317,0	24,8	24,8 - 24,9	5,7	5,2 - 6,0
RG 9	80	57	14,3	11 - 18	71,25%	3,7	3,6 - 3,8	333	329,0 - 338,0	24,4	24,3 - 24,4	6,2	6,0 - 6,4

Resultado Final do teste **Crônico** no reservatório **Rio Grande** - Endpoint: Letalidade 28/09/2019

Local	N. de org.		Média de organismos		% de sobreviv.	pH		Condutividade		Temperatura		OD	
	i	f	média	Min-Máx	%	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx	Média	Min-Máx
Controle	80	56	14,0	12 - 14	70,00%	7,6	7,2 - 7,9	171,0	151,2 - 210,0	24,2	24,1 - 24,4	4,8	3,4 - 5,7
RG 1	80	57	14,25	10 - 18	71,25%	4,2	3,9 - 4,5	250,5	224,0 - 268,0	24,1	24,0 - 24,1	5,4	5,1 - 5,7
RG 4	80	0	0,00	0	0,00%	3,8	3,7 - 4,0	315,8	294,0 - 352,0	24,0	23,9 - 24,1	5,8	5,7 - 6,1
RG 9	80	0	0,00	0	0,00%	3,9	3,8 - 4,0	309,5	276,0 - 335,0	23,9	23,8 - 24,1	5,9	5,8 - 6,1